

UNIVERSITE DE LIMOGES
ECOLE DOCTORALE Science – Technologie – Santé
FACULTE de PHARMACIE

Année : 2006

Thèse N° []

Thèse
pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline / Spécialité :
Sciences de la Vie et de la Santé
Sciences Pharmaceutiques – Phytochimie/Biologie

présentée et soutenue publiquement par

Ata Martin LAWSON

le 13 Juin 2006

ETUDE PHYTOCHIMIQUE D'UNE FABACEE
TROPICALE, *LONCHOCARPUS NICOU*
EVALUATION BIOLOGIQUE PRELIMINAIRE

JURY :

G. COMTE, Professeur, Université C. Bernard Lyon 1
M.-G. DIJOUX-FRANCA, MCF, Université J. Fourier Grenoble 1
M. KAOUADJI, Professeur, Université de Limoges
D. ALLAIS, MCF, Université de Limoges
A. J. CHULIA, Professeur, Université de Limoges
J. FAVRE-BONVIN, Ingénieur de recherche, CNRS

Rapporteur
Rapporteur
Examinateur
Directeur de thèse
Co-Directeur de thèse
Président

REMERCIEMENTS

A Madame Daovy Paulette ALLAIS

Maître de conférences en Pharmacognosie à la Faculté de Pharmacie de Limoges,
Recevez ici mes sincères remerciements pour la confiance, les conseils et l'amitié que vous m'avez accordés tout au long de cette thèse. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse. Je n'oublie pas votre soutien moral qui m'a souvent aidé à remonter la pente dans les moments difficiles.

A Monsieur Albert José CHULIA

Professeur de Pharmacognosie à la Faculté de Pharmacie de Limoges,
Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude pour m'avoir accueilli au sein de votre laboratoire. Soyez assuré de mon profond respect et de ma vive reconnaissance pour m'avoir fait bénéficier de votre expérience et de votre rigueur scientifique et professionnelle.

A Monsieur Mourad KAOUADJI

Professeur de Chimie à la Faculté des Sciences et Techniques de Limoges,
A vrai dire, je ne sais pas comment vous remercier pour tout ce que vous m'avez apporté, transmis et appris lors de cette thèse.
Merci pour l'énorme contribution que m'avez apportée afin de mener à bien ce projet.
Soyez assuré de mon profond respect et de ma vive reconnaissance.

A Monsieur Gilles COMTE

Professeur à l'Université Claude Bernard Lyon 1,
Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude pour avoir accepté d'examiner ce travail et d'en être le rapporteur. Je vous prie de croire à ma respectueuse considération.

A Madame **Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA**

Maître de conférences à la Faculté de Pharmacie de Grenoble,

Je vous remercie pour l'intérêt manifesté à l'égard de ce travail en acceptant d'être le rapporteur. Je vous adresse ma profonde reconnaissance pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit.

A Monsieur **Jean FAVRE-BONVIN**

Recevez mes remerciements pour avoir accepté d'être membre de ce jury.

A Monsieur **Yves CHAMPAVIER**

Docteur en Phytochimie et Ingénieur de recherche du Service Commun de RMN de l'Université de Limoges,

Je tenais à te remercier chaleureusement pour ton soutien moral et ton amitié.

A Monsieur **Jean-Louis BENEYTOUT**

Professeur de Biochimie à la Faculté de Pharmacie de Limoges,

Veillez trouver ici mes remerciements pour la réalisation des tests biologiques au sein de votre laboratoire.

A Monsieur **Bertrand LIAGRE**

Maître de conférences en Biochimie à la Faculté de Pharmacie de Limoges,

Je voulais t'exprimer ainsi qu'à David toute ma reconnaissance pour les différents tests biologiques réalisés et votre contribution à la réussite de ce travail.

A Madame **Sandrine MARION-THORE**

Mes sincères remerciements pour les tests biologiques sur l'aromatase et les récepteurs aux estrogènes.

A Patrice FONDANECHÉ

Merci pour ton soutien moral, pour ton aide technique et scientifique et pour ton amitié.

A Samir YAHIAOUI

Cher Samir, tu as toujours été à mes côtés et tu m'as toujours apporté ton soutien. Pour cela, je te remercie chaleureusement. Merci également pour ton amitié et j'espère que celle-ci continuera entre nous deux.

A toute l'équipe «**BIOMOLECULES ET THERAPIES ANTITUMORALES**»

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation et au bon déroulement de cette thèse.

A mes frères et sœurs,

à mes beaux-parents,

et à tous mes amis

Je dédie spécialement cette thèse à ma femme et à mon fils Uriel
qui m'ont toujours donné le sourire dans les moments difficiles,
qui ont toujours su raviver en moi cette flamme de l'espoir pour
qu'elle ne s'éteigne jamais.

Je voudrais simplement leur dire que je les aime de tout mon cœur.

Je la dédie également à mes parents pour leur soutien inébranlable
et sans qui je ne serais pas là aujourd'hui.

TITRE

"ETUDE PHYTOCHIMIQUE D'UNE FABACEE TROPICALE, *LONCHOCARPUS NICOU* EVALUATION BIOLOGIQUE PRELIMINAIRE"

RESUME

Cette thèse s'inscrit dans le cadre de la thématique de l'EA 4021 "Biomolécules et Thérapies Antitumorales". Elle vise essentiellement la recherche de molécules naturelles d'origine végétale, dotées d'une activité antitumorale.

Lonchocarpus nicou (Aublet) D.C. est une liane tropicale de la famille des Fabacées, longtemps utilisée pour ses propriétés insecticide, acaricide et piscicide, attribuées généralement à des roténoïdes prénylés (roténone essentiellement). Ces roténoïdes dérivent biogénétiquement des isoflavonoïdes connus depuis longtemps pour leur activité estrogénique. Cela explique le choix de cette plante qui n'a pas fait l'objet d'une étude phytochimique complète, contrairement à d'autres espèces du même genre. En effet, une dizaine de composés seulement sont jusqu'alors connus de *L. nicou*. Nos travaux effectués concernent l'étude des extraits peu polaires (benzénique et hexanique) de la racine de cette plante. Ils sont développés et détaillés, après une description botanique de l'espèce et une présentation générale des molécules rencontrées dans le genre *Lonchocarpus*, puis dans l'espèce *nicou*. Cette étude phytochimique conduit à l'isolement et à la détermination structurale de trente huit molécules (dont trois sont à l'état de traces), grâce à l'utilisation de diverses techniques chromatographiques (CC, MPLC, CCM centrifuge, HPLC) et spectroscopiques (UV, RMN et SM). Ces résultats montrent une composition polyphénolique originale et diversifiée, caractérisée par quatre groupes de métabolites : chalcone (un composé), benzoquinone (un composé), isoflavonoïde (trente cinq composés) et un dérivé d'acide *para* coumarique (un composé). Outre la roténone, la déguéline et leurs deux dérivés 12 α -hydroxylés, qui s'accumulent préférentiellement dans la racine de cette plante, on distingue au niveau des autres phytoconstituants mineurs treize composés naturels nouveaux et sept autres cités pour la première fois dans le genre. Ces quatre composés majeurs ont été testés par la suite, sur les récepteurs aux estrogènes, sur l'aromatase ainsi que sur deux lignées cellulaires cancéreuses : érythroleucémique humaine (cellules HEL), ostéosarcome humain (cellules 1547), en vue d'évaluer leurs activités antiproliférative et cytotoxique. Les résultats obtenus sont satisfaisants (IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire) et ouvrent de nombreuses perspectives de recherche.

Mots-clés :

Lonchocarpus nicou, Fabacées, phytochimie, chalcone, isoflavonoïdes, roténoïdes, 6a,12a-didéhydroroténoïdes, 13-homo-13-oxa-6a,12a-didéhydroroténoïdes, coumaronochromones, *secoroténoïdes*, isolement, analyse structurale, évaluation biologique.

TITLE

"PHYTOCHEMICAL STUDY OF A TROPICAL FABACEAE, *LONCHOCARPUS NICOU* PRELIMINARY BIOLOGICAL EVALUATION"

ABSTRACT

According to the topic of our research team EA 4021 "Biomolécules et Thérapies Antitumorales", phytochemical study of *Lonchocarpus nicou* (Aublet) D. C. was conducted in order to isolate natural molecules with antitumor or anticancer activity.

Lonchocarpus nicou (Aublet) D. C. is a tropical liana of the Fabaceae family used for a long time for its insecticidal, acaricidal and piscicidal activities assigned to prenylated rotenoids (rotenone essentially). Rotenoids derived biogenetically from isoflavonoids known a long time ago for their estrogenic activity. That explains the choice of this plant which was not completely studied in contrary to those species of *Lonchocarpus* genus. Indeed, about ten compounds only were reported in previous study of this plant. After botanical description and presentation of previous phytochemical studies about *Lonchocarpus* genus and *nicou* specie, the least polar extracts (benzene and hexanic) studied in this work was developed. Their investigation led to the isolation and structural elucidation of thirty-eight molecules (in which three ultra-minor compounds) by using various chromatographicals (CC, MPLC, centrifugal TLC, HPLC) and spectroscopies (UV, RMN and SM) techniques. This showed an original and diversified polyphenolic composition characterized by four groups of metabolites: chalcone (one compound), benzoquinone (one compound), isoflavonoid (thirty five compounds), and a *para* coumaric acid derivative (one compound). Besides rotenone, deguelin and their 12 α -hydroxylated derivatives, which constituted the major components of the root of *Lonchocarpus nicou*, thirteen new metabolites were found in the other minor phytochemicals as well as seven other never cited before in *Lonchocarpus* genus. Preliminary bioassays were further conducted on the four main isolated components by evaluating their effect on estrogens receptors and on aromatase enzyme. Their antiproliferative activity and cytotoxic effect on HEL (Human Erythroleukemia) cells and 1547 cells (osteosarcoma) have been also investigated. The latter biological study gave interesting results (IC₅₀ about nanomolar) that might be explored by a solid scientific project.

keywords:

Lonchocarpus nicou, Fabaceae, phytochemistry, chalcone, isoflavonoids, rotenoids, 6a,12a-didehydrorotenoids, 13-homo-13-oxa-6a,12a-didehydrorotenoids, coumaronochromones, *seco*-rotenoids, isolation, structural analysis, biological evaluation.

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS	6
INTRODUCTION	7
1^{ère} PARTIE : ASPECTS BOTANIQUES	9
A. HISTORIQUE	9
B. CLASSIFICATION DE <i>LONCHOCARPUS NICOU</i> (AUBLET) D.C	11
I. Famille des Fabaceae	12
1. Distribution	12
2. Caractères principaux	12
2.1. Appareil végétatif	13
2.2. Appareil reproducteur	13
II. Tribu des Millettieae et genre <i>Lonchocarpus</i>	14
III. Espèce <i>Lonchocarpus nicou</i>	14
1. Synonymie	15
2. Noms vernaculaires	15
3. Description botanique	15
3.1. Caractères macroscopiques	15
3.1.1. Les feuilles	15
3.1.2. Les fleurs	16
3.1.3. La racine	17
3.2. Caractères microscopiques	17
3.2.1. Les feuilles	17
3.2.2. Le pétiole	18
3.2.3. La tige	19
3.2.4. La racine	19
C. DISTRIBUTION	20
2^{ème} PARTIE : ETUDES PHYTOCHIMIQUES ANTERIEURES	21
A. GENERALITES SUR LES FLAVONOÏDES	21
I. Introduction	21
II. Flavonoïdes	21
III. Isoflavonoïdes	23
B. ETUDES PHYTOCHIMIQUES ANTERIEURES SUR L'ESPECE <i>L. NICOU</i>	25

C. ETUDES PHYTOCHIMIQUES ANTERIEURES SUR LES AUTRES ESPECES DU GENRE <i>LONCHOCARPUS</i>	26
I. Les composés phénoliques	26
1. Les acides phénols	27
2. Les stilbènes	27
3. Les flavonoïdes	27
3.1. Les flavanoïdes au sens strict	28
3.1.1. Chalcones et dérivés	28
3.1.2. Aurones et dérivés	29
3.1.3. Flavones, flavanones, flavanes	30
3.1.3.1. Flavones, flavonols	30
3.1.3.2. Flavanones, flavanonols	31
3.1.3.3. Flavanes	33
3.2. Les Isoflavonoïdes	33
3.2.1. Isoflavones	33
3.2.2. Isoflavanes	34
3.2.3. 3-Arylcoumarines	34
3.2.4. Roténoïdes et dérivés	34
3.2.5. Ptérocarpanes	36
II. Les triterpènes	36
1. Les triterpènes stéroïdiques	36
2. Les triterpènes pentacycliques	37
III. Les composés azotés	38
1. Les acides aminés	38
2. Les alcaloïdes	38
IV. Les autres composés	38
V. Tableau récapitulatif	39
D. CONCLUSION	55
3^{ème} PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS	56
A. MATERIELS ET METHODES	57
I. Matériel végétal	57
II. Méthodes de purification	57
1. Chromatographie préparative sur couche mince (CCM prép.)	57
2. Chromatographie liquide sur colonne ouverte (CC)	57
3. Chromatographie liquide moyenne pression (MPLC)	57

4. Chromatographie liquide haute performance semi-préparative (HPLC semi-prép.)	60
5. Chromatographie circulaire centrifuge sur couche mince (CCM centrifuge)	60
III. Méthodes d'analyses	61
1. Chromatographie sur couche mince (CCM)	61
2. Chromatographie liquide haute performance analytique (HPLC)	62
3. Spectrophotométrie ultraviolet (UV)	62
4. Spectrométrie de masse (SM)	62
5. Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN)	62
B. ETUDE PHYTOCHIMIQUE	63
I. Obtention des extraits	63
II. Isolement des composés	63
1. Méthodologie générale	63
2. Fractionnement de l'extrait benzénique (Schéma 1)	64
2.1. Etude de la fraction F2 (Schéma 2)	65
2.2. Etude de la fraction F3 (Schéma 3)	65
2.3. Etude de la fraction F4 (Schéma 4)	67
2.4. Etude de la fraction F5 (Schéma 5)	67
2.5. Etude de la fraction F6 (Schéma 6)	69
2.6. Etude de la fraction F7 (Schéma 7)	71
2.7. Etude de la fraction F8 (Schéma 8)	71
2.8. Etude de la fraction F9 (Schéma 9)	72
2.9. Etude de la fraction F10 (Schéma 10)	72
2.10. Etude de la fraction F11 (Schéma 11)	74
3. Etude succincte de l'extrait hexanique (Schéma 12)	75
III. Analyse structurale des composés isolés	77
1. Chalcone	80
2. Isoflavonoïdes	82
2.1. Roténoïdes	82
2.1.1. Roténoïdes parents	83
2.1.2. Roténoïdes substitués	86
2.1.2.1. Dérivés de la roténone	86
2.1.2.2. Dérivés de la déguéline	92
2.1.2.3. Dérivé de l'acide rot-2'-énonique	101
2.2. Didéhydroroténoïdes	101
2.2.1. 6a,12a-Didéhydroroténoïdes	102
2.2.2. 6-Hydroxy-6a,12a-didéhydroroténoïdes	104

2.2.3. 6-Oxo-6a,12a-didéhydroroténoïdes	105
2.3. 13- <i>Homo</i> -13-oxa-didéhydroroténoïdes	108
2.4. Coumaronochromones	111
2.5. <i>Seco</i> -roténoïdes	113
2.6. Pterocarpanes	117
3. Divers	120
3.1. Diméthoxybenzoquinone	121
3.2. Acide coumaroylpalmitique	122
4. Traces	123
4.1. Hydroxyroténoïdes	123
4.2. Diméthylpyranoisoflavone	125
C. ESSAIS BIOLOGIQUES	129
I. Rappel sur l'activité biologique des roténoïdes	129
II. Effets des roténoïdes sur la prolifération cellulaire et évaluation de leur cytotoxicité	130
1. Effets des roténoïdes sur la prolifération cellulaire (test au MTT)	131
1.1. Mode opératoire	131
1.1.1. Lignée cellulaire 1547	131
1.1.2. Lignée cellulaire HEL	131
1. 2. Résultats et interprétations	132
2. Test de cytotoxicité : Activité de la lactate déshydrogénase (LDH)	137
2. 1. Mode opératoire	138
2. 2. Résultats et interprétations	138
3. Détermination et interprétation des concentrations inhibitrices de 50% des cellules (IC ₅₀)	141
4. Conclusion	142
4^{ème} PARTIE : DISCUSSION ET CONCLUSION	144
A. DISCUSSION	144
I. Hypothèse sur l'origine biosynthétique des roténoïdes naturels isolés de <i>L. nicou</i>	144
II. Difficultés de séparation	146
1. Comportements Chromatographiques	147
2. Polarité des différents groupes de composés isolés	148
III. Comportement en RMN ¹H des deux familles d'isomères	149
1. L'influence de la stéréochimie en position 12a sur le déplacement chimique de H-1	151
2. L'influence de la double liaison en 6a,12a sur le déplacement chimique de H-1	151
IV. Comportement en SM des roténoïdes	151
V. Activité biologique des quatre roténoïdes testés	153

B. CONCLUSION	154
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	156
ANNEXES	169
LISTE DES TABLEAUX	180
LISTE DES FIGURES	182
LISTE DES SCHEMAS	184

ABREVIATIONS

CC	Chomatographie liquide sur Colonne ouverte
CD	Circular Dichroism
C ₆ D ₆	Benzène deutérié
C ₅ D ₅ N	Pyridine deutériée
CDCl ₃	Chloroforme deutérié
CD ₃ OD	Méthanol deutérié
C ₆ H ₁₄	Hexane
C ₆ H ₅ CH ₃	Toluène
CH ₂ Cl ₂	Dichlorométhane
CHCl ₃	Chloroforme
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
COSY	COrelated SpectroscopY
¹³ C	Spectre de carbone -13 "off resonance"
¹³ C DEPT	Spectre de carbone -13 réalisé en Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
¹³ C J _{mod}	Spectre de carbone -13 réalisé en J modulation
DMA	Diméthylallyle
DMP	Diméthylpyrane
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO	Densité optique
EIMS	Electronic Impact Mass Spectrometry
ESMS	Electrospray Mass Spectrometry
EtOAc	Acétate d'éthyle
<i>et al.</i>	<i>et alii</i> (et autres auteurs)
FAB	Fast Atom Bombardment
Gal	Galactosyl
Glc	Glucosyl
HEL	Human Erythroleukemia
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
<i>i</i> PrOH	Isopropanol
<i>J</i> (Hz)	Constante de couplage exprimée en Hertz
LDH	Lactase Déshydrogénase
<i>m/z</i>	Masse / charge
MeCOEt	Méthyléthylcétone (Butanone)
MeOH	Méthanol
MPLC	Medium Pressure Liquid Chromatography
MTT	3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromide
NADH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
PDHF	<i>iso</i> Propényldihydrofurane
<i>R_f</i>	Rapport frontal
Rha	Rhamnosyl
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
SiO ₂	Silice
TMS	Triméthylsilane
<i>T_r</i>	Temps de rétention
UV	Ultraviolet
δ (ppm)	Déplacement chimique exprimé en ppm
λ _{max}	Longueur d'onde maximale d'absorbance

INTRODUCTION

L'étude phytochimique de *L. nicou*, une Fabacée tropicale, à l'origine de cette thèse, est réalisée au laboratoire de Pharmacognosie et de Phytochimie de la Faculté de Pharmacie de Limoges. Elle s'inscrit dans le cadre de la thématique de l'EA 4021 « Biomolécules et Thérapies Antitumorales » qui vise essentiellement la recherche de molécules naturelles d'origine végétale dotées d'une activité antitumorale.

Lonchocarpus nicou (Aublet) DC, a été retenue dans le cadre de ce programme principalement par des critères chimiotaxonomiques. En effet, cette plante appartient à la famille des Fabaceae qui sont bien connus pour leur richesse en flavonoïdes et plus précisément en isoflavonoïdes. Les flavonoïdes au sens large représentent un groupe de composés polyphénoliques, qui couvrent un vaste domaine d'activités biologiques. Ils sont connus surtout pour leurs propriétés antioxydantes, veinotoniques et leurs aptitudes à modifier l'activité des systèmes enzymatiques et interagir avec les récepteurs cellulaires. Ils sont également connus pour leurs activités antibactérienne, antivirale, anti-inflammatoire, hépatoprotectrice, antiproliférative, estrogénique et/ou anti-estrogénique. Les isoflavonoïdes, sont connus pour leur capacité à se fixer sur les récepteurs aux estrogènes conduisant à une activité estrogénique et/ou anti-estrogénique. Ce sont également des inhibiteurs des tyrosine-kinases, enzymes qui joueraient un rôle dans les processus de régulation de la transformation et de la prolifération cellulaires [HARBORNE, 1994]. Plusieurs études ont montré que les isoflavonoïdes de soja auraient un effet préventif dans le cas des cancers du sein et de la prostate (cancers hormono-dépendants), ainsi que dans celui du cancer colorectal [HARBORNE, 1994].

Comme *Lonchocarpus nicou*, des plantes appartenant à plusieurs genres d'origine tropicale de la famille des Fabaceae (*Deguelia*, *Derris*, *Millettia*, *Mundulea*, *Piscidia*, *Tephrosia* ...) sont utilisées pour leur propriété insecticide attribuée notamment à des dérivés biosynthétiques prénylés d'isoflavonoïdes, en particulier les roténoïdes [HARBORNE, 1994]. Les manuscrits de plus de deux mille ans, révèlent qu'en Afrique, Amazonie et Indonésie, ces plantes ont été principalement utilisées comme poison destiné aux poissons, ceci afin d'augmenter le rendement de la pêche. Ainsi, pendant des millénaires, les populations indigènes d'Amérique, d'Afrique et d'Indonésie avaient curieusement le même usage de ces plantes dites ichtyotoxiques [MORETTI et GRENAND, 1982].

L. nicou est une plante originaire du Pérou et actuellement répartie un peu partout en Amérique du sud. Contrairement à d'autres espèces du genre, cette liane tropicale n'a pas fait l'objet d'une étude phytochimique complète. Jusqu'à présent seule une dizaine de molécules dont la plupart sont des roténoïdes ont été répertoriées dans cette plante [GEOFFROY, 1895 ; KAOUADJI *et al.*, 1986 ; KAOUADJI, 1988].

La première partie de ce travail concerne tout d'abord l'étude bibliographique de la plante. Cette étude commence par une description botanique de *L. nicou*, description qui permet de positionner cette espèce dans la systématique des Fabaceae. Elle se poursuit par une synthèse des principaux résultats phytochimiques antérieurs relatifs aux espèces du genre *Lonchocarpus*, y compris *L. nicou*.

Le deuxième volet est consacré aux résultats phytochimiques personnels obtenus à partir des racines de *L. nicou*. Cette partie décrit l'isolement, la purification et la caractérisation structurale de trente huit molécules ainsi que les techniques chromatographiques et spectroscopiques utilisées à cet effet.

Enfin le dernier volet de ce travail, présente les effets biologiques des molécules majoritaires isolées sur la prolifération de cellules cancéreuses et notamment les cellules érythroleucémiques humaines (lignée HEL) et celles de l'ostéosarcome humain (lignée 1547) ainsi que l'évaluation de leur cytotoxicité.

1^{ère} PARTIE

ASPECTS BOTANIQUES

A. HISTORIQUE

L'étude botanique de *Lonchocarpus nicou* (Aublet) D.C. reste difficile, limitée et très controversée car cette espèce a fait l'objet de très peu d'études descriptives faute de bons échantillons botaniques. Il en est de même pour le genre *Lonchocarpus*.

La première description de cette plante est faite en 1775 par Aublet lors de ses prospections de la flore guyanaise. Il récolte dans la région de Roura une liane ichtyotoxique (toxique pour les poissons), nommée *nicou* par les Galibis (peuple indigène), qu'il décrit de façon détaillée sous le nom de *Robinia nicou*. Ce nom est gardé par E. Geoffroy lors de son étude en 1895. Par la suite il est remplacé par celui de *Lonchocarpus nicou* et c'est ainsi que l'on désigne dans la plupart des ouvrages, même récents, cette plante dont la culture est surtout développée au Pérou.

En 1930, Killip et Smith signalent trois espèces de *Lonchocarpus* dans le Bassin de l'Amazone : *L. nicou* D.C., *L. floribundus* Benth., et *L. urucu* Killip et Smith. Selon eux, *L. nicou* reste l'espèce la plus répandue et la plus cultivée, surtout en Guyane française tandis que *L. urucu*, également une forme cultivée, se rencontre principalement au Brésil. D'après certains auteurs, les deux premières espèces ne sont absolument pas différentes l'une de l'autre et ne constituent vraisemblablement qu'une seule espèce [CHEVALIER, 1937a].

Aujourd'hui, plusieurs espèces de *Lonchocarpus* sont encore cultivées, comme *L. nicou* D.C., par les indiens dans les bassins de l'Amazone. Ces plantes renferment de la roténone et sont utilisées par les indigènes pour la pêche. Elles peuvent avoir plusieurs appellations locales comme par exemple celle de « *Timbo* ». Il existe plusieurs sortes de « *Timbo* » : la plus appréciée, d'après Killip et Smith est le « *Timbo legitimo* », une forme de *L. nicou* D.C. cultivée et sélectionnée pour sa richesse en roténone et que l'on trouve au Pérou. Cette dernière est décrite par le botaniste Ducke comme étant *L. nicou*. Pour Killip et Smith, après analyse et comparaison de l'espèce cultivée avec la description d'Aublet concernant *Robinia nicou*, il s'agirait plutôt de deux espèces différentes.

L. urucu Killip et Smith découvert à Gurupa dans l'état de Para (Brésil), est une nouvelle espèce.

La plante nommée par Aublet, *Robinia nicou* Aublet, n'est connue qu'à travers un très mauvais spécimen conservé au *British Museum*. Pour Killip et Smith, le spécimen n'est autre que *L. nicou* D.C., plante qu'ils ont vue à l'état cultivé dans le Bassin de l'Amazone [KILLIP et SMITH, 1930].

Pour Chevalier et son équipe, après examen des échantillons de *L. nicou* de l'herbier du Museum (récoltés par C.L. Richard à la Guyane française) et ceux de *L. floribundus* Benth. (récoltés à la Guyane anglaise par Schomburgk, n° 238), ces deux espèces ne constituent en réalité qu'une seule. Dans le même temps ils émettent de sérieux doutes sur le fait que *Robinia nicou* Aublet soit identique à *Lonchocarpus nicou* D.C.

Jusqu'en 1937, l'espèce appelée *Lonchocarpus nicou* (Aublet) D.C. a toujours été considérée comme étant identique au *Robinia nicou* Aublet. Le botaniste Smith, le même qui avait travaillé avec Killip en 1930, sept ans plus tard, s'interroge sur le rapprochement de *L. nicou* cultivé en Amazonie péruvienne et brésilienne avec *Robinia nicou* de Aublet [KRUKOFF et SMITH, 1937]. Ainsi, il préconise, après une étude approfondie de la question, de décrire cette espèce comme étant une nouvelle plante en lui attribuant un nom spécifique, *L. utilis* A.C. Sm., au lieu de continuer de l'appeler de façon erronée *L. nicou*.

Pour Macbride en 1943 [MACBRIDE, 1943], *L. utilis*, *R. nicou* et *L. nicou* ne sont que des synonymes de *Derris nicou* (Aublet).

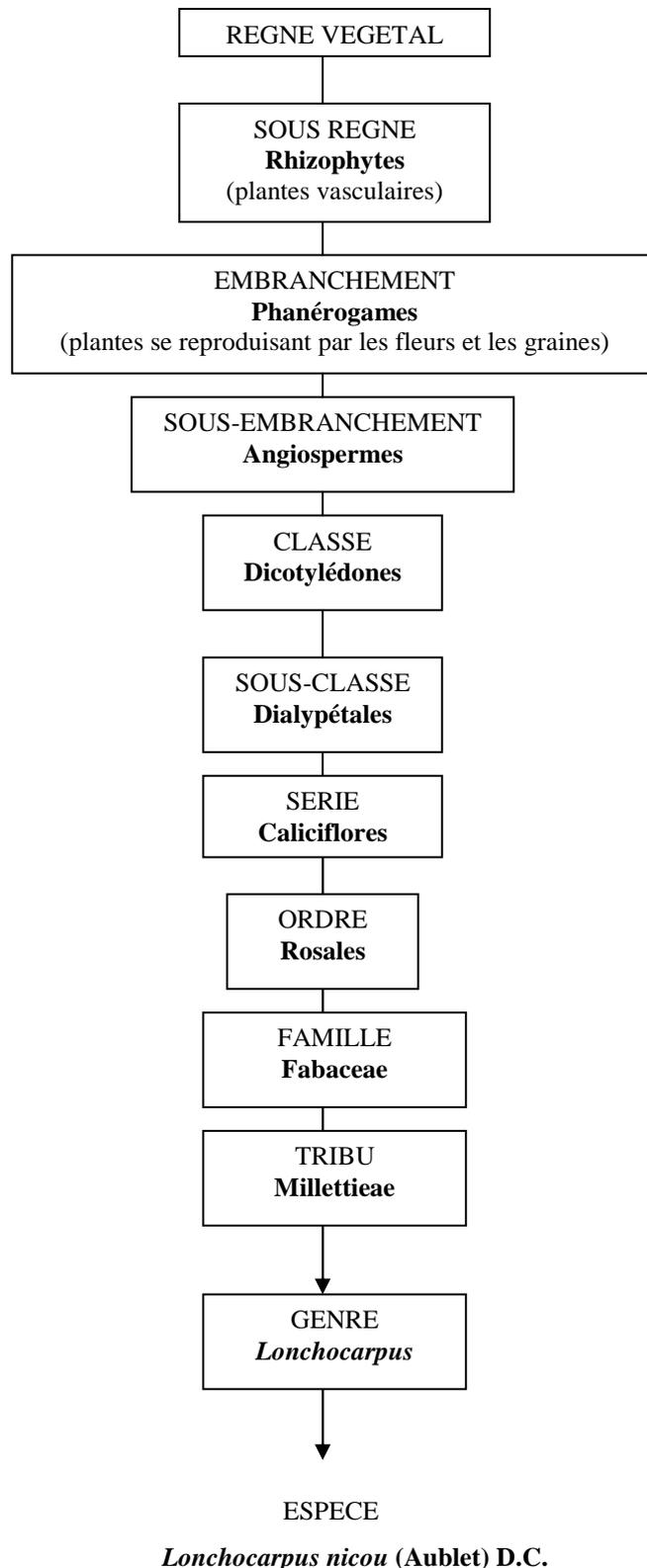
Hermann (1947) souligne la ressemblance de ces trois plantes avec *L. urucu* Killip et A. C. Smith. Il affirme que, pour tous ces échantillons, il existe des nuances dans les caractères morphologiques difficiles à décrire et à identifier. Pour ces raisons, il décide de les traiter en tant que variétés géographiques de l'espèce polymorphe *L. nicou* (Aublet) D.C., au lieu de les considérer comme des espèces à part entière [HERMANN, 1947]. Ainsi, il établit quatre variétés de *L. nicou* dont *L. nicou* var *languidus*, *L. nicou* var *urucu*, *L. nicou* var *typicus* et *L. nicou* var *utilis*. Toutes ces variétés diffèrent entre elles par la morphologie des feuilles (surtout au niveau de l'apex), des folioles et des nervures.

La description de *Lonchocarpus utilis* (nom donné par Smith) est reprise très récemment en 1998, par De Azevedo Tozzi. Selon cet auteur, la description de Smith est incomplète car elle est réalisée à partir du matériel végétal stérile (sans organes reproducteurs). L'étude botanique de De Azevedo Tozzi prend en compte les organes reproducteurs et montre que l'espèce appartient plutôt au genre *Deguelia* qu'à celui de *Lonchocarpus* comme l'affirme Smith [TOZZI, 1998].

Comme nous pouvons le constater, l'étude botanique et plus précisément la dénomination scientifique exacte de *L. nicou* reste jusqu'aujourd'hui encore très confuse et constitue un véritable problème de systématique pour les botanistes.

B. CLASSIFICATION DE *LONCHOCARPUS NICOU* (AUBLET) D.C.

La classification botanique de cette plante peut être résumée de la façon suivante sous forme d'arbre phylogénique.



Pour bien situer *Lonchocarpus nicou* dans la systématique, nous ferons dans un premier temps une description succincte des Fabaceae, famille à laquelle appartient cette plante. Nous aborderons par la suite les caractéristiques de la tribu des Millettieae puis du genre *Lonchocarpus*, avant de décrire de façon détaillée, les caractères botaniques de l'espèce *L. nicou*.

I. FAMILLE DES FABACEAE [De WIT, 1963 ; BHATTACHARYYA et JOHRI, 1998]

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

Les Fabaceae représentent une grande famille constituée de plantes ligneuses (zones tropicales) et herbacées (zones tempérées) avec quelques arbres et arbustes qui regroupe environ 12 000 espèces réparties en 400 à 500 genres. Cette famille se divise en plusieurs tribus dans lesquelles les genres sont groupés selon le port de la plante, la forme des feuilles et le degré de fusion des étamines.

Les différentes tribus qui composent cette famille sont :

-Abreae	-Dalbergieae	-Mimoseae
-Adesmieae	-Desmodieae	-Mirbelieae
-Acacieae	-Detarieae	-Mimozygantheae
-Aeschynomeneae	-Dipterygeae	-Parkieae
-Amorpheae	-Euchresteeae	-Phaseoleae
-Bossiaceae	-Galegeae	-Podalyrieae
-Brongniartieae	-Genisteeae	-Psoraleeae
-Caesalpinieae	-Hedysareae	-Robinieae
-Carmichaelieae	-Indigofereae	-Sophoreae
-Cassieae	-Ingeae	-Swartzieae
-Cercideae	-Liparieae	-Thermopsidaeae
-Cicereae	-Loteae	-Trifolieae
-Crotalarieae	-Millettieae	-Vicieae

1. DISTRIBUTION

La distribution des Fabaceae est très cosmopolite. On les trouve partout dans le monde.

2. CARACTERES PRINCIPAUX

Les plantes de la famille des Fabaceae possèdent plusieurs caractères botaniques en commun.

2.1. Appareil végétatif [De WIT, 1963]

Les **feuilles** sont généralement alternes, pennées ou trifoliolées et stipulées. Cependant on peut noter quelques légères variations :

- la foliole finale peut être absente ou en forme de vrille.
- les folioles sont remplacées par des épines (cas de l'ajonc).
- les stipules font place à des épines (c'est le cas du robinier faux acacia).
- le nombre de folioles peut être réduit (cas du trèfle et du genêt).
- la nervation peut être de type palmée (cas du lupin).

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

2.2. Appareil reproducteur [De WIT, 1963 ; BHATTACHARYYA et JOHRI, 1998]

Toutes les Fabaceae possèdent un seul carpelle et un unique ovaire. Celui-ci est supère et surmonté d'un style et d'un stigmate.

Les **inflorescences** sont des grappes plus ou moins allongées.

Les **fleurs** sont cyclisées, hermaphrodites et fortement zygomorphes par la corolle.

La **corolle** présente une forme dite « papilionacée » c'est à dire à symétrie bilatérale et une préfloraison imbriquée, descendante ou vexillaire. Elle est constituée de cinq pétales disposés en forme de papillon. Le pétale dorsal (postérieur), vexillum ou plus couramment étendard, recouvre les deux pétales latéraux ou ailes. Ces derniers, recouvrent à leur tour, les deux pétales inférieurs, libres ou unis par leur bord interne sur une certaine longueur. Ces deux pièces inférieures constituent ensemble la carène qui renferme l'androcée et le gynécée.

L'**androcée** compte dix étamines qui peuvent être libres (genre *Sophora*). Elles s'unissent le plus souvent par leurs filets, formant un tube autour du carpelle. Elles peuvent aussi être soudées entre elles et l'androcée est alors monadelphie (genre *Cytisus*). L'androcée est diadelphie quand neuf étamines sont unies en un tube ouvert en arrière et que l'étamine postérieure reste libre (genre *Vicia*) [De WIT, 1963].

Le **gynécée** ou pistil libre est représenté par un carpelle allongé avec un ovaire généralement pluriovulé, surmonté d'un style de forme variable.

Le **fruit** est une gousse qui s'ouvre souvent à maturité. Celle-ci peut présenter, lorsqu'elle est indéhiscente des étranglements entre les graines (gousse lomentacée). Elle est sèche ou charnue, aplatie ou comprimée, ailée ou non, verdâtre ou de couleur vive et sa taille va de quelques millimètres à une trentaine de centimètres. Le nombre d'ovules est variable. Ils évoluent pour former une graine exalbuminée qui est d'ailleurs souvent riche en composés à haute valeur alimentaire comme :

- l'amidon (pois, fèves, lentilles).

- les lipides (arachides, graines de soja).
- les protéines (à hauteur de 40% dans les graines de soja).

II. TRIBU DES MILLETTIEAE ET GENRE *Lonchocarpus* [NEUWINGER, 1996]

Le genre *Lonchocarpus* fait partie de la tribu des Millettieae. Celle-ci est composée essentiellement de plantes ligneuses aux feuilles pennées avec 5 ou plusieurs paires de folioles. Les fruits monospermes sont indéhiscents et à paroi sèche ou charnue. Ces plantes se retrouvent en particulier dans les régions intertropicales.

La tribu des Millettieae est composée d'une vingtaine de genres : *Afgekia*, *Aganope*, *Antheroporum*, *Callerya*, *Chadsia*, *Craibia*, *Craspedolobium*, *Cyclolobium*, *Dahlstedtia*, *Deguelia*, *Derris*, *Fordia*, *Hesperothamnus*, *Lonchocarpus*, *Millettia*, *Mundulea*, *Piscidia*, *Platycyamus*, *Platysepalum*, *Poecilanthus*, *Pongamia*, *Sarcodum*, *Tephrosia* et *Wisteria* [SOUTHON, 1994].

Les *Lonchocarpus* sont des lianes qui sont très difficiles à différencier les unes des autres. On les rencontre dans les régions tropicales d'Afrique et d'Amérique du sud où elles sont cultivées pour leurs racines qui renferment des roténoïdes (en particulier la roténone) à propriétés ichthyotoxiques et insecticides [CHEVALIER, 1937a ; BRUNETON, 1999]. Ce genre comporte environ deux cents espèces voire plus [SOUTHON, 1994].

L'identification des espèces du genre *Lonchocarpus* n'est pas aisée, ni par leur apparence extérieure ni par l'étude de leurs caractères botaniques, du fait de leur proximité et de leur similitude avec d'autres espèces des genres voisins comme *Derris*, *Deguelia*, *Millettia*, *Tephrosia*. La rareté et la hauteur de leurs fleurs offrent des obstacles sérieux à toute description botanique rigoureuse. L'identification des espèces est rendue plus difficile encore par une abondante synonymie populaire [PERROT, 1944].

Les *Lonchocarpus* présentent des **feuilles** alternes, imparipennées et ailées. Les **fleurs** sont souvent rares ou apparaissent seulement à partir d'un certain âge. Les **fruits** sont sous forme de gousses coriaces et aplaties.

III. ESPECE *Lonchocarpus nicou* [GEOFFROY, 1895 ; MORETTI et GRENAND, 1982]

Très peu d'études sur la description botanique de *L. nicou* sont relatées dans la littérature. Les tentatives faites pour clarifier la taxonomie et l'ethnobotanique de *L. nicou* et des plantes ichthyotoxiques d'Amérique tropicale en général sont peu nombreuses et surtout très confuses alors que l'usage de cette plante est très répandu. Une des difficultés majeures concernant l'identification de ces plantes est qu'elles sont le plus souvent désignées, soit d'un terme générique d'origine européenne (*nivrée* pour la Guyane française, *barbasco* pour les pays de langue espagnole) soit d'un mot amérindien désignant à l'origine un groupe de plantes ou même une espèce précise. Par la

suite, les populations néo-coloniales ont étendu ces appellations à l'ensemble des plantes ichtyotoxiques ; c'est le cas de *timbo* pour le Brésil et de *nekoe* pour le Surinam [MORETTI et GRENAND, 1982].

Malgré toutes ces difficultés autour de l'identification et de la description botanique exacte des *Lonchocarpus* d'Amérique tropicale et après analyse des arguments des différents auteurs, nous pouvons suggérer que *Robinia nicou*, *Lonchocarpus utilis*, *Deguelia utilis* et/ou *Lonchocarpus nicou* ne désignent peut être qu'une seule et même espèce. La morphologie de cette dernière varie en fonction des conditions environnementales diverses telles que le type de végétation, le sol, l'ensoleillement, l'humidité etc. Toutes ces raisons aboutissent à des "modèles" qui peuvent être interprétés comme taxonomiquement distincts mais qui en réalité traduisent des variations morphologiques qui sont mieux détectées après examen d'un grand nombre d'échantillons.

Ainsi, la description botanique qui suit sera essentiellement basée sur celle de Geoffroy, [GEOFFROY, 1895] faite en 1895.

1. SYNONYMIE [CHEVALIER, 1937a ; MORETTI et GRENAND, 1982 ; TOZZI, 1998].

- *Deguelia utilis* (A.C. Sm) A. M. G. Azevedo
- *Derris utilis* (A.C. Sm) Ducke, *D. nicou* (Aublet) J. F. Macbride
- *Lonchocarpus nicou* D.C., *L. floribundus* Benth., *L. utilis* A. C. Smith, *L. urucu* Killip et Smith
- *Robinia nicou* Aublet

2. NOMS VERNACULAIRES

Lonchocarpus nicou est connu sous différents noms suivant les pays et les régions considérés : *barbasco* (pour les pays de langue espagnole), *nicou*, *nivrée* ou encore *niwoué* (Guyane française), *timbo* (Brésil), *cabé* (Pérou), *nekoe*, *inekou* (Surinam).

3. DESCRIPTION BOTANIQUE [GEOFFROY, 1895].

Lonchocarpus nicou est une liane d'origine tropicale dont les différentes parties vont être décrites ci-dessous.

3.1. Caractères macroscopiques

3.1.1. Les feuilles

Les feuilles sont alternes, imparipennées et ailées. Leur nombre est de trois de chaque côté (Figure 1). Le pétiole porte à sa naissance deux petites stipules.

Les folioles sont vertes à l'état frais et d'un vert brunâtre lorsqu'elles sont sèches. Leur taille est très variable. Les folioles inférieures peuvent atteindre 25 cm de long sur 12 cm de large, et les

supérieures, 8 sur 4 cm. Leur forme est sensiblement ovale. Elles se terminent par une longue pointe recourbée vers la droite.

Les nervures secondaires, au nombre de dix environ de chaque côté de la nervure médiane, sont bien plus accentuées sur la face inférieure que sur la face supérieure (Figures 1 et 2).



Figure 1 : Feuilles de *Lonchocarpus nicou*
[FIELD MUSEUM, 2005].



Figure 2 : Foliole agrandie de *L. nicou*
[FIELD MUSEUM, 2005].

Les folioles portent, surtout à la face inférieure, de nombreux petits poils bruns formant un feutrage très délicat, que l'on peut voir à l'œil nu. Ces poils ne sont visibles sur la face supérieure que sur les nervures et avec l'aide d'une loupe.

Les bords de la foliole sont nets, lisses, sans aucune échancrure ; le pétiole est très court.

3.1.2. Les fleurs

De l'aisselle des feuilles naît un épi de fleurs. Cet épi est composé de pseudo-grappes multiflores agglomérées, disposées de façon verticillée ; l'axe du premier ordre est strié, ligneux, légèrement pubescent jusqu'à 20 cm de long, fleuri depuis presque la base.

Le calice roux et tomenteux (4-5 mm de long) forme une seule pièce arrondie et comporte cinq dents inégales, aiguës dont les extrémités sont obtuses et garnies régulièrement de cils.

La corolle blanche, très légèrement violacée à la base de l'étendard, est composée de cinq pétales attachés par un petit onglet à la paroi inférieure et interne du calice. Le pétale supérieur est large, étendu et relevé (Figure 3).

Les deux pétales latéraux sont longs, en forme d'aile tandis que les deux inférieurs sont petits, concaves, appliqués l'un contre l'autre.

Les étamines sont au nombre de dix dont neuf réunies en un faisceau et une séparée. Elles sont placées sur le fond du calice, au-dessous de l'insertion des pétales ; les anthères sont ovoïdes, jaunes et à deux loges.

Le pistil est oblong, comprimé, surmonté d'un style coudé terminé par un stigmate obtus.

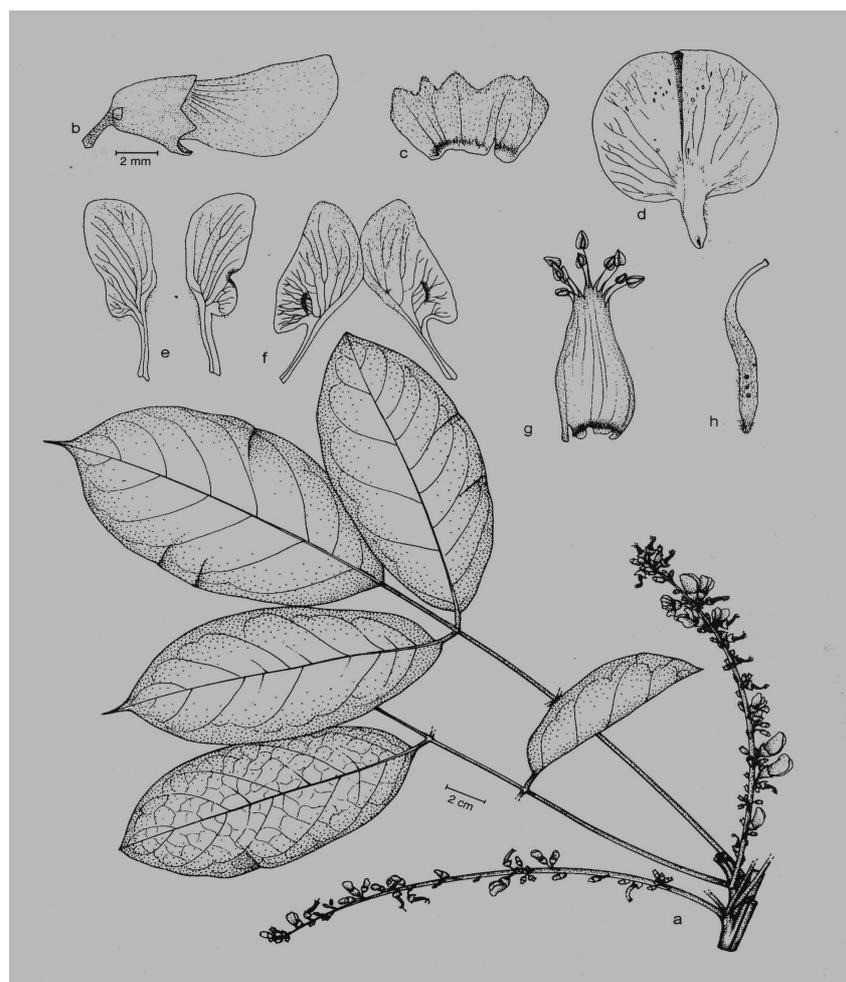


Figure 3 : *Deguelia utilis* (A. C. Sm.) A. M. G. Azevedo = *Lonchocarpus nicou* (Aublet) D.C.

(a). rameau et inflorescence ; (b). fleur ; (c – g). différentes parties de la fleur : (c). calice ; (d). étendard ; (e). ailes ; (f). carène ; (g). androcée ; (h). gynécée [TOZZI, 1998].

3.1.3. La racine [CHEVALIER J. et CHEVALIER M., 1937b ; PERROT 1944]

Elle est d'un brun jaunâtre, plus ou moins arquée. Sa surface est plissée de sillons longitudinaux. Sa coupe montre une écorce légèrement brune, épaisse de 1 mm entourant un bois plus clair à vaisseaux bien formés, visibles à l'œil nu. Les rayons médullaires sont nettement visibles. Les radicelles sont rares, les cicatrices elliptiques sont très aplaties dans le sens transverse et protubérantes. La cassure est fibreuse et laisse voir un duvet de fibres sclérifiées sur les tranches.

3.2. Caractères microscopiques

Toutes les parties de la plante ont été étudiées également pour leurs caractères microscopiques [GEOFFROY, 1895]. Les figures qui suivent montrent les différents tissus et les particularités de ces parties.

3.2.1. Les feuilles

Vu de face, l'épiderme supérieur ne présente rien de remarquable. Toutefois, on constate l'absence complète de stomate.

Des poils très rares sont localisés sur les nervures de la feuille. Ils ont un diamètre de 0,2 à 0,3 mm et sont entièrement couchés sur la surface de la feuille. Ces poils appelés poils flagellifères se composent de trois cellules (Figure 4).

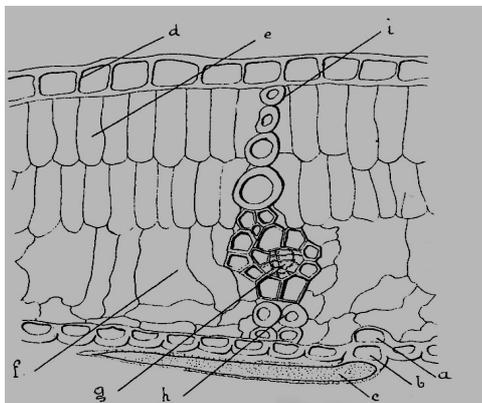


Figure 4 : Coupe transversale du limbe de *L. nicou*

(a) pied ; (b) manche ; (c) flagellum ; (d) épiderme ; (e) cellules palissadiques ; (f) parenchyme lacuneux
(g) liber ; (h) sclérenchyme ; (i) pilier de sclérenchyme [GEOFFROY, 1895].

3.2.2. Le pétiole

Au niveau du pétiole, la symétrie par rapport à un plan est bien apparente. Sa structure est semblable à celle de la nervure médiane de la feuille. On trouve sur son épiderme des poils et des stomates disposés à droite et à gauche du plan de symétrie. Au-dessous de la face supérieure, apparaissent deux faisceaux libéro-ligneux de structure semblable à celle du faisceau central (Figure 5). La moelle est assez abondante et complètement lignifiée. Les membranes des cellules de

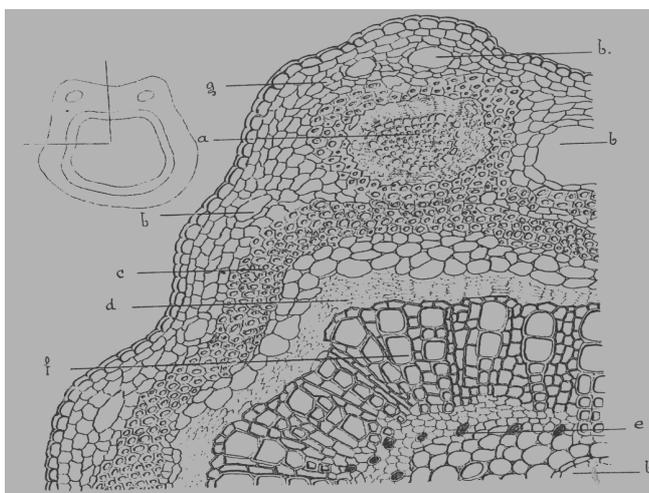


Figure 5 : Coupe transversale du pétiole

(a) faisceau libéro-ligneux accessoire ; (b) poche sécrétrice ; (c) fibres péricycliques ;
(d) liber ; (e) cellules à tanins (f) bois (g) parenchyme [GEOFFROY, 1895].

la moelle sont épaissies et finement ponctuées. Certaines sont très allongées et peuvent atteindre plusieurs millimètres. De pareilles cellules se rencontrent aussi, mêlées à d'autres plus petites, dans le liber.

3.2.3. La tige

Elle est constituée, au niveau du suber de 20 à 25 assises formées de cellules aplaties (Figure 6). Quelques-unes de ces cellules ont leurs membranes épaissies et lignifiées à la façon des cellules scléreuses, tout en conservant la forme des cellules subéreuses.

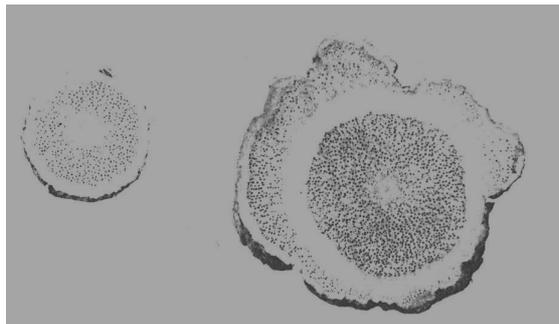


Figure 6 : Coupe transversale de la tige [GEOFFROY, 1895].

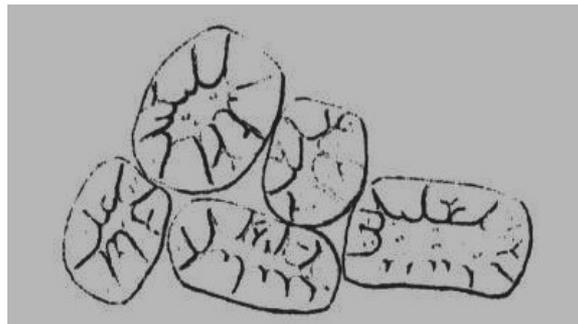


Figure 7 : Vue microscopique des cellules scléreuses [GEOFFROY, 1895].

Après le suber, on trouve un parenchyme à membranes cellulósiques contenant des cellules scléreuses (Figure 7), réunies par 4 ou 5 et une zone non interrompue de ces mêmes cellules disposées sur 3 ou 4 rangs.

3.2.4. La racine

Le suber est très peu important. Le parenchyme cortical présente des grandes cellules cellulósiques, arrondies, à méats. Le péricycle est lignifié et discontinu. Les cônes libériens sont étroits et présentent un liber collenchymateux ou à parois minces plus ou moins écrasées. On remarque aussi la présence de nombreux faisceaux de fibres sclérifiées.

Le bois est important avec des vaisseaux peu nombreux, entourés de 2 à 3 couches de cellules lignifiées. On distingue aussi des couches discontinues de fibres sclérifiées. Les rayons médullaires sont nombreux, rectilignes, de 2 à 5 cellules de large, cellules à parois minces cellulósiques et allongées dans le sens radial. La moelle est peu abondante et est constituée de cellules cellulósiques polygonales sans méats (Figure 8).

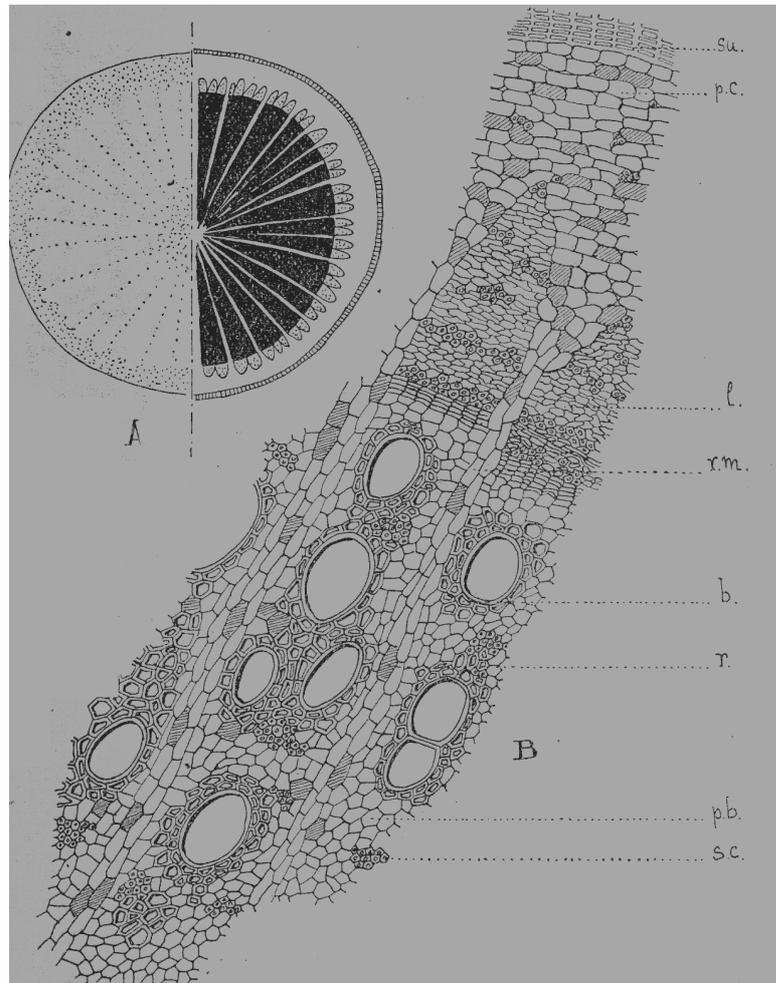


Figure 8 : Coupe de la racine de *L. nicou* [CHEVALIER J. et CHEVALIER M., 1937b].

A. Coupe transversale (Grossissement x 10).

B. Coupe détaillée: *Su*, suber ; *pc*, parenchyme cortical ; *l*, liber ; *rm*, rayons médullaires ; *b*, bois ; *r*, cellules à roténone ; *pb*, parenchyme ligneux cellulosique ; *sc*, fibres (Grossissement x 300).

-Localisation de la roténone dans la racine [CHEVALIER J. et CHEVALIER M., 1937b]

La roténone se présente en masse amorphe, granuleuse, à l'aspect cireux de couleur jaune ou brune suivant l'épaisseur des amas. Elle se localise dans des cellules cellulosiques de grandes dimensions et s'observe dans le parenchyme cortical, surtout au dessous du suber et à la sortie des rayons médullaires. Elle est retrouvée également dans les rayons médullaires, dans le parenchyme du bois cellulosique et dans le parenchyme de la moelle.

C. DISTRIBUTION

Lonchocarpus nicou est originaire d'Amérique du sud. On le rencontre surtout au Pérou et plus précisément dans les contrées d'Ayacucho, de Junin, de Loreto, de Madre de Dios et de San Martin. On le retrouve également au Brésil, en Guyane française, au Vénézuéla, au Surinam, en Colombie et en Equateur.

2^{ème} PARTIE

ETUDES PHYTOCHIMIQUES

ANTERIEURES

Les métabolites secondaires des plantes appartenant à la famille des Fabacées, en particulier dans la tribu des Millettiées, sont très nombreux et très variés. Pour cela, nous nous limiterons, en ce qui concerne les études phytochimiques antérieures, à l'espèce *Lonchocarpus nicou* puis au genre *Lonchocarpus*. La plupart des produits naturels signalés et répertoriés dans le genre *Lonchocarpus*, appartiennent au grand groupe des composés polyphénoliques et plus précisément aux flavonoïdes. On retrouve également quelques composés de la famille des triterpènes et des composés azotés dont des alcaloïdes. Comme les flavonoïdes représentent plus de 90% des produits répertoriés, les diverses structures de ces produits sont présentées ci-dessous sous forme de rappel des généralités sur les flavonoïdes.

A. GENERALITES SUR LES FLAVONOÏDES

I. INTRODUCTION

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On attribue à ces flavonoïdes des propriétés variées : veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, anti-allergique, antispasmodique, anti-bactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ou anti-estrogénique etc. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires.

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On distingue différents types de noyaux : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, flavylum, chalcones, aures, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes, ptérocarpanes, coumaronochromones, 3-arylcoumarines, coumestanes, roténoïdes etc. Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune. Ce groupe de composés est défini par une structure générale en C₁₅, caractérisée par un enchaînement Ar-C₃-Ar. Les flavonoïdes "*lato sensu*", comprennent les flavonoïdes "*stricto sensu*" (flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, flavylum, chalcones, aures) et les isoflavonoïdes.

II. FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes "*stricto sensu*" dérivent d'une structure 1,3-diphénylpropane. L'enchaînement propanique est le plus souvent sous forme d'hétérocycle pyranique, à l'exception de deux groupes : les chalcones et les aures (Figure 9). Au plan biosynthétique, les flavonoïdes résultent de la condensation de 3 unités C₂ (sous forme de 3 malonyl-CoA) qui va former le noyau A et d'un acide cinnamique activé qui sera à l'origine du noyau B et la chaîne propanique. Cette

condensation est catalysée par la chalcone synthétase, enzyme-clé dans la formation des flavonoïdes qui conduit à un précurseur, la chalcone (Figure 10).

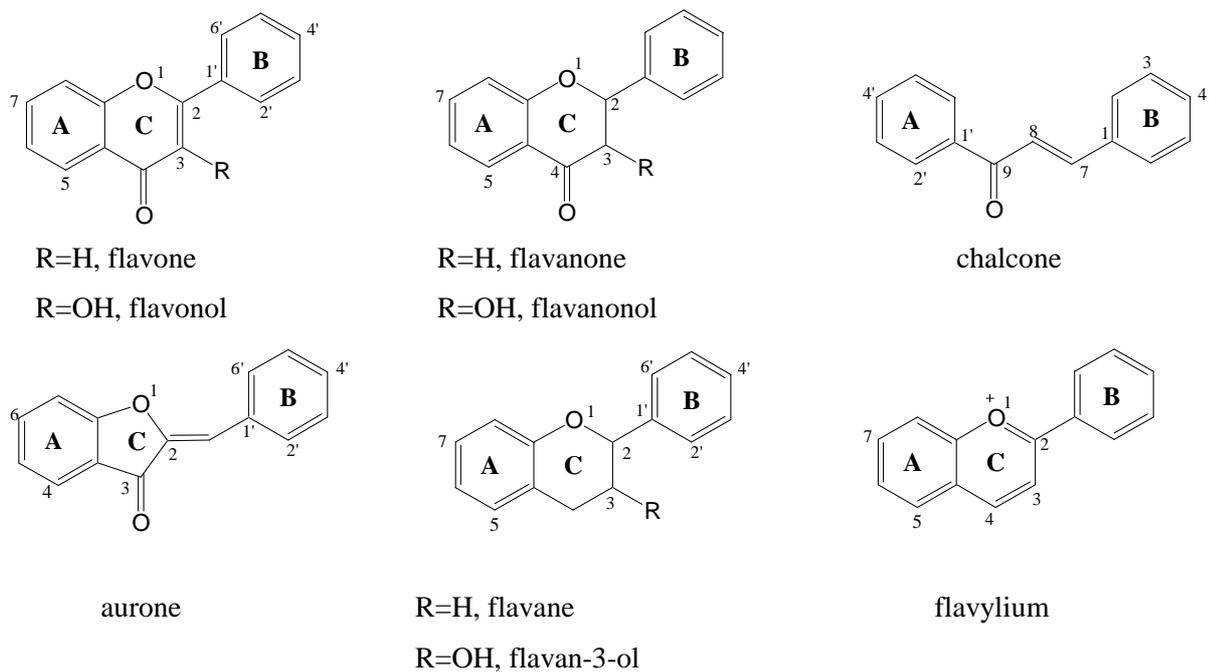


Figure 9 : Structure des différentes sous-classes des flavonoïdes au sens strict

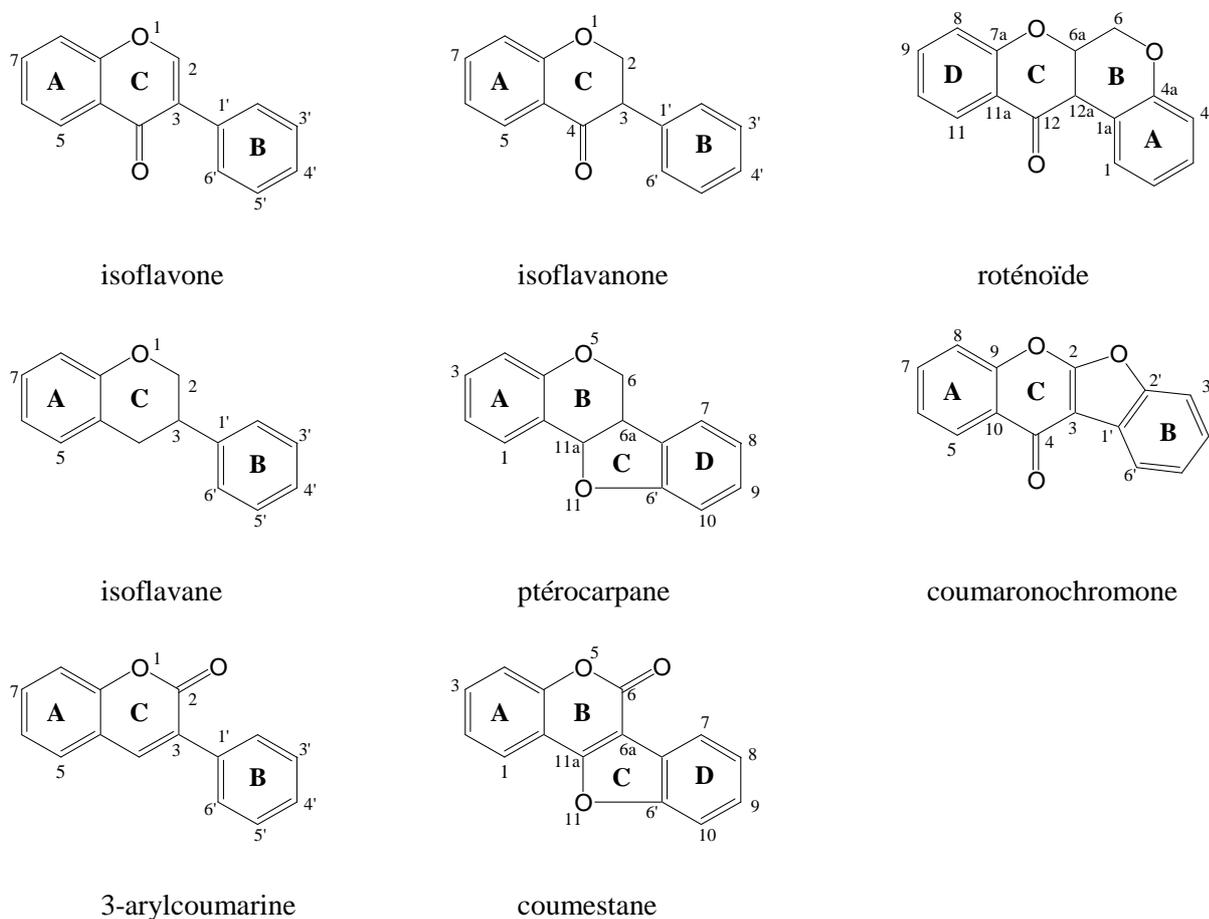


Figure 10 : Structure des différentes sous-classes d'isoflavonoïdes

III. ISOFLAVONOÏDES

Les isoflavonoïdes constituent une grande et très diversifiée sous classe des flavonoïdes. Ils dérivent d'une structure 1,2-diphénylpropane (Figure 10). Malgré leur caractérisation sporadique dans la classe des dicotylédones, ils sont en effet presque spécifiques de la famille des Fabacées. Cette spécificité est probablement due à la présence dans cette famille de l'enzyme responsable du réarrangement du 2-phénylchromone (flavanone) au 3-phénylchromone (isoflavone) [BRUNETON, 1999] (Figure 11). En dépit de cette distribution restreinte dans le règne végétal, on observe une large et très surprenante variation structurale des isoflavonoïdes. Plus d'une centaine de produits naturels sont signalés dans les espèces appartenant à la tribu des Millettiées. Ils peuvent être classés en une douzaine de catégories structurales : 3-arylcoumarines, coumaronochromones, coumestanes, isoflavanes, isoflavènes, isoflavones, roténoïdes, ptérocarpanes etc. Ces catégories diffèrent entre elles, par le degré d'oxydation et l'existence ou non, d'hétérocycles supplémentaires. Dans chaque catégorie, on note également la présence fréquente de dérivés prénylés. Le terme « prénylé » est utilisé au sens large désignant ainsi le substituant prényle et ou isopentényle, les dérivés furano et diméthylpyrano ou encore le substituant géranyle ou autre. Les différents types de prénylation rencontrés dans le genre *Lonchocarpus* et dans les genres voisins (*Derris*, *Millettia*, *Mundulea*, *Tephrosia*) sont représentés et regroupés ci-dessous (Figure 12).

Parmi tous les isoflavonoïdes répertoriés dans le règne végétal, la catégorie la plus largement représentée est celle des isoflavones non glycosylées. Les isoflavones glycosylées quant à elles, existent mais sont plus rares (*O*-glycosylées et exceptionnellement *C*-glycosylées). Certains isoflavonoïdes possèdent un cycle supplémentaire résultant de la cyclisation du dérivé 2'-hydroxylé. Les ptérocarpanes et leurs dérivés ainsi que les coumaronochromones en font partie. D'autres ont une structure de type coumarinique induite par l'oxydation d'une isoflavène. C'est le cas par exemple des coumestanes et de leurs dérivés. Un dernier groupe d'isoflavonoïdes possèdent non seulement un cycle, mais en plus un carbone supplémentaire. C'est le cas des roténoïdes qui proviennent d'une cyclisation oxydative de la 2'-méthoxyisoflavone (figure 12). Les roténoïdes sont rencontrés principalement chez les Fabacées mais on les rencontre aussi de façon sporadique dans d'autres familles notamment les genres : *Boerhaavia* et *Mirabilis* (Nyctaginacées) [SANTOS *et al.*, 1998 ; YI-FEN *et al.*, 2002], *Iris* (Iridacées) [SHAWL *et al.*, 1988], *Macaranga* (Euphorbiacées) [SULTANA et ILYAS, 1987] et *Sarcolobus* (Asclépiadacées) [WANGENSTEEN *et al.*, 2005]. Les roténoïdes sont connus essentiellement pour leur activité insecticide.

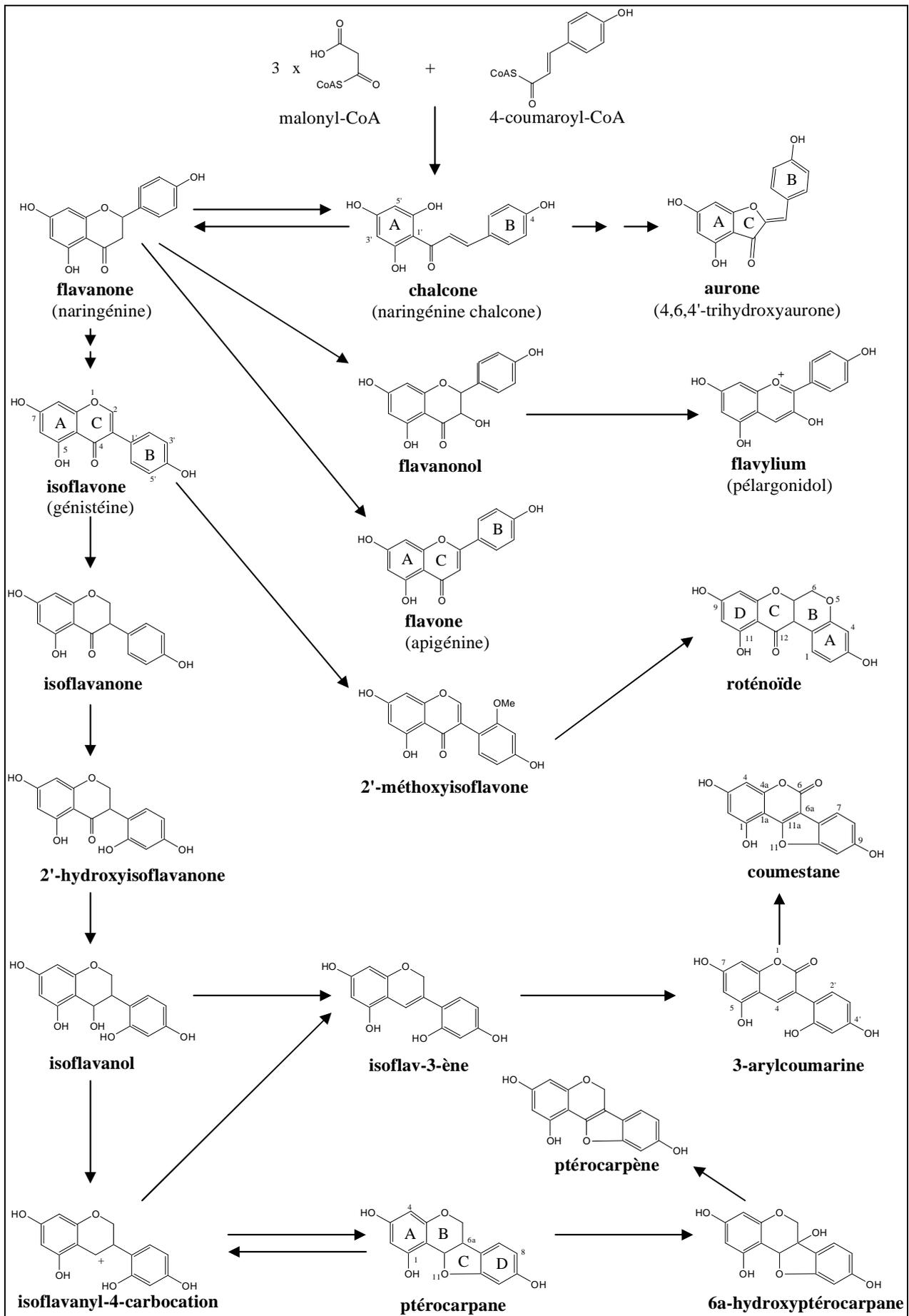


Figure 11 : Schéma biosynthétique des grandes classes d'isoflavonoïdes et leurs inter-conversions

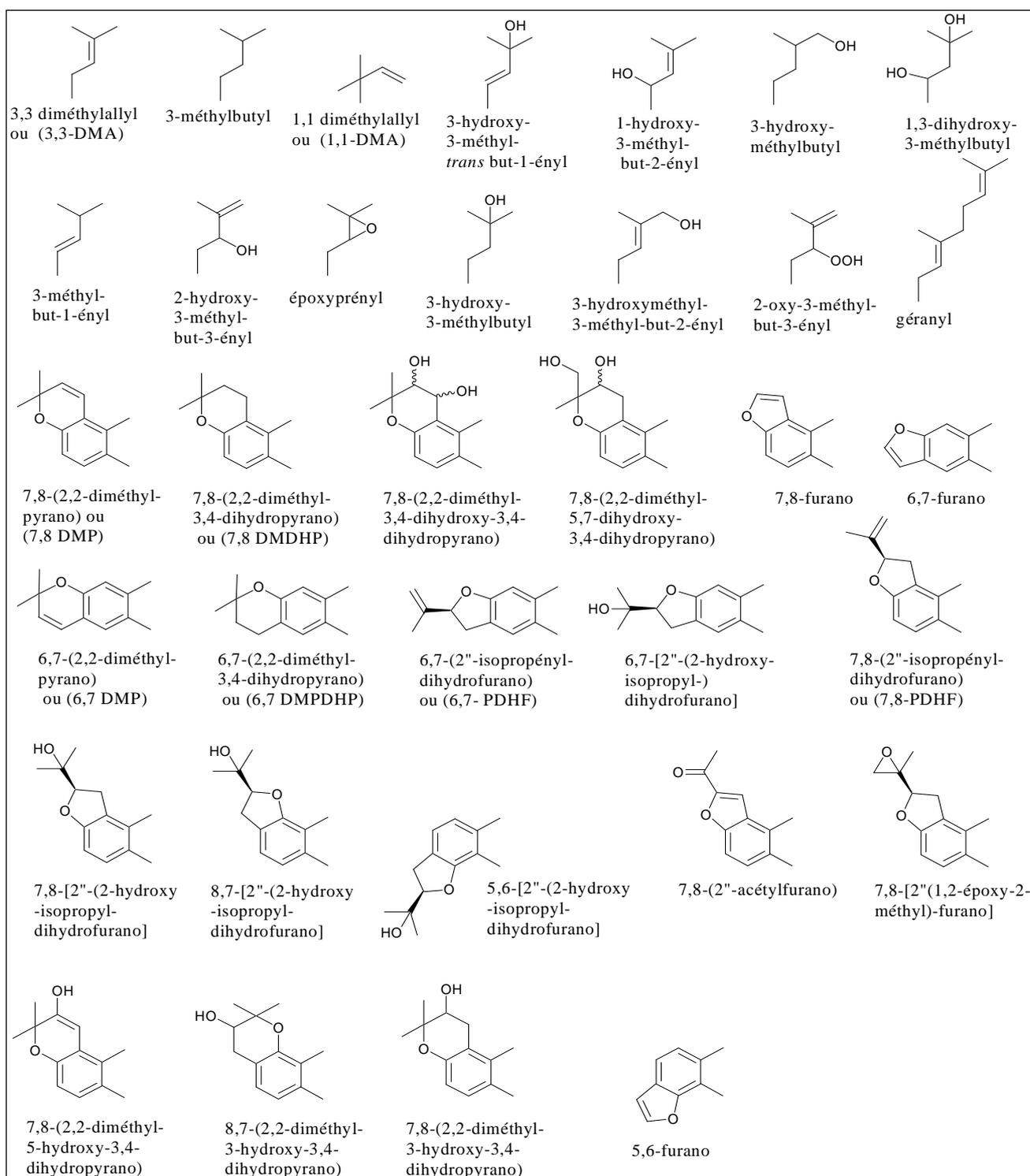


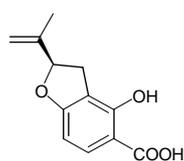
Figure 12 : Quelques types de prénylation rencontrés dans *Lonchocarpus* et dans les genres voisins (*Derris*, *Millettia*, *Mundulea*, *Tephrosia*)

B. ETUDES PHYTOCHIMIQUES ANTERIEURES SUR L'ESPECE *L. NICOU*

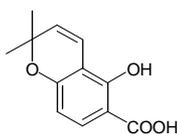
Lonchocarpus nicou est une espèce végétale très peu étudiée. En effet, jusqu'à ce jour, elle n'a fait l'objet que d'une seule étude phytochimique qui a permis d'isoler et d'identifier huit

produits naturels. Geoffroy qui est le premier à étudier cette plante (appelée à l'époque *Robinia nicou*), a identifié en 1895 pour la première fois un composé qu'il nomma « nicouline » [GEOFFROY, 1895]. Quelques années plus tard, Nagai (1912), isola le même composé d'un *Derris* d'origine asiatique, *Derris chinensis* (en japonais Rohten), d'où le nom de roténone qui lui fût donné. On retrouvera plus tard encore cette molécule dans les racines de *Derris elliptica* sous le nom de derrine et de tubatoxine.

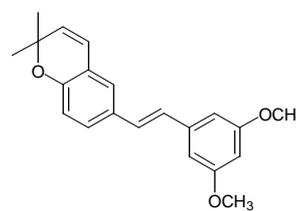
En 1986 Kaouadji *et al.*, ont isolé de la fraction hexanique de la racine de *L. nicou*, plusieurs roténoïdes dont la roténone [5], la déguéline [7], la 12a β -hydroxyroténone [6] et la téphrosine [8]. Une isoflavone prénylée, la barbigéronne [4] ainsi qu'un stilbène, le lonchocarpène [3] spécifique à cette espèce ont également été isolés de la fraction hexanique [KAOUADJI *et al.*, 1986]. Ils ont réalisé également une étude succincte de la fraction chloroformique permettant d'identifier deux acides phénols, l'acide tubaïque [1] et l'acide β -tubaïque [2] [KAOUADJI, 1988].



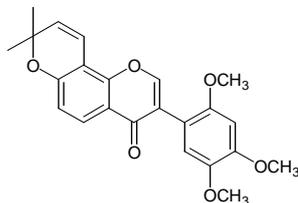
[1] Acide tubaïque



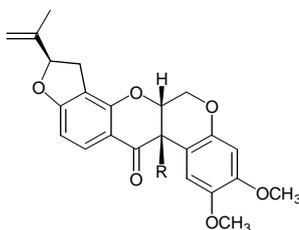
[2] Acide β -tubaïque



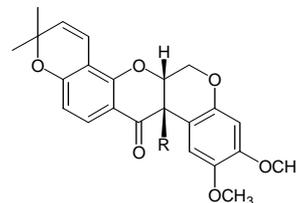
[3] Lonchocarpène



[4] Lonchocarpusone
(barbigéronne)



[5] R=H Roténone
[6] R=OH 12a β -Hydroxyroténone



[7] R=H Déguéline
[8] R=OH Téphrosine

C. ETUDES PHYTOCHIMIQUES ANTERIEURES SUR LES AUTRES ESPECES DU GENRE *LONCHOCARPUS*

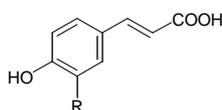
Les molécules rencontrées dans le genre *Lonchocarpus* peuvent se classer en trois grands groupes : les composés phénoliques, les triterpènes et les composés azotés.

I. LES COMPOSES PHENOLIQUES

La plupart des composés cités dans le genre *Lonchocarpus* appartiennent à cette classe. Ces composés phénoliques présentent généralement une C-prénylation mais on peut rencontrer également de temps à autre une O-prénylation. Ils se distinguent en 3 grands groupes : les acides phénols, les stilbènes et les flavonoïdes.

1. Les acides phénols

Quatre acides phénols sont répertoriés au niveau du genre *Lonchocarpus*. Outre l'acide tubaïque [1] et l'acide β -tubaïque [2] répertoriés chez *L. nicou*, l'acide caféïque [9] et l'acide férulique [10] sont les seuls à être cités au niveau d'une autre espèce : *L. speciosus*. Ces deux dernières molécules ([9] et [10]) sont des dérivés de l'acide cinnamique et ont une distribution très large dans le règne végétal.

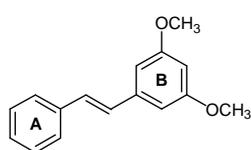


[9] R=OH Acide caféïque

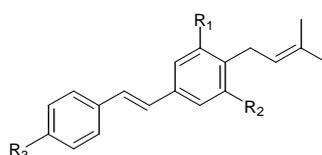
[10] R=OCH₃ Acide férulique

2. Les stilbènes

En plus du lonchocarpène [3] isolé de la fraction hexanique de *L. nicou*, plusieurs stilbènes prénylés sont répertoriés dans le genre *Lonchocarpus* ([12]-[22]). Les longistylines A-D ainsi que les chiricanines A-E sont isolés respectivement de *L. longitylus* Pittier et de *L. chiricanus*. La caractéristique des stilbènes répertoriés dans ce genre est une prénylation, quasi systématique et constante au niveau du noyau aromatique B exclusivement. Identifié chez *Lonchocarpus chiricanus*, le 3,5-diméthoxystilbène [11] est le seul composé qui ne présente pas de prénylation.



[11] 3,5-Diméthoxystilbène

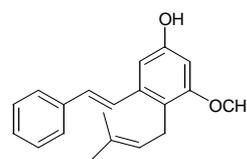


[12] R₁=R₂=OH, R₃=H Chiricanine A

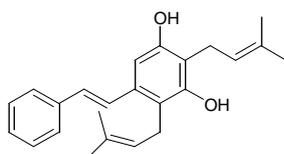
[13] R₁=OCH₃, R₂=OH, R₃=H Longistyline A

[14] R₁=R₂=OCH₃, R₃=H 3,5-Diméthoxy-4-prénylstilbène

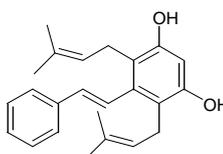
[15] R₁=R₂=R₃=OCH₃ 3,5,4'-Triméthoxy-4-prénylstilbène



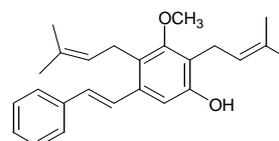
[16] Longistyline C



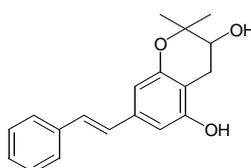
[17] Longistyline B



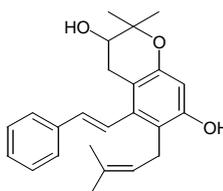
[18] Longistyline D



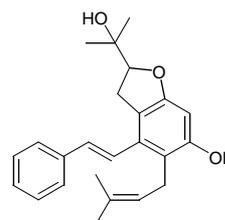
[19] Chiricanine C



[20] Chiricanine B



[21] Chiricanine D



[22] Chiricanine E

3. Les flavonoïdes

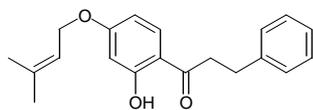
Sont groupés ici les flavonoïdes au sens strict du terme et les isoflavonoïdes.

3.1. Les flavonoïdes au sens strict

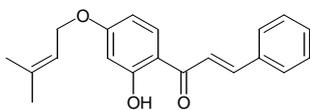
Dans ce groupe on distingue des chalcones, des aurones, des flavones, des flavanones et des flavanes.

3.1.1. Chalcones et dérivés

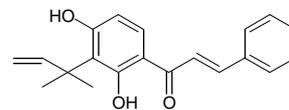
Les chalcones et leurs dérivés rencontrés dans le genre *Lonchocarpus* sont au nombre de 29 et sont tous prénylés ([23]-[50]). Cette prénylation est le plus souvent une prénylation cyclisée du type DMP et se fait exclusivement sur le noyau A ([33]-[35], [39]-[46] et [50]) tandis que le noyau B reste peu ou pas substitué. Elle peut être aussi linéaire comme c'est le cas des composés [23]-[30], tous rencontrés pour la plupart dans *L. sericeus* (Poir.) Kunth, *L. xuul* Lundell. et *L. guillemineanus* (Tul.). Parmi ces chalcones, deux présentent une *O*-prénylation linéaire ([23] et [24]). D'autres présentent une prénylation de type « furano » : c'est le cas des composés [31], [32], [36]-[38], et [47]-[50]. L'orotinichalcone [50] isolée à partir de graines de *L. orotinus* présente une originalité peu fréquente : deux prénylations simultanées, l'une linéaire et l'autre cyclisée (type DMP), qui affectent le noyau A. La déméthylpaeconsone-B est pour sa part, obtenue sous deux formes par Watermann et Mahmoud en 1985 : une forme énolique [34] et une forme cétonique [35], toutes les deux issues de la graine de *L. constaricensis*. Les composés [47]-[50] de prénylation de type « furano » et linéaire au niveau de la chaîne propanique sont moins courants dans le genre *Lonchocarpus*.



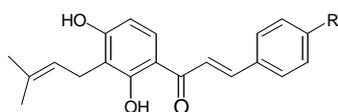
[23] Dihydrocordoïne



[24] Cordoïne (derricidine)

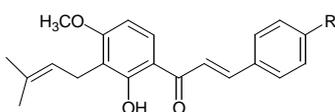


[25] Pseudo- isocordoïne



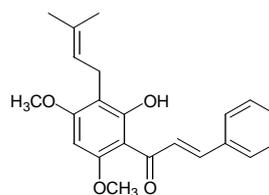
[26] R=H Isocordoïne

[27] R=OH 4-Hydroxyisocordoïne (isobavachalcone)

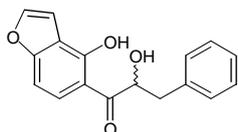


[28] R=H Derricine

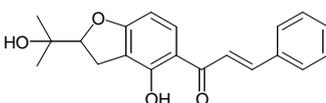
[29] R=OH 4-Hydroxyderricine



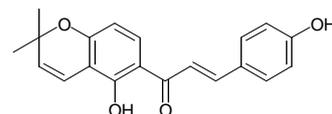
[30] Ovalichalcone



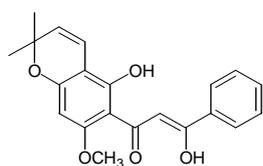
[31] Castillène E



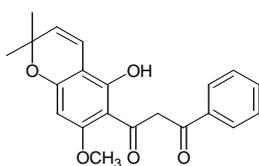
[32] Flémitrictine B



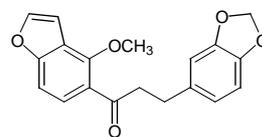
[33] Isobavachromène



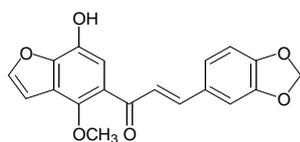
[34] Déméthylpaeconsone-B



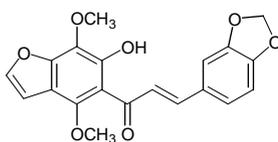
[35] Déméthylpaeconsone-B



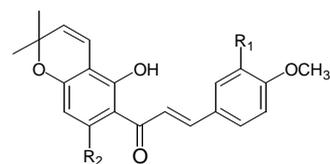
[36] 3,4-Méthylènedioxy-2'-méthoxy-(2'',3'':4',3')furanodihydrochalcone



[37] 3,4-Méthylènedioxy-5'-hydroxy-2'-méthoxy(2'',3'':4',3')furanochalcone

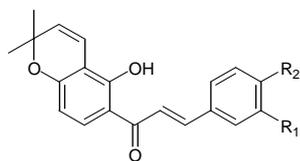


[38] 3,4-Méthylènedioxy-2'-hydroxy-3',6'-diméthoxy(2'',3'':4',3')furanochalcone



[39] R₁=OCH₃, R₂=H 3,4-Diméthoxy-2'-hydroxy-6'-méthoxy(2'',3'':4',3')furanochalcone

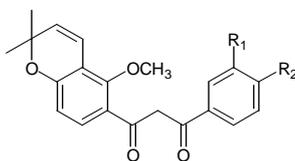
[40] R₁=H, R₂=OCH₃ 2',4-Diméthoxy-6'-hydroxy(2'',3'':4',3')furanochalcone



[41] R₁=R₂=H Lonchocarpine

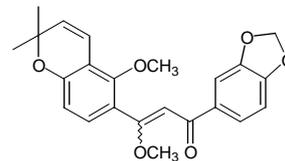
[42] R₁=H, R₂=OH 4-Hydroxy(2'',3'':4',3')furanochalcone

[43] R₁=R₂=OH 3,4-Dihydroxy(2'',3'':4',3')furanochalcone

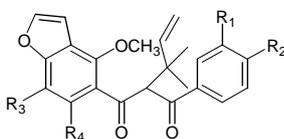


[44] R₁=R₂=H Purpurénone

[45] R₁+R₂=-OCH₂O- 2'-Méthoxy-3,4-méthylènedioxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':4',3')dibenzoyleméthane



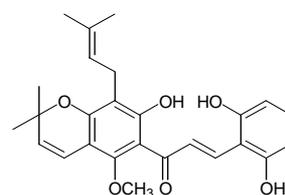
[46] (Z/E) 3,4-Méthylènedioxy-2'-méthoxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':4',3')chalcone



[47] R₁=R₂=R₃=R₄=H 8-(α,β-diméthylallyl)-Pongamol

[48] R₁=R₂=H, R₃=R₄=OCH₃ 2-(1,1-diméthyl-2-propényl)-1-Phényl-3-(4,6,7-triméthoxy-5-benzofuranyl)-1,3-propanedione

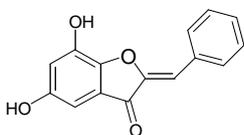
[49] R₁+R₂=-OCH₂O-, R₃=R₄=H 2-(1,1-diméthyl-2-propényl)-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-3-(4-méthoxy-5-benzofuranyl)-1,3-Propanedione



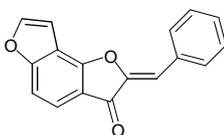
[50] Orotinichalcone

3.1.2. Aurones et dérivés

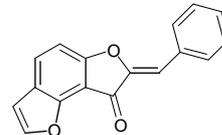
Jusqu'à présent 12 aurones ont été citées dans le genre *Lonchocarpus* dont 4 spécifiques à l'espèce *L. castilloi*. Ces dernières sont toutes des furanoaurones appelées castillène A [59], castillène B [61], castillène C [62] et castillène D [60]. Sept autres sont isolées de l'écorce de racine de *L. obtusus* [52]–[58] et la 5,7-dihydroxyaurone [51] de *L. speciosus*. Hormis la 5,7-dihydroxyaurone [51], toutes les aurones répertoriées dans le genre *Lonchocarpus* sont des furanoaurones.



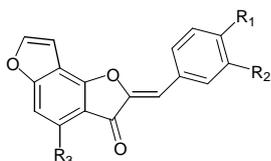
[51] 5,7-Dihydroxyaurone



[52] Furano(2'',3'':6,7)aurone



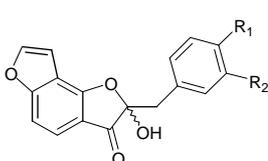
[53] Furano(2'',3'':4,5)aurone



[54] R₁=R₂=H, R₃=OH 4-Hydroxyfurano(2'',3'':6,7)aurone

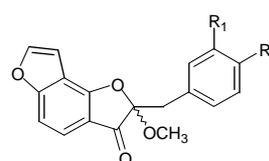
[55] R₁=R₂=H, R₃=OCH₃ 4-Méthoxyfurano(2'',3'':6,7)aurone

[56] R₁+R₂=-OCH₂O-, R₃=H 3',4'-Méthylènedioxy-furano(2'',3'':6,7)aurone



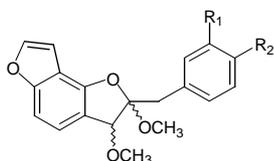
[57] R₁=R₂=H Derriobustone A

[58] R₁+R₂=-OCH₂O- Derriobustone B



[59] R₁=R₂=H Castillène A

[60] R₁+R₂=-OCH₂O- Castillène D



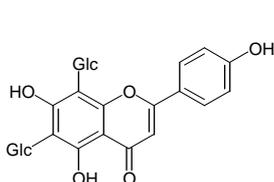
- [61] $R_1=R_2=H$ Castillène B
 [62] $R_1+R_2=-OCH_2O-$ Castillène C

3.1.3. Flavones, flavanones, flavanes

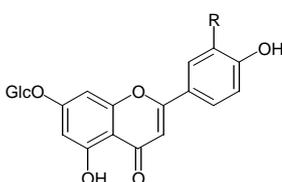
Plusieurs composés sont répertoriés au niveau de ce groupe. Outre leur prénylation quasi fréquente, on rencontre de temps à autre les *C*-glycosylflavonoïdes ou encore les *O*-glycosylflavonoïdes.

3.1.3.1. Flavones, flavonols

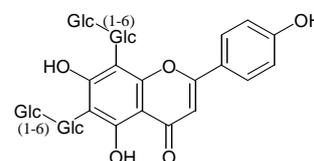
Dans ce groupe 26 composés au total sont répertoriés ([63]-[88]). Parmi ceux-ci on rencontre des flavones glycosylés : l'apigénine-7-*O*-glucoside [64], lutéoline-7-*O*-glucoside [65], vicemine-2 [63] et un dérivé diglycosylé de l'apigénine [66]. Ces dernières sont citées exclusivement chez l'espèce *L. speciosus*. On rencontre également des flavonols glycosylés comme la rutine [75] et l'hypéroside [76] et presque exclusivement des flavones prénylées du type DMP ([67]-[72]) ou du type « furano » [77]-[80], [87] et [88].



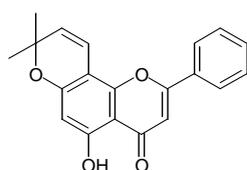
[63] Vicemine-2



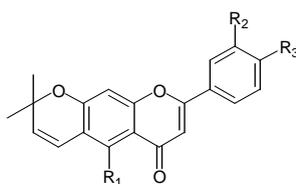
[64] $R=H$ Apigénine-7-*O*-glucoside
 [65] $R=OH$ Lutéoline-7-*O*-glucoside



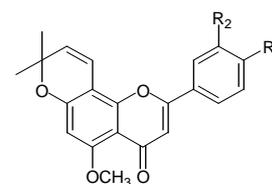
[66] Apigénine-6-*C*-[glucosyl-(1 → 6)-*O*-glucoside]-8-*C*-[glucosyl-(1 → 6)-*O*-glucoside]



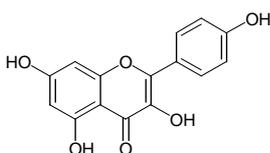
[67] 5-Hydroxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':7,8)flavone



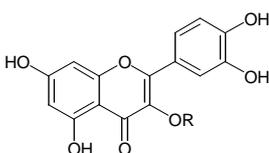
[68] $R_1=OH, R_2=OCH_3, R_3=OH$ 5,4'-Dihydroxy-3'-méthoxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':7,6)flavone
 [69] $R_1=OCH_3, R_2=H, R_3=OCH_3$ 5,4'-Diméthoxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':7,6)flavone
 [70] $R_1=OH, R_2=H, R_3=OH$ 5,4'-Dihydroxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':7,6)flavone



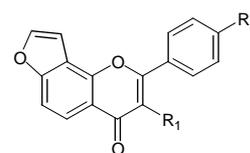
[71] $R_1=R_2=H$ Isopongaflavone
 [72] $R_1+R_2=-OCH_2O-$ 5-Méthoxy-3',4'-méthylènedioxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':7,8)flavone



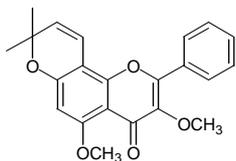
[73] Kaempférol



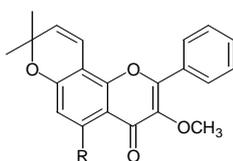
[74] $R=H$ Quercétine
 [75] $R=Rha-Glc$ Rutine
 [76] $R=Gal$ Hypéroside



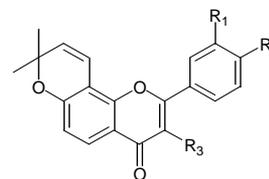
[77] $R_1=H; R_2=OCH_3$ 4'-Méthoxylancéolatine B
 [78] $R_1=R_2=OCH_3$ 4'-Méthoxylkaranjine
 [79] $R_1=R_2=H$ Lancéolatine B
 [80] $R_1=OCH_3; R_2=H$ Karanjine



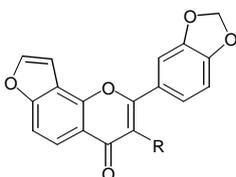
[81] 3,6-Diméthoxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':7,8)flavone



[82] R=H Karanjachromène
[83] R=OCH₃ 3,5-Diméthoxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':7,8)flavone



[84] R₁=R₂=R₃=H 6'',6''-Diméthylpyrano(2'',3'':7,8)flavone
[85] R₁=R₂=-OCH₂O-, R₃=H 3', 4'-Méthylène-dioxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':7,8)flavone
[86] R₁=R₂=-OCH₂O-, R₃=OCH₃ Pongachromène



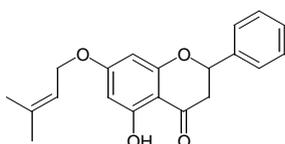
[87] R=H Pongaglabrone
[88] R=OCH₃ Pongapine

3.1.3.2. Flavanones, flavanonols

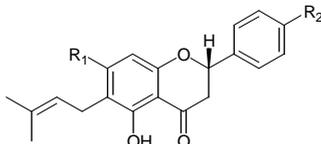
Les flavanones sont largement répandues dans le genre *Lonchocarpus*. On peut distinguer parmi les 40 molécules répertoriées ici ([89]-[127]), des flavanonols simples (taxifoline [108], fustine [110]), des flavanonols glycosylés (astilbine [109], fustine-3-*O*-glucoside [111]) et celles qui présentent une ou plusieurs prénylations (36 molécules).

On retrouve dans ce dernier groupe, plusieurs catégories de prénylation :

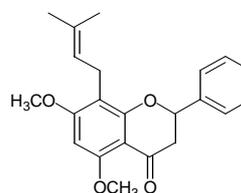
- une prénylation simple du type DMP sur le noyau A ([94]-[96]).
- une prénylation simple du type « furano » du noyau A ([112]-[115])
- une *C*-prénylation linéaire ([90]-[93]) ainsi qu'une *O*-prénylation linéaire comme c'est le cas de l'isoderricidine [89].
- une double *C*-prénylation du noyau A : c'est le cas des composés ([99]-[107] et [120]-[127]).
- une double prénylation (*C*- et *O*-) du noyau A ([97], [98]).
- le noyau B n'est pas ou peu substitué



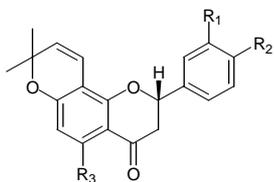
[89] Isoderricidine



[90] R₁=OCH₃; R₂=OH 4',5-Dihydroxy-7-méthoxy-6-prénylflavanone
[91] R₁=OCH₃; R₂=H 5-Hydroxy-7-méthoxy-6-prénylflavanone
[92] R₁=OH; R₂=H 5,7 Dihydroxy-6-prénylflavanone



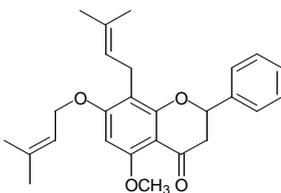
[93] Candidone



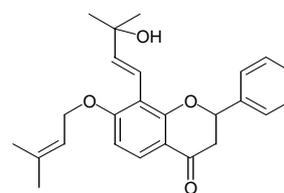
[94] $R_1+R_2=-OCH_2O-$; $R_3=H$ Ponganone III

[95] $R_1+R_2=-OCH_2O-$; $R_3=OCH_3$ Isoglabrachromène

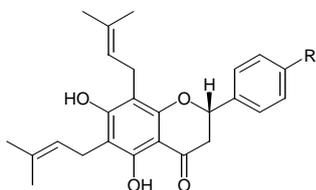
[96] $R_1=R_2=OCH_3$; $R_3=H$ Ovalichromène B



[97] 5-Méthoxy-8-prényl-7-prényloxyflavone

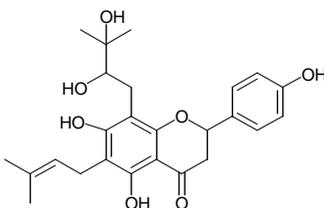


[98] 8-(3-hydroxy-3-méthyl-1-butényl)-7-prényloxyflavone

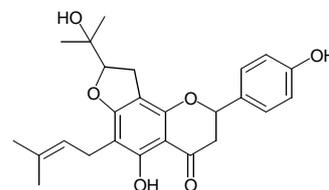


[99] $R=H$ Spiniflavone B

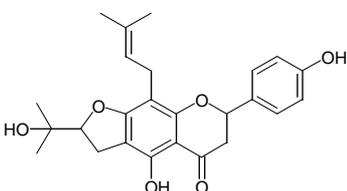
[100] $R=OH$ Lonchocarpol A



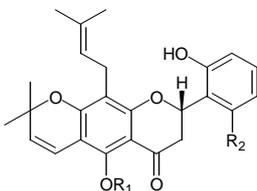
[101] Lonchocarpol B



[102] Lonchocarpol C



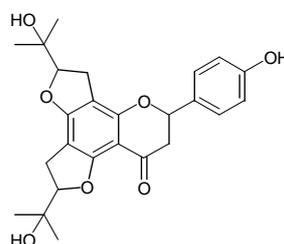
[103] Lonchocarpol D



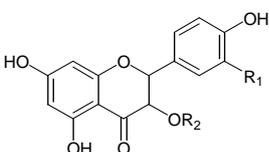
[104] $R_1=R_2=H$ Minimiflorine

[105] $R_1=H$; $R_2=OH$ Orotinine

[106] $R_1=CH_3$; $R_2=OH$ Orotinine-5-méthyl éther

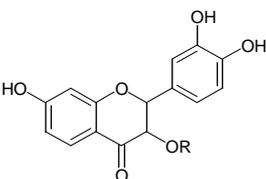


[107] Lonchocarpol E



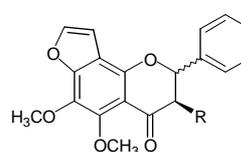
[108] $R_1=OH$; $R_2=H$ Taxifoline

[109] $R_1=H$; $R_2=Rha$ Astilbine



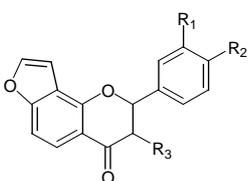
[110] $R=H$ Fustine

[111] $R=Glc$ Fustine-3-O-Glucoside



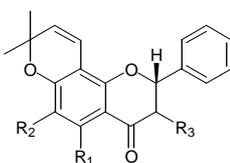
[112] $R=H$ (2S)-5,6-Diméthoxy(2'',3'':7,8)furano-flavone

[113] $R=OCH_3$ (2R, 3R)-3,5,6-Triméthoxy(2'',3'':7,8)furano-flavanonol



[114] $R_1=R_2=H$, $R_3=OCH_3$ 3-Méthoxy-(2'',3'':7,8)furano-flavanonol

[115] $R_1+R_2=-OCH_2O-$, $R_3=H$ 3',4'-Méthylène-dioxy(2'',3'':7,8)furano-flavanone

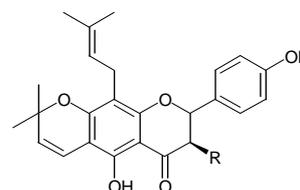


[116] $R_1=OCH_3$; $R_2=R_3=H$ Pongachine

[117] $R_1=R_3=H$; $R_2=OCH_3$ Ovalichromène

[118] $R_1=R_2=R_3=H$ Isolonchocarpine

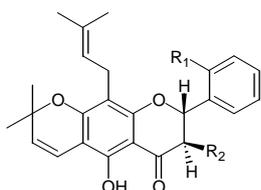
[119] $R_1=R_2=H$; $R_3=OH$ 3-Hydroxy-isolonchocarpine



[120] $R=H$ Lupinifoline

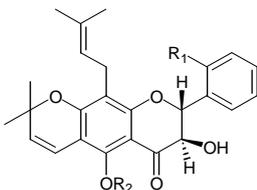
[121] $R=OH$ Lupinifolinol

[122] $R=OCH_3$ 3-O-Méthyl-lupinifolinol



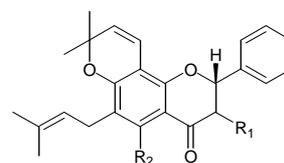
[123] $R_1=H$; $R_2=H$ Munduline

[124] $R_1=OH$; $R_2=OCH_3$ (3R)-3-Méthoxyminimiflorine



[125] $R_1=H$; $R_2=H$ Mundulinol

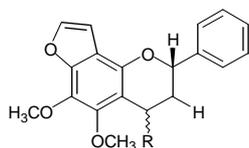
[126] $R_1=OH$; $R_2=H$ Jayacanol



[127] $R_1=R_2=OH$ Isomundulinol

3.1.3.3. Flavanes

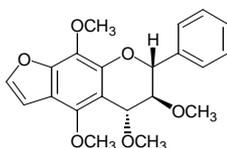
Seize flavanes sont signalés dans le genre *Lonchocarpus* ([128]-[143]). Tous présentent une prénylation cyclisée du type DMP ([135]-[139], [142] et [143]) ou du type « furano » ([128]-[134], [140] et [141]). Isolé des graines de *L. orotinus*, le 4,6'-époxyorotiniflavan-4-ol [143] présente comme dans le cas de l'orotinalcone [50] une double prénylation du noyau A (cyclisée et linéaire) et un pont époxy reliant les carbones 4 et 6' du noyau B.



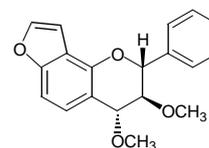
[128] R=αOCH₃ (2,4 *cis*)-4,5,6-Triméthoxy-(2'',3'':7,8)furanoflavane

[129] R=βOH (2,4 *trans*)-4-Hydroxy-5,6-diméthoxy-(2'',3'':7,8)furanoflavane

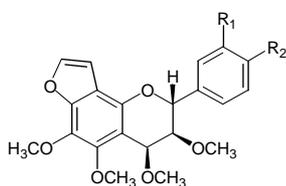
[130] R=αOH (2,4 *cis*)-4-Hydroxy-5,6-diméthoxy-(2'',3'':7,8)furanoflavane



[131] (2,3-*trans*-3,4-*trans*)-3,4,5,8-Tétraméthoxy(2'',3'':7,6)furanoflavane

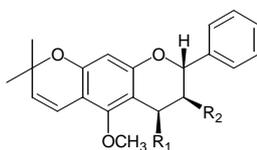


[132] (2,3-*trans*-3,4-*trans*)-3,4-Diméthoxy (2'',3'':7,8)furanoflavane



[133] R₁=R₂=H (2,3-*trans*-3,4-*cis*)-3,4,5,6-Tétraméthoxy(2'',3'':7,8)furanoflavane

[134] R₁+R₂= -OCH₂O- (2,3-*trans*-3,4-*cis*)-3',4'-Méthylènedioxy-3,4,5,6-tétraméthoxy-(2'',3'':7,8)furanoflavane



[135] R₁=OCH₃; R₂=H Xuulanine

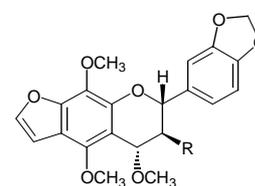
[136] R₁=OCH₃; R₂=OCH₃ 3β-Méthoxyxuulanine

[137] R₁=OCH₂CH₃; R₂=H 4β-Déméthylxuulanine

4β-éthyléter

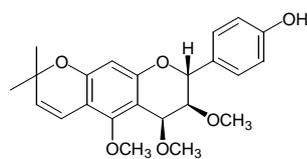
[138] R₁=OCH₃; R₂=OH 4β,5-Diméthoxy-3β-hydroxy-6'',6''-diméthylpyrano-(2'',3'':7,6)flavane

[139] R₁=OH; R₂=OH 3β,4β-Dihydroxy-5-méthoxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':7,6)flavane

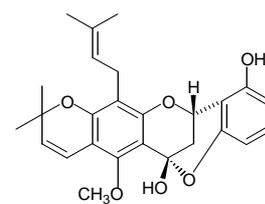


[140] R=H (2,3-*trans*-3,4-*trans*)-3',4'-Méthylènedioxy-4,5,8-triméthoxy-(2'',3'':7,6)furanoflavane

[141] R=OCH₃ (2,3-*trans*-3,4-*trans*)-3',4'-Méthylènedioxy-3,4,5,8-tétraméthoxy-(2'',3'':7,6)furanoflavane



[142] R₁=OH; R₂=OH 3β,4β,5-Triméthoxy-4'-hydroxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':7,6)flavane



[143] 4,6'-Epoxyorotiniflavan-4-ol

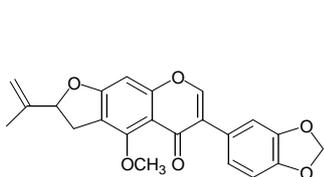
3.2. Les isoflavonoïdes

Les roténoïdes constituent la classe la plus importante. En effet une trentaine sont décrits dans la littérature et sont exclusivement prénylés tandis que les isoflavones, les isoflavanes, les ptérocarpanes et les 3-arylcoumarines sont peu représentés.

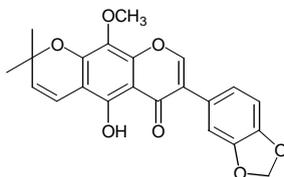
3.2.1. Isoflavones

La barbigérone [4], la glabrescione A [144], la glabrescione B [146] ainsi que la 3',4'-méthylènedioxy-8-méthoxy-5-hydroxy-6'',6''-diméthylpyrano(2'',3'':7,6)isoflavone [145] sont les

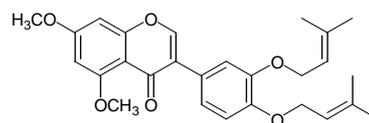
quatre isoflavones répertoriées au niveau du genre *Lonchocarpus*. La glabrescione A [144] et B [146] sont toutes les deux isolées des graines de *L. glabrescens* alors que la 3',4'-méthylènedioxy-8-méthoxy-5-hydroxy-6",6"-diméthylpyrano(2",3":7,6)isoflavone [145] est répertoriée chez *L. subglauzens* et la barbigéronne [4] des racines de *L. nicou*. On peut également noter que pour l'ensemble des flavonoïdes signalés dans le genre *Lonchocarpus*, la glabrescione B [146] constitue le seul composé possédant une double *O*-prénylation sur le noyau B.



[144] Glabrescione A



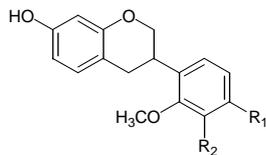
[145] 3',4'-Méthylènedioxy-8-méthoxy-5-hydroxy-6",6"-diméthylpyrano(2",3":7,6)isoflavone.



[146] Glabrescione B

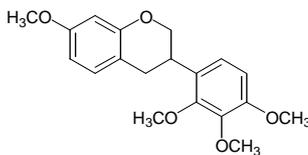
3.2.2. Isoflavanes

A part le 2'-*O*-méthylvestitol [148] qui est cité chez *L. negrensis*, tous les isoflavanes répertoriés chez *Lonchocarpus* proviennent des racines de la seule espèce *L. laxiflorus* Guill. et Perr.

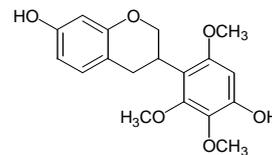


[147] R₁=OH, R₂=OCH₃ Laxiflorane

[148] R₁=OCH₃, R₂=H 2'-*O*-Méthylvestitol



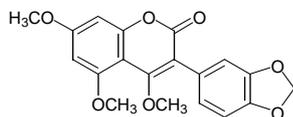
[149] 6,2',3',4'-Tétraméthoxyisoflavane



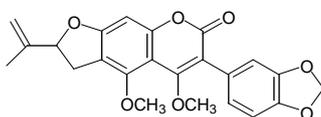
[150] Lonchocarpane

3.2.3. 3-Arylcoumarines

Deux arylcoumarines seulement ont été répertoriées dans le genre *Lonchocarpus* et précisément chez l'espèce *L. glabrescens*.



[151] Derrusnine

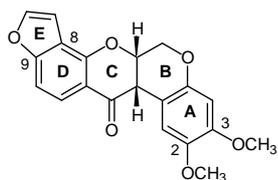


[152] Glabrescine

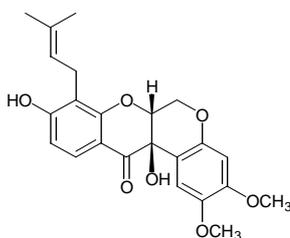
3.2.4. Roténoïdes et dérivés

Les roténoïdes constituent une classe d'isoflavonoïdes largement répandue dans le genre *Lonchocarpus* ([5]-[8] et [153]-[180]). Ils sont pour la plupart prénylés en formant un cycle supplémentaire (cycle E). Ce dernier peut être du type PDHF, DMP ou "furano". D'autre part on retrouve exclusivement sur le noyau A une méthylation en position 2 et 3. Ces roténoïdes sont isolés pour la plupart à partir de "Cubé Resin Insecticide", un échantillon commercial provenant de

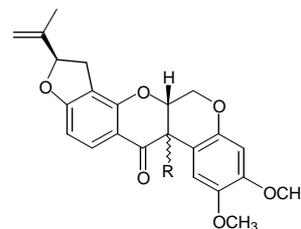
racines de *Lonchocarpus utilis* et de *Lonchocarpus urucu*. "Cubé resin" est en fait un extrait trichloroéthylénique de racines, utilisé comme insecticide, acaricide et piscicide [TOMLIN, 1997] et qui contient majoritairement de la roténone [5] et de la déguéline [7]. L'utilisation du trichloroéthylène comme solvant d'extraction amène à s'interroger sur l'obtention du 7'-chloro-5'-hydroxy-4',5'-dihydrodéguéline [169] en tant que produit naturel. Pour Fang et Casida [FANG et CASIDA, 1999], il s'agit très probablement d'un produit de décomposition formé par un processus radicalaire.



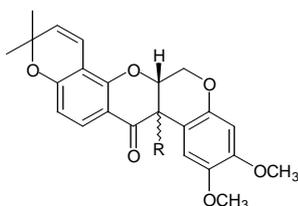
[153] Elliptone



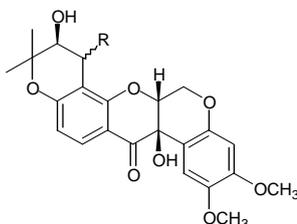
[154] Acide 12αβ-hydroxyrot-2'-énonique



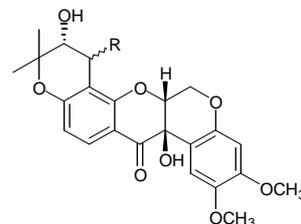
[155] R=α-OH 12α-Hydroxyroténone
 [156] R=β-OCH₃ 12αβ-Méthoxyroténone
 [157] R=α-OCH₃ 12αα-Méthoxyroténone



[158] R=α-OH 12α-Hydroxydéguéline



[161] R=α-OH *trans*-4',5'-Dihydro-4',5'-dihydroxytéphrosine

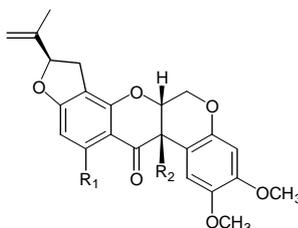


[163] R=α-OH *cis*-4',5'-Dihydro-4',5'-dihydroxytéphrosine

[159] R=β-OCH₃ 12αβ-Méthoxydéguéline
 [160] R=α-OCH₃ 12αα-Méthoxydéguéline

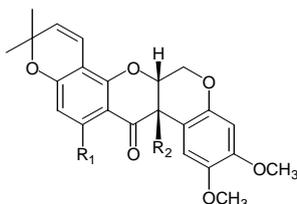
[162] R=β-OH *cis*-4',5'-Dihydro-4',5'-dihydroxytéphrosine

[164] R=β-OH *trans*-4',5'-Dihydro-4',5'-dihydroxytéphrosine



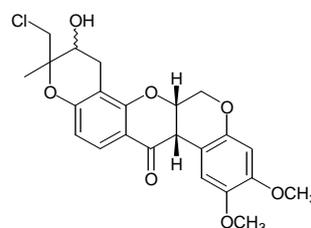
[165] R₁=OH; R₂=H Sumatrol

[166] R₁=OH; R₂=OH Villosinol

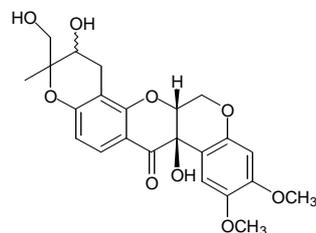


[167] R₁=OH; R₂=H Toxicarol

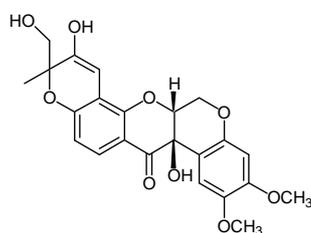
[168] R₁=OH; R₂=OH 12αβ-Hydroxytoxicarol



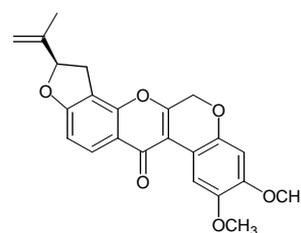
[169] 7'-Chloro-5'-hydroxy-4',5'-dihydrodéguéline



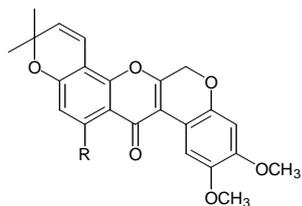
[170] 4',5'-Dihydro-5',7'-dihydroxytéphrosine



[171] 5',7'-Dihydroxytéphrosine

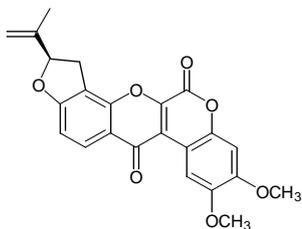


[172] 6a,12a-Déhydroroténone

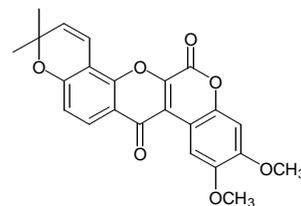


[173] R=H 6a,12a-Déhydrodéguéline

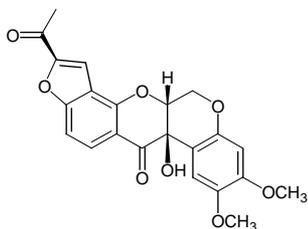
[174] R=OH 6a,12a-Déhydrotoxicarol



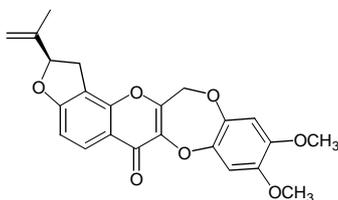
[175] 6a,12a-Déhydro-6-oxoroténone



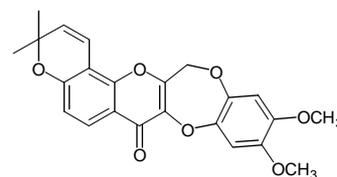
[176] 6a,12a-Déhydro-6-oxodéguéline



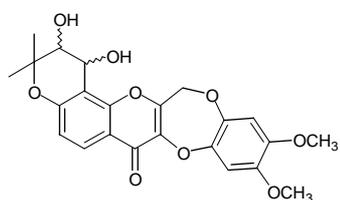
[177] 7'-Nor-6'-oxo-4',5'-déhydroroténolone



[178] 13-Homo-13-oxa-6a,12a-déhydroroténone



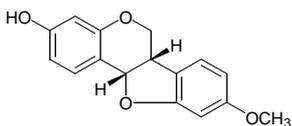
[179] 13-Homo-13-oxa-6a,12a-déhydrodéguéline



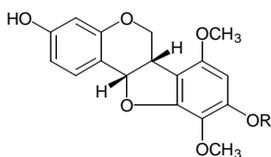
[180] 4',5'-Dihydro-4',5'-dihydroxy-13-homo-13-oxa-6a,12a-déhydrodéguéline

3.2.5. Ptéocarpanes

Seulement 4 ptéocarpanes ([181]-[184]) et un ptéocarpène, flémichapparine B [185] sont répertoriés dans le genre *Lonchocarpus*.

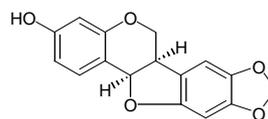


[181] Déméthylhomoptéocarpine (médicarpine)

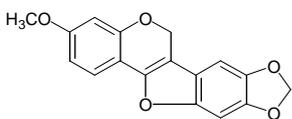


[182] R=H Philénoptérane

[183] R=CH₃ 9-O-Méthylphilénoptérane



[184] Maackiaïne



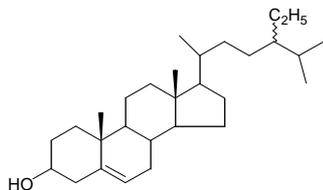
[185] Flémichapparine B

II. LES TRITERPÈNES

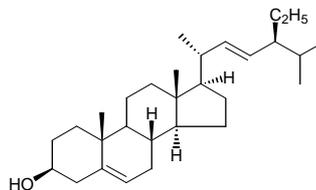
Neuf triterpènes sont répertoriés dans le genre *Lonchocarpus* ([186]-[194]). Ceux-ci peuvent être classés en deux catégories, les triterpènes stéroïdiques et les triterpènes pentacycliques.

1. Les triterpènes stéroïdiques

Deux stéroïdes (β -sitostérol [186] et stigmastérol [187]) ont été signalés dans les graines de plusieurs espèces de *Lonchocarpus*.



[186] β -Sitostérol

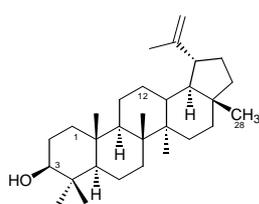


[187] Stigmastérol

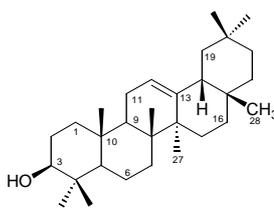
2. Les triterpènes pentacycliques

Parmi les triterpènes pentacycliques, le lupéol [188] est le seul composé répertorié dans cinq espèces de *Lonchocarpus*. Trois composés ([188], [189] et [191]) dérivent du squelette lupane alors que les quatre autres ([190] et [192]-[194]) proviennent du squelette oléanane. Ces deux structures triterpéniques sont couramment rencontrées dans le règne végétal. Les éléments structuraux qui caractérisent ces composés sont :

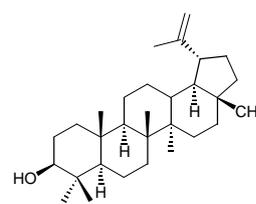
- l'existence habituelle d'une insaturation en C-12
- l'oxydation fréquente des carbones des méthyles en C-28
- l'oxydation de quelques carbones cycliques surtout au niveau de C-3 et de C-11



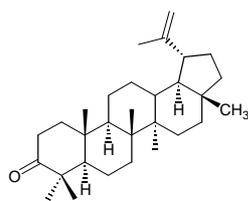
squelette lupane



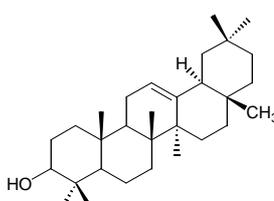
squelette oléanane



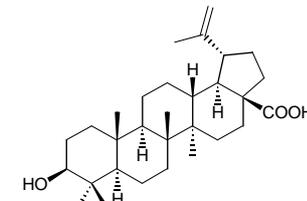
[188] Lupéol



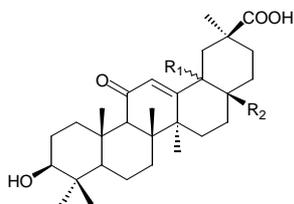
[189] Lupénone



[190] β -Amyrine



[191] Acide bétulinique



[192] $R_1 = \beta$ H $R_2 = \text{CH}_3$ Acide β -glycyrrhétinique

[193] $R_1 = \alpha$ H $R_2 = \text{CH}_2\text{OH}$ Lonchoterpène

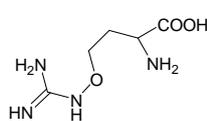
[194] $R_1 = \beta$ H $R_2 = \text{CH}_2\text{OH}$ Acide (3 β ,20 β)-3,28-dihydroxy-11-oxo-oléan-12-èn-29-oïque

III LES COMPOSES AZOTES

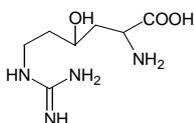
Les composés azotés rencontrés dans le genre *Lonchocarpus* se divisent en deux groupes : les acides aminés et les alcaloïdes. La plupart des composés de ces deux groupes sont très hydrosolubles et "de facto" ne sont pas extraits par les procédés habituels mis en œuvre pour isoler les alcaloïdes, mais par des mélanges d'alcools et d'eau. Leur purification passe par le recours à la chromatographie sur résines échangeuses d'ions et leur séparation est souvent effectuée par CCM préparative [FELLOWS *et al.*, 1977 ; FELLOWS *et al.*, 1979 ; BRUNETON, 1999].

1. Les acides aminés

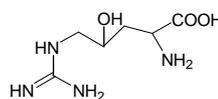
Les acides aminés ci-dessous ont été isolés à partir des graines des différentes espèces de *Lonchocarpus*.



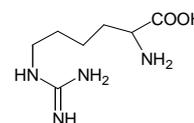
[195] Canavanine



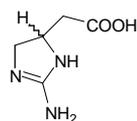
[196] γ -Hydroxyhomoarginine



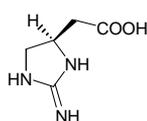
[197] 4-Hydroxyarginine



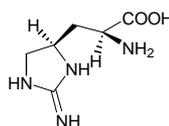
[198] Homoarginine



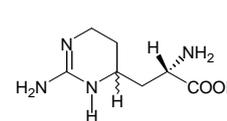
[199] Acide-2-Amino-4,5-dihydro-1*H*-imidazole-4-acétique



[200] Acide-2-(2-Amino-2-imidazolin-4-yl)acétique



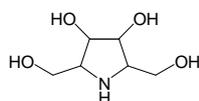
[201] Enduracididine



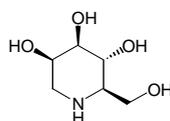
[202] Tétrahydroalathyrine

2. Les alcaloïdes

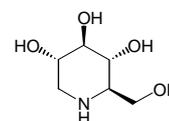
Cinq alcaloïdes polyhydroxylés ([203]-[207]) dont un à noyau pyrrolidine ([203]) et 4 à noyau pipéridine ([204]-[207]) sont également répertoriés dans le genre *Lonchocarpus*. A côté de ces alcaloïdes polyhydroxylés, on retrouve dans la graine de 3 espèces du genre, une petite molécule azotée, 2-aminoimidazole [208].



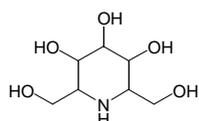
[203] 2,5-*trans*-Dihydroxyméthyl-3,4-*trans*-dihydropyrrolidine



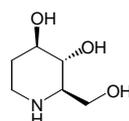
[204] 1-Déoxymannojirimycine



[205] 1-Déoxyjirimycine



[206] Homonojirimycine



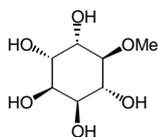
[207] Fagomine



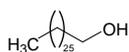
[208] 2-Aminoimidazole

IV LES AUTRES COMPOSES

Ces deux composés dont un polyol, d-pinitol [209] ont été trouvés dans 3 espèces de *Lonchocarpus*.



[209] d-Pinitol



[210] 1-Heptacosanol

V. TABLEAU RECAPITULATIF

Le Tableau 1 ci-dessous regroupe tous les composés décrits dans le genre *Lonchocarpus* en précisant l'espèce, la partie de plante et la référence bibliographique.

Tableau 1. Distribution des composés naturels dans le genre *Lonchocarpus*.

Composés	Espèce (Partie étudiée*)	Références
COMPOSES PHENOLIQUES		
ACIDES PHENOLS		
Acide tubaïque [1]	<i>L. nicou</i> (r)	Kaouadji, 1988
Acide β-tubaïque [2]	"	"
Acide caféïque [9]	<i>L. speciosus</i> (p.n.p)	El-sayed <i>et al.</i> , 1997
Acide férulique [10]	"	"
STILBENES		
Lonchocarpène [3]	<i>L. nicou</i> (r)	Kaouadji <i>et al.</i> , 1986
3,5-Diméthoxystilbène [11]	<i>L. chiricanus</i> (ec. r)	Ioset <i>et al.</i> , 2001
Chiricanine A [12]	"	"
Longistylène A [13]	<i>L. longistylus</i> Pittier (ec. t, r) [= <i>L. violaceus</i> (Jacq.) D. C.]	Delle <i>et al.</i> , 1977
3,5-Diméthoxy-4-prénylstilbène [14]	<i>L. floribundus</i> Benth. [= <i>Derris floribunda</i> (Benth.) Ducke] <i>L. rariflorus</i> Benth. (t)	Gomes <i>et al.</i> , 1981 "
3,5,4'-Triméthoxy-4-prénylstilbène [15]	<i>L. floribundus</i> Benth. [= <i>Derris floribunda</i> (Benth.) Ducke]	Gomes <i>et al.</i> , 1981

* Abréviations

(g) : graine, (r) : racine ; (g, r) : graine, racine ; (t) : tige, (b) : branche, (f) : feuille ; (p.n.p.) : partie de plante non précisée ; (ec. r) : écorce de racine ; (ec.t, r) : écorce de tige, racine ; (ec. r, p.n.p.) : écorce de racine, partie de plante non précisée ; (ec. r., g) : écorce de racine, graine ; (ec. r, p.n.p., g) : écorce de racine, partie de plante non précisée, graine.

Longistyline C [16]	<i>L. chiricanus</i> (Ec. r) <i>L. longistylus</i> Pittier (ec. t, r) [= <i>L. violaceus</i> (Jacq.) D. C.] <i>L. peninsularis</i> J. D. Smith (g.)	Ioset <i>et al.</i> , 2001 Delle <i>et al.</i> , 1977 Delle <i>et al.</i> , 1978
Longistyline B [17]	<i>L. longistylus</i> Pittier (ec. t, r) [= <i>L. violaceus</i> (Jacq.) D. C.]	Delle <i>et al.</i> , 1977
Longistyline D [18]	<i>L. chiricanus</i> (Ec. r) <i>L. longistylus</i> Pittier (ec. t, r) [= <i>L. violaceus</i> (Jacq.) D. C.] <i>L. peninsularis</i> J. D. Smith (g.)	Ioset <i>et al.</i> , 2001 Delle <i>et al.</i> , 1977 Delle <i>et al.</i> , 1978
Chiricanine C [19]	<i>L. chiricanus</i> (ec. r)	Ioset <i>et al.</i> , 2001
Chiricanine B [20]	"	"
Chiricanine D [21]	"	"
Chiricanine E [22]	"	"

FLAVONOIDES

CHALCONES ET DERIVES

Dihydrocordoïne [23]	<i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g, r) Malme [= <i>L. neuroscapha</i> Benth.]	Menichini <i>et al.</i> , 1982
Cordoïne (derricidine) [24]	<i>L. floribundus</i> Benth. (r) [= <i>Derris floribunda</i> (Benth.) Ducke] <i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g, r) Malme [= <i>L. neuroscapha</i> Benth.] <i>L. nitidus</i> (J. Vogel) Benth. (g) & <i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (ec.r, p.n.p.) <i>L. xuul</i> Lundell. (g) [= <i>L. guatemalensis</i> Benth.]	Braz Filho <i>et al.</i> , 1975 Menichini <i>et al.</i> , 1982 " Do Nascimento et Mors, 1972 Delle <i>et al.</i> , 1978 "
Pseudo-isocordoïne [25]	<i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g, r) Malme [= <i>L. neuroscapha</i> Benth.]	Menichini <i>et al.</i> , 1982
Isocordoïne [26]	<i>L. floribundus</i> Benth. (r) [= <i>Derris floribunda</i> (Benth.) Ducke] <i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g, r) Malme [= <i>L. neuroscapha</i> Benth.] <i>L. nitidus</i> (J. Vogel) Benth. (g) <i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (p.n.p., g) <i>L. xuul</i> Lundell. (g) [= <i>L. guatemalensis</i> Benth.]	Braz Filho <i>et al.</i> , 1975 Menichini <i>et al.</i> , 1982 " Delle <i>et al.</i> , 1978 Mahmoud et Waterman, 1986 Menichini <i>et al.</i> , 1982
4-Hydroxyisocordoïne [27] (Isobavachalcone)	<i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g, r) Malme [= <i>L. neuroscapha</i> Benth.]	Goncalves <i>et al.</i> , 1975
Derricine [28]	<i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g,r) Malme [= <i>L. neuroscapha</i> Benth.]	Menichini <i>et al.</i> , 1982

	<i>L. nitidus</i> (J. Vogel) Benth. (g) <i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (ec.r, p.n.p., g)	Menichini <i>et al.</i> , 1982 Cunha <i>et al.</i> , 2003 Delle <i>et al.</i> , 1978 Mahmoud et Waterman, 1986
4-Hydroxyderricine [29]	<i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g, r) Malme [= <i>L. neuroscapha</i> Benth.]	Goncalves <i>et al.</i> , 1975 Gomes <i>et al.</i> , 1981
Ovalichalcone [30]	<i>L. costaricensis</i> (g)	Waterman et Mahmoud, 1985
Castillène E [31]	<i>L. castilloi</i> Standley (t)	Gomez-Garibay <i>et al.</i> , 1990
Flémitrictine B [32]	<i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (g)	Mahmoud et Waterman, 1986
Isobavachromène [33]	<i>L. floribundus</i> Benth. (r) [= <i>Derris floribunda</i> (Benth.) Ducke] <i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g, r) Malme [= <i>L. neuroscapha</i> Benth.] <i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (p. n. p.) <i>L. xuul</i> Lundell. (g) [= <i>L. guatemalensis</i> Benth]	Braz Filho <i>et al.</i> , 1975 Menichini <i>et al.</i> , 1982 Delle <i>et al.</i> , 1978 Menichini <i>et al.</i> , 1982
Déméthylpraecansone-B [34]	<i>L. costaricensis</i> (g)	Waterman et Mahmoud, 1985
Déméthylpraecansone-B [35]	"	"
3,4-Méthylènedioxy-2'-méthoxy(2'',3'':4',3')furanodihydrochalcone [36]	<i>L. subglauscens</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
3,4-Méthylènedioxy-5'-hydroxy-2'-méthoxy(2'',3'':4',3')furanochalcone [37]	<i>L. obtusus</i> Benth. (ec. r)	Do Nascimento <i>et al.</i> , 1976
3,4-Méthylènedioxy-2'-hydroxy-3',6'-diméthoxy(2'',3'':4',3')furanochalcone [38]	<i>L. subglauscens</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
3,4-Diméthoxylonchocarpine [39]	"	"
2',4-Diméthoxy-6'-hydroxylonchocarpine [40]	<i>L. xuul</i> Lundell. (f) [= <i>L. guatemalensis</i> Benth.] <i>L. yucatanensis</i> (f)	Borges-Argaez <i>et al.</i> , 2002 "
Lonchocarpine [41]	<i>L. floribundus</i> Benth. (r) [= <i>Derris floribunda</i> (Benth.) Ducke] <i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g, r) Malme [= <i>L. neuroscapha</i> Benth.] <i>L. nitidus</i> (J. Vogel) Benth. (g) <i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (ec.r, g) <i>L. speciosus</i> (p.n.p) <i>L. xuul</i> Lundell. (p.n.p) [= <i>L. guatemalensis</i> Benth.]	Braz Filho <i>et al.</i> , 1975 Menichini <i>et al.</i> , 1982 " Cunha <i>et al.</i> , 2003 Dell <i>et al.</i> , 1978 Mahmoud et Waterman, 1986 El-sayed <i>et al.</i> , 1997 Delle <i>et al.</i> , 1978
4-Hydroxylonchocarpine [42]	<i>L. floribundus</i> Benth. (r) [= <i>Derris floribunda</i> (Benth.) Ducke] <i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g, r) Malme [= <i>L. neuroscapha</i> Benth.] <i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (g) <i>L. xuul</i> Lundell. (p.n.p) [= <i>L. guatemalensis</i> Benth.]	Gomes <i>et al.</i> , 1981 Goncalves <i>et al.</i> , 1975 Gomes <i>et al.</i> , 1981 Delle <i>et al.</i> , 1978

3,4-Dihydroxyonchocarpine [43]	<i>L. floribundus</i> Benth. (r) [= <i>Derris floribunda</i> (Benth.) Ducke]	Gomes <i>et al.</i> , 1981
Purpurénone [44]	<i>L. costaricensis</i> (g) <i>L. subglauscens</i> (r)	Waterman et Mahmoud, 1985 Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
2'-Méthoxy-3,4-méthylènedioxy-6",6"-diméthylpyrano(2",3":4',3') dibenzoylméthane [45]	"	"
(<i>Z/E</i>) 3,4-Méthylènedioxy-2'-méthoxy-6",6"-diméthylpyrano(2",3":4',3')chalcone [46]	"	"
8-(α , β -diméthylallyl)-Pongamol [47]	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g) [= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	Magalhaes <i>et al.</i> , 2000
2-(1,1-diméthyl-2-propényl)-1-Phényl-3-(4,6,7-triméthoxy-5-benzofuranyl)-1,3-propanedione, [48]	<i>L. muehlbergianus</i> Hassler (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1997
2-(1,1-diméthyl-2-propényl)-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-3-(4-méthoxy-5-benzofuranyl)-1,3-Propanedione, [49]	<i>L. fluvialis</i> (f) <i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g) [= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	Blatt <i>et al.</i> , 2002 Magalhaes <i>et al.</i> , 2000
Orotinichalcone [50]	<i>L. orotinus</i> (g)	Waterman et Mahmoud, 1987

AURONES

5,7-Dihydroxyaurone [51]	<i>L. speciosus</i> (p.n.p)	El-sayed <i>et al.</i> , 1997
Furano(2",3":6,7)aurone [52]	<i>L. obtusus</i> Benth. (ec. r)	Do Nascimento <i>et al.</i> 1976
Furano(2",3":4,5)aurone [53]	"	"
4-Hydroxyfurano(2",3":6,7)aurone [54]	"	"
4-Méthoxyfurano(2",3":6,7)aurone [55]	"	"
3',4'-Méthylènedioxyfurano(2",3":6,7)aurone [56]	"	"
Derriobustone A [57]	"	"
Derriobustone B [58]	"	"
Castillène A [59]	<i>L. castilloi</i> Standley (t)	Gomez-Garibay <i>et al.</i> , 1990
Castillène D [60]	"	"
Castillène B [61]	"	"
Castillène C [62]	"	"

FLAVONES, FLAVANOLS

Flavones glycosylées

Vicemine-2 [63]	<i>L. speciosus</i> (p.n.p)	El-sayed <i>et al.</i> , 1997
Apigénine-7-O-glucoside [64]	"	"
Lutéoline-7-O-glucoside [65]	"	"

Apigénine-6-C-[glucosyl-(1 → 6)-
O-glucoside] -8-C-[glucosyl –
(1 → 6)-O-glucoside] [66]

L. speciosus (p.n.p)

El-sayed *et al.*, 1997

Flavones

5-Hydroxy-6'',6''-diméthyl-
pyrano(2'',3'':7,8)flavone [67]

L. obtusus Benth. (ec. r)

Do Nascimento *et al.* 1976

5,4'-Dihydroxy-3'-méthoxy-
6'',6''-diméthylpyrano
(2'',3'':7,6)flavone [68]

L. xuul Lundell. (f)
[=*L. guatemalensis* Benth.]
L. yucatanensis (f)

Borges-Argaez *et al.*, 2002

"

5,4'-Diméthoxy-
6'',6''-diméthylpyrano
(2'',3'':7,6)flavone [69]

L. xuul Lundell. (f)
[=*L. guatemalensis* Benth.]
L. yucatanensis (f)

"

"

5,4'-Dihydroxy
6'',6''-diméthylpyrano-
(2'',3'':7,6)flavone [70]

L. xuul Lundell. (f)
[=*L. guatemalensis* Benth.]
L. yucatanensis (f)

"

"

Isopongaflavone [71]

L. costaricensis (g)

Waterman et Mahmoud, 1985

5-Méthoxy-3',4'-méthylène-
dioxy-6'',6''-diméthylpyrano-
(2'',3'':7,8)flavone [72]

L. fluvialis (f)

Blatt *et al.*, 2002

6'',6''-Diméthylpyrano-
(2'',3'':7,8)flavone [84]

L. subglauscens (r)

Magalhaes *et al.*, 1996

4'-Méthoxylancéolatine B [77]

L. mollis Benth. (r)

Gomes *et al.*, 1981

Lancéolatine B [79]

L. latifolius (Willd.) D.C. (g)
[=*L. pentaphyllus* (Poiret) D. C.]
L. mollis Benth. (r)

Magalhaes *et al.*, 2000

Gomes *et al.*, 1981

Karanjachromène [82]

L. latifolius (Willd.) D.C. (g)
[=*L. pentaphyllus* (Poiret) D. C.]

Magalhaes *et al.*, 2000

3',4'-Méthylènedioxy-
6'',6''-diméthylpyrano-
(2'',3'':7,8)flavone [85]

L. subglauscens (r)

Magalhaes *et al.*, 1996

Pongaglabrone [87]

L. latifolius (Willd.) D.C. (g)
[=*L. pentaphyllus* (Poiret) D. C.]
L. mollis Benth. (r)
L. fluvialis (f)

Magalhaes *et al.*, 2000

Gomes *et al.*, 1981

Blatt *et al.*, 2002

Flavonols

Kaempférol [73]

L. speciosus (p.n.p)

El-sayed *et al.*, 1997

Quercétine [74]

L. sericeus (Poir.) Kunth (f)

Gomes *et al.*, 1981

4'-Méthoxylkaranjine [78]

L. mollis Benth. (r)

"

Karanjine [80]

L. latifolius (Willd.) D.C. (g)
[=*L. pentaphyllus* (Poiret) D. C.]
L. mollis Benth. (r)

Magalhaes *et al.*, 2000

Gomes *et al.*, 1981

3,6-Diméthoxy-6'',6''-
diméthylpyrano(2'',3'':7,8)
flavone [81]

L. obtusus Benth. (ec. r)

Do Nascimento *et al.* 1976

3,5-Diméthoxy-6",6"-diméthyl- pyrano(2",3":7,8)flavone [83]	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g) [= <i>L. pentaphyllus</i> (Poir.) D. C.]	Magalhaes <i>et al.</i> , 2000
Pongachromène [86]	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g) [= <i>L. pentaphyllus</i> (Poir.) D. C.]	"
Pongapine [88]	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g) [= <i>L. pentaphyllus</i> (Poir.) D. C.] <i>L. mollis</i> Benth. (r)	" Gomes <i>et al.</i> , 1981

Flavonols glycosylés en 3

Rutine [75]	<i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (f)	Gomes <i>et al.</i> , 1981
Hypéroside [76]	"	"

FLAVANONES, FLAVANONOLS

Flavanones

Isoderricidine [89]	<i>L. nitidus</i> (J. Vogel) Benth. (g)	Menichini <i>et al.</i> , 1982
4',5-Dihydroxy-7-méthoxy-6- prénylflavanone [90]	<i>L. minimiflorus</i> (g)	Waterman et Mahmoud, 1985
5-Hydroxy-7-méthoxy-6- prénylflavanone [91]	"	"
5, 7-Dihydroxy-6- prénylflavanone [92]	<i>L. floribundus</i> Benth. (r) [= <i>Derris floribunda</i> (Benth.) Ducke]	Braz Filho <i>et al.</i> , 1975
Candidone [93]	<i>L. costaricensis</i> (g) <i>L. fluvialis</i> (f)	Waterman et Mahmoud, 1985 Blatt <i>et al.</i> , 2002
Ponganone III [94]	<i>L. subglauscens</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
Isoglabrachromène [95]	<i>L. fluvialis</i> (f)	Blatt <i>et al.</i> , 2002
Ovalichromène B [96]	<i>L. subglauscens</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
5-Méthoxy-8-prényl-7- prényloxyflavanone [97]	<i>L. costaricensis</i> (g)	Waterman et Mahmoud, 1985
8-(3-hydroxy-3-méthyl-1-butényl)- 7-Prényloxyflavanone [98]	"	"
Spiniflavanone B [99]	<i>L. xuul</i> Lundell. (ec.t, r) [= <i>L. guatemalensis</i> Benth.]	Borges-Argaez <i>et al.</i> , 2000
Lonchocarpol A [100]	<i>L. minimiflorus</i> (f)	Roussis <i>et al.</i> , 1987
Lonchocarpol B [101]	"	"
Lonchocarpol C [102]	"	"
Lonchocarpol D [103]	"	"
Minimiflorine [104]	<i>L. atropurpureus</i> (r) <i>L. minimiflorus</i> (g) <i>L. oaxacensis</i> (r) <i>L. orotinus</i> (g)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1999 Mahmoud et Waterman, 1985 Alavez-Solano <i>et al.</i> , 2000 Waterman et Mahmoud, 1987
Orotinine [105]	"	"
Orotinine-5-méthyl éther [106]	"	"

Lonchocarpol E [107]	<i>L. minimiflorus</i> (f)	Roussis <i>et al.</i> , 1987
(2 <i>S</i>)-5,6-Diméthoxy (2",3":7,8)furanoflavanone [112]	<i>L. subglauscens</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
3',4'-Méthylènedioxy (2",3":7,8)furanoflavanone [115]	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g) [= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	Magalhaes <i>et al.</i> , 2000
Pongachine [116]	<i>L. costaricensis</i> (g) <i>L. fluvialis</i> (f)	Waterman et Mahmoud, 1985 Blatt <i>et al.</i> , 2002
Ovalichromène [117]	<i>L. subglauscens</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
Isolonchocarpine [118]	<i>L. eriocarinalis</i> Micheli.(g) [= <i>L. eriocalinalis</i> Micheli.] <i>L. nitidus</i> (J. Vogel) Benth. (g) <i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (ec.r)	Gomes <i>et al.</i> , 1981 Menichini <i>et al.</i> , 1982 Do Nascimento et Mors, (1972)
Lupinifoline [120]	<i>L. minimiflorus</i> (g) <i>L. xuul</i> Lundell. (ec. r) [= <i>L. guatemalensis</i> Benth]	Mahmoud et Waterman, 1985 Ingham <i>et al.</i> , 1988
Munduline [123]	<i>L. atropurpureus</i> (r) <i>L. oaxacensis</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1999 Alavez-Solano <i>et al.</i> , 2000

Flavanonols

Taxifoline [108]	<i>L. speciosus</i> (p.n.p)	El-sayed <i>et al.</i> , 1997
Fustine [110]	"	"
(2 <i>R</i> , 3 <i>R</i>)-3,5,6-Triméthoxy- (2",3":7,8)furanoflavanonol [113]	<i>L. subglauscens</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
3-Méthoxy(2",3":7,8) furanoflavanone [114]	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g) [= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	Magalhaes <i>et al.</i> , 2000
3-Hydroxyisolonchocarpine [119]	<i>L. eriocarinalis</i> Micheli.(g) [= <i>L. eriocalinalis</i> Micheli.]	Gomes <i>et al.</i> , 1981
Lupinifolinol [121]	<i>L. xuul</i> Lundell. (ec. r) [= <i>L. guatemalensis</i> Benth.]	Ingham <i>et al.</i> , 1988
3- <i>O</i> -Méthyllupinifolinol [122]	"	"
(3 <i>R</i>)-3-Méthoxyminimiflorine [124]	<i>L. atropurpureus</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1999
Mundulinol [125]	<i>L. atropurpureus</i> (r) <i>L. oaxacensis</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1999 Alavez-Solano <i>et al.</i> , 2000
Jayacanol [126]	<i>L. atropurpureus</i> (r) <i>L. oaxacensis</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1999 Alavez-Solano <i>et al.</i> , 2000
Isomundulinol [127]	"	"

Flavanonols 3-glycosylés

Astilbine [109]	<i>L. speciosus</i> (p.n.p)	El-sayed <i>et al.</i> , 1997
Fustine-3- <i>O</i> -Glucoside [111]	"	"

Flavanols

(2,4 <i>cis</i>)-4,5,6-Triméthoxy (2",3":7,8)furanoflavane [128]	<i>L. subglauscens</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
(2,4 <i>trans</i>)-4-Hydroxy-5,6- diméthoxy(2",3":7,8)furano flavane [129]	"	"
(2,4 <i>cis</i>)-4-Hydroxy-5,6- diméthoxy(2",3":7,8)furano flavane [130]	"	"
(2,3- <i>trans</i> -3,4- <i>trans</i>)-3,4,5,8- Tétraméthoxy(2",3":7,6)furano flavane [131]	"	"
(2,3- <i>trans</i> -3,4- <i>trans</i>)-3,4- Diméthoxy(2",3":7,8)furano flavane [132]	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g) [= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	Magalhaes <i>et al.</i> , 2000
(2,3- <i>trans</i> -3,4- <i>cis</i>)-3,4,5,6- Tétraméthoxy(2",3":7,8)furano flavane [133]	<i>L. subglauscens</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
(2,3- <i>trans</i> -3,4- <i>cis</i>)-3',4'-Méthylène- dioxy-3,4,5,6-tétraméthoxy (2",3":7,8)furanoflavane [134]	"	"
Xuulanine [135]	<i>L. xuul</i> Lundell. (ec.t, r) [= <i>L. guatemalensis</i> Benth.] <i>L. yucatanensis</i> (ec.t, r)	Borges-Argaez <i>et al.</i> , 2002 Borges-Argaez <i>et al.</i> , 2002
3 β -Méthoxyxuulanine [136]	"	"
4 β -Déméthylxuulanine-4 β - éthyléther [137]	"	"
4 β ,5-Diméthoxy-3 β -hydroxy- -6",6"-diméthylpyrano (2",3":7,6)flavane [138]	"	"
3 β ,4 β -Dihydroxy-5-méthoxy- -6",6"-diméthylpyrano (2",3":7,6)flavane [139]	"	"
(2,3- <i>trans</i> -3,4- <i>trans</i>)-3',4'-Méthylène- dioxy-4,5,8-triméthoxy (2",3":7,6)furanoflavane [140]	<i>L. subglauscens</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
(2,3- <i>trans</i> -3,4- <i>trans</i>)-3',4'- Méthylènedioxy -3,4,5,8-tétra- méthoxy(2",3":7,6)furanoflavane [141]	"	"
3 β ,4 β ,5-Triméthoxy-4'- hydroxy-6",6"-diméthyl- pyrano(2",3":7,6)flavane [142]	<i>L. xuul</i> Lundell. (ec.t, r) [= <i>L. guatemalensis</i> Benth.] <i>L. yucatanensis</i> (ec.t, r)	Borges-Argaez <i>et al.</i> , 2002 "
4,6'-Epoxyorotini-flavan-4-ol [143]	<i>L. orotinus</i> (g)	Waterman et Mahmoud, 1987

ISOFLAVONOÏDES

ISOFLAVONES

Lonchocarpusone [4] (barbigéronne)	<i>L. nicou</i> (r)	Kaouadji <i>et al.</i> , 1986
Glabrescione A [144]	<i>L. glabrescens</i> Benth. (g)	Gomes <i>et al.</i> , 1981
3',4'-Méthylènedioxy-8-méthoxy-5-hydroxy-6'',6''-diméthylpyrano (2'',3'':7,6)isoflavone. [145]	<i>L. subglauca</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
Glabrescione B [146]	<i>L. glabrescens</i> Benth. (g)	Gomes <i>et al.</i> , 1981

ISOFLAVANES

Laxiflorane [147]	<i>L. laxiflorus</i> Guill. et Perr.(r) [= <i>L. philenoptera</i> Benth]	Pelter et Amenechi, 1969
2'-O-Méthylvestitol [148]	<i>L. negrensis</i> Benth. (t)	Braz Filho <i>et al.</i> , 1975
6,2',3',4'-Tétraméthoxyisoflavane [149]	<i>L. laxiflorus</i> Guill. et Perr.(r) [= <i>L. philenoptera</i> Benth.]	Pelter et Amenechi, 1969
Lonchocarpane [150]	"	"

3-ARYLCOUMARINES

Derrusnine [151]	<i>L. glabrescens</i> Benth. (g)	Gomes <i>et al.</i> , 1981
Glabrescine [152]	"	"

ROTENOÏDES

Elliptone [153]	<i>L. salvadorensis</i> (g)	Birch <i>et al.</i> , 1985
Acide 12a β -Hydroxy-rot-2'-énonique [154]	<i>L. utilis</i> et <i>L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	Fang et Casida, 1999
Roténone [5]	<i>L. cyanescens</i> (r) (Schum. et Thonn.) Benth. <i>L. fluvialis</i> (f) <i>L. longifolius</i> Benth. (r) [= <i>Derris longifolia</i> Benth.] <i>L. nicou</i> (r) <i>L. salvadorensis</i> (g) <i>L. sp uaicà</i> (r) <i>L. spruceanus</i> Benth. (r) <i>L. utilis</i> A. C. Smith (r) <i>L. utilis</i> et <i>L. urucu</i> (r) (résine de cubé) <i>L. urucu</i> (Killip et Smith) (r)	Iwu et Ohiri, 1980 Blatt <i>et al.</i> , 2002 Gomes <i>et al.</i> , 1981 Kaouadji <i>et al.</i> , 1986 Birch <i>et al.</i> , 1985 Gomes <i>et al.</i> , 1981 Menichini <i>et al.</i> , 1982 Gomes <i>et al.</i> , 1981 Fang et Casida, 1999 Gomes <i>et al.</i> , 1981
12a β -Hydroxyroténone [6]	<i>L. fluvialis</i> (f) <i>L. longifolius</i> Benth. (r) [= <i>Derris longifolia</i> Benth.] <i>L. nicou</i> (r)	Blatt <i>et al.</i> , 2002 Gomes <i>et al.</i> , 1981 Kaouadji <i>et al.</i> , 1986

	<i>L. sp uaicà</i> (r)	Gomes <i>et al.</i> , 1981
	<i>L. spruceanus</i> Benth. (r)	Menichini <i>et al.</i> , 1982
	<i>L. utilis et L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	Fang et Casida, 1999
Déguéline [7]	<i>L. longifolius</i> Benth. (r) [= <i>Derris longifolia</i> Benth.]	Gomes <i>et al.</i> , 1981)
	<i>L. nicou</i> (r)	Kaouadji <i>et al.</i> , 1986
	<i>L. salvadorensis</i> (g)	Birch <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. sp uaicà</i> (r)	Gomes <i>et al.</i> , 1981
	<i>L. spruceanus</i> Benth. (r)	Menichini <i>et al.</i> , 1982
	<i>L. unifoliolatus</i> Benth. (p.n.p.) [= <i>L. unifoliatius</i> Benth.]	Delle <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. utilis</i> A. C. Smith (r)	Gomes <i>et al.</i> , 1981
	<i>L. utilis et L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	Fang et Casida, 1999
	<i>L. urucu</i> (Killip et Smith) (r)	Gomes <i>et al.</i> , 1981
Téphrosine [8]	<i>L. longifolius</i> Benth. (r) [= <i>Derris longifolia</i> Benth.]	Gomes <i>et al.</i> , 1981
	<i>L. nicou</i> (r)	Kaouadji <i>et al.</i> , 1986
	<i>L. sp uaicà</i> (r)	Gomes <i>et al.</i> , 1981
	<i>L. spruceanus</i> Benth. (r)	Menichini <i>et al.</i> , 1982
	<i>L. unifoliolatus</i> Benth. (p.n.p.) [= <i>L. unifoliatius</i> Benth.]	Delle <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. utilis et L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	Fang et Casida, 1999
	<i>L. urucu</i> (Killip et Smith) (r)	Gomes <i>et al.</i> , 1981
12 α -Hydroxyroténone [155]	<i>L. subglauscens</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996
	<i>L. utilis et L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	Fang et Casida, 1999
12 α -Méthoxyroténone [156]	<i>L. utilis et L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	"
12 α -Méthoxyroténone [157]	"	"
12 α -Hydroxydéguéline [158]	"	"
12 α -Méthoxydéguéline [159]	"	"
12 α -Méthoxydéguéline [160]	"	"
<i>trans</i> -4',5'-Dihydro-4',5'- dihydroxytéphrosine [161]	"	"
<i>cis</i> -4',5'-Dihydro-4',5'- dihydroxytéphrosine [162]	"	"
<i>cis</i> -4',5'-Dihydro-4',5'- dihydroxytéphrosine [163]	"	"
<i>trans</i> -4',5'-Dihydro-4',5'- dihydroxytéphrosine [164]	"	"
Sumatrol [165]	<i>L. fluvialis</i> (f)	Blatt <i>et al.</i> , 2002
Villosinol [166]	"	"
Toxicarol [167]	<i>L. utilis et L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	Fang et Casida, 1999
	<i>L. salvadorensis</i> (g)	Birch <i>et al.</i> , 1985
12 α -Hydroxytoxicarol [168]	<i>L. utilis et L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	Fang et Casida, 1999
	<i>L. fluvialis</i> (f)	Blatt <i>et al.</i> , 2002

7'-Chloro-5'-hydroxy-4',5'-dihydrodéguéline [169]	<i>L. utilis</i> et <i>L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	Fang et Casida, 1999
4',5'-Dihydro-5',7'-dihydroxytéphrosine [170]	"	"
5',7'-Dihydroxytéphrosine [171]	"	"
6a,12a-Déhydroroténone [172]	<i>L. longifolius</i> Benth. (r) [= <i>Derris longifolia</i> Benth.] <i>L. urucu</i> (Killip et Smith) (r) <i>L. utilis</i> et <i>L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	Gomes <i>et al.</i> , 1981 " Fang et Casida, 1999
6a,12a-Déhydrodéguéline [173]	<i>L. utilis</i> et <i>L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	"
6a,12a-Déhydrotoxicarol [174]	"	"
6a,12a-Déhydro-6-oxoroténone [175]	"	"
6a,12a-Déhydro-6-oxodéguéline [176]	"	"
7'-Nor-6'-oxo-4',5'-déhydroroténolone [177]	"	"
13- <i>Homo</i> -13-oxa-6a,12a-déhydroroténone [178]	<i>L. utilis</i> et <i>L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	Fang et Casida, 1997
13- <i>Homo</i> -13-oxa-6a,12a-déhydrodéguéline [179]	"	"
4',5'-Dihydro-4',5'-dihydroxy-13- <i>homo</i> -13-oxa-6a,12a-déhydrodéguéline [180]	<i>L. utilis</i> et <i>L. urucu</i> (r) (résine de cubé)	Fang et Casida, 1999

PTEROCARPANES

Déméthylhomoptérocarpine (Médicarpine) [181]	<i>L. negrensis</i> Benth. (t)	Braz Filho <i>et al.</i> , 1975
Philenoptéran [182]	<i>L. laxiflorus</i> Guill. et Perr.(r) [= <i>L. philenoptera</i> Benth.]	Pelter et Amenechi, 1969
9- <i>O</i> -Méthylphilenoptéran [183]	"	"
Maackiaïne [184]	<i>L. fluvialis</i> (f)	Blatt <i>et al.</i> , 2002
Flémichapparine B [185]	<i>L. urucu</i> (Killip et Smith) (r)	Gomes <i>et al.</i> , 1981

TRITERPENES

TRITERPENES STEROIDIQUES

β-Sitostérol [186]	<i>L. castilloi</i> Standley (t)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. minimiflorus</i> (f)	Roussis <i>et al.</i> , 1987
	<i>L. negrensis</i> Benth. (t)	Braz Filho <i>et al.</i> , 1975
	<i>L. nelsii</i> (Schinz) (r)	Menichini <i>et al.</i> , 1985

	Heering et Grimme <i>L. obtusus</i> Benth. (ec. r)	Do Nascimento <i>et al.</i> 1976
Stigmastérol [187]	<i>L. minimiflorus</i> (f)	Roussis <i>et al.</i> , 1987

TRITERPENES PENTACYCLIQUES

TRITERPENES PENTACYCLIQUES

Lupéol [188]	<i>L. atropurpureus</i> (r) <i>L. cyanescens</i> (ec., f, t) (Schum. et Thonn.) Benth. <i>L. mollis</i> Benth. (r) <i>L. negrensis</i> Benth. (t) <i>L. nelsii</i> (Schinz) (r) Heering et Grimme	Magalhaes <i>et al.</i> , 1999 Promsattha <i>et al.</i> , 1987 Lyra <i>et al.</i> , 1979 Braz Filho <i>et al.</i> , 1975 Menichini <i>et al.</i> , 1985
Lupénone [189]	<i>L. negrensis</i> Benth. (t)	Braz Filho <i>et al.</i> , 1975
β-Amyrine [190]	<i>L. atropurpureus</i> (r)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1999
Acide bétulinique [191]	<i>L. mollis</i> Benth. (r) <i>L. fluvialis</i> (f)	Lyra <i>et al.</i> , 1979 Blatt <i>et al.</i> , 2002
Acide β-glycyrrhétinique [192]	<i>L. cyanescens</i> (r) (Schum. et Thonn.) Benth.	Iwu et Ohiri, 1980
Lonchoterpène [193]	"	"
Acide (3β,20β)-3,28-dihydroxy-11-oxo-oléan-12-èn-29-oïque [194]	"	"

COMPOSES AZOTES

ACIDES AMINES

Canavanine [195]	<i>L. bussei</i> Harms (g) <i>L. capassa</i> Rolfe (g) <i>L. cyanescens</i> (g) (Schum. et Thonn.) Benth. <i>L. eriocalyx</i> Harms (g) <i>L. laxiflorus</i> Guill. et Perr.(g) (<i>L. phlenoptera</i> Benth.) <i>L. negrensis</i> Benth. (g) <i>L. nelsii</i> (Schinz) (g) Heering et Grimme <i>L. sp 2</i> Benth. (g) <i>L. sutherlandii</i> (g) (Harvey) Dunn.	Evans <i>et al.</i> , 1985 Fellows <i>et al.</i> , 1978 " " " " " " Evans <i>et al.</i> , 1985 Birdsong <i>et al.</i> , 1960 Evans <i>et al.</i> , 1985
γ-Hydroxyhomoarginine [196]	<i>L. araripensis</i> Benth. (g) <i>L. costaricensis</i> (g) <i>L. fendleri</i> Benth. (g) <i>L. glabrescens</i> Benth. (g) <i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g) [= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	Evans <i>et al.</i> , 1985 " " " "

	<i>L. leucanthus</i> Burkart. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. martyonii</i> A. C. Smith (g)	"
	<i>L. monilis</i> (L.) A. M. G. (g)	"
	Azevedo	
	<i>L. muehlbergianus</i> Hassler (g)	"
	<i>L. purpureus</i> Pittier (g)	"
	<i>L. subglauscens</i> (g)	"
4-Hydroxyarginine [197]	<i>L. araripensis</i> Benth. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. castilloi</i> Standley (t)	"
	<i>L. constrictus</i> Pittier (g)	"
	<i>L. costaricensis</i> (g)	"
	<i>L. emarginatus</i> Pittier. (g)	"
	<i>L. eriocarinalis</i> Micheli.(g)	"
	[= <i>L. eriocaulinalis</i> Micheli.]	
	<i>L. fendleri</i> Benth. (g)	"
	<i>L. glabrescens</i> Benth. (g)	"
	<i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g)	"
	Malme,	
	[= <i>L. neuroscapha</i> Benth.]	
	<i>L. hermani</i> M. Sousa (g)	"
	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g)	"
	[= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	
	<i>L. leucanthus</i> Burkart. (g)	"
	<i>L. longistylus</i> Pittier (ec. t, r)	"
	[= <i>L. violaceus</i> (Jacq.) D. C.]	
	<i>L. lutescens</i> Pittier (g)	"
	<i>L. macrocarpus</i> Benth. (g)	"
	[= <i>L. ernestii</i> Harms]	
	<i>L. margaritensis</i> Pittier (g)	"
	<i>L. martyonii</i> A. C. Smith (g)	"
	<i>L. muehlbergianus</i> Hassler (g)	"
	<i>L. nitidus</i> (J. Vogel) Benth. (g)	"
	<i>L. obovatus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. oliganthus</i> F. J. Herm. (g)	"
	<i>L. orotinus</i> (g)	"
	<i>L. peninsularis</i> J. D. Smith (g)	"
	<i>L. salvadorensis</i> (g)	"
	<i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (g)	"
	<i>L. spiciflorus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. subglauscens</i> (g)	"
	<i>L. unifoliolatus</i> Benth. (g)	"
	[= <i>L. unifoliatus</i> Benth.]	
	<i>L. velutinus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. xuul</i> Lundell. (g)	"
	[= <i>L. guatemalensis</i> Benth]	
Homoarginine[198]	<i>L. constrictus</i> Pittier (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. costaricensis</i> (g)	"
	<i>L. domengensis</i> Pers. D. C. (g)	"
	<i>L. emarginatus</i> Pittier. (g)	"
	<i>L. eriocarinalis</i> Micheli.(g)	"
	[= <i>L. eriocaulinalis</i> Micheli.]	
	<i>L. glabrescens</i> Benth. (g)	"
	<i>L. hermani</i> M. Sousa (g)	"
	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g)	"
	[= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	
	<i>L. lanceolatus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g)	"
	[= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	
	<i>L. macrocarpus</i> Benth. (g)	"
	[= <i>L. ernestii</i> Harms]	
	<i>L. monilis</i> (L.) A. M. G. (g)	"
	Azevedo	
	<i>L. parviflorus</i> Benth. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985

	<i>L. peninsularis</i> J. D. Smith (g)	"
	<i>L. rugosus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. salvadorensis</i> (g)	"
	<i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (g)	"
	<i>L. xuul</i> Lundell. (g)	"
	[= <i>L. guatemalensis</i> Benth]	
Acide-2-Amino-4,5-dihydro- 1H-imidazole-4-acétique [199]	<i>L. atropurpureus</i> (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. castilloi</i> Standley (t)	"
	<i>L. constrictus</i> Pittier (g)	"
	<i>L. dipteroneurus</i> Pittier (g)	"
		Fellows <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. domengensis</i> Pers. D. C. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. emarginatus</i> Pittier. (g)	"
	<i>L. eriocarinalis</i> Micheli.(g)	"
	[= <i>L. eriocaulinalis</i> Micheli.]	"
	<i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g)	"
	Malme,	
	[= <i>L. neuroscapha</i> Benth.]	
	<i>L. hermani</i> M. Sousa (g)	"
	<i>L. hondurensis</i> Benth. (g)	"
	<i>L. lanceolatus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. lilloi</i> (Hassler) Burkart. (g)	"
	<i>L. longistylus</i> Pittier (ec. t, r)	"
	[= <i>L. violaceus</i> (Jacq.) D. C.]	Fellows <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. lutescens</i> Pittier (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. macrocarpus</i> Benth. (g)	"
	[= <i>L. ernestii</i> Harms]	
<i>L. margaritensis</i> Pittier (g)	"	
<i>L. minimiflorus</i> (f)	Roussis <i>et al.</i> , 1987	
<i>L. nitidus</i> (J. Vogel) Benth. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985	
<i>L. obovatus</i> Benth. (g)	"	
<i>L. oliganthus</i> F. J. Herm. (g)	"	
<i>L. orotinus</i> (g)	"	
<i>L. parviflorus</i> Benth. (g)	"	
<i>L. peninsularis</i> J. D. Smith (g)	"	
<i>L. rugosus</i> Benth. (g)	"	
<i>L. salvadorensis</i> (g)	"	
<i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (g)	"	
<i>L. spiciflorus</i> Benth. (g)	"	
<i>L. unifoliolatus</i> Benth. (g)	"	
[= <i>L. unifolius</i> Benth.]		
<i>L. velutinus</i> Benth. (g)	"	
<i>L. xuul</i> Lundell. (g)	"	
[= <i>L. guatemalensis</i> Benth]		
Acide-2-(2-Amino-2- imidazolin-4-yl)acétique [200]	<i>L. cruentus</i> Lundell (g)	Fellows <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. dipteroneurus</i> Pittier (g)	"
	<i>L. emarginatus</i> Pittier. (g)	"
	<i>L. eriocarinalis</i> Micheli.(g)	"
	[= <i>L. eriocaulinalis</i> Micheli.]	
	<i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g)	"
	Malme,	
	[= <i>L. neuroscapha</i> Benth.]	
	<i>L. longistylus</i> Pittier (ec. t, r)	"
	[= <i>L. violaceus</i> (Jacq.) D. C.]	
	<i>L. margaritensis</i> Pittier (g)	"
	<i>L. obovatus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. oliganthus</i> F. J. Herm. (g)	"
	<i>L. peninsularis</i> J. D. Smith (g)	"
<i>L. rugosus</i> Benth. (g)	"	
<i>L. salvadorensis</i> (g)	"	
<i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (g)	"	
<i>L. spiciflorus</i> Benth. (g)	Fellows <i>et al.</i> , 1978	

	<i>L. spruceanus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. xuul</i> Lundell. (g)	"
	[= <i>L. guatemalensis</i> Benth]	
Enduracididine [201]	<i>L. atropurpureus</i> (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. castilloi</i> Standley (t)	"
	<i>L. cruentus</i> Lundell (g)	Fellows <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. constrictus</i> Pittier (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. dipteroneurus</i> Pittier (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
		Fellows <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. domengensis</i> Pers. D. C. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. emarginatus</i> Pittier. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
		Fellows <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. eriocarinalis</i> Micheli.(g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	[= <i>L. eriocaulinalis</i> Micheli.]	
	<i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g)	"
	Malme,	
	[= <i>L. neuroscapha</i> Benth.]	
	<i>L. hermani</i> M. Sousa (g)	"
	<i>L. hondurensis</i> Benth. (g)	"
	<i>L. lanceolatus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. lilloi</i> (Hassler) Burkart. (g)	"
	<i>L. longistylus</i> Pittier (Ec. t, r)	Fellows <i>et al.</i> , 1978
	[= <i>L. violaceus</i> (Jacq.) D. C.]	
	<i>L. lutescens</i> Pittier (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. macrocarpus</i> Benth. (g)	"
	[= <i>L. ernestii</i> Harms]	
	<i>L. margaritensis</i> Pittier (g)	"
		Fellows <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. minimiflorus</i> (g)	Roussis <i>et al.</i> , 1987
	<i>L. nitidus</i> (J. Vogel) Benth. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. obovatus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. oliganthus</i> F. J. Herm. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
		Fellows <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. orotinus</i> (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. parviflorus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. peninsularis</i> J. D. Smith (g)	"
	<i>L. rugosus</i> Benth. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
		Fellows <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. salvadorensis</i> (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	[= <i>L. unifoliatu</i> s Benth.]	
	<i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (g)	"
	<i>L. spiciflorus</i> Benth. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
		Fellows <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. velutinus</i> Benth. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. xuul</i> Lundell. (g)	"
	[= <i>L. guatemalensis</i> Benth]	
Tétrahydrolathyrine [202]	<i>L. costaricensis</i> (g)	"

ALCALOIDES

2,5- <i>trans</i> -Dihydroxyméthyl- 3,4- <i>trans</i> -dihydroxypyrrolidine [203]	<i>L. araripensis</i> Benth. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. atropurpureus</i> (g)	"
	<i>L. castilloi</i> Standley (t)	"
	<i>L. costaricensis</i> (g)	"
	<i>L. constrictus</i> Pittier (g)	"
	<i>L. cultratus</i> (g)	Magalhaes <i>et al.</i> , 2002
	<i>L. dipteroneurus</i> Pittier (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
		Fellows <i>et al.</i> , 1978
	<i>L. domengensis</i> Pers. D. C. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. emarginatus</i> Pittier. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985

	<i>L. eriocarinalis</i> Micheli.(g)	"
	[= <i>L. eriocaualinalis</i> Micheli.]	"
	<i>L. fendleri</i> Benth. (g)	"
	<i>L. filipes</i> Benth. (g)	"
	<i>L. floribundus</i> Benth.	Gomes <i>et al.</i> , 1981
	[= <i>Derris floribunda</i> (Benth.) Ducke]	
	<i>L. glabrescens</i> Benth. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. guillemineanus</i> (Tul.) (g)	"
	Malme,	
	[= <i>L. neuroscapha</i> Benth.]	
	<i>L. hermani</i> M. Sousa (g)	"
	<i>L. hondurensis</i> Benth. (g)	"
	<i>L. lanceolatus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g)	"
	[= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	Magalhaes <i>et al.</i> , 2002
	<i>L. leucanthus</i> Burkart. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. lilloi</i> (Hassler) Burkart. (g)	"
	<i>L. longistylus</i> Pittier (ec. t, r)	"
	[= <i>L. violaceus</i> (Jacq.) D. C.]	"
	<i>L. lutescens</i> Pittier (g)	"
	<i>L. macrocarpus</i> Benth. (g)	"
	[= <i>L. ernestii</i> Harms]	"
	<i>L. margaritensis</i> Pittier (g)	"
	<i>L. martynii</i> A. C. Smith (g)	"
	<i>L. minimiflorus</i> (f)	Roussis <i>et al.</i> , 1987
	<i>L. monilis</i> (L.) A. M. G. (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	Azevedo	
	<i>L. muehlbergianus</i> Hassler (g)	"
	<i>L. nitidus</i> (J. Vogel) Benth. (g)	"
	<i>L. nitidulus</i> (Benth.) Ducke (g)	"
	<i>L. obovatus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. oliganthus</i> F. J. Herm. (g)	"
	<i>L. orotinus</i> (g)	"
	<i>L. parviflorus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. purpureus</i> Pittier (g)	"
	<i>L. rugosus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. salvadorensis</i> (g)	"
	<i>L. sanctae-marthae</i> Pittier (g)	"
	<i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (g)	"
	<i>L. spiciflorus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. subglauscens</i> (g)	"
	<i>L. unifoliolatus</i> Benth. (g)	"
	[= <i>L. unifoliatus</i> Benth.]	"
	<i>L. velutinus</i> Benth. (g)	"
	<i>L. xuul</i> Lundell. (g)	"
	[= <i>L. guatemalensis</i> Benth]	
1-Déoxymannojirimycine [204]	<i>L. costaricensis</i> (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. cultratus</i> (g)	Magalhaes <i>et al.</i> , 2002
	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g)	"
	[= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	
	<i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
1-Déoxyjirimycine [205]	<i>L. latifolius</i> (Willd.) D.C. (g)	Magalhaes <i>et al.</i> , 2002
	[= <i>L. pentaphyllus</i> (Poiret) D. C.]	
Homonojirimicyne [206]	"	"
Fagomine [207]	"	"
2-Aminoimidazole [208]	<i>L. martynii</i> A. C. Smith (g)	Evans <i>et al.</i> , 1985
	<i>L. muehlbergianus</i> Hassler (g)	"
	<i>L. subglauscens</i> (g)	"

AUTRES COMPOSES

d-Pinitol [209]	<i>L. laxiflorus</i> Guill. et Perr.(b) [= <i>L. philenoptera</i> Benth] <i>L. sericeus</i> (Poir.) Kunth (f)	Plouvier, 1955 Plouvier, 1965
1-Heptacosanol [210]	<i>L. obtusus</i> Benth. (ec. r)	Do Nascimento <i>et al.</i> 1976

D. CONCLUSION

Les différentes études phytochimiques réalisées sur diverses espèces du genre *Lonchocarpus* ont permis de référencer plus de 200 composés qui se répartissent en trois groupes principaux : Les composés phénoliques, les triterpènes et les composés azotés. Parmi ces trois groupes, celui des composés phénoliques regroupe la majorité des composés dont la plupart sont des flavonoïdes. Ces derniers se présentent sous diverses formes dont les plus importantes sont : les chalcones, les aurones, les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols et les roténoïdes. A côté de ces différentes classes de flavonoïdes, on trouve les stilbènes qui sont également répandus dans le genre *Lonchocarpus*.

Parmi les composés phénoliques, on retrouve une prénylation quasi systématique sous forme linéaire ou cyclisée. Cette prénylation constitue une des caractéristiques de ce genre et des genres voisins (*Derris*, *Millettia*, *Mundulea*, *Tephrosia*) qui possèdent pratiquement le même profil de variétés structurales au niveau des métabolites secondaires [SOUTHON, 1994].

3^{ème} PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

Nos travaux expérimentaux concernent principalement l'étude phytochimique de *L. nicou*. Ils consistent à identifier le maximum de composés afin d'élargir et d'approfondir la connaissance phytochimique de cette plante.

L'objectif phytochimique correspond, en effet, à l'isolement et à la détermination structurale des molécules naturelles de *L. nicou*. Pour ce faire, nous avons procédé à l'extraction, au fractionnement et à la purification de différents phytoconstituants en utilisant diverses techniques de chromatographie (HPLC, MPLC, CCM, CCM centrifuge...). Les métabolites secondaires isolés sont par la suite analysés et caractérisés par des techniques de spectrométrie de masse (SM) et de spectroscopie (UV, RMN monodimensionnelle, RMN bidimensionnelle homonucléaire et hétéronucléaire). Ces données sont complétées dans certains cas par la mesure de l'activité optique.

Quatre molécules majoritairement rencontrées dans la racine de cette Fabacée tropicale sont sélectionnées en vue de réaliser des tests biologiques préliminaires sur deux lignées de cellules cancéreuses : lignée HEL (érythroleucémie humaine) et lignée 1547 (ostéosarcome humain). Dans ce contexte, quatre types d'évaluations ont été abordés en vue de traduire les effets biologiques de ces molécules majeures :

- évaluation de leurs effets sur les récepteurs aux estrogènes
- évaluation de leur activité anti-aromatase
- évaluation de leur activité antiproliférative
- évaluation de leur cytotoxicité.

Ces différentes étapes de nos travaux seront développées et détaillées tout au long de cette partie. Mais dans un premier temps, nous aborderons quelques aspects d'ordre technique concernant l'extraction, le fractionnement, l'isolement, la purification et l'analyse structurale des composés obtenus.

A. MATERIELS ET METHODES

I. MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal (200 g) est constitué de racines sèches et broyées de *Lonchocarpus nicou* (Aublet) D.C. Il est fourni par l'entreprise SEDAGRI (Rue de la Méditerranéenne, 34300 Agde), à titre gracieux. Un spécimen est déposé au laboratoire de pharmacognosie de Grenoble (Domaine de la Merci, 38700 la Tronche).

II. METHODES DE PURIFICATION

1. Chromatographie préparative sur couche mince (CCM prép.)

Les chromatographies préparatives sur couche mince sont effectuées sur des plaques (20 x 20 cm) pré-étalées de gel de silice Merk 60F₂₅₄ de 0,25 mm d'épaisseur.

Les solvants utilisés pour cette chromatographie sont répertoriés dans le Tableau ci-après.

Tableau 2 : Solvants pour CCM préparative.

Solvant	Mélange
S1	C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt : MeOH (90 : 5 : 5)
S2	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (9,1 : 81,8 : 9,1)
S3	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (7,5 : 85 : 7,5)
S4	CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt : MeOH (90 : 5 : 5)

2. Chromatographie liquide sur colonne ouverte (CC)

Les colonnes ouvertes utilisées sont des colonnes Sephadex LH 20 Sigma. Elles sont de différentes tailles (800 x 26 mm ; 340 x 26 mm ; 340 x 15 mm). Les solvants utilisés sont présentés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Solvants pour colonnes Sephadex LH 20.

Solvant	Mélange
S5	MeOH (100%)
S6	CHCl ₃ : MeCOEt : MeOH (30 : 35 : 35)

3. Chromatographie liquide moyenne pression (MPLC)

Les MPLC sont réalisées sur des colonnes Büchi de tailles différentes : 460 x 26 mm ; 460 x 15 mm ; 230 x 15 mm.

L'appareillage est composé de :

- un réservoir de phase mobile.
- une pompe Büchi 681 (pression max 40 bars).

- une colonne Büchi remplie de phase stationnaire surmontée d'une pré-colonne Büchi (115 x 10 mm).

Les colonnes sont remplies à sec et les phases stationnaires utilisées pour la purification en MPLC sont les suivantes :

- gel de silice greffée diol, Merck LiChroprep® DIOL, 15-40 µm.
- gel de silice, Merck LiChroprep® Si 60, 15-25 µm.
- polyamide Macherey-Nagel SC-6, < 70 µm.

Les différentes phases mobiles utilisées sont présentées dans le tableau 4.

Remarque :

Dans ce tableau tous les solvants encadrés par des lignes en pointillés correspondent aux solvants utilisés pour la réalisation d'une colonne MPLC avec un solvant initial, un ou plusieurs solvants intermédiaires et un solvant final. Il faut noter que les mélanges de solvants intermédiaires qui sont répertoriés ici correspondent exclusivement aux solvants ayant servi à obtenir des extraits étudiés ultérieurement ou à obtenir des métabolites secondaires. Cette remarque reste valable pour le Tableau 6 qui regroupe les mélanges de solvants utilisés pour la CCM centrifuge.

Tableau 4 : Solvants pour les séparations par MPLC.

Solvant	Mélange initial	Mélange(s) intermédiaire(s)	Mélange final
S7	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S8		C ₆ H ₁₄ : EtOAc (80 : 20)	
S9		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (76,2 : 19 : 4,8)	
S10		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (72,7 : 18,2 : 9,1)	
S11		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (63,6 : 27,3 : 9,1)	
S12		C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (31,8 : 31,8 : 27,3 : 9,1)	
S13		CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (63,6 : 27,3 : 9,1)	
S14		CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (60 : 30 : 10)	
S15			CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeOH (60 : 10 : 30)
S16	C ₃ H ₈ CH ₃ (100 %)		
S17		C ₃ H ₈ CH ₃ : MeCOEt (96 : 4)	
S18		C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt (91 : 9)	
S19			MeCOEt : MeOH (95 : 5)
S20	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt (80 : 10 : 5 : 5)		
S21		C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt (75 : 10 : 10 : 5)	
S22		C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt (50 : 15 : 15 : 20)	
S23			CH ₂ Cl ₂ : MeOH (80 : 20)
S24	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S25		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (83 : 15 : 2)	
S26			C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt : MeOH (10 : 40 : 47,5 : 2,5)

Tableau 4 : Suite.

Solvant	Mélange initial	Mélange(s) intermédiaire(s)	Mélange final
S27	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S28		C ₆ H ₁₄ : EtOAc (85 : 15)	
S29		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (83 : 15 : 2)	
S30		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (80 : 15 : 5)	
S31		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (60 : 30 : 10)	
S32			C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt : MeOH (10 : 40 : 47,5 : 2,5)
S33	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ (67 : 33)		
S34		C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (64,5 : 32,3 : 3,2)	
S35			C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (7 : 90 : 3)
S36	C ₆ H ₁₄ : EtOAc (90 : 10)		
S37		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (70 : 15 : 15)	
S38			CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (60 : 20 : 20)
S39	C ₆ H ₁₄ : EtOAc (90 : 10)		
S40		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (70 : 15 : 15)	
S41		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (60 : 20 : 20)	
S42			CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (60 : 20 : 20)
S43	C ₆ H ₁₄ : EtOAc (90 : 10)		
S44		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (70 : 15 : 15)	
S45		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (60 : 20 : 20)	
S46			CH ₂ Cl ₂ : MeOH (40 : 60)
S47	C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (80 : 15 : 5)		
S48		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (75 : 15 : 10)	
S49		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (60 : 20 : 20)	
S50		CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (80 : 10 : 10)	
S51			CH ₂ Cl ₂ : MeOH (70 : 30)
S52	C ₆ H ₅ CH ₃ (100 %)		
S53		C ₆ H ₅ CH ₃ : EtOAc (85 : 15)	
S54		C ₆ H ₅ CH ₃ : EtOAc : MeOH (70 : 15 : 15)	
S55			CH ₂ Cl ₂ : MeCOMe : MeOH (40 : 30 : 30)
S56	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S57		C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt (47,5 : 47,5 : 5)	
S58			C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt : MeOH (20 : 20 : 30 : 30)
S59	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S60		C ₆ H ₁₄ : MeCOEt : MeOH (90 : 5 : 5)	
S61			CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt : MeOH (75 : 15 : 10)
S62	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S63		C ₆ H ₁₄ : MeCOEt : MeOH (80 : 10 : 10)	
S64			CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt : MeOH (50 : 25 : 25)
S65	C ₆ H ₅ CH ₃ (100 %)		
S66		C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt (85 : 15)	
S67		C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt : MeOH (80 : 15 : 5)	
S68			C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt : MeOH (20 : 40 : 40)
S69	C ₆ H ₅ CH ₃ (100 %)		
S70		C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt : MeOH (83 : 15 : 2)	
S71			C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt : MeOH (20 : 40 : 40)
S72	C ₆ H ₅ CH ₃ (100 %)		
S73		C ₆ H ₅ CH ₃ : EtOAc (85 : 15)	
S74			CH ₂ Cl ₂ : MeOH (70 : 30)

4. Chromatographie liquide haute performance semi-préparative (HPLC semi-prép.)

Les dernières étapes de purification sont souvent réalisées à l'aide d'une HPLC semi-préparative. Ces étapes en HPLC nécessitent l'utilisation d'une chaîne Perkin Elmer équipée :

- d'un détecteur UV visible (Perkin Elmer série 200)
- d'une pompe quaternaire série 200 (injection manuelle, vanne et boucle de 200 µl Rhéodyne)
- d'une interface série 600
- d'un contrôleur d'élution
- d'un dégazeur série 200

L'ensemble est contrôlé par un ordinateur muni d'un programme spécial « TotalChrom ».

Les colonnes utilisées sont les suivantes :

- Bischoff prep 2025, RG 1010 Si 100 Impaq® (250 x 20 mm, 10 µm)
- Macherey Nagel, Nucleodur100-5 C₁₈ (250 x 10 mm, 5 µm)

Ces chromatographies sont réalisées à l'aide des solvants présentés dans le Tableau 5 avec un débit de 4 ml/min.

Tableau 5 : Solvants pour la purification par HPLC semi-préparative.

Solvant	Mélange
S75	MeOH : H ₂ O (50,5 : 49,5)
S76	MeOH : H ₂ O (55 : 45)
S77	MeOH : H ₂ O (65 : 35)
S78	MeOH : H ₂ O (80 : 20)
S79	C ₆ H ₁₄ : CHCl ₃ : <i>i</i> PrOH : MeOH (90 : 6,5 : 3 : 0,5)
S80	C ₆ H ₁₄ : CHCl ₃ : <i>i</i> PrOH : MeOH (80 : 13 : 6,5 : 0,5)
S81	C ₆ H ₁₄ : CHCl ₃ : <i>i</i> PrOH : MeOH (85 : 9 : 4,5 : 1,5)

5. Chromatographie circulaire centrifuge sur couche mince (CCM centrifuge)

Les chromatographies circulaires centrifuges sont réalisées sur l'appareil Chromatotron® (modèle 8924 Harrison Research) constitué d'un rotor incliné, d'un moteur, d'une pompe (modèle RHSY) et d'une plaque en verre circulaire portant l'adsorbant. Les plaques utilisées sont de 1 ou 2 mm d'épaisseur et sont constituées d'un gel de silice 60 PF₂₅₄ Merk, associé à un liant : le sulfate de calcium. Ces plaques sont préparées au laboratoire (plaque de 1 mm : 50 g de silice pour 100 ml d'eau ; plaque de 2 mm : 65g de silice pour 130 ml d'eau). Les solvants utilisés pour cette chromatographie sont regroupés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Solvants pour la CCM centrifuge.

Solvant	Mélange initial	Mélange(s) intermédiaire(s)	Mélange final
S82	$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3$ (10 : 90)		
S83		$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3 : MeOH$ (10 : 89 : 1)	
S84			$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3 : MeOH$ (10 : 88 : 2)
S85	$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3$ (16 : 84)		
S86			$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3 : EtOAc$ (71 : 14,5 : 14,5)
S87	$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3$ (10 : 90)		
S88		$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3 : MeOH$ (10 : 89 : 1)	
S89			$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3 : MeOH$ (5 : 90 : 5)
S90	$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3$ (10 : 90)		
S91			$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3 : MeOH$ (10 : 85 : 5)
S92	$C_6H_5CH_3$ (100%)		
S93		$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3 : MeOH$ (2,5 : 95 : 2,5)	
S94			$C_6H_{14} : C_6H_5CH_3 : MeOH$ (5 : 90 : 5)
S95	$C_6H_{14} : EtOAc$ (90 : 10)		
S96		$C_6H_{14} : EtOAc : MeCOEt$ (70 : 15 : 15)	
S97			$CH_2Cl_2 : EtOAc : MeCOEt$ (60 : 20 : 20)
S98	$C_6H_{14} : EtOAc : MeCOEt$ (80 : 15 : 5)		
S99		$C_6H_{14} : CH_2Cl_2 : EtOAc : MeCOEt$ (45 : 45 : 5 : 5)	
S100			$CH_2Cl_2 : EtOAc : MeOH$ (90 : 5 : 5)
S101	CH_2Cl_2 (100%)		
S102		$CH_2Cl_2 : MeCOEt : MeOH$ (80 : 10 : 10)	
S103			$CH_2Cl_2 : MeOH$ (50 : 50)
S104	$C_6H_{14} : CH_2Cl_2$ (80 : 20)		
S105		$C_6H_{14} : CH_2Cl_2 : EtOAc$ (60 : 35 : 5)	
S106			$C_6H_{14} : CH_2Cl_2 : EtOAc : MeOH$ (20 : 65 : 10 : 5)
S107	$C_6H_{14} : CH_2Cl_2$ (80 : 20)		
S108			$C_6H_{14} : CH_2Cl_2 : EtOAc : MeOH$ (40 : 40 : 20 : 20)
S109	C_6H_{14} (100%)		
S110		$C_6H_{14} : CH_2Cl_2 : EtOAc$ (72 : 20 : 8)	
S111			$C_6H_{14} : CH_2Cl_2 : EtOAc : MeOH$ (30 : 30 : 30 : 10)

III. METHODES D'ANALYSE

L'analyse de la composition des extraits bruts, celle des fractions obtenues par chromatographie préparative ainsi que la pureté des molécules isolées sont évaluées par les techniques chromatographiques usuelles. De la même façon, l'identification structurale des métabolites secondaires isolés s'appuie pour l'essentiel sur les techniques spectroscopiques suivantes: UV, RMN, SM.

1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Deux types d'adsorbants sont utilisés tout au long des différentes étapes de purification afin d'orienter notre travail :

- Silice 60 F₂₅₄ Merck, 0,1 mm sur support d'aluminium (20 x 20 cm)
- Polyamide 11 F₂₅₄ Merck, 0,15 mm sur support d'aluminium (20 x 20 cm)

Pour l'analyse de la plupart des produits, la silice est utilisée préférentiellement comme phase stationnaire. Les phases mobiles les plus utilisées pour ces deux types d'adsorbants sont les suivantes :

- C₆H₅CH₃ : MeCOEt : MeOH (75 : 15 : 10)
- C₆H₅CH₃ : C₆H₁₄ : MeOH (75 : 15 : 10)
- C₆H₅CH₃ : EtOAc (70 : 30)
- C₆H₁₄ : MeCOEt : EtOAc (70 : 20 : 10)
- CH₂Cl₂ : MeCOEt : EtOAc (90 : 5 : 5)
- CH₂Cl₂ : MeCOEt : EtOAc (80 : 10 : 10)

2. Chromatographie liquide haute performance analytique (HPLC)

Cette chromatographie sert essentiellement à contrôler la pureté des produits isolés. Elle est aussi utilisée pour étudier dans un premier temps le comportement séparatif d'un mélange de produits avant de passer à des étapes de purification. La colonne et le solvant les plus utilisés pour nos produits en HPLC sont : la colonne Waters XTerra™, RP18 (150 x 4,6 mm), 5 μm et le mélange MeOH : H₂O (60 : 40).

3. Spectrophotométrie ultraviolet (UV)

Les spectres UV des composés sont réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre SECOMAM S-750, modèle SF0191.

4. Spectrométrie de masse (SM)

Deux méthodes d'ionisations sont utilisées pour réaliser l'analyse par spectroscopie de masse.

- L'impact électronique (EI) est effectué sur un système magnétique ZAB-SEQ de VG Instruments avec une énergie d'ionisation de 70 eV et une tension d'accélération de 8000 V.
- L'électrospray quant à lui est réalisé sur un analyseur à temps de vol LCT de Micromass.

5. Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN)

L'ensemble des spectres RMN monodimensionnelle (¹H, ¹³C, ¹³C-DEPT, ¹³C-*J*mod) et bidimensionnelle (¹H-¹H COSY, ¹H-¹³C HMQC, ¹H-¹³C HMBC), sont réalisés sur un appareil Bruker DPX Avance 400 MHz du Service Commun RMN de l'Université de Limoges. Les déplacements chimiques en ppm des solvants deutériés utilisés pour les analyses sont présentés dans le Tableau 7. Ils sont exprimés par rapport au TMS.

Tableau 7. Déplacements chimiques en ppm des solvants deutériés.

	¹ H (ppm)	¹³ C (ppm)
C ₆ D ₆	7,16	128,39
C ₅ D ₅ N	8,74	150,35
	7,58	135,91
	7,22	123,87
CDCl ₃	7,27	77,23

B. ETUDE PHYTOCHIMIQUE

I. OBTENTION DES EXTRAITS

L'étude phytochimique de *Lonchocarpus nicou* est réalisée à partir de la racine sèche préalablement broyée. La poudre (200 g) ainsi obtenue est soumise à une extraction solide/liquide à température ambiante jusqu'à épuisement, en utilisant des solvants de polarité croissante (hexane, benzène, chloroforme, acétone et méthanol).

II. ISOLEMENT DES COMPOSES

1. Méthodologie générale

Les différents extraits obtenus sont analysés par CCM dans des systèmes compatibles avec la nature de l'extrait. Pour la suite de l'étude, nous retenons les extraits dont le profil chromatographique signalent la richesse en métabolites secondaires flavonoïdiques, à savoir les extraits benzénique et hexanique. L'extrait hexanique ayant fait l'objet d'une étude phytochimique antérieure [KAOUADJI *et al.*, 1986 ; KAOUADJI, 1988] n'est étudié ici que partiellement tandis que l'extrait benzénique est soumis à une étude plus approfondie. Les extraits sélectionnés subissent la première étape de fractionnement conduisant à l'obtention d'un certain nombre de fractions. Par la suite, les travaux de séparation et de purification nécessitent 5 à 6 étapes supplémentaires pour les fractions complexes et l'utilisation de différentes techniques chromatographiques (CC, MPLC, HPLC, CCM centrifuge etc.). A l'issue de chaque chromatographie préparative, les fractions obtenues sont analysées par CCM dans le but de :

- réunir les fractions qui présentent le même profil
- déterminer un nouveau support chromatographique ainsi qu'un nouveau système de solvant susceptible de mieux séparer les composés.

La complexité de l'extrait et la difficulté de certaines séparations, nous obligent à diversifier les systèmes chromatographiques.

L'étude phytochimique de *Lonchocarpus nicou* se fera dans un premier temps par l'analyse de l'extrait benzénique puis par celle de l'extrait hexanique et enfin nous ferons le bilan quantitatif avec les caractéristiques et les particularités des composés isolés. L'analyse structurale des produits isolés sera ensuite abordée ainsi qu'une discussion vis-à-vis des caractéristiques spectroscopiques et le comportement chromatographique.

2. Fractionnement de l'extrait benzénique (schéma 1)

L'extrait benzénique (24g) dans un premier temps permet la cristallisation de la roténone (L2) dans le méthanol. Celle-ci constitue le principal phytoconstituant de cet extrait. En effet elle représente plus de 80 % de l'extrait de départ et est obtenue pure après trois cristallisations successives. Les différents surnageants sont réunis (7,13 g) et soumis à une chromatographie liquide moyenne pression (MPLC) utilisant comme phase stationnaire de la silice greffée diol. Un gradient de solvant allant de S7 à S15 est utilisé pour cette chromatographie. Cette dernière est renouvelée 4 fois car la taille de la colonne mise à notre disposition ne nous permet pas de traiter d'un seul coup la totalité de l'extrait. Après le fractionnement et le rassemblement des fractions de profil chromatographique similaire, nous obtenons 14 fractions (F1 à F14). Ces différentes fractions sont traitées individuellement par la suite, en fonction de la complexité de leur composition, en fonction de leur masse et de l'intérêt porté à tel ou tel produit isolé (schéma 1).

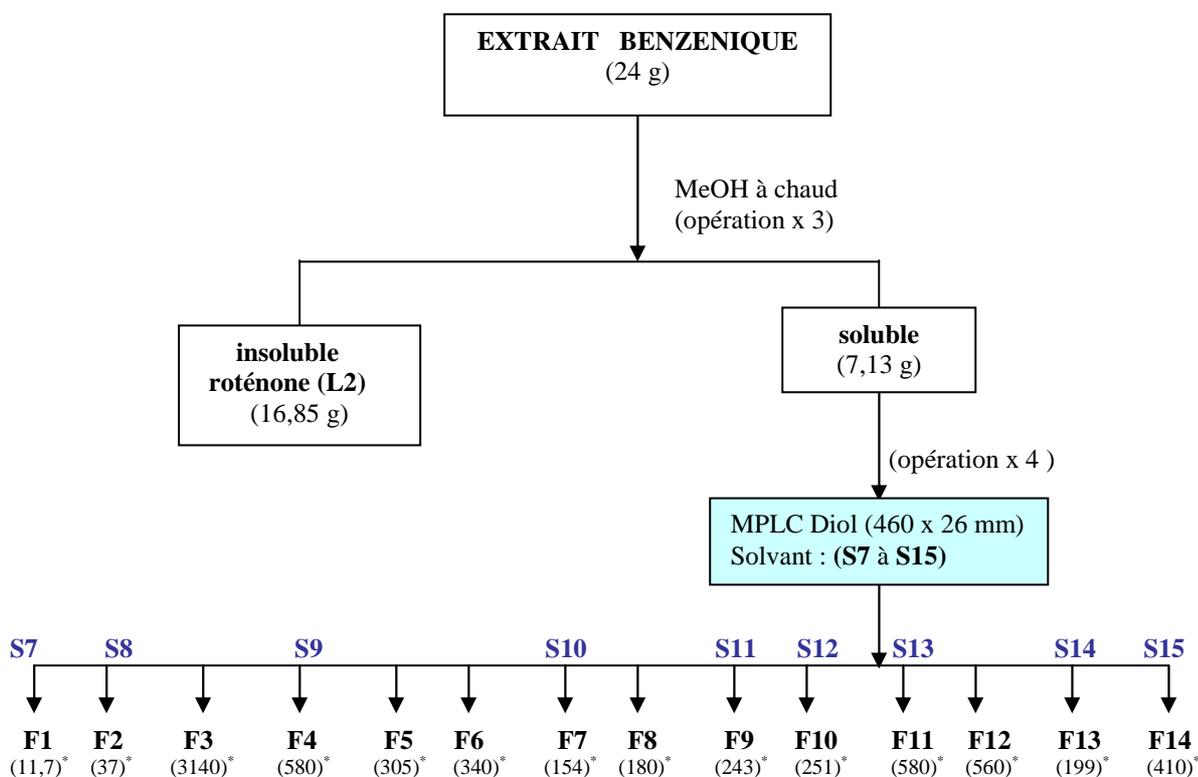


Schéma 1 : Fractionnement de l'extrait benzénique.

* masse exprimée en mg

2.1. Etude de la fraction F2 (Schéma 2)

Le traitement de la fraction F2 débute par une MPLC polyamide (colonne 230 x 15 mm) en utilisant un gradient de solvant de S56 à S58.

Parmi les fractions obtenues, celles qui présentent un produit majoritaire sont purifiées sur un système HPLC C₁₈ semi-préparative en utilisant S77 comme solvant d'éluion. Cette ultime étape permet d'isoler deux molécules de polarité voisine : ce sont deux isomères de constitution ; la 12 α -hydroxyroténone (L4) et la téphrosine (L18).

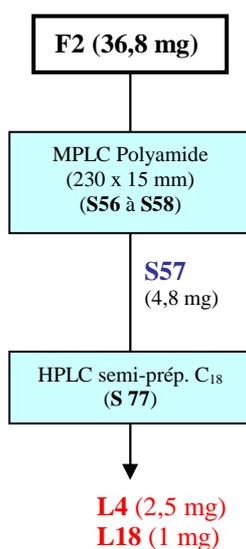


Schéma 2 : Purification de la fraction F2.

2.2. Etude de la fraction F3 (Schéma 3)

La fraction F3 est la plus importante quantitativement et son analyse par CCM indique une composition simple pour laquelle la roténone (L2) constitue le composé majeur (77%). Le traitement de F3 (3,14 g) par le MeOH chaud (3 fois) conduit à une masse cristalline de 1,59 g et une partie soluble de 1,54 g. Les cristaux traités par HPLC semi-préparative permettent l'obtention de 1,54 g de cristaux de roténone (L2) accompagnés de 12 mg de cristaux de déguéline (L16). Le traitement de la partie soluble (produits secondaires associés à L1) par MPLC SiO₂ (460 x 26 mm) en utilisant un gradient de solvant allant de S16 à S19, nous permet d'obtenir les fractions A (1,21 g) et B (41 mg) qui seront étudiées par la suite.

- La fraction A (1,21 g) renfermant toujours de la roténone (L2), va subir une autre étape de cristallisation. Cette fois-ci, les cristaux de roténone (L2) sont accompagnés de 4 produits minoritaires. Ces derniers sont purifiés par HPLC semi-préparative sur C₁₈ et en utilisant le solvant S78. Il s'agit de la 6 α ,12 α -didéhydroroténone (L10), de la 6-oxo-6 α ,12 α -didéhydrodéguéline (L26) et d'un mélange de deux composés : la 6-oxo-6 α ,12 α -didéhydroroténone (L12) et la 6 α ,12 α -didéhydrodéguéline (L24).

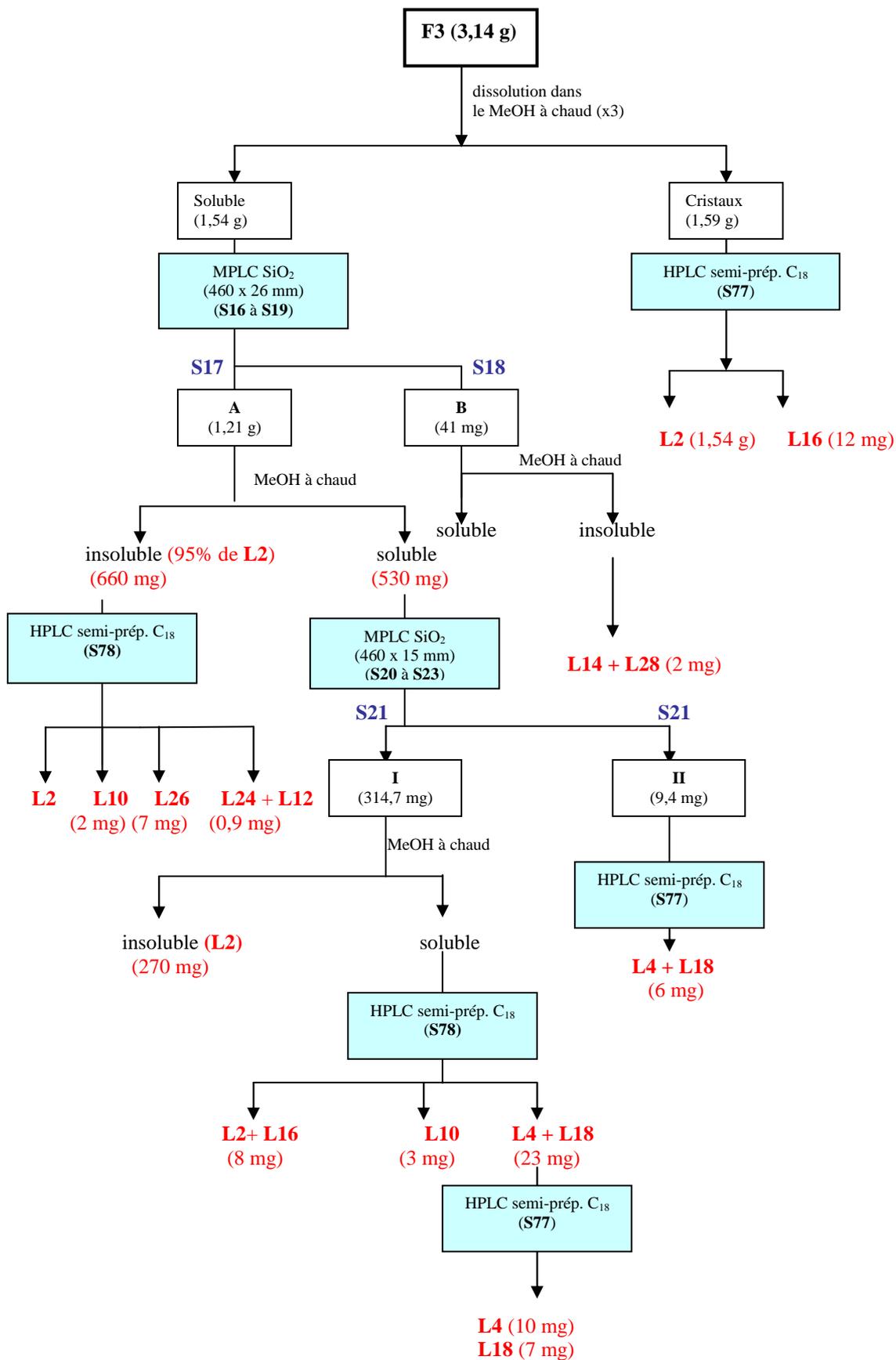


Schéma 3 : Purification de la fraction F3.

Le surnageant (530 mg) issu de cette cristallisation est fractionné grâce à une MPLC SiO₂ (460 x 15 mm) avec un système de gradient de solvant différent de celui utilisé précédemment. Ce gradient de solvant va du mélange **S20** à **S23**.

- L'analyse par CCM de la fraction **I** (314,7 mg) éluee par **S21**, montre qu'elle contient toujours de la roténone en proportion importante. Après élimination d'une partie de cette roténone toujours par cristallisation dans le MeOH, le surnageant de cette fraction est traité par deux HPLC semi-préparatives successives sur C₁₈. La première, réalisée dans le mélange **S78**, nous a permis d'obtenir la roténone (**L2**) en mélange avec la déguéline (**L16**), la didéhydroroténone (**L10**) et un autre mélange de deux produits : la 12aβ-hydroxyroténone (**L4**) et de la téphrosine (**L18**). La deuxième HPLC semi-préparative sur C₁₈ utilisant le mélange **S77** comme solvant d'élution a conduit à la séparation du mélange **L4** et **L18**.

- La fraction **II** (9,4 mg) éluee avec **S21** contient majoritairement de la 12aβ-hydroxyroténone (**L4**) et la téphrosine (**L18**) qui peuvent également être purifiées à l'aide d'une HPLC semi-préparative C₁₈ dans les mêmes conditions que précédemment.

- La fraction **B** (41 mg) éluee avec **S18** est préalablement solubilisée dans le MeOH à chaud. Celui-ci en se refroidissant, conduit à la formation d'un précipité. Ce dernier, séparé de la partie soluble est lavé plusieurs fois avec le MeOH et est formé d'un couple d'isomères constitutionnels, coumaronochromone A (**L14**) et coumaronochromone B (**L28**).

2.3. Etude de la fraction **F4** (Schéma 4)

La purification de la fraction **F4** est réalisée en 3 étapes successives : une MPLC SiO₂ (460 x 15 mm) utilisant un gradient de solvant allant de **S24** à **S26** puis une chromatographie circulaire centrifuge (SiO₂) et enfin une HPLC semi-préparative C₁₈ utilisant **S77** comme solvant. Ces 3 étapes conduisent à l'isolement de la 12aβ-hydroxyroténone (**L4**) et la téphrosine (**L18**).

2.4. Etude de la fraction **F5** (Schéma 5)

L'étude de cette fraction **F5** (305 mg) débute par une MPLC silice (460 x 15 mm). Un gradient de solvant allant de **S27** à **S32** est utilisé pour réaliser cette chromatographie qui nous conduit à 6 fractions principales (**A**, **B**, **C**, **D**, **E** et **F**).

- La fraction **A** (7 mg), éluee avec **S28**, après analyse par CCM, semble être constituée d'un seul produit. L'étude détaillée de cette fraction nous permet de dire par la suite qu'il s'agit d'un ptérocarpane **L32**.

- La fraction **B** (14,2 mg), également éluee par **S28**, cristallise partiellement au contact du MeOH. La partie insoluble, après plusieurs lavages au MeOH, correspond à la flémichapparine-B (**L33**).

- La fraction **C** (54 mg) obtenue avec le mélange **S29** est purifiée quant à elle, sur une colonne Sephadex LH-20 en utilisant le MeOH comme solvant d'élution. Lors de cette première étape de séparation, nous nous sommes débarrassés d'une partie des impuretés. Les fractions restantes sont

rassemblées et passées sur une colonne MPLC polyamide permettant d'isoler deux isomères constitutionnels **L4** et **L18** ainsi que la 12 α -hydroxydéguéline (**L17**).

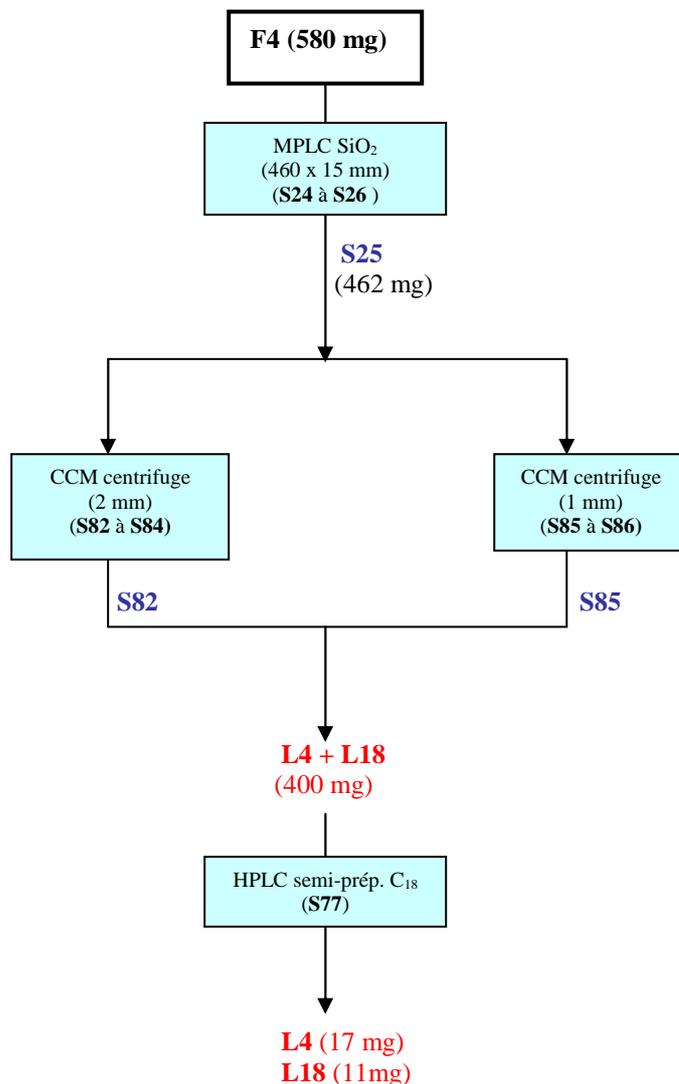


Schéma 4 : Purification de la fraction F4.

- La fraction **D** (113,3 mg) permet d'isoler une fois de plus le mélange 12 α β -hydroxyroténone (**L4**) et téphrosine (**L18**) après une chromatographie circulaire centrifuge (1mm) et une HPLC semi-préparative.
- La fraction **E** (13 mg) éluée par le mélange **S30** est mise en contact avec le MeOH et conduit à la formation d'un précipité blanchâtre. Les analyses spectroscopiques réalisées par la suite montrent qu'il s'agit du composé **L27**.
- La fraction **F** (8 mg), quant à elle, subit une CCM préparative avec comme solvant d'élué le mélange **S4**. Après deux migrations successives, la bande correspondant au produit majoritaire est récupérée. Il s'agit d'un mélange de 4 composés : **L6**, **L7**, **L8**, **L9** (2,8 mg).

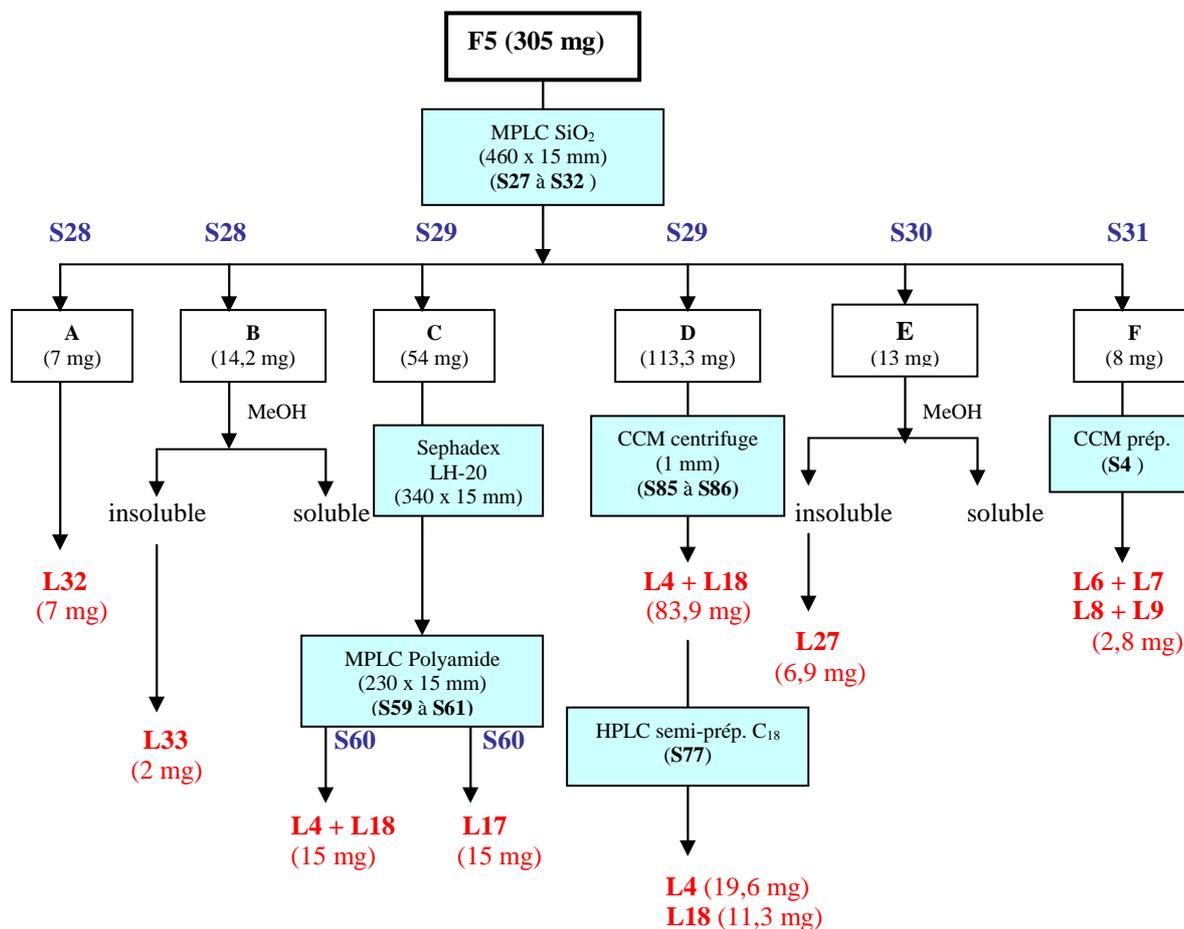


Schéma 5 : Purification de la fraction F5.

2.5. Etude de la fraction F6 (Schéma 6)

Cinq produits, à savoir un couple d'isomères constitutionnels **L13**, **L27**, la 12 α -hydroxyroténone (**L3**), une chalcone **L1** et une benzoquinone **L34** sont isolés de la fraction **F6** (340 mg). L'analyse phytochimique de cette fraction commence par une MPLC silice (460 x 15 mm) en utilisant un gradient de solvant allant du mélange **S33** à **S35**. Après rassemblement des fractions présentant à peu près le même profil chromatographique, 2 fractions (**A** et **B**) sont retenues.

Sur la fraction **A** (275 mg), est réalisée une CCM centrifuge (2 mm) en utilisant comme solvant le mélange **S87** à **S89**. Celle-ci conduit à l'obtention de deux fractions principales (**I** et **II**) contenant les produits majoritaires.

- La fraction **I** (164 mg) éluée par **S88** est passée tout d'abord sur une colonne Sephadex LH-20 avec le MeOH comme solvant d'éluant. Cette opération permet d'obtenir 5 fractions parmi lesquelles deux nous paraissent intéressantes (**a** et **b**).

La fraction **a** dissoute dans le MeOH permet la cristallisation du mélange 13-*homo*-13-oxa-didéhydroroténone (**L13**) et 13-*homo*-13-oxa-didéhydrodéguéline (**L27**) dont la séparation n'est possible que par une HPLC semi-préparative C₁₈ avec comme éluant le solvant **S77**.

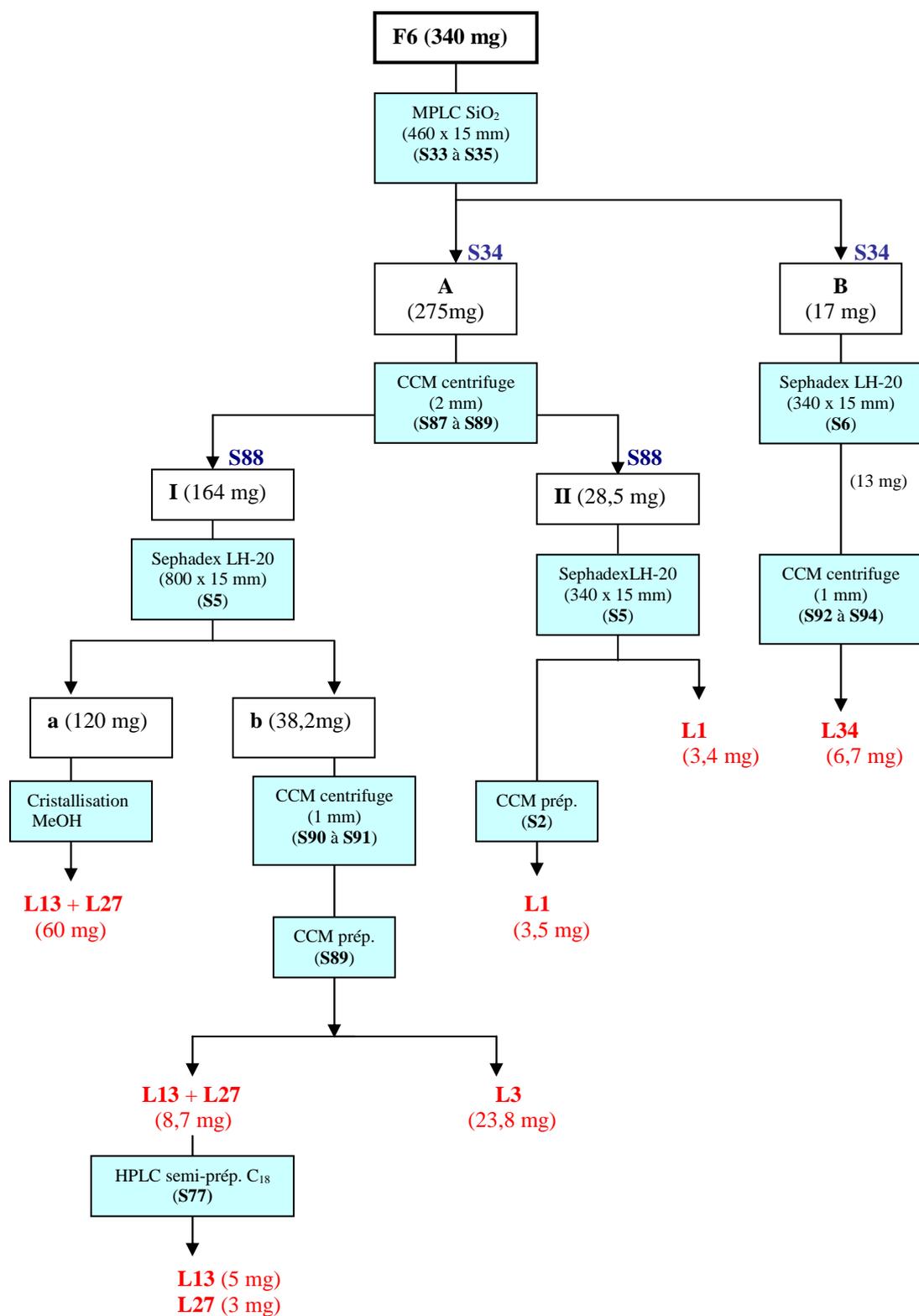


Schéma 6 : Purification de la fraction F6.

La fraction **b** subit dans un premier temps une CCM centrifuge en utilisant **S90** à **S91**. Par la suite une CCM préparative avec le mélange **S89** suivie d'une HPLC semi-préparative C_{18} permettent d'isoler 3 produits. Il s'agit de **L3** et des deux isomères constitutionnels **L13** et **L27**.

- La fraction **II** (28,5 mg) quant à elle, est passée sur une colonne Sephadex LH-20 (**S5**) à la suite de laquelle une chalcone **L1** (6 mg) est isolée (voir schéma 6).

- L'étude de la fraction **B** (17 mg) issue de la première colonne MPLC SiO_2 débute par une colonne Sephadex LH-20 éluée avec le mélange **S6**. La fraction principale obtenue est traitée par une CCM centrifuge SiO_2 (1 mm) en utilisant un gradient de solvant **S92** à **S94**. Cette chromatographie nous permet d'isoler la benzoquinone **L34** (6,7 mg).

2.6. Etude de la fraction **F7** (Schéma 7)

La fraction **F7** (154 mg), après avoir subi une chromatographie circulaire centrifuge (2 mm), avec un gradient de solvant allant de **S95** à **S97**, est purifiée par HPLC semi-préparative silice (10 μm) dans le mélange **S79**. Ces deux étapes successives de chromatographie permettent d'isoler le composé majoritaire **L13** (5,3 mg).

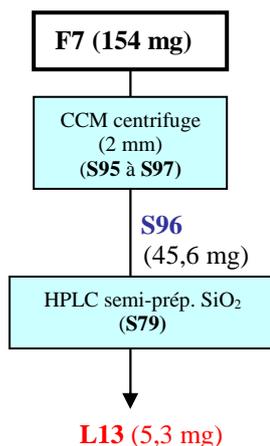


Schéma 7 : Purification de la fraction **F7**.

2.7. Etude de la fraction **F8** (Schéma 8)

La fraction **F8** (180 mg) fractionnée par une MPLC SiO_2 avec un gradient de solvant allant de **S36** à **S38** donne deux fractions **A** et **B**.

- La fraction **A** (18,1 mg) éluée par **S37** va subir une étape de purification supplémentaire en HPLC semi-préparative SiO_2 (10 μm). Cette dernière chromatographie réalisée avec le mélange de solvant **S79** permet l'obtention de **L20**, **L25**, **L30**, **L36**.

- La fraction **B** (28,1 mg) au contact du MeOH se cristallise partiellement. La partie insoluble est récupérée et lavée plusieurs fois avec le MeOH pour donner un mélange de 2 produits. Il s'agit de

6-hydroxy-6a,12a β -didéhydroroténone (**L11**) et de 6-hydroxy-6a,12a β -didéhydrodéguéline **L25** (5,5 mg).

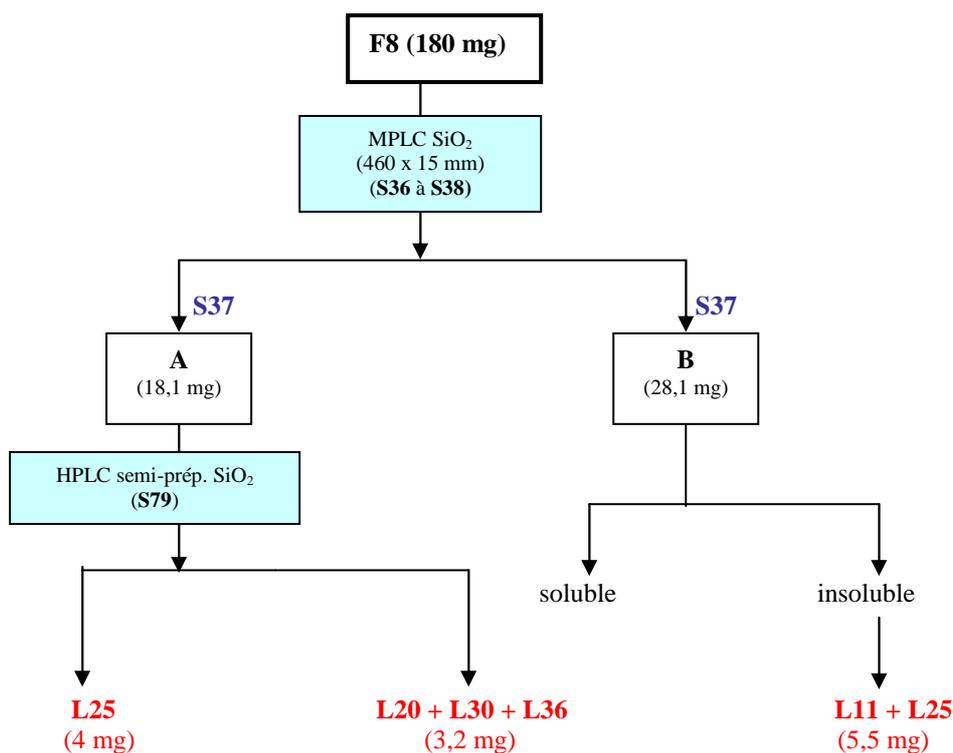


Schéma 8 : Purification de la fraction F8.

2.8. Etude de la fraction F9 (Schéma 9)

La fraction F9 (243 mg) subit, dans un premier temps, une MPLC SiO₂ (460x15 mm) utilisant un gradient de solvant qui va du mélange **S39** à **S42**. Cette première étape de fractionnement permet d'obtenir 2 fractions principales (A et B).

La fraction A éluee par **S40** forme des cristaux légèrement jaunâtres en présence du MeOH. Ces cristaux correspondent au composé **L11** déjà obtenu dans la fraction F8. Une HPLC semi-préparative SiO₂ (10 μ m) avec comme solvant d'élution le mélange **S80** permet d'isoler la 7'-hydroxydéguéline (**L19**) à partir de la fraction B.

2.9. Etude de la fraction F10 (Schéma 10)

L'étude de la fraction F10 (251 mg) permet d'isoler 5 produits. Elle débute par une MPLC SiO₂ (460 x 15 mm) avec un gradient de solvant allant de **S43** à **S46**. Cette chromatographie nous permet d'obtenir 3 fractions (A, B et C). La fraction A (24 mg) contient un mélange de composés **L5**, **L22**, **L31**, **L35** et **L38** qui seront identifiés après une MPLC polyamide (**S62** à **S64**). La fraction B, après une HPLC semi-préparative SiO₂ (10 μ m) conduit à l'obtention de 2,5 mg du composé **L19**.

La fraction C (43 mg) contenant le composé **L15**, est dissoute dans un mélange de solvants composé de MeOH et de CH₂Cl₂ à volume égal. Dans ce système de solvants une partie de la

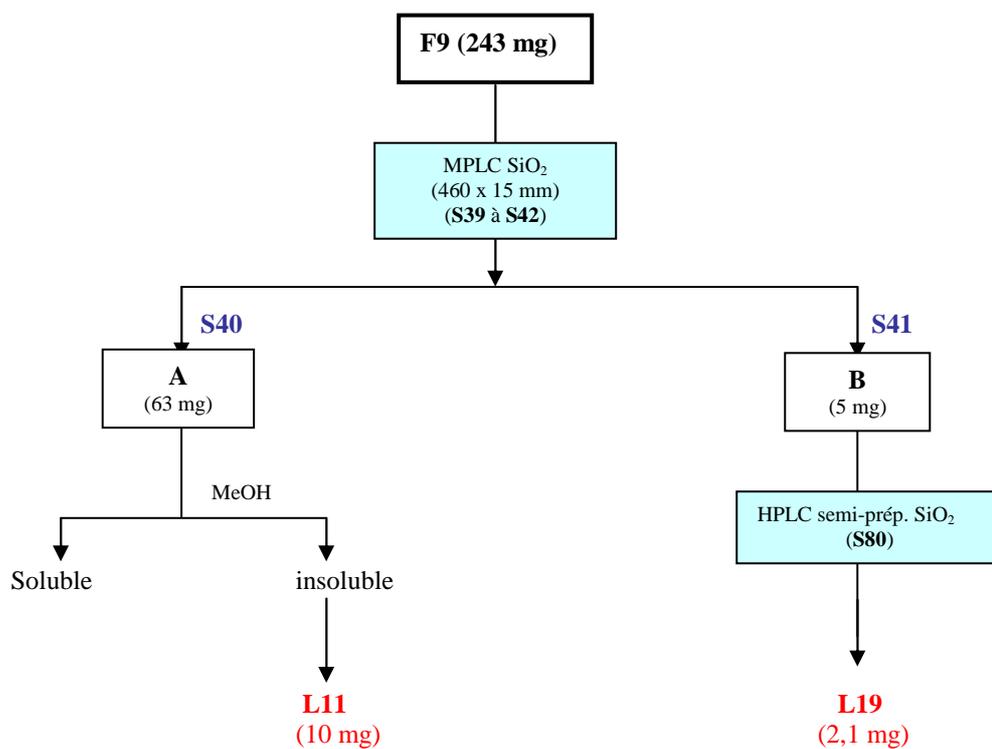


Schéma 9 : Purification de la fraction F9.

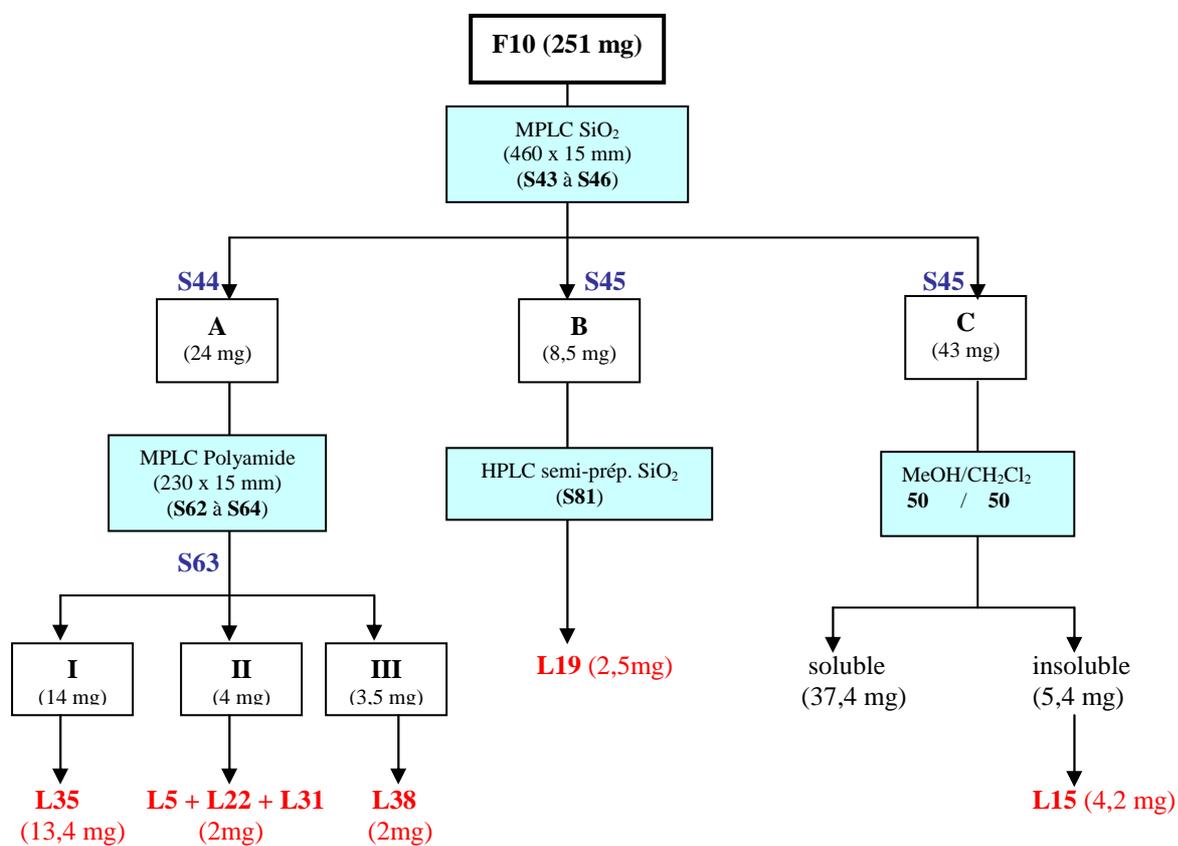


Schéma 10 : Purification de la fraction F10.

fraction C reste soluble alors que l'autre partie cristallise. Les cristaux récupérés sont lavés afin d'obtenir 4,2 mg d'acide rotoïque (L15) pur.

2.10. Etude de la fraction F11 (Schéma 11)

La fraction F11 (580 mg) subit dans un premier temps une MPLC SiO₂ (460 x 15 mm) en utilisant un gradient de solvant (S47 à S51). Cette dernière permet d'obtenir quatre fractions principales notées A, B, C et D.

- La fraction A (123 mg), à la suite d'une chromatographie circulaire centrifuge (1 mm) utilisant un gradient de solvant (S98 à S100) conduit à huit fractions après rassemblement, mais seules deux fractions (I et II) sont étudiées.

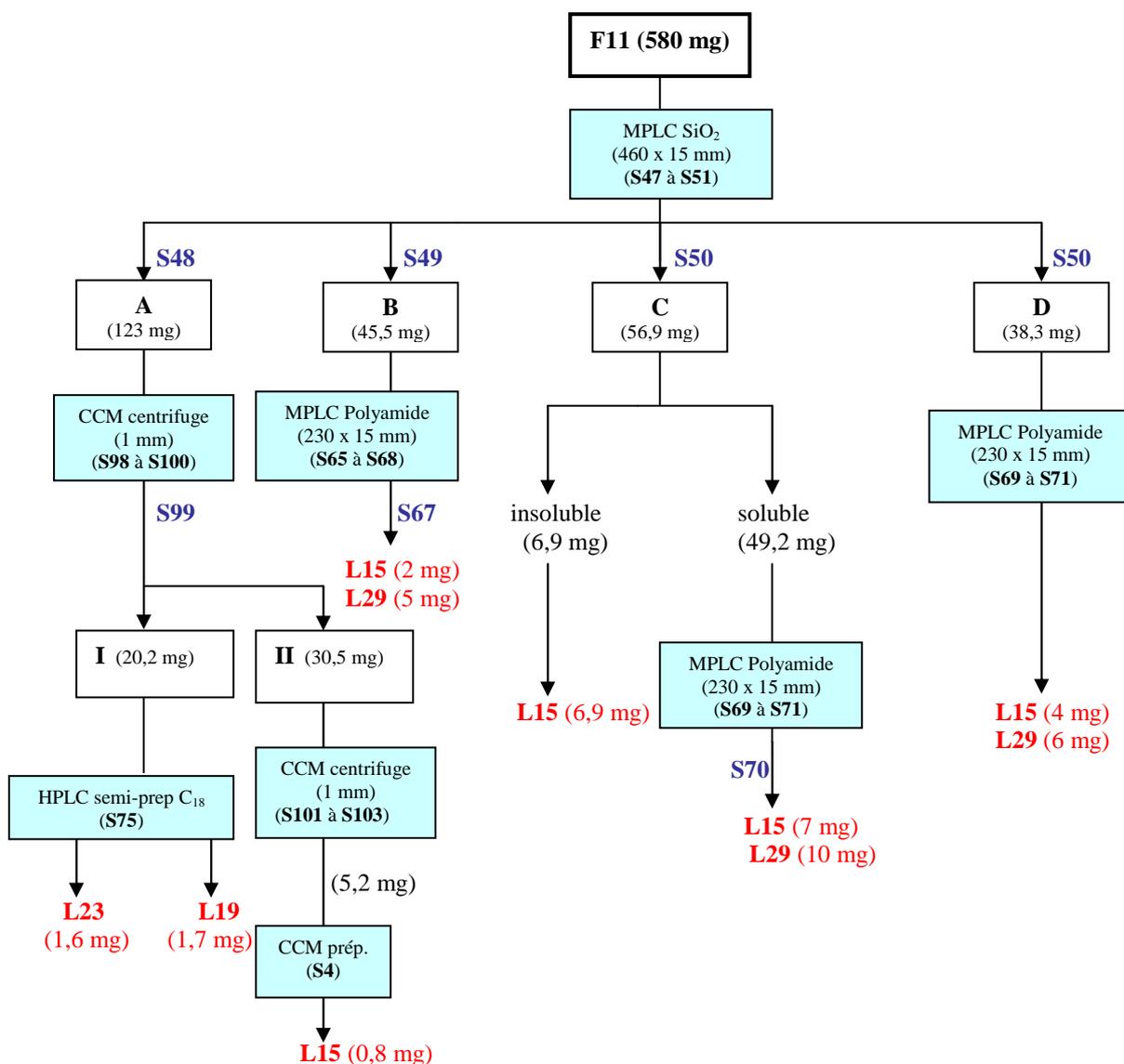


Schéma 11 : Purification de la fraction F11.

- La fraction I (20,2 mg) éluée par S99 est traitée par une HPLC semi-préparative C₁₈ avec S75 comme solvant d'élué et conduit à l'obtention des composés L19 (1,7 mg) et L23 (1,6 mg).

- La fraction **II** (30,5 mg) après une chromatographie circulaire centrifuge (1 mm) et une CCM préparative (SiO₂) utilisant le solvant **S4**, conduit au composé **L15** (0,8 mg).
 - La fraction **B** (45,5 mg) chromatographiée par une MPLC polyamide avec un gradient de solvant allant de **S65** à **S68**, aboutit aux composés **L15** (2 mg) et **L29** (5 mg).
 - La fraction **C** (56,9 mg) solubilisée dans le mélange CH₂Cl₂ : MeOH (50 : 50) a permis d'isoler le composé **L15** sous forme cristallisée. La partie soluble (surnageant) est soumise ultérieurement à une MPLC polyamide (**S69** à **S71**) qui permet d'obtenir à nouveau le couple d'isomères constitutionnels : acide rotoïque (**L15**) (7 mg) et acide déguoïque (**L29**) (10 mg).
 - La fraction **D** (38,3 mg) quant à elle, conduit aux composés **L15** (4 mg) et **L29** (6 mg), après avoir subi une MPLC polyamide dans les mêmes conditions que précédemment.

3. Etude succincte de l'extrait hexanique (Schéma 12)

Comme nous l'avons signalé précédemment, plusieurs molécules sont isolées de cet extrait lors d'une étude antérieure dont les plus importantes en terme de quantité sont de loin : la roténone (**L2**), la déguéline (**L16**), la 12aβ-hydroxyroténone (**L4**) et la téphrosine (**L18**).

Ces composés majoritaires qui sont isolés également de l'extrait benzénique peuvent être repérés en CCM par leurs *R_f* et leurs absorbances sous UV. C'est particulièrement le cas du couple roténone-déguéline et le couple 12aβ-hydroxyroténone-téphrosine. En effet, la fraction hexanique montre, sur CCM silice, deux niveaux de produits majoritaires. Le premier niveau avec le *R_f* le plus élevé est constitué de deux isomères de constitution à savoir : la roténone (**L2**) et la déguéline (**L16**). Le deuxième niveau, de *R_f* inférieur au premier, est constitué, quant à lui, de la 12aβ-hydroxyroténone (**L4**) et de la téphrosine (**L18**).

L'étude de 5,4 g de la fraction hexanique débute par une MPLC SiO₂ (460 x 26 mm) avec comme solvant d'élution, **S52** à **S55**. Ce fractionnement permet d'obtenir après regroupement, 5 fractions principales **A**, **B**, **C**, **D** et **E**.

- La fraction **A** (66,6 mg) est constituée d'un composé majoritaire qui présente une fluorescence rouge bordeaux sur CCM silice. Pour l'isoler, une chromatographie circulaire centrifuge avec un gradient de solvant allant de **S104** à **S106** a été nécessaire. Cette chromatographie nous a permis d'obtenir 2,4 mg de ce composé identifié comme étant le toxicarol (**L21**). Il est accompagné d'un produit minoritaire que nous identifions au sumatrol (**L37**).
- La fraction **B** (2,35 g) éluee avec **S53** est composée majoritairement du couple roténone-déguéline. La quantité totale de ce couple de composés dans 5,4 g d'extrait hexanique est estimée à 2,5 g, ce qui représente un pourcentage de 46,3 %.
- La fraction **C** (1,76 g) conduit, après une MPLC silice éluee par **S72** à **S74**, à l'identification des couples roténone (**L2**)-déguéline (**L16**) et 12aβ-hydroxyroténone (**L4**)-téphrosine (**L18**) mais aussi

après une chromatographie circulaire centrifuge avec un gradient de solvant allant de **S107** à **S108**, à la purification de la 12 α -hydroxydéguéline, **L17** (1 mg).

-La fraction **D** (1,36 g), quant à elle, est majoritairement composée du couple 12 β -hydroxyroténone (**L4**)-téphrosine (**L18**) dont le pourcentage dans les 5,4 g de la fraction hexanique est évalué à **26%**. Les deux couples roténone-déguéline et 12 β -hydroxyroténone-téphrosine constituent donc à eux seuls environ **73%** de l'extrait hexanique.

- La fraction **E** (162,2 mg) renferme des composés plus polaires que les couples de référence (**L2-L16** et **L4-L18**). La purification de cette fraction est réalisée dans un premier temps par une chromatographie circulaire centrifuge avec un gradient de solvant allant de **S109** à **S111** puis dans un deuxième temps par une HPLC semi-préparative C₁₈ et en utilisant comme solvant le mélange **S76**. Cette HPLC semi-préparative permet d'isoler un mélange de deux produits **L9** et **L7** (2,8 mg).

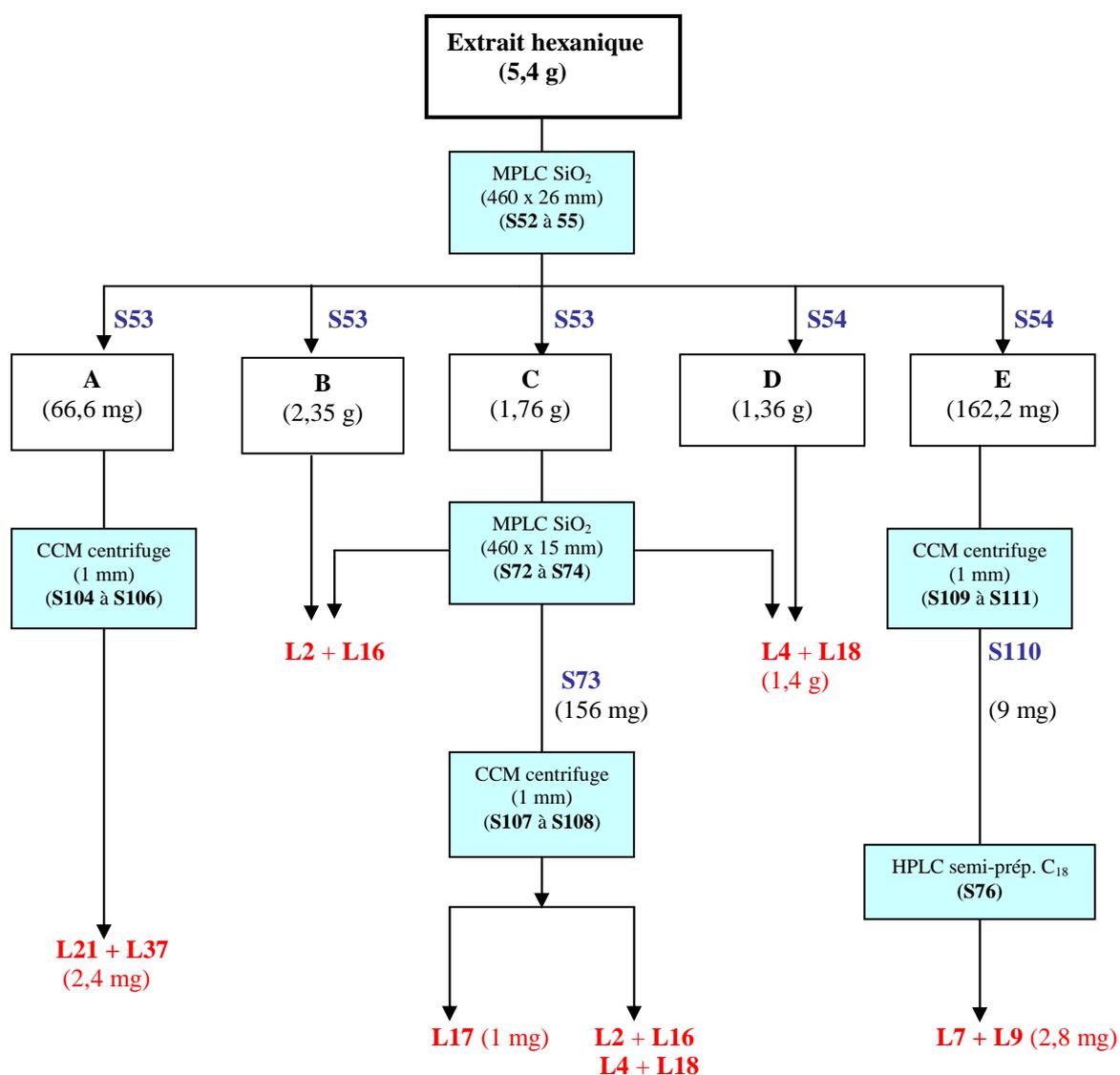


Schéma 12 : Purification de l'extrait hexanique.

III. ANALYSE STRUCTURALE DES COMPOSES ISOLES

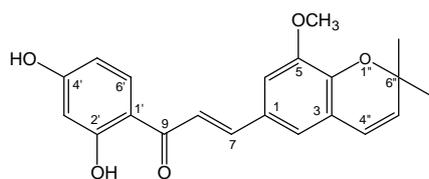
Elle concerne 38 molécules au total parmi lesquelles 35 sont complètement identifiées. Les trois restantes, sont en cours d'analyse ; elles font l'objet du dernier paragraphe (traces) de ce chapitre.

Les 35 molécules isolées et identifiées à l'heure actuelle sont présentées dans l'ordre biogénétique conforme à la réalité :

- stade chalcone (1 composé),
- stade isoflavonoïde (32 composés),

pour des polyphénols issus de voies biogénétiques similaires. Les deux molécules restantes sont regroupées dans l'avant dernier paragraphe (divers). En outre, le groupe isoflavonoïde, le plus important dans cette espèce est présenté sur trois colonnes ordonnées selon les précurseurs roténone (L2) déguéline (L16) et acide rot-2'-énonique (L30) ; il s'achève par les deux seuls métabolites non prénylés ici, les ptérocarpanes.

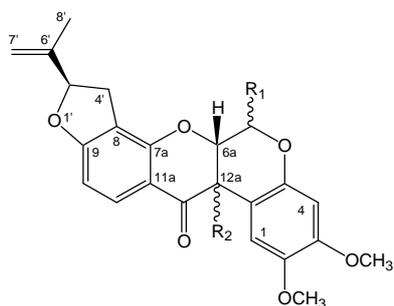
CHALCONE



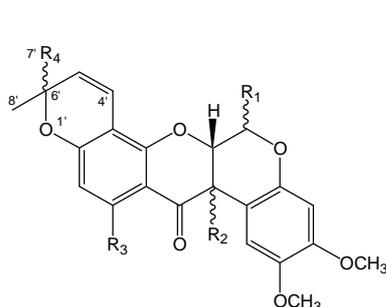
L1

ISOFLAVONOIDES

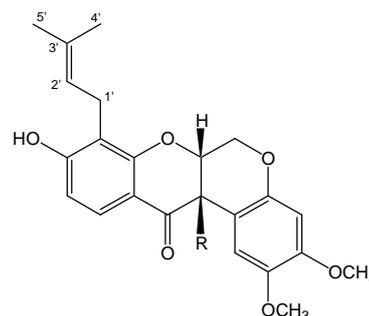
Roténoïdes



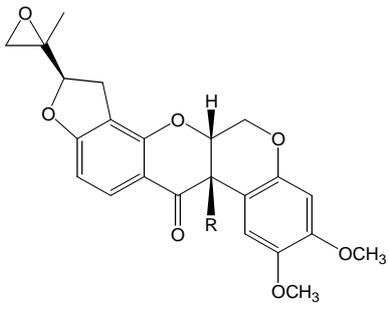
	R ₁	R ₂
L2	H	βH
L3	H	αOH
L4	H	βOH
L5	βOH	βOH



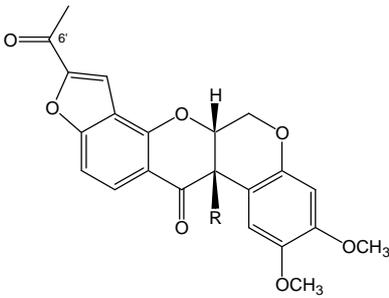
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
L16	H	βH	H	CH ₃
L17	H	αOH	H	CH ₃
L18	H	βOH	H	CH ₃
L19	H	βH	H	CH ₂ OH
L20	βOH	βH	H	CH ₃
L21	H	βH	OH	CH ₃
L22	βOH	βOH	H	CH ₃
L23	H	βOH	H	CH ₂ OH



	R
L30	H
L31	OH

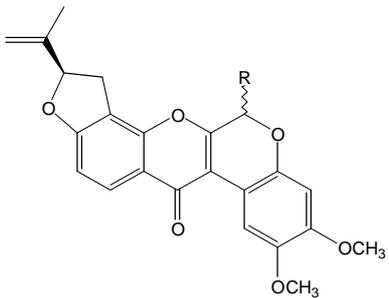


R
L6 H
L7 OH

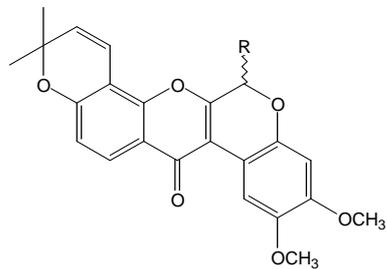


R
L8 H
L9 OH

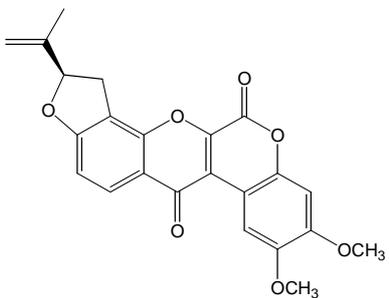
Didéhydroroténoïdes



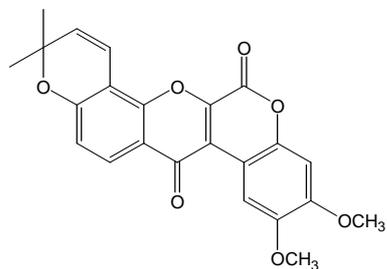
R
L10 H
L11 OH



R
L24 H
L25 OH

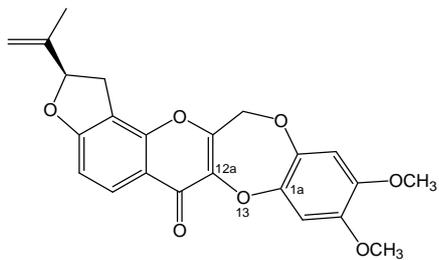


L12

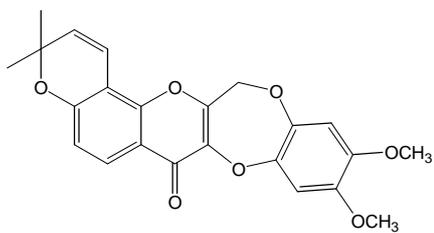


L26

13-Homo-13-oxa-didéhydroroténoïdes

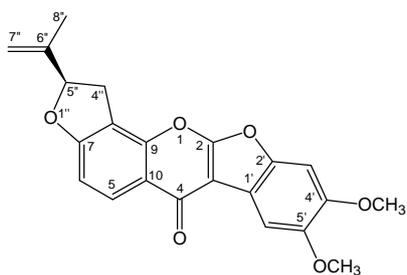


L13

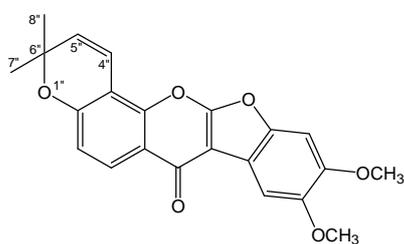


L27

Coumaronochromones

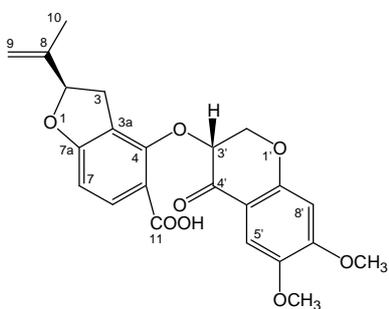


L14

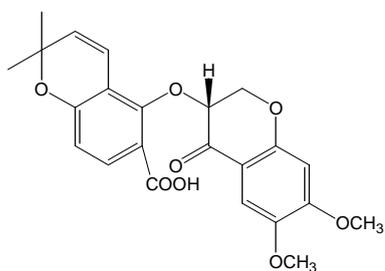


L28

Seco-roténoïdes

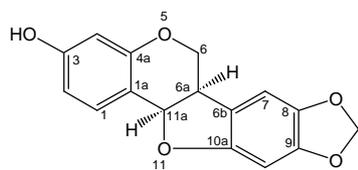


L15

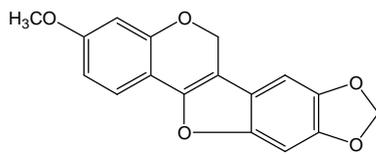


L29

Ptérocarpanes

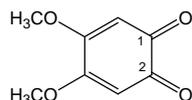


L32

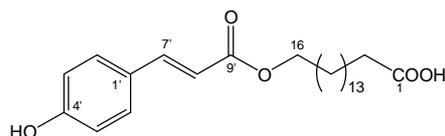


L33

DIVERS

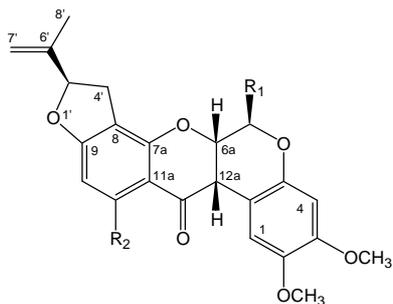


L34

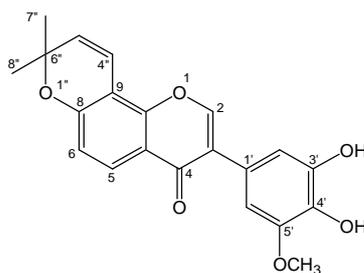


L35

TRACES



	R ₁	R ₂
L36	OH	H
L37	H	OH



L38

Tous ces produits naturels sont principalement identifiés sur la base de leurs spectres de RMN ^1H et ^{13}C complétés, si nécessaire, par leurs caractéristiques UV-visible, SM et $[\alpha]_D$.

1. CHALCONE

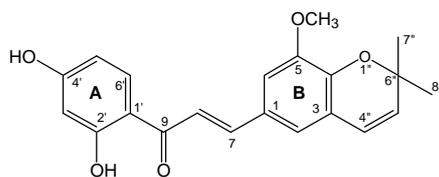
Accompagné des métabolites mineurs L3, L13, L27 et L34 dans la fraction F6 (340 mg) issue de la MPLC préparative sur colonne diol de l'extrait benzénique de *L. nicou* (Schéma 6), le composé L1 présente sur gel de silice un comportement chromatographique similaire à celui des 12a β -hydroxyroténoïdes L4 et L18. Néanmoins, il fait partie d'un nombre limité de phytoconstituants autres que les roténoïdes et apparentés dans cette espèce.

De formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_5$, il est caractérisé par une coloration jaune vif due à une absorption UV-visible intense à λ_{MeOH} 387 nm témoignant d'une conjugaison étendue dans la molécule, en accord avec le nombre d'insaturations égal à 12. En outre, la combinaison d'un singulet à δ 13,48 ppm en RMN ^1H (CDCl_3) et d'un signal ^{13}C pour un C quaternaire à δ 191,8 ppm (Tableau 8) implique un hydroxyle chélaté à un carbonyle cétonique d'une structure partielle *ortho*-hydroxybenzoyle [HARBORNE *et al.*, 1975] également substituée en *para* du CO. En effet, les 3H de ce noyau sont enregistrés à δ 7,83 ppm, *d* ($J=9,3$ Hz), δ 6,43 ppm, *d* él. ($J=9,3$ Hz) et δ 6,42 ppm, *s* él., correspondant aux trois signaux de C tertiaires à δ 131,9, 107,7 et 103,8 ppm. Les deux positions (δ 6,43 et 6,42 ppm ; δ 107,7 et 103,8 ppm) sont blindées parce que situées de part et d'autre du substituant supplémentaire d'effet (+M) auquel elles sont conjuguées. Des deux possibilités de

substitution par OH (δ 7,84 ppm, *s* él.) ou OCH₃ (δ 3,93 ppm ; δ 56,4 ppm), la première est retenue suite au comportement similaire à celui observé en proton et carbone pour la 2,4-dihydroxyacétophénone (δ 6,45 et 6,43 ppm ; δ 108,1 et 104,2 ppm). Néanmoins, cette partie de la molécule ne peut être responsable de l'absorption à 387 nm mais seulement de celle à 298 nm. En conséquence, le seul carbonyle de cette molécule doit également participer à un autre système conjugué, plus étendu que le précédent, du type cinnamoyle *para*-oxygéné [MABRY *et al.*, 1970]. Ce résultat est conforté par la poursuite de l'analyse des spectres de RMN qui permettent clairement

Tableau 8 : RMN ¹H (400 MHz) et ¹³C (100 MHz) de la chalcone **L1** [δ ppm (*J* Hz) ; CDCl₃].

H/C	¹³ C	¹ H	HMBC
1	127,2		
2	120,2	6,97 <i>d</i> él. (1,7)	C-4, C-6, C-4''
3	121,9		
4	145,0		
5	148,5		
6	112,1	7,05 <i>d</i> él. (1,7)	C-2, C-4, C-5
7	144,8	7,80 <i>d</i> él. (15,4)	C-2, C-6, C-9
8	117,7	7,40 <i>d</i> (15,4)	C-1, C-9
9	191,8		
1'	114,5		
2'	166,4		
3'	103,8	6,42 <i>s</i> él.	C-1', C-2', C-5'
4'	162,6		
5'	107,7	6,43 <i>d</i> él. (9,3)	C-1', C-2', C-3'
6'	131,9	7,83 <i>d</i> él. (9,3)	C-2', C-4', C-9
4''	121,7	6,34 <i>d</i> (9,8)	C-2, C-3, C-4, C-6''
5''	131,5	5,69 <i>d</i> (9,8)	C-2, C-3, C-6''
6''	77,6		
6''-CH ₃	28,2	1,51 <i>s</i>	C-5'', C-6''
5-OCH ₃	56,4	3,93 <i>s</i>	C-5
2'-OH		13,48 <i>s</i>	C-1', C-2', C-3'
4'-OH		7,84 <i>s</i> él.	



L1

l'identification de trois structures partielles soit, un enchaînement *trans*-éthylénique 1,2-disubstitué, un enchaînement *cis*-éthylénique 1,2-disubstitué et un noyau aromatique 1,3,4,5-tétrasubstitué.

L'enchaînement *trans* éthylénique ($J=15,4$ Hz) est directement relié au carbonyle suite au déblindage net (δ 7,80 ppm ; *d* él.; δ 144,8 ppm) de la position β -conjuguée. Parallèlement, l'élargissement de raies de ce proton, généré par un couplage longue distance avec deux H aromatiques *meta*-couplés [δ 7,05 ppm, *d* él. ($J=1,7$ Hz) et δ 6,97 ppm *d* él. ($J=1,7$ Hz)], fixe le noyau aromatique en cette

position pour conduire à une chalcone. Finalement, l'enchaînement *cis*-éthylénique ($J=9,8$ Hz) restant doit faire partie d'une unité C₅ accolée au noyau sous forme de *gem*-diméthylpyrane, courant dans cette espèce et caractérisé par trois signaux ¹H (δ 6,34, 5,69 et 1,51 ppm) et quatre signaux ¹³C (δ 131,5, 121,7, 77,6 et 28,2 ppm). Suite au blindage simultané de deux C quaternaires *O*-substitués à δ 148,5 et 145,0 ppm, l'oxygène hétérocyclique doit occuper la position située en *para* de celle substituée par l'enchaînement *trans*-éthylénique et en *ortho* du substituant méthoxyle restant. Confirmation de ce résultat est obtenue par le spectre hétéronucléaire HMBC qui permet en outre de lever l'ambiguïté sur l'attribution de valeurs de déplacement chimique aux C quaternaires *O*-substitués entre δ 166,4 et 162,6 ppm pour le noyau A et δ 148,5 et 145,0 ppm pour le noyau B. De façon inattendue, il apparaît sur chaque cycle une inversion de δ entre la position située en *para* du groupement attracteur (généralement la plus déblindée) et l'autre (Tableau 8).

En conséquence, le composé **L1** est identifié à la 2',4'-dihydroxy-5-méthoxy-2'',2''-diméthylpyrano(5'',6'':3,4)chalcone, un produit naturel nouveau pour lequel nous proposons la dénomination nicouchalcone. Contrairement à la prénylation du noyau B de ce métabolite, les seize chalcones répertoriées dans le genre *Lonchocarpus* sont caractérisées exclusivement par une prénylation du noyau A (cf. Travaux antérieurs).

2. ISOFLAVONOÏDES

A l'exception de deux ptérocarpanes non prénylés, les isoflavonoïdes isolés de cette espèce sont tous des roténoïdes et apparentés, prénylés. L'ensemble est réparti dans six groupes distincts :

- roténoïdes (18 composés),
- didéhydroroténoïdes (6 composés),
- 13-*homo*-13-oxa-didéhydroroténoïdes (2 composés),
- coumaronochromones (2 composés),
- *seco*-roténoïdes (2 composés),
- ptérocarpanes (2 composés).

2.1. Roténoïdes

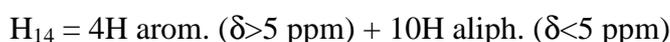
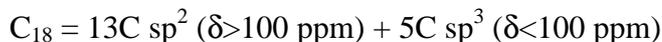
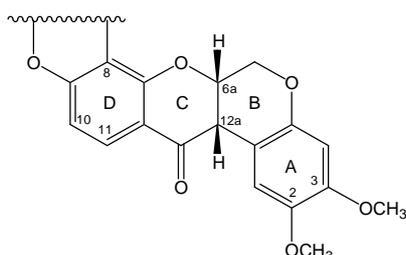
Constituant le groupe majeur des polyphénols de cette espèce (18 composés), ils dérivent des trois roténoïdes parents roténone (**L2**), déguéline (**L16**) et acide rot-2'-énonique (**L30**). De polarités diverses, ils se répartissent en deux groupes équivalents de huit membres pour la roténone et la déguéline et un groupe de deux membres seulement pour le dernier. Connus de longue date, les trois roténoïdes parents sont utilisés ici comme références dans l'étude de tous les autres métabolites de ce groupe [GEOFFROY, 1895 ; CLARK, 1931; CROMBIE *et al.*, 1979]. En conséquence, l'analyse est divisée en deux parties relatives aux roténoïdes parents puis à celle de leurs dérivés.

2.1.1. Roténoïdes parents

Contrairement à la roténone (L2) et à la déguéline (L16) constituants majeurs des extraits *n*-hexanique et benzénique de *L. nicou*, l'acide rot-2'-énonique (L30) est un métabolite mineur exclusivement rencontré dans l'extrait benzénique. La présence d'un hydroxyle phénolique libre (HO-9) confère à ce dernier un caractère plus polaire (fraction F8 de la colonne diol) que celui des deux autres isomères constitutionnels de comportement chromatographique similaire (fraction F3).

Ces trois composés présentent une structure commune C₁₈H₁₄O₆ constituée des cycles A, B, C et D (squelette roténoïde) et se distinguent par la 8-C-prénylation du cycle D sous forme cyclisée C₅H₈ ou linéaire C₅H₁₀. En RMN ¹H et ¹³C (Tableau 9), ces deux parties sont caractérisées par des signaux particuliers (δ, figure, J). Elles sont exposées ci-dessus, accompagnées du classement des deux types de noyaux dans l'ordre décroissant observé (et attendu) de déplacement chimique. L'ensemble de ces données constitue une base fondamentale pour l'identification des métabolites mineurs dérivant de chacun de ces trois produits de référence en permettant de localiser toute modification structurale affectant l'une et/ou l'autre de leurs structures partielles.

Structure commune (squelette roténoïde)



¹³C

18 signaux pour 18C (13C sp² + 5C sp³)

13C sp² (δ > 100 ppm) = 9C + 4CH

9C : δC-12 >> δC-9 > δC-7a > δC-3 > δC-4a > δC-2 >> δC-11a > δC-8 > δC-1a
4CH : δC-11 > δC-1 > δC-10 > δC-4

5C sp³ (δ < 100 ppm) = 2CH + 1CH₂ + 2CH₃ : δC-6a > δC-6 > δCH₃O-2 ≈ δCH₃O-3 > δC-12a

¹H

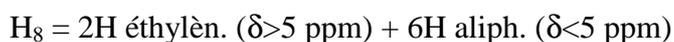
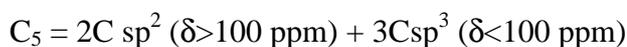
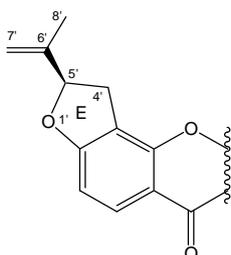
10 signaux pour 14H (4H arom. + 10H aliph.)

4H arom. (δ > 5 ppm) : δH-11 >> δH-1 > δH-10 > δH-4

10H aliph. (δ < 5 ppm) : δH-6a > δH-6α > δH-6β >> δH-12a > δCH₃O-3 > δCH₃O-2

cycles B/C : *cis*-jonction (JH-6aβ, H-6α = 3,1 Hz ; JH-6aβ, H-6β < 1 Hz)

8-C-prénylation cyclisée



¹³C

5 signaux pour 5C (2C sp² + 3C sp³)

2C sp² (δ > 100 ppm) = 1C + 1CH₂ : δC-6' >> δC-7'

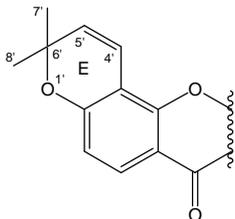
3C sp³ (δ < 100 ppm) = 1CH + 1CH₂ + 1CH₃ : δC-5' >> δC-4' >> δC-8'

¹H

6 signaux pour 8H (2H éthylèn. + 6H aliph.)

2H éthylèn. (δ ≈ 5 ppm) : δH-7'a > 5 ppm > δH-7'b

6H aliph. (δ < 5 ppm) : δH-5' >> δH-4'a > δH-4'b > δH-8')



C₅H₈

C₅ = 2C sp² (δ > 100 ppm) + 3C sp³ (δ < 100 ppm)

H₈ = 2H éthylèn. (δ > 5 ppm) + 6H aliph. (δ < 5 ppm)

¹³C

5 signaux pour 5C (2C sp² + 3C sp³)

2C sp² (δ > 100 ppm) = 2CH : δC-5' > δC-4'

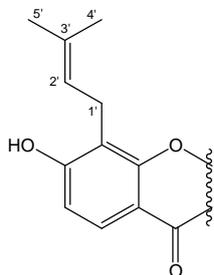
3C sp³ (δ < 100 ppm) = 1C + 2CH₃ : δC-6' >> δC-7' ≈ δC-8'

¹H

4 signaux pour 8H (2H éthylèn. + 6H aliph.)

2H éthylèn. (δ > 5 ppm) : δH-4' > δH-5'

6H aliph. (δ < 5 ppm) : δH-7' ≈ δH-8'

8-C-prénylation linéaire

C₅H₁₀

C₅ = 2C sp² (δ > 100 ppm) + 3C sp³ (δ < 100 ppm)

H₁₀ = 1 OH + 1H éthylèn. (δ > 5 ppm) + 8H aliph. (δ < 5 ppm)

¹³C

5 signaux pour 5C (2C sp² + 3C sp³)

2C sp² (δ > 100 ppm) = 1C + 1CH : δC-3' > δC-2'

3C sp³ (δ < 100 ppm) = 1CH₂ + 2CH₃ : δC-1' > δC-5' > δC-4'

¹H

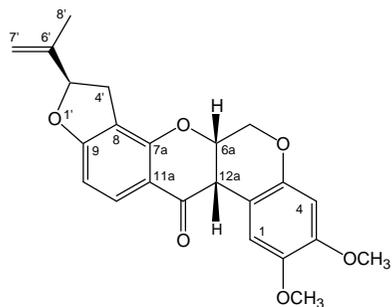
5 signaux pour 10H (1 OH + 1H éthylèn. + 8H aliph.)

1 OH + 1H éthylèn. (δ > 5 ppm) : δHO-9 > δH-2'

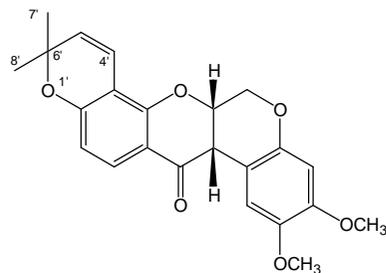
8H aliph. (δ < 5 ppm) : δH-1' > δH-4' ≈ δH-5'

Tableau 9 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) des roténoïdes parents **L2**, **L16** et **L30** [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

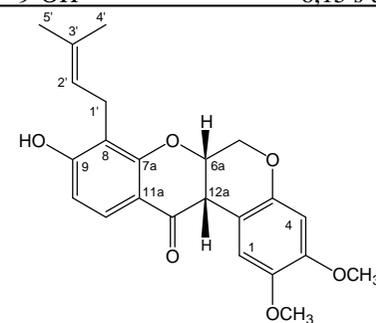
L2			L16			L30		
H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H
1a	104,8		1a	104,8		1a	104,7	
1	110,4	6,77 <i>s él.</i>	1	110,4	6,79 <i>s él.</i>	1	110,4	6,79 <i>s él.</i>
2	143,9		2	143,9		2	143,6	
3	149,5		3	149,5		3	149,3	
4	100,9	6,45 <i>s</i>	4	101,0	6,45 <i>s</i>	4	100,8	6,45 <i>s</i>
4a	147,4		4a	147,4		4a	147,6	
6 α	66,3	4,61 <i>dd</i> (3,1 ; 12,0)	6 α	66,3	4,64 <i>dd</i> (3,1 ; 12,0)	6 α	66,3	4,62 <i>dd</i> (3,0 ; 12,0)
6 β		4,18 <i>d él.</i> (12,0)	6 β		4,18 <i>d él.</i> (12,0)	6 β		4,18 <i>d él.</i> (12,0)
6a	72,2	4,92 <i>m</i>	6a	72,4	4,92 <i>m</i>	6a	72,1	4,90 <i>m</i>
7a	158,0		7a	157,0		7a	162,2	
8	113,0		8	109,0		8	112,6	
9	167,4		9	160,1		9	160,1	
10	104,9	6,50 <i>d</i> (8,6)	10	111,5	6,45 <i>d él.</i> (8,7)	10	110,8	6,50 <i>d</i> (8,5)
11	130,0	7,84 <i>d</i> (8,6)	11	128,6	7,75 <i>d</i> (8,7)	11	127,0	7,72 <i>d</i> (8,5)
11a	113,4		11a	112,8		11a	114,7	
12	189,0		12	189,2		12	188,9	
12a	44,6	3,84 <i>d él.</i> (4,0)	12a	44,4	3,84 <i>d él.</i> (4,0)	12a	44,2	3,85 <i>d</i> (4,0)
4'	31,3	3,32 <i>dd</i> (9,8 ; 15,8) 2,95 <i>dd</i> (8,2 ; 15,8)	4'	115,8	6,65 <i>d él.</i> (10,1)	1'	22,1	3,37 <i>d</i> (7,0)
5'	87,9	5,24 <i>t él.</i> (9,0)	5'	128,7	5,56 <i>d</i> (10,1)	2'	121,1	5,25 <i>t él.</i> (7,0)
6'	143,0		6'	77,7		3'	134,3	
7'	112,6	5,07 <i>s él.</i> 4,93 <i>s él.</i>	7'	28,2	1,39 <i>s</i>	4'	17,8	1,72 <i>s él.</i>
8'	17,2	1,77 <i>s él.</i>	8'	28,5	1,45 <i>s</i>	5'	25,8	1,81 <i>s él.</i>
2-OCH ₃	56,3	3,77 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,3	3,77 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,2	3,77 <i>s</i>
3-OCH ₃	55,9	3,81 <i>s</i>	3-OCH ₃	55,9	3,81 <i>s</i>	3-OCH ₃	55,8	3,82 <i>s</i>
						9-OH		6,15 <i>s él.</i>



L2



L16



L30

2.1.2. Roténoïdes substitués

Au nombre de quinze, les roténoïdes substitués isolés de *L. nicou* se divisent en deux groupes de sept dérivés chacun, de la roténone (L2) et de la déguéline (L16) et d'un seul dérivé de l'acide rot-2'-énonique (L30). A l'exception de deux composés (L6 et L8) tous les autres sont hydroxylés. Certains sont exclusivement monohydroxylés (L3, L4, L17-L21 et L31), d'autres sont dihydroxylés (L5, L22 et L23), d'autres enfin combinent l'hydroxylation à une modification supplémentaire du type époxydation (L7) ou coupure oxydative associée à une déshydrogénation (L9).

2.1.2.1. Dérivés de la roténone

Les sept dérivés de la roténone (Tableaux 10 et 11) résultent de l'oxydation d'une (ou plusieurs) position(s) du squelette roténoïde (C-6, C12a) et/ou de celui du substituant prénylé (C-4', C-5', C-6'). La position 12a semble la plus réactive face à l'hydroxylation puisqu'elle concerne cinq composés sur sept (L3-L5, L7 et L9) à l'inverse de la position 6 qui ne concerne qu'un seul composé (L5), des positions 6' et 7' pour deux composés (L6 et L7) et des positions 4', 5', 6' et 7' pour deux autres d'entre eux (L8 et L9). Pour plus de clarté dans l'analyse de ces métabolites, il faut distinguer six types de modifications structurales affectant la roténone et parmi lesquelles une seule est exclusive (12a α -hydroxylation), deux sont, soit exclusives ou soit combinées à d'autre(s) substitution(s) (12a β -hydroxylation et 6',7'-époxydation) ou seulement combinées à d'autre(s) transformation(s) dans la même molécule (6 β -hydroxylation, 6'-oxydation et 4',5'-déshydrogénation). Sur la base du nombre de métabolites concernés (5 composés sur 7) et de leur concentration relative, la 12a-hydroxylation se détache de tous les autres types de modifications lesquels apparaissent, de ce fait, accessoires dans ce groupe. En conséquence, les sept composés isolés sont décrits dans l'ordre 12a-hydroxylation, 6 β ,12a β -dihydroxylation, 6',7'-époxydation et finalement combinaison 6'-oxydation et 4',5'-déshydrogénation.

12a-Hydroxylation

Associée à la conservation ou à l'inversion de la jonction des cycles B/C, elle représente la principale modification structurale ayant lieu sur le squelette roténoïde. Cette *O*-substitution est signalée en RMN ^1H et ^{13}C (Tableaux 9 et 10) par la double transformation de HC-12a (δ 3,84 ppm et δ 44,6 ppm) en C quaternaire *O*-lié (69 ppm $>$ δ $>$ 66 ppm) et HO-12a (4,50 ppm $>$ δ $>$ 2,90 ppm). La rétention (*cis*) ou l'inversion (*trans*) de la jonction 6a,12a de la roténone est simultanément déduite des couplages de H-6a β avec les deux protons géminés H-6 et des déplacements chimiques de HO-12a et de H-1 (Tableau 12). Dans le cas de la *cis*-jonction (12a β -OH), les couplages de H-6a avec les H méthyléniques sont identiques à ceux présents dans la roténone (12a β -H), HO-12a

Tableau 10 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) des hydroxyroténoïdes **L3-L5**, **L7** et **L9** [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

L3			L4			L5			L7			L9		
H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H
1a	109,8		1a	108,7		1a	107,8		1a	108,7		1a	108,0	
1	112,7	7,81 <i>s</i>	1	109,3	6,55 <i>s</i>	1	109,0	6,56 <i>s</i>	1	109,3	6,53 <i>s</i>	1	109,1	6,52 <i>s</i>
2	143,7		2	144,0		2	144,2		2	144,0		2	144,2	
3	151,1		3	151,1		3	151,7		3	151,1		3	151,4	
4	100,4	6,41 <i>s</i>	4	101,1	6,48 <i>s</i>	4	102,0	6,48 <i>s</i>	4	101,1	6,48 <i>s</i>	4	101,2	6,49 <i>s</i>
4a	149,5		4a	148,4		4a	148,5		4a	148,4		4a	148,5	
6 α	61,7	4,48 <i>dd</i> (10,0 ; 11,3)	6 α	63,8	4,60 <i>dd</i> (2,4 ; 11,5)	6 α	91,8	5,77 <i>d</i> (2,4)	6 α	63,8	4,74 <i>dd</i> (2,3 ; 12,8)	6 α	63,7	4,60 <i>dd</i> (2,2 ; 12,5)
6 β		4,38 <i>dd</i> (4,5 ; 10,0)	6 β		4,48 <i>d él.</i> (11,5)	6 β			6 β		4,49 <i>d él.</i> (12,8)	6 β		4,57 <i>d él.</i> (12,5)
6a	76,6	4,66 <i>dd</i> (4,5 ; 11,3)	6a	76,0	4,58 <i>m</i>	6a	75,1	4,74 <i>d</i> (2,4)	6a	76,1	4,59 <i>d él.</i> (2,3)	6a	76,9	4,79 <i>d él.</i> (2,2)
7a	156,8		7a	157,7		7a	157,2		7a	157,6		7a	157,1	
8	114,2		8	113,2		8	113,3		8	111,9 ^a		8	117,5	
9	167,0		9	168,0		9	168,3		9	167,8		9	160,8	
10	105,5	6,61 <i>d</i> (8,6)	10	105,3	6,53 <i>d</i> (8,6)	10	105,8	6,57 <i>d</i> (8,5)	10	105,3	6,50 <i>d</i> (8,6)	10	107,6	7,24 <i>d él.</i> (8,9)
11	131,1	7,87 <i>d</i> (8,6)	11	130,1	7,82 <i>d</i> (8,6)	11	130,2	7,84 <i>d</i> (8,5)	11	130,2	7,81 <i>d</i> (8,6)	11	127,5	8,03 <i>d</i> (8,9)
11a	112,8		11a	111,7		11a	111,4		11a	112,6 ^a		11a	112,5	
12	187,3		12	191,1		12	189,4		12	191,1		12	191,8	
12a	66,2		12a	67,6		12a	68,6		12a	67,6		12a	67,8	
4'	31,3	3,37 <i>dd</i> (9,8 ; 15,8) 3,01 <i>dd</i> (8,2 ; 15,8)	4'	31,1	3,29 <i>dd</i> (9,8 ; 15,8) 2,93 <i>dd</i> (8,2 ; 15,8)	4'	31,0	3,29 <i>dd</i> (9,8 ; 15,9) 2,96 <i>dd</i> (8,4 ; 15,9)	4'	28,6	3,26 <i>dd</i> (10,0 ; 15,9) 3,07 <i>dd</i> (7,6 ; 15,9)	4'	111,1	7,63 <i>s él.</i>
5'	87,9	5,32 <i>t él.</i> (9,0)	5'	88,0	5,23 <i>t él.</i> (9,0)	5'	88,1	5,25 <i>t él.</i> (9,1)	5'	86,2	4,76 <i>dd</i> (7,6 ; 10,0)	5'	152,9	
6'	142,9		6'	142,9		6'	142,7		6'	57,6		6'	187,5	
7'	112,8	5,11 <i>s él.</i> 4,96 <i>s él.</i>	7'	112,7	5,06 <i>s él.</i> 4,93 <i>s él.</i>	7'	112,9	5,07 <i>s él.</i> 4,95 <i>s él.</i>	7'	51,1	2,95 <i>d él.</i> (4,8) 2,68 <i>d</i> (4,8)	7'	26,4	2,57 <i>s</i>
8'	17,1	1,79 <i>s él.</i>	8'	17,1	1,76 <i>s él.</i>	8'	17,1	1,76 <i>s él.</i>	8'	16,8	1,38 <i>s él.</i>			
2-OCH ₃	56,4	3,90 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,4	3,72 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,4	3,72 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,4	3,72 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,4	3,72 <i>s</i>
3-OCH ₃	55,8	3,83 <i>s</i>	3-OCH ₃	55,9	3,82 <i>s</i>	3-OCH ₃	55,9	3,81 <i>s</i>	3-OCH ₃	55,9	3,82 <i>s</i>	3-OCH ₃	55,9	3,80 <i>s</i>
12a-OH		2,92 <i>s él.</i>	12a-OH		4,46 <i>s él.</i>	12a-OH		5,50 <i>s él.</i>	12a-OH		4,44 <i>s él.</i>	12a-OH		4,42 <i>s él.</i>

^a Valeurs interchangeables.

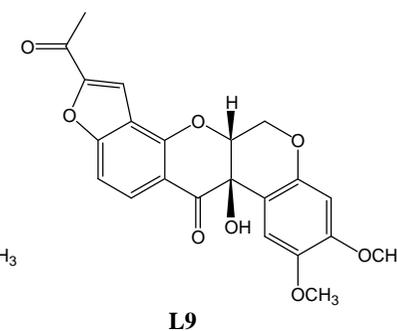
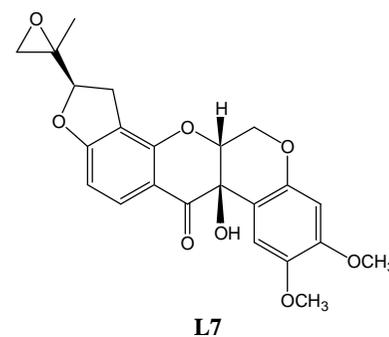
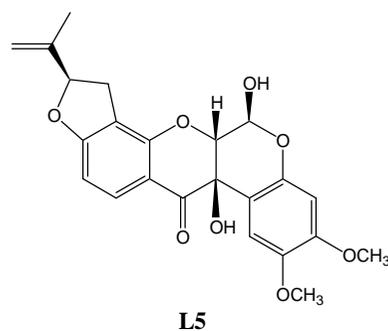
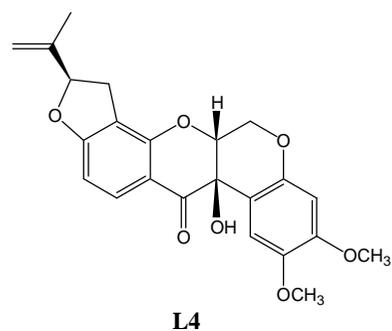
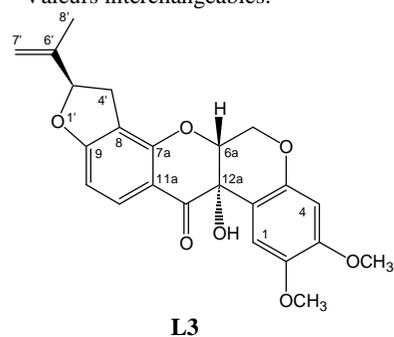
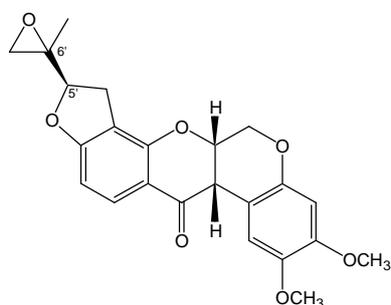
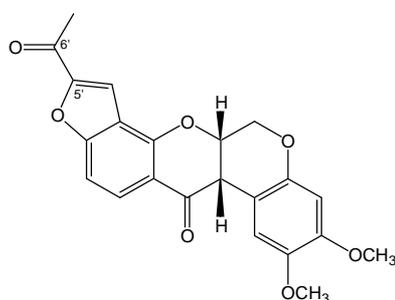


Tableau 11 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) des composés **L6** et **L8**, [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

L6			L8		
H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H
1a	104,0		1a	104,0	
1	110,4	6,76 <i>s él.</i>	1	110,2	6,73 <i>s él.</i>
2	143,9		2	144,1	
3	149,5		3	149,8	
4	100,9	6,45 <i>s</i>	4	101,1	6,47 <i>s</i>
4a	147,4		4a	147,5	
6 α	66,3	4,62 <i>dd</i> (3,0 ; 12,1)	6 α	66,0	4,74 <i>dd</i> (3,1 ; 12,2)
6 β		4,19 <i>d él.</i> (12,1)	6 β		4,27 <i>d él.</i> (12,1)
6a	72,3	4,94 <i>d él.</i> (3,2)	6a	73,3	5,13 <i>t él.</i> (3,2)
7a	157,9		7a	157,3	
8	112,6		8	117,5	
9	166,9		9	160,5	
10	105,0	6,52 <i>d</i> (8,6)	10	107,2	7,21 <i>dd</i> (0,6 ; 8,9)
11	130,1	7,84 <i>d</i> (8,6)	11	127,8	8,05 <i>d</i> (8,9)
11a	113,6		11a	114,0	
12	188,9		12	189,3	
12a	44,6	3,85 <i>d él.</i> (4,1).	12a	44,6	3,99 <i>d él.</i> (4,1)
4'	31,9	3,18 <i>dd</i> (9,8 ; 15,7) 3,01 <i>dd</i> (8,0 ; 15,7)	4'	111,3	7,65 <i>d</i> (0,6)
5'	86,5	4,80 <i>dd</i> (8,0 ; 9,7)	5'	152,8	
6'	56,5		6'	187,5	
7'	52,0	2,79 <i>d él.</i> (4,5) 2,72 <i>d</i> (4,5)	8'	26,4	2,58 <i>s</i>
8'	16,9	1,43 <i>s</i>			
2-OCH ₃	56,5	3,76 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,5	3,76 <i>s</i>
3-OCH ₃	55,9	3,81 <i>s</i>	3-OCH ₃	55,9	3,80 <i>s</i>



L6



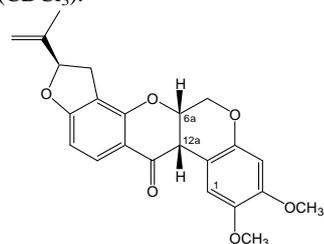
L8

apparaît à δ 4,46 ppm et H-1, malgré un blindage de -0,22 ppm (qui semble inattendu à priori mais qui devient conforme à la réalité après utilisation d'un modèle) est néanmoins enregistré à δ 6,55 ppm, dans le voisinage de son homologue dans la roténone (δ 6,77 ppm). A l'inverse, dans le cas de la *trans*-jonction (12a α -OH), les couplages mentionnés sont nettement plus élevés suite à la modification des angles dièdres entre H-6a β et les H-6 ; cette transformation est accompagnée également du blindage net de HO-12a à δ 2,92 ppm et du déblindage net de H-1 à δ 7,81 ppm. Les deux variations opposées de δ résultant de l'inversion de la jonction sont dues à l'orientation relative de H-1 et de HO-12a par rapport au cône d'anisotropie du carbonyle, les liaisons C(12a)-OH et O(12a)-H occupant un plan quasiment orthogonal à celui du noyau A. En résumé, lorsque H-1 est blindé, HO-12a β est déblindé (*cis*-jonction) et vice-versa.

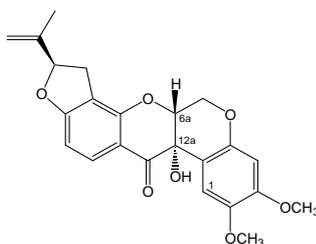
Tableau 12 : Différenciation par RMN des deux types de 12a-hydroxylation (α et β) et de jonction B/C (*cis* et *trans*)^a.

H/C	L2		L3		L4	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
1	110,4	6,77	112,7	7,81	109,3	6,55
12a	44,6	3,84	66,2		67,6	
12a α -OH				2,92		
12a β -OH						4,46
Jonction B/C	<i>J</i> H-6 α ,H6a β	<i>J</i> H-6 β ,H6a β	<i>J</i> H-6 α ,H6a β	<i>J</i> H-6 β ,H6a β	<i>J</i> H-6 α , H6a β	<i>J</i> H-6 β ,H6a β
<i>cis</i> -6a,12a	3,1	< 1			2,4	< 1
<i>trans</i> -6a,12a			11,3	4,5		

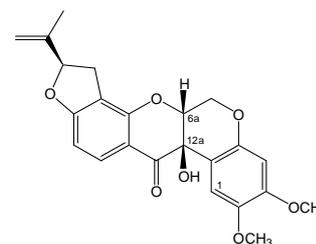
^a δ ppm et *J* Hz (CDCl₃).



L2
roténone



L3
12a α -hydroxyroténone



L4
12a β -hydroxyroténone

En conséquence, le composé **L3** est identifié à la 12a α -hydroxyroténone [DELFEL et TALLENT, 1969 ; MALAGALHAES *et al.*, 1996] et le composé **L4** à la 12a β -hydroxyroténone [OBERHOLZER *et al.*, 1974 ; BRAZ *et al.*, 1975 ; BUSHWAY *et al.*, 1975].

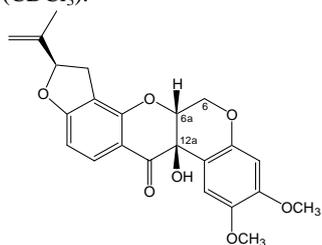
6 β ,12a β -Dihydroxylation

Contrairement à la déguéline (**L16**) pour laquelle la 6 β -hydroxylation se manifeste à la fois sous la forme exclusive et sous la forme combinée, la roténone (**L2**) semble, de manière inattendue, ne répondre qu'à la seconde possibilité, en associant avec la 12a β -hydroxylation, la substitution la plus courante dans cette espèce. Le passage de la 12a β -hydroxyroténone (**L4**) à la 6 β ,12a β -dihydroxyroténone (**L5**) est signalé sans ambiguïté en RMN ¹³C (Tableaux 10 et 13) par la transformation d'un carbone secondaire monooxygéné CH₂-6 (δ 63,8 ppm) en carbone tertiaire inclus dans une *O*-liaison supplémentaire (δ 91,8 ppm), les autres positions demeurant inchangées. En RMN ¹H, les 2H géminés (*J*=11,5 Hz) méthyléniques (δ 4,60 ppm et δ 4,48 ppm) sont remplacés par 1H du méthine dioxygéné (δ 5,77 ppm, *d*, *J*=2,4 Hz) et celui d'un groupement hydroxyle supplémentaire (5,50 ppm, *s él.*). En outre, la détermination de l'orientation 6 β -OH est déduite de la rétention du *trans*-couplage (*J*=2,4 Hz) entre H-6a β et H-6 α . De ce fait le composé **L5** est identifié à la 6a β ,12a β -dihydroxyroténone, un produit naturel nouveau conforme à la formule brute C₂₃H₂₂O₈ précisée par la mesure haute résolution en ES de MNa⁺ à *m/z* 449 (obs. 449,1229 ; calc. 449,1212).

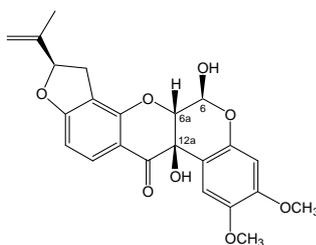
Tableau 13 : Caractérisation par RMN de la 6 β ,12 $\alpha\beta$ -dihydroxylation^a.

H/C	L4		L5	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
6	63,8		91,8	
6 α -H		4,60		5,77
6 β -H		4,48		
6a	76,0	4,58	75,1	4,74
12a	67,6		68,6	
6 β -OH				5,50
12 $\alpha\beta$ -OH		4,46		4,40
JH-6 α ,H6 $\alpha\beta$		2,4		2,4
JH-6 β ,H6 $\alpha\beta$		< 1		

^a δ ppm et *J* Hz (CDCl₃).



L4
12 $\alpha\beta$ -hydroxyroténone



L5
6 β ,12 $\alpha\beta$ -dihydroxyroténone

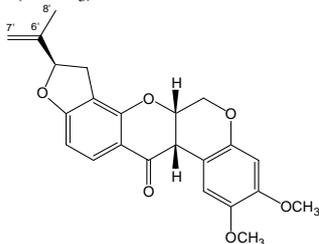
6',7'-Epoxydation

Ce type de modification, apparemment mineur, ne concerne que deux composés sur sept dérivant de la roténone (**L2**), la 6',7'-époxyroténone (**L6**) et la 6',7'-époxy-12 $\alpha\beta$ -hydroxyroténone (**L7**). Comparativement à la roténone, la 6',7'-époxydation dans **L6** se manifeste en RMN ¹³C par la disparition de 2 C sp², l'un secondaire CH₂-7' (δ 112,6 ppm) et l'autre quaternaire C-6' (δ 143,0 ppm) au profit de 2 C sp³ O-liés de déblindage limité, CH₂-7' (δ 52,0 ppm) et C-6' (δ 56,5 ppm) caractéristiques d'un noyau oxiranne substitué (Tableau 14). Parallèlement, en RMN ¹H, les deux H

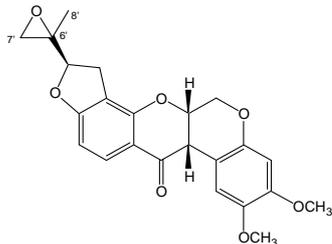
Tableau 14 : Caractérisation par RMN de la 6',7'-époxydation^a.

H/C	L2		L6		L7	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
6'	143,0		56,5		57,6	
7'	112,6		52,0		51,1	
7'a		5,07		2,79		2,95
7'b		4,93		2,72		2,68
8'	17,2	1,77	16,9	1,43	16,8	1,38

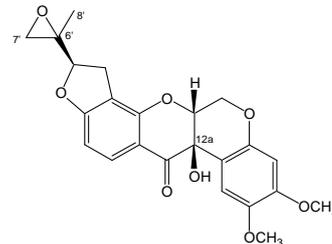
^a δ ppm (CDCl₃).



L2
roténone



L6
6',7'-époxyroténone



L7
6',7'-époxy-12 $\alpha\beta$ -hydroxyroténone

méthyléniques non équivalents (δ 5,03 ppm et δ 4,93 ppm) sont remplacés par deux autres noyaux géminés ($J=4,5$ Hz) nettement plus blindés (δ 2,79 ppm et δ 2,72 ppm). Ce type de transformation est retrouvé, combiné à la 12a β -hydroxylation dans **L7**. En conclusion, ces deux produits naturels nouveaux sont identifiés respectivement à la 6',7'-époxyroténone (**L6**) et à la 6',7'-époxy-12a β -hydroxyroténone (**L7**) en accord avec leurs formules brutes déterminées par mesure de masse haute résolution de MNa^+ en ES (**L6** : obs. 417,0974 ; calc. 417,0950 et **L7** : obs. 449,1232 ; calc. 449,1212).

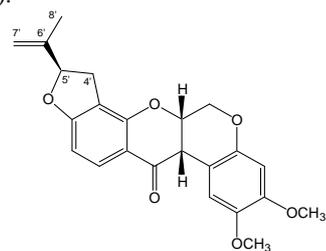
Combinaison 6'-oxydation et 4',5'-déshydrogénation

Deux composés, **L8** et **L9**, sur sept dérivés de la roténone (**L2**) sont le résultat d'une double transformation de la chaîne cyclisée par coupure oxydative en position 6' et déshydrogénation en 4',5' dans un ordre qui demeure indéfini. En RMN ^{13}C , le passage de la roténone à la 6'-nor-6'-oxoroténone (**L8**) se traduit par l'amputation de CH_2-7' (δ 112,6 ppm), le déblindage conséquent de C-6' qui passe de δ 143,0 ppm à δ 187,5 ppm, l'impliquant de ce fait dans une O-double liaison pour le transformer en carbonyle cétonique relativement blindé donc β -conjugué à la liaison π en 4' issue de l'étape de déshydrogénation (Tableau 15). Effectivement les 2 C sp^3 endocycliques CH_2-4' (δ 31,3 ppm) et $CH-5'$ (δ 87,9 ppm) de la roténone sont remplacés par 2 C sp^2 $CH-4'$ (δ 111,3 ppm) et C-5' (δ 152,8 ppm) dans le dérivé **L8**. En RMN 1H , sur les 8 H d'origine de la chaîne prénylée ne

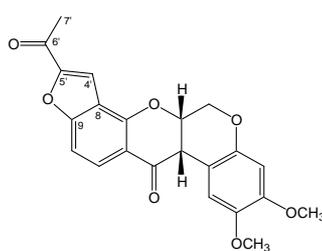
Tableau 15 : Caractérisation par RMN de la 6'-oxydation combinée à la 4',5'-déshydrogénation^a.

H/C	L2		L8		L9	
	δ ^{13}C	δ 1H	δ ^{13}C	δ 1H	δ ^{13}C	δ 1H
8	113,0		117,5		117,5	
9	167,4		160,5		160,8	
12	189,0		189,3		191,8	
4'	31,3		111,3	7,65	111,1	7,63
4'a		3,32				
4'b		2,95				
5'	87,9	5,24	152,8		152,9	
6'	143,0		187,5		187,5	
7'	112,6		26,4	2,58	26,4	2,57
7'a		5,07				
7'b		4,93				
8'	17,2	1,77				

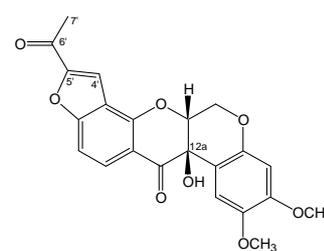
^a δ ppm ($CDCl_3$).



L2
roténone



L8
6'-nor-6'-oxo-4',5'-didéhydroroténone



L9
6'-nor-6'-oxo-4',5'-didéhydro-12a β -hydroxyroténone

sont conservés que quatre d'entre eux, soit le groupement CH₃ (δ 2,58 ppm) et H-4' porté par un C sp² (δ 7,65 ppm), l'ensemble étant déblindé à présent par le carbonyle. Ces résultats étant acquis, il convient de s'interroger sur les déplacements chimiques ¹H et ¹³C contradictoires de CH-4' à δ 7,65 ppm et δ 111,3 ppm respectivement pour une position qui semble à priori non conjuguée à un doublet n mais qui se trouve sur le trajet des deux systèmes conjugués compétitifs les plus étendus n-π-π-π incluant le carbonyle exocyclique et le doublet de O-7 ou celui de O-9. En réalité, compte tenu de sa situation intrafuranique, O-9 a la possibilité d'éviter la compétition avec O-7 en partageant son doublet n dans l'autre direction avec C-5' et s'opposant de ce fait à la conjugaison de O-7 avec le carbonyle et à l'effet exercé par celui-ci sur la liaison π en 4'. En conséquence, le blindage net (δ 111,3 ppm) de C-4' est justifié par l'effet (+M) de O-9 prioritaire sur l'effet (-M) du carbonyle. Ce mouvement électronique privilégié qui se poursuit jusqu'à C-9 pour s'orienter ensuite vers le carbonyle endocyclique semble être confirmé par le blindage de C-9 (δ 160,5 ppm) et le déblindage de C-8 (δ 117,5 ppm) pour **L8** à la place de 167,4 ppm et 113,0 ppm respectivement pour la roténone alors que C-12 demeure, comme attendu, inchangé. Dans ces conditions, le déblindage inattendu de H-4' (δ 7,65 ppm) doit avoir une origine différente de celle évoquée pour le carbone qui le porte. L'examen rapide d'un modèle permet de localiser cet hydrogène dans le cône d'anisotropie de déblindage du carbonyle réduisant ainsi le blindage occasionné par la conjugaison de O-9. Ce produit naturel nouveau est défini comme la 6'-nor-6'-oxo-4',5'-didéhydroroténone dont la formule brute C₂₂H₁₈O₇ est déduite de la mesure haute résolution en ES de l'ion MNa⁺ *m/z* 417 (obs. 417,0974 ; calc. 417,0950).

A quelques variantes près, relatives à la 12aβ-hydroxylation, le composé **L9** partage la même structure partielle que **L8**. Il est donc identifié à la 6'-nor-6'-oxo-4',5'-didéhydro-12aβ-hydroxyroténone dont le spectre de masse ES exhibe MNa⁺ à *m/z* 433 (obs. 433,1280 ; calc. 433,1263) conformément à la formule brute C₂₂H₁₈O₈ de ce métabolite rare, puisque décrit une seule fois auparavant dans l'extrait commercial Cubé resin de *L. utilis* et *L. urucu* [FANG et CASIDA, 1999].

2.1.2.2. Dérivés de la déguéline

Contrairement à une plus grande diversité de transformation de la roténone, la déguéline (**L16**) semble, dans cette série, se limiter à l'hydroxylation sur les mêmes positions (12a et 6) que son isomère mais également sur deux autres (11 et 7') qui semblent la distinguer. Les sept dérivés **L17-L23** (Tableaux 16 et 17) sont soit monohydroxylés (**L17-L21**) soit dihydroxylés (**L22** et **L23**). Ils sont traités ici dans l'ordre 12a-, 6-, 11- et 7'-hydroxylation puis 6,12a- et 12a,7'-dihydroxylation.

Tableau 16 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) des hydroxyroténoïdes **L17-L21** [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

L17			L18			L19			L20			L21		
H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H
1a	109,7		1a	108,6		1a	104,6		1a	105,0		1a	104,5	
1	112,6	7,83 s	1	109,4	6,56 s	1	110,4	6,78 s <i>él.</i>	1	110,1	6,80 s <i>él.</i>	1	110,3	6,87 s <i>él.</i>
2	143,8		2	144,0		2	143,9		2	144,2		2	144,0	
3	151,1		3	151,1		3	149,5		3	149,6		3	149,7	
4	100,4	6,42 s	4	101,1	6,48 s	4	101,1	6,46 s	4	101,5	6,48 s	4	101,1	6,46 s
4a	149,5		4a	148,4		4a	147,5		4a	144,3		4a	147,3	
6 α	61,7	4,50 <i>dd</i> (9,8 ; 11,3)	6 α	63,9	4,63 <i>dd</i> (2,4 ; 12,1)	6 α	66,3	4,65 <i>dd</i> (3,1 ; 12,1)	6 α	90,1	5,81 <i>d</i> (2,6)	6 α	66,0	4,62 <i>dd</i> (3,1 ; 12,1)
6 β		4,41 <i>dd</i> (4,5 ; 9,8)	6 β		4,49 <i>d él.</i> (12,1)	6 β		4,19 <i>d él.</i> (12,1)	6 β			6 β		4,17 <i>d él.</i> (12,1)
6a	76,8	4,65 <i>dd</i> (4,5 ; 11,3)	6a	76,3	4,57 <i>m</i>	6a	72,5	4,92 <i>ddd</i> (0,8 ; 3,1 ; 4,0)	6a	73,3	4,81 <i>dd</i> (2,6 ; 3,8)	6a	71,9	4,87 <i>t él.</i> (3,1)
7a	155,7		7a	156,7		7a	157,0		7a	156,3		7a	156,0	
8	109,0		8	109,1		8	109,0		8	109,0		8	101,8	
9	159,7		9	160,8		9	159,6		9	160,0		9	164,6	
10	112,2	6,57 <i>d él.</i> (8,7)	10	111,9	6,47 <i>d él.</i> (8,7)	10	111,2	6,49 <i>d él.</i> (8,7)	10	111,6	6,46 <i>d él.</i> (8,7)	10	97,8	5,96 s
11	129,6	7,79 <i>d</i> (8,7)	11	128,6	7,73 <i>d</i> (8,7)	11	128,9	7,77 <i>d</i> (8,7)	11	128,6	7,76 <i>d</i> (8,7)	11	162,9	
11a	113,6		11a	111,1		11a	113,1		11a	113,6		11a	101,2	
12	187,4		12	191,4		12	189,2		12	188,9		12	194,3	
12a	66,1		12a	67,4		12a	44,4	3,85 <i>d él.</i> (4,0)	12a	40,4	3,92 <i>d él.</i> (3,8)	12a	43,6	3,85 <i>d él.</i> (4,1)
4'	115,4	6,65 <i>d él.</i> (10,1)	4'	115,4	6,60 <i>d él.</i> (10,1)	4'	118,4	6,82 <i>d él.</i> (10,2)	4'	115,6	6,59 <i>d él.</i> (10,0)	4'	115,5	6,56 <i>d</i> (10,1)
5'	129,3	5,63 <i>d</i> (10,1)	5'	128,8	5,56 <i>d</i> (10,1)	5'	124,9	5,55 <i>d</i> (10,2)	5'	128,8	5,55 <i>d</i> (10,0)	5'	126,4	5,47 <i>d</i> (10,1)
6'	77,8		6'	77,8		6'	80,9		6'	77,7		6'	78,4	
7'	28,5	1,49 s	7'	28,3	1,39 s	7'	69,1	3,66 s	7'	28,2	1,38 s	7'	28,4	1,44 s
8'	28,1	1,45 s	8'	28,5	1,45 s	8'	23,0	1,33 s	8'	28,5	1,45 s	8'	28,6	1,37 s
2-OCH ₃	56,4	3,92 s	2-OCH ₃	56,4	3,73 s	2-OCH ₃	56,3	3,77 s	2-OCH ₃	56,3	3,77 s	2-OCH ₃	56,4	3,79 s
3-OCH ₃	55,9	3,84 s	3-OCH ₃	55,9	3,82 s	3-OCH ₃	55,9	3,81 s	3-OCH ₃	55,9	3,81 s	3-OCH ₃	55,9	3,82 s
12a-OH		2,77 s <i>él.</i>	12a-OH		4,39 s <i>él.</i>	7'-OH		n.d.	6-OH		5,45 s <i>él.</i>	11-OH		12,19 s <i>él.</i>

n.d. : non détecté.

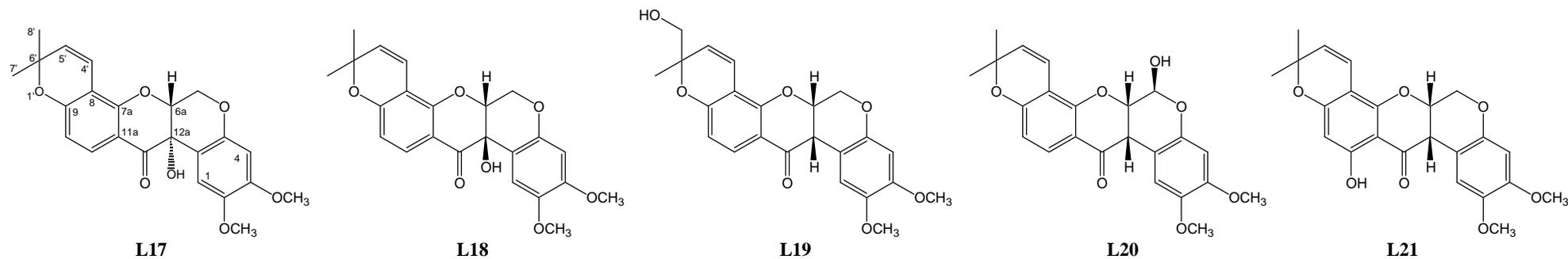
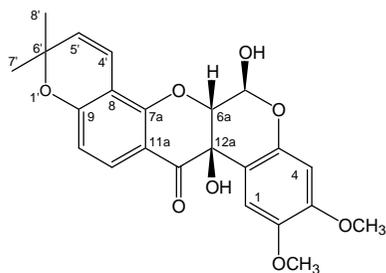
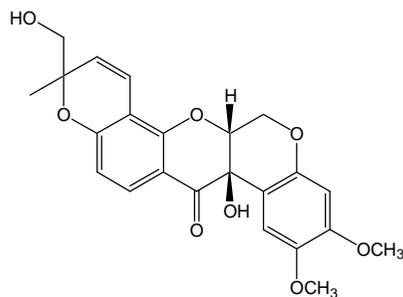


Tableau 17 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) des hydroxyroténoïdes **L22**, **L23** et **L31** [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

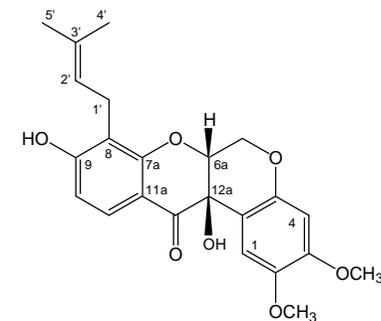
L22			L23			L31		
H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H
1a	107,7		1a	108,4		1a	108,6	
1	109,0	6,55 <i>s</i>	1	109,3	6,54 <i>s</i>	1	109,3	6,54 <i>s</i>
2	144,4		2	144,0		2	143,9	
3	151,7		3	151,2		3	151,1	
4	102,0	6,48 <i>s</i>	4	101,1	6,48 <i>s</i>	4	101,0	6,47 <i>s</i>
4a	148,5		4a	148,4		4a	148,1	
6 α	91,8	5,75 <i>d</i> (2,0)	6 α	63,8	4,63 <i>dd</i> (2,5 ; 12,1)	6 α	63,9	4,63 <i>dd</i> (2,5 ; 12,1)
6			6 β		4,49 <i>d él.</i> (12,1)	6 β		4,49 <i>d él.</i> (12,0)
6a	75,3	4,72 <i>d</i> (2,0)	6a	76,3	4,58 <i>d él.</i> (2,3)	6a	76,1	4,56 <i>d él.</i> (1,9)
7a	156,2		7a	156,7		7a	159,5	
8	108,9		8	108,9		8	112,7	
9	161,0		9	160,3		9	162,5	
10	112,4	6,50 <i>d él.</i> (8,7)	10	111,6	6,50 <i>d él.</i> (8,8)	10	111,5	6,51 <i>d él.</i> (8,7)
11	128,6	7,74 <i>d</i> (8,7)	11	128,9	7,74 <i>d</i> (8,8)	11	127,2	7,74 <i>d</i> (8,7)
11a	111,4		11a	111,5		11a	114,2	
12	189,8		12	191,4		12	191,9	
12a	68,4		12a	67,5		12a	67,3	
4'	115,1	6,53 <i>d él.</i> (10,1)	4'	118,1	6,77 <i>d él.</i> (10,2)	1'	22,0	3,34 <i>d</i> (7,1)
5'	129,2	5,59 <i>d</i> (10,1)	5'	124,9	5,53 <i>d</i> (10,2)	2'	120,5	5,19 <i>t él.</i> (7,1)
6'	78,2		6'	81,0		3'	136,1	
7'	28,3	1,39 <i>s</i>	7'	68,8	3,64 <i>d él.</i> (11,1)	4'	17,9	1,73 <i>s</i>
					3,58 <i>d él.</i> (11,1)			
8'	28,6	1,46 <i>s</i>	8'	23,3	1,41 <i>s</i>	5'	25,8	1,79 <i>s</i>
2-OCH ₃	56,4	3,72 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,4	3,73 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,4	3,72 <i>s</i>
3-OCH ₃	55,9	3,82 <i>s</i>	3-OCH ₃	55,9	3,82 <i>s</i>	3-OCH ₃	55,9	3,82 <i>s</i>
6-OH		5,53 <i>s él.</i>	7'-OH		n.d.	9-OH		6,11 <i>s él.</i>
12a-OH		4,41 <i>s él.</i>	12a-OH		4,38 <i>s</i>	12a-OH		4,44 <i>s él.</i>



L22



L23



L31

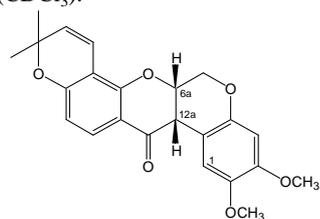
12a-Hydroxylation

Comme dans le cas de la série précédente, la 12a-hydroxylation est associée à la rétention (**L18**) ou à l'inversion (**L17**) de la jonction B/C et demeure, comparativement à l'hydroxylation des autres positions, la principale substitution. Elle est caractérisée, comme indiqué précédemment, en RMN ^1H et ^{13}C (Tableaux 16-18) par la transformation de CH-12a en C quaternaire O-lié et OH dont l'orientation (α ou β) est définie sur la base de son déplacement chimique, de celui de H-1 et

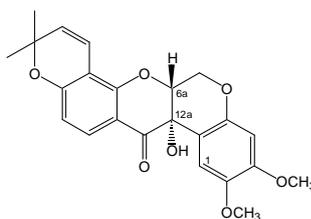
Tableau 18 : Différenciation par RMN des deux types de 12a-hydroxylation (α et β) et de jonction B/C (*cis* et *trans*)^a.

H/C	L16		L17		L18	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
1	110,4	6,79	112,6	7,83	109,4	6,56
12a	44,4	3,84	66,1		67,4	
12a α -OH				2,77		
12a β -OH						4,39
Jonction B/C	<i>JH</i> -6 α ,H6a β	<i>JH</i> -6 β ,H6a β	<i>JH</i> -6 α ,H6a β	<i>JH</i> -6 β ,H6a β	<i>JH</i> -6 α , H6a β	<i>JH</i> -6 β ,H6a β
<i>cis</i> -6a,12a	3,1	< 1			2,4	< 1
<i>trans</i> -6a,12a			11,3	4,5		

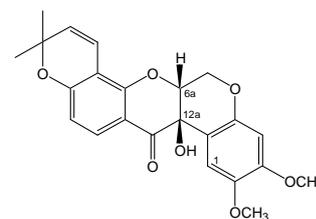
^a δ ppm et *J* Hz (CDCl₃).



L16
déguéline



L17
12a α -hydroxydéguéline



L18
12a β -hydroxydéguéline

des valeurs des couplages entre H-6 β et les deux protons géminés H-6, éléments comparables à ceux évoqués pour les dérivés de la roténone. Le composé **L18**, de distribution courante est donc identifié dans ces conditions à la 12a β -hydroxydéguéline ou téphrosine [HANRIOT, 1907; LUYENGI *et al.*, 1994] contrairement au composé **L17**, son épimère 12a α -hydroxy, de distribution beaucoup plus limitée [CLARK et CLABORN 1932 ; FANG et CASIDA, 1999, WANGENSTEEN *et al.*, 2005].

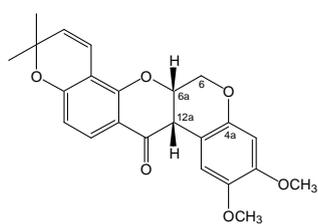
6 β -Hydroxylation

Contrairement au cas de la roténone pour laquelle la 6 β -hydroxylation exclusive n'a pas été mise en évidence au cours de ce travail, celle de la déguéline est bien représentée par le composé **L20** qui constitue de ce fait une référence permettant d'évaluer les conséquences de cette substitution sur son environnement immédiat. En premier lieu, l'hydroxylation de la position 6 est clairement identifiée en RMN ^{13}C et ^1H (Tableau 19) par la transformation de CH₂-6 O-lié

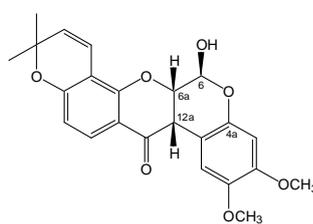
Tableau 19 : Caractérisation par RMN de la 6 β -hydroxylation^a.

C/H	L16		L20	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
4a	147,4		144,3	
6	66,3		90,1	
6 α -H		4,64		5,81
6 β -H		4,18		
6a	72,4		73,3	
6a β -H		4,92		4,81
12a	44,4		40,4	
12a β -H		3,84		3,92
6 β -OH				4,45
$J_{\text{H-6}\alpha,\text{H6a}\beta}$		3,1		2,6
$J_{\text{H-6}\beta,\text{H6a}\beta}$		< 1		

^a δ ppm et J Hz (CDCl_3).



L16
déguéline



L20
6 β -hydroxydéguéline

(δ 66,3 ppm ; δ 4,64 et 4,18 ppm) en CH-6 (δ 90,1 ppm ; δ 5,81 ppm) inclus dans une *O*-liaison supplémentaire avec un hydroxyle (δ 5,45 ppm). En second lieu, l'orientation 6 β -OH est précisée par le *trans*-couplage de 2,6 Hz correspondant à $J_{\text{H-6}\alpha,\text{H-6}\beta}$. En outre, deux conséquences significatives concernent C-4a (δ 144,3 ppm ; $\Delta\delta$ -3,1 ppm) et C-12a (δ 40,4 ppm ; $\Delta\delta$ -4,0 ppm), deux positions marquées par leur situation en γ de l'hydroxyle contrairement à C-6a en β , soumis à un déblindage très modeste ($\Delta\delta$ +0,9 ppm) parce que limité par la compétition des effets (-I) exercés sur lui par HO-6 et O-5 tandis que H-6a subit un blindage à peine perceptible ($\Delta\delta$ -0,09 ppm) mais néanmoins effectif, compte tenu de son orientation *cis* avec HO-6. Sur la base de ces résultats, le composé **L20** est identifié à la 6 β -hydroxydéguéline, répertorié exclusivement chez *Mundulea sericea*, un autre membre de la tribu des Millettieés [LUYENGI *et al.*, 1994].

11-Hydroxylation

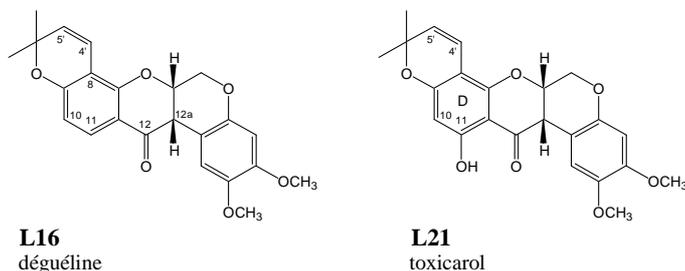
Ce type de substitution n'a pas été rencontré dans la série de la roténone. Elle diffère des précédentes par la nature phénolique de l'hydroxyle mis en jeu, fonction à l'origine de conséquences particulièrement marquées sur le cycle D et les positions 12 et 5'. Cette *O*-substitution est rapidement signalée en RMN (Tableaux 16 et 20) par la présence, d'un singulet à δ 12,19 ppm, caractéristique d'un hydroxyle en *ortho* d'un carbonyle (δ 194,3 ppm). La formation d'une liaison

hydrogène dans les conditions idéales à 6 centres occasionne le déblindage simultané de C-12 ($\Delta\delta$ +5,1 ppm) par activation des effets (-I) et (-M) synergique de l'oxygène cétonique pour stabiliser la chélation et de celui de HO-11 qui se retrouve bloqué dans le cône d'anisotropie du carbonyle. Cette substitution est accompagnée de la disparition de H-11 (δ 7,75 ppm, *d*, 8,7 Hz) du blindage de H-10 induit par l'effet (+M) *ortho* de HO-11.

Tableau 20 : Caractérisation par RMN de la 11-hydroxylation^a.

H/C	L16		L21	
	δ ¹³ C	δ ¹ H	δ ¹³ C	δ ¹ H
7a	157,0		156,0	
8	109,0		101,8	
9	160,1		164,6	
10	111,5	6,45	97,8	5,96
11	128,6	7,75	162,9	
11a	112,8		101,2	
12	189,2		194,3	
12a	44,4	3,84	43,6	3,85
4'	115,8	6,65	115,5	6,56
5'	128,7	5,56	126,4	5,47
11-OH				12,19

^a δ ppm (CDCl₃).



En RMN ¹³C, outre le déblindage de C-12, tout le noyau D est influencé par le substituant, la position substituée transformée en C quaternaire C-11 (162,9 ppm), les positions conjuguées *ortho* (C-10 et C-11a) et *para* (C-8) sous l'effet (+M) de l'hydroxyle ainsi que les positions non conjuguées (C-7a et C-9) dont les déplacements chimiques varient en sens inverse puisque C-9 est déblindé ($\Delta\delta$ +4,5 ppm) et C-7a blindé ($\Delta\delta$ -1,0 ppm). Ces deux positions situées en *meta* de HO-11 sont soumises d'une part à l'effet (-I) de ce substituant qui s'additionne aux effets (-I) et (-M) renforcés du carbonyle conjugué, par la chélation. A l'inverse de C-9, C-7 est soumis à un phénomène supplémentaire représenté par l'encombrement stérique qui s'oppose au déblindage induit par le carbonyle chélaté, l'ensemble résultant finalement en un blindage de faible amplitude. La 11-hydroxylation se traduisant par un enrichissement électronique du noyau D qui a pour conséquence de réduire l'effet donneur (+M) de O-7a et O-9. Dans ces conditions, O-9 renforce son effet (+M) dans la conjugaison supplémentaire n- π - π qu'il présente dans le cycle E et induit le

blindage de la position conjuguée C-5' ($\Delta\delta$ -2,3 ppm). D'après ces résultats, le composé **L21** est identifié à la 11-hydroxydéguéline ou toxicarol déjà connu dans le genre *Lonchocarpus* [FANG et CASIDA, 1999].

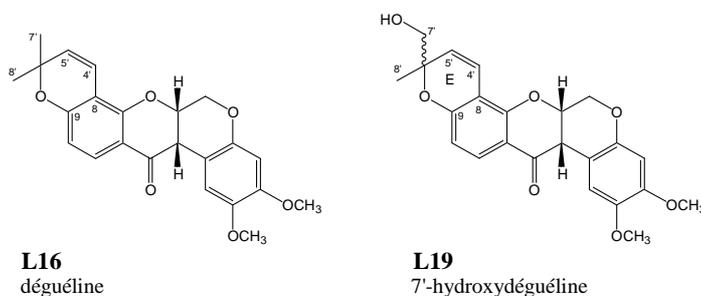
7'-Hydroxylation

Comme la substitution précédente la 7'-hydroxylation caractérise exclusivement la déguéline par le composé **L19**. Elle représente l'unique transformation de la chaîne cyclisée du précurseur et se traduit en RMN (Tableaux 16 et 21) par l'apparition d'un CH₂OH (δ 69,1 ppm ; δ 3,66 ppm) à la place de l'un des groupements méthyles de la déguéline, l'hydroxyle n'étant pas détecté. Paradoxalement, les deux protons diastéréotopes de l'hydroxyméthyle ne sont pas différenciés. A l'exception des C quaternaires C-8 et C-9 insensibles à la substitution, toutes les autres positions

Tableau 21 : Caractérisation par RMN de la 7'-hydroxylation^a.

H/C	L16		L19	
	δ ¹³ C	δ ¹ H	δ ¹³ C	δ ¹ H
4'	115,8	6,65	118,4	6,82
5'	128,7	5,56	124,9	5,55
6'	77,7		80,9	
7'	28,2	1,39	69,1	3,66
8'	28,5	1,45	23,0	1,33
7'-OH				non détecté

^a δ ppm (CDCl₃).



du cycle E subissent son influence. En particulier, les positions en β (C-6') et δ (C-4') sont déblindées par l'effet (-I) de l'oxygène alcoolique de +3,2 ppm et +2,6 ppm respectivement, parallèlement au déblindage effectif de H-4' ($\Delta\delta$ +0,17 ppm) soumis au même effet. Inversement les positions situées en γ (C-5' et C-8'), plus sensibles à l'encombrement stérique qu'à l'effet attracteur de l'oxygène, sont blindées de -5,2 (ou -5,5 ppm) et de -3,8 ppm respectivement. Le composé **L19**, un produit naturel nouveau est identifié à la 7'-hydroxydéguéline dont la mesure de masse haute résolution en impact électronique de l'ion moléculaire m/z 410 (obs. 410,1379000 ; calc. 410,1365534) correspond à la formule brute C₂₃H₂₂O₇.

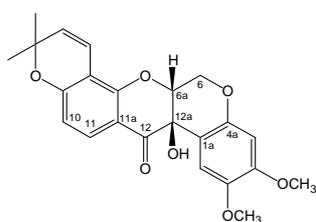
6 β ,12a β -Dihydroxylation

C'est l'une des deux combinaisons de substitution qui s'exprime ici par **L22** dans la série déguéline. Elle se manifeste simultanément par la coexistence des deux C *O*-liés C-6 tertiaire (δ 91,8 ppm ; δ 5,75 ppm) et C-12a quaternaire (δ 68,4 ppm) absents dans la déguéline (Tableaux 16 et 22) ainsi que par les effets induits par la double hydroxylation sur cinq positions des cycles B (1a, 4a, 6a) et C (11a et 12). Chaque cycle est caractérisé par un type particulier de variations. Pour le cycle B, les déplacements chimiques des positions 1a (δ 107,7 ppm) , 4a (δ 148,5 ppm) et 6a (δ 75,3 ppm) soit similaire (C-4a), soit dans le voisinage de ceux du dérivé 12a β -monohydroxylé

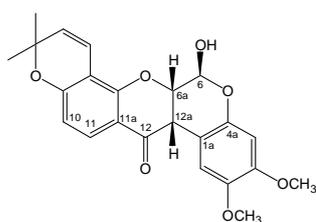
Tableau 22 : Caractérisation par RMN de la 6 β ,12a β -dihydroxylation^a.

H/C	L18		L20		L22	
	δ ¹³ C	δ ¹ H	δ ¹³ C	δ ¹ H	δ ¹³ C	δ ¹ H
1a	108,6		105,0		107,7	
4a	148,4		144,3		148,5	
6	63,9		90,1		91,8	
6 α		4,63		5,81		5,75
6 β		4,49				
6a	76,3	4,57	73,3	4,81	75,3	4,72
11a	111,1		113,6		111,4	
12	191,4		189,9		189,8	
12a	67,4		40,4		68,4	
12a β -H				3,92		
6 β -OH				5,45		5,53
12a β -OH		4,39				4,41
JH-6 α ,H6a β		2,4		2,6		2,0

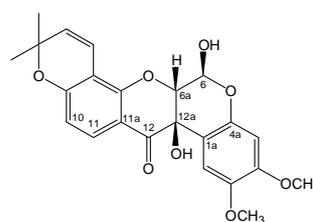
^a δ ppm (CDCl₃).



L18
téphrosine



L20
6 β -hydroxydéguéline



L22
6 β ,12a β -dihydroxydéguéline

(C-1a et C-6a), témoignent de l'effet prédominant (déblindage) du 12a β -OH sur celui, compétitif, du 6 β -OH (blindage). Pour le cycle C, δ C-12 (189,8 ppm), similaire à celui du dérivé 6 β -monohydroxylé, δ C-11a (111,4 ppm) est à l'inverse comparable à celui du dérivé 12a β -monohydroxylé. Les δ C-11a et δ C-12 enregistrés dans la molécule dihydroxylée correspondent aux valeurs minimales de ces positions dans les dérivés monohydroxylés. Ce résultat semble être la conséquence de la réduction des effets (-I) des deux *cis*-oxygènes alcooliques pour limiter la

répulsion de charges entre eux. En conséquence le composé **L22** correspond à la 6 β ,12 $\alpha\beta$ -dihydroxydéguéline, un produit naturel répertorié une seule fois chez *Mundulea sericea*, une autre Fabacée [LUYENGI *et al.*, 1994].

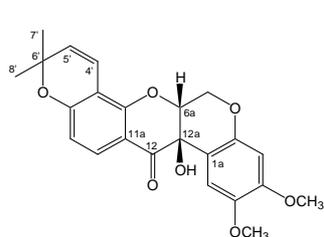
12 $\alpha\beta$,7'-Dihydroxylation

Elle constitue la seconde combinaison de substitutions représentée dans cette série par le composé **L23**. Contrairement à la 6 β ,12 $\alpha\beta$ -dihydroxylation (**L22**) dans laquelle l'interaction spatiale des deux hydroxyles est à l'origine de leurs effets compétitifs, la 12 $\alpha\beta$,7'-dihydroxylation engendre un dérivé moins encombré dont les hydroxyles libres réagissent sur leur environnement, dans les mêmes conditions que dans les dérivés monohydroxylés 7'-OH et 12 $\alpha\beta$ -OH. Cette différence structurale entre les deux types de dihydroxylation se traduit en chromatographie par un comportement plus polaire de l'isomère 12 $\alpha\beta$,7'-diOH, conforme à la réalité. Les spectres RMN ^1H et ^{13}C (Tableaux 16 et 23) de ce composé correspondent à la superposition des zones impliquées

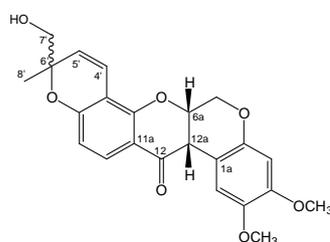
Tableau 23 : Caractérisation par RMN de la 12 $\alpha\beta$,7'-dihydroxylation^a.

H/C	L18		L19		L23	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
1a	108,6		104,6		108,4	
6a	76,3	4,57	72,5	4,92	76,3	4,58
11a	111,1		113,1		111,5	
12	191,4		189,2		191,4	
12a	67,4		44,4	3,85	67,5	
4'	115,4	6,60	118,4	6,82	118,1	6,77
5'	128,8	5,56	124,9	5,55	124,9	5,53
6'	77,8		80,9		81,0	
7'	28,3	1,39	69,1	3,66	68,8	
7'a						3,64
7'b						3,58
8'	28,5	1,45	23,0	1,33	23,3	1,41
12a-OH		4,39				4,38
7'-OH						non détecté

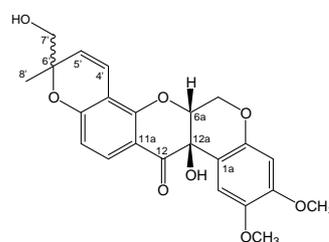
^a δ ppm (CDCl₃).



L18
téphrosine



L19
7'-hydroxydéguéline



L23
12 $\alpha\beta$,7'-dihydroxydéguéline

dans la 12 $\alpha\beta$ -monohydroxylation (cycles A, B et C) et de celles sous influence de la 7'-monohydroxylation (cycle E). Sur la base de ces résultats, le composé **L23** correspond à la 12 $\alpha\beta$,7'-dihydroxydéguéline, un composé nouveau dont la formule brute C₂₃H₂₂O₈ est confirmée en impact

électronique par la mesure de masse en haute résolution de M^+ m/z 426 (obs. 426,1325000 ; calc. 426,1314680).

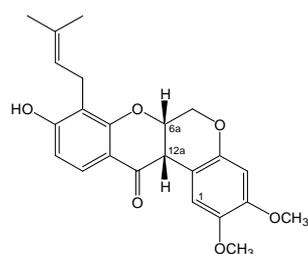
2.1.2.3. Dérivé de l'acide rot-2'-énonique

Contrairement à la roténone et à la déguéline, l'acide rot-2'-énonique (**L30**), largement minoritaire dans cette espèce, n'est accompagné que par son dérivé 12a β -hydroxylé (**L31**), clairement identifié par ces caractéristiques RMN (Tableaux 9, 17 et 24), en accord avec les données bibliographiques partielles [SINGHAL *et al.*, 1982 ; FANG et CASIDA, 1999]. La 12a β -hydroxylation de ce dérivé est établie comme dans les deux cas précédents, par la transformation de CH-12a en C quaternaire *O*-lié (δ 76,1 ppm) avec rétention de la *cis*-jonction B/C indiquée par les couplages de H-6a avec les deux H-6 géminés ($J_{H-6\alpha,H6a\beta}$ 1,9 Hz et $J_{H-6\beta,H6a\beta}$ <1 Hz).

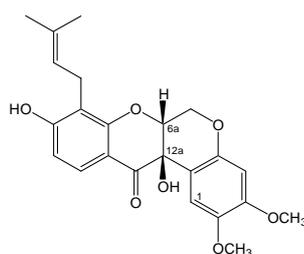
Tableau 24 : Caractérisation de la 12a β -hydroxylation de la jonction B/C *cis*^a.

H/C	L30		L31	
	δ ¹³ C	δ ¹ H	δ ¹³ C	δ ¹ H
1a	104,7		108,6	
1	110,4	6,79	109,3	6,54
12a	44,2	3,85	76,1	
9-OH		6,15		6,11
12a β -OH				4,44
Jonction B/C	$J_{H-6\alpha,H6a\beta}$	$J_{H-6\beta,H6a\beta}$	$J_{H-6\alpha,H6a\beta}$	$J_{H-6\beta,H6a\beta}$
<i>cis</i> -6a,12a	3,0	< 1	1,9	< 1

^a δ ppm et J Hz (CDCl₃).



L30
acide rot-2'-énonique



L31
acide 12a β -hydroxyrot-2'-énonique

2.2. Didéhydroroténoïdes

Par le nombre de constituants (6 composés), ce groupe occupe une place intermédiaire entre celle des roténoïdes proprement dits (16 composés) et les suivants. Il rassemble 3 dérivés de la roténone et trois autres de la déguéline se distinguant par la position 6 sous forme substituée (6-hydroxy ou 6-oxo) ou non substituée. Ils sont traités ici dans l'ordre position 6 non substituée puis position 6-oxygénée par un hydroxyle, par un oxygène doublement lié.

2.2.1. 6a,12a-Didéhydroroténoïdes

De comportement chromatographique plus lipophile que celui de leurs précurseurs roténone et déguéline et de couleur jaune pâle due à une absorption UV décalée vers une longueur d'onde plus élevée témoignant d'une conjugaison plus étendue (ou supplémentaire), ils sont identifiés aux 6a,12a didéhydroroténone (**L10**) et 6a,12a didéhydrodéguéline (**L24**). Confirmation est apportée par leurs spectres respectifs de RMN (Tableaux 25 et 26). En RMN ^1H , les deux singulets communs à δ 8,46 ppm (H-1) et δ 5,00 ppm (H-6) indiquent simultanément que par son déblindage, H-1 ($\Delta\delta$ +1,69 ppm) est sous l'influence du carbonyle par l'intermédiaire de son cône d'anisotropie, donc coplanaire avec lui et que par l'équivalence des deux H-6, ceux-ci sont donc symétriques par rapport au cycle B qui les porte qui doit être de ce fait plan. Pour que ces deux résultats soient concomitants, il faut que les positions 6a et 12a soient incluses dans une liaison π caractérisée par deux C sp^2 supplémentaires dont l'un O-lié (δ C-6a 156,1 ppm ; δ C-12a 111,8 ppm) en remplacement de deux C sp^3 des précurseurs (δ 72,2 et 44,6 ppm). Dans ces conditions, le carbonyle doit subir un blindage suite à la nouvelle conjugaison n- π - π à laquelle il participe avec O-7 lequel était exclusivement conjugué au même carbonyle en *ortho* mais avec un effet (+M) limité parce que compétitif à celui, plus conséquent de O-9 situé en *para* du même carbonyle. Effectivement, ce blindage est de -14,6 ppm pour **L10** puisque C-12 est enregistré à δ 174,4 ppm et de -14,5 ppm pour **L24** (δ 174,7 ppm). La nouvelle conjugaison n- π - π avec le carbonyle pour laquelle O-7 accorde sa préférence est à l'origine de variations affirmées sur des positions particulières des noyaux A, B et D pour les deux isomères. Dans le noyau A de **L10**, les deux positions affectées sont : C-1a ($\Delta\delta$ +5,9 ppm) et H-1 ($\Delta\delta$ +1,69 ppm). Le déblindage de C-1a résulte du renforcement des effets synergiques (-I) et (-M) du carbonyle alors que celui de H-1 est dû à l'inclusion de ce noyau dans le cône d'anisotropie du même carbonyle, ce qui n'est pas le cas pour C-1 qui ne subit pas de variation. Les trois positions concernées dans le noyau B sont CH₂-6 (δ 64,9 ppm et δ 5,00 ppm), C-6a (δ 156,0 ppm) et C-12a (δ 111,8 ppm) ; alors que les H-6 ($\Delta\delta$ +0,82 et +0,39 ppm) sont soumis à l'effet (-I) de la nouvelle liaison π , C-6 ($\Delta\delta$ -1,4 ppm) est blindé parce que son effet (+I) est réduit par compétition avec l'effet (+M) de O-7 maintenant conjugué de ce côté ; C-6a O-lié ($\Delta\delta$ +83,9 ppm) devenu C sp^2 est également déblindé par sa situation β -conjuguée vis-à-vis du carbonyle, contrairement à C-12a ($\Delta\delta$ +67,2 ppm) dont le déblindage est limité par sa β -conjugaison avec O-7. A l'exception de C-8, toutes les autres positions du noyau D sont influencées par la nouvelle conjugaison ; les deux C conjugués à O-7, C-10 ($\Delta\delta$ +4,0 ppm) et C-11a ($\Delta\delta$ +5,6 ppm) sont déblindés parce que l'effet (+M) de O-7 vis-à-vis d'eux est réduit par sa conjugaison supplémentaire (division d'effet). A l'inverse, les positions C-7a ($\Delta\delta$ -5,7 ppm), C-9 ($\Delta\delta$ -2,5 ppm) et C-11 ($\Delta\delta$ -2,0 ppm) sont blindées suite à la réduction de l'effet (-M) exercé sur eux par

Tableau 25 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) des composés **L10**, **L24**, **L11**, et **L25** [δ ppm (J Hz)]^a.

L10			L24			L11			L25		
H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H
1a	110,7		1a	111,0		1a	110,9		1a	110,3	
1	110,1	8,46 <i>s</i>	1	110,0	8,46 <i>s</i>	1	110,2	8,59 <i>s</i>	1	111,4	8,56 <i>s</i>
2	144,1		2	144,1		2	144,4		2	145,1	
3	149,0		3	149,0		3	149,7		3	150,6	
4	100,4	6,56 <i>s</i>	4	100,4	6,56 <i>s</i>	4	101,9	6,69 <i>s</i>	4	102,7	6,72 <i>s</i>
4a	146,3		4a	146,3		4a	143,7		4a	144,7	
6	64,9	5,00 <i>s</i>	6	64,9	5,00 <i>s</i>	6	89,3	6,19 <i>s</i>	6	89,9	6,21 <i>s</i>
6a	156,1		6a	156,1		6a	155,3		6a	156,4	
7a	152,3		7a	n.d.		7a	153,0		7a	152,4	
8	113,0		8	108,0		8	113,6		8	109,6	
9	164,9		9	158,4		9	165,7		9	158,7	
10	108,9	6,92 <i>d</i> (8,6)	10	115,4	6,87 <i>d él.</i> (8,8)	10	109,3	6,96 <i>d</i> (8,7)	10	116,3	6,91 <i>d él.</i> (8,8)
11	128,0	8,14 <i>d</i> (8,6)	11	126,5	8,05 <i>d</i> (8,8)	11	128,1	8,13 <i>d</i> (8,7)	11	127,0	8,02 <i>d</i> (8,8)
11a	119,0		11a	118,4		11a	118,9		11a	118,9	
12	174,4		12	174,7		12	176,5		12	177,0	
12a	111,8		12a	111,8		12a	109,2		12a	109,8	
4'	31,5	3,53 <i>dd</i> (9,9 ; 15,8) 3,20 <i>dd</i> (7,9 ; 15,8)	4'	114,7	6,78 <i>d él.</i> (10,0)	4'	31,7	3,62 <i>dd</i> (10,2 ; 15,9) 3,27 <i>dd</i> (8,3 ; 15,9)	4'	115,3	6,89 <i>d él.</i> (10,1)
5'	87,9	5,41 <i>t él.</i> (8,9)	5'	130,6	5,74 <i>d</i> (10,0)	5'	88,5	5,46 <i>t él.</i> (8,9)	5'	131,7	5,84 <i>d</i> (10,1)
6'	142,9		6'	78,1		6'	143,2		6'	78,9	
7'	113,0	5,14 <i>s él.</i> 4,99 <i>s él.</i>	7'	28,1	1,50 <i>s</i>	7'	113,2	5,15 <i>s él.</i> 5,00 <i>s él.</i>	7'	28,4	1,52 <i>s</i>
8'	17,1	1,81 <i>s él.</i>	8'	28,1	1,50 <i>s</i>	8'	17,1	1,82 <i>s él.</i>	8'	28,4	1,52 <i>s</i>
2-OCH ₃	56,3	3,96 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,2	3,96 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,6	3,96 <i>s</i>	2-OCH ₃	57,1	3,88 <i>s</i>
3-OCH ₃	56,0	3,87 <i>s</i>	3-OCH ₃	56,0	3,88 <i>s</i>	3-OCH ₃	56,1	3,90 <i>s</i>	3-OCH ₃	56,4	3,92 <i>s</i>

^a CDCl₃ pour **L10** et **L24** ; CDCl₃ + CD₃OD pour **L11** et **L25** ; n.d. : non détecté.

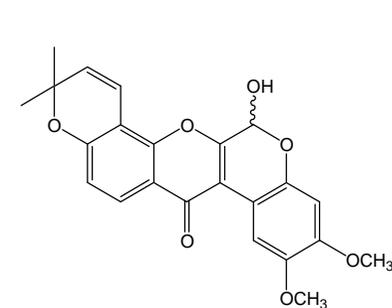
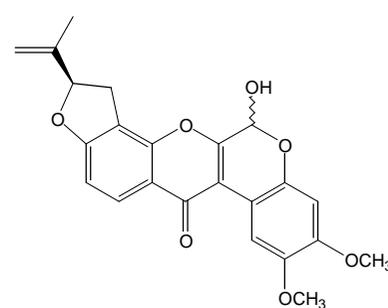
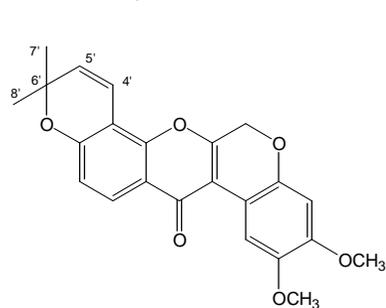
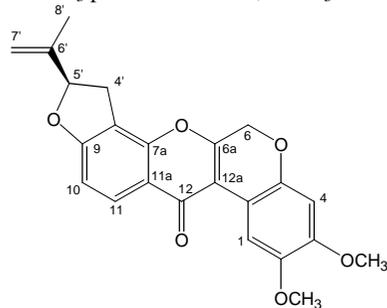
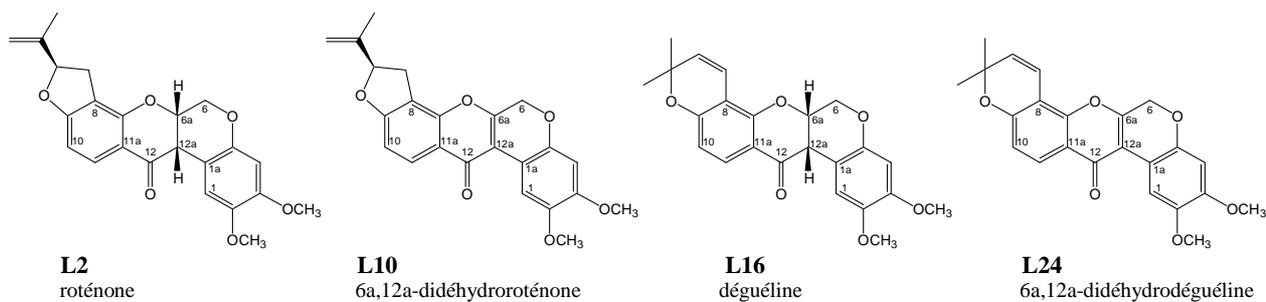


Tableau 26 : Caractérisation par RMN de la 6a,12a-déshydrogénation^a.

C/H	L2		L10		L16		L24	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
1a	104,8		110,7		104,8		111,0	
1	110,4	6,77	110,1	8,46	110,4	6,79	110,0	8,46
6	66,3		64,9	5,00	66,3		64,9	5,00
6 α		4,61				4,64		
6 β		4,18				4,18		
6a	72,2	4,92	156,1		72,4	4,92	156,1	
7a	158,0		152,3		157,0		n.d.	
8	113,0		113,0		109,0		108,0	
9	167,0		164,9		160,1		158,4	
10	104,9	6,50	108,9	6,92	111,5	6,45	115,4	6,87
11	130	7,84	128,0	8,14	128,6	7,75	126,5	8,05
11a	113,4		119,0		112,8		118,4	
12	189,0		174,4		189,2		174,7	
12a	44,6	3,84	111,8		44,4	3,84	111,8	

^a δ ppm (CDCl₃) ; n.d. : non détecté.



le carbonyle, inclus à présent dans la nouvelle conjugaison (effet partagé). Parallèlement à C-10, H-10 ($\Delta\delta +0,42$ ppm) est également déblindé pour la même raison que lui ; à l'inverse de C-11, H-11 ($\Delta\delta +0,30$ ppm) est déblindé par une meilleure occupation du cône d'anisotropie du carbonyle occasionné ici par la rigidité du cycle C qui se traduit par un blocage de cette fonction dans une direction de l'espace. Suite à ces résultats, le composé **L10** est identifié à la 6a,12a-didéhydroroténone [OBERHOLZER *et al.*, 1974 ; PIATAK *et al.*, 1975] et le composé **L24** à la 6a,12a-didéhydrodéguéline [MARZ, 1932 ; CARLSON *et al.*, 1973 ; KAMAL et MANGLA, 1987] en accord avec les données bibliographiques disponibles.

2.2.2. 6-Hydroxy-6a,12a-didéhydroroténoïdes

De comportement plus polaire, les deux composés suivants **L11** et **L25** dérivent de **L10** et **L24** respectivement par une 6-hydroxylation qui impose l'utilisation d'un solvant de plus grande polarité en RMN (Tableau 25) à l'origine d'un effet propre (effet de solvant) ne permettant pas l'analyse comparative systématique avec les composés non substitués. Cette substitution est rapidement caractérisée par le remplacement de CH₂-6 (δ 64,9 ppm ; δ 5,00 ppm) de **L10** et **L24** par CH-6 pointé à δ 89,3 et δ 6,19 ppm pour **L11**, δ 89,9 ppm et δ 6,21 ppm pour **L25**, les autres positions restant pratiquement inchangées par rapport à celles des références **L10** et **L11**. Ces deux composés dont la

stéréochimie de la position 6 reste à définir sont des métabolites rares ; la bibliographie ne fournit que des caractéristiques spectroscopiques limitées en RMN. Le composé **L11** est identifié à la 6-hydroxy-6a,12a-didéhydroroténone ou amorpholone, précédemment caractérisé chez *Amorpha canescens* [PIATAK *et al.*, 1975] et *Tephrosia candida* [KOLE *et al.*, 1992], la seconde espèce renfermant également l'isomère constitutionnel **L25**.

2.2.3. 6-Oxo-6a,12a-didéhydroroténoïdes

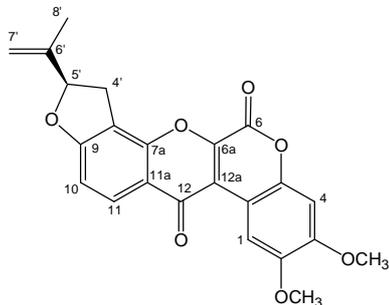
Comme dans les deux cas précédents, ce dernier groupe minoritaire est constitué des deux composés **L12** et **L26** dérivant des deux isomères **L10** et **L24** par oxydation de la position 6 qui leur confère une plus faible polarité. Celle-ci est générée par la conjugaison supplémentaire π - π entre C-12a et C-6, en compétition avec la conjugaison n - π - π de O-7 avec C-12 à travers C-6a et C-12a. Comparativement aux didéhydroroténoïdes **L10** et **L24** dont ils dérivent respectivement, les composés **L12** et **L26** s'en différencient par le remplacement de CH₂-6 (δ 64,9 ppm ; δ 5,00 ppm) par un C quaternaire lactonique à δ 166,5 ppm pour **L12** et δ 165,6 ppm pour **L26** (Tableaux 27 et 28), également conjugué à O-5. Dans cette situation, le nouveau carbonyle intervient sur son environnement directement ou indirectement par l'intermédiaire de ses trois caractères : géométrie plane, cône d'anisotropie et surtout effets électroniques synergiques (-I) et (-M), l'ensemble s'exprimant en terme de déblindage plus ou moins limité par les systèmes conjugués préexistants.

L'analyse comparative des spectres ¹H et ¹³C de **L10** et **L12** montre effectivement que l'action directe de cette liaison π oxygénée est variable sur les positions conjuguées ordonnées de la position β (C-12a) à la plus éloignée (C-4a) : C-12a ($\Delta\delta$ +9,8 ppm), C-1 ($\Delta\delta$ nul), C-3 ($\Delta\delta$ +2,2 ppm), C-4a ($\Delta\delta$ non significatif). Par ordre décroissant de variation, $\Delta\delta$ C-12a \gg $\Delta\delta$ C-3 \gg $\Delta\delta$ C-1 et C-4a, chacune de ces positions étant soumise à un effet (+M) compétitif de la part d'un oxygène conjugué au minimum. Néanmoins, la β -conjugaison et le caractère éthylénique de C-12a l'isolent des autres positions aromatiques (C-1, C-3 et C-4a) de densité électronique plus élevée. Dans l'ordre décroissant précédent, la position 3 est plus déblindée que les positions 1 et 4a parce qu'elle est située en *para* de la conjugaison nouvelle, donc moins encombrée que les deux autres occupant la position *ortho*. La position 6a ($\Delta\delta$ nul) constitue l'exemple même de l'annulation de l'effet direct du carbonyle lactonique en α par une réorientation du mouvement électronique dans le cycle C (effet indirect). Compte tenu de sa situation β -conjuguée à C-12, la variation attendue pour ce carbone doit aller dans le sens du blindage par inversion de (+I) de CH₂-6, mouvement synergique à (-I) et (-M) de C-12 dans **L10** en (-I) du CO lactonique, orienté dans le sens opposé. Parallèlement, ce blindage doit être renforcé par l'encombrement introduit par l'oxygène supplémentaire et la densité électronique avoisinante générée par la conjugaison n - π de O-5. Pour expliquer l'absence de blindage apparent de cette position, il faut admettre l'existence d'un autre mouvement électronique

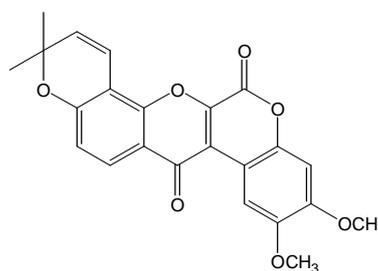
Tableau 27 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) des 6-oxo-6a,12a-didéhydroroténoïdes **L12** et **L26** [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

L12			L26		
H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H
1a	n.d.		1a	n.d.	
1	109,8	9,01 <i>s</i>	1	108,1	9,01 <i>s</i>
2	145,3		2	n.d.	
3	151,2		3	151,2	
4	99,6	6,90 <i>s</i>	4	99,6	6,92 <i>s</i>
4a	146,9		4a	147,1	
6	166,5		6	165,6	
6a	156,1		6a	n.d.	
7a	152,7		7a	n.d.	
8	113,7		8	n.d.	
9	166,5		9	n.d.	
10	108,2	7,00 <i>d</i> (8,6)	10	116,3	6,94 <i>d él.</i> (8,8)
11	128,3	8,18 <i>d</i> (8,6)	11	126,5	8,08 <i>d</i> (8,8)
11a	118,4		11a	n.d.	
12	176,5		12	n.d.	
12a	121,6		12a	n.d.	
4'	31,4	3,70 <i>dd</i> (10,0 ; 16,1) 3,36 <i>dd</i> (7,8 ; 16,1)	4'	114,8	7,04 <i>d él.</i> (10,1)
5'	88,5	5,48 <i>t él.</i> (8,9)	5'	130,5	5,78 <i>d</i> (10,1)
6'	142,6		6'	77,9	
7'	113,1	5,15 <i>s él.</i> 5,00 <i>s él.</i>	7'	28,3	1,53 <i>s</i>
8'	17,1	1,82 <i>s él.</i>	8'	28,3	1,53 <i>s</i>
2-OCH ₃	56,3	4,04 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,3	4,04 <i>s</i>
3-OCH ₃	56,2	3,97 <i>s</i>	3-OCH ₃	56,2	3,97 <i>s</i>

n.d. : non détecté.



L12



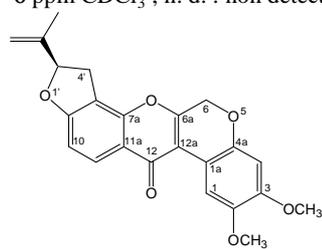
L26

compétitif, d'amplitude suffisamment élevée pour lui permettre de compenser simultanément les deux types d'effets (électronique et stérique) du CO lactonique. La conjugaison C(12a)-C(6) manifestant sa compétitivité à la conjugaison O(7)-C(6a)-C(12) la défavorise au profit de O(7)-C(7a)-C(12) elle-même en compétition avec O(1')-C(10)-C(11a)-C(12). En conséquence, ce mouvement électronique détourné de la part de O-7 doit être accompagné d'un effet (-I) renforcé sur C-6a. Ce point de vue semble confirmé par le déblindage de C-12 ($\Delta\delta$ +2,1 ppm) qui est donc soumis à un effet (+M) réduit de la part de O-7. Un autre effet direct du carbonyle lactonique est le déblindage des protons H-4' ($\Delta\delta$ +0,17 ppm et +0,16 ppm) justifié par une influence limitée mais

Tableau 28 : Caractérisation par RMN de la 6-*O* double liaison introduite dans les didéhydroroténoïdes^a.

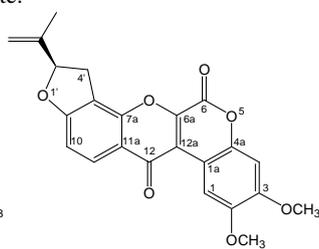
C/H	L10		L12		L24		L26	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
1a	110,7		n.d.		111,0		n.d.	
1	110,1	8,46	109,8	9,01	110,0	8,46	109,2	9,01
2	144,1		145,3		144,1		n.d.	
3	149,0		151,2		149,0		151,2	
4	100,4	6,56	99,6	6,90	100,4	6,56	99,6	6,92
4a	146,3		146,9		146,3		147,1	
6	64,9	5,00	166,5		64,9	5,00	165,6	
6a	156,1		156,1		156,1		n.d.	
9	164,9		166,5		158,4		n.d.	
11a	119,0		118,4		118,4		n.d.	
12	174,4		176,5		174,7		n.d.	
12a	111,8		121,6		111,8		n.d.	
4'	31,5		31,4		114,7	6,78	114,8	7,04
4'a		3,53		3,70				
4'b		3,20		3,36				

^a δ ppm CDCl₃ ; n. d. : non détecté.



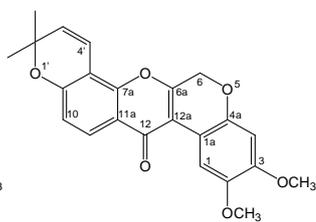
L10

6a,12a-didéhydroroténone



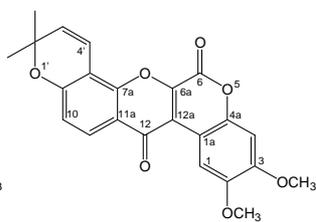
L12

6-oxo-6a,12a-didéhydroroténone



L24

6a,12a-didéhydrodéguéline



L26

6-oxo-6a,12a-

néanmoins effective de son cône d'anisotropie. Ce phénomène est encore accentué lorsque H-4' devient coplanaire avec cette fonction comme indiqué dans L26 ($\Delta\delta + 0,26$ ppm).

Malgré un effet (-M) inexistant ou compensé sur C-1 ($\Delta\delta$ nul), la fonction lactonique modifie le comportement de H-1 ($\Delta\delta + 0,55$ ppm) dont le déblindage doit donc résulter d'un effet indirect de ce groupement. La rigidité de la nouvelle liaison π intervient sur celle du cycle B qui tend vers la planéité comme les cycles A et C. Cela permet une meilleure inclusion de H-1 dans le cône d'anisotropie de C-12 et explique son déblindage net. Un autre proton, H-4 ($\Delta\delta + 0,34$ ppm) situé en *meta* de la conjugaison du noyau A avec la fonction lactonique est déblindé simultanément par un effet direct de faible amplitude représenté par le cône d'anisotropie du carbonyle lactonique et par un effet indirect consécutif à la conjugaison O(5)-C(6) qui renforce l'effet (-I) de O-5 donc le déblindage de H-4. Cet effet indirect de O-5 est également à l'origine du déblindage de C-3 ($\Delta\delta + 2,2$ ppm) suite à l'effet (+M) réduit de O-5. La position 11a présentant une variation nulle inattendue malgré l'action d'un effet électronique indirect du carbonyle lactonique (cf. conséquence directe sur C-6a ci-dessus) qui renforce l'effet (+M) de O-7, constitue un exemple de variation non maîtrisée. Sur la base de ces données, le composé L12 (M^+ m/z 406) correspond à la 6-oxo-6a,12a-

didéhydroroténone, un produit naturel limité actuellement à deux autres espèces des Fabacées, *Amorpha canescens* [PIATAK *et al.*, 1975], *Neorautanenia amboensis* [OBERHOLZER *et al.*, 1976] et à l'extrait résine de cubé [FANG et CASIDA, 1999]. Malgré une quantité insuffisante pour obtenir un spectre de RMN ^{13}C complet, le composé **L26** est identifié à la 6-oxo-6a,12a-didéhydrodéguéline conformément au spectre de RMN ^1H et au comportement chromatographique comparables à ceux de son isomère. Ce dernier métabolite n'a été cité qu'une seule fois dans la résine de cubé [FANG et CASIDA, 1999].

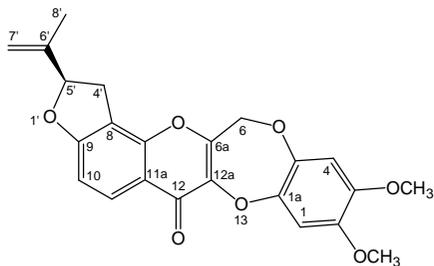
Par opposition à tous les roténoïdes précédents, les trois groupes suivants sont caractérisés par la modification d'un cycle (B ou C) du squelette roténoïde. L'extension du cycle B regroupe les 13-*homo*-13-oxadidéhydroroténoïdes et sa réduction, rassemble les coumaronochromones contrairement à l'ouverture du cycle C enfin qui conduit aux *seco*-roténoïdes.

2.3. 13-*Homo*-13-oxa-didéhydroroténoïdes

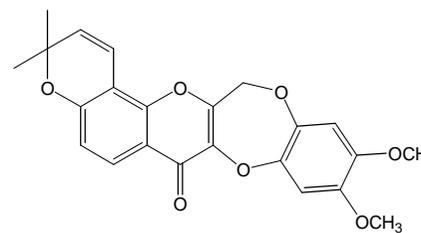
Deux composés non hydroxylés **L13** et **L27**, de polarité voisine de celle des 12a-hydroxyroténoïdes, constituent ce groupe. En RMN (Tableaux 29 et 30), les déplacements chimiques de CH-6 (δ 69,6 ppm ; δ 5,09 ppm) dans **L13** comparables à ceux retrouvés dans **L10** (δ 64,9 ppm ; δ 5,00 ppm), impliquent la même situation en α d'une liaison π pour ce carbone. A l'inverse, la position aromatique CH-1 (δ 105,5 ppm ; δ 6,94 ppm), plus blindée pour les deux noyaux, comparativement à **L10** (δ 110,1 ppm ; δ 8,46 ppm), témoigne donc de la présence d'un groupement supplémentaire conjugué d'effet (+M) soit un oxygène fixé sur l'une des deux positions d'origine non oxygénées C-1a ou C-4. La nature tertiaire de CH-4 (δ 104,8 ppm ; δ 6,63 ppm) étant conservée, permet de positionner un oxygène sur C-1a. Ce résultat est confirmé simultanément par le blindage de H-1 ($\Delta\delta$ -1,52 ppm) indiquant principalement que ce proton a quitté le cône d'anisotropie de C-12 et le déblindage de C-4 ($\Delta\delta$ +4,4 ppm) en accord avec l'effet (-I) exercé par l'oxygène supplémentaire situé en *meta*. Parallèlement, le blindage des deux autres positions *O*-substituées, conjuguées à l'oxygène supplémentaire C-3 ($\Delta\delta$ -3,1 ppm) et C-4a ($\Delta\delta$ -4,2 ppm) est en accord avec ce résultat. La position restante du noyau A, non conjuguée à la nouvelle substitution, est par contre déblindée par O-13 ($\Delta\delta$ +1,5 ppm) conformément aux deux effets différents : (-I) de O-13 situé en *meta* ainsi que (+M) de O-5 limité par la compétition de O-13. Le déblindage de très forte amplitude de C-12a ($\Delta\delta$ +38,6 ppm) simultané au blindage net de C-6a ($\Delta\delta$ -15,4 ppm) localise cet oxygène supplémentaire en α de C-12a et en β de C-6a. En conséquence **L13**, ne se distinguant de **L10** que par un atome d'oxygène, est identifié à la 13-*homo*-13-oxa-6a,12a-didéhydroroténone conforme à la formule brute $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{O}_7$ déduite de la mesure de

Tableau 29 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) des 13-homo-13-oxaroténoïdes **L13** et **L27** [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

L13				L27			
H/C	^{13}C	^1H	HMBC	H/C	^{13}C	^1H	HMBC
1a	142,5			1a	142,5		
1	105,5	6,94 s	C-1a, C-2, C-3, C-4a	1	105,5	6,94 s	C-1a, C-2, C-3, C-4a
3	145,9			3	145,9		
4	104,8	6,63 s	C-1a, C-2, C-3, C-4a	4	104,8	6,64 s	C-1a, C-2, C-3, C-4a
4a	142,1			4a	142,1		
6	69,6	5,09 s	C-4a, C-6a, C-12a	6	69,6	5,11 s	C-4a, C-6a, C-12a
6a	140,7			6a	140,7		
7a	152,2			7a	151,0		
8	112,7			8	108,9		
9	165,1			9	157,5		
10	108,6	6,89 d (8,7)	C-8, C-11a	10	115,2	6,84 d <i>él.</i> (8,8)	C-8, C-9, C-11a
11	128,1	8,14 d (8,7)	C-7a, C-9, C-12	11	126,6	8,04 d (8,8)	C-7a, C-9, C-12
11a	118,1			11a	117,5		
12	171,8			12	171,8		
12a	150,4			12a	150,5		
4'	31,4	3,50 dd (10,0 ; 15,8) 3,16 dd (7,9 ; 15,8)	C-6', C-8, C-9	4'	114,7	6,72 d <i>él.</i> (10,0)	C-7a, C-6', C-8, C-9
5'	87,9	5,40 t <i>él.</i> (8,9)		5'	130,4	5,71 d (10,0)	C-8, C-8', C-7', C-6'
6'	142,8			6'	77,9		
7'	113,0	5,12 s <i>él.</i> 4,97 s <i>él.</i>	C-5', C-8'	7'	28,1	1,48 s	C-4', C-5', C-6', C-8'
8'	17,0	1,79 s <i>él.</i>	C-5', C-6', C-7'	8'	28,1	1,48 s	C-4', C-5', C-6', C-7'
2-OCH ₃	56,3	3,84 s	C-2	2-OCH ₃	56,3	3,84 s	C-2
3-OCH ₃	56,4	3,84 s	C-3	3-OCH ₃	56,4	3,84 s	C-3



L13

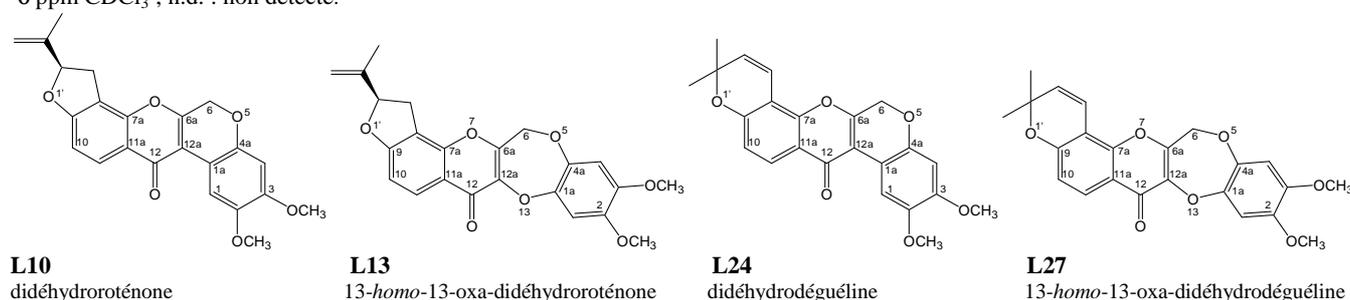


L27

Tableau 30 : Caractérisation par RMN de l'extension du cycle B des didéhydroroténoïdes par 13-homo-13-oxa-substituéon^a.

C/H	L10		L13		L24		L27	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
1a	110,7		142,5		111,0		142,5	
1	110,1	8,46	105,5	6,94	110,0	8,46	105,5	6,94
2	144,1		145,6		144,1		145,6	
3	149,0		145,9		149,0		145,9	
4	100,4	6,56	104,8	6,63	100,4	6,56	104,8	6,64
4a	146,3		142,1		146,3		142,1	
6	64,9	5,00	69,6	5,09	64,9	5,00	69,6	5,11
6a	156,1		140,7		156,1		140,7	
7a	152,3		152,2		n.d.		151,0	
9	164,9		165,1		158,4		157,5	
11a	119,0		118,1		118,4		117,5	
12	174,4		171,8		174,7		171,8	
12a	111,8		150,4		111,8		150,5	

^a δ ppm CDCl₃ ; n.d. : non détecté.



masse de M^+ m/z 408 (obs. 408,1223000 ; calc. 408,1209033). Ce produit naturel n'a été décrit qu'une seule fois auparavant et plus précisément dans le genre *Lonchocarpus* [FANG et CASIDA, 1997].

L'extension du cycle B par inclusion de O-13 est accompagnée d'une détente de ce cycle dont les contraintes stériques, réduites pour le voisinage et lui-même, doivent se traduire en terme de déblindage, plus particulièrement pour la position non conjuguée C-12, laquelle doit être encore plus déblindée ici à cause de la compétition des effets (+M) de O-13 et O-7 qui réduit clairement la conjugaison O(7)-C(6a)-C-(12). En réalité, C-12 ($\Delta\delta$ -2,6 ppm) est légèrement blindé. Ce comportement qui semble inattendu pour ce carbone correspond à la résultante de deux effets opposés, l'effet (+M) de O-7 qui doit se traduire par une variation positive et l'effet β de O-13 qui doit par contre se manifester par une variation négative entraînée par la répulsion de charges entre O-13 et l'oxygène cétonique, obligé de réduire sa densité électronique en restreignant ses effets (-I) et (-M) dans le but de limiter au maximum la répulsion de charges avec l'oxygène voisin. Cette situation du carbonyle laisse indifférentes deux positions conjuguées du noyau D, C-7a et C-9 qui demeurent invariables, sans doute par compensation d'effets de la part des oxygènes correspondants.

Le composé **L27** est identifié à la 13-homo-13-oxa-6a,12a-didéhydrodéguéline selon la même démarche, par analyse comparative avec son homologue didéhydrodéguéline (**L24**). Il présente la même formule brute C₂₃H₂₀O₇ que son isomère constitutionnel (M^+ m/z 408). Ce produit naturel n'a été décrit

que deux fois dans le règne végétal. Il est rapporté pour la première fois dans l'extrait Cubé résin de *L. utilis* et *L. urucu* [FANG et CASIDA, 1997] et retrouvé récemment chez *Sarcolobus globosus* une Asclépiadacée [WANGENSTEEN *et al.*, 2005].

2.4. Coumaronochromones

Ce groupe est constitué de deux représentants **L14** et **L28**, de polarité intermédiaire entre celle des didéhydroroténoïdes **L10** et **L24** et celle des 13-*homo*-13-oxa-6a,12a-didéhydroroténoïdes **L13** et **L27** dont ils se rapprochent. Comparativement à leurs correspondants didéhydroroténoïdes **L10** et **L24**, les composés **L14** et **L28** présentent un cycle B de taille réduite par amputation de CH₂-6 du pyrane d'origine. Cette situation est rapidement mise en évidence en RMN (Tableaux 31 et 32) par la disparition des signaux de cette position (δ 64,9 ppm ; δ 5,00 ppm). En conséquence, le cycle B devient furanique et l'oxygène hétérocyclique occupe une position conjuguée au carbonyle dont le déplacement chimique ne varie pas significativement (δ 173,8 ppm) contrairement au blindage attendu. Le squelette roténoïde d'origine est donc transformé en squelette coumaronochromone pour lequel doit être appliquée la numérotation adoptée pour les isoflavonoïdes. Les deux positions qui subissent les plus fortes variations de déplacement chimique sont C-2 (ex 6a) et C-3 (ex 12a) ; C-2 est déblindé par l'effet (-I) direct de l'oxygène furanique ($\Delta\delta$ +8,0 ppm) et C-3 est blindé par l'effet (+M) de l'élément β conjugué ($\Delta\delta$ -12,3 ppm). Le noyau B (ex noyau A) est soumis à des variations significatives de déplacement chimique sur toutes les positions parmi lesquelles, seules C-1' (ex 1a) et C-5' (ex 2) sont déblindées. La position 1' ($\Delta\delta$ +4,4 ppm) semble soumise à un effet (-I) exercé par C-3 en contrepartie du blindage généré par la densité électronique du cycle furanique répartie dans un espace plus restreint. La position 5' ($\Delta\delta$ +3,8 ppm) est quant à elle déblindée par l'effet (+M) réduit de l'oxygène furanique en position *para* qui participe également à la nouvelle conjugaison n- π - π avec le carbonyle. Le blindage des positions 2' ($\Delta\delta$ -2,8 ppm), 3' ($\Delta\delta$ -4,6 ppm), 4' ($\Delta\delta$ -1,0 ppm) et 6' ($\Delta\delta$ -6,5 ppm) résulterait pour C-2', C-3' et C-6' de la proximité de la forte densité électronique de l'hétérocycle accolé. La nouvelle conjugaison entre le carbonyle de l'oxygène furanique, impose à O-1 d'orienter son mouvement électronique qui se poursuit jusqu'au carbonyle par l'intermédiaire du noyau A (ex noyau D). Cela a pour conséquence le blindage modeste de C-9 ($\Delta\delta$ -1,8 ppm) et C-10 ($\Delta\delta$ -1,0 ppm), situés sur le parcours imposé malgré la compétition permanente des effets (+M) de O-1 et O-1". Parmi les deux positions C-9 et C-10 affectées par cette contrainte, C-10 β conjugué à O-1 devrait subir un blindage plus accentué que celui de C-9 ; le contraire est observé en réalité puisque C-9 subit un blindage deux fois plus important que celui de C-10 sur lequel l'effet (+M) de O-1 est réduit par celui de O-1".

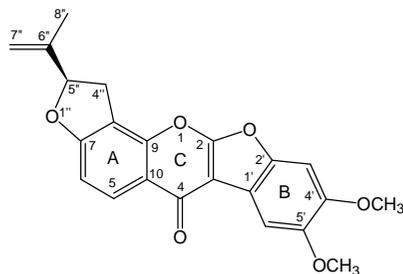
En conclusion, le composé **L14** est identifié à la 4',5'-diméthoxy-2"-isopropényl-2",3"-dihydrofurano(4",5":8,7)coumaronochromone, un produit naturel nouveau conforme à la formule brute C₂₂H₁₈O₆ avec M⁺ *m/z* 378 (obs. 378,1073000 ; calc. 378,1103386). Parallèlement, la structure 4',5'-diméthoxy-2",2"-diméthylpyrano(5",6":8,7)coumaronochromone est attribuée au composé **L28**, un autre

Tableau 31 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz), des coumaronochromones **L14** et **L28** [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

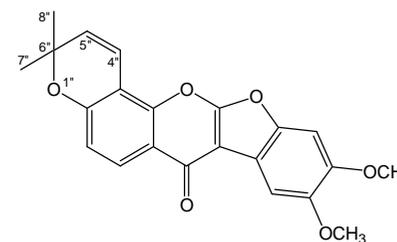
L14				L28			
H/C	^{13}C	^1H	HMBC	H/C	^{13}C	^1H	HMBC
2	164,1			2	164,1		
3	99,5			3	99,5		
4	173,8			4	173,7		
5	128,0	8,24 <i>d</i> (8,6)	C-4, C-7, C-9	5	126,5	8,15 <i>d</i> (8,7)	C-4, C-7, C-9
6	108,3	6,98 <i>d</i> (8,6)	C-7, C-8, C-9, C-10	6	115,1	6,94 <i>d él.</i> (8,7)	C-7, C-8, C-9, C-10
7	164,8			7	157,2		
8	113,8			8	109,7		
9	150,5			9	149,3		
10	118,0			10	117,5		
1'	115,1			1'	115,1		
2'	143,5			2'	143,5		
3'	95,8	7,11 <i>s</i>	C-1', C-2', C-5'	3'	95,8	7,11 <i>s</i>	C-1', C-2', C-5'
4'	148,0 ^a			4'	148,0 ^a		
5'	147,9 ^a			5'	147,9 ^a		
6'	103,6	7,66 <i>s</i>	C-3, C-1', C-2', C-3', C-4'	6'	103,6	7,65 <i>s</i>	C-3, C-1', C-2', C-3', C-4'
4''	31,7	3,65 <i>dd</i> (9,8 ; 15,9) 3,31 <i>dd</i> (7,9 ; 15,9)	C-7, C-8, C-9, C-5'', C-6'' C-7, C-8, C-9, C-5'', C-6''	4''	114,8	6,93 <i>d él.</i> (10,0)	C-8, C-6''
5''	87,9	5,45 <i>t él.</i> (8,8)	C-7'', C-8''	5''	131,2	5,80 <i>d</i> (10,0)	C-8, C-6''
6''	142,8			6''	77,8		
7''	113,1	5,16 <i>s él.</i> 5,00 <i>s él.</i>	C-5'', C-6'', C-8'' C-5'', C-8''	7''	28,2	1,52 <i>s</i>	C-5'', C-6''
8''	17,1	1,83 <i>s él.</i>	C-5'', C-6'', C-7''	8''	28,2	1,52 <i>s</i>	C-5'', C-6''
OCH ₃	56,6	4,00 <i>s</i>	C-4' ou C-5'	OCH ₃	56,6	4,00 <i>s</i>	C-4' ou C-5'
	56,5	3,96 <i>s</i>	C-4' ou C-5'		56,5	3,96 <i>s</i>	C-4' ou C-5'

112

^aValeurs interchangeable dans la même colonne.



L14



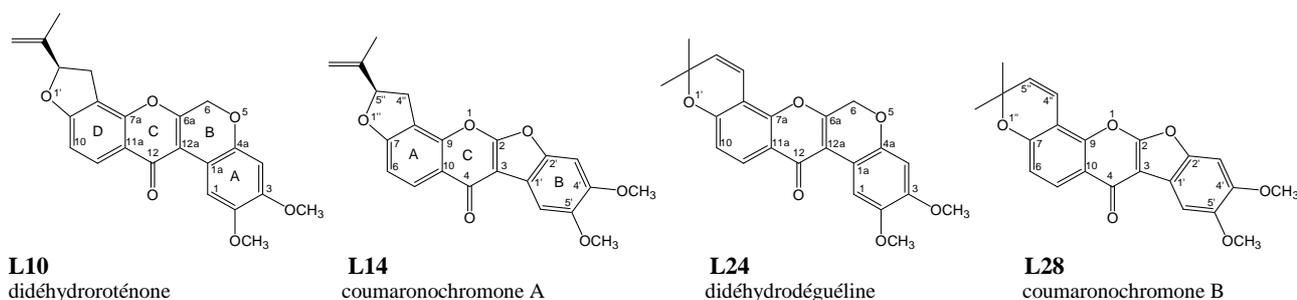
L28

Tableau 32 : Caractérisation par RMN de la réduction de la taille du cycle B des didéhydroroténoïdes^a.

L10			L14			L24		L28		
C/H	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	C/H	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	C/H	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
1a	110,7		1'	115,1		111,0		1'	115,1	
1	110,1	8,46	6'	103,6	7,66	110,0	8,46	6'	103,6	7,65
2	144,1		5'	147,9 ^b		144,1		5'	147,9 ^b	
3	149,0		4'	148,0 ^b		149,0		4'	148,0 ^b	
4	100,4	6,56	3'	95,8	7,11	100,4	6,56	3'	95,8	7,11
4a	146,3		2'	143,5		146,3		2'	143,5	
6a	156,1		2	164,1		156,1		2	164,1	
7a	152,3		9	150,5		n.d.		9	149,3	
8	113,0		8	113,8		108,0		8	109,7	
9	164,9		7	164,8		158,4		7	157,2	
10	108,9	6,92	6	108,3	6,98	115,4	6,87	6	115,1	6,94
11	128,0	8,14	5	128,0	8,24	126,5	8,05	5	126,5	8,15
11a	119,0		10	118,0		118,4		10	117,5	
12	174,4		4	173,8		174,7		4	173,7	
12a	111,8		3	99,5		111,8		3	99,5	
4'						114,7	6,78	4''	114,8	6,93
5'						130,6	5,74	5''	131,2	5,80

^a δ ppm CDCl₃ ; n.d. : non détecté.

^bValeurs interchangeables dans la même colonne.



produit naturel original répondant également à la formule brute C₂₂H₁₈O₆ (M⁺ m/z 378). Ces deux composés font partie des coumaronochromones, un groupe limité d'une quarantaine d'isoflavonoïdes, des phytoconstituants rencontrés principalement dans trois genres des Fabacées, *Euchresta*, *Lupinus* et *Piscidia* [HASHIDOKO *et al.*, 1986 ; MIZUNO *et al.*, 1988 ; MIZUNO *et al.*, 1989 ; TAHARA *et al.*, 1993 ; LO *et al.*, 2002a ; LO *et al.*, 2002b], plus rarement dans trois autres genres de la même famille, *Derris*, *Desmodium* et *Millettia* [RAJU *et al.*, 1981 ; MIZUNO *et al.*, 1992 ; LIN et KUO, 1993] et accessoirement dans le genre *Vigna*, une Phaseolée [ABE *et al.*, 1987]. A l'exception de cinq représentants, toutes les coumaronochromones naturelles sont prénylées de une à trois fois sur les noyaux A et B.

2.5. Seco-roténoïdes

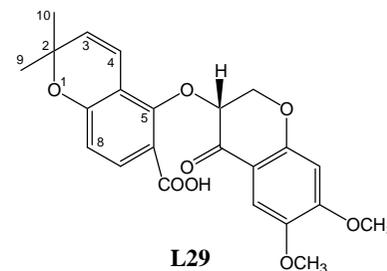
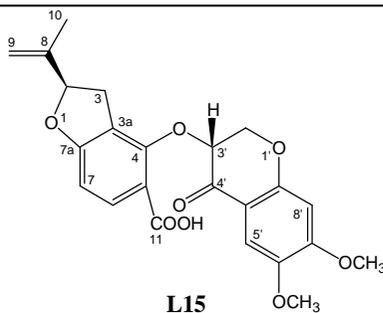
Deux composés **L15** et **L29**, représentant les métabolites les plus polaires de l'extrait benzénique, appartiennent à ce groupe caractérisé par l'ouverture du cycle C des roténoïdes qui génère une fonction acide carboxylique à la place du carbonyle en position 12.

Le composé **L15** présente en UV-visible deux bandes d'absorption à $\lambda_{\max}(\text{MeOH})$: 340 et 274 nm. La RMN ^{13}C (Tableau 33) révèle la présence de seize carbones sp^2 ($189 \text{ ppm} > \delta > 101 \text{ ppm}$) et de sept carbones aliphatiques ($88 \text{ ppm} > \delta > 17 \text{ ppm}$). Quatre carbones tertiaires sp^2 correspondent à quatre protons aromatiques enregistrés à $8,5 \text{ ppm} > \delta > 6,5 \text{ ppm}$ dont deux, sous forme de doublets, présentent une constante de couplage *ortho* indiquant ainsi la présence de deux noyaux aromatiques dans cette molécule. Les carbones insaturés restants sont ceux de deux groupements carbonyles α,β insaturés (δ 188,2 et 168,4 ppm) et d'une double liaison *gem*-disubstituée (δ 144,8 et 112,8 ppm) porteuse de deux protons non équivalents (δ 5,07 et 4,84 ppm). Les sept carbones aliphatiques se divisent en trois groupements méthyles (δ 56,5 ppm, δ 56,3 ppm et δ 17,3 ppm), deux méthylènes (δ 71,6 ppm et δ 33,2 ppm) et deux méthines (δ 87,8 et δ 79,6 ppm). Les trois signaux à δ 87,8 ppm, δ 33,2 ppm et δ 17,3 ppm associés aux deux C sp^2 à δ 144,5 ppm et δ 112,7 ppm témoignent d'un enchaînement prénylé cyclisé en 2-isopropényl-2,3-dihydrofurane accolé à un noyau aromatique comparable à celui de la roténone. Cette structure partielle est confirmée par les protons correspondants (Tableau 33). Un second enchaînement du type $-\text{CH}_2-\text{CH}<$ est déduit des signaux ^{13}C à δ 79,6 ppm (méthine oxy) et δ 71,6 ppm (méthylène oxy) dont les protons respectifs sont enregistrés à δ 5,43 ppm (dd, $J=6,3$ et $3,8$ Hz) pour le premier et à δ 5,22 ppm (dd, $J=12,0$ et $6,4$ Hz) et δ 5,02 ppm (dd, $J=12,0$ et $3,7$ Hz). Des deux noyaux aromatiques, l'un est 1,2,3,4-tétrasubstitué comme indiqué par les deux doublets *ortho* couplés ($J=8,4$ Hz) à δ 8,34 et δ 6,83 ppm alors que le second noyau est 1,2,4,5-tétrasubstitué conformément aux deux singulets à δ 7,59 et δ 6,69 ppm. Le déblindage des protons à δ 8,34 ppm et à 7,59 ppm, implique un groupement électro-attracteur (CO) en position *ortho*. Inversement les deux protons restants (δ 6,83 et 6,63 ppm) sont blindés par deux substituants électro-donneurs de type OR. Ces deux noyaux aromatiques correspondent respectivement au noyau A (singulets à δ 7,59 et δ 6,69 ppm) et au noyau D (doublets à δ 8,34 et δ 6,83 ppm) présents dans la roténone. Le noyau D est substitué de manière comparable à celui de la roténone avec cependant la transformation du carbonyle endocyclique (δ 189,0 ppm) en fonction acide carboxylique (δ 168,4 ppm) entraînant l'ouverture du cycle C et conduisant à une structure partielle du type acide tubaïque 2-substitué. A l'inverse, le noyau A est toujours 1,2,3-trioxygéné par un méthylène oxy (δ 71,6 ppm à la place de δ 66,3 ppm pour la roténone) et deux méthoxy (δ 56,5 ppm et δ 56,3 ppm comparables à ceux de la roténone). En outre, la présence d'un singulet déblindé (δ 7,59 ppm au lieu de δ 6,77 ppm pour la roténone) implique un carbonyle supplémentaire en position *ortho* (δ 188,2 ppm à la place de δ 44,6 ppm pour la roténone). Ce noyau est donc inclus avec l'enchaînement $-\text{CH}_2-\text{CH}<$ et le carbonyle, dans une structure partielle chromon-3-yle. En conséquence, le composé **L15** est identifié à l'acide 4-(6,7-diméthoxy-2,3-chromon-3-oxy) tubaïque conforme à la formule brute $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_8$ précisée par la mesure haute résolution en ES de MH^+ (obs. 427,1404 ; calc. 427,1393). Cette structure est confirmée par les spectres de corrélation homonucléaire et hétéronucléaire. Le type de substitution des deux noyaux aromatiques est confirmé

Tableau 33 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) des *seco*-roténoïdes **L15** et **L29** [δ ppm (J Hz) ; $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$].

L15				L29			
H/C	^{13}C	^1H	HMBC	H/C	^{13}C	^1H	HMBC
2	87,8	5,34 <i>t él.</i> (8,6)	C-9	2	77,3		
3	33,2	3,65 <i>dd</i> (9,8 ; 15,9) 3,19 <i>dd él.</i> (7,6 ; 15,9)	C-2, C-3a, C-4, C-7a, C-8	3	130,6	5,54 <i>d</i> (10,0)	C-2, C-4a
3a	122,3			4	118,1	6,84 <i>d él.</i> (10,0)	C-2, C-8a
4	156,8			4a	117,5		
5	118,1			5	155,6		
6	135,2	8,34 <i>d</i> (8,4)	C-4, C-7a, C-11	6	118,2		
7	106,0	6,83 <i>d</i> (8,4)	C-3a, C-5, C-7a	7	134,1	8,27 <i>d</i> (8,6)	C-5, C-8a, C-11
7a	165,3			8	113,2	6,87 <i>d él.</i> (8,6)	C-4a, C-6, C-8a
8	144,5			8a	158,3		
9	112,7	5,07 <i>s él.</i> 4,84 <i>s él.</i>	C-2, C-10	9	28,2	1,41 <i>s</i>	C-2, C-3
10	17,3	1,64 <i>s él.</i>	C-2, C-8, C-9	10	28,1	1,35 <i>s</i>	C-2, C-3
11	168,4			11	168,3		
2'	71,6	5,22 <i>dd</i> (6,4 ; 12,0) 5,02 <i>dd</i> (3,7 ; 12,0)	C-3', C-4', C-8'a	2'	71,7	5,31 <i>dd</i> (5,0 ; 13,4) 4,91 <i>dd</i> (5,4 ; 13,9)	C-3', C-4', C-8'a
3'	79,6	5,43 <i>dd</i> (3,8 ; 6,3)	C-4, C-2', C-4'	3'	80,4	5,33 <i>t él.</i> (5,1)	C-5, C-4', C-8'a
4'	188,2			4'	187,0		
4'a	112,8			4'a	113,0		
5'	108,0	7,59 <i>s</i>	C-4', C-6', C-7', C-8'a	5'	108,1	7,52 <i>s</i>	C-4', C-6', C-7', C-8'a
6'	146,1			6'	146,1		
7'	157,7			7'	157,7		
8'	101,2	6,69 <i>s</i>	C-4', C-4'a, C-6', C-7', C-8'a	8'	101,2	6,71 <i>s</i>	C-4'a, C-6', C-7', C-8'a
8'a	159,0			8'a	158,9		
6'-OCH ₃	56,3	3,70 <i>s</i>	C-6'	6'-OCH ₃	56,3	3,69 <i>s</i>	C-6'
7'-OCH ₃	56,5	3,75 <i>s</i>	C-7'	7'-OCH ₃	56,5	3,78 <i>s</i>	C-7'
11-OH		n.d.		11-OH		n.d.	

n.d. : non détecté.



par l'analyse des corrélations HMBC ; le proton à δ 8,34 ppm (H-6) présente trois corrélations en 3J avec C-4 (δ 156,8 ppm), C-7a (δ 165,3 ppm) et C-11 (δ 168,4 ppm), une fonction acide carboxylique α,β -conjuguée dont le proton est invisible dans C_5D_5N mais qui est observé à δ 10,81 ppm dans $CDCl_3$. Sur le même noyau, le proton à δ 6,83 ppm (H-7) ne montre que deux corrélations en 3J avec deux carbones quaternaires C-substitués à δ 118,1 (C-5) et δ 122,3 (C-3a). La cyclisation de la chaîne prénylée (cycle E) peut se produire en *ortho* ou en *para* de la fonction acide. Malgré l'absence de corrélation de H-2 (δ 5,34 ppm) avec C-7a (δ 165,3 ppm) et C-4 (δ 156,8 ppm), la cyclisation est positionnée en C-7a parce que C-4 montre une corrélation avec le méthine oxy (δ 5,43 ppm) appartenant au substituant chromonyle.

Ce type de structure n'a pas d'analogue dans les dérivés naturels d'isoflavonoïdes dans la mesure où il présente une fonction acide carboxylique libre et représente la version totalement oxydée de la liaison C(12)-C(12a) de la roténone entraînant l'ouverture du cycle C sans altération ni de la configuration 2*R* ni probablement celle de 3'*R* comme indiqué par le pouvoir rotatoire lévogyre de ce composé et de ceux de la roténone et de l'acide tubaïque [OBARA *et al.*, 1976]. La preuve décisive, relative à la stéréochimie en 3' est fournie par le spectre CD, similaire à ceux de structures voisines tel que les (3*R*)-isoflavanones [SLADE *et al.*, 2005] et plus particulièrement le (3*R*)-sophorol lévogyre [PAIVA *et al.*, 1994]. Ce spectre est constitué dans notre cas d'une bande négative à λ ca. 310 nm (transition $\pi \rightarrow \pi^*$ aromatique) et d'une autre, positive à λ ca. 345 nm (transition $n \rightarrow \pi^*$ du carbonyle). En conséquence, la configuration *R* est attribuée à C-3' conformément au remplacement du 3-aryle de l'isoflavanone par le substituant 3-oxyphényle dans ce composé naturel nouveau pour lequel nous proposons la dénomination (-)-acide rotoïque [LAWSON *et al.*, 2006].

Avec un comportement chromatographique légèrement plus polaire, un pouvoir rotatoire également lévogyre ainsi qu'une formule brute identique, le composé **L29** est caractérisé par un spectre UV-visible légèrement différent à $\lambda_{\max}(\text{MeOH})$: 349 ép., 329 et 276 nm traduisant une conjugaison supplémentaire ou modifiée par rapport au composé précédent. L'analyse comparative des spectres de RMN (Tableau 33) montre que la différence majeure entre ces deux métabolites repose sur la cyclisation de la chaîne C_5H_8 en 2,2-diméthylpyrane pour **L29** en remplacement du 2-isopropényl-2,3-dihydrofurane pour **L15**. Cet hétérocycle est caractérisé en RMN 1H par quatre signaux divisés en deux singulets à δ 1,41 ppm et δ 1,35 ppm respectivement pour deux méthyles et deux doublets à δ 6,84 ppm et δ 5,54 ppm relatifs à deux H *cis*-éthyléniques ($J=10,0$ Hz). Le spectre ^{13}C confirme cette structure partielle en identifiant les carbones correspondants aux protons ci-dessus à δ 28,2 ppm et δ 28,1 ppm pour les méthyles et δ 130,6 ppm ainsi que δ 118,1 ppm pour les

méthines. Finalement, le cinquième noyau restant est *O*-lié et comme attendu, enregistré à δ 77,3 ppm. En outre, le proton carboxylique invisible dans C_5D_5N est légèrement déblindé à δ 10,95 ppm dans $CDCl_3$ par rapport à celui de son homologue ci-dessus. Sur la base de ces résultats, ce composé nouveau est identifié à l'acide 5-(6,7-diméthoxy-2,3-dihydrochromon-3-oxy) β -tubaique. Dénommé (-)-acide déguoïque, ce métabolite présente un spectre CD similaire à celui de son isomère constitutionnel précédent avec un effet Cotton négatif à λ ca. 315 nm également et un effet Cotton positif à λ ca. 350 nm en accord avec la configuration 3'*R* [LAWSON *et al.*, 2006].

La coexistence de ces deux métabolites considérés comme *seco*-roténoïdes chez *L. nicou* doit être reliée à d'autres phytoconstituants rares, également générés par ouverture du cycle C de la roténone ou de la déguéline dans deux autres membres des Fabacées. Cependant, si les deux nouveaux métabolites identifiés ici, précurseurs probables des acides tubaiques libres chez *L. nicou*, semblent être très proches des dérivés spiro de *Tephrosia candida* par coupure oxydative de la liaison C(12)-C(12a) [ANDREI *et al.*, 2002], ils sont par contre clairement différents d'un métabolite unique résultant de l'ouverture du cycle C par coupure réductrice de la liaison C(6a)-O(7) de la déguéline chez *Derris trifoliata* [YENESEW *et al.*, 2005].

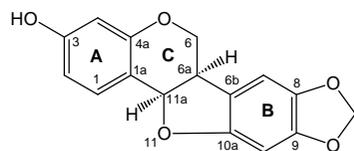
2.6. Ptérocarpanes

Ce dernier groupe d'isoflavonoïdes isolés de *L. nicou* rassemble les deux métabolites L32 et L33 issus de la fraction F5 (305 mg) de la colonne diol, fraction de composition complexe (hydroxyroténoïdes, époxyroténoïdes, oxoroténoïdes et *homo*-roténoïdes). Il se distingue de tous les groupes précédents par l'absence simultanée de substitution prénylée et de fonction carbonyle ainsi que par le remplacement des deux méthoxyles permanents par un groupement méthylène dioxy. Il s'en suit un squelette en C_{15} 4-oxy-isoflavane cyclisé en ptérocarpane pour L32 et ptérocarpène pour L33. En RMN (Tableaux 34 et 35) la modification du noyau A (noyau D des roténoïdes) de L32 est précisée par le proton supplémentaire H-4 (δ 6,42 ppm) conformément à l'absence de prénylation tandis que la conservation de la 1,2,4,5-tétrastitution du noyau C (noyau A des roténoïdes) est signalée par la présence permanente et simultanée des deux singulets à δ 6,72 et 6,43 ppm pour H-7 et H-10 respectivement et des trois C quaternaires *O*-liés C-8 (δ 141,7 ppm), C-9 (δ 148,1 ppm) et C-10a (δ 154,2 ppm). Les deux doublets ($J=1,0$ Hz) à δ 5,92 et 5,89 ppm correspondent aux protons d'un méthylène dioxy (δ 101,3 ppm) qui vient occuper la place des deux méthoxyles habituels. La disparition du cycle B des roténoïdes libère la position 6 (6a des roténoïdes) qui se transforme en méthylène oxy (δ 66,5 ppm ; δ 4,22 et δ 3,64 ppm) dont les protons géminés sont couplés avec celui d'un méthine ($J_{trans}=10,9$ Hz et $J_{cis}=5,0$ Hz) à δ 3,47 ppm (H-6a), lui-même couplé ($J=6,8$ Hz) au

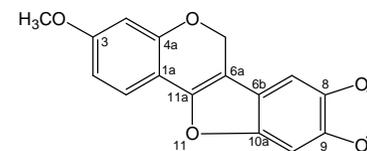
Tableau 34 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) des composés isoflavaniques **L32** et **L33** [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

L32				L33			
H/C	^{13}C	^1H	HMBC	H/C	^{13}C	^1H	HMBC
1a	112,7			1a	109,9		
1	132,1	7,36 <i>d él.</i> (8,2)	C-3, C-4a, C-11a	1	120,9	7,37 <i>d</i> (8,4)	C-3, C-4a, C-11a
2	109,8	6,55 <i>d él.</i> (8,2)	C-1a	2	107,2	6,53 <i>dd</i> (2,3 ; 8,4)	C-1a, C-4
3	157,0			3	160,8		
4	103,7	6,42 <i>s él.</i>	C-1a, C-2	4	102,9	6,50 <i>d</i> (2,3)	C-1a, C-2, C-3, C-4a
4a	156,6			4a	154,9		
6	66,5	4,22 <i>dd</i> (5,0 ; 10,9) 3,64 <i>t</i> (10,9)	C-4a, C-6a, C-11a C-4a, C-6a, C-6b, C-11a	6	65,5	5,52 <i>s</i>	C-1a, C-4a, C-6a, C-6b, C-11a
6a	40,2	3,47 <i>ddd</i> (5,0 ; 6,8 ; 10,9)	C-6, C-6b, C-10a	6a	119,2		
6b	117,9			6b	106,4		
7	104,7	6,72 <i>s</i>	C-6a, C-8, C-9, C-10, C-10a	7	94,1	7,02 <i>s</i>	C-6a, C-8, C-9, C-10a
8	141,7			8	145,6		
9	148,1			9	144,7		
10	93,8	6,43 <i>s</i>	C-6b, C-7, C-8, C-9, C-10a	10	97,3	6,73 <i>s</i>	C-6b, C-8, C-9, C-10a
10a	154,2			10a	150,5		
11a	78,5	5,47 <i>d él.</i> (6,8)	C-1, C-1a, C-4a, C-6	11a	147,7		
O_2CH_2	101,3	5,92 <i>d</i> (1,0) 5,89 <i>d</i> (1,0)	C-8, C-9 C-8, C-9	O_2CH_2	101,4	5,99 <i>s</i>	C-8, C-9
3-OH	n.d.			3-OCH ₃	55,4	3,80 <i>s</i>	C-3

n.d. : non détecté.



L32



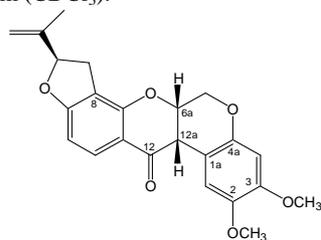
L33

seul méthine oxy à δ 5,47 ppm (H-11a) et δ 78,5 ppm (C-11a) résultant de la réduction du carbonyle d'origine. Le blindage net de deux C quaternaires du noyau B (ex noyau A), C-6b (ex C-1a, $\Delta\delta$ +13,1 ppm) et C-10a (ex C-4a, $\Delta\delta$ +6,8 ppm) combiné au blindage plus ou moins conséquent des positions restantes C-7 (ex C-1 ; $\Delta\delta$ -5,7 ppm), C-8 (ex C-2 ; $\Delta\delta$ -2,2 ppm), C-9 (ex C-3 ; $\Delta\delta$ -1,4 ppm) et C-10 (ex C-4 ; $\Delta\delta$ -7,1 ppm) impliquent que les deux positions déblindées sont sensibles à l'effet (-I) d'un élément attracteur correspondant ici à l'oxygène du méthine oxy ci-dessus, lequel conjugué à C-10 en *ortho* et C-8 en *para*, justifie le blindage en ordre décroissant de ces deux positions. S'il est aisé de comprendre le déblindage de C-10a par l'effet (-I) appuyé de l'oxygène dihydrofuranique substitué par un C tertiaire, il semble que le déblindage de C-6b en *ortho* soit en

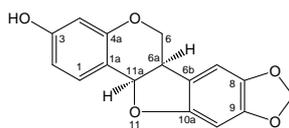
Tableau 35 : Caractérisation par RMN du squelette 4-oxy-isoflavane du ptérocarpane **L32** et du ptérocarpène **L33**^a.

L2			L32			L33	
H/C	δ ¹³ C	δ ¹ H	H/C	δ ¹³ C	δ ¹ H	δ ¹³ C	δ ¹ H
1a	104,8		6b	117,9		106,4	
1	110,4	6,77	7	104,7	6,72	94,1	7,02
2	143,9		8	141,7		145,6	
3	149,5		9	148,1		144,7	
4	100,9	6,45	10	93,8	6,43	97,3	6,73
4a	147,4		10a	154,2		150,5	
6a	72,2	4,92	6	66,5	4,22 et 3,64	65,5	5,52
8	113,0		4	103,7	6,42	102,9	6,50
12	189,0		11a	78,5	5,47	147,7	
12a	44,6	3,84	6a	40,2	3,47	119,2	
2-OCH ₃	56,3	3,77					
			8,9-O ₂ CH ₂	101,3	5,92 et 5,89	101,4	5,99
3-OCH ₃	55,9	3,81					

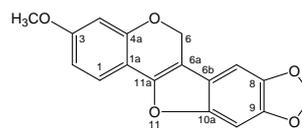
^a δ ppm (CDCl₃).



L2
roténone



L32
maackiaïne



L33
flémichapparine-B

contradiction avec le blindage attendu pour lui. En réalité, le comportement de C-6b est cohérent parce qu'il est substitué par C-6a, un C tertiaire d'effet (+I) puissant qui va simultanément s'opposer à l'effet (+M) de O-11 et délocaliser le doublet π vers C-7, la position non substituée. Dans ces conditions, O-11 amorce la conjugaison avec le noyau, du côté opposé à C-6b par C-10. Comparativement aux roténoïdes, C-6b (ex C-1a) semble être dans la même situation de substitution par un C tertiaire. En réalité ce n'est pas exactement le cas puisque au-delà de C-6a, se trouve C-11a, un C sp³ d'effet (+I) synergique à l'effet (-I) du noyau aromatique alors que dans les roténoïdes, le carbonyle (C-12) exerce des effets (-I) et (-M) compétitifs à celui du même noyau

aromatique. En conséquence le composé **L32** est identifié au 3-hydroxy-8,9-méthylène-dioxytérocarpène connu sous le nom de (-)-maackiaïne [SUGINOME, 1962], reporté une seule fois auparavant dans le genre *Lonchocarpus* [BLATT *et al.*, 2002].

De caractère plus lipophile, le composé **L33** ne présente que deux différences structurales avec le composé précédent (Tableaux 34 et 35). Un groupement méthoxyle (δ 55,4 ppm ; δ 3,80 ppm) remplace la fonction phénolique en position 3 et une liaison π prend place en 6a, transformant les deux carbones tertiaires correspondants de **L32** en C quaternaires C-6a (δ 119,2 ppm) et C-11a (δ 147,7 ppm). Ces deux modifications sont à l'origine de variations appréciables ($-11,5 \text{ ppm} < \Delta\delta < +3,9 \text{ ppm}$) sur toutes les positions carbonées à l'exception de C-4 (variation non significative), C-6 ($\Delta\delta -1,0 \text{ ppm}$). Trois positions C-3 ($\Delta\delta +3,8 \text{ ppm}$), C-8 ($\Delta\delta +3,9 \text{ ppm}$) et C-10 ($\Delta\delta +3,5 \text{ ppm}$) sont, comme attendu, déblindées ; la position 3 par CH₃O qui exerce un effet (-I) supérieur à celui de l'hydroxyle antérieur et les positions 8 et 10 par la réduction de l'effet (+M) de l'oxygène conjugué O-11 inclus à présent dans une conjugaison compétitive à travers 11a. A l'inverse, sept positions sont blindées ; elles se répartissent dans deux groupes qui se distinguent par l'amplitude de la variation : $-3,7 \text{ ppm} < \Delta\delta < -2,6 \text{ ppm}$ pour C-2, C-9 et C-10a et $-11,2 \text{ ppm} < \Delta\delta < -7,1 \text{ ppm}$ pour C-6b, C-7, C-1 et C-1a ; C-2 ($\Delta\delta -2,6 \text{ ppm}$) est soumis à l'effet (+M) renforcé de CH₃O alors que C-9 ($\Delta\delta -3,4 \text{ ppm}$) et C-10a ($\Delta\delta -3,7 \text{ ppm}$) sont tous les deux soumis à l'effet (+M) de O-11 à travers la position 11a. Le groupe le plus blindé est constitué de C-1 ($\Delta\delta -11,2 \text{ ppm}$), C-1a ($\Delta\delta -7,1 \text{ ppm}$), C-6b ($\Delta\delta -11,5 \text{ ppm}$) et C-7 ($\Delta\delta -10,6 \text{ ppm}$) ; C-1a est blindé par le renforcement de la conjugaison de O-5 avec C-1a pour se poursuivre vers C-6a et le noyau B pour affecter également C-7. La position 6b est quant à elle blindée simultanément par l'annulation de l'effet (+I) du substituant alkylé antérieur qui délocalisait le doublet π correspondant et s'opposait aux deux effets (+M) des oxygènes conjugués O-11 et O-9 et par l'activation de l'effet (+M) de O-9. Le comportement de C-1 semble a priori incompréhensible ; il devrait se blinder très légèrement du fait de la compensation des effets (-I) renforcé de CH₃O par rapport à OH, (-I) réduit de O-5 dont l'effet (+M) est accentué à présent et l'effet (-I) réduit de O-11 inclus dans une conjugaison supplémentaire. En réalité C-1 est coplanaire avec le benzofurane voisin donc soumis à son encombrement, à proximité de l'oxygène hétérocyclique. De formule brute C₁₇H₁₂O₅ (M⁺ m/z 296 ; obs. 296,0679000 ; calc. 296,0684737), le composé **L33**, est de ce fait, identifié au 3-méthoxy-8,9-méthylène-dioxytérocarpène. Dénommé flémichapparine-B [ADITYACHAUDHURY et GUPTA, 1973], il est signalé également une seule fois dans le genre *Lonchocarpus* [GOMES *et al.*, 1981].

3. DIVERS

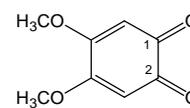
Une quinone et un cinnamate d'acide gras sont regroupés ici.

3.1. Diméthoxybenzoquinone

Issu de la fraction F6 (340 mg) de la colonne diol regroupant la chalcone **L1**, les 13-*homo*-13-oxa-didéhydroroténoïdes **L13** et **L27** ainsi que la 12 α -hydroxyroténone **L3**, le composé **L34** est à la fois plus coloré et plus polaire que la chalcone **L1**. En RMN (Tableau 36), les spectres se limitant à quatre signaux pour le carbone et seulement deux pour le proton, impliquent la nature différente de ce produit par rapport à tous les précédents. La présence d'un méthoxyle (δ 57,1 ppm ; δ 3,90 ppm) ainsi que l'absence de toute fonction hydroxyle excluent simultanément les hypothèses ester

Tableau 36 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) du composé **L34** (δ ppm).

H/C	^{13}C (CDCl_3)	^1H (CDCl_3)	^1H (C_6D_6)
1,2	178,9		
3,6	103,0		
4,5	163,7	5,77 <i>s</i>	5,18 <i>s</i>
OCH ₃	57,1	3,90 <i>s</i>	2,74 <i>s</i>



L34

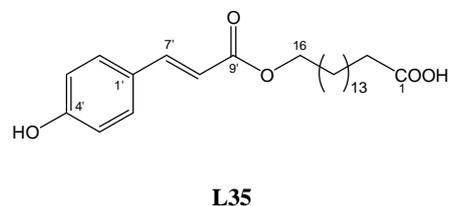
méthylique (δ OCH₃ \ll 57 ppm) et acide carboxylique conjugué peu probable pour le C quaternaire à δ 178,9 ppm qui est donc identifié à un carbonyle cétonique relativement blindé. Pour justifier le blindage de cette fonction, le groupement méthoxyle doit occuper une position conjuguée (δ 163,7 ppm) permettant de placer le carbone tertiaire relativement blindé (δ 103,0 ppm ; δ 5,77 ppm) entre les deux groupements précédents. L'enchaînement β méthoxypropénone 1,3 disubstitué ainsi défini doit être substitué par son symétrique donc inclus dans un cycle quinonique. Le résultat doit correspondre à l'une des trois hypothèses 2,3-diméthoxy-*p*-quinone, 2,5-diméthoxy-*p*-quinone ou 4,5-diméthoxy-*o*-quinone. Le blindage remarquable des méthoxyles ($\Delta\delta$ -1,16 ppm) dans C_6D_6 indiquant que les méthoxyles ne sont pas situés entre deux substituants, puisque accessibles au cône d'anisotropie du solvant, permet d'éliminer l'hypothèse 2,3-diméthoxy-*p*-quinone. En conséquence le composé **L34** doit correspondre à la 4,5-diméthoxy-*o*-quinone ou à la 2,5-diméthoxy-*p*-quinone. Le blindage net du carbone tertiaire (δ 103,0 ppm ; δ 5,77 ppm) est conforme à une position non conjuguée à un groupement d'effet (-M). En conséquence, nous retenons à l'heure actuelle l'hypothèse 4,5-diméthoxy-*o*-quinone ; ce choix est en accord avec le déblindage clair du méthoxyle (δ 57,1 ppm ; δ 3,90 ppm) situé sur une position déblindée (δ 163,7 ppm) parce que sous l'effet (-I) de OCH₃ voisin et β -conjuguée au carbonyle (δ 178,9 ppm) relativement blindé par le méthoxyle conjugué et par la répulsion exercée par son symétrique en α .

3.2. Acide coumaroylpalmitique

Ce composé est isolé de la fraction F10 (251 mg) qui regroupe les dérivés dihydroxylés de roténoïdes. Les spectres de RMN (Tableau 37) montrent deux structures partielles distinctes, une partie (*E*)-cinnamique et une partie aliphatique à longue chaîne linéaire. La structure cinnamique est immédiatement identifiée en RMN ^1H à un reste (*E*)-*p*-coumaroyle sur la base d'un noyau aromatique *p*-disubstitué caractérisé par deux doublets ($J=7,6$ Hz) à δ 7,41 ppm (H-2',6') et δ 6,84 ppm (H-3',5') ainsi que par deux autres ($J=15,9$ Hz) à δ 7,62 ppm (H-7') et δ 6,25 ppm (H-8'). Ces résultats sont en accord avec ceux de la RMN ^{13}C qui précisent, outre les C porteurs des H précédents (aromatiques à δ 129,9 ppm et δ 115,9 ppm ; éthyléniques à δ 144,5 ppm et δ 115,5 ppm), trois C quaternaires à δ 167,8 ppm (C-9'), δ 158,0 ppm (C-4') et δ 127,0 ppm (C-1'). La partie aliphatique est une chaîne linéaire en C_{16} constituée exclusivement de carbones pairs, soit 15 CH_2 et une fonction acide carboxylique (C-1 à δ 178,5 ppm) dont l'hydroxyle est invisible en RMN ^1H .

Tableau 37 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) du composé **L35** [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

H/C	^{13}C	^1H
1	178,5	
2	33,8	2,34 <i>t él.</i> (7,2)
3	26,0	1,63 <i>m</i>
4-14	29,4 (x4) 29,5 (x2) 29,4 (x2) 29,2 (x2) 29,0	1,29 <i>m</i>
15	28,7	1,67 <i>m</i>
16	64,7	4,20 <i>t</i> (6,6)
1'	127,0	
2',6'	129,9	7,41 <i>d él.</i> (7,6)
3',5'	115,9	6,84 <i>d</i> (7,6)
4'	158,0	
7'	144,5	7,62 <i>d</i> (15,9)
8'	115,5	6,25 <i>d</i> (15,9)
9'	167,8	
4'-OH		6,55 <i>s</i>



En plus du méthylène (CH_2 -2 à δ 33,8 ppm ; δ 2,34 ppm, *t*, $J=7,2$ Hz) en α du carboxyle, la chaîne renferme un méthylène encore plus déblindé (δ 64,7 ppm ; δ 4,20 ppm, *t*, $J=7,2$ Hz) en accord avec une *O*-liaison à l'extrémité distale de la fonction acide. En conséquence, l'enchaînement aliphatique est celui de l'acide 16-(*E*)-*p*-coumaroyloxypalmitique ou du 16-hydroxypalmitate de (*E*)-*p*-coumaroyle. La première hypothèse est retenue en raison des déplacements chimiques cinnamiques à δ 167,8 ppm (C-9') et δ 158,0 ppm (C-4') qui indiquent clairement, conformément à l'acide *p*-coumarique, que la fonction HO-4' est libre (δ C-4' variation non significative) et que le carbonyle

est inclus dans une fonction ester ($\Delta\delta$ -1,3 ppm). Cette conclusion est confirmée par les déplacements chimiques ^{13}C et ^1H de CH-3',5' (δ 115,9 ppm et δ 6,84 ppm) qui ne subissent aucune variation. En conclusion, le composé nouveau **L35** répond à la structure acide 16-(*E*)-*p*-coumaroyloxypalmitique, en accord avec la formule brute $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_5$ déduite de MNa^+ m/z 441 en ES. Dans la famille des Fabacées, seul le genre *Erythrina* [WANDJI *et al.*, 1990] (tribu des Phaseolées) est décrit renfermer deux alkyles *p*-coumarates en C_{26} et C_{30} . Généralement, le groupe des cinnamates d'alcools gras linéaires en C_{15} à C_{30} , se présente le plus souvent sous forme *p*-coumarate et rarement férulate d'alkyles linéaires, distribués à travers moins de dix familles botaniques dont principalement les Abiétacées [SHIBUYA *et al.*, 1978], Apocynacées [DOBHAL *et al.*, 1999], Astéracées [MAHMOOD *et al.*, 2003], Composées [AL-HAZIMI *et al.*, 1992 ; HU et FENG, 2000], Convolvulacées [TORI *et al.*, 2000], Musacées [del RIO *et al.*, 2004], et Rosacées [LIN *et al.*, 1999]. Le cinnamate décrit ici est le premier membre de ce groupe à porter une fonction alcanonique.

4. TRACES

Outre les composés précédents, l'extrait benzénique des racines de *L. nicou* a permis de recueillir les trois composés **L36-L38** à l'état de traces, des métabolites dont l'analyse incomplète est en cours. A l'heure actuelle, les structures retenues sont celles de dérivés monohydroxylés de la roténone pour **L36** et **L37** et celle d'une diméthylpyranoisoflavone pour **L38**.

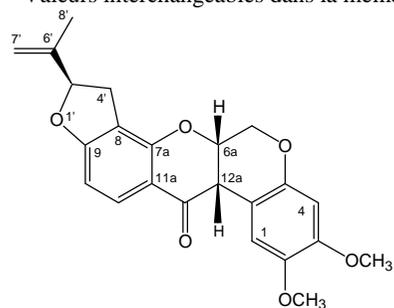
4.1. Hydroxyroténoïdes

Les deux composés **L36** et **L37** dérivent de la roténone comme le montrent leurs spectres de RMN (Tableau 38). Ils sont, comme attendu, de polarité très différente justifiée par la présence d'un hydroxyle phénolique chélaté dans **L37** (δ 12,43 ppm) et celle d'un hydroxyle alcoolique dans **L36** (δ 5,43 ppm). Comparativement aux spectres de RMN de la roténone, ces deux composés sont identifiés respectivement à la 6 β -hydroxyroténone (**L36**) et à la 11-hydroxyroténone ou sumatrol (**L37**). Ces résultats sont confirmés par les données obtenues pour leurs homologues respectifs **L20** et **L21** dérivant de la déguéline (Tableau 16). Contrairement au sumatrol (**L37**) répertorié depuis fort longtemps dans plusieurs genres des Fabacées (*Derris*, *Indigofera*, *Millettia*, *Piscidia* et *Tephrosia*) [ROBERTSON et RUSBY, 1937 ; HARPER, 1940 ; FALSHAW *et al.*, 1966 ; VENKATARATNAM *et al.*, 1987 ; RAO *et al.*, 1992] mais tout récemment dans le genre *Lonchocarpus* [BLATT *et al.*, 2002], le composé **L36** dont l'analyse doit être complétée par spectrométrie de masse est actuellement identifié dans *Tephrosia pentaphylla* [DAGNE *et al.*, 1989].

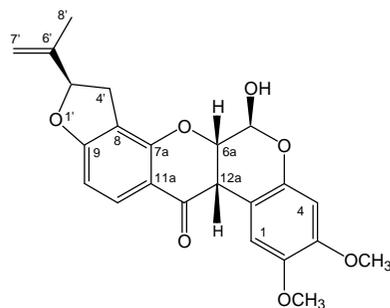
Tableau 38 : RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) des roténoïdes **L2**, **L36** et **L37** [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

L2			L36			L37	
H/C	^{13}C	^1H	H/C	^{13}C	^1H	H	^1H
1a	104,8		1a	105,0		1a	
1	110,4	6,77 <i>s él.</i>	1	110,6	6,78 <i>s él.</i>	1	6,87 <i>s él.</i>
2	143,9		2	144,3		2	
3	149,5		3	149,4		3	
4	100,9	6,45 <i>s</i>	4	100,9	6,48 <i>s</i>	4	6,46 <i>s</i>
4a	147,4		4a	144,3		4a	
6 α	66,3	4,61 <i>dd</i> (3,1 ; 12,0)	6 α	92,3	5,78 <i>d</i> (2,6)	6 α	4,61 <i>dd</i> (3,1 ; 12,1)
6 β		4,18 <i>d él.</i> (12,0)				6 β	4,17 <i>d él.</i> (12,1)
6a	72,2	4,92 <i>m</i>	6a	74,7	4,83 <i>dd</i> (2,6 ; 3,7)	6a	4,93 <i>t él.</i> (3,1)
7a	158,0		7a	158,4		7a	
8	113,0		8	112,9 ^a		8	
9	167,4		9	167,3		9	
10	104,9	6,50 <i>d</i> (8,6)	10	104,9	6,46 <i>d</i> (8,5)	10	6,01 <i>d</i> (8,5)
11	130,0	7,84 <i>d</i> (8,6)	11	130,0	7,85 <i>d</i> (8,5)	11	
11a	113,4		11a	113,1 ^a		11a	
12	189,0		12	188,6		12	
12a	44,6	3,84 <i>d él.</i> (4,0)	12a	40,6	3,94 <i>d él.</i> (3,7)	12a	3,85 <i>d él.</i> (4,1)
4'	31,3	3,32 <i>dd</i> (9,8 ; 15,8)	4'	31,3	3,33 <i>dd</i> (9,8 ; 15,8)	4'	3,25 <i>dd</i> (9,8 ; 15,8)
		2,95 <i>dd</i> (8,2 ; 15,8)			2,95 <i>dd</i> (8,2 ; 15,8)		2,92 <i>dd</i> (8,2 ; 15,8)
5'	87,9	5,24 <i>t él.</i> (9,0)	5'	87,9	5,25 <i>t él.</i> (9,0)	5'	5,21 <i>t él.</i> (7,0)
6'	143,0		6'	143,0		6'	
7'	112,6	5,07 <i>s él.</i>	7'	112,6	5,07 <i>s él.</i>	7'	5,05 <i>s él.</i>
		4,93 <i>s él.</i>			4,93 <i>s él.</i>		4,95 <i>s él.</i>
8'	17,2	1,77 <i>s él.</i>	8'	17,1	1,76 <i>s él.</i>	8'	1,74 <i>s él.</i>
2-OCH ₃	56,3	3,77 <i>s</i>	2-OCH ₃	56,3	3,77 <i>s</i>	2-OCH ₃	3,79 <i>s</i>
3-OCH ₃	55,9	3,81 <i>s</i>	3-OCH ₃	55,9	3,81 <i>s</i>	3-OCH ₃	3,82 <i>s</i>
			6-OH		5,43	11-OH	12,43 <i>s él.</i>

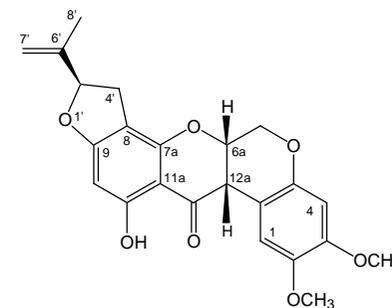
^a Valeurs interchangeables dans la même colonne.



L2



L36



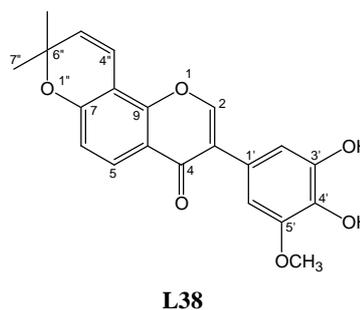
L37

4.2. Diméthylpyranoisoflavone

Ce composé est rencontré à l'état de traces en compagnie des métabolites dihydroxylés de roténoïdes et de l'acide *p*-coumaroylpalmitique. Le spectre de RMN ^1H (Tableau 39) indique pour cette molécule le noyau aromatique 1,2,3,4 tétrasubstitué permanent, dans cette espèce par les deux doublets ($J=8,7$ Hz) à δ 6,84 ppm et δ 8,19 ppm ; le proton le plus déblindé est situé en *ortho* du carbonyle habituel et le proton le plus blindé se trouve par contre en *ortho* et en *para* d'oxygènes hétérocycliques. Les doublets ($J=9,8$ Hz) à δ 6,33 ppm (1H) et δ 5,64 ppm (1H) combinés au singulet à δ 1,49 ppm (6H) permettent d'identifier un noyau diméthylpyrane dans le voisinage du

Tableau 39 : RMN ^1H (400 MHz) du composé L38 [δ ppm (J Hz) ; CDCl_3].

H	^1H
2	7,93 <i>s</i>
5	8,19 <i>d</i> (8,7)
6	6,84 <i>d él.</i> (8,7)
2'	6,80 <i>d</i> (1,8)
6'	7,06 <i>d</i> (1,8)
5'-OCH ₃	3,90 <i>s</i>
4''	6,33 <i>d él.</i> (9,8)
5''	5,64 <i>d</i> (9,8)
7'', 8''	1,49 <i>s</i>



proton aromatique à δ 6,84 ppm qui présente un élargissement de raies comparable à celui du proton éthylénique à δ 6,33 ppm. Le deuxième noyau aromatique est 1,3,4,5-tétrasubstitué ; il ne porte que deux protons *meta*-couplés ($J=1,8$ Hz) à δ 7,06 ppm et δ 6,80 ppm. L'existence d'un singulet très déblindé à δ 7,93 ppm, implique simultanément que ce proton est conjugué à un groupement d'effet (-M) correspondant au carbonyle ci-dessus et qu'il est situé sur un carbone *O*-lié. En conséquence ce composé doit dériver d'une diméthylpyranoisoflavone dont le noyau B doit porter le seul méthoxyle visible à δ 3,90 ppm. Pour respecter l'absence de symétrie de ce noyau, ce groupement doit être situé en *ortho* du proton à δ 7,06 ppm. Ce composé est donc identifié à la 4',5'-dihydroxy-3'-méthoxy-6'',6''-diméthylpyrano(7,8:2'',3'')isoflavone, un produit naturel nouveau qui nécessite un complément d'analyse par spectrométrie de masse et par RMN ^{13}C après isolement d'une quantité supplémentaire.

Au terme de l'analyse structurale des 38 métabolites isolés de *L. nicou*, il apparaît 18 composés déjà connus dans le genre *Lonchocarpus* contrairement à 20 composés qui y sont décrits pour la première fois et parmi lesquels, 13 molécules sont originales.

Outre les quatre roténoïdes majeurs (roténone, déguéline et leurs dérivés 12a β -hydroxylés) de distribution courante dans les Fabacées, le Tableau 40 rassemble 12 roténoïdes mineurs et deux ptérocarpanes de distribution plus limitée dans la famille et plus particulièrement dans le genre

Tableau 40 : Liste des produits mineurs connus et répertoriés dans le genre *Lonchocarpus*.

12 α -Hydroxyroténone (L3)	<i>L. subglauscens</i> résine de cubé (<i>L. utilis</i> et <i>L. urucu</i>)	Magalhaes <i>et al.</i> , 1996 Fang et Casida, 1999
12 α -Hydroxydéguéline (L17)	"	"
Acide 12 $\alpha\beta$ -hydroxyrot-2'-énonique (L31)	"	"
7'-Nor-6'-oxo-4',5'-didéhydro-12 $\alpha\beta$ -hydroxyroténone (L9)	"	"
Toxicarol (L21)	"	"
Sumatrol (L37)	<i>L. fluvialis</i> <i>L. salvadorensis</i>	Blatt <i>et al.</i> , 2002 Birch <i>et al.</i> , 1985
6a,12a-Didéhydroroténone (L10)	<i>L. longifolius</i> <i>L. urucu</i> résine de cubé (<i>L. utilis</i> et <i>L. urucu</i>)	Gomes <i>et al.</i> , 1981 Fang et Casida, 1999
6a,12a-Didéhydrodéguéline (L24)	"	"
6a,12a-Didéhydro-6-oxoroténone (L12)	"	"
6a,12a-Didéhydro-6-oxodéguéline (L26)	"	"
13-Homo-13-oxa-6a,12a-didéhydroroténone (L13)	résine de cubé (<i>L. utilis</i> et <i>L. urucu</i>)	Fang et Casida, 1997
13-Homo-13-oxa-6a,12a- didéhydrodéguéline (L27)	"	"
Maackiaïne (L32)	<i>L. fluvialis</i>	Blatt <i>et al.</i> , 2002
Flémichapparine-B (L33)	<i>L. urucu</i>	Gomes <i>et al.</i> , 1981

Lonchocarpus. Ces roténoïdes basés systématiquement sur la roténone et la déguéline et accessoirement sur l'acide rot-2'-énonique, se répartissent en six dérivés hydroxylés 12 α - (L3 et L17), 12 $\alpha\beta$ - (L9 et L31), 11- (L21 et L37), quatre dérivés 6a,12a-didéhydro- (L10, L12, L24 et L26) et deux dérivés 13-homo-13-oxa-6a,12a-didéhydro- (L13 et L27). A l'exception du sumatrol (L37), ils sont tous retrouvés dans l'extrait commercial du mélange *L. urucu* et *L. utilis* (résine de cubé). A l'inverse, un seul composé est identifié dans les quatre autres espèces : le sumatrol dans *L. fluvialis* et *L. salvadorensis*, la 12 α -hydroxyroténone (L3) dans *L. subglauscens* et la 6a,12a-dihydroxyroténone (L10) chez *L. longifolius* ainsi que chez *L. urucu* qui entre dans la composition de la résine de cubé. Outre les roténoïdes, répertoriés antérieurement dans le genre *Lonchocarpus*, *L. nicou* renferme également un ptéocarpane (L32) limité à *L. fluvialis* et un ptéocarpène (L33) signalé exclusivement dans *L. urucu*.

Parmi les vingt composés décrits ici pour la première fois dans le genre *Lonchocarpus*, sept sont rares et treize sont originaux.

Les composés rares (Tableau 41) sont représentés par six roténoïdes : l'acide rot-2'-énonique (L30), trois dérivés hydroxylés de la roténone et de la déguéline, 6 β - (L36), 6 β - (L20), 6 β ,12 $\alpha\beta$ - (L22), ainsi que deux autres 6-hydroxylés de la didéhydrodéguéline (L25) et de la didéhydroroténone (L11). Le septième composé, 4,5-diméthoxy-*o*-quinone est inconnu dans le monde végétal.

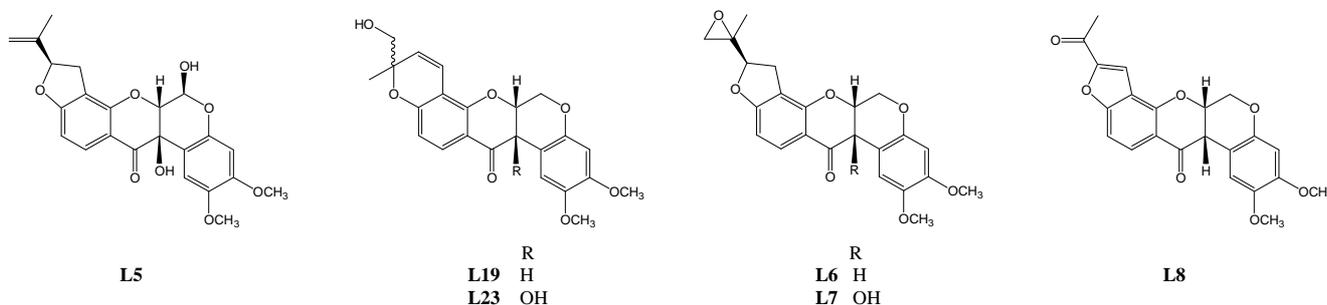
Tableau 41 : Liste des produits mineurs connus mais non répertoriés dans le genre *Lonchocarpus*.

Acide -rot-2'-énonique (L30)	<i>Millettia pachycarpa</i>	Singhal <i>et al.</i> , 1982
6 β -Hydroxydéguéline (L20)	<i>Mundulea sericea</i>	Luyengi <i>et al.</i> , 1994
6 β -Hydroxyroténone (L36)	<i>Tephrosia pentaphylla</i>	Dagne <i>et al.</i> , 1989
6 β ,12a β -Dihydroxydéguéline (L22)	<i>Mundulea sericea</i>	Luyengi <i>et al.</i> , 1994
6-Hydroxy-6a,12a-didéhydroroténone (L11)	<i>Amorpha canescens</i> <i>Tephrosia candida</i>	Piatak <i>et al.</i> , 1975 Kole <i>et al.</i> , 1992
6-Hydroxy-6a,12a-didéhydrodéguéline (L25)	<i>T. candida</i>	Peireira <i>et al.</i> , 1999

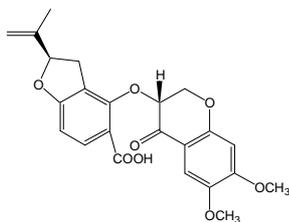
A l'exception de L11, cité dans les deux espèces *Amorpha canescens* et *Tephrosia candida*, les autres métabolites ne sont signalés qu'une seule fois dans l'une ou l'autre des Fabacées *Millettia pachycarpa*, *Mundulea sericea*, *Tephrosia candida* et *Tephrosia pentaphylla*, toutes regroupées dans la tribu des Millettieés.

Les composés originaux isolés de *L. nicou*, sont représentés par six roténoïdes, deux *seco*-roténoïdes, deux coumaronochromones, une chalcone, une isoflavone et un cinnamate d'acide gras.

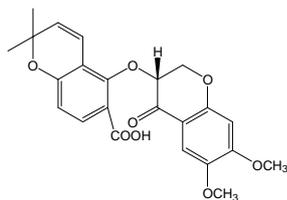
Les roténoïdes se divisent en quatre dérivés hydroxylés et deux qui ne le sont pas. Parmi les hydroxyroténoïdes, deux se rapportent à la roténone, 6 β ,12a β -diOH- (L5) ainsi que 6',7'-époxy-12a β -OH- (L7) et deux autres concernent la déguéline, 7'-OH- (L19) et 12a β ,7'-diOH- (L23). Les deux derniers 6',7'-époxy- (L6) et 6'-*nor*-6'-oxo-4',5'-didéhydro- (L8) proviennent de la roténone par oxydation de la chaîne prénylée cyclisée. Les deux dérivés hydroxylés de la déguéline ont en commun la 7'-hydroxylation, substitution à laquelle la roténone semble indifférente chez *Lonchocarpus* où elle n'est signalée que dans la 12a β ,5',7'-trihydroxydéguéline issue de l'extrait résine de cubé (*L. utilis* et *L. urucu*) [FANG et CASIDA, 1999]. Contrairement à la déguéline, la



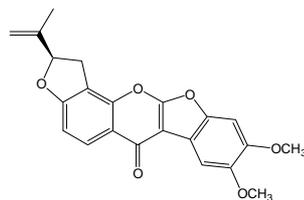
roténone est sensible à deux types d'oxydation du propényle, par époxydation ou coupure oxydative combinée à la 4',5'-déshydrogénation chez *L. nicou*. Alors que la coupure oxydative est rapportée pour la deuxième fois dans ce genre, l'époxydation de la roténone y constitue un caractère nouveau. Les *seco*-roténoïdes et les coumaronochromones sont comme les dérivés de roténoïdes, également apparentés à la roténone (L14 et L15) et à la déguéline (L28 et L29). Ils représentent deux caractères



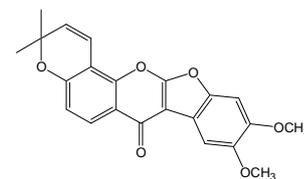
L15



L29



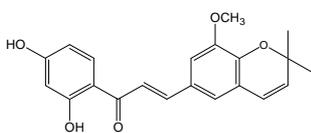
L14



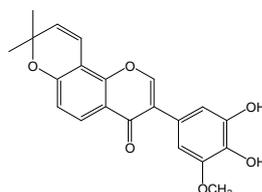
L28

nouveaux dans le genre *Lonchocarpus*. La coupure oxydative de la liaison C(12)-C(12a) serait probablement à l'origine des divers types de *seco*-roténoïdes, composés rares dans le monde végétal et la cyclisation de 2'-hydroxyisoflavones engendrerait les coumaronochromones naturelles dont le nombre total est évalué à une quarantaine. Par les deux métabolites L14 et L28, *L. nicou* partage la même capacité d'accumulation que les trois genres *Derris* [LIN et KUO, 1993], *Millettia* [RAJU *et al.*, 1981] et *Piscidia* [DELLE *et al.*, 1984, TAHARA *et al.*, 1993] des Millettieés auxquelles est également rattachée cette espèce. Parallèlement, les *seco*-roténoïdes L15 et L29 semblent biogénétiquement plus proches des trois dérivés oxaspiro-lactonique et/ou cétonique de *Tephrosia candida* [ANDREI *et al.*, 2002] que de la chromanylphénone de *Derris trifoliata* [YENESEW *et al.*, 2005].

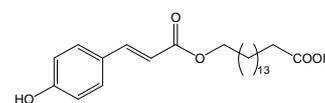
La chalcone L1 et l'isoflavone L38, deux pyranopolyphénoles ainsi que l'ester L35 sont les représentants uniques de leurs classes respectives dans cette espèce. Malgré la présence systématique de chalcones dans les Millettieés [GUPTA *et al.*, 1977 ; ISLAM *et al.*, 1980 ; LIN *et al.*, 1991 ; LIN *et al.*, 1992, ANDREI *et al.*, 2000] et plus particulièrement dans le genre *Lonchocarpus* [GONCALVES *et al.*, 1975 ; DELLE *et al.*, 1978 ; WATERMAN et MAHMOUD, 1985 ; El SAYED *et al.*, 1997 ; CUNHA *et al.*, 2003], le métabolite L1 est le premier représentant de ce type chez *L. nicou*. Il se distingue, par la localisation de la prénylation sur le noyau B, de toutes les chalcones prénylées sur le noyau A du genre *Lonchocarpus*. Le composé L38 est la



L1



L38



L35

seconde isoflavone décrite dans cette espèce [KAOUADJI *et al.*, 1986]. Appartenant à une classe peu représentée dans le genre, elle est caractérisée par la 3',4',5'-trioxygénation inconnue jusqu'à présent chez *Lonchocarpus*. Le cinnamate L35 enfin, correspond à un nouveau type de métabolite accumulé dans cette espèce et signalé pour la première fois dans la tribu des Millettieés. Par rapport à ses homologues décrits dans moins de dix familles botaniques [SHIBUYA *et al.*, 1978 ; WANDJI *et al.*, 1990 ; AL-HAZIMI *et al.*, 1992 ; DOBHAL *et al.*, 1999 ; LIN *et al.*, 1999 ;

TORI *et al.*, 2000 ; MAHMOOD *et al.*, 2003 ; del RIO *et al.*, 2004], il est le seul à présenter une fonction alcanoloïque libre.

Une mention particulière concerne la 4,5-diméthoxy-1,2-benzoquinone, jamais décrite en tant que phytoconstituant contrairement à la 2,5-diméthoxy-1,4-benzoquinone habituelle des Basidiomycètes intervenant dans la décomposition du bois comme *Gloeophyllum trabeum* [JENSEN *et al.*, 2001] et *Pleurotus ostreatus* [AKHMEDOVA, 1996], rapportée comme phytoalexine produite par une culture cellulaire de racine de *Panax ginseng* élicitée aussi bien par *Botrytis cinerea* que par une levure [KIM *et al.*, 2001].

C. ESSAIS BIOLOGIQUES

Avant d'aborder les essais biologiques réalisés sur les molécules majoritaires de *L. nicou*, il nous paraît indispensable de faire un rappel sur l'activité biologique des roténoïdes cités dans la littérature.

I. RAPPEL SUR L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DES ROTENOÏDES

Tout d'abord les roténoïdes sont connus essentiellement pour leur activité insecticide. Parmi les roténoïdes naturels, la roténone (constituant majoritaire des racines de diverses Fabaceae tropicales appartenant aux genres *Derris*, *Lonchocarpus*, *Millettia*, *Mundulea*, *Tephrosia* etc.) s'avère être la plus active et la plus étudiée. Elle est très toxique et possède une activité piscicide et larvicide dues à l'inhibition de l'oxydation du NADH : ubiquinone oxydoréductase (complexe I) impliquée dans le processus de transport d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie [RAVANEL *et al.*, 1984 ; UENO *et al.*, 1994 ; FANG et CASIDA, 1998]. En 1993, des propriétés antitumorales ont été reconnues pour cette molécule car elle empêche la division cellulaire en inhibant la formation des microtubules par la tubuline de manière similaire à la colchicine [LI *et al.*, 1993]. Cependant le mécanisme de l'inhibition de la division cellulaire n'est pas encore clairement défini mais il semblerait d'ores et déjà que celui-ci n'a aucun lien avec l'inhibition de l'oxydation du NADH [CUNNINGHAM *et al.*, 1995].

Il a été démontré tout récemment que la roténone provoque chez les rats un effet similaire à celui de la maladie de Parkinson [GREENAMYRE *et al.*, 2001 ; WANG *et al.*, 2002] et que cette molécule est capable d'induire un processus apoptotique via une augmentation de la production au niveau des mitochondries, des radicaux libres oxygénés hautement réactifs [LI *et al.*, 2003 ; SIPOS *et al.*, 2003]. Cette induction de l'apoptose par la roténone est considérée comme favorisant son effet anticancéreux et comme étant une des principales causes de la maladie de Parkinson [TADA-OIKAWA *et al.*, 2003]. Cette dernière propriété montre l'utilité de la roténone en tant qu'outil de

production du modèle animal de la maladie de Parkinson qui peut donc être utilisée comme une neurotoxine afin de comprendre les mécanismes de dégénération des neurones [ORTH *et al.*, 2003]. Il faut cependant noter que le mécanisme d'induction de l'apoptose par lequel la roténone entraîne la mort des cellules neuronales n'est pas encore bien défini.

Parallèlement à la roténone qui a fait l'objet de nombreuses études, on trouve en seconde position du classement des roténoïdes les plus connus, son isomère constitutionnel, la déguéline. Cette dernière induit, comme la roténone, un processus apoptotique surtout au niveau des cellules cancéreuses de la peau par inhibition du mécanisme bioénergétique mitochondrial [HAIL et LOTAN, 2004]. Elle réduit considérablement le risque d'induction chimique du cancer de la peau chez la souris et celui des tumeurs mammaires chez le rat [UDEANI *et al.*, 1997]. Par ailleurs, elle possède une activité inhibitrice de la croissance des cellules impliquées dans le cancer du colon à travers une induction apoptotique et l'arrêt du cycle cellulaire [MURILLO *et al.*, 2002].

II. EFFETS DES ROTENOÏDES SUR LA PROLIFERATION CELLULAIRE ET EVALUATION DE LEUR CYTOTOXICITE

La thématique de l'équipe de recherche "Biomolécules et Thérapies Antitumorales" (EA 4021) à laquelle appartient notre laboratoire porte essentiellement sur la recherche de molécules naturelles inhibitrices du développement des cellules cancéreuses.

Dans ce cadre, notre laboratoire a élaboré une stratégie qui cible particulièrement trois différents niveaux dans le développement du cancer hormono-dépendant et surtout celui du cancer du sein. Cette stratégie consiste à concevoir des molécules capables de bloquer les récepteurs aux estrogènes ou d'inhiber l'aromatase (enzyme-clé dans le processus de cancérisation mammaire) ou encore des molécules capables d'inhiber la prolifération cellulaire. C'est ainsi qu'en collaboration avec le laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire et celui de Chimie Thérapeutique, quatre molécules majoritaires ; roténone (**L2**), 12 α -hydroxyroténone (**L4**), déguéline (**L16**) et téphrosine (**L18**) isolées de *L. nicou* ont été sélectionnées afin de réaliser des tests anti-estrogénique, anti-aromatase, antiprolifératifs et de cytotoxicité.

Les effets de ces molécules sur l'aromatase et les récepteurs aux estrogènes sont actuellement en cours d'analyse.

En ce qui concerne les tests antiprolifératifs et de cytotoxicité, ils sont mis au point et réalisés au laboratoire de Biochimie (Faculté de Pharmacie de Limoges) sur les quatre molécules citées auparavant et choisies essentiellement par rapport à leur quantité.

L'effet des roténoïdes sur la prolifération cellulaire ainsi que l'évaluation de leur cytotoxicité sont effectués sur deux types de lignées cellulaires :

- lignée 1547 constituée de cellules adhérentes impliquées dans le cancer des os (ostéosarcome).

- lignée HEL (Human Erythroleukemia) constituée de cellules en suspension impliquées dans le cancer du sang (leucémie).

1. Effets des roténoïdes sur la prolifération cellulaire (test au MTT)

Le test au MTT [MOSMANN, 1983] est utilisé pour évaluer le nombre de cellules viables. Il est basé sur la réduction du MTT [3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromide] de coloration jaune en cristaux bleus de formazan par une enzyme mitochondriale, la succinate déshydrogénase. Les cristaux de formazan formés sont solubilisés par le mélange de 10% de SDS (sodium dodecyl sulfate) et de 0,01 N d'HCl. La solution bleue ainsi obtenue est quantifiée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 550 nm. L'activité enzymatique de cette déshydrogénase mitochondriale étant proportionnelle à la viabilité des cellules, la lecture de la DO donne directement la cinétique de la prolifération cellulaire. Ce test est utilisé pour comparer la croissance des cellules contrôle à celle des cellules traitées par les molécules.

1.1. Mode opératoire

1.1.1. Lignée cellulaire 1547

Les cellules étudiées sont issues de la lignée 1547 d'ostéosarcome humain, fournies à titre gracieux par le Professeur M. Rigaud (Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine de Limoges, France).

- Culture cellulaire et traitements

Les cellules 1547 sontensemencées en plaques 96 puits (4000 cellules/cm² soit 1200 cellules/puits) et cultivées pendant 72 h dans 100 µl de milieu de culture contenant des sels de Earle et l'HEPES (ou N-[2-hydroxyéthyl]pipérazine-N'-[2-éthanesulfonique], 25 mM) (Eagle's MEM, Minimum Essential Medium, GibcoBRL). Ce milieu est complété par la glutamine (2 mM, GibcoBRL), par les antibiotiques pénicilline/streptomycine (100 U/ml et 100 µg/ml, GibcoBRL) et par 10 % de sérum de veau foetal décomplémenté (SVF, GibcoBRL).

Après 72 h de prolifération, les cellules sont en phase exponentielle de croissance, phase à partir de laquelle les cellules sont traitées ou non par les roténoïdes L2, L4, L16 et L18. Une solution mère de ces composés à 10⁻² M est préparée dans le DMSO puis diluée dans du milieu de culture pour obtenir différentes concentrations (25 µM, 10 µM, 1 µM, 0,2 µM, 0,1 µM). La même quantité de DMSO est ajoutée dans les cultures témoins.

1.1.2. Lignée cellulaire HEL

La lignée "Human Erythroleukemia" (HEL) provient de "l'American Type Culture Collection" (ATCC) et nous est gracieusement fournie par le Pr. J. P Cartron, directeur de l'unité INSERM U76. Cette lignée a été obtenue en cultivant des cellules mononuclées du sang circulant d'un malade qui présentait une érythroleucémie après rémission d'une maladie de Hodgkin.

- Culture cellulaire et traitements

Les cellules HEL sontensemencées en plaques 96 puits, à une densité de 10^5 cellules/ml de milieu de culture soit 10^4 cellules/puits dans 100 μ l de milieu. Le milieu utilisé est du RPMI 1640 complétementé par 10% de SVF, 1% de pyruvate de sodium, 1% d'HEPES et par une solution de pénicilline/streptomycine (100 U/ml et 100 μ g/ml). Les cellules sont cultivées en étuve thermostatée à 37 °C dans une atmosphère humide (95%) avec 5% de CO₂. Après 24 h de prolifération les cellules en phase exponentielle de croissance sont traitées ou non par les quatre composés à tester. Une solution mère (de **L2**, **L4**, **L16** et **L18** à 10^{-2} M) est préparée dans le DMSO puis diluée dans du milieu de culture pour obtenir différentes concentrations (25 μ M, 10 μ M, 5 μ M, 1 μ M, 0,1 μ M, 0,05 μ M, 0,025 μ M, 0,01 μ M). La même quantité de DMSO est ajoutée dans les cultures témoins. Pour les cellules 1547, le traitement dure de 24 à 96 h alors que pour les cellules HEL il varie entre 24 et 72 h.

Pour chaque temps étudié, un test de prolifération est réalisé : 10 μ l de la solution MTT (Sigma) (5 mg/ml, en tampon PBS) sont ajoutés dans chaque puits analysé. Après 4 h d'incubation à 37°C en atmosphère humide, 100 μ l d'une solution de lyse (SDS : 10% ; HCl : 0,01 N) sont ajoutés par puits de la plaque d'analyse, qui est de nouveau incubé à 37°C toute la nuit. La solution de lyse permet de détruire la membrane cytoplasmique des cellules afin de libérer dans le milieu de culture les cristaux de formazan formés. La plaque est ensuite agitée quelques secondes pour homogénéiser la coloration. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 550 nm, à l'aide d'un lecteur de plaques ELISA (Multiskan EX, Labsystems). Les blancs de lecture correspondent à du milieu sans cellules contenant du MTT et la solution de lyse.

Les résultats sont présentés en pourcentage du contrôle calculé grâce à la relation suivante :

$(DO_{\text{moyenne}} \text{ des cellules traitées } (n = 6) / DO_{\text{moyenne}} \text{ des cellules contrôle}) \times 100 \pm \text{écart type}$

1. 2. Résultats et interprétations

Les résultats obtenus sont représentés ci-dessous sous forme de graphique où nous avons en abscisse le temps qui s'est écoulé après le traitement des cellules par la molécule à tester et en ordonnée le pourcentage de prolifération des cellules traitées par rapport à celle des cellules de contrôle (100%).

Lignée 1547

Tous les composés testés montrent une activité antiproliférative sur les cellules de la lignée 1547 à des concentrations de 25 μ M, 10 μ M et de 1 μ M (Figure 13 à 16).

Les différentes concentrations de la roténone (**L2**) sont responsables d'une inhibition de prolifération comprise entre 40% et 60% d'inhibition dès 48 h qui va évoluer jusqu'à 80% d'inhibition à 96 h pour les concentrations de 25 μ M, 10 μ M et de 1 μ M. La 12 α β -hydroxyroténone (**L4**) présente le même

profil pour les concentrations de 25 μM , 10 μM et de 1 μM alors qu'à des faibles concentrations (0,2 μM et 0,1 μM) l'activité antiproliférative est pratiquement inexistante. Quant à la déguéline (L16) et à la téphrosine (L18), elles présentent les mêmes profils d'activité mais pour les concentrations de 25 μM et de 10 μM on obtient un pourcentage d'inhibition de plus de 70% dès 48 h qui va atteindre pratiquement 90% à 96 h après traitement. Pour les concentrations de 0,2 μM et de 0,1 μM , on ne remarque pas d'activité antiproliférative significative alors qu'à 1 μM le maximum d'inhibition est de 40% environ.

Lignée HEL

Pratiquement toutes les concentrations présentent une activité antiproliférative sur les cellules HEL. Pour les composés L2 et L4, on obtient pratiquement le même profil d'inhibition pour toutes les concentrations sauf celle de 0,01 μM qui reste moins efficace pour la 12 α β -hydroxyroténone (L4) que pour la roténone (L2). En effet concernant ces deux molécules, hormis cette concentration de 0,01 μM , toutes les autres concentrations à 48 h montrent un pourcentage d'inhibition supérieur à 60% et qui va même aller au-delà de 90% à 72 h de traitement. Quant à la déguéline L16 et à la téphrosine L18, elles apparaissent moins actives que la roténone (L2) et la 12 α β -hydroxyroténone (L4) (Figure 17 à 20) mais présentent un meilleur profil dose-réponse (plus la dose augmente plus l'inhibition de prolifération est importante) : ce qui n'est pas le cas pour la roténone (L2) et la 12 α β -hydroxyroténone (L4) pour lesquelles toutes les doses semblent actives.

Lignée 1547

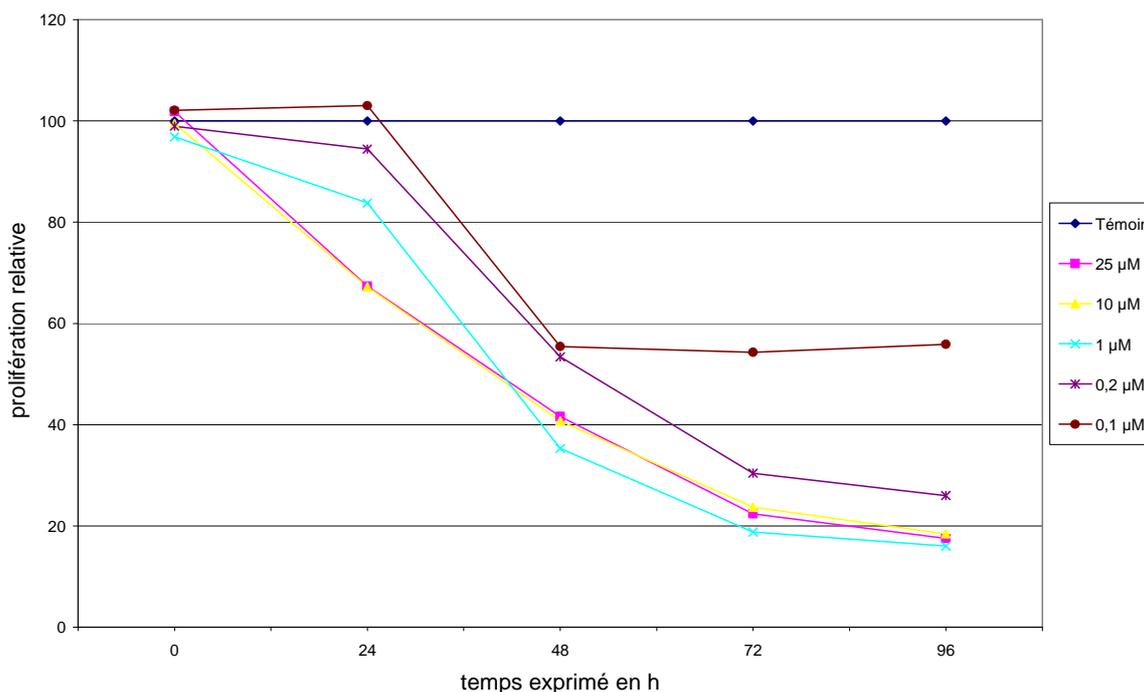


Figure 13 : Prolifération cellulaire relative en présence de la roténone (L2).

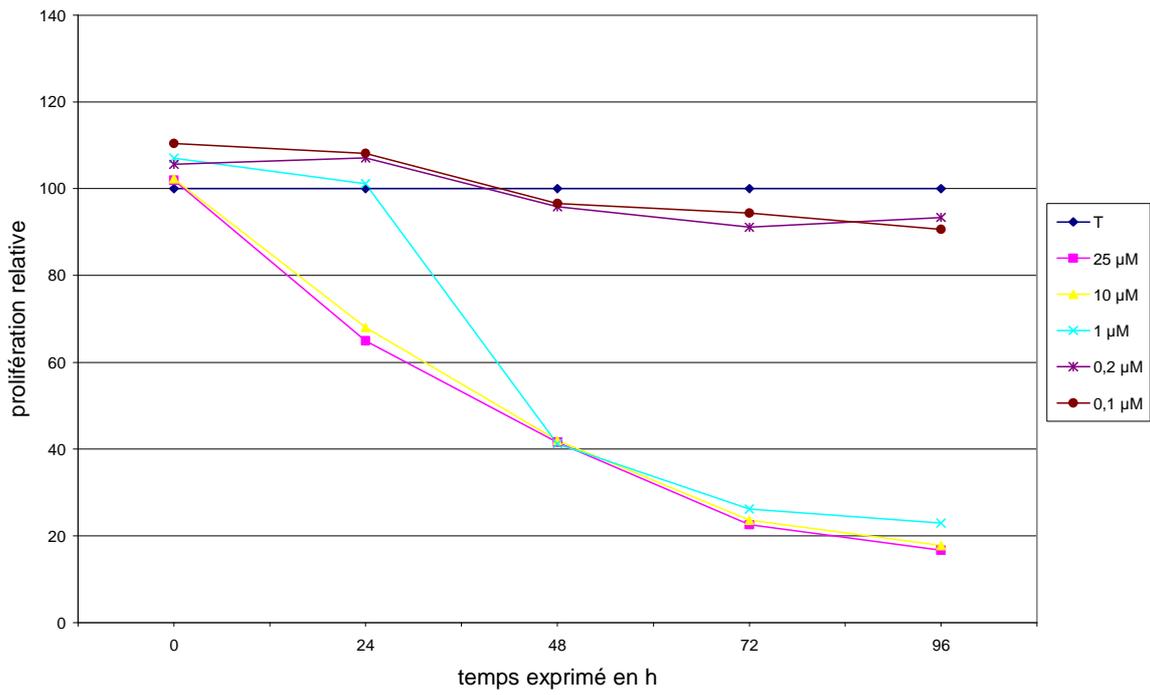


Figure 14 : Prolifération cellulaire relative en présence de la 12αβ-hydroxyroténone (L4).

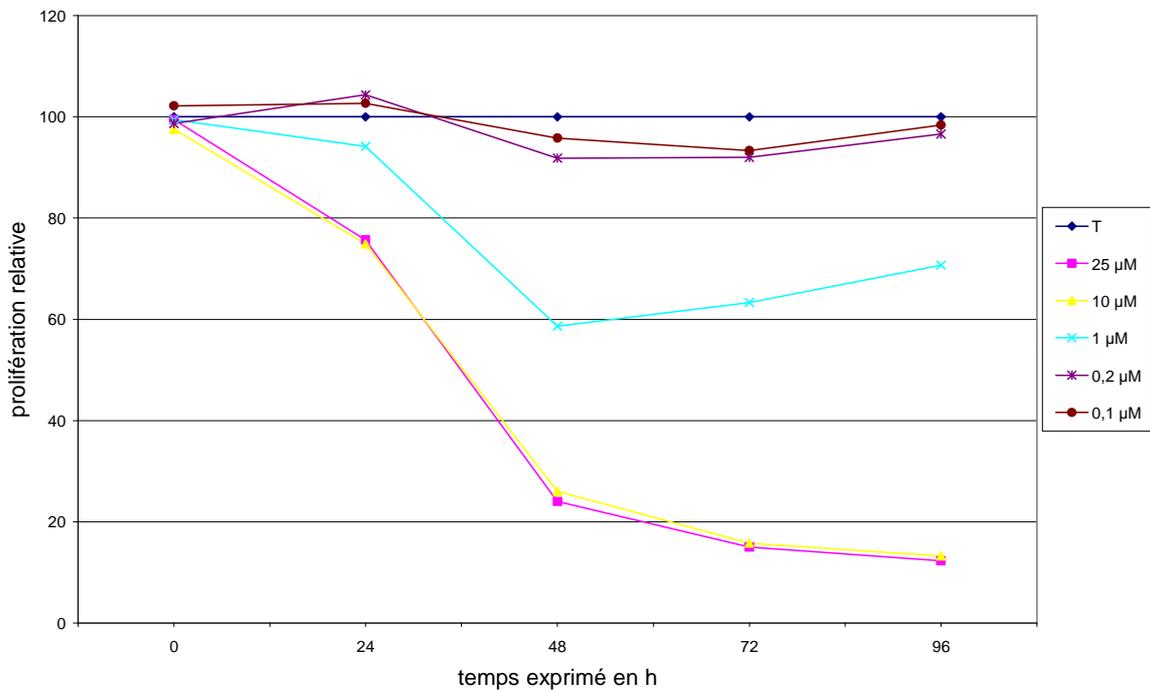


Figure 15 : Prolifération cellulaire relative en présence de la déguéline (L16).

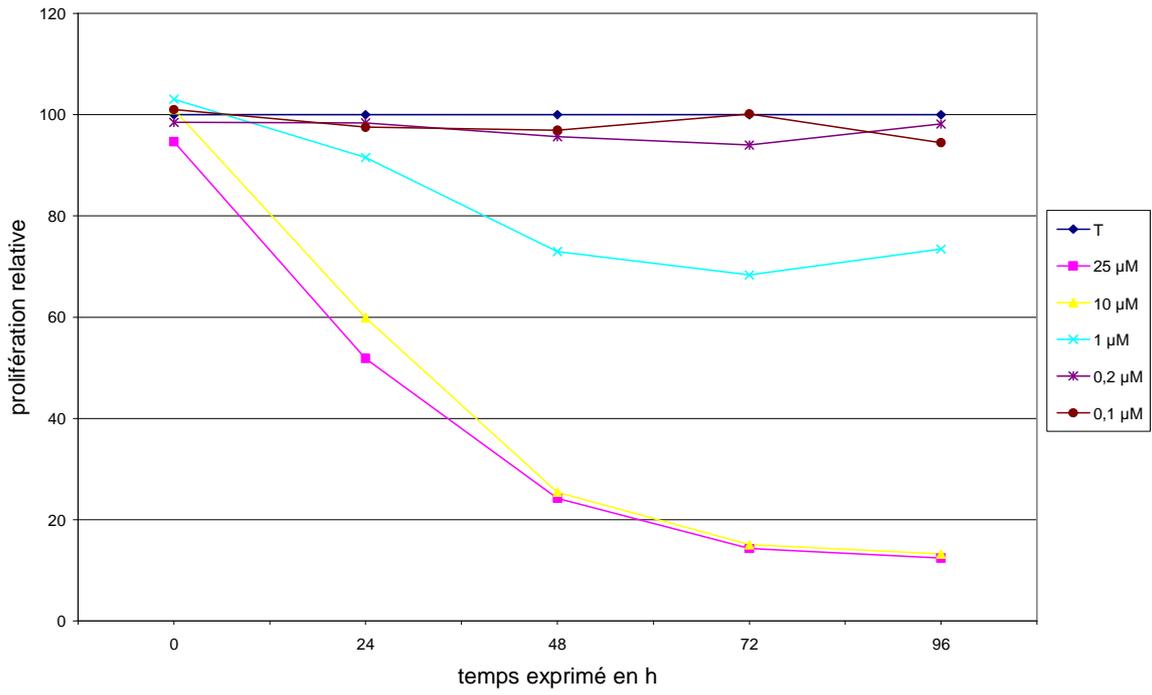


Figure 16 : Prolifération cellulaire relative en présence de la téphrosine ou 12αβ-hydroxydéguéline (L18).

Lignée HEL

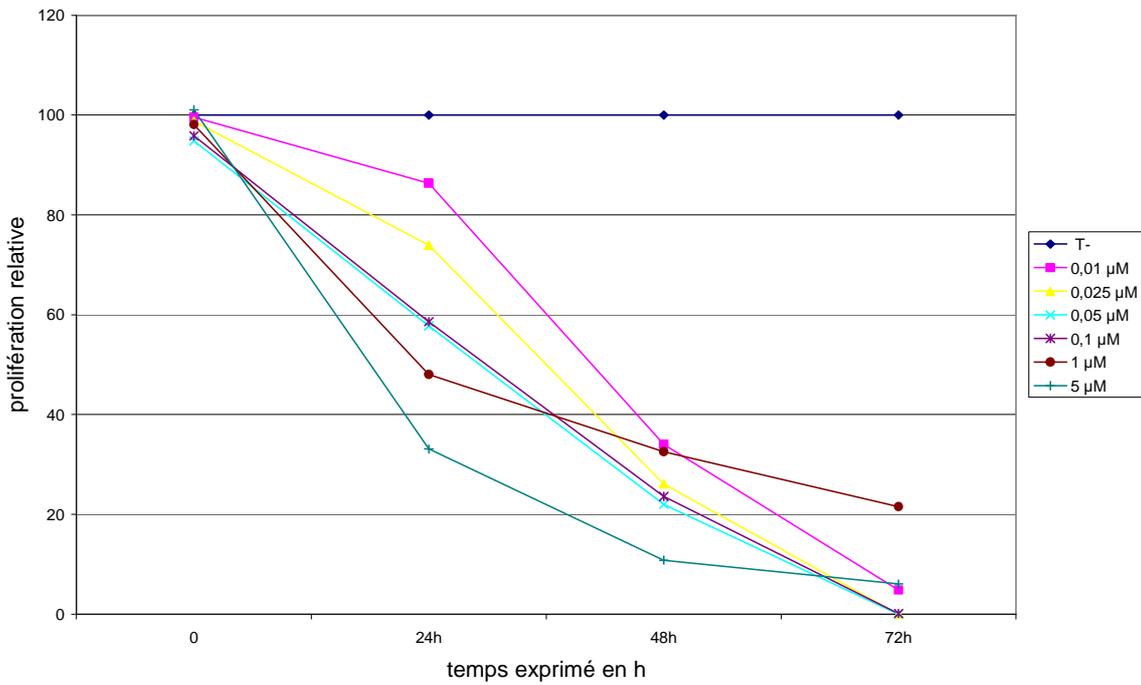


Figure 17 : Prolifération cellulaire relative en présence de la roténone (L2).

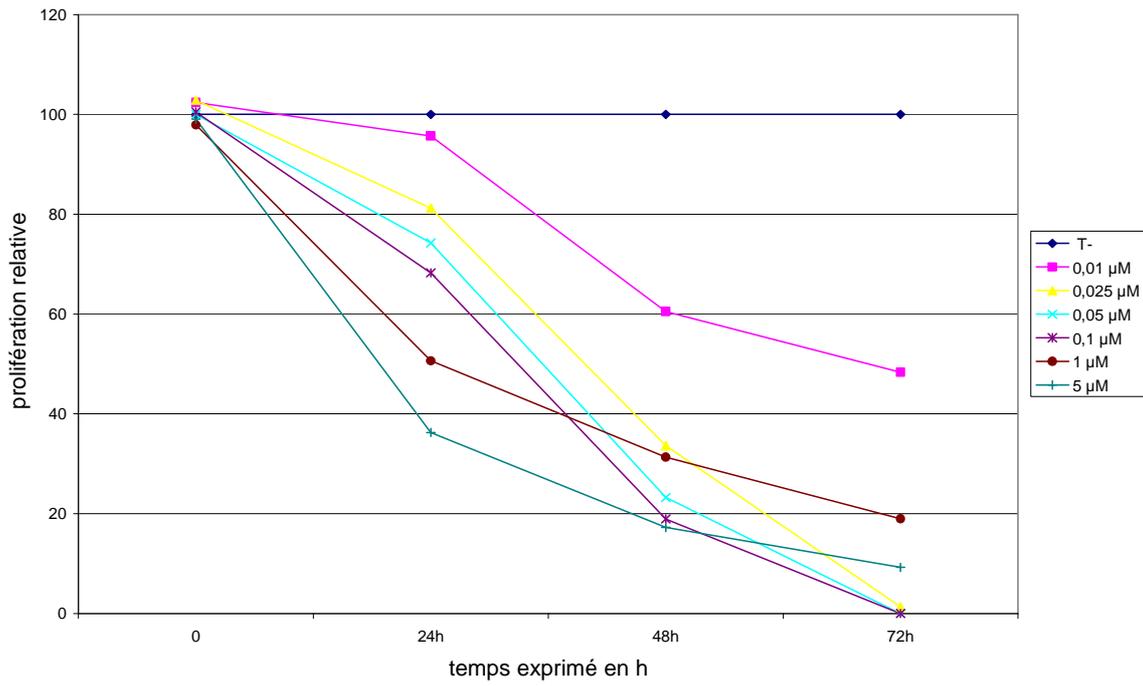


Figure 18 : Prolifération cellulaire relative en présence de la 12αβ-hydroxyroténone (L4).

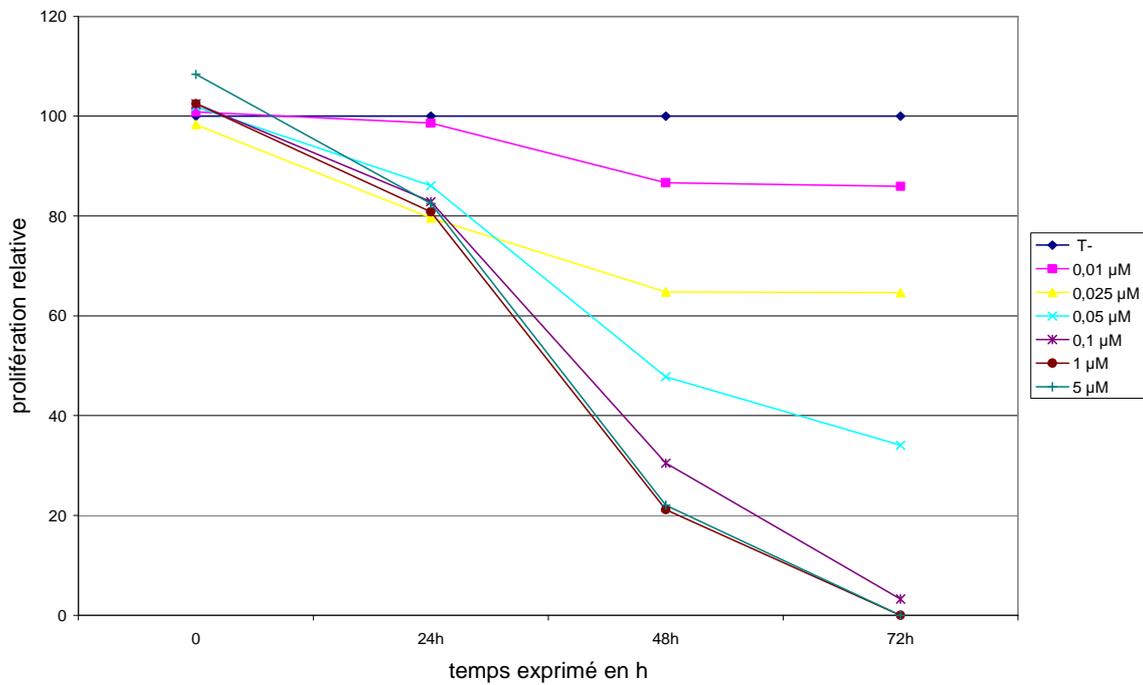


Figure 19 : Prolifération cellulaire relative en présence de la déguéline (L16).

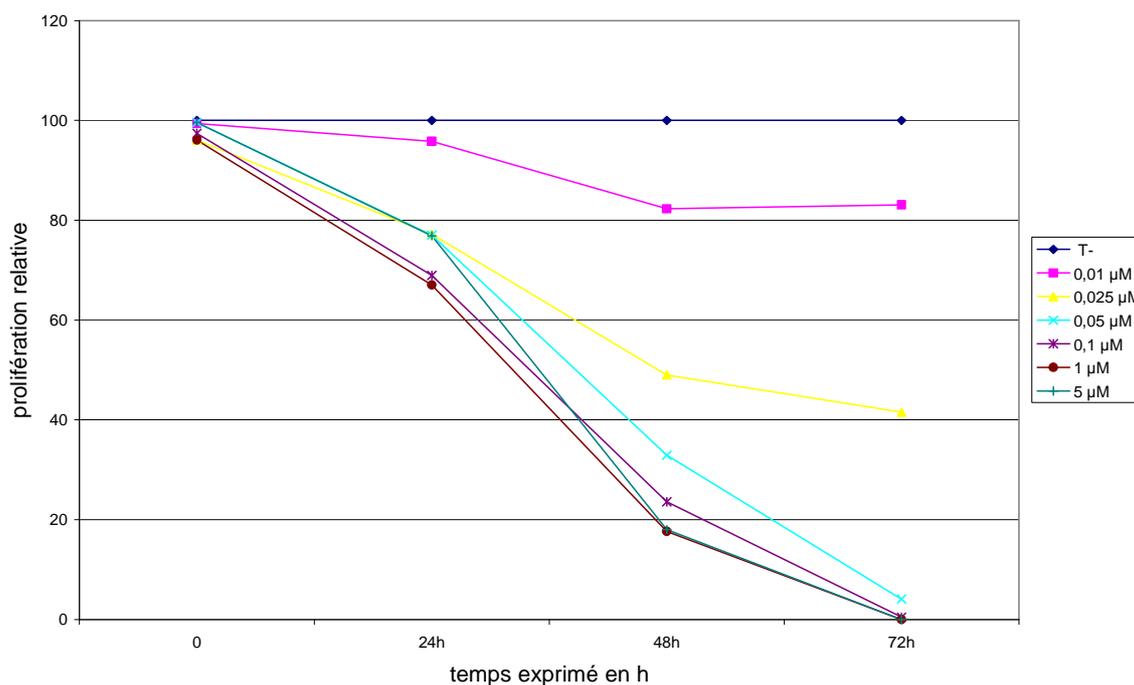


Figure 20 : Prolifération cellulaire relative en présence de la téphrosine ou 12aβ-hydroxydéguéline (L18).

2. Test de cytotoxicité : Activité de la lactate déshydrogénase (LDH)

La cytotoxicité des composés L2, L4, L16 et L18 est étudiée à l'aide du kit LDH « Cytotoxicity Detection kit » (Roche Diagnostics). Ce kit est une méthode précise, rapide, simple, basée sur la colorimétrie. Il permet de quantifier la cytotoxicité par la mesure de l'activité de la LDH. Cette activité est déterminée grâce à la réaction enzymatique (Figure 21) en 2 étapes.

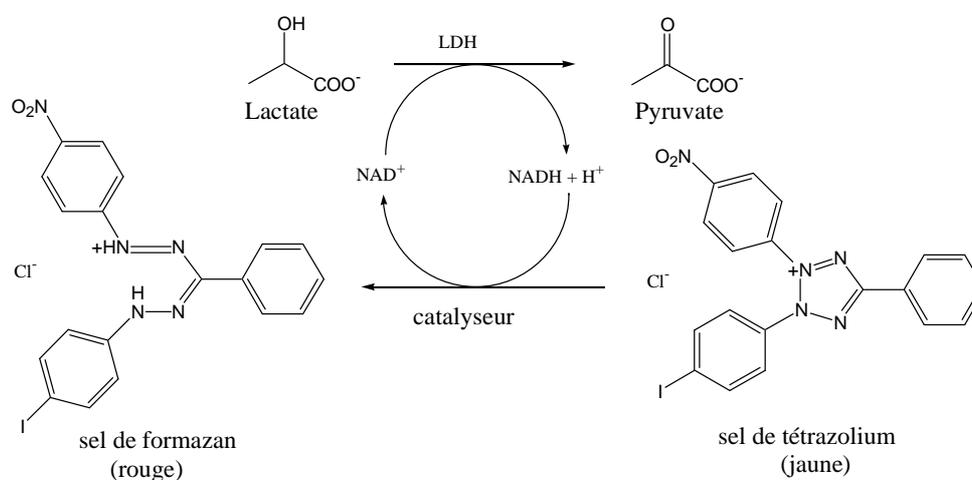


Figure 21

Dans la première étape, le NAD^+ est réduit en $\text{NADH}+\text{H}^+$ grâce à l'activité de la LDH (enzyme responsable de la conversion du lactate en pyruvate).

En ce qui concerne la deuxième étape, le NAD^+ est régénéré par transfert de deux hydrogènes sur sel de tétrazolium (jaune). Cette dernière réaction se déroule en présence d'un catalyseur et permet d'obtenir le sel de formazan (rouge).

Les agents toxiques entraînent la rupture de la membrane plasmique et la fuite d'enzymes cytosoliques comme la LDH qui sont libérées dans le milieu de culture.

2. 1. Mode opératoire

Les cellules sontensemencées en plaques 96 puits dans 200 μl du milieu de culture (1200 cellules/puits 1547 et 2.10^4 cellules/puits HEL) puis traitées ou non par 20 μM , 5 μM , 0,1 μM , 0,05 μM et 0,01 μM de chacune des molécules. Ce traitement intervient 72 h après l'ensemencement pour la lignée 1547 et 24 h pour la lignée HEL et dure de 24 à 48 h. Comme témoin, on dispose de :

- contrôle négatif c'est-à-dire cellules + milieu seul.
- témoin c'est-à-dire cellules + milieu + DMSO.
- contrôle positif c'est-à-dire cellules + milieu + 1% Triton X-100 qui va lyser complètement les cellules

A la fin du traitement, les plaques de culture sont centrifugées pour culotter les cellules et 100 μl de surnageant sont récupérés et transférés dans une nouvelle plaque d'analyse. On rajoute ensuite 100 μl de réactif composé de NAD^+ , du catalyseur, du sel de tétrazolium et du lactate de sodium. La plaque est mise à incubation 30 min à RT et à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 492 nm, à l'aide d'un lecteur de plaques Labsystem.

2. 2. Résultats et interprétations

Les résultats obtenus pour les tests de cytotoxicité sont représentés ci-dessous sous forme de graphique où nous avons en abscisse les diverses concentrations (20 μM , 5 μM , 0,1 μM , 0,05 μM et 0,01 μM) des quatre composés et en ordonnée, le pourcentage des cellules lysées (donc la cytotoxicité) par rapport à la lyse maximale (100%) obtenue avec le triton X-100.

Lignée 1547

Au bout de 24 h, On remarque que seule les concentrations de 20 μM de la roténone (**L2**) et de la 12 α β -hydroxyroténone (**L4**) montrent vis-à-vis des cellules de la lignée 1547 une cytotoxicité supérieure à 20%.

Au bout de 48 h, la concentration de 20 μM présente pour toutes les molécules à part la téphrosine, une toxicité au delà de 20%. La roténone et la 12 α β -hydroxyroténone apparaissent comme étant les

composés les plus cytotoxiques. D'ailleurs seuls ces deux composés sont cytotoxiques pour une concentration de 5 μM (Figures 22 et 23).

Lignée HEL

La roténone est le seul composé qui montre une activité cytotoxique à plus de 60% pour C=20 μM à T=24 h. Au bout de 48 h à C=0,1 μM alors que cette molécule ne manifeste pas de cytotoxicité, elle inhibe néanmoins de 40% environ la prolifération des deux lignées cellulaires.

A 48 h les concentrations de 20 μM et de 5 μM sont cytotoxiques pour toutes les molécules à l'exception de la téphrosine (Figures 24 et 25) mais comme le montrent les résultats précédents, ces molécules inhibent également la prolifération à des concentrations largement inférieures celles citées ci-dessus.

Lignée 1547

T = 24 H

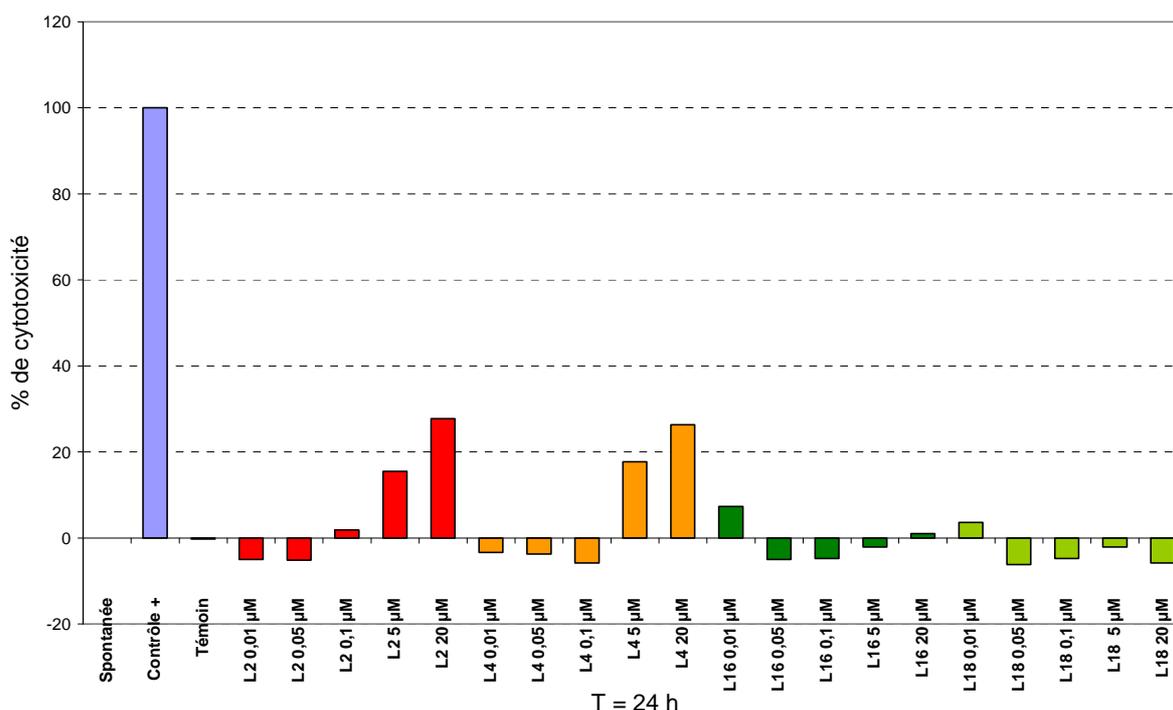


Figure 22 : Cytotoxicité des quatre composés à différentes concentrations au bout de 24 h

[L2 : roténone, L4 : 12 $\alpha\beta$ -hydroxyroténone , L16 : déguéline et L18 : téphrosine (12 $\alpha\beta$ -hydroxydéguéline)].

T = 48 H

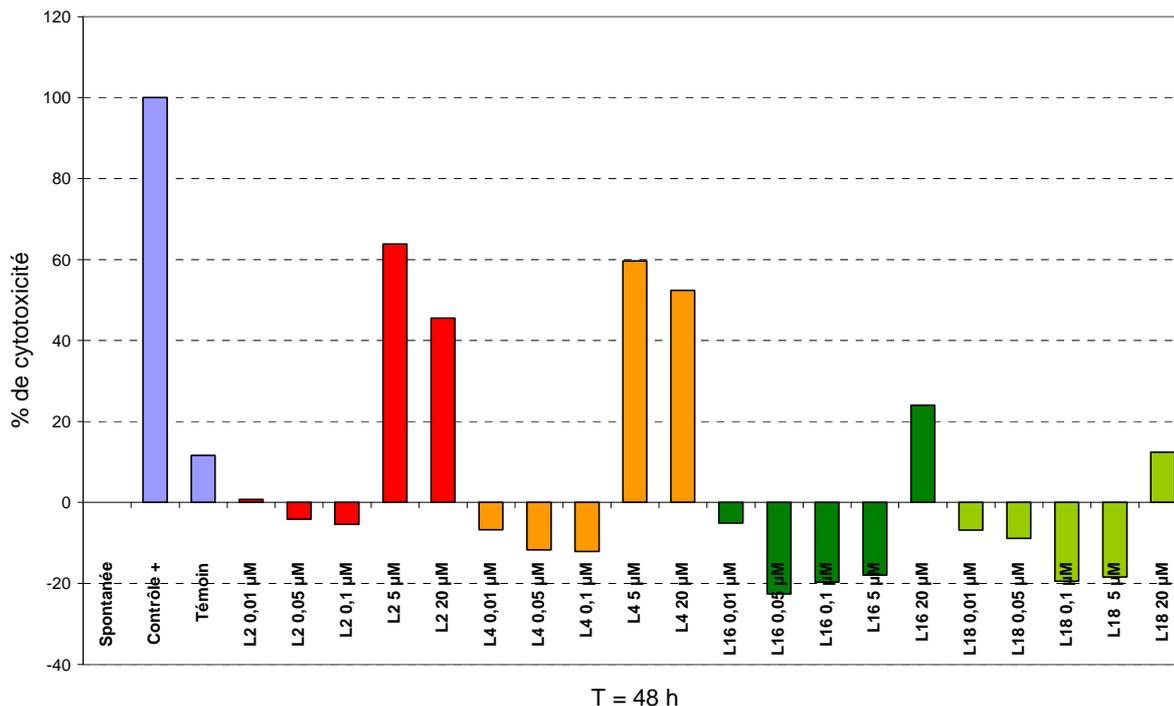


Figure 23 : Cytotoxicité des quatre composés à différentes concentrations au bout de 48h
 [L2 : roténone, L4 : 12αβ-hydroxyroténone , L16 : déguéline et L18 : téphrosine (12αβ-hydroxydéguéline)].

Lignée HEL

T = 24 H

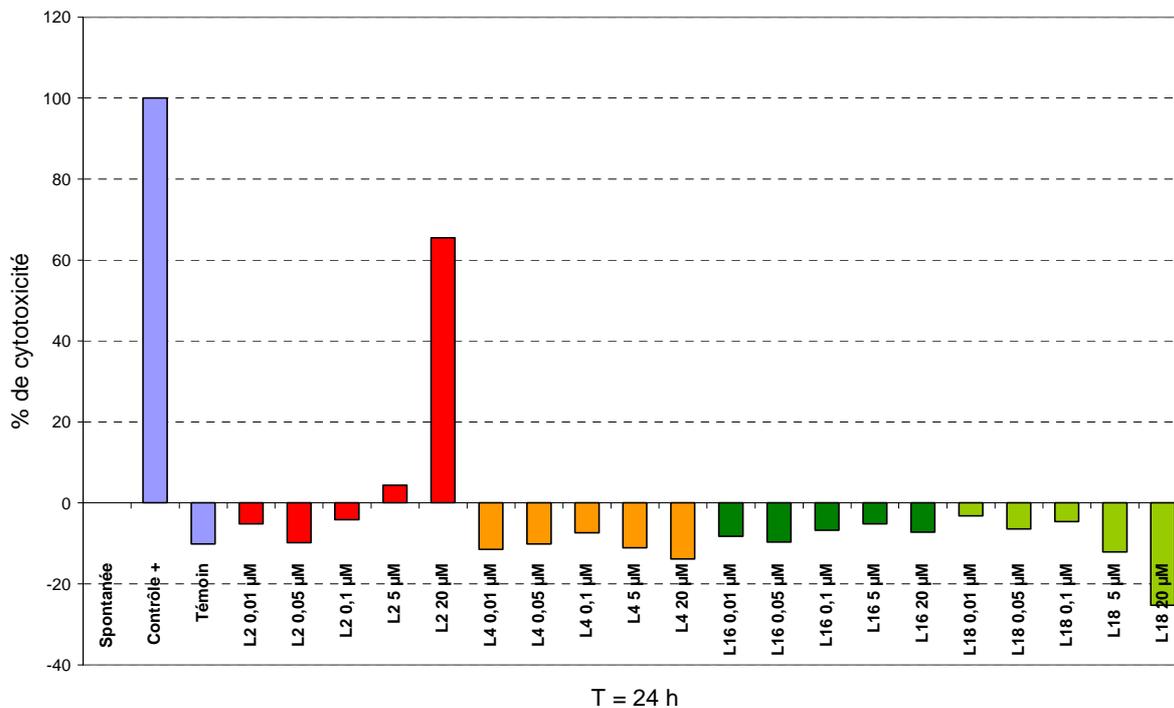


Figure 24 : Cytotoxicité des quatre composés à différentes concentrations au bout de 24 h
 [L2 : roténone, L4 : 12αβ-hydroxyroténone , L16 : déguéline et L18 : téphrosine (12αβ-hydroxydéguéline)].

T = 48 H

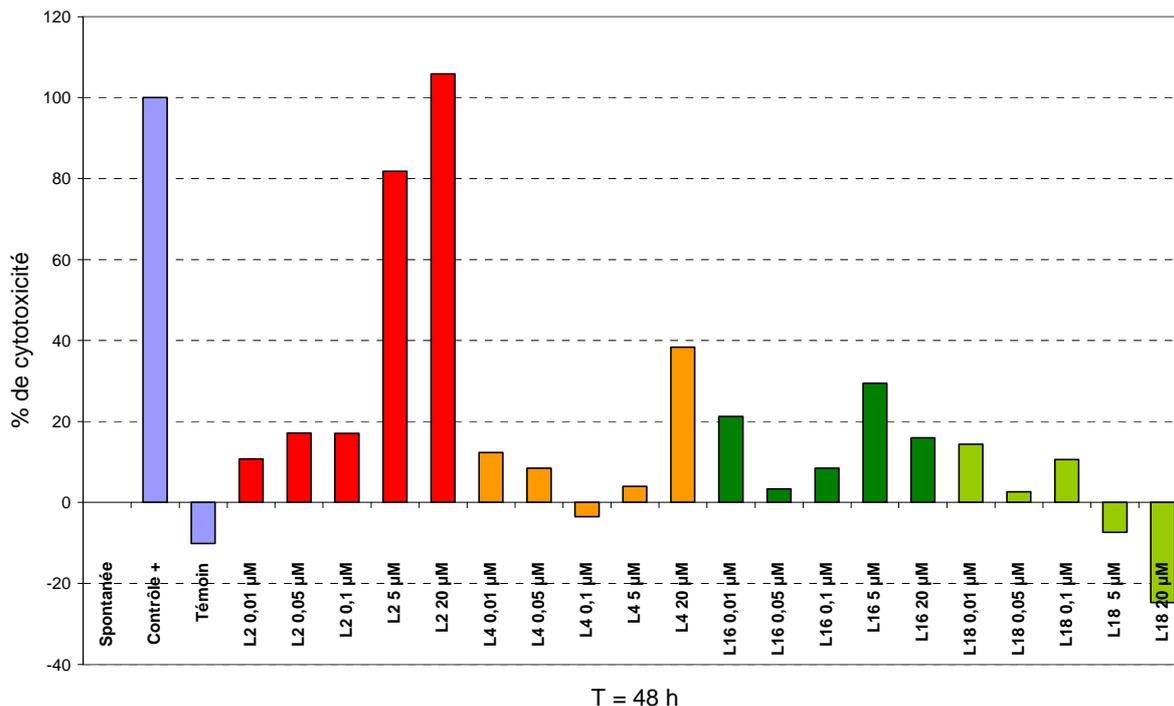


Figure 25 : Cytotoxicité des quatre composés à différentes concentrations au bout de 48 h

[L2 : roténone, L4 : 12αβ-hydroxyroténone , L16 : déguéline et L18 : téphrosine (12αβ-hydroxydéguéline)].

3. Détermination et interprétation des concentrations inhibitrices de 50% des cellules (IC₅₀)

La IC₅₀ des quatre molécules testées est calculée grâce à l'équation de la courbe ou de la droite obtenue en reportant sur un graphique, le pourcentage de prolifération en fonction des différentes concentrations. Elle peut être également lue directement sur le graphique en déterminant la concentration correspondante à 50 % de prolifération. Seul le graphique correspondant au calcul de l'IC₅₀ de la déguéline sur les cellules HEL est représenté ici (Figure 26). Les IC₅₀ des autres composés sur les deux lignées cellulaires cancéreuses sont obtenues par le même principe et sont rassemblées dans le Tableau 42.

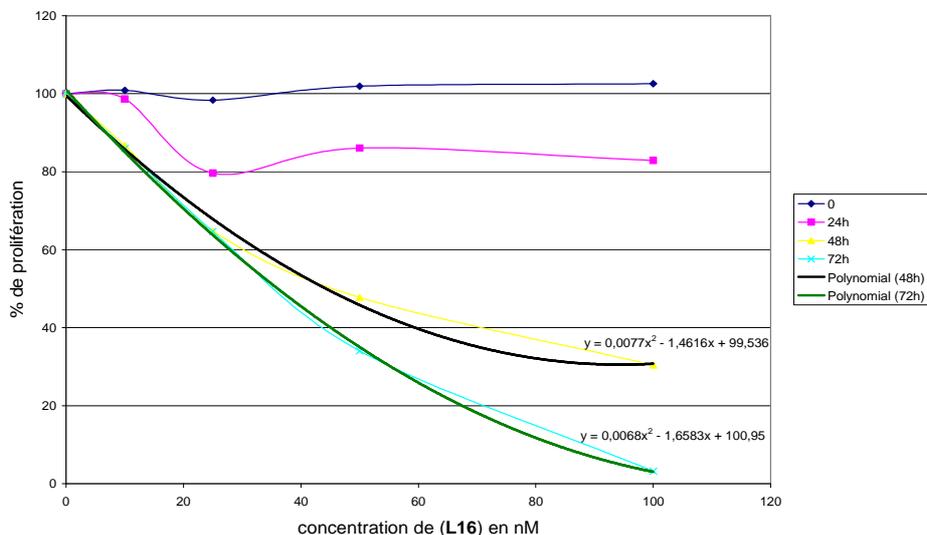


Figure 26 : Détermination de l'IC₅₀ de la déguéline.

Tableau 42 : Activité antiproliférative des roténoïdes parents **L2**, **L16** et leurs dérivés 12aβ-hydroxylés **L4**, **L18**.

lignée cellulaire		activité antiproliférative (IC ₅₀ , nM) des composés testés			
		roténone (L2)	12aβ-hydroxyroténone (L4)	déguéline (L16)	téphrosine (L18)
Lignée HEL	24h	102	1000	>5000	>5000
	48 h	7	15	44	30
	72 h	4	10	36	22
Lignée 1547	24h	>25000	>25000	>25000	>25000
	48h	213	875	4988	5351
	72 h	121	707	4193	4319

En comparant l'activité antiproliférative des deux membres d'un même couple d'isomères constitutionnels, il apparaît clairement que le cycle E joue un rôle important. En effet le cycle E sous forme furanique (roténone et son dérivé 12aβ-hydroxylé) confère une activité plus importante à la molécule que dans le cas de la déguéline et de la téphrosine. En outre, mis à part l'effet de la déguéline et de la téphrosine sur les cellules HEL, la 12aβ-hydroxylation n'améliore en aucun cas l'activité antiproliférative de ces molécules. Elle diminue au contraire l'activité antiproliférative de ces molécules et cette réduction est plus marquée dans le cas de la roténone que de la déguéline.

4. Conclusion

L'étude de la croissance des lignées cellulaires cancéreuses (1547 et HEL) s'est révélée satisfaisante. Toutes les molécules, testées sur la lignée 1547, présentent pratiquement les mêmes pourcentages d'inhibition à partir d'une concentration comprise entre 1 μM et 10 μM. Cette concentration est encore plus faible lorsqu'il s'agit des cellules HEL où elle est réduite à 0,05 μM. De façon générale, les dérivés à noyau PDHF (**L2** et **L4**) semblent posséder une activité inhibitrice de la croissance cellulaire plus marquée que les dérivés à noyau DMP (**L16** et **L18**). Aussi pour deux molécules avec le même noyau E, il semble que le dérivé 12aβ-hydroxylé soit légèrement moins actif.

Les résultats issus des tests de cytotoxicité, montrent que la roténone et son dérivé 12aβ-hydroxylé sont dotés d'une toxicité plus importante que la déguéline et la téphrosine. De plus, il semble que le dérivé 12aβ-hydroxylé soit légèrement moins toxique que son homologue avec le même noyau E. Ainsi parmi les quatre composés testés, la roténone (**L2**) apparaît comme étant le plus cytotoxique suivie de la 12aβ-hydroxyroténone (**L4**), de la déguéline (**L16**) et de la téphrosine (**L18**).

Des deux tests (cytotoxicité et anti-prolifératif) réalisés sur les deux lignées de cellules cancéreuses : 1547 (cancer des os), HEL (cancer du sang), la 12aβ-hydroxyroténone et la téphrosine

apparaissent comme étant les molécules les plus intéressantes. En effet elles sont moins cytotoxiques que leurs homologues non-hydroxylés et possèdent une activité antiproliférative dont l' IC_{50} est de l'ordre du nanomolaire à 72 h pour les cellules HEL (10 nM et 22 nM pour la 12a β -hydroxyroténone et la téphrosine respectivement). Les premiers résultats sur ces quatre molécules permettent de noter une diminution de la cytotoxicité grâce à l'hydroxylation de la position 12a au niveau des deux isomères des roténoïdes parents (**L2** et **L16**). Ils montrent principalement que le noyau E joue un rôle de premier plan dans l'inhibition de l'activité antiproliférative et sont conformes aux résultats obtenus par Fang et Casida sur l'inhibition de l'ornithine décarboxylase (considérée comme indicateur de l'activité antiprolifératif) et également sur les cellules cancéreuses de foie de rat (lignée Hepa 1c1c7) et celles de la lignée MCF-7 où l'activité antiproliférative (IC_{50} de l'ordre du nanomolaire) est également meilleure avec le noyau E, PDHF que le noyau E, DMP [FANG et CASIDA, 1999]. Au vu de tous ces résultats, la téphrosine apparaît comme le composé "chef de file" car en plus d'une activité antiproliférative importante ($IC_{50} = 22$ et 4319 nM à 72 h pour les cellules HEL et 1547 respectivement) elle possède une cytotoxicité moins importante que les autres.

Bien que les molécules testées aient une activité antiproliférative très satisfaisante, ces premiers résultats doivent être confirmés par d'autres tests avec une plus large gamme de composés, afin de déterminer l'orientation des travaux ultérieurs.

4^{ème} PARTIE

DISCUSSION et CONCLUSION

A. DISCUSSION

L'étude phytochimique de racines de *Lonchocarpus nicou* nous a permis d'isoler et d'identifier 38 molécules dont la plupart sont des roténoïdes prénylés. Parmi ces composés 13 sont décrits pour la première fois dans le règne végétal et 7 autres dans le genre *Lonchocarpus*.

Les études phytochimiques antérieures réalisées dans le genre *Lonchocarpus* montrent une composition riche et variée, caractérisée essentiellement par une prénylation fréquente des différentes classes de composés identifiés. Une quarantaine de composés répertoriés appartiennent au groupe des flavanones et flavanonols suivi par le groupe des roténoïdes (34 composés). Cette relative abondance des flavanones et ses dérivés peut s'expliquer par le fait que ces composés constituent un carrefour biosynthétique incontournable, permettant d'aller non seulement vers les isoflavonoïdes, mais également vers les flavones ou encore vers les flavanonones (Figures 11). *Lonchocarpus nicou* présente une composition polyphénolique originale et diversifiée, constamment associée à la prénylation qui génère deux catégories de composés (noyaux PDHF et DMP) et à une méthylation systématique des positions 2 et 3 du noyau aromatique A. Ces deux familles de composés apparaissent sous forme de couple d'isomères constitutionnels qui se différencient uniquement au niveau de la structure du cycle E.

En effet, l'acide rot-2'-énonique (L30), dérivé présentant une prénylation du type 3,3 DMA (cycle E ouvert), est considéré comme étant le précurseur des deux couples d'isomères [CROMBIE et WHITING, 1998]. L'isomère dérivant de la roténone avec le cycle E en noyau PDHF proviendrait d'une cyclisation 9-O, C-2' alors que celui de la déguéline avec le cycle E en noyau DMP d'une cyclisation 9-O, C-3' (Figure 27).

I. HYPOTHESE SUR L'ORIGINE BIOSYNTHETIQUE DES ROTENOIDES NATURELS ISOLES DE *L. NICOU*.

Les travaux de Crombie et son équipe en 1998 ont démontré que les deux groupements méthoxyles du noyau A ainsi que le carbone en position 6 du noyau B, proviennent du groupement méthyle d'un acide aminé (méthionine). Selon eux, cette méthylation du noyau A serait donc effectuée sur le plan biosynthétique, au stade de l'isoflavone c'est-à-dire bien avant la formation du cycle B permettant d'aboutir aux roténoïdes. Par conséquent, les roténoïdes dérivent biogénétiquement des isoflavones et ceci est confirmé par leur distribution restreinte dans le règne végétal. C'est ainsi que l'on retrouve simultanément, le toxicarol (L21) et le toxicarol isoflavone chez *Derris malaccensis* ou dans le cas de notre plante la déguéline (L16) et la barbigérone (structure p. 144), toutes les deux présentes dans l'extrait hexanique [HARPER, 1940 ; HARPER et UNDERWOOD, 1965 ; KAOUADJI *et al.*, 1986]. Dans le processus de transformation biogénétique des isoflavones en roténoïdes, la formation de la 2'-méthoxyisoflavone constitue une

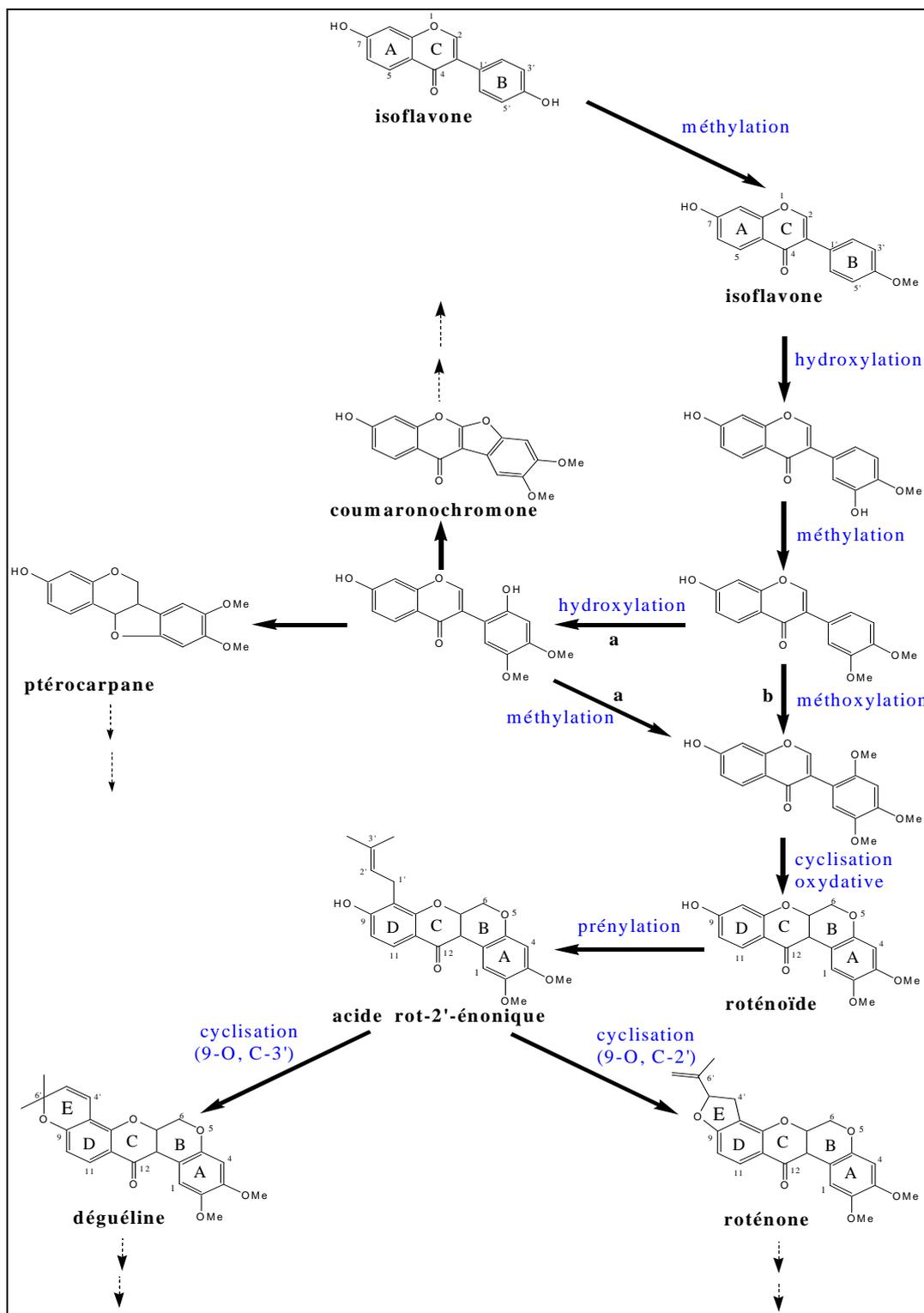
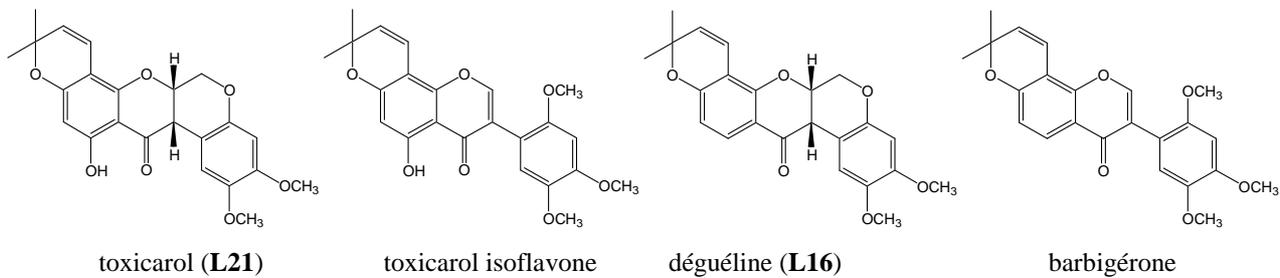


Figure 27 : Origine biosynthétique probable des roténoïdes isolés de *L. nicou*.

étape clé (Figure 27). Celle-ci peut se faire par une hydroxylation suivie d'une méthylation (voie **a**) ou directement par une méthoxylation (voie **b**). Des deux voies, il n'est pas certain que l'une soit prédominante par rapport à l'autre. C'est à ce niveau que la voie biosynthétique des coumaronochromones et celle des ptérocarpanes se distinguent de celle des roténoïdes. Ainsi, la 2'-hydroxyisoflavone serait le précurseur des trois voies biosynthétiques conduisant à la formation des coumaronochromones, des ptérocarpanes et des roténoïdes. La prénylation des roténoïdes qui permettra d'aboutir au cycle E n'interviendrait qu'en dernière position, après la formation du cycle B par une cyclisation oxydative [CROMBIE et WHITING, 1998]. Cette prénylation linéaire aboutira aux couples d'isomères constitutionnels dérivant de la roténone (**L2**) et de la déguéline (**L16**) selon la cyclisation (9-O, C-2' ou 9-O, C-3'). Plus tard des modifications biosynthétiques supplémentaires (réduction, oxydation, hydroxylation, époxydation etc.) permettront d'élargir les variétés structurales et d'expliquer l'obtention des molécules isolées. Selon les études phytochimiques antérieures, il apparaît clairement que la 2,3-diméthoxylation des roténoïdes reste systématique au sein du genre *Lonchocarpus*. Cette constatation est confirmée ici par nos travaux phytochimiques, dans la mesure où tous les roténoïdes isolés présentent cette diméthoxylation. En conséquence, la prénylation du cycle D ainsi que la 2,3-diméthoxylation du cycle A des roténoïdes (famille chimique la plus représentée ici) constituent une particularité phytochimique essentielle, caractéristique de *L. nicou*.

II. DIFFICULTES DE SEPARATION

La séparation et la purification des phytoconstituants de *L. nicou* comportaient beaucoup de difficultés.

La roténone représente plus de 80% de l'extrait benzénique alors que le composé majoritaire présent dans l'extrait hexanique est la déguéline. Cette accumulation privilégiée de la roténone dans l'extrait benzénique et de la déguéline dans l'extrait hexanique, rend difficile la séparation et la purification des autres produits (minoritaires). Il faut aussi noter que l'extrait benzénique est plus riche en métabolites secondaires et plus complexe que l'extrait hexanique.

En outre, la plupart de nos produits sont présents sous forme d'isomères constitutionnels (PDHF, DMP), qui se différencient exclusivement au niveau du cycle E. Cette isomérisation constitutionnelle rend impossible la séparation des couples à part l'utilisation d'une HPLC semi-préparative avec une phase SiO₂ greffée C₁₈. Par ailleurs, malgré l'utilisation de ce système de séparation, les difficultés subsistent car la plupart de nos produits sont très peu polaires alors que pour une chromatographie en phase inverse, l'utilisation d'une phase mobile polaire est nécessaire. Ceci a entraîné de sérieux problèmes de solubilité avec de lourdes conséquences pour les colonnes HPLC.

La difficulté de séparation vient également de la présence de différents stéréoisomères surtout dans les cas des hydroxyroténoïdes (groupement hydroxyle en position 6 ou 12a) où le nombre de ces stéréoisomères est multipliés par deux voire quatre.

Au niveau de la jonction des cycles B/C, les divers travaux réalisés ont démontré que la configuration *cis* est thermodynamiquement plus stable que la configuration *trans* sauf dans le cas des 12a-hydroxyroténoïdes où les deux configurations sont stables d'autant plus qu'une interconversion par énoilisation reste impossible [CROMBIE, 1963 ; CROMBIE et WHITING, 1998].

1. Comportements chromatographiques

Comme nous venons de le voir, les deux extraits de polarité voisine (benzénique et hexanique) permettent de distinguer les deux familles d'isomères constitutionnels. Le benzène en tant que solvant plus polaire extrait mieux la roténone (L2) alors que l'hexane moins polaire est un meilleur solvant d'extraction pour la déguéline (L16). Cette différence de comportement des deux types d'isomères est retrouvée en HPLC analytique C₁₈ où la roténone présente un T_r inférieur à celui de la déguéline (Figure 28).

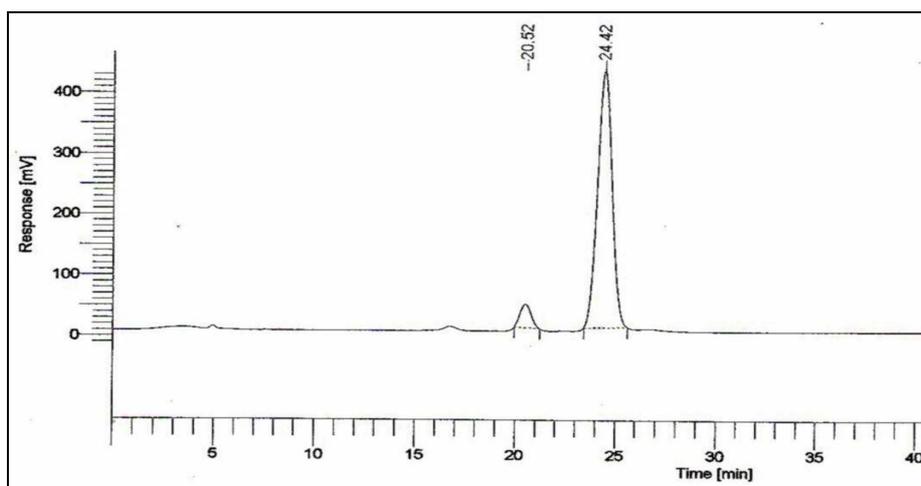


Figure 28 : Profil HPLC analytique de la roténone ($T_r=20,5$ min) et de la déguéline ($T_r=24,4$ min)
[Colonne : X-terra C₁₈, 5 μ m, 150 x 4,6 mm ; solvant : MeOH : H₂O (60 : 40) débit : 0,8 ml/min].

Cette différence de comportement peut s'expliquer par les effets électroniques entre les cycles E, D et le groupement carbonyle (conjugaison principale). En effet, il se produit dans le cas des dérivés de la roténone, une conjugaison $n-\pi-\pi-\pi$ depuis l'oxygène de l'hétérocycle E (O-1') jusqu'au carbonyle (Figure 29). En revanche, cette conjugaison principale au niveau des dérivés de la déguéline se trouve en compétition avec une autre (délocalisation supplémentaire secondaire $n-\pi-\pi$ de O-1' vers C-5') et se trouve *de facto* altérée. En conséquence la valeur absolue des charges partielles localisées au niveau de O-1' et du carbonyle des dérivés de la roténone reste supérieure à celle de leurs homologues dérivant de la déguéline. Finalement le résultat de ces effets

électroniques est que la roténone et ses dérivés présentent systématiquement une polarité très légèrement supérieure à celle de leurs isomères constitutionnels à noyau DMP.

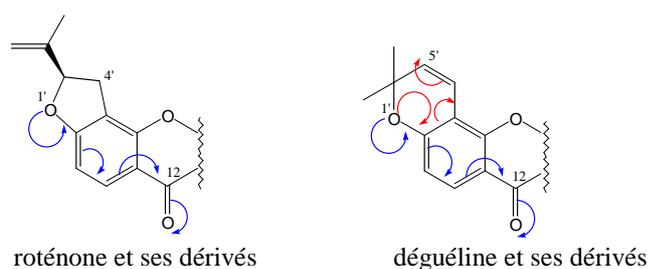


Figure 29 : Les effets électroniques au niveau des deux isomères

Au niveau des acides, l'acide rotoïque (dérivant de la roténone) est moins polaire que son isomère (l'acide déguoïque). Cette constatation s'explique par l'apparition d'une deuxième conjugaison n- π , du OH vers le $>C=O$ au niveau du groupement acide carboxylique, également en compétition avec la conjugaison principale (Figure 30). L'acidité de la molécule dépend de cette conjugaison supplémentaire. En conséquence moins elle est contrariée plus l'acide est fort et plus la polarité de la molécule augmente. Or, pour que cette conjugaison soit moins inhibée, il faut que la conjugaison principale ne soit pas prépondérante. C'est bien le cas de l'acide déguoïque et c'est ce qui, à priori, pourrait expliquer sa plus forte polarité par rapport à l'acide rotoïque. Cette différence de polarité est également visible en CCM (SiO_2) ce qui n'est pas le cas pour les autres dérivés de la roténone et de la déguéline [Les R_f sur CCM SiO_2 dans le mélange $C_6H_5CH_3$: MeCOEt : MeOH (75 : 15 : 10) de l'acide rotoïque et de l'acide déguoïque sont respectivement de 0,53 et 0,43].

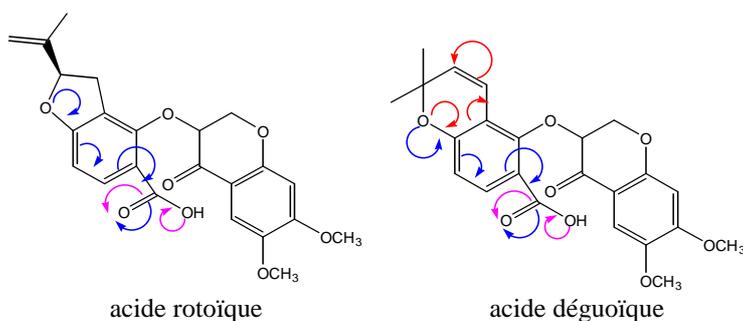
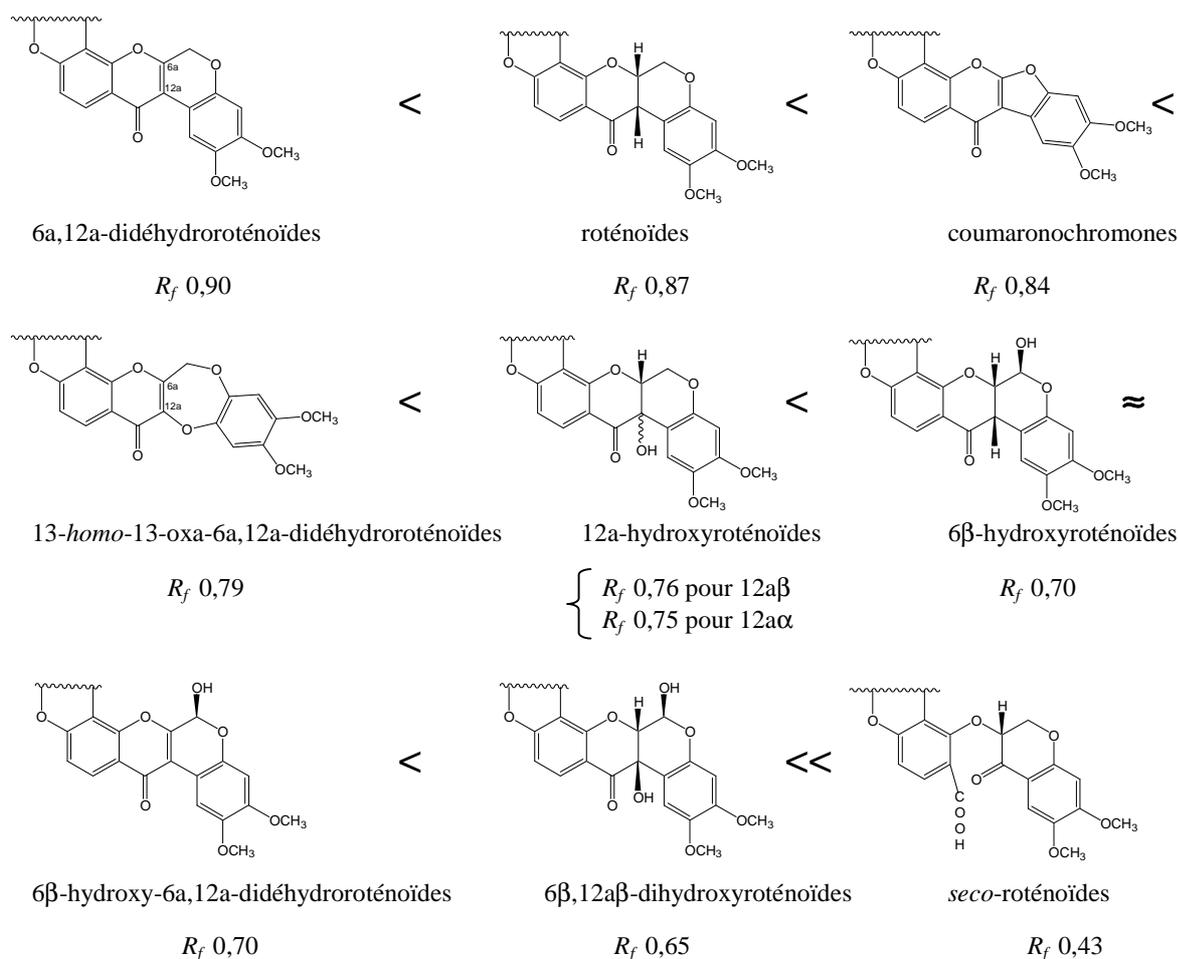


Figure 30 : Les effets électroniques au niveau des deux isomères d'acide

2. Polarité des différents groupes de composés isolés.

Les roténoïdes isolés sous forme d'isomères constitutionnels de *L. nicou* se distinguent en neuf sous-groupes selon leur polarité. Ils sont classés comme indiqué ci-dessous, du moins polaire au plus polaire sur gel de silice avec un mélange de solvant constitué de $C_6H_5CH_3$: MeCOEt : MeOH (75 : 15 : 10). Ainsi, les 6a,12a-didéhydroroténoïdes sont les moins polaires contrairement aux dérivés acides qui constituent les composés les plus polaires.



La difficulté de séparation provient surtout des monohydroxyroténoïdes (12a-hydroxyroténoïdes, 6β-hydroxyroténoïdes et 6β-hydroxy-6a,12a-didéhydroroténoïdes) qui sont de polarité voisine. Néanmoins les dérivés 12a-hydroxyroténoïdes (alcools tertiaires) se démarquent des deux autres groupes (alcools secondaires) par une polarité faible. En outre, à l'intérieur du groupe des 12a-hydroxyroténoïdes on note une légère différence mais néanmoins significative au niveau de la polarité entre les dérivés 12aβ-hydroxyroténoïdes (moins polaires) et les dérivés 12aα-hydroxyroténoïdes (plus polaires). Tous ces composés, malgré leur hydroxylation et les autres fonctionnalisations, restent très lipophiles grâce à la prénylation et à la diméthoxylation permanente.

III. COMPORTEMENT EN RMN ¹H DES DEUX FAMILLES D'ISOMERES.

En RMN ¹H, les deux grandes familles d'isomères constitutionnels se distinguent très facilement par les protons du cycle E.

Dans le cas de la 12aβ-hydroxyroténone (**L4**) (Figure 31) ou des dérivés de la roténone en général, ce cycle E se caractérise par la présence d'un méthyle (H-8', δ 1,76 ppm), de 2 protons sous forme de singulets élargis (2 x H-7', δ 5,06 et 4,93 ppm), d'un proton sous forme de triplet élargi (H-5', δ 5,23 ppm) et de deux autres protons sous forme de double doublet (H-4', δ 3,29 et 2,93 ppm).

Les dérivés de déguéline (**L16**) (Figure 32) se caractérisent en RMN ^1H par deux doublets (l'un avec $\delta > 6$ ppm et l'autre avec un déplacement chimique compris entre 5 et 6 ppm) présentant

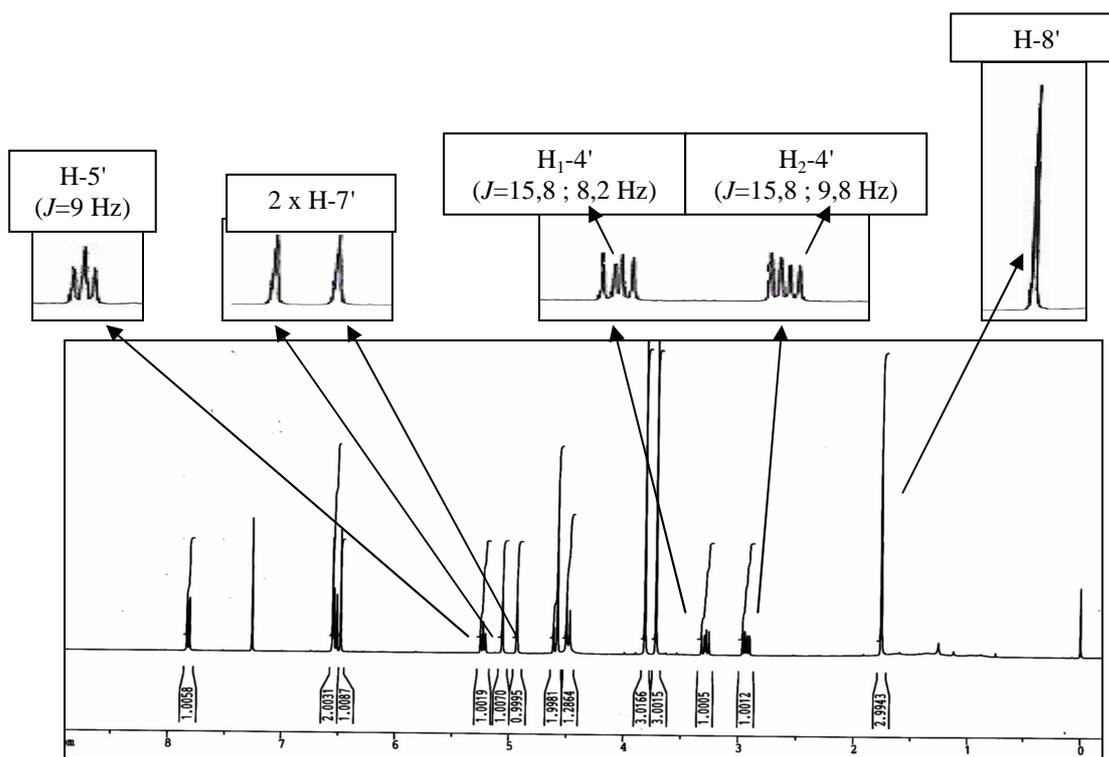


Figure 31 : RMN ^1H (400 MHz ; CDCl_3) de la 12 β -hydroxyroténone (**L4**)

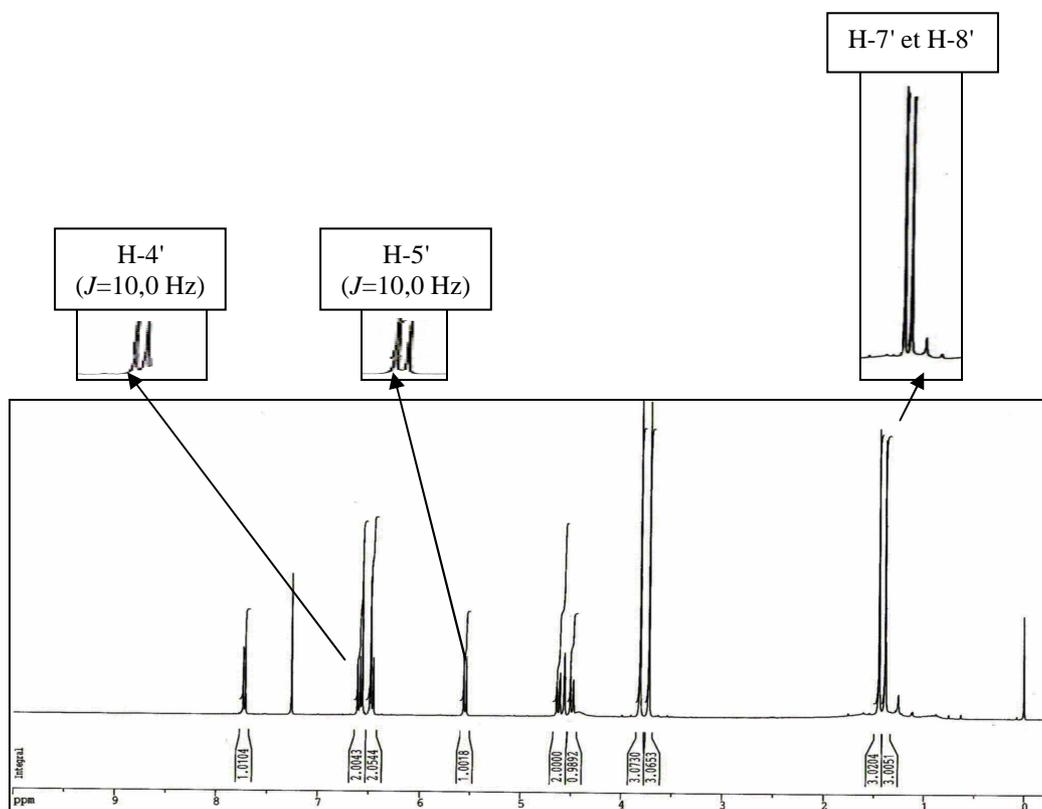


Figure 32 : RMN ^1H (400 MHz ; CDCl_3) de la téphrosine (**L18**)

une constante de couplage d'environ 10,0 Hz, caractéristique d'une double liaison *cis*-éthylénique. On note aussi dans cette famille de composés la présence de 2 groupements méthyles (H-7' et H-8', δ 1,45 et 1,39 ppm) qui deviennent isochrones lorsque la molécule est plane comme c'est le cas de la 6a,12a-didéhydrodégueline (L24) et de ses dérivés.

1. L'influence de la stéréochimie en position 12a sur le déplacement chimique de H-1

Le déplacement chimique de H-1 est un indicateur de la stéréochimie en position 12-a. En effet ce proton se déblindé fortement ($\Delta\delta = +1,26$ ppm) quand on passe des dérivés 12a β -OH au dérivés 12a α -OH roténoïdes. Cette particularité a été relatée plusieurs fois dans la littérature et permet de faire une distinction entre les jonctions B/C *cis* et B/C *trans*. La jonction B/C *trans* reste dans la plupart des cas thermodynamiquement instable [CROMBIE, 1963 ; CROMBIE et WHITING, 1998].

2. L'influence de la double liaison en 6a,12a sur le déplacement chimique de H-1

Une insaturation supplémentaire en 6a,12a, lorsqu'elle existe entraîne également un déblindage du proton en position 1. Ce déblindage entre les dérivés 6a β ,12a β -hydrogénés et les dérivés 6a,12a-didéhydrogénés ($\Delta\delta \approx +1,69$ ppm) est plus important que celui relevé entre les dérivés 12a β -OH et 12a α -OH. De plus cette insaturation engendre la planéité des molécules dérivées de la déguéline, dont les méthyles deviennent isochrones et donc indissociables en RMN ^1H et ^{13}C . Il faut noter qu'en général, plus le proton en position 1 et le groupement carbonyle en 12 sont coplanaires plus H-1 va se déblinder grâce à son orientation particulière lui permettant de se retrouver parfaitement dans le cône d'anisotropie du groupement carbonyle en 12. C'est le cas des molécules planes comme les dérivés 6a,12a-didéhydrogénés des roténoïdes et les coumaronochromones.

IV. COMPORTEMENT EN SM DES ROTÉNOÏDES

La plupart des spectres de masse des roténoïdes montrent un pic de base résultant d'un réarrangement d'ion du type Retro Diels-Alder (RDA) de l'ion moléculaire. Ainsi tous les roténoïdes ayant un cycle E (PDHF ou DMP), qui possèdent un hydrogène en 12a (12a-H) ou un hydroxyle (12a-OH), donneront respectivement un pic de base à m/z 192 et m/z 208. Cependant le réarrangement du type RDA caractérise les noyaux A et B alors que le pic de faible abondance à m/z 202 est généralement associé aux noyaux D et E.

Au niveau des dérivés 6a,12a didéhydroroténoïdes, le réarrangement du type RDA donne des pics de faible intensité due à l'énergie très élevée des fragments formés. D'autres fragmentations sont aussi importantes même si elles génèrent des ions de faible abondance, probablement due à la grande stabilité du squelette des roténoïdes et à l'existence d'une voie de

fragmentation privilégiée (Figure 33). La perte d'un $\cdot\text{CH}_3$ est normalement associée à la présence d'un groupement méthyle sur le noyau E ou d'un groupement méthoxyle en position 2.

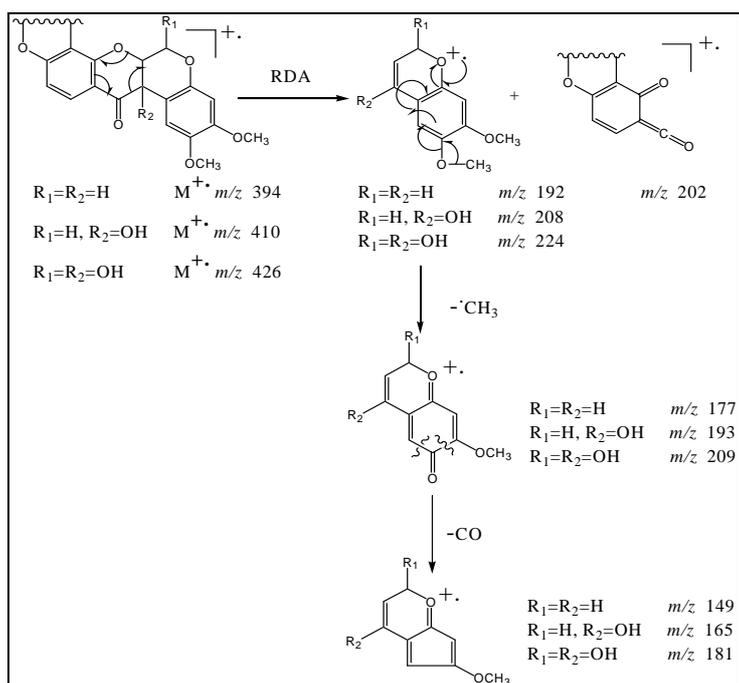


Figure 33 : Fragmentations caractéristiques des roténoïdes.

Dans le premier cas, l'assistance de l'oxygène de l'hétérocycle E (O-1') pourrait expliquer la perte de $\cdot\text{CH}_3$ alors que dans le deuxième cas ce sont les oxygènes du groupement méthoxyle en C-3 et de du cycle B en position 5 qui vont contribuer à cette perte.

La perte d'un $\cdot\text{CH}_3$ à partir de l'ion moléculaire est strictement réservée aux dérivés de la déguéline (L16) et constitue un très bon argument pour faire la distinction entre les dérivés de la roténone d'une part et ceux de la déguéline d'autre part. La perte radicalaire de $\cdot\text{CH}_3$ au niveau du groupement méthoxyle en position 2 est suivie d'une perte moléculaire dans l'étape de fragmentation suivante du monoxyde de carbone (Figure 34).

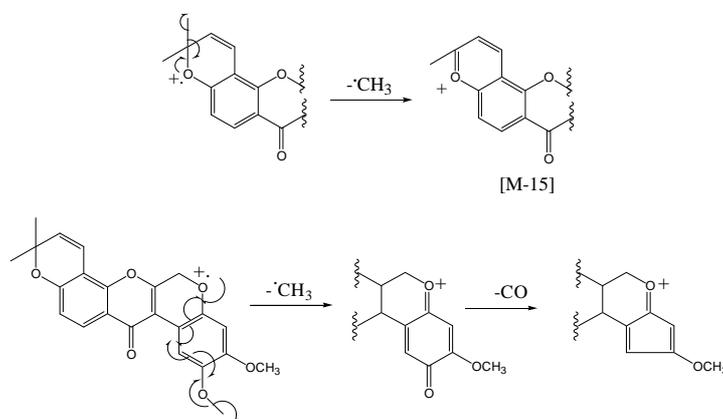


Figure 34 : Fragmentations caractéristiques des dérivés de la déguéline.

V. ACTIVITE BIOLOGIQUE DES QUATRE ROTENOÏDES TESTES

Sur l'ensemble des résultats obtenus, lors des tests biologiques sur les deux lignées cellulaires, les cellules HEL sont plus sensibles vis-à-vis des produits testés que les cellules 1547 de l'ostéosarcome. Ceci reste conforme à nos prévisions car les cellules HEL, étant des cellules en suspension, présentent une plus grande surface membranaire aux différents composés, contrairement aux cellules adhérentes que sont les cellules de la lignée 1547. En outre le cycle E des dérivés de la roténone montre une activité de cinq à cinquante fois plus importante que celles des dérivés de son isomère constitutionnel. Cette activité plus marquée de la roténone et ses dérivés peut s'expliquer par la présence d'un carbone asymétrique ou de la chaîne isopropényle du cycle E. En revanche la quasi planéité du cycle E des dérivés de la déguéline due à la conjugaison supplémentaire ne permet pas d'améliorer l'activité antiproliférative.

L'évaluation biologique préliminaire des quatre roténoïdes principaux en ce qui concerne l'activité antiproliférative peut être reliée à l'activité biologique d'autres types de flavonoïdes prénylés comme la 6-prénylnaringénine, la 8-prénylnaringénine et le xanthohumol, des phytoestrogènes isolés de *Humulus lupulus*, qui présentent une activité anti-proliférative vis-à-vis de différentes lignées cellulaires cancéreuses et un effet préventif contre les cancers hormono-dépendants [MIRANDA *et al.*, 1999].

B. CONCLUSION

L'étude phytochimique des racines de *Lonchocarpus nicou* a permis de mettre en évidence, par des techniques chromatographiques (CCM, CCM centrifuge, MPLC et HPLC) et spectroscopiques (UV, RMN et SM) 38 composés naturels, dont 3 sont à l'état de traces, dans les extraits benzénique et hexanique. A l'exception de quelques uns, les produits naturels isolés présentent des structures proches essentiellement sous forme de couple d'isomères constitutionnels se différenciant exclusivement au niveau de la prénylation cyclisée. En effet, des douze couples d'isomères identifiés à partir de *L. nicou*, neuf sont issus du squelette roténoïde, un de l'extension du cycle B aboutissant aux 13-*homo*-13-oxa-didéhydroroténoïdes, un autre de la réduction du cycle B conduisant aux coumaronochromones et un dernier plus polaire que les précédents, qualifié de *seco*-roténoïdes avec une ouverture du cycle C. Parmi tous ces métabolites secondaires appartenant quasi exclusivement au groupe des isoflavonoïdes, treize sont isolés pour la première fois dans le règne végétal et sept sont cités pour la première fois dans le genre.

Les résultats de l'étude phytochimique sont en accord avec les travaux antérieurs réalisés dans l'espèce voire dans le genre *Lonchocarpus*, avec l'accumulation privilégiée, surtout au niveau des racines, des flavonoïdes prénylés. Sur le plan quantitatif, ces résultats confirment le fait que ce genre ainsi que les genres voisins (*Derris* et *Tephrosia*) de la tribu des Millettieae, accumulent particulièrement les roténoïdes, surtout les roténoïdes parents que sont la roténone et la déguéline.

Les tests biologiques préliminaires réalisés sur les quatre molécules majeures, roténone (L2), 12a β -hydroxyroténone (L4), déguéline (L16) et téphrosine (L18), en vue d'évaluer leurs activités antiproliférative et cytotoxique sur les lignées cellulaires HEL (cellules érythroleucémiques humaines) et 1547 (cellules de l'ostéosarcome humain) se sont montrés très satisfaisants. En effet, nos résultats montrent que ces quatre composés possèdent tous une activité antiproliférative significative sur les deux lignées cellulaires. En outre, la déguéline (L16) et la téphrosine (L18) ne montrent pas d'activité cytotoxique contrairement à la roténone (L2) et à la 12a β -hydroxyroténone (L4) qui présentent une activité cytotoxique seulement pour les concentrations comprises entre 5 μ M et 20 μ M, alors que leurs IC₅₀ respectives est de l'ordre du nanomolaire.

Au vue de ces résultats il serait très intéressant de partir d'une quantité de racine plus importante en vue d'augmenter la quantité des produits mineurs comme les 13-*homo*-13-oxa-6a,12a-didéhydroroténoïdes, les coumaronochromones et les *seco*-roténoïdes afin de pouvoir évaluer l'influence d'un agrandissement ou d'une réduction du cycle B sur l'activité biologique et aussi de l'influence de la coupure oxydative du cycle C.

Les résultats phytochimiques et biologiques obtenus tout au long de ce travail, ne peuvent qu'encourager les investigations à partir d'autres parties de la plante (écorce, feuille...) afin de rechercher des roténoïdes plus oxydés et hydroxylés, voire glycosylés.

Il serait également intéressant de travailler sur les extraits polaires de racines de *L. nicou* afin d'avoir un profil phytochimique complet de cette espèce et de rechercher d'autres groupes de composés comme par exemple les flavanones et ses dérivés qui abondent dans le genre et qui n'ont jamais été isolés chez *L. nicou*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

ABE N., SATO H., SAKAMURA S.

Antifungal stress compounds from adzuki bean, *Vigna angularis*, treated with *cephalosporium gregatum* type B.

Agricultural and Biological Chemistry (1987), **51** (2), 349-353.

ADITYACHAUDHURY N., GUPTA P. K.

A new pterocarpan and coumestan in the roots of *Flemingia chappar*.

Phytotherapy (1973), **12** (2), 425-428.

ANDREI C. C., FERREIRA D. T., FACCIONE M., de MORAES L. A. B., de CARVALHO M. G., BRAZ F. R.

C-prenylflavonoids from roots of *Tephrosia tunica*.

Phytochemistry (2000), **55**, 799-804.

ANDREI C. C., VIEIRA P. C., FERNANDES B. J., DA SILVA M. F. D. G. F., FO R. E.

New spirorotenoids from *Tephrosia candida*.

Journal of Bioscience (2002), **57** (5/6), 418-422.

AKHMEDOVA Z. R.

Substrate specificity of extracellular lignin peroxidases of the wood-rot fungus *Pleurotus ostreatus*.

Khimiya Prirodnikh Soedinenii (1996), **4**, 596-601.

AL-HAZIMI H. M. G., BASHA R. M., AL-ZOMAN M. M.

A *p*-coumaric acid ester and flavonoids from *Artemisia monosperma*.

Oriental Journal of Chemistry (1992), **8** (3), 203-207.

ALAVEZ-SOLANO D., REYES-CHILPA R., JIMENEZ-ESTRADA M., GOMEZ-GARIBAY F., CHAVEZ-URIBE I., SOUSA-SANCHEZ M.

Flavanone and 3-hydroxyflavanones from *Lonchocarpus oaxacensis*.

Phytochemistry (2000), **55**, 953-957.

B

BHATTACHARYYA B., JOHRI B. M.

Flowering plants, taxonomy and phylogeny.

Ed° Springer-Verlag (1998), Berlin, 253-256.

BIRCH N., CROMBIE L., CROMBIE W. M.

Rotenoids of *Lonchocarpus salvadorensis*: Their effectiveness in protecting seeds against bruchid predation.

Phytochemistry (1985), **24** (12), 2881-2883.

BIRDSONG B. A., ALSTON R., TURNER B. L.

Distribution of canavanine in the family Leguminosae as related to phyletic groupings.

Canadian Journal of Botany (1960), **38**, 499-505.

BLATT C. T. T., CHAVEZ D., CHAI H. Y., GRAHAM J. G., CABIESES F., FARNSWORTH N. R., CORDELL G. A., PEZZUTO J. M., KINGHORN A. D.

Cytotoxic flavonoids from the stem bark of *Lonchocarpus* aff. *fluvialis*.

Phytotherapy Research (2002), **16**, 320-325.

BORGES-ARGAEZ R., PEÑA-RODRIGUEZ L. M., WATERMAN P. G.

Flavonoids from the stem bark of *Lonchocarpus xuul*.

Phytochemistry (2000), **54**, 611-614.

BORGES-ARGAEZ R., PEÑA-RODRIGUEZ L. M., WATERMAN P. G.

Flavonoids from two *Lonchocarpus* species of Yucatan Peninsula.

Phytochemistry (2002), **60**, 533-540.

BRAZ F. R., GOTTLIEB O. R., MOURAO A. P., Da ROCHA A. I., OLIVEIRA F. S.

Flavonoids from *Derris* species.

Phytochemistry (1975), **14** (5/6), 1454-1456.

BRUNETON J.

Pharmacognosie, Phytochimie des plantes médicinales.

Ed° TEC & DOC (1999), 3^{ème} édition, Paris, 347-351.

BUSHWAY R. J., ENGDAHL B. S., COLVIN B. M., HANKS A. R.

Separation of rotenoids and the determination of rotenone in pesticide formulations by high-performance liquid chromatography.

Journal Association of Official Analytical Chemists (1975), **58** (5), 965-970.

C

CARLSON D.G., WEISLEDER D., TALLENT W.H.

NMR investigations of rotenoids.

Tetrahedron (1973), **29**, 2731-2741.

CHEVALIER A.

Plantes ichthyotoxiques des colonies françaises contenant la roténone ou présumées en contenir.

Revue de Botanique Appliquée et d'Agriculture Tropicale (1937 a), **17**, 565-586.

CHEVALIER J., CHEVALIER M.

Les plantes à roténone : *Derris*, *Cubé*, *Timbo*.

Bulletin des sciences pharmaceutiques (1937 b), **44**, 223-241.

CLARK E. P.

Deguelin. I. The preparation, purification and properties of deguelin, a constituent of certain tropical fish-poisoning plants.

Journal of the American Chemical Society (1931), **53**, 313-317.

CLARK E. P., CLABORN H. V.

Tephrosin. II. Isotephrosin.

Journal of the American Chemical Society (1932), **54**, 4454-4456.

CROMBIE L.

Chemistry of the natural rotenoids.

Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe (1963), **21**, 275-325.

CROMBIE L., HOLDEN I., KILBEE G. W., WHITING D. A.

Formation and dehydration of a prochiral 2-hydroxyisopropyl center during biosynthesis: the rot-2'-enonic acid-rotenone transformation in *Amorpha fruticosa*.

Journal of the Chemical Society, Chemical Communications (1979), **24**, 1143-1144.

CROMBIE L., WHITING D. A.

Biosynthesis in the rotenoid group of natural products: applications of isotope methodology.

Phytochemistry (1998), **49** (6), 1479-1507.

CUNHA G. M. A., FONTENELE J. B., JÚNIOR H. V. N., De SOUSA F. C. M., SILVEIRA E. R.,

NOGUEIRA N. A. P., De MORAES M. O., VIANA G. S. B., COSTA-LOTUFO L. V.

Cytotoxic activity of chalcones isolated from *Lonchocarpus sericeus* (Pocr.) Kunth.

Phytotherapy Research (2003), **17**, 155-159.

CUNNINGHAM M. L., SOLIMAN M. S., BADR M. Z., MATTHEWS H. B.

Rotenone, an anticarcinogen, inhibits cellular proliferation but not peroxisome proliferation in mouse liver.

Cancer Letters (1995), **95**, 93-97.

D

DAGNE E., YENESEW A., WATERMAN P. G.

Flavonoids and isoflavonoids from *Tephrosia fulvinervis* and *Tephrosia pentaphylla*
Phytochemistry (1989), **28** (11), 3207-3210.

De WIT H.

Les plantes du monde.

Ed° Hachette (1963), Paris, 308-323.

del RIO J. C., RODRIGUEZ I. M., GUTIERREZ A.

Identification of intact long-chain *p*-hydroxycinnamate esters in leaf fibers of abaca (*Musa textilis*) using gas chromatography/mass spectrometry.

Rapid Communications in Mass Spectrometry (2004), **18** (22), 2691-2696.

DEL FEL N. E., TALLENT W. H.

Thin layer densitometric determination of rotenone and deguelin.

Journal of the Association of Official Analytical Chemists (1969), **52**, 182.

DELLE M. F., MARLETTI F., MARINI-BETTOLO G. B., De MELLO J. F., De LIMA O. G.

Isolation and structure of Longistylines A, B, C and D, new prenylated stilbenes from *Lonchocarpus violaceus*.

Llyodia (1977), **40** (2), 201-208.

DELLE M. F., CUCA S. L. E., MARINI-BETTOLO G. B.

Flavonoids from seeds of six *Lonchocarpus* species.

Phytochemistry (1978), **17**, 1812-1813.

DELLE M. F., FERRARI F., MENICHINI F.

Two isoflavones from *Piscidia erythrina*.

Phytochemistry (1984), **23** (12), 2945-2947.

DO NASCIMENTO M. C., MORS W. B.

Chalcones of the root bark of *Derris sericea*.

Phytochemistry (1972), **11** (10), 3023-3028.

DO NASCIMENTO M. C., DIAS R. L. V., MORS W. B.

Flavonoids of *Derris obtusa*: Aurones and auronols.

Phytochemistry (1976), **15** (10), 1553-1558.

DOBHAL M. P., HASAN A. M., SHARMA M. C., JOSHI B. C.

Ferulic acid esters from *Plumeria bicolor*.

Phytochemistry (1999), **51** (2), 319-321.

E

EL-SAYED N. H., SOHER E. A., MASOUD R. A., MABRY T. J.

Flavonoids of *Lonchocarpus speciosus*.

Asian Journal of Chemistry (1997), **9** (4), 738-741.

EVANS S. V., FELLOWS L. E., BELL E. A.

Distribution and systematic significance of basic non-protein aminoacids and amines in the Tephrosieae.

Biochemical Systematics and Ecology (1985), **13** (3), 271-302.

F

FANG N., CASIDA J. E.

Novel bioactive cube insecticide constituents: isolation and preparation of 13-homo-13-oxa-6a,12a-dehydrorotenoids.

Journal of Organic Chemistry (1997), **62**, 350-353.

FANG N., CASIDA J. E.

Anticancer action of cube insecticide: correlation for rotenoid constituents between inhibition of NADH: ubiquinone oxidoreductase and induced ornithine decarboxylase activities.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA (1998), **95**, 3380-3384.

FANG N., CASIDA J. E.

Cubé resin insecticide: identification and biological activity of 29 rotenoid constituents.

Journal of Agricultural and Food Chemistry (1999), **47**, 2130-2136.

FALSHAW C. P., OLLIS W. D., MOORE J. A., MAGNUS K. E.

Extractives of *Piscidia erythrina*. III. The constitutions of lisetin, piscidone and piscerythron.

Tetrahedron (1966), (7), 333-348.

FELLOWS L. E., HIDER R. C., BELL E. A.

3-[2-Amino-2-imidazolin-4(5)-yl] alanine (Enduracididine) and 2-[2-Amino-2-imidazolin-4(5)-yl] acetic acid in seeds of *Lonchocarpus sericeus*.

Phytochemistry (1977), **16**, 1957-1959.

FELLOWS L. E., POLHILL R. M., BELL E. A.

3-[2-Amino-2-imidazolin-4-yl] alanine, 2-[2-Amino-2-imidazolin-4-yl] acetic acid, 2-amino-imidazole and other Guanidine derivatives in the Tephrosieae.

Biochemical Systematics and Ecology (1978), **6**, 213-215.

FELLOWS L. E., BELL E. A., LEE T. S., JANZEN D. H.

Tetrahydrothyridine: A new amino acid from seeds of *Lonchocarpus costaricensis*.

Phytochemistry (1979), **18** (8), 1333-1335.

FIELD MUSEUM.

Environmental and Conservation Programs : Neotropical Live Plant Photos [en ligne]. Chicago, USA, 2005. (consultée le 12/07/05 à 16 h)

Disponible sur < <http://fm2.fieldmuseum.org/plantguides/results.asp?genus=Lonchocarpus> >

G

GEOFFROY E.

Contribution à l'étude du *Robinia nicou* Aublet, chimique et physiologique.

Extrait des Annales de L'Institut Colonial de Marseille (1895), **2**, 1-86.

GOMES C. M. R., GOTTLIEB O. R., BETTOLO G. B. M., DELLE F. M., POLHILL R. M.

Systematic significance of flavonoids in *Derris* and *Lonchocarpus*.

Biochemical Systematics and Ecology (1981), **9** (2/3), 129-147.

GOMEZ-GARIBAY F., CHILPA R. R., QUIJANO L., PARDO J. S. C., RIOS C. T.
Methoxy furan auranols with fungistatic activity from *Lonchocarpus castilloi*.
Phytochemistry (1990), **29** (2), 459-463.

GONCALVES de L. O., De MELLO J. F., De BARROS COELHO J. S., De ANDRADE L. F. D.,
MACHADO A. M., MARINI-BETTOLO G. B., DELLE M. G., DELLE M. F.
New prenylated chalcones from *Lonchocarpus neuroscapha* Benth (Cordia piaca).
Il Farmaco, Ed. Sc. (1975), **30** (5), 326-342.

GREENAMYRE J. T., SHERER T. B., BETARBET R., PANOV A. V.
Complex I and Parkinson's Disease.
International Union of Biochemistry and Molecular Biology: Life (2001), **52** (3/5), 135-141.

GUPTA R. K., KRISHNAMURTI M.
New Dibenzoylmethane and chalcones derivatives from *Millettia ovalifolia* seeds.
Phytochemistry (1977), **16** (7), 1104-1105.

H

HAIL N., LOTAN R.
Apoptosis induction by the natural product cancer chemopreventive agent degueline is mediated through the inhibition of mitochondrial bioenergetics.
Apoptosis (2004), **9**, 437-447.

HASHIDOKO Y., TAHARA S., MIZUTANI J.
New complex isoflavones in the roots of yellow lupin (*Lupinus luteus* L., cv. Barpine).
Agricultural and Biological Chemistry (1986), **50** (7), 1797-1807.

HANRIOT M.
The active constituents of *Tephrosia vogelii*.
Comptes Rendus (1907), **144**, 150-152.

HARBORNE J.B., MABRY T. J., MABRY H.
The flavonoids.
Ed° Chapman & Hall (1975), London.

HARBORNE J.B.
The flavonoids: advances in research since 1986.
Ed° Chapman & Hall (1994), London.

HARPER S. H.
Active principles of leguminous fish-poison plants. IV. The isolation of malaccol from *Derris malaccensis*.
Journal of the Chemical Society (1940), 309-314.

HARPER S. H., UNDERWOOD W. G. E.
Active principles of leguminous fish-poison plants. X. Toxicarol isoflavone.
Journal of the Chemical Society (1965), 4203-4204.

HERMANN F. J.
The Amazonian varieties of *Lonchocarpus nicou*, a rotenone-yielding plants.
Journal of the Washington Academy of Sciences (1947), **37** (4), 111-113.

HU J., FENG X.
Triterpenoids, *p*-coumaric acid esters and flavonoids from *Artemisia igniaria*.
Planta Medica (2000), **66** (7), 684-686.

I

INGHAM J. L., TAHARA S., DZIEDZIC S. Z.

Major flavanones from *Lonchocarpus guatemalensis*.

Zeitschrift fuer Naturforschung (1988), **C 43** (11/12), 818-822.

IOSET J.-R., MARSTON A., GUPTA M. P., HOSTETTMANN K.

Five new prenylated stilbenes from the root bark of *Lonchocarpus chiricanus*.

Journal of Natural Products (2001), **64**, 710-715.

ISLAM A., GUPTA R. K., KRISHNAMURTI M.

Furano chalcone and prenylated flavanones from *Millettia ovalifolia* seeds.

Phytochemistry (1980), **19** (7), 1558-1559.

IWU M. M., OHIRI F. C.

Anti-arthritic triterpenoids of *Lonchocarpus cyanescens* Benth.

Canadian Journal of Pharmaceutical Sciences (1980), **15** (2), 39-42.

J

JENSEN K. A., HOUTMAN C. J., RYAN Z. C., HAMMEL K. E.

Pathways for extracellular Fenton chemistry in the brown rot basidiomycete *Gloeophyllum trabeum*.

Applied and Environmental Microbiology (2001), **67** (6), 2705-2711.

K

KAMAL R., MANGLA M.

Rotenoids from *Indigofera tinctoria* and their bioefficacy against Cyclops, the carrier of dracunculiasis.

Pharmazie (1987), **42** (5), 356.

KAOUADJI M., AGBAN A., MARIOTTE A.-M., TISSUT M.

Lonchocarpene, a stilbene and lonchocarpusone, an isoflavone: two new pyranopolyphenols from *Lonchocarpus nicou* roots.

Journal of Natural Products (1986), **49** (2), 281-285.

KAOUADJI M.

Two new C-prenylated derivatives of 2,4-dihydroxybenzoic acid from *Lonchocarpus nicou* roots.

Journal of Natural Products (1988), **51** (2), 376-378.

KILLIP E. P., SMITH A. C.

The identity of the South American fish poisons, "cubé" and "timbo".

Journal of the Washington Academy of Sciences (1930), **20**, 74-81.

KIM C. Y., IM. H. M., KIM H. K., HUH H.

Accumulation of 2,5-dimethoxy-1,4-benzoquinone in suspension cultures of *Panax ginseng* by fungal elicitor preparation and a yeast elicitor preparation.

Applied Microbiology and Biotechnology (2001), **56** (1/2), 239-242.

KOLE R. K., SATPATHI C., CHOWDHURY A., GHOSH, M. R., ADITYACHAUDHURY, N.

Isolation of amorpholone, a potent rotenoid insecticide from *Tephrosia candida*.

Journal of Agricultural and Food Chemistry (1992), **40**, 1208-1210.

KRUKOFF B. A., SMITH A.C.

Rotenone-yielding plants of South America.

American Journal of Botany (1937), **24** (9), 573-587.

L

- LAWSON A. M., KAOUADJI M., ALLAIS D. P., CHAMPAVIER Y., CHULIA A. J.
Substituted tubaic acids, new oxidative rotenoid metabolites from *Lonchocarpus nicou*.
Tetrahedron Letters (2006), **47**, 451-454.
- LI L., WANG H.-K., CHANG J.-J., Mc PHAIL A. T., McPHAIL D. R., TERADA H.,
KONOSHIMA T., KOKUMAI M., KOZUKA M., ESTES J. R., LEE K.-H.
Antitumor agents, 138. Rotenoids and isoflavones as cytotoxic constituents from *Amorpha fruticosa*.
Journal of Natural Products (1993), **56** (5), 690-698.
- LI N., RAGHEB K., LAWLER G., STURGIS J., RAJWA B., MELENDEZ J. A., ROBINSON P. J.
Mitochondrial complex I inhibitor rotenone induces apoptosis through enhancing mitochondrial reactive oxygen species production.
Journal of Biological Chemistry (2003), **278** (10), 8516-8525.
- LIN Y.-L., KUO Y.-H.
Two new coumaronochromone derivatives, oblongin and oblonginol from the root of *Derris oblonga* Benth.
Heterocycles (1993), **36** (7), 1501-1507.
- LIN Y.-L., CHEN Y.-L., KUO Y.-S.
Three new flavonoids, 3'-Methoxylupinifolin, Laxifolin and Isolaxifolin from the roots of *Derris laxiflora* Benth.
Chemical and Pharmaceutical Bulletin (1991), **39** (12), 3132-3135.
- LIN Y.-L., CHEN Y.-L., KUO Y.-S.
Two new flavanones and two new chalcones from the root of *Derris laxiflora* Benth.
Chemical and Pharmaceutical Bulletin (1992), **40** (9), 2295-2299.
- LIN L.-C., CHOU C.-J., YANG L.-M.
Chemical constituents from the fruit of *Spiraea formosana*.
Chinese Pharmaceutical Journal (1999), **51** (4), 299-305.
- LO W.-L., CHANG F.-R., HSIEH T.-J., WU Y.-C.
Coumaronochromones and flavanones from *Euchresta formosana* roots.
Phytochemistry (2002a), **60**, 839-845.
- LO W.-L., CHANG F.-R., LIAW C.-C., WU Y.-C.
Cytotoxic coumaronochromones from the roots of *Euchresta formosana*.
Planta Medica (2002b), **68** (2), 146-151.
- LUYENGI L., LEE I.-S., MAR W., FONG H. H. S., PEZZUTO J. M., KINGHORN A. D.
Rotenoids and chalcones from *Mundulea sericea* that inhibit phorbol ester-induced ornithine decarboxylase activity.
Phytochemistry (1994), **36** (6), 1523-1526.
- LYRA D. A., De MELLO J. F., DELLE M. G., DELLE M. F., MARINI-BETTOLO G. B.
Flavonoids from *Derris mollis*.
Gazzetta Chimica Italiana (1979), **109** (1/2), 93-94.

M

MABRY T. J., MARKHAM K. R., THOMAS M. B.

The systematic identification of flavonoids.

Ed° Springer-Verlag (1970), Berlin.

MACBRIDE J.F.

Leguminosae. In: Flora of Peru.

Field Museum of Natural History (1943), **13**(3), 28-267.

MAGALHÃES A. F., TOZZI A. M. G. A., SALES B. H. L. N., MAGALHÃES E. G.

Twenty three flavonoids from *Lonchocarpus subglaucescens*.

Phytochemistry (1996), **42** (5), 1459-1471.

MAGALHÃES A. F., TOZZI A. M. G.A., MAGALHÃES E. G., BLANCO I. S., NOGUEIRA M. A.

Three dibenzoylmethane derivatives from *Lonchocarpus* species.

Phytochemistry (1997), **46** (6), 1029-1033.

MAGALHÃES A. F., RUIZ A. L. T. G., TOZZI A. M. G. A., MAGALHÃES G.

Dihydroflavonols and flavanones from *Lonchocarpus atropurpureus* roots.

Phytochemistry (1999), **52**, 1681-1685.

MAGALHÃES A. F., TOZZI A. M. G. A., MAGALHÃES E. G., NOGUEIRA M. A., QUEIROZ S. C. N.

Flavanoids from *Lonchocarpus latifolius* roots.

Phytochemistry (2000), **55**, 787-792.

MAGALHÃES A. F., SANTOS C. C., MAGALHÃES E. G., NOGUEIRA M. A.

Detection of polyhydroxyalkaloids in *Lonchocarpus* extracts by GC-MS of acetylated derivatives.

Phytochemical Analysis (2002), **13**, 215-221.

MAHMOOD U., KAUL V. K., ACHARYA R., JIROVETZ L.

p-Coumaric acid esters from *Tanacetum longifolium*.

Phytochemistry (2003), **64** (4), 851-853.

MAHMOUD E. N., WATERMAN P. G.

Minimiflorin: A new 2'-hydroxyflavanone from *Lonchocarpus minimiflorus* seeds.

Journal of Natural Products (1985), **48** (4), 648-650.

MAHMOUD E. N., WATERMAN P. G.

Flemitricitin B: a chalcone from the seeds of *Lonchocarpus sericeus*.

Journal of Natural Products (1986), **49** (6), 1179-1180.

MARZ K. W.

Toxic constituents of the seed of *Tephrosia vogelii*.

Archiv der Pharmazie (1932), **270**, 362-362.

MENICHINI F., DELLE M. F., MARINI B. G. B.

Flavonoids and rotenoids from tephrosieae and related tribes of leguminosae.

Planta Medica (1982), **45**, 243-244.

MIRANDA C. L., STEVEN J. F., HELMRICH A., HENDERSON M. C., RODRIGUEZ R. J.,

YANG Y.-H., DEINZER M. L., BARNES D. W., BULHER D. R.

Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines.

Food and Chemical Toxicology (1999), **37** (4), 271-281.

MIZUNO M., TAMURA K.-I., TANAKA T., IINUMA M.
A novel coumaronochromones from the stems of *Euchresta japonica* and its antibacterial activity.
Heterocycles (1988), **27** (9), 2047-2050.

MIZUNO M., TANAKA T., TAMURA K.-I., IINUMA M.
Coumaronochromones from the stems of *Euchresta formosana*.
Phytochemistry (1989), **28** (9), 2518-2519.

MIZUNO M., BABA K., IINUMA M., TANAKA T.
Coumaronochromones from leaves of *Desmodium oxyphyllum*.
Phytochemistry (1992), **31** (1), 361-363.

MORETTI C., GRELAND P.
Les nivrées ou plantes ichthyotoxiques de la Guyane française.
Journal of Ethnopharmacology (1982), **6** (2), 139-160.

MOSMANN T.
Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays.
Journal of Immunological Methods (1983), **65** (1/2), 55-63.

MURILLO G., SALTI, G. I., KOSMEDER J. W., PEZZUTO J. M., MEHTA R. G.
Deguelin inhibits the growth of colon cancer cells through the induction of apoptosis and cell cycle arrest.
European Journal of Cancer (2002), **38**, 2446-2454.

N

NEUWINGER H. D.
African Ethnobotany, poisons and drugs.
Ed° Chapman & Hall (1996), Weinheim, 682-715.

O

OBARA Y., MATSUBARA H., MUNAKATA K.
Isolation and identification of tubaic acid and β -tubaic acid from *Derris* roots.
Agricultural and Biological Chemistry (1976), **40** (6), 1245-1246.

OBERHOLZER M. E., RALL G. J. H., ROUX D. G.
The concurrence of 12a-hydroxy- and 12a-O-methylrotenoids. Isolation of the first natural 12a-O-methylrotenoids.
Tetrahedron Letters (1974), **25**, 2211-2214.

OBERHOLZER M. E., RALL G. J. H., ROUX D. G.
New natural rotenoids and pterocarpanoid analogues from *Neorautanenia amboensis*.
Phytochemistry (1976), **15**, 1283-1284.

ORTH M., TABRIZI S. J.
Models of Parkinson's Disease.
Movement Disorder (2003), **18** (7), 729-737.

P

PAIVA N. L., SUN Y., DIXON R. A., VANETTEN H. D., HRAZDINA G.

Molecular cloning of isoflavone reductase from pea (*Pisum sativum* L.): evidence for a 3R-isoflavanone intermediate in (+)-pisatin biosynthesis.

Archives of Biochemistry and Biophysics (1994), **312** (2), 501-510.

PELTER A., AMENECHI P.I.

Isoflavonoid and pterocarpinoid extractives of *Lonchocarpus laxiflorus*.

Journal of Chemical Society (C) (1969), 887-896.

PERROT E.

Matières premières usuelles du règne végétal.

Ed° Masson et C^{ie} (1944), Tome II, Paris, 1443-1456.

PIATAK D. M., FLYNN G. A., SORENSEN P. D.

Rotenoids from *Amorpha canescens* roots.

Phytochemistry (1975), **14** (5-6), 1391-1392.

PLOUVIER V.

New research on pinitol in leguminous plants; presence of d-quercitol in *Pterocarpus lucens*.

Comptes Rendus hebdomadaires des séances de l'académie des sciences (1955), **241** (24), 1838-1840.

PLOUVIER V.

Research on polyalcohol in some botanical groups; pinitol and sequoyitol in Cycadaceae.

Comptes Rendus (1965), **260** (3), 1003-1006.

PROMSATTHA R., TAYLOR R. B., TEMPESTA M. S., IWU M. M.

Chemical studies on the nigerian medicinal plant *Lonchocarpus cyanescens* Benth. Application of autocorrelated 2D-DQC spectroscopy to structure and carbone-13 assignments of the triterpenoid lupeol.

International Journal of Crude Drug Research (1987), **25** (4), 221-224.

R

RAJU K. V. S., SRIMANNARAYANA G., TERNAI B., STANLEY R., MARKHAM K. R.

Carbon-13 NMR studies of some complex natural oxygen heterocyclics. Structure of milletin, a novel isoflavone isolated from *Millettia auriculata*.

Tetrahedron (1981), **37** (5), 957-962.

RAO E. V., PRASAD Y. R., GANAPATY S.

Three prenylated isoflavones from *Millettia auriculata*.

Phytochemistry (1992), **31** (3), 1015-1017.

RAVANEL P., TISSUT M., DOUCE R.

Effect of rotenoids on isolated plant mitochondria.

Plant Physiology (1984), **75**, 414-420.

ROBERTSON A., RUSBY G. L.

Sumatrol. I.

Journal of The Chemical Society (1937), 497-503.

ROUSSIS V., AMPOFO S. A., WIEMER D. F.

Flavanones from *Lonchocarpus minimiflorus*.

Phytochemistry (1987), **26** (8), 2371-2375.

S

SANTOS A. S., CAETANO L. C., SANT'ANA A. E. G.

A 12a-hydroxyrotenoid from roots of *Boerhaavia coccinea*.
Phytochemistry (1998), **49** (1), 255-258.

SIPOS I., TRETTER L., ADAM-VIZI V.

Quantitative relationship between inhibition of respiratory complexes and formation of reactive oxygen species in isolated nerve terminals.
Journal of Neurochemistry (2003), **84** (1), 112-118.

SHAWL A. S., MENGI N., MISRA L. N., VISHWAPPAUL.

Irispurinol, a 12a-hydroxyrotenoids from *Iris spuria*.
Phytochemistry (1988), **27** (10), 3331-3332.

SHIBUYA T., FUNAMIZU M., KITAHARA Y.

Constituents of pine pollen. Part 2. Novel *p*-coumaric acid esters from *Pinus densiflora* pollen.
Phytochemistry (1978), **17** (5), 979-981.

SINGHAL A. K., SHARMA R. P., BARUAH J. N., GOVINDAN S. V., HERZ W.

Rotenoids from roots of *Millettia pachycarpa*.
Phytochemistry (1982), **21** (4), 949-951.

SLADE D., FERREIRA D., MARAIS J. P. J.

Circular dichroism, a powerful tool for the assessment of absolute configuration of flavonoids.
Phytochemistry (2005), **66**, 2177-2215.

SOUTHON I. W.

Phytochemical dictionary of the Leguminosae, plants and their constituents.
Eds Bisby F.A., Buckingham J., Harbone J.B. (1994), vol.1, London, 402-665.

SUGINOME H.

Oxygen heterocycles. Maackiain, a new naturally occurring chromanocoumaran.
Experientia (1962), **18**, 161-163.

SULTANA S., ILYAS M.

Chemical investigation of *Macaranga indica* Wight.
Indian Journal of Chemistry (1987), **26 B** (8), 801-802.

T

TADA-OIKAWA S., HIRAKU Y., KAWANISHI M., KAWANISHI S.

Mechanism for generation of hydrogen peroxide and change of mitochondrial membrane potential during rotenone-induced apoptosis.
Life Sciences 2003, **73**, 3277-3288

TAHARA S., MORIYAMA M., INGHAM J. L., MIZUTANI J.

Diverse oxygenated isoflavonoids from *Piscidia erythrina*.
Phytochemistry (1993), **34** (1), 303-315.

TOMLIN C. D. S.

Rotenone: Insecticide, acaricide.
The pesticide Manual, 1997, 1097-1099.

TORI M., OHARA Y., NAKASHIMA K., SONO M.

Caffeic and coumaric acid esters from *Calystegia soldanella*.
Fitoterapia (2000), **71** (4), 353-359.

TOZZI A. M. G. A.

A identidade do timbo-verdadeiro : *Deguelia utilis* (A.C.Sm) A.M.G. Azevedo (*Leguminosae-Papilionoideae*).

Revista Brasileira de Biologia (1998), **58** (3), 511-516.

U

UDEANI G. O., GERHÄUSER C., THOMAS C. F., MOON R. C., KOSMEDER J. W., KINGHORN A. D., MORIARTY R. M., PEZZUTO J. M.

Cancer chemopreventive activity mediated by deguelin, a naturally occurring rotenoid.

Cancer Research (1997), **57**, 3424-3428.

UENO H., MIYOSHI H., EBISUI K., IWAMURA H.

Comparison of the inhibitory action of natural rotenone and its stereoisomers with various NADH-ubiquinone oxidoreductases.

European Journal of Biochemistry (1994), **225** (1), 411-417.

V

VENKATARATNAM G., RAO E. V., VILAIN C.

Flavonoids of *Tephrosia procumbens*-revised structure for praecansone A and conformation of praecansone B.

Journal of the Chemical Society, Perkin Transaction 1 (1987), (12), 2723-2727.

W

WANDJI J., NKENGFACK A. E., FOMUM, Z. T., UBILLAS R., KILLDAY K. B., TEMPESTA M. S.

Erythrina studies. Part 18. A new prenylated isoflavone and long chain esters from two *Erythrina* species.

Journal of Natural Products (1990), **53** (6), 1425-1429.

WANG X., QIN Z-H., WANG Y., JIN X., CHASE T. N., BENNETT M. C.

Prostaglandin A1 inhibits rotenone-induced apoptosis in SH-SY5Y cells.

Journal of Neurochemistry (2002), **83** (5), 1094-1102.

WANGENSTEEN H., ALAMGIR M., RAJIA S., SAMUELSEN A. B., MALTERUD K. E.

Rotenoids and Isoflavones from *Sarcolobus globosus*.

Planta Medica (2005), **71** (8), 754-758.

WATERMAN P. G., MAHMOUD E.-H. N.

Flavonoids from the seeds of *Lonchocarpus costaricensis*.

Phytochemistry (1985), **24** (3), 571-574.

WATERMAN P. G., MAHMOUD E.-H. N.

Unusual flavonoids from *Lonchocarpus orotinus* seeds.

Phytochemistry (1987), **26** (4), 1189-1193.

Y

YENESEW A., MUSHIBE E. K., INDULI M., DERESSE S., MIDIWO J. O., KABARU J. M., HEYDENREICH M., KOCH A., PETER M. G.

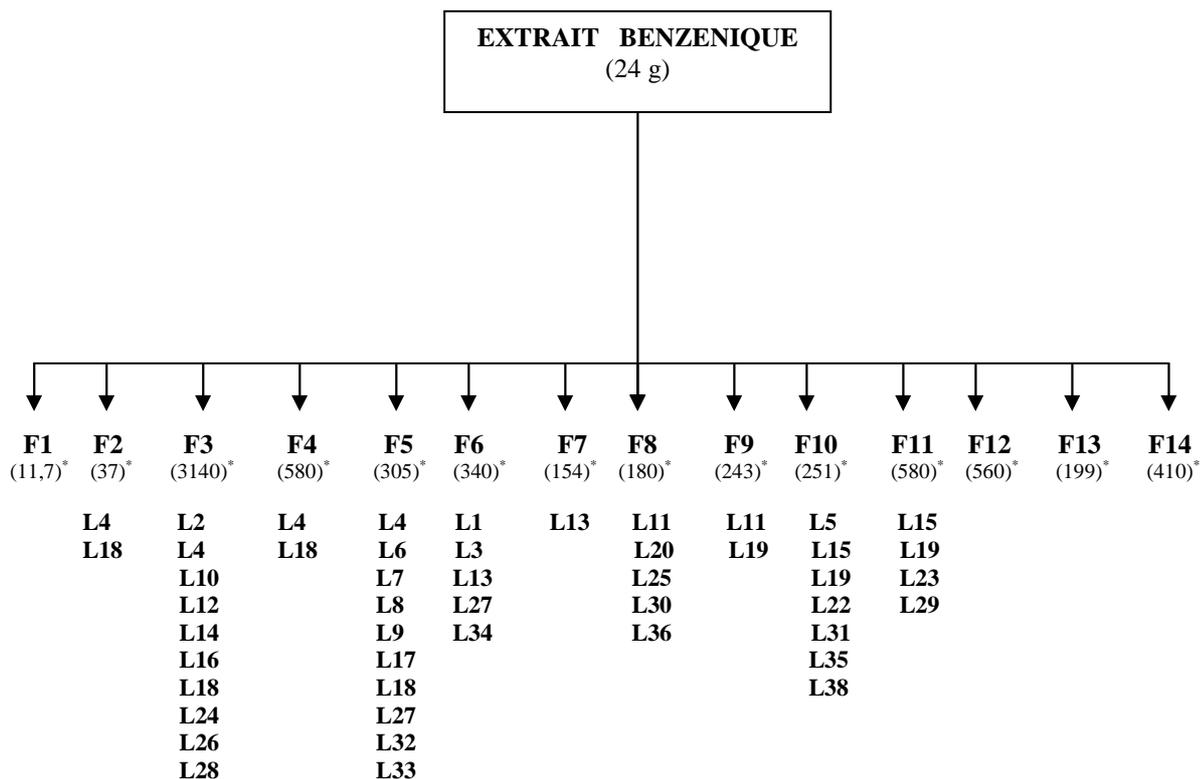
7-O-methyldeguelol, a modified rotenoid with an open ring-C, from the roots of *Derris trifoliata*.

Phytochemistry (2005), **66**, 653-657.

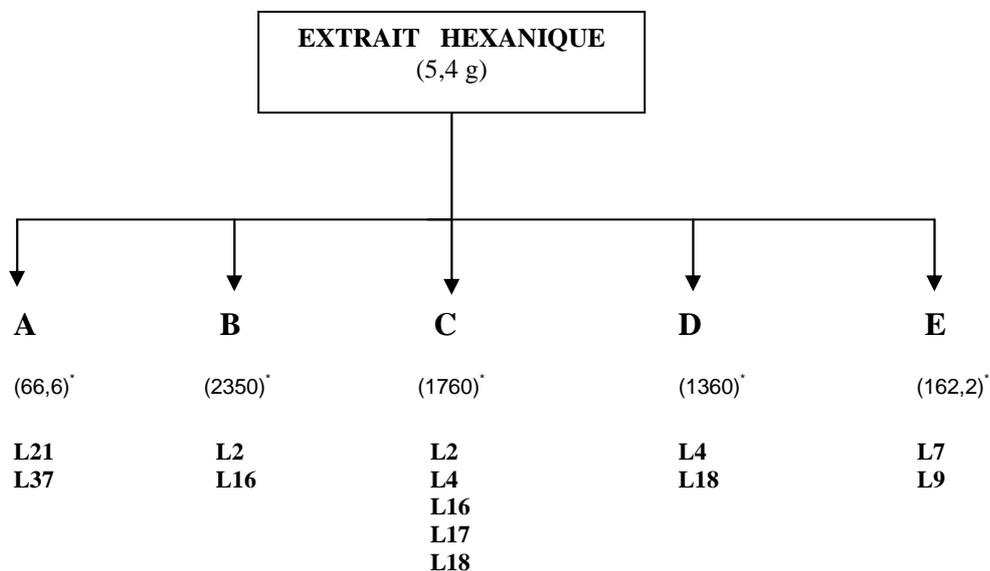
YI-FEN W., JI-JUN C., YAN Y., YONG-TANG Z., SHAO-ZONG T., SHI-DE L.
New rotenoids from roots of *Mirabilis jalapa*.
Helvetica Chimica Acta (2002), **85**, 2342-2348.

ANNEXES

Récapitulatif des produits isolés des deux extraits étudiés



Composés issus des fractions de l'extrait benzénique.



Composés issus des fractions de l'extrait hexanique.

*masse exprimée en mg

Tableau récapitulatif de tous les solvants utilisés lors de la séparation multi-étape.

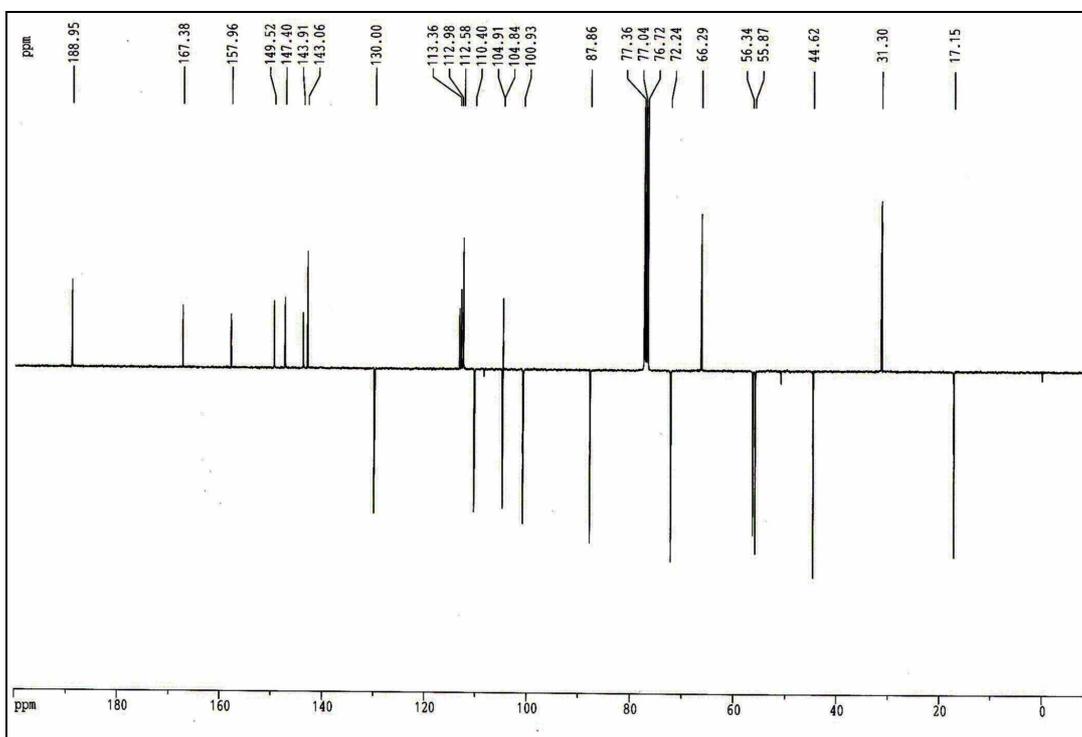
Solvant	Mélange initial	Mélange(s) intermédiaire(s)	Mélange final
S1	C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt : MeOH (90 : 5 : 5)		
S2	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (9,1 : 81,8 : 9,1)		
S3	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (7,5 : 85 : 7,5)		
S4	CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt : MeOH (90 : 5 : 5)		
S5	MeOH (100%)		
S6	CHCl ₃ : MeCOEt : MeOH (30 : 35 : 35)		
S7	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S8		C ₆ H ₁₄ : EtOAc (80 : 20)	
S9		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (76,2 : 19 : 4,8)	
S10		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (72,7 : 18,2 : 9,1)	
S11		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (63,6 : 27,3 : 9,1)	
S12		C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (31,8 : 31,8 : 27,3 : 9,1)	
S13		CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (63,6 : 27,3 : 9,1)	
S14		CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (60 : 30 : 10)	
S15			CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeOH (60 : 10 : 30)
S16	C ₅ H ₉ CH ₃ (100 %)		
S17		C ₅ H ₉ CH ₃ : MeCOEt (96 : 4)	
S18		C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt (91 : 9)	
S19			MeCOEt : MeOH (95 : 5)
S20	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt (80 : 10 : 5 : 5)		
S21		C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt (75 : 10 : 10 : 5)	
S22		C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt (50 : 15 : 15 : 20)	
S23			CH ₂ Cl ₂ : MeOH (80 : 20)
S24	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S25		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (83 : 15 : 2)	
S26			C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt : MeOH (10 : 40 : 47,5 : 2,5)
S27	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S28		C ₆ H ₁₄ : EtOAc (85 : 15)	
S29		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (83 : 15 : 2)	
S30		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (80 : 15 : 5)	
S31		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (60 : 30 : 10)	
S32			C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt : MeOH (10 : 40 : 47,5 : 2,5)
S33	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ (67 : 33)		
S34		C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (64,5 : 32,3 : 3,2)	
S35			C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (7 : 90 : 3)
S36	C ₆ H ₁₄ : EtOAc (90 : 10)		
S37		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (70 : 15 : 15)	
S38			CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (60 : 20 : 20)
S39	C ₆ H ₁₄ : EtOAc (90 : 10)		
S40		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (70 : 15 : 15)	
S41		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (60 : 20 : 20)	
S42			CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (60 : 20 : 20)
S43	C ₆ H ₁₄ : EtOAc (90 : 10)		
S44		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (70 : 15 : 15)	
S45		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (60 : 20 : 20)	
S46			CH ₂ Cl ₂ : MeOH (40 : 60)
S47	C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (80 : 15 : 5)		
S48		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (75 : 15 : 10)	
S49		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (60 : 20 : 20)	
S50		CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (80 : 10 : 10)	
S51			CH ₂ Cl ₂ : MeOH (70 : 30)
S52	C ₆ H ₅ CH ₃ (100 %)		
S53		C ₆ H ₅ CH ₃ : EtOAc (85 : 15)	
S54		C ₆ H ₅ CH ₃ : EtOAc : MeOH (70 : 15 : 15)	
S55			CH ₂ Cl ₂ : MeCOMe : MeOH (40 : 30 : 30)

Solvant	Mélange initial	Mélange(s) intermédiaire(s)	Mélange final
S56	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S57		C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt (47,5 : 47,5 : 5)	
S58			C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt : MeOH (20 : 20 : 30 : 30)
S59	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S60		C ₆ H ₁₄ : MeCOEt : MeOH (90 : 5 : 5)	
S61			CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt : MeOH (75 : 15 : 10)
S62	C ₆ H ₁₄ (100 %)		
S63		C ₆ H ₁₄ : MeCOEt : MeOH (80 : 10 : 10)	
S64			CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt : MeOH (50 : 25 : 25)
S65	C ₆ H ₅ CH ₃ (100 %)		
S66		C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt (85 : 15)	
S67		C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt : MeOH (80 : 15 : 5)	
S68			C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt : MeOH (20 : 40 : 40)
S69	C ₆ H ₅ CH ₃ (100 %)		
S70		C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt : MeOH (83 : 15 : 2)	
S71			C ₆ H ₅ CH ₃ : MeCOEt : MeOH (20 : 40 : 40)
S72	C ₆ H ₅ CH ₃ (100 %)		
S73		C ₆ H ₅ CH ₃ : EtOAc (85 : 15)	
S74			CH ₂ Cl ₂ : MeOH (70 : 30)
S75	MeOH : H ₂ O (50,5 : 49,5)		
S76	MeOH : H ₂ O (55 : 45)		
S77	MeOH : H ₂ O (65 : 35)		
S78	MeOH : H ₂ O (80 : 20)		
S79	C ₆ H ₁₄ : CHCl ₃ : <i>i</i> PrOH : MeOH (90 : 6,5 : 3 : 0,5)		
S80	C ₆ H ₁₄ : CHCl ₃ : <i>i</i> PrOH : MeOH (80 : 13 : 6,5 : 0,5)		
S81	C ₆ H ₁₄ : CHCl ₃ : <i>i</i> PrOH : MeOH (85 : 9 : 4,5 : 1,5)		
S82	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ (10 : 90)		
S83		C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (10 : 89 : 1)	
S84			C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (10 : 88 : 2)
S85	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ (16 : 84)		
S86			C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : EtOAc (71 : 14,5 : 14,5)
S87	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ (10 : 90)		
S88		C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (10 : 89 : 1)	
S89			C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (5 : 90 : 5)
S90	C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ (10 : 90)		
S91			C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (10 : 85 : 5)
S92	C ₆ H ₅ CH ₃ (100%)		
S93		C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (2,5 : 95 : 2,5)	
S94			C ₆ H ₁₄ : C ₆ H ₅ CH ₃ : MeOH (5 : 90 : 5)
S95	C ₆ H ₁₄ : EtOAc (90 : 10)		
S96		C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (70 : 15 : 15)	
S97			CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (60 : 20 : 20)
S98	C ₆ H ₁₄ : EtOAc : MeCOEt (80 : 15 : 5)		
S99		C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeCOEt (45 : 45 : 5 : 5)	
S100			CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeOH (90 : 5 : 5)
S101	CH ₂ Cl ₂ (100%)		
S102		CH ₂ Cl ₂ : MeCOEt : MeOH (80 : 10 : 10)	
S103			CH ₂ Cl ₂ : MeOH (50 : 50)
S104	C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ (80 : 20)		
S105		C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (60 : 35 : 5)	
S106			C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeOH (20 : 65 : 10 : 5)
S107	C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ (80 : 20)		
S108			C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeOH (40 : 40 : 20 : 20)
S109	C ₆ H ₁₄ (100%)		
S110		C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (72 : 20 : 8)	
S111			C ₆ H ₁₄ : CH ₂ Cl ₂ : EtOAc : MeOH (30 : 30 : 30 : 10)

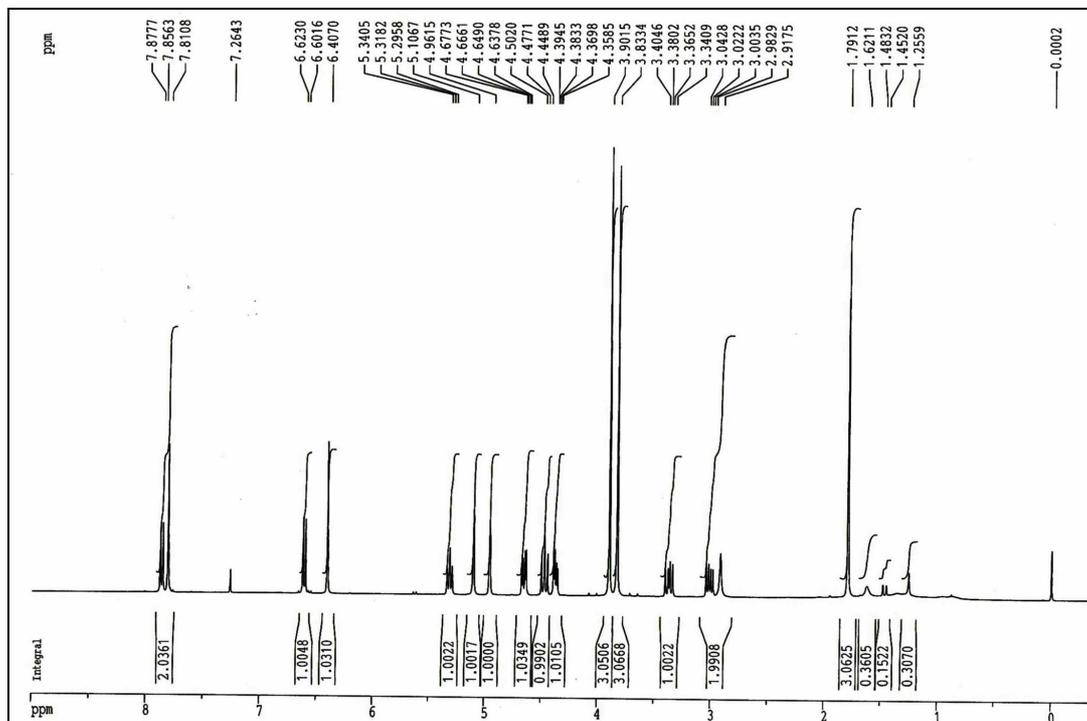
Spectres RMN ^1H et ^{13}C J_{mod} de quelques produits isolés



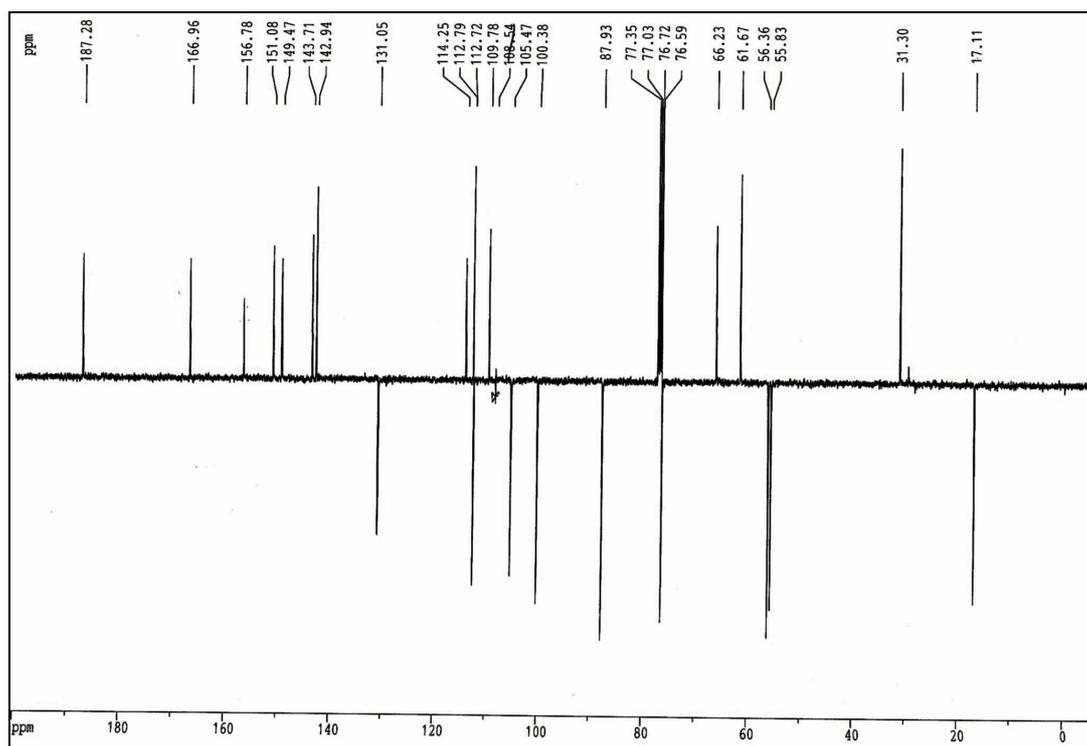
RMN ^1H (400 MHz ; CDCl_3) de la roténone (**L2**).



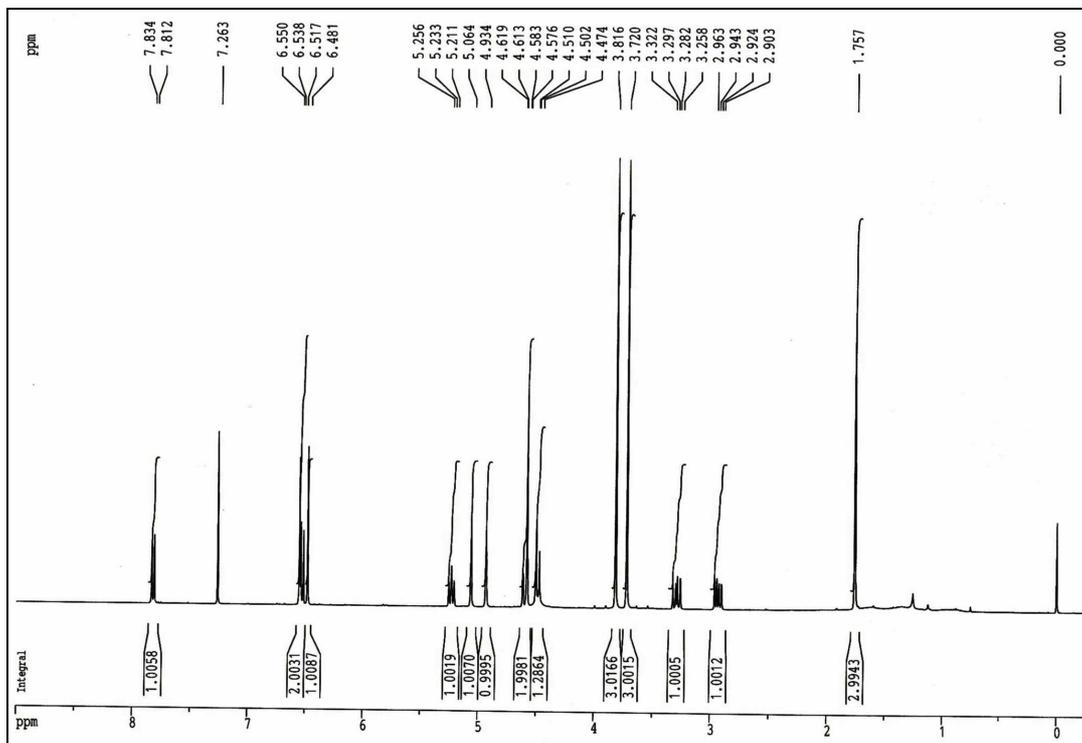
RMN ^{13}C J_{mod} (100 MHz ; CDCl_3) de la roténone (**L2**).



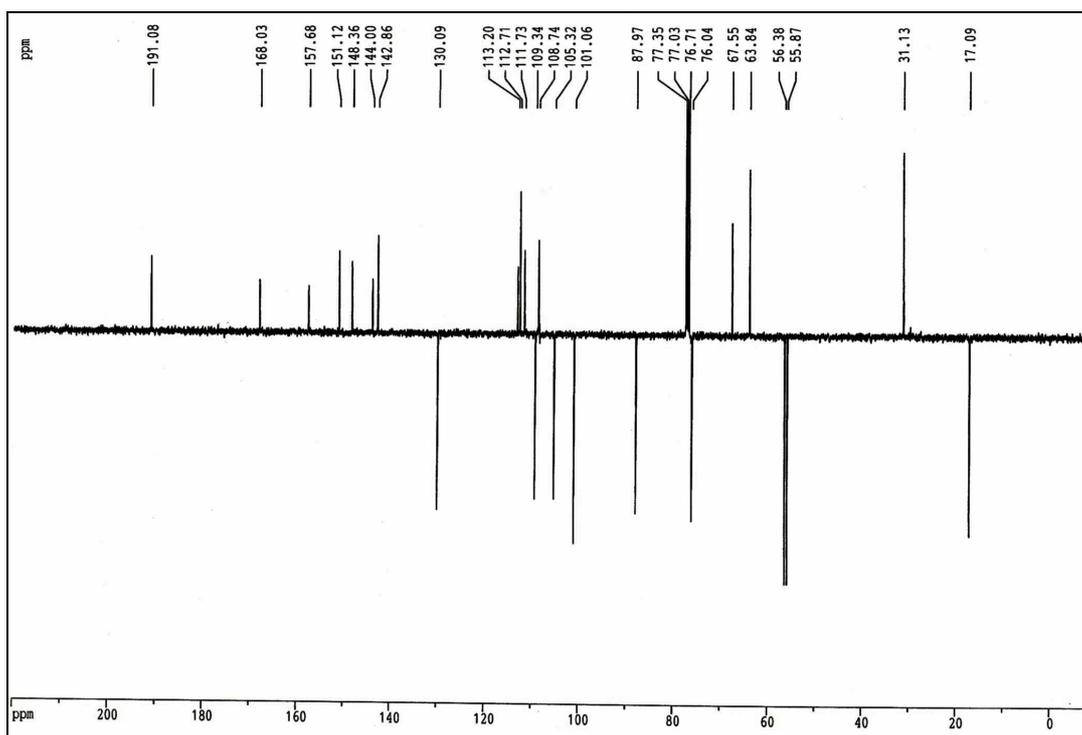
RMN ^1H (400 MHz ; CDCl_3) de la 12 α -hydroxyroténone (**L3**).



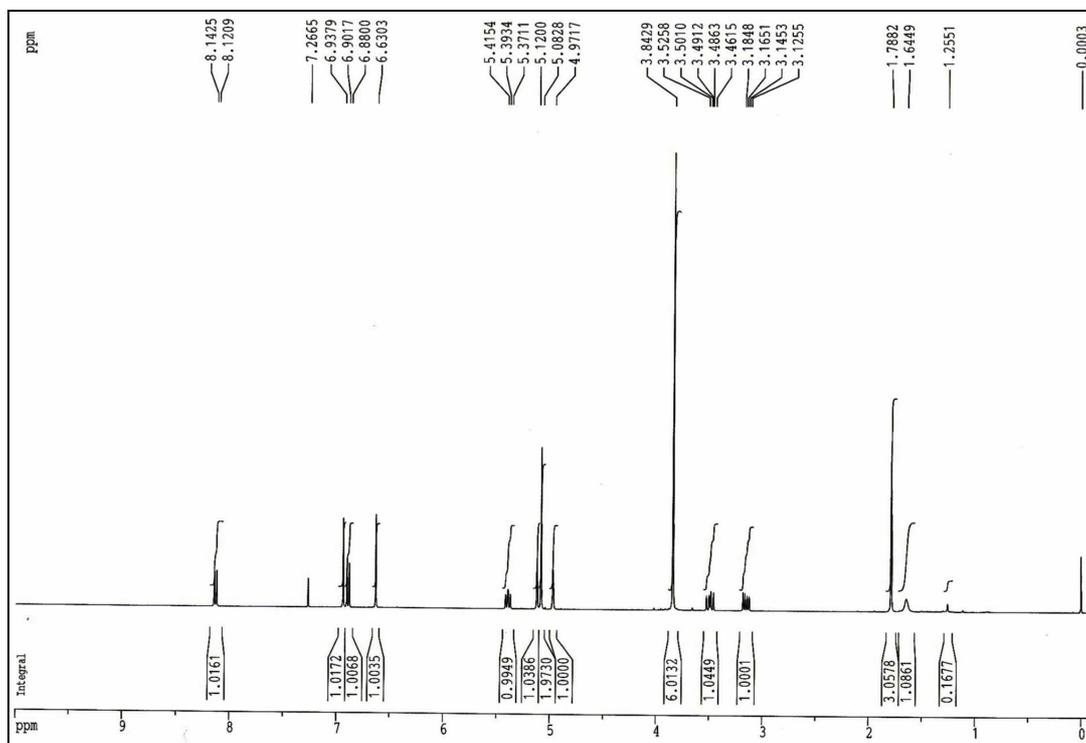
RMN ^{13}C J_{mod} (100 MHz ; CDCl_3) de la 12 α -hydroxyroténone (**L3**).



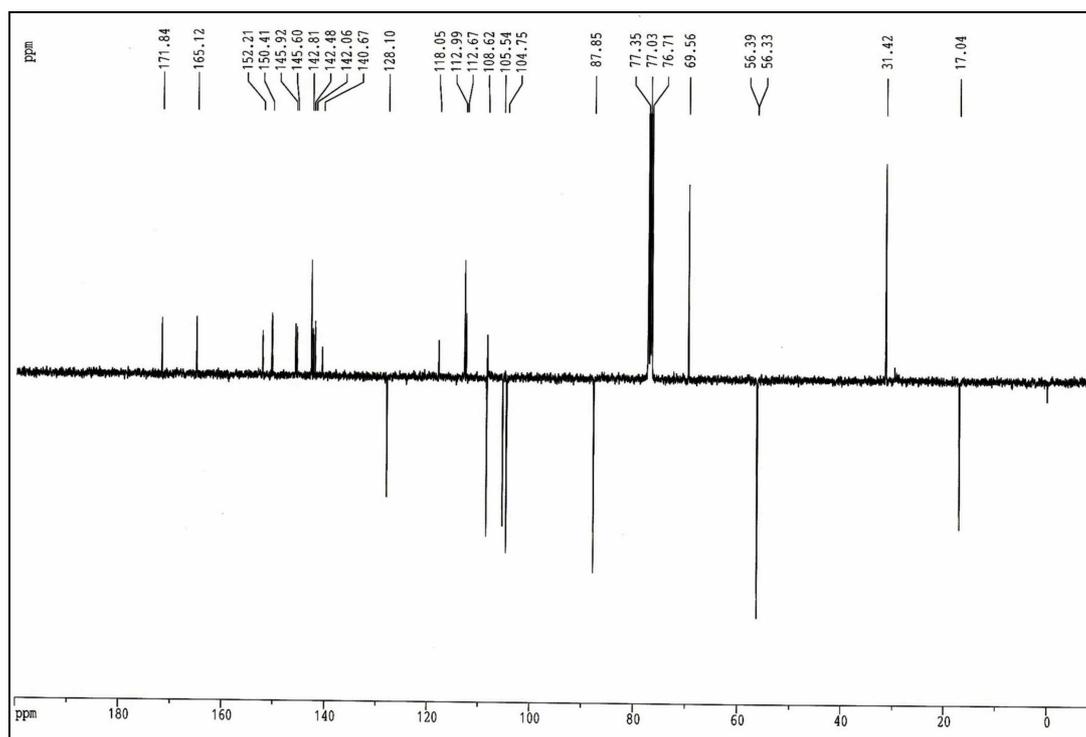
RMN ^{13}C (400 MHz ; CDCl_3) de la 12 α -hydroxyroténone (**L4**).



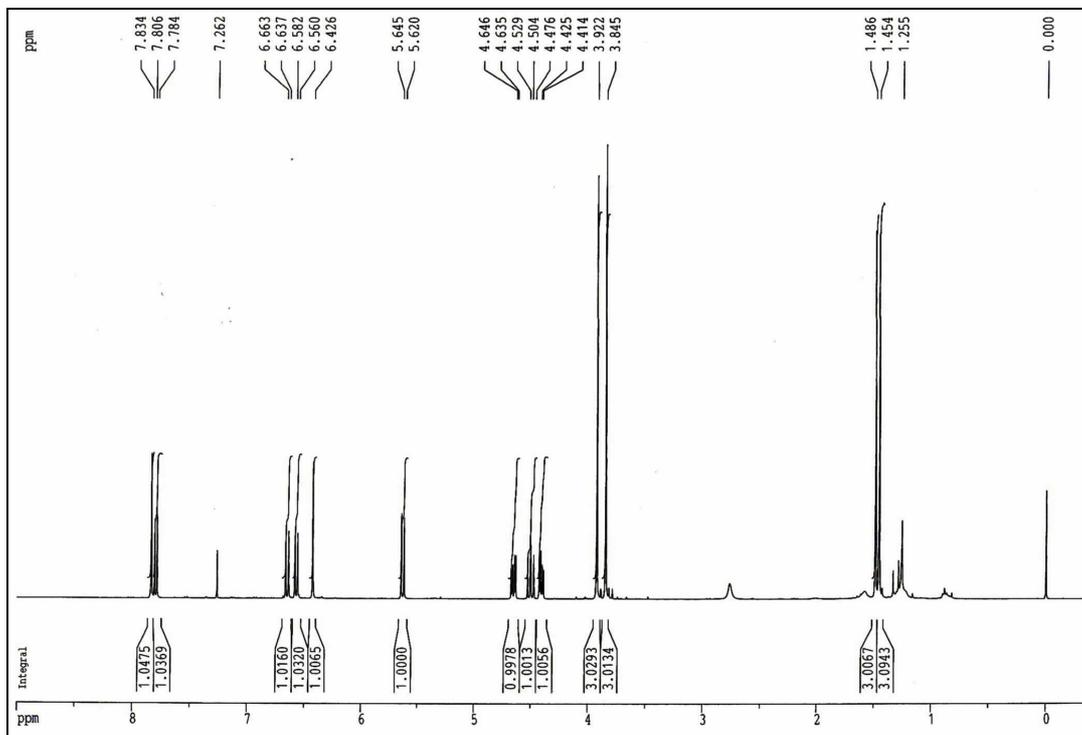
RMN ^{13}C J_{mod} (100 MHz ; CDCl_3) de la 12 α -hydroxyroténone (**L4**).



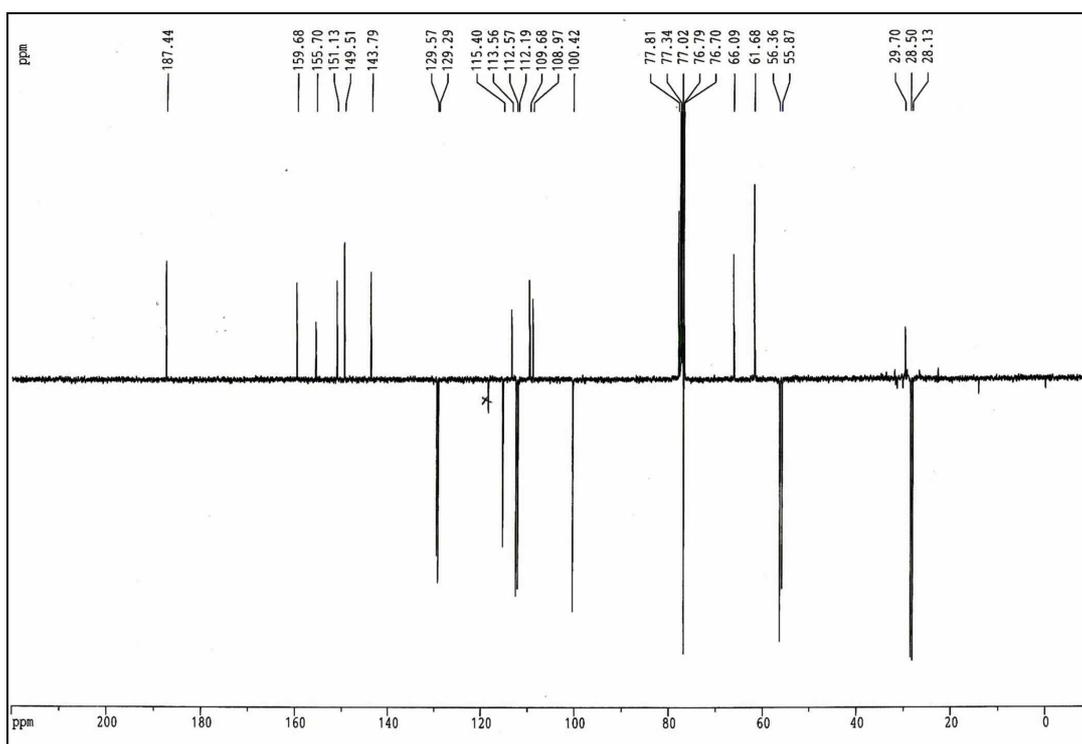
RMN ^1H (400 MHz ; CDCl_3) de la 13-homo-13-oxa-didéhydroroténone (**L13**).



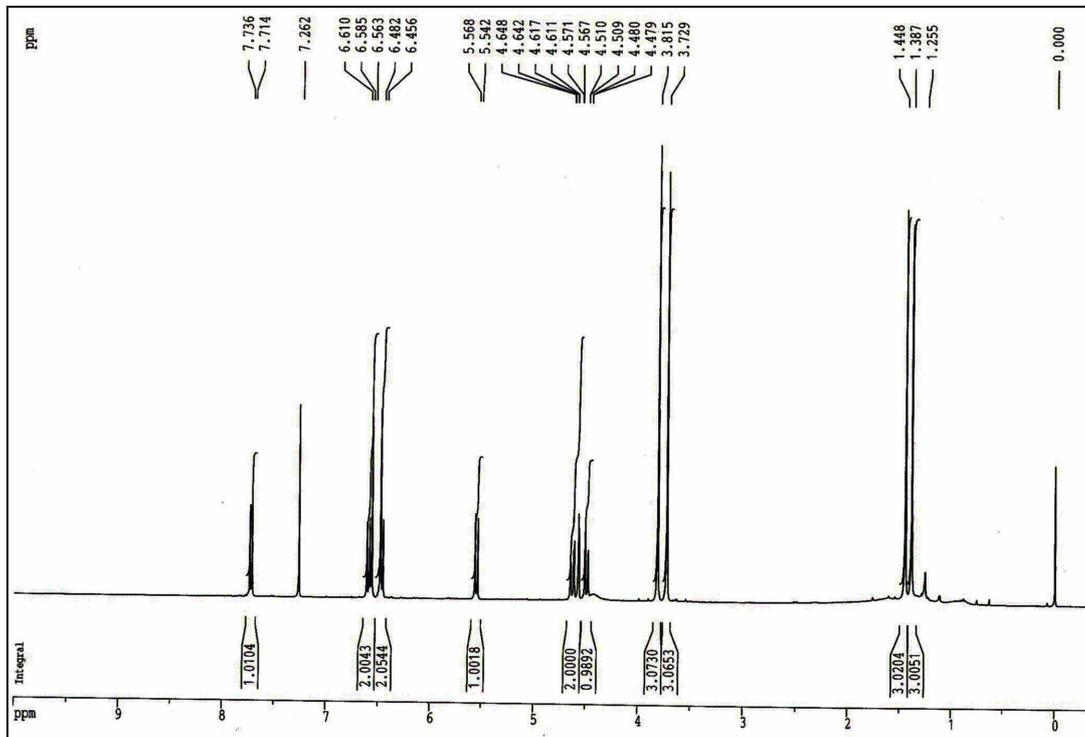
RMN ^{13}C (100 MHz ; CDCl_3) de la 13-homo-13-oxa-didéhydroroténone (**L13**).



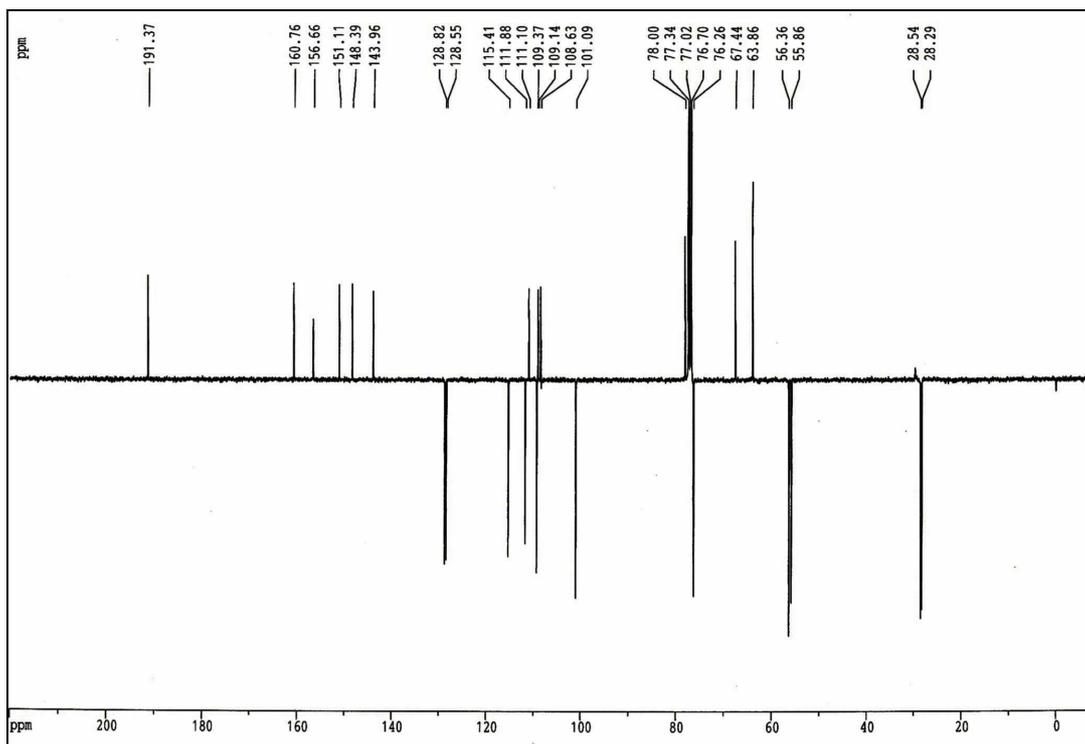
RMN ^1H (400 MHz ; CDCl_3) de la 12 α -hydroxydeguéline (**L17**).



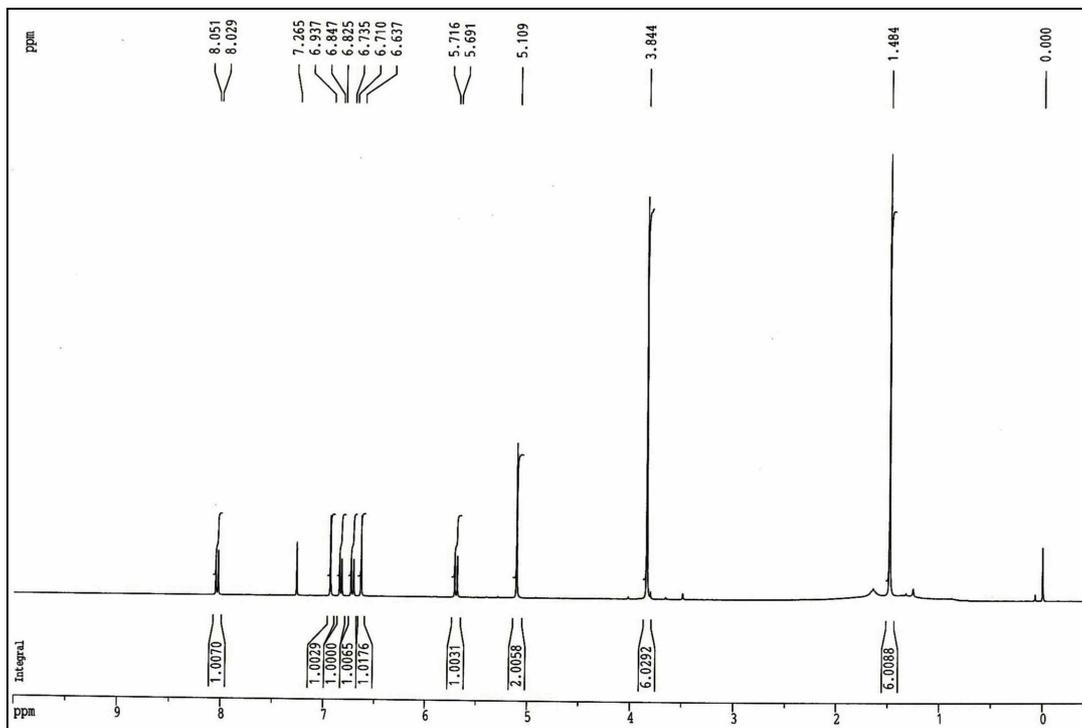
RMN ^{13}C J_{mod} (100 MHz ; CDCl_3) de la 12 α -hydroxydeguéline (**L17**).



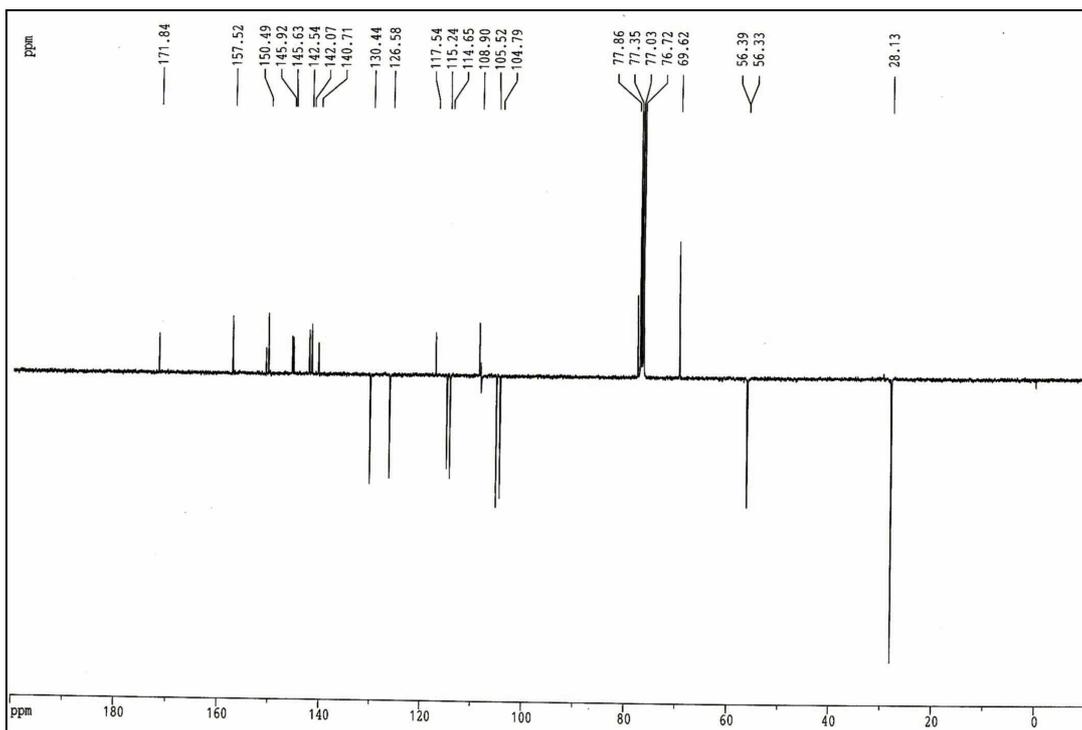
RMN ^1H (400 MHz ; CDCl_3) de la téphrosine (**L18**).



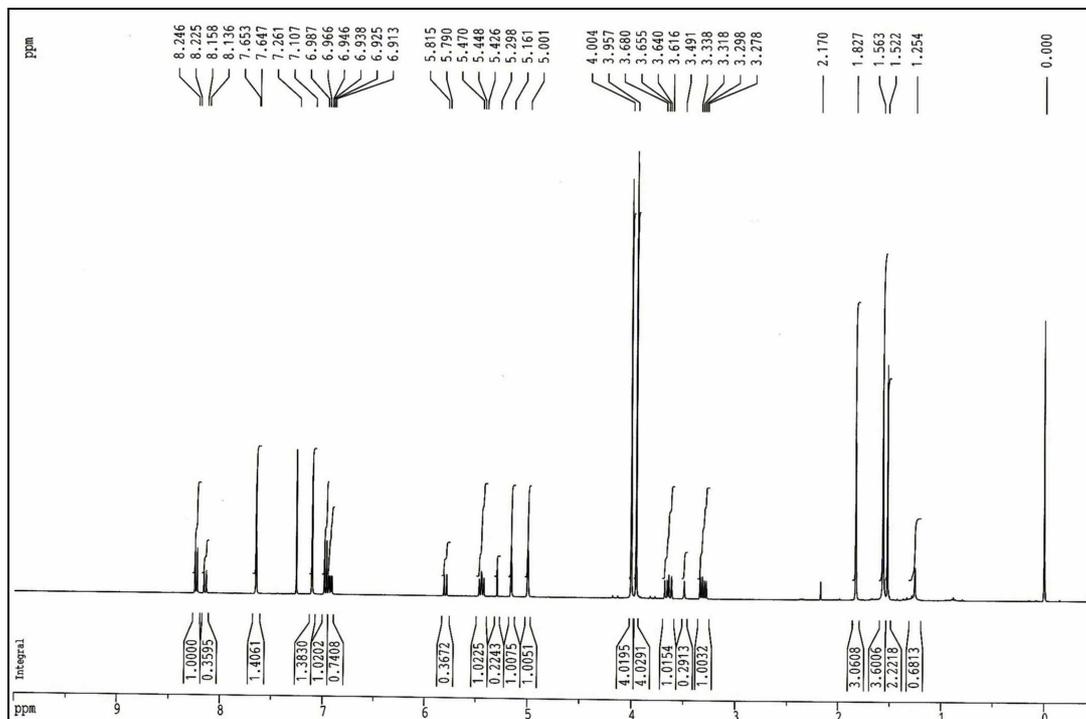
RMN ^{13}C J_{mod} (100 MHz ; CDCl_3) de la téphrosine (**L18**).



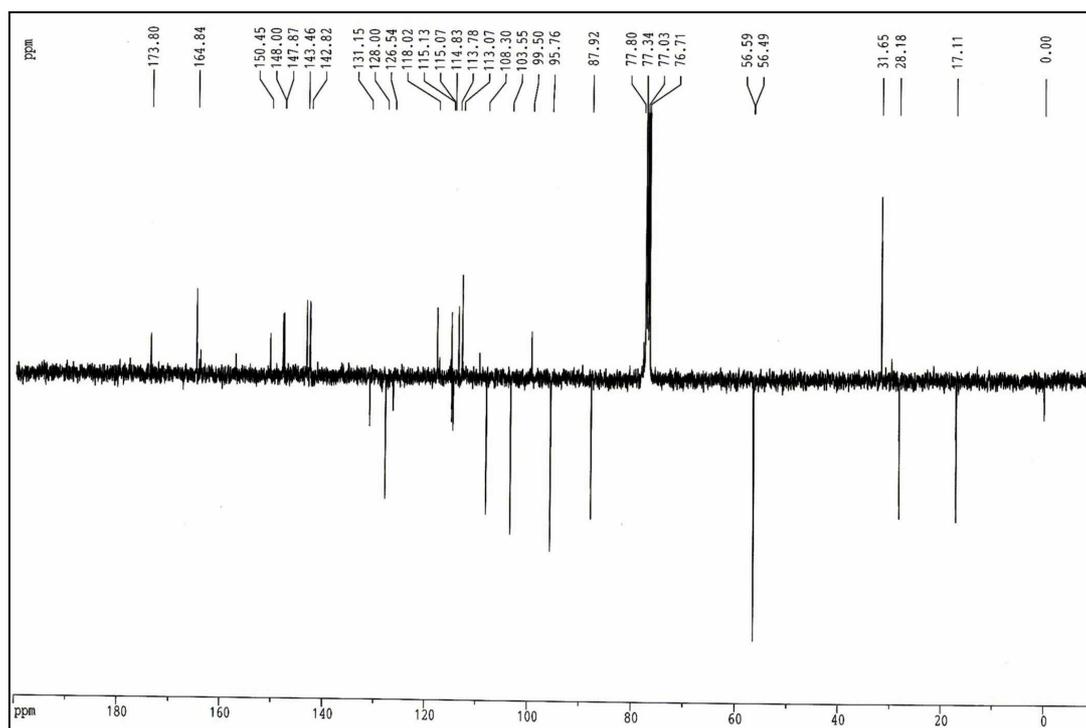
RMN ^1H (400 MHz ; CDCl_3) de la 13-*homo*-13-oxa-déhydrodégueline (**L27**).



RMN ^{13}C (100 MHz ; CDCl_3) de la 13-*homo*-13-oxa-déhydrodégueline (**L27**).



RMN ^1H (400 MHz ; CDCl_3) des composés **L14** et **L28** en mélange.



RMN ^{13}C (100 MHz ; CDCl_3) des composés **L14** et **L28** en mélange.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Distribution des composés naturels dans le genre <i>Lonchocarpus</i>	39
Tableau 2 : solvants pour CCM préparative	57
Tableau 3 : solvants pour colonnes Sephadex LH 20	57
Tableau 4 : solvants pour les séparations par MPLC	58
Tableau 4 : suite	59
Tableau 5 : solvants pour la purification par HPLC semi-préparative	60
Tableau 6 : solvants pour la CCM centrifuge	61
Tableau 7. Déplacements chimiques en ppm des solvants deutériés	63
Tableau 8 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) de la chalcone L1 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	81
Tableau 9 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) des roténoïdes parents L2, L16 et L30 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	85
Tableau 10 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) des hydroxyroténoïdes L3-L5, L7 et L9 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	87
Tableau 11 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) des composés L6 et L8 , [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	88
Tableau 12 : Différenciation par RMN des deux types de 12a-hydroxylation (α et β) et de jonction B/C (<i>cis</i> et <i>trans</i>)	89
Tableau 13 : Caractérisation par RMN de la 6 β ,12a β -dihydroxylation	90
Tableau 14 : Caractérisation par RMN de la 6',7'-époxydation	90
Tableau 15 : Caractérisation par RMN de la 6'-oxydation combinée à la 4',5'-déshydrogénation	91
Tableau 16 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) des hydroxyroténoïdes L17-L21 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	93
Tableau 17 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) des hydroxyroténoïdes L22, L23 et L31 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	94
Tableau 18 : Différenciation par RMN des deux types de 12a-hydroxylation (α et β) et de jonction B/C (<i>cis</i> et <i>trans</i>)	95
Tableau 19 : Caractérisation par RMN de la 6 β -hydroxylation	96
Tableau 20 : Caractérisation par RMN de la 11-hydroxylation	97
Tableau 21 : Caractérisation par RMN de la 7'-hydroxylation	98
Tableau 22 : Caractérisation par RMN de la 6 β ,12a β -dihydroxylation	99
Tableau 23 : Caractérisation par RMN de la 12a β ,7'-dihydroxylation	100
Tableau 24 : Caractérisation de la 12a β -hydroxylation de la jonction B/C <i>cis</i>	101
Tableau 25 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) des composés L10, L24, L11, et L25 [δ ppm (<i>J</i> Hz)]	103
Tableau 26 : Caractérisation par RMN de la 6a,12a-déshydrogénation	104
Tableau 27 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) des 6-oxo-6a,12a-didéhydroroténoïdes L12 et L26 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃].	106
Tableau 28 : Caractérisation par RMN de la 6- <i>O</i> double liaison introduite dans les didéhydroroténoïdes	107

Tableau 29 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) des 13- <i>homo</i> -13-oxaroténoïdes L13 et L27 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	109
Tableau 30 : Caractérisation par RMN de l'extension du cycle B des didéhydroroténoïdes par 13- <i>homo</i> -13-oxa-substitution	110
Tableau 31 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz), des coumaronochromones L14 et L28 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	112
Tableau 32 : Caractérisation par RMN de la réduction de la taille du cycle B des didéhydroroténoïdes	113
Tableau 33 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) des <i>seco</i> -roténoïdes L15 et L29 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; C ₅ D ₅ N]	115
Tableau 34 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) des composés isoflavaniques L32 et L33 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	118
Tableau 35 : Caractérisation par RMN du squelette 4-oxy-isoflavane du ptérocarpane L32 et du ptérocarpène L33	119
Tableau 36 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) du composé L34 (δ ppm)	121
Tableau 37 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) du composé L35 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	122
Tableau 38 : RMN ¹ H (400 MHz) et ¹³ C (100 MHz) des roténoïdes L2 , L36 et L37 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	124
Tableau 39 : RMN ¹ H (400 MHz) du composé L38 [δ ppm (<i>J</i> Hz) ; CDCl ₃]	125
Tableau 40 : Liste des produits mineurs connus et répertoriés dans le genre <i>Lonchocarpus</i>	126
Tableau 41 : Liste des produits mineurs connus mais non répertoriés dans le genre <i>Lonchocarpus</i>	127
Tableau 42 : activité antiproliférative des roténoïdes parents L2 , L16 et leurs dérivés 12 α -hydroxylés L4 , L18	142

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Feuilles de <i>Lonchocarpus nicou</i>	16
Figure 2 : Foliolle agrandie de <i>L. nicou</i>	16
Figure 3 : <i>Deguelia utilis</i> (A. C. Sm.) A. M. G. Azevedo = <i>Lonchocarpus nicou</i> (Aublet) D.C.	17
Figure 4 : Coupe transversale du limbe de <i>L. nicou</i>	18
Figure 5 : Coupe transversale du pétiole	18
Figure 6 : Coupe transversale de la tige	19
Figure 7 : Vue microscopique des cellules scléreuses	19
Figure 8 : Coupe de la racine de <i>L. nicou</i>	20
Figure 9 . Structure des différentes sous-classes des flavonoïdes au sens strict	22
Figure 10 . Structure des différentes sous-classes d'isoflavonoïdes	22
Figure 11 : Schéma biosynthétique des grandes classes d'isoflavonoïdes et leurs inter-conversions	24
Figure 12 : Quelques types de prénylation rencontrés dans <i>Lonchocarpus</i> et dans les genres voisins (<i>Derris</i> , <i>Millettia</i> , <i>Mundulea</i> , <i>Tephrosia</i>)	25
Figure 13 : Prolifération cellulaire relative en présence de la roténone	133
Figure 14 : Prolifération cellulaire relative en présence de la 12aβ-hydroxyroténone	134
Figure 15 : Prolifération cellulaire relative en présence de la déguéline	134
Figure 16 : Prolifération cellulaire relative en présence de la téphrosine (12aβ-hydroxydéguéline)	135
Figure 17 : Prolifération cellulaire relative en présence de la roténone	135
Figure 18 : Prolifération cellulaire relative en présence de la 12aβ-hydroxyroténone	136
Figure 19 : Prolifération cellulaire relative en présence de la déguéline	136
Figure 20 : Prolifération cellulaire relative en présence de la téphrosine (12aβ-hydroxydéguéline)	137
Figure 21	137
Figure 22 : Cytotoxicité des quatre composés à différentes concentrations au bout de 24 h [L2 : roténone, L4 : 12aβ-hydroxyroténone , L16 : déguéline et L18 : téphrosine (12aβ-hydroxydéguéline)]	139
Figure 23 : Cytotoxicité des quatre composés à différentes concentrations au bout de 48 h [L2 : roténone, L4 : 12aβ-hydroxyroténone , L16 : déguéline et L18 : téphrosine (12aβ-hydroxydéguéline)]	140
Figure 24 : Cytotoxicité des quatre composés à différentes concentrations au bout de 24 h [L2 : roténone, L4 : 12aβ-hydroxyroténone , L16 : déguéline et L18 : téphrosine (12aβ-hydroxydéguéline)]	140
Figure 25 : Cytotoxicité des quatre composés à différentes concentrations au bout de 48 h [L2 : roténone, L4 : 12aβ-hydroxyroténone , L16 : déguéline et L18 : téphrosine (12aβ-hydroxydéguéline)]	141
Figure 26 : Détermination de l'IC ₅₀ de la déguéline	141
Figure 27 : Origine biosynthétique probable des roténoïdes isolés de <i>L. nicou</i>	145
Figure 28 : Profil HPLC analytique de la roténone (<i>t_r</i> =20,5 min) et de la déguéline (<i>t_r</i> =24,4 min) [Colonne : X-terra C18, 5 μm, 150 x 4,6 mm ; solvant : MeOH / H ₂ O (60 / 40) débit : 0,8 ml/mn]	147

Figure 29 : Les effets électroniques au niveau des deux isomères	148
Figure 30 : Les effets électroniques au niveau des deux isomères d'acide	148
Figure 31 : RMN ^1H (400 MHz ; CDCl_3) de la 12 α -hydroxyroténone (L4)	150
Figure 32 : RMN ^1H (400 MHz ; CDCl_3) de la téphrosine (L18)	150
Figure 33 : Fragmentations caractéristiques des roténoïdes	152
Figure 34 : Fragmentations caractéristiques des dérivés de la déguéline	152

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1 : Fractionnement de l'extrait benzénique	64
Schéma 2 : Purification de la fraction F2	65
Schéma 3 : Purification de la fraction F3	66
Schéma 4 : Purification de la fraction F4	68
Schéma 5 : Purification de la fraction F5	69
Schéma 6 : Purification de la fraction F6	70
Schéma 7 : Purification de la fraction F7	71
Schéma 8 : Purification de la fraction F8	72
Schéma 9 : Purification de la fraction F9	73
Schéma 10 : Purification de la fraction F10	73
Schéma 11 : Purification de la fraction F11	74
Schéma 12 : Purification de l'extrait hexanique	76

Ata Martin LAWSON

Titre : ETUDE PHYTOCHIMIQUE D'UNE FABACEE TROPICALE, *Lonchocarpus nicou*
EVALUATION BIOLOGIQUE PRELIMINAIRE

Résumé :

Cette thèse s'inscrit dans le cadre de la thématique de l'EA 4021 "Biomolécules et Thérapies Antitumorales". Elle vise essentiellement la recherche de molécules naturelles d'origine végétale, dotées d'une activité antitumorale. *Lonchocarpus nicou* (Aublet) D.C. est une liane tropicale de la famille des Fabacées, longtemps utilisée pour ses propriétés insecticide, acaricide et piscicide, attribuées généralement à des roténoïdes prénylés (roténone essentiellement). Ces roténoïdes dérivent biogénétiquement des isoflavonoïdes connus depuis longtemps pour leur activité estrogénique. Cela explique le choix de cette plante qui n'a pas fait l'objet d'une étude phytochimique complète, contrairement à d'autres espèces du même genre. En effet, une dizaine de composés seulement sont jusqu'alors connus de *L. nicou*. Nos travaux effectués concernent l'étude des extraits peu polaires (benzénique et hexanique) de la racine de cette plante. Ils sont développés et détaillés, après une description botanique de l'espèce et une présentation générale des molécules rencontrées dans le genre *Lonchocarpus*, puis dans l'espèce *nicou*. Cette étude phytochimique conduit à l'isolement et à la détermination structurale de trente huit molécules (dont trois sont à l'état de traces), grâce à l'utilisation de diverses techniques chromatographiques (CC, MPLC, CCM centrifuge, HPLC) et spectroscopiques (UV, RMN et SM). Ces résultats montrent une composition polyphénolique originale et diversifiée, caractérisée par quatre groupes de métabolites : chalcone (un composé), benzoquinone (un composé), isoflavonoïde (trente cinq composés) et un dérivé d'acide *para* coumarique (un composé). Outre la roténone, la déguéline et leurs deux dérivés 12 α -hydroxylés, qui s'accumulent préférentiellement dans la racine de cette plante, on distingue au niveau des autres phytoconstituants mineurs treize composés naturels nouveaux et sept autres cités pour la première fois dans le genre. Ces quatre composés majeurs ont été testés par la suite, sur les récepteurs aux estrogènes, sur l'aromatase ainsi que sur deux lignées cellulaires cancéreuses : érythroleucémique humaine (cellules HEL), ostéosarcome humain (cellules 1547), en vue d'évaluer leur activité antiproliférative et cytotoxique. Les résultats obtenus sont satisfaisants (IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire) et ouvrent de nombreuses perspectives de recherche.

Title: PHYTOCHEMICAL STUDY OF A TROPICAL FABACEAE, *Lonchocarpus nicou*
PRELIMINARY BIOLOGICAL EVALUATION

Abstract:

According to the topic of our research team EA 4021 "Biomolécules et Thérapies Antitumorales", phytochemical study of *Lonchocarpus nicou* (Aublet) D. C. was conducted in order to isolate natural molecules with antitumor or anticancer activity.

Lonchocarpus nicou (Aublet) D. C. is a tropical liana of the Fabaceae family used for a long time for its insecticidal, acaricidal and piscicidal activities assigned to prenylated rotenoids (rotenone essentially). Rotenoids derived biogenetically from isoflavonoids known a long time ago for their estrogenic activity. That explains the choice of this plant which was not completely studied in contrary to those species of *Lonchocarpus* genus. Indeed, about ten compounds only were reported in previous study of this plant. After botanical description and presentation of previous phytochemical studies about *Lonchocarpus* genus and *nicou* specie, the least polar extracts (benzenic and hexanic) studied in this work was developed. Their investigation led to the isolation and structural elucidation of thirty eight molecules (in which three ultra-minor compounds) by using various chromatographicals (CC, MPLC, CCM centrifuge, HPLC) and spectroscopics (UV, RMN and SM) techniques. This showed an original and diversified polyphenolic composition characterized by four groups of metabolites: chalcone (one compound), benzoquinone (one compound), isoflavonoid (thirty five compounds), and a *para* coumaric acid derivative (one compound). Besides rotenone, deguelin and their 12 α -hydroxylated derivatives, which constituted the major components of the root of *Lonchocarpus nicou*, thirteen new metabolites were found in the other minor phytochemicals as well as seven other never cited before in *Lonchocarpus* genus. Preliminary bioassays were further conducted on the four main isolated components by evaluating their effect on estrogens receptors and on aromatase enzyme. Their antiproliferative activity and cytotoxic effect on HEL (Human Erythroleukemia) cells and 1547 cells (osteosarcoma) have been also investigated. The latter biological study gave interesting results (IC₅₀ about nanomolar) that might be explored by a solid scientific project.

Mots-clés : *Lonchocarpus nicou*, Fabacée, phytochimie, chalcone, isoflavonoïde, roténoïde, 6a,12a-didéhydroroténoïde, 13-homo-13-oxa-6a,12a-didéhydroroténoïde, coumaronochromone, *seco*-roténoïdes, isolement, analyse structurale, évaluation biologique.

Discipline : Pharmacognosie et Phytochimie

Intitulé et adresse du laboratoire :

Université de Limoges - Faculté de Pharmacie
Laboratoire de Pharmacognosie et de Phytochimie
EA 4021 "Biomolécules et Thérapies Antitumorales"
2 rue du Docteur Marcland, 87025 Limoges Cedex