

RÉPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix-Travail-Patrie*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

\*\*\*\*\*

CENTRE DE RECHERCHE ET  
FORMATION DOCTORALE EN  
SCIENCES, TECHNOLOGIE ET  
GEOSCIENCES

\*\*\*\*\*



REPUBLIC OF CAMEROON *Peace-  
Work-Fatherland*

\*\*\*\*\*

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

POST GRADUATE SCHOOL FOR  
SCIENCE, TECHNOLOGY AND

GEOSCIENCE

\*\*\*\*\*

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION DOCTORALE EN CHIMIE  
ET APPLICATION

*DOCTORALE RESEARCH UNIT FOR CHEMISTRY AND APPLICATION*

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

*DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY*

CONTRIBUTION AUX ETUDES PHYTOCHIMIQUE ET  
BIOLOGIQUE DE *Psorospermum aurantiacum* Engl.  
(Hypericaceae) et *Symphonia globulifera* L.f (Clusiaceae).

**THESE**

Présentée et Soutenue publiquement en vue de l'obtention du diplôme de  
DOCTORAT/Ph.D. en Chimie Organique

*Par :*

**TENE Denis-Grégoire**

*Master ès science*

Matricule : 08T0585

Sous la co-direction de :

**TIH EWOLA Anastasie**

*Maître de Conférences*

**GHOGOMU TIH Ralph**

*Professeur*



*Année 2022/2023*



**DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE**  
**DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY**

ATTESTATION DE CORRECTION DU MEMOIRE DE THESE DE DOCTORAT/Ph.D  
DE MONSIEUR TENE Denis-Grégoire, matricule 08T0585.

Titre de la thèse : **contribution aux études phytochimique et biologique de *Psorospermum aurantiacum* Engl. (Hypericaceae) et *Symphonia globulifera* L.f (Clusiaceae).**

Nous soussignés, enseignants ci-dessous nommés, membres du jury de soutenance de thèse de Doctorat/Ph.D de Monsieur TENE Denis-Grégoire, , matricule 08T0585 attestons que ce candidat a bel et bien pris en compte dans la mouture finale de sa thèse, toutes les corrections et recommandations qui lui ont été faites au cours de sa soutenance en date du 13 Novembre 2023.

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

Fait à Yaoundé le 11/01/2023

Président

DONGO Etienne,  
Professeur

Rapporteurs

GHOGOMU TIH Ralph,  
Professeur

TIH EWOLA Anastasie,  
Maître de Conférences

Examineur

MBAZOA DJAMA  
Céline,  
Professeur

RÉPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix-Travail-Patrie*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

\*\*\*\*\*

CENTRE DE RECHERCHE ET  
FORMATION DOCTORALE EN  
SCIENCES, TECHNOLOGIE ET  
GEOSCIENCES

\*\*\*\*\*



REPUBLIC OF CAMEROON

*Peace-Work-Fatherland*

\*\*\*\*\*

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

POST GRADUATE SCHOOL FOR  
SCIENCE, TECHNOLOGY AND  
GEOSCIENCE

\*\*\*\*\*

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION DOCTORALE EN CHIMIE ET  
APPLICATION

*DOCTORALE RESEARCH UNIT FOR CHEMISTRY AND APPLICATION*

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

*DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY*

CONTRIBUTION AUX ETUDES PHYTOCHIMIQUE  
ET BIOLOGIQUE DE *Psorospermum aurantiacum* Engl.  
(Hypericaceae) et *Symphonia globulifera* L.f (Clusiaceae).

**THESE**

Présentée et Soutenue publiquement en vue de l'obtention du diplôme de  
DOCTORAT/Ph.D. en Chimie Organique

*Par :*

**TENE Denis-Grégoire**

*Master ès science*

Matricule : 08T0585

**Sous la co-direction de :**

**TIH EWOLA Anastasie**

*Maître de Conférences*

**GHOGOMU TIH Ralph**

*Professeur*

*Année 2022/2023*

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

**ANNÉE ACADEMIQUE 2022/2023**  
 (Par Département et par Grade)  
**DATE D'ACTUALISATION 31 MAI 2023**

**ADMINISTRATION**

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

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

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

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

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

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

**1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (43)**

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3.	KANSCI Germain	Professeur	En poste
4.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
5.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	NGUEFACK Julienne	Professeur	En poste
7.	NJAYOU Frédéric Nico	Professeur	En poste
8.	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9.	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10.	ATOGHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
11.	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12.	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
13.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
14.	DJUJKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître de Conférences	En poste
15.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>
16.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
17.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
18.	LUNGA Paul KEILAH	Maître de Conférences	En poste
19.	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître de Conférences	En poste
20.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Doyen FS / UDs</i>
21.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
22.	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
23.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
24.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
25.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
26.	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
27.	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
28.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
29.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
30.	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours	En poste
31.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste

32.	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
34.	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
35.	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
36.	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours	En poste
37.	BAKWO BASSOGOG Christian Bernard	Assistant	En Poste
38.	ELLA Fils Armand	Assistant	En Poste
39.	EYENGA Eliane Flore	Assistant	En Poste
40.	MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée	Assistant	En Poste
41.	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Assistant	En Poste
42.	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistant	En poste
43.	WOGUIA Alice Louise	Assistant	En Poste
<b>2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (52)</b>			
1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	DAARS/FS
2.	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<i>Chef de Département</i>
3.	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4.	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5.	DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>CD et Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
7.	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8.	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
9.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
10.	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
11.	NOLA Moïse	Professeur	En poste
12.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
13.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service / Coord.Progr. /MINSANTE</i>
14.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste
15.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i>
16.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
19.	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
20.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
21.	MAHOB Raymond Joseph	Maître de Conférences	En poste
22.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
23.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
24.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître de Conférences	En poste
25.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître de Conférences	En poste
26.	MONY Ruth épse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
27.	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
28.	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste
29.	TAMSA ARFAO Antoine	Maître de Conférences	En poste
30.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
31.	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
32.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
33.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
34.	FEUGANG YOUMSSI François	Chargé de Cours	En poste
35.	FOKAM Alvine Christelle Epse KENGNE	Chargé de Cours	En poste

36.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
37.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
38.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
39.	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
40.	MAPON NSANGOU Indou	Chargé de Cours	En poste
41.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
42.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
43.	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
44.	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
45.	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En poste
46.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
47.	YEDE	Chargé de Cours	En poste
48.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste
49.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Assistante	En poste
50.	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En poste
51.	NDENGUE Jean De Matha	Assistant	En poste
52.	ZEMO GAMO Franklin	Assistant	En poste
<b>3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (34)</b>			
1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
3.	MBOLO Marie	Professeur	En poste
4.	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5.	YOUMBI Emmanuel	Professeur	En poste
6.	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
7.	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8.	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9.	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Maître de Conférences	En poste
10.	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11.	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>DAAC /UDla</i>
12.	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	En poste
13.	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En poste
14.	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
16.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
17.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
18.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste
19.	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
20.	GONMADGE CHRISTELLE	Chargée de Cours	En poste
21.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
22.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24.	NSOM ZAMBO EPSE PIAL ANNIE CLAUDE	Chargé de Cours	<i>En détachement/UNESCO MALI</i>
25.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
26.	KABELONG BANAHO Louis-Paul-Roger	Chargé de Cours	En poste
27.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
28.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
29.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
30.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
31.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste

32.	MANGA NDJAGA JUDE	Assistant	En poste
33.	DIDA LONTSI Sylvere Landry	Assistant	En poste
34.	METSEBING Blondo-Pascal	Assistant	En poste
<b>4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (28)</b>			
1.	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Mission PR</i>
2.	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En poste
3.	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
4.	NENWA Justin	Professeur	En poste
5.	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen FS Univ.Ngaoundere</i>
6.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
7.	NJOYA Dayirou	Professeur	En poste
8.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
9.	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
11.	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
12.	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
13.	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
14.	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
15.	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
16.	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
17.	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
18.	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
19.	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
20.	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
21.	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En poste
22.	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En poste
23.	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
24.	NCHIMI NONO KATIA	Chargée de Cours	En poste
25.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
26.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
27.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste
28.	BOYOM TATCHEMO Franck W.	Assistant	En Poste
<b>5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (37)</b>			
1.	Alex de Théodore ATCHADE	Professeur	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
2.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UIYI</i>
3.	NGOUELA Silvére Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/ Chef de Département</i>
5.	WANDJI Jean	Professeur	En poste
6.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste
7.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
8.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
9.	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
11.	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
12.	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13.	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14.	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
15.	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
16.	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>

17.	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
18.	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>DAAC/Uié Bertoua</i>
19.	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
20.	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
21.	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
22.	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
23.	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
24.	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste
25.	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
26.	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
27.	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
28.	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En poste
29.	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30.	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En poste
31.	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32.	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
33.	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En poste
34.	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
35.	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste
36.	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
37.	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En poste
<b>6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)</b>			
1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général/ MINESUP</i>
3.	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste
5.	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Chef de Cellule MINFOPRA</i>
6.	AMINOUE HALIDOU	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
9.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
11.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
12.	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
13.	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
14.	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En poste
15.	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
16.	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Chargé de Cours	En poste
17.	OLLE OLLE Daniel Claude Georges Delort	Chargé de Cours	<i>Sous-Directeur ENSET Ebolowa</i>
18.	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
19.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
20.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
21.	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	<i>Directeur CUTI</i>
22	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste
<b>7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)</b>			
1.	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<i>Chef de Département</i>

2.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
3.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
4.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef Service des Programmes &amp; Diplômes/FS/UYI</i>
7.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
8.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
9.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste
10.	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11.	BOGSO ANTOINE Marie	Chargé de Cours	En poste
12.	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13.	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14.	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15.	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
16.	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En poste
17.	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18.	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En poste
19.	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
20.	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En poste
21.	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
22.	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
23.	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
24.	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
25.	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
26.	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En poste
27.	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28.	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
29.	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En poste
30.	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En poste
31.	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
32.	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistant	En poste
33.	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste
<b>8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)</b>			
1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
4.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
5.	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6.	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
7.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En poste
9.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

10	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
11	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
12	MEYIN A EBONG Solange	Chargé de Cours	En poste
13	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargé de Cours	En poste
14	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
15	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargé de Cours	En poste
16	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>
17	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste
18	NKOUÉ TONG Abraham	Assistant	En poste
19	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistant	En poste
20	EZO'O MENGO Fabrice Télésfor	Assistant	En poste
21	EHETH Jean Samuel	Assistant	En poste
22	MAYI Marie Paule Audrey	Assistant	En poste
23	NGOUE NAM Romial Joël	Assistant	En poste
24	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Assistant	En poste
<b>9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (43)</b>			
1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3.	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
4.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5.	HONA Jacques	Professeur	En poste
6.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
9.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10.	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
12.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
13.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
16.	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
17.	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18.	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
19.	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
22.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
23.	MELI'I Joelle Larissa	Maître de Conférences	En poste
24.	MVOGO ALAIN	Maître de Conférences	En poste
25.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
26.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27.	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28.	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste

29.	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UYI</i>
30.	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférence	<i>En stage depuis février 2023</i>
31.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
32.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
33.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
34.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
35.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
36.	FOUEJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
37.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En poste
38.	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En poste
39.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	Directeur Unité de production des réactifs/IMPM
40.	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En poste
41.	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En poste
42.	NGA ONGODO Dieudonné	Assistant	En poste
43.	SOUFFO TAGUEU Merimé	Assistant	En poste
<b>10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)</b>			
1.	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA /UDs</i>
2.	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
3.	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
4.	NGOS III Simon	Professeur	En poste
5.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
6.	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
7.	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/Uté. Eb.</i>
8.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>
9.	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	En poste
11.	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>
12.	Elisé SABABA	Maître de Conférences	En poste
13.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
14.	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
15.	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Div. /Uté Bertoua</i>
16.	MBIDA YEM	Maître de Conférences	En poste
17.	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINIMDT</i>
18.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
19.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
20.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
21.	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
22.	TCHAKOUNTE Jacqueline épse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef. Cell /MINRESI</i>
23.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
24.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
25.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
26.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste

27	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
28	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
29	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	En poste
30	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En poste
31	MBESSE Cécile Olive	Chargée de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. /Uté Maroua</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
36	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
37	TCHAPCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
38	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
39	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
40	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste
41	KOAH NA LEBOGO Serge Parfait	Assistant	En poste
42	NGO'O ZE ARNAUD	Assistant	En poste
43	TENE DJOUKAM Joëlle Flore, épouse KOUANKAP NONO	Assistante	En poste

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

#### NOMBRE D'ENSEIGNANTS

DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	15 (11)	13 (03)	7 (05)	<b>43 (20)</b>
BPA	14 (01)	16 (09)	18 (04)	4 (02)	<b>52 (16)</b>
BPV	6 (01)	12 (02)	13 (07)	3 (00)	<b>34 (10)</b>
CI	7 (01)	15 (04)	5 (01)	1 (00)	<b>28 (06)</b>
CO	6 (01)	18 (04)	11 (04)	2 (00)	<b>37 (09)</b>
IN	2 (00)	2 (00)	14 (01)	4 (00)	<b>22 (01)</b>
MAT	1 (00)	8 (00)	17 (01)	7 (02)	<b>33 (03)</b>
MIB	2 (01)	7 (03)	8 (04)	7 (02)	<b>24 (10)</b>
PHY	15 (01)	15 (04)	11 (01)	2 (00)	<b>43 (06)</b>
ST	8 (00)	17 (03)	15 (04)	3 (01)	<b>43 (08)</b>
<b>Total</b>	<b>69 (07)</b>	<b>125 (40)</b>	<b>125 (30)</b>	<b>40 (12)</b>	<b>359 (89)</b>

Soit un total de **359 (89)** dont :

- Professeurs **69 (07)**
- Maîtres de Conférences **125 (40)**
- Chargés de Cours **125 (30)**
- Assistants **40 (12)**

( ) = Nombre de Femmes **89**

## DEDICACES

A mon feu père *KAMLA Lazare*

A ma mère *DELLO Marie*

A mon épouse *FOTIE MEGATEU Cynthia*

A mes enfants

## REMERCIEMENTS

J'exprime ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de cette thèse. En particulier :

- Aux Professeurs **GHOGOMU TIH Ralph** et **TIH EWOLA Anastasie** qui m'ont confié ce travail et qui ont tout mis en œuvre pour sa réussite.
- Au Professeur **Emmanuel Dieudonné PEGNYEMB**, Chef de Département de Chimie Organique de la faculté des sciences de l'Université de Yaoundé I ainsi que tout le corps enseignant du Département pour avoir contribué de manière active à ma formation ;
- Au Professeur **NKENGFAK Augustin E.** ancien Chef de Département de Chimie Organique qui n'a jamais cessé de m'encourager dans ce travail.
- Au Professeur **NOTE LOUGBOT Olivier Placide** pour l'encadrement et pour ces multiples conseils qui m'ont permis de finaliser ce travail.
- Aux enseignants du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé 1, en particulier, les professeurs **MKOUNGA Pierre** et **Alex de Théodore ATCHADE** pour leurs multiples conseils et encouragement tout au long de ce travail.
- Au Docteur **MESSI Angélique Nicolas** pour son accompagnement dans la finition de ce travail.
- A ma très chère cadette **Mlle DZUKOUG Raïssa** pour son accompagnement tout au long de ce travail.
- A tous mes camarades du Département de Chimie Organique pour le soutien moral et affectif qu'ils m'ont témoigné.
- A **M. KAMDEM KENGNE Michael** qui m'a aidé dans l'enregistrement des spectres.
- A monsieur **Yanick Kevin Dongmo Melogmo** pour la réalisation des tests biologiques.
- A tous les chercheurs du laboratoire de Chimie des Substances Naturelles (labo 279 de l'extension 3) Faculté des Sciences qui m'ont entouré amicalement.
- A mes beaux-parents **M. FOTIE Paul** et son épouse **MAKOOU Thérèse** pour leur soutien inconditionnel.
- A toute ma famille en particulier **M. Talla Kuetche Ignace** pour ces multiples conseils et encouragement.
- A toute ma belle-famille pour leurs multiples encouragements.

## Table des matières

LISTE PROTOCOLAIRE.....	ix
DEDICACES .....	x
REMERCIEMENTS .....	xi
LISTE DES ABREVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES.....	xvi
LISTE DES TABLEAUX.....	xviii
LISTE DES FIGURES.....	xx
LISTE DES SCHEMAS.....	xxiii
ABSTRACT .....	xxiv
RESUME.....	xxvi
INTRODUCTION GENERALE.....	2
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	6
I. Les maladies infectieuses .....	6
I.1. Maladies diarrhéiques .....	6
I.2. Causes des diarrhées.....	7
I.2. Prévention et traitement .....	8
II. PRÉSENTATION BOTANIQUE DES FAMILLES DES HYPERICACEAE ET CLUSIACEAE .....	9
II.1- Aperçu botanique des Hypericaceae.....	9
II.1.1- Aperçu botanique du genre <i>Psorospermum</i> .....	9
II.1.2- Répartition géographique .....	10
II.1.3- Usages ethnobotaniques des plantes du genre <i>Psorospermum</i> .....	10
II.1.4- Aperçu botanique de <i>Psorospermum aurantiacum</i> .....	12
II.2- Aperçu botanique des Clusiaceae .....	13
II.2.1- Aperçu botanique du genre <i>Symphonia</i> .....	13
II.2.2- Répartition géographique du genre <i>Symphonia</i> .....	13
II.2.3- Utilisations ethnobotaniques des plantes du genre <i>Symphonia</i> .....	14
II.2.4- L'espèce <i>Symphonia globulifera</i> .....	15
II.2.4.1- Répartition géographique du genre <i>Symphonia globulifera</i> .....	16
II.2.4.2- Usages ethnobotaniques du genre <i>Symphonia globulifera</i> .....	17
III. Etudes phytochimiques antérieures sur les genres <i>Psorospermum</i> et <i>Symphonia</i> .....	18
III.1- Etudes phytochimiques antérieures du genre <i>Psorospermum</i> .....	18
III.1.1- Les xanthones .....	18
III.1.2- Les triterpenoïdes .....	21
III.1.3- Les anthraquinones.....	23
III.1.4- Les anthrones.....	24
III.1.5- Les bianthrones .....	24
III.1.6- Les vismiones .....	24

III.1.7- Les flavonoïdes .....	25
III.1.8- Les alcanes et alcools à longues chaînes .....	27
III.2- Etude phytochimique du genre <i>Symphonia</i> .....	28
III.2.1- Introduction .....	28
III.2.2- Biflavonoïdes .....	28
III.2.3- Les terpenoïdes.....	30
III.2.4- Xanthones.....	30
III.2.5- Acides gras .....	31
III.2.6- Benzophénones et Phloroglucinols .....	31
IV. Propriétés biologiques et pharmacologiques.....	32
IV.1- Etudes biologiques antérieures du genre <i>Psorospermum</i> .....	32
IV.1.1- Activité antipaludique .....	32
IV.1.2- Activité antimicrobienne.....	32
IV.1.3- Activité anticancéreuse .....	33
IV.1.4- Activité antileishmaniale.....	34
IV.1.5- Activité anti-inflammatoire.....	34
IV.1.6- Activité antifongique.....	34
IV.2- Investigation biologiques des espèces du genre <i>Symphonia</i> .....	34
IV.2.1- Activité antimalariale .....	35
IV.2.2- Activité antioxydante .....	35
IV.2.3- Activité antileishmaniale.....	36
IV.2.4- Activité antimicrobienne.....	37
IV.2.5- Activité anticancéreuse .....	38
IV.2.6- Activité anti-VIH .....	38
IV.2.7- Activité anti-FAS .....	39
IV.2.8- Activité anticholinestérase .....	39
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSIONS .....	42
I- Extraction et isolement des produits.....	42
I.1- Extraction et isolement des produits des tiges de <i>Psorospermum aurantiacum</i> Engl. ..	42
I.2- Extraction et isolement des produits des feuilles de <i>Symphonia globulifera</i> L.f.....	43
II- Caractérisation des composés isolés. ....	46
II.1- Identification de TED13 .....	46
II.2- Identification de TED14 .....	50
II.3- Identification de TED15. ....	52
II.4- Détermination de la structure de TED16.....	55
II.5- Identification de TED17 .....	62

II.6- Identification de TED18 .....	64
II.7- Identification de GTE-3.....	67
II.8- Identification de GTE-4.....	71
II.9- Identification de GTE-5.....	75
II.10- Identification de GTE-6.....	78
II.11- Identification de GTE-7.....	81
II.12- Identification de GTE-8.....	84
II.13- Détermination de la structure de GTE-25.....	88
II.14- Identification de TED1 .....	93
II.15- Identification de TED2 .....	98
II.16- Identification de TED3 .....	100
II.17- Identification de TED4 .....	103
II.18- Détermination de la structure de TED7.....	108
II.19- Identification de TED8.....	116
II.20- Identification de TED9 .....	125
III. Évaluation des activités antibactérienne et antioxydante .....	128
III.1. Tests antibactériens.....	128
III.2. Evaluation de l'activité antioxydante de quelques composés .....	131
III.2.1. Activité de piégeage des radicaux DPPH.....	131
III.2.2. Evaluation de la capacité réductrice (FRAP).....	132
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	136
CHAPITRE III : Partie expérimentale .....	140
I. Appareillage.....	140
III. Matériel végétal.....	140
III. Extraction et isolement des produits .....	140
III.1. Tiges (écorces et bois) de <i>Psorospermum aurantiacum</i> .....	140
III.2. Feuilles de <i>Symphonia globulifera</i> .....	141
IV. Fractionnement et isolement .....	142
IV.1. Chromatographie sur Couche Mince.....	142
IV.2. Chromatographie sur colonne .....	142
IV.3. Méthode de purification .....	143
V. Matériels biologiques et méthodes .....	143
V.1. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	143
V.1.1. Préparation des solutions stocks d'extraits, et d'antibactériens de référence .....	143
V.1.2. Préparation des Inocula bactériens .....	144
V.1.3. Principe de la méthode de micro dilution .....	144
V.1.4. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) .....	144

V.1.5. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) .....	144
V.2. Evaluation de l'activité antioxydante .....	145
V.2.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) .....	145
V.2.2. Test du dosage FRAP (ferric reduction antioxydant power) .....	145
V.2.3. Analyses statistiques .....	146
VI. Tests qualitatifs des composés isolés .....	146
VI.1. Test de Shinoda .....	146
VI.2. Test au chlorure ferrique .....	146
VI.3. Test de Molisch .....	146
VI.4. Test de Libermann-Büchard .....	146
VII. Données physico-chimiques des produits isolés .....	146
Références .....	158
Liste des publications .....	169

## LISTE DES ABREVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES

$\mu\text{g}$  : microgramme

AcOEt : acétate d'éthyle

APG : Angiosperm Phylogeny Group

CC : Chromatographie sur colonne

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

$\text{CDCl}_3$  : Chloroforme deutéré

$\text{CE}_{50}$  : Concentration Effective d'un produit piégeant 50% de DPPH

$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  : Chlorure de méthylène/méthanol

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CoA : coenzyme A

COSY : Correlation Spectroscopy

d : Doublet

dd : Doublet de doublet

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

DEPTQ: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer Quantum

DMSO: Diméthylsulfoxyde

$\text{DMSO-}d_6$ : Diméthylsulfoxyde deutéré

DPPH: 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl

$\delta$  : Echelle de déplacement chimique en ppm

ESI: ElectroSpray Ionisation

Fig.: Figure

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

HMBC: Heteronuclear Multiple-Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear MultiQuantum Coherence

HRMS: High resolution Mass Spectrométrie

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Correlation

Hz : Hertz

IC : Ionisation Chimique

IR : Infrarouge

$J$  : constante de couplage

m : multiplet

$\text{M}^+$  : Ion moléculaire

MeOH : Méthanol

MHz : Mégahertz

m/z : Rapport masse sur charge

nm : Nanomètre

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

*P.* : *Psorospermum*

ppm : Partie par million

q : quadruplet

RDC : République Démocratique du Congo

RMN <sup>13</sup>C : Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13

RMN <sup>1</sup>H : Résonance Magnétique Nucléaire du proton

RMN 1D : Résonance Magnétique Nucléaire à une dimension

RMN 2D : Résonance Magnétique Nucléaire à deux dimensions

s : singulet

*S.* : *Symphonia*

SM : Spectrométrie de Masse

t : triple

TMS : Tétraméthylsilane

UV : Ultra-Violet

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Classification .....	12
<b>Tableau II</b> : Classification de <i>S. globulifera</i> L.f. ....	16
<b>Tableau III</b> : Usage en médecine traditionnelle de <i>S. globulifera</i> .....	18
<b>Tableau IV</b> : Activité anti-plasmodium de <i>S. globulifera</i> .....	35
<b>Tableau V</b> : Activité antioxydante <i>S. globulifera</i> . ....	36
<b>Tableau VI</b> : Activité antileishmaniale <i>S. globulifera</i> . ....	37
<b>Tableau VII</b> : Activité antimicrobienne <i>S. globulifera</i> .....	38
<b>Tableau VIII</b> : Activité cytotoxique <i>S. globulifera</i> . ....	38
<b>Tableau IX</b> : Récapitulatif des composés isolés et caractérisés de <i>P. aurantiacum</i> . ....	44
<b>Tableau X</b> : Récapitulatif des composés isolés et caractérisés de <i>S. globulifera</i> . ....	45
<b>Tableau XI</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de TED13 comparées à celles retrouvées dans la littérature.....	49
<b>Tableau XII</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de TED14. ....	52
<b>Tableau XIII</b> : Données spectrales de RMN (CDCl <sub>3</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de TED15 comparées à celles de la littérature. ....	54
<b>Tableau XIV</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) du composé TED16.....	61
<b>Tableau XV</b> : Données spectrales RMN (CDCl <sub>3</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de TED17 comparées à celles de la littérature. ....	63
<b>Tableau XVI</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de TED18 comparées à celles de la littérature.....	66
<b>Tableau XVII</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (400 MHz) et <sup>13</sup> C (100 MHz) de GTE-3 comparées à celles de l'apigénine. ....	70
<b>Tableau XVIII</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (400 MHz) et <sup>13</sup> C (100 MHz) de GTE-4 comparées à celles de la Lutéoline. ....	74
<b>Tableau XIX</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (400 MHz) et <sup>13</sup> C (100 MHz) de GTE-5 comparées à celles de la génistéine. ....	78
<b>Tableau XX</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (400 MHz) et <sup>13</sup> C (100 MHz) de GTE-6 comparées à celles de l'isoformonétine. ....	81
<b>Tableau XXI</b> : Données spectrales RMN (CDCl <sub>3</sub> ) : <sup>1</sup> H (400 MHz) et <sup>13</sup> C (100 MHz) de GTE-7.....	83

<b>Tableau XXII</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de GTE-8 comparées a celles de la robustaflavone. ....	87
<b>Tableau XXIII</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de GTE-25.....	93
<b>Tableau XXIV</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de TED1 comparées avec celles du polycarpol décrites dans la littérature. ....	97
<b>Tableau XXV</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de TED2 comparées à celles de la littérature. ....	99
<b>Tableau XXVI</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz,) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de TED3 comparées à celles de la littérature. ....	102
<b>Tableau XXVII</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de TED4. ....	108
<b>Tableau XXVIII</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de TED7. ....	115
<b>Tableau XXIX</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) du composé TED8 comparées à celles de 7''- <i>O</i> -méthylrobustaflavone. ....	124
<b>Tableau XXX</b> : Données spectrales RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) : <sup>1</sup> H (500 MHz) et <sup>13</sup> C (125 MHz) de TED9 comparées à celles de l’Amentoflavone. ....	127
<b>Tableau XXXI</b> : Concentrations Minimales inhibitrices (CMI) et Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) (µg/mL) des composés isolés de <i>S. globulifera</i> . ....	129
<b>Tableau XXXII</b> : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) (µg/mL) des composés isolés de <i>P. aurantiacum</i> .....	130
<b>Tableau XXXIII</b> : Activité antioxydante par les dosages DPPH et FRAP (n = 3) de <i>S. globulifera</i> . ....	134
<b>Tableau XXXIV</b> : Activité antioxydante par les dosages DPPH et FRAP (n = 3) de <i>P. aurantiacum</i> . ....	134

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> <i>Psorospermum aurantiacum</i> (a : plante ; b : tiges) .....	12
<b>Figure 2:</b> Feuilles de <i>S. globulifera</i> .....	16
<b>Figure 3:</b> Structure de base d'une xanthone.....	19
<b>Figure 4:</b> squelettes de base des flavonoïdes.....	25
<b>Figure 5 :</b> Spectre de masse de TED13 .....	46
<b>Figure 6 :</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED13. ....	47
<b>Figure 7 :</b> Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de TED13.....	47
<b>Figure 8 :</b> Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED13 .....	48
<b>Figure 9 :</b> Spectre HMBC de TED13 .....	49
<b>Figure 10 :</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED14. ....	51
<b>Figure 11 :</b> Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED14. ....	51
<b>Figure 12 :</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de TED15. ....	53
<b>Figure 13 :</b> Spectre de masse de TED16 .....	55
<b>Figure 14 :</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED16. ....	56
<b>Figure 15 :</b> Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de TED16.....	57
<b>Figure 16 :</b> Spectre RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED16 .....	58
<b>Figure 17 :</b> Spectre DEPT 135 (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED16.....	58
<b>Figure 18 :</b> Spectre HSQC de TED16 .....	59
<b>Figure 19 :</b> Spectre HMBC de TED16 .....	60
<b>Figure 20 :</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de TED17. ....	62
<b>Figure 21 :</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED18. ....	65
<b>Figure 22 :</b> Spectre de masse de GTE-3.....	67
<b>Figure 23 :</b> Spectre RMN $^1\text{H}$ de GTE-3 (400 MHz, DMSO- $d_6$ ).....	68
<b>Figure 24 :</b> Spectre COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ de GTE-3.....	69
<b>Figure 25 :</b> Spectre RMN $^{13}\text{C}$ de GTE-3 (100 MHz, DMSO- $d_6$ ).....	70
<b>Figure 26 :</b> Spectre de masse de GTE-4.....	71
<b>Figure 27 :</b> Spectre RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) de GTE-4. ....	72
<b>Figure 28 :</b> Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de GTE-4. ....	73
<b>Figure 29 :</b> Spectre RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) de GTE-4.....	74
<b>Figure 30 :</b> Spectre RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) de GTE-5.....	76
<b>Figure 31 :</b> Spectre COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ de GTE-5 .....	76
<b>Figure 32 :</b> Spectre RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) de GTE-5.....	77
<b>Figure 33 :</b> Spectre DEPT 135 de GTE-5 .....	77

<b>Figure 34</b> : Spectre RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) de GTE-6.....	79
<b>Figure 35</b> : Spectre RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) de GTE-6.....	80
<b>Figure 36</b> : Spectre DEPT 135 de GTE-6 .....	80
<b>Figure 37</b> : Spectre de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de GTE-7.....	82
<b>Figure 38</b> : Spectre DEPTQ de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de GTE-7.....	83
<b>Figure 39</b> : Spectre RMN $^1\text{H}$ de GTE-8 (500 MHz, DMSO- $d_6$ ).....	85
<b>Figure 40</b> : Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de GTE-8. ....	85
<b>Figure 41</b> : Spectre DEPTQ (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de GTE-8. ....	86
<b>Figure 42</b> : Spectre de masse ESI de GTE-25.....	88
<b>Figure 43</b> : Spectre RMN $^1\text{H}$ de GTE-25 .....	89
<b>Figure 44</b> : Spectre DEPTQ de GTE-25.....	90
<b>Figure 45</b> : Spectre HSQC de GTE-25.....	90
<b>Figure 46</b> : Spectre HMBC de GTE-25.....	91
<b>Figure 47</b> : Spectre HMBC de GTE-25.....	92
<b>Figure 48</b> : Spectre RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED1. ....	94
<b>Figure 49</b> : Spectre RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED1. ....	95
<b>Figure 50</b> : Spectre HMBC de TED1 .....	96
<b>Figure 51</b> : Spectre de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) TED2 .....	98
<b>Figure 52</b> : Spectre de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz ; DMSO- $d_6$ ) de TED3 .....	101
<b>Figure 53</b> : Spectre de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz ; DMSO- $d_6$ ) de TED4 .....	104
<b>Figure 54</b> : Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de TED4.....	105
<b>Figure 55</b> : Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED4 .....	106
<b>Figure 56</b> : Spectre DEPT 135 (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED4.....	106
<b>Figure 57</b> : Spectre HMBC de TED4.....	107
<b>Figure 58</b> : spectre de masse TED7.....	109
<b>Figure 59</b> : Spectre de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz ; DMSO- $d_6$ ) de TED7. ....	110
<b>Figure 60</b> : Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de TED7.....	111
<b>Figure 61</b> : Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz ; DMSO- $d_6$ ) de TED7 .....	112
<b>Figure 62</b> : Spectre DEPT 135 (125 MHz ; DMSO- $d_6$ ) de TED7 .....	112
<b>Figure 63</b> : Spectre de HSQC de TED7 .....	113
<b>Figure 64</b> : Spectre HMBC de TED7 .....	114
<b>Figure 65</b> : Spectre de masse de TED8 .....	116
<b>Figure 66</b> : Spectre de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED8 .....	118
<b>Figure 67</b> : Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de TED8.....	119

<b>Figure 68</b> : Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED8 .....	120
<b>Figure 69</b> : Spectre DEPT 135 (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED8.....	120
<b>Figure 70</b> : Spectre HMBC de TED8 région $\delta_{\text{H}}$ 3,5 et 13,5. ....	122
<b>Figure 71</b> : Spectre HMBC de TED8 région $\delta_{\text{H}}$ 6,15 et 8,5. ....	123
<b>Figure 72</b> : Spectre de masse de TED9 .....	125
<b>Figure 73</b> : Spectre de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED9. ....	126
<b>Figure 74</b> : Effet des composés isolés [95 (1), 91 (3), 96 (4)] de <i>S. globulifera</i> et de Catéchine sur le piégeage des radicaux libres DPPH.....	132
<b>Figure 75</b> : Effet des composés isolés [81 (1), 78 (2), 83 (3)] de <i>P. aurantiacum</i> et de Catéchine sur le piégeage des radicaux libres DPPH.....	132

## LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1: Biosynthèse des xanthones : cas des trihydroxyxanthones. ....	21
Schéma 2 : Biosynthèse des terpènes. ....	23
Schéma 3 : voie de Biosynthèse générale des squelettes de base des différentes classes de flavonoïdes. ....	27
Schéma 4: mécanisme de formation des précurseurs de biflavonoïdes. ....	29
Schéma 5 : Protocole d'extraction et de purification des tiges de <i>P. aurantiacum</i> . ....	43
Schéma 6: Protocole de purification de l'extrait au méthanol des feuilles de <i>S. globulifera</i> ...	44
Schéma 7 : quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de TED16. ....	61
Schéma 8 : corrélations HMBC GTE-25 ....	92
Schéma 9 : Corrélations observées sur le spectre HMBC de TED1 ....	96
Schéma 10 : Corrélations observées sur le spectre HMBC de TED4 ....	107
Schéma 11 : quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de TED7. ....	114
Schéma 12 : Corrélations observées sur le spectre HMBC TED8. ....	123

## ABSTRACT

The work undertaken as part of this thesis focuses on the phytochemical and biological studies of two medicinal plants: the stems (bark and wood) of *Psorospermum aurantiacum* Engl. (Hypericaceae) and the leaves of *Symphonia globulifera* L.f. (Clusiaceae).

Leaves of *Symphonia globulifera* have been harvested, dried, ground and extracted with methanol. Purification of the extract with a combination of chromatographic methods has led to fourteen (14) pure compounds, the structures of which have been obtained by spectrometric and spectroscopic methods (MS, NMR 1D and 2D). It is about: five flavonoids (5,7-dihydroxy-3(-4-hydroxyphenyl) chromen-4-one **86**, 4-hydroxy-7-methoxyisoflavone **87**, 5,7,4'-trihydroxy-2-phenylchromen-4-one **84**, 3,5,7,4'-tetrahydroxy-2-phenylchromen-4-one **85** and (+)-*epi*-catechin **94**), three biflavonoids (4',4''',5,5'',7,7''-hexahydroxy-2,2''-bis(4-hydroxyphenyl)-3',6''-bis(4H -1-benzopyran)-4,4'-dione **89**, 4',4''',5,5'',7,-pentahydroxy-7''-*O*-methyl-3',6''-biflavone **96** and Amentoflavone **97**), one xanthone (1,5-dihydroxyxanthone **88**); one lanostane (3,15-dihydroxylanosta-7,9(11),24-triene **91**), two polysteroids (stigmasterol glucoside **92** and  $\beta$ -sitosterol glucoside **93**), friedelane **95** described for the first time and a new bisxanthone **90**.

Extraction of the stems of *Psorospermum aurantiacum* yielded a methanol extract and an ethyl acetate fraction. The ethyl acetate fraction left over gave after purification with combined chromatographic methods, six (6) pure compounds the structures of which were established using spectrometric and spectroscopic methods (MS, NMR 1D and 2D). They are: two xanthenes (1,5,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone **78** and 1,7-dihydroxyxanthone **79**), three lupane-type triterpenes (betulin **80**, lupeol **82** and betulinic acid **83**), one new xanthonolignoid (cadensin H **81**). The structure of known compounds has been confirmed by a comparison of their spectral data with literature.

All the chemical constituents of *Symphonia globulifera* tested on bacterial strains have shown no antibacterial activity (MIC above 200  $\mu\text{g/mL}$ ). Compound 7''-*O*-methoxyrobustaflavone **96** was the only one to show antioxidant activity.

The methanolic extract of *Psorospermum aurantiacum* showed antibacterial activity against *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* methicilline resistant, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* with MIC of 125 to 500  $\mu\text{g/mL}$  and MBC of 500  $\mu\text{g/mL}$  against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* strains. The ethyl acetate fraction has activity against *S. flexneri*, *S. aureus* methicilline resistant, *S. aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* strains with MIC of 250 to 1000  $\mu\text{g/mL}$  and MBC of 500 to 1000  $\mu\text{g/mL}$  on *S. flexneri*, *S. aureus* and *E. coli* strains.

Among all the compounds isolated from ethyl acetate fraction, only 1,5,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone **78** had an antibacterial activity on all strains mentioned above with MIC of 12.5 to 50  $\mu\text{g/mL}$  and MBC of 25  $\mu\text{g/mL}$  on *S. aureus* methicilline resistant and of 100  $\mu\text{g/mL}$  on *Escherichia coli*. This same xanthone showed notable antioxidant activity.

In view of these results, we can deduce that the multiple uses in traditional medicine of *P. aurantiacum*, would be due to the presence of this compound endowed with biological activities that we have just described. These findings could be exploited to justify the use of this plant in the treatment of infectious diseases in traditional medicine, especially against diarrhea and venereal infections.

**Key words:** Clusiaceae, Hypericaceae, *Symphonia globulifera*, *Psorospermum aurantiacum*, antibacterial activity, antioxidant activity.

## RESUME

Les travaux entrepris dans le cadre de cette thèse portent sur l'étude phytochimique et biologique de deux plantes médicinales : les tiges (écorces et bois) de *Psorospermum aurantiacum* Engl. (Hypericaceae) et les feuilles de *Symphonia globulifera* L.f. (Clusiaceae).

Les feuilles de *Symphonia globulifera* ont été récoltées, séchées, broyées et extraites au méthanol. La purification de l'extrait par une combinaison de méthodes chromatographiques a donné quatorze (14) produits purs dont les structures ont été établies par la spectrométrie de masse et des méthodes spectroscopiques (SM, RMN 1D et 2D). Il s'agit de : cinq flavonoïdes (5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl) chromen-4-one **86**, 4-hydroxy-7-methoxyisoflavone **87**, 5,7,4'-trihydroxy-2-phenylchromen-4-one **84**, 3,5,7,4'-tetrahydroxy-2-phenylchromen-4-one **85** et l' (+)-*épi*-catéchine **94**) ; trois biflavonoïdes, (4',4'',5,5'',7,7''-hexahydroxy-2,2''-bis(4-hydroxyphényl)-3',6''-bis(4H-1-benzopyran)-4,4'-dione **89**, 4',4'',5,5'',7,-pentahydroxy-7''-O-methyl-3',6''-biflavone **96** et l'Amentoflavone **97**), une xanthone (1,5-dihydroxyxanthone **88**) ; un triterpène de type lanostane (3,15-dihydroxylanosta-7,9(11),24-triène **91**), deux stéroïdes (glucoside de stigmastérol **92** et glucoside de  $\beta$ -sitostérol **93**), une friedelane **95** décrite pour la première fois et une nouvelle bisxanthone **90**.

L'extraction des tiges de *Psorospermum aurantiacum* a donné un extrait au méthanol et une fraction à l'acétate d'éthyle. La fraction à l'acétate d'éthyle après purification par une combinaison de méthodes chromatographiques a donné six (6) produits purs dont les structures ont été établies par spectrométrie de masse et les méthodes spectroscopiques (SM, RMN 1D et 2D). Il s'agit de : deux xanthonnes (1,5,6-trihydroxy-7-méthoxyxanthone **78** et le 1,7-dihydroxyxanthone **79**) ; trois triterpènes de type lupane (bétuline **80**, lupéol **82** et l'acide bétulinique **83**), et une xanthonolignoïde nouvelle (Cadensine H **81**). Les structures des composés connus ont été confirmées par la comparaison de leurs données spectrales avec celles décrites dans la littérature.

Tous les produits de *Symphonia globulifera* testés contre des souches bactériennes n'ont montré aucune activité antibactérienne (CMI supérieure à 200  $\mu\text{g/mL}$ ). Le composé 7''-O-methoxyrobustaflavone **96** a été le seul à montrer une activité antioxydante.

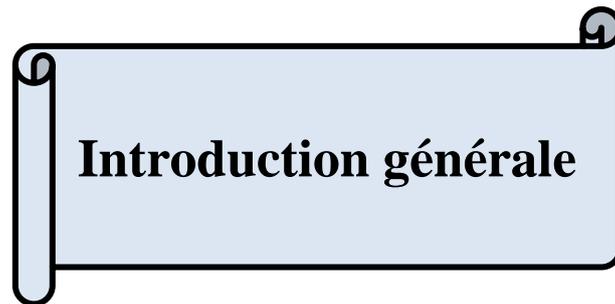
L'extrait au méthanol des tiges de *Psorospermum aurantiacum* a montré des propriétés antibactériennes contre *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthiciline, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* et *Escherichia coli* avec une CMI de 125 à 500  $\mu\text{g/mL}$  et une CMB de 500  $\mu\text{g/mL}$  contre les souches *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* et *Escherichia coli*. La fraction à l'acétate d'éthyle a présenté une activité contre les souches *S. flexneri*, *S. aureus* résistant à la méthiciline, *S. aureus*, *Salmonella typhi* et *Escherichia coli*

avec une CMI de 250 à 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  et une CMB de 500 à 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sur les souches *S. flexneri*, *S. aureus*, *E. coli*.

De tous les produits testés, seul le 1,5,6-trihydroxy-7-méthoxyxanthone **78** a montré une activité sur toutes les souches bactériennes avec une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de 12,5 à 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  et une Concentration Minimale Bactéricide (CMB) de 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sur le *S. aureus* résistant à la méthocilline et de 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sur *Escherichia coli*. Cette même xanthone a montré une activité antioxydante notable.

Au vu de ces résultats, nous pouvons déduire que les multiples utilisations en médecine traditionnelle de *P. aurantiacum*, seraient dues à la présence de ce composé doté d'activités biologiques que nous venons de décrire. Ces découvertes pourraient être exploitées pour justifier l'utilisation de cette plante dans le traitement des maladies infectieuses en médecine traditionnelle, notamment contre les diarrhées et les infections vénériennes.

**Mots clés :** Clusiaceae, Hypericaceae, *Symphonia globulifera*, *Psorospermum aurantiacum*, activité antibactérienne, activité antioxydante.



## INTRODUCTION GENERALE

Les maladies infectieuses revêtent différentes formes. Elles sont provoquées par des bactéries, des virus, des parasites ou des champignons qui entrent dans l'organisme pour l'affaiblir. Ces maladies se transmettent d'une personne à l'autre ou peuvent être véhiculées par des animaux.

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé les maladies infectieuses sont responsables dans le monde de 17 millions de décès par an, avec 43% des décès dans les pays en voie de développement contre 1% dans les pays industrialisés. 90% des décès par maladies infectieuses dans le monde sont causés par les infections respiratoires et les maladies diarrhéiques (OMS, 2017).

Les diarrhées sont des syndromes cliniques d'expression digestive. D'origine bactérienne, parasitaire ou virale, elles sont un problème majeur de santé publique chez les enfants dans les pays en voie de développement. Deuxième cause de mortalité chez les enfants de moins de cinq ans, la diarrhée en tue 525 000 chaque année : 80% des enfants meurent au cours des 2 premières années de la vie. Le pic d'infection se situe entre la première semaine de vie et l'âge de 18 mois dans les pays en voie de développement (OMS, 2015 et 2017 Mise à jour le 23/02/2022). Avant d'avoir atteint l'âge de 5 ans, un enfant présente en moyenne 3 épisodes diarrhéiques par an.

En médecine moderne, un nombre important des médicaments synthétisés (Azithromycine et Ciprofloxacine) existe pour le traitement des diarrhées. Les limites de ces traitements conventionnels, notamment la résistance développée par les agents pathogènes et le coût élevé des traitements rend ces derniers inaccessibles pour des populations financièrement fragiles à cause de la pauvreté. Ainsi, le coût élevé de ces médicaments dans la majorité des pays en voie de développement, encourage la plupart des communautés à s'intéresser à la phytothérapie pour se traiter contre les diarrhées. (Timo *et al.*, 2013 ; Gera *et al.*, 2015).

La médecine traditionnelle est très ancienne et se pratique partout dans le monde. En Afrique elle est une marque plus culturelle que sociale. Les tradipraticiens dans nos localités utilisent différentes parties de plantes médicinales pour préparer des potions dites « curatives » dont la composition est malheureusement mal connue d'un point de vue scientifique. La nature des principes actifs et le véritable agent pathogène sur lequel ils agissent ne sont pas toujours clairement identifiés. Les conséquences de l'usage de ces remèdes dits « miracles » sont

multiples : ce sont souvent des accidents encore plus graves au rang desquels, des insuffisances rénales, des cirrhoses de foie, pouvant mener à des complications irréversibles comme des diabètes et divers types de cancers, souvent diagnostiqués très tard. Il est donc important de déterminer la nature des principes actifs présents dans ces potions ainsi que leurs propriétés biologiques exactes. Le but recherché ici étant naturellement de vérifier l'exactitude de leurs propriétés curatives et en donner un profil chimique. Cet effort de labellisation ne peut être que bénéfique pour nos guérisseurs traditionnels, car il leur permettrait de se déployer sereinement en toute connaissance de cause, et plus encore pour nos populations, quasiment condamnées à se soigner uniquement avec ces médicaments pour les raisons évoquées plus haut. Sur la base de ces données scientifiques, des conseils appropriés pourraient être donnés à la population qui utilise des potions, contribuant ainsi aux soins de santé de la population. Dans le cadre de ce travail deux plantes médicinales camerounaises ont été sélectionnées, il s'agit de *Psorospermum aurantiacum* (Hypericaceae) et *Symphonia globulifera* (Clusiaceae).

Le choix de ces deux plantes était basé sur leurs usages traditionnels. Selon les guérisseurs, *Psorospermum aurantiacum* est utilisé pour traiter certaines infections telles que : les troubles gastro-intestinaux, les infections urinaires et dermatologiques, les maladies vénériennes, l'infertilité et l'épilepsie, tandis que *Symphonia globulifera* est utilisé pour traiter le paludisme, les maladies de la peau, le diabète, la toux, les vers intestinaux, la jaunisse pré-hépatique et la fièvre. On leur donne aussi des étiquettes antiparasitaires, antimalariales, antidiabètes, de soulagement des douleurs dues aux menstruations et de traitement de la leishmaniose cutanée (**Lenta et al., 2007a, b**).

Comment ces deux plantes sélectionnées pour notre étude peuvent traiter les maladies infectieuses tel que la diarrhée ? Pour répondre à cette question, nous supposons que ces deux plantes auraient des métabolites secondaires à potentiel antidiarrhéique.

L'objectif général de notre travail est d'identifier et de caractériser les métabolites secondaires des parties de plantes sélectionnées, afin de trouver les molécules candidat pour les médicaments contre les diarrhées.

Spécifiquement il s'agira de :

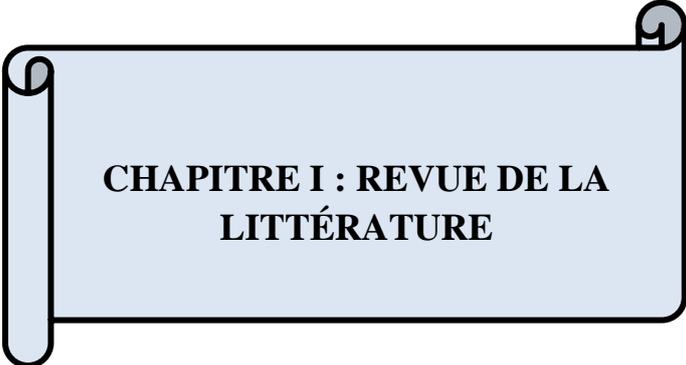
- a) Récolter les parties les plus utilisées de ces plantes et les conditionner pour les études phytochimique et biologique.
- b) Établir un bon protocole d'extraction des parties récoltées et des étapes de purification pour avoir des produits purs.
- c) Utiliser les méthodes spectrométriques et spectroscopiques (SM, RMN 1D et 2D) pour établir leurs structures chimiques.

- d) Evaluer les activités biologiques des extraits bruts puis des composés purs obtenus et les comparer aux résultats obtenus des extraits bruts sources.
- e) Etablir une corrélation entre les activités biologiques des plantes choisies et les revendications des guérisseurs traditionnels, et rendre ces informations disponibles.

Le travail réalisé au cours de cette thèse se subdivise en trois chapitres :

- Le chapitre un présente la revue de la littérature
- Le chapitre deux les résultats et discussion
- Le chapitre trois la partie expérimentale.

La liste des références et documents consultés est listés à la fin du document.



**CHAPITRE I : REVUE DE LA  
LITTÉRATURE**

## CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

### I. Les maladies infectieuses

Une maladie infectieuse est une maladie provoquée par l'invasion d'un ou plusieurs micro-organismes ou agent infectieux (virus, bactéries, parasites, champignons) dans un tissu où ils se multiplient, et par une réaction générale des cellules et des tissus infectés pour éliminer ces agents pathogènes ou leurs toxines (processus impliquant notamment le système immunitaire des plantes et des animaux). Les maladies suivantes représentent 90 % des décès par maladies infectieuses dans le monde : SIDA, paludisme, tuberculose, rougeole, maladies diarrhéiques et infections respiratoires (OMS, 2017).

Les maladies infectieuses entravent la santé de base des individus et ont une influence négative sur chaque indice du développement humain et plus particulièrement sur l'espérance de vie à la naissance, l'éducation. Elles sont responsables d'une forte mortalité dans les régions où l'hygiène connaît un déficit et où l'accès aux soins est difficile. La malnutrition ainsi qu'un accès limité à l'eau potable sont autant de facteurs aggravants qui diminuent les chances de survie des malades mais aussi des enfants en bas âge de même que leurs conditions de développement. Ces deux facteurs désarment le système immunitaire et peuvent être vecteurs de maladies infectieuses.

Ces maladies ont des conséquences négatives importantes sur le développement cognitif et les performances scolaires chez l'enfant. La malaria, entre autres, peut causer de graves séquelles, dont des troubles comportementaux, des problèmes moteurs et un manque d'autonomie (Temah C., 2009).

La prévention des maladies infectieuses vise à limiter le risque infectieux (y compris professionnel, notamment pour les métiers de la santé, de contact avec les animaux, des déchets, des cadavres, des eaux usées, des échantillons à analyser en laboratoires de biologie, etc.).

#### I.1. Maladies diarrhéiques

Une diarrhée est définie par l'Organisation Mondiale de la Santé par l'émission d'au moins trois selles molles ou liquides dans une journée (ou des selles plus fréquentes que ce qui est habituel pour le sujet atteint). Il s'agit d'une élimination d'une quantité de selles et notamment d'eau anormale, au-dessus de 300 grammes par jour. Au-delà de 14 jours, elle est qualifiée de persistante (Manatsathit et al., 2002). Une diarrhée aiguë peut également être le symptôme d'une pathologie chronique.

Elles peuvent être d'origine infectieuses (bactériennes, virales, parasitaires ou fongiques) ou non infectieuses. Elles sont alors principalement inflammatoires, tumorales, ou médicamenteuses (en particulier secondaire à la prise d'antibiotiques).

### I.2. Causes des diarrhées

La diarrhée est le symptôme de diverses infections causées par des bactéries, des virus ou des parasites se transmettant, pour la plupart d'entre eux, par de l'eau contaminée avec des matières fécales. Ces infections sont plus courantes lorsqu'il y a des pénuries d'eau salubre pour la boisson, la cuisine, la toilette et le nettoyage. Les rotavirus et *Escherichia coli* sont les 2 agents étiologiques les plus courants des diarrhées modérées à sévères dans les pays à faible revenu. D'autres agents pathogènes, comme *Cryptosporidium* et les espèces de *Shigella* peuvent également jouer un rôle important. Il faut également envisager les caractéristiques étiologiques spécifiques de l'endroit. La cause de plus de 90% de la mortalité par diarrhée est la consommation d'eau contaminée (Bryce et al., 2005). Un effet secondaire de certains médicaments (antibiotiques ou antipsychotiques notamment) : la flore intestinale est bouleversée ou dérégulée. Les enfants qui meurent de diarrhée sont souvent dans un état sous-jacent de malnutrition, ce qui les rend plus vulnérables à cette affection. Chaque épisode diarrhéique aggrave, lui aussi, cette malnutrition. Elle est l'une des principales causes de malnutrition chez l'enfant de moins de cinq ans. L'eau contaminée par des matières fécales humaines (eau d'égout, fosses septiques, latrines) pose particulièrement problème. Les déjections d'animaux peuvent également renfermer des micro-organismes à l'origine de diarrhées.

Les maladies diarrhéiques peuvent également se transmettre d'une personne à l'autre, en particulier en cas d'hygiène insuffisante. La nourriture est aussi une cause majeure de diarrhées lorsqu'elle n'est pas préparée ou conservée dans des conditions d'hygiène satisfaisantes. La conservation et la manipulation de l'eau à usage domestique dans des conditions insalubres sont un facteur de risque important. Les poissons et les crustacés pêchés dans des eaux polluées peuvent être également à l'origine de maladies diarrhéiques.

Il y a trois types cliniques de diarrhées : Les diarrhées liquides aiguës qui durent plusieurs heures ou jours et dont le choléra fait partie, les diarrhées liquides avec émission de sang également appelées dysenterie, les diarrhées persistantes à partir de 14 jours d'affilée.

#### ➤ Ampleur du problème

C'est l'une des principales causes de mortalité et de morbidité de l'enfant dans le monde et elle résulte la plupart du temps de l'eau ou d'aliments contaminés. À l'échelle mondiale, l'eau salubre manque à environ 780 millions d'êtres humains et 2,5 milliards n'ont pas accès à un assainissement de base. Les diarrhées infectieuses sont courantes dans tous les pays en développement.

Dans les pays à faible revenu, les enfants de moins de 3 ans souffrent en moyenne de 3 épisodes diarrhéiques par an. Chacun de ces épisodes les prive des éléments nutritifs nécessaires à leur croissance. En conséquence, la diarrhée est une cause majeure de malnutrition et les enfants malnutris ont un plus grand risque d'avoir des diarrhées.

La déshydratation est la plus grande menace associée à la diarrhée. Au cours d'un épisode diarrhéique, les selles liquides, les vomissements, la transpiration, l'urine et la respiration entraînent des pertes hydriques et une fuite d'électrolytes (sodium, chlorure, potassium et bicarbonate). La déshydratation intervient quand ces pertes ne sont pas compensées (OMS, 2017).

### **I.2. Prévention et traitement**

Les principales mesures de prévention sont : l'accès à de l'eau de boisson salubre, l'amélioration de l'assainissement, le lavage des mains au savon, l'allaitement maternel exclusif jusqu'à 6 mois, la bonne hygiène, au niveau personnel et pour la préparation de la nourriture, l'éducation sanitaire sur les modalités de propagation des infections et la mise en place dans les pays en voie de développement des vaccins anti-diarrhéiques, en particulier contre les rotavirus.

Les principales mesures pour le traitement sont la réhydratation au moyen de sels de réhydratation orale en cas de déshydratation modérée ou en l'absence de signes de déshydratation. Les sels de réhydratation orale sont une solution d'eau pure, de sel et de sucre. Chaque traitement coûte à peine quelques centimes. Ils sont absorbés dans l'intestin grêle et compensent les pertes hydriques et électrolytiques dans les selles. La réhydratation par voie intraveineuse en cas de déshydratation sévère ou de choc. Les suppléments de zinc qui réduisent de 25% la durée de l'épisode diarrhéique et de 30% le volume des selles. Les aliments riches en nutriments : on peut rompre le cercle vicieux de la malnutrition et de la diarrhée en continuant à donner des aliments riches en nutriments, dont le lait maternel, pendant un épisode diarrhéique et en proposant une alimentation nutritive, dont l'allaitement exclusif au sein pendant les 6 premiers mois de la vie, aux enfants quand ils sont en bonne santé. La consultation d'un agent de santé, en particulier pour la prise en charge d'une diarrhée persistante, lorsqu'il

y a du sang dans les selles, ou en cas de signes de déshydratation. En pratique, une antibiothérapie en cas de shigellose. Vu les souches multirésistantes à l'amoxicilline, au chloramphénicol et au cotrimoxazole, il faut recourir aux fluoroquinolones (ciprofloxacine) en cas de situation épidémique ou à l'azithromycine.

Ainsi des recommandations pour le diagnostic et la prise en charge des diarrhées infectieuses sont régulièrement mises à jour. Un guide a été mis au point sous l'égide de l'Infectious Diseases Society of America (IDSA) et publié le 15 décembre 2017. La population ciblée est celle d'enfants ou d'adultes présentant une diarrhée infectieuse probable ou certaine.

## II. PRÉSENTATION BOTANIQUE DES FAMILLES DES HYPERICACEAE ET CLUSIACEAE

### II.1- Aperçu botanique des Hypericaceae

La famille des Hypericaceae est constituée de plantes dicotylédones. Elles étaient auparavant incluses dans les Clusiaceae mais la classification phylogénétique APG II (2003), la classification phylogénétique APG III (2009) et la classification phylogénétique APG IV (2016) acceptent cette famille qui comprend environ 560 espèces réparties en 6 à 9 genres avec une distribution presque mondiale. La classification phylogénétique APG III (2009) et APG IV (2016) situent cette famille dans l'ordre des Malpighiales. La description taxonomique de la famille des Hypericaceae a longtemps été discutée. Elle a été traitée comme la sous-famille Hypericoideae Engl. au sein de Clusiaceae Lind. (Guttiferae Juss.) (Nürk et Blattner, 2010).

Les Hypericaceae sont des herbes persistantes, des arbustes ou rarement des arbres ou des grimpeurs, avec un jus résineux. Les feuilles sont simples, opposées ou verticillées et souvent alternes, entières ou glandulaires avec des cavités sécrétoires contenant de l'huile ou de la résine. Les stipules sont absentes. Ils sont rarement coriaces et généralement marqués de points (glandes) translucides ou noirs. Les fleurs sont généralement jaunes ou blanches. Les genres les plus courants au sein des Hypericaceae comprennent *Hypericum* L., *Psorospermum* Baker, *Vismia* Vand. et *Triadenum* Raf. Environ 80% de la diversité au sein de la famille appartient au genre *Hypericum*. (Hutchinson et Dalziel, 1954 ; Stevens, 2007).

#### II.1.1- Aperçu botanique du genre *Psorospermum*

Le genre *Psorospermum* appartient à la famille des Hypericaceae qui comprend 3 tribus, les Cratoxyleae, les Vismieae et les Hypericeae. La classification de Cronquist (1981) incluait les genres actuels des Hypericaceae dans les Clusiaceae ou Guttiferaeae dans l'ordre des Theales.

La classification phylogénique (**APG III, 2009**) a par la suite engendré un certain nombre de modifications en déplaçant les Clusiaceae dans l'ordre des Malpighiales et en séparant les Hypericaceae des Clusiaceae.

D'après les travaux de Ruhfel et collaborateurs (**2013**) portant sur l'analyse phylogénique de 81 espèces de Clusioideae (Malpighiales), les genres *Vismia* et *Psorospermum* sont monophylétiques. Les données de la biologie moléculaire couplées à des caractères morphologiques indiquent que les Vismieae nécessiteraient de faire l'objet d'une révision taxonomique afin de redéfinir correctement les trois genres *Harungana*, *Psorospermum*, *Vismia* appartenant à la même tribu. Les auteurs proposent de restreindre le genre *Vismia* aux seules espèces sud-américaines (*Vismia baccifera*, *Vismia cayennensis*) d'étendre le genre *Harungana* pour intégrer *Vismia rubescens* et d'étendre le genre *Psorospermum* à toutes les autres espèces africaines et malgaches de Vismieae (**Ruhfel et al., 2013**).

Les espèces appartenant aux genres *Psorospermum* sont des arbres, des arbustes ou des arbrisseaux à feuilles généralement opposées, plus rarement sub-opposées ou alternes et présentant souvent des ponctuations glandulaires sombres et un indumentum de poils étoilés. L'inflorescence se compose d'une panicule terminale couramment en cyme. Les fleurs, hermaphrodites, sont composées de cinq sepales villoses munis de glandes longitudinales linéaires et de cinq sépales villoses à l'intérieur et dotés de glandes longitudinales et de tissus nectarifères enflés à la base. L'androcée est constitué de cinq faisceaux d'étamines comportant un nombre variable d'étamines dans chaque faisceau, les filaments étant soudés sur une bonne partie de leur longueur. Des faisceaux de staminodes, écailleux et charnus, alternent avec les faisceaux d'étamines. Les ovaires, pentaloculés contenant un parfois deux ovules par loge ont une placentation basale. Ils sont surmontés de cinq styles libres. Le fruit est une baie. Les graines sont larges et surmontées d'une testa charnue présentant des glandulations ponctuées (**Robson, 1961**).

### II.1.2- Répartition géographique

La répartition géographique établie essentiellement à partir des échantillons d'herbier et des descriptions provenant de diverses flores montre que le genre *Psorospermum* comprend 55 espèces pour la plupart des arbustes ou petits arbres poussant dans les régions tropicales d'Amérique du Sud, d'Afrique et de Madagascar (**Francesco et al., 2013**).

### II.1.3- Usages ethnobotaniques des plantes du genre *Psorospermum*

La plupart des espèces du genre *Psorospermum* sont utilisées depuis des siècles dans les traditions ethnomédicales des populations indigènes africaines comme fébrifuge, antidote

contre les poisons, purgatif, estomacique et comme remède pour le traitement de la lèpre, des maladies de la peau (comme la dermatite, la gale et l'eczéma) et les plaies sous-cutanées (**Francesco et al., 2013**). Quatre espèces de *Psorospermum* ont été répertoriées dans plusieurs enquêtes ethnobotaniques pour leurs usages thérapeutiques en médecine traditionnelle humaine. Parmi celles-ci, *P. febrifugum* est de loin la plus citée mais *P. corymbiferum*, *P. guineense* et *P. senegalense* sont également employées. Ces quatre espèces sont largement employées à travers toute l'Afrique tropicale pour le soin des problèmes cutanés (ulcérations), gale, mycoses. On décrit aussi l'utilisation des écorces et des racines, plus rarement les feuilles et les fruits, en application locale, essentiellement sous la forme de cataplasmes, d'onguents réalisés à l'aide d'un corps gras, de poudres ou de lotions. Dans de rares cas le traitement est pris par voie orale. (**Kerharo et Adam, 1964 ; Arkinstall, 1979 ; Malgras, 1992 ; Kisangau et al., 2007**).

Les écorces et tiges feuillées de *Psorospermum* sont également employées, généralement en décoction et par voie orale, pour le soin des fièvres, assorties ou non d'une notion de paludisme (**Polygenis-Bigendako, 1990 ; Adjanohoun, 1996 ; Ssegawa et Kasenene, 2007**). L'utilisation majoritairement des feuilles mais également des racines, a largement été rapportée pour le traitement des diarrhées (**Bouquet, 1969 ; Tabuti et al., 2003**) et d'autres désordres gastro-intestinaux (**Van Puyvelde et al., 1977**). Les problèmes respiratoires font également partie des symptômes pour lesquels la médecine traditionnelle a recours à l'usage de *Psorospermum*, en décoction (**Bossard, 1996**) sous forme de poudre, de bains ou en inhalation (**Durand, 1960**). Ces espèces sont également utilisées dans de plus rares cas pour soigner les problèmes psychiatriques (épilepsie ; psychoses ; géophagie), rhumatismaux (**Verger, 1995**), gynécologiques et infectieux (syphilis, otite) (**Kibungu, 2003**). Des usages magico-religieux de la plante ont également été décrits pour porter chance ou éloigner les mauvais esprits (**Kerharo et Adam, 1964**).

Certaines enquêtes indiquent aussi l'utilisation de *Psorospermum* chez les animaux. Des lotions ou des cataplasmes réalisés à partir de feuilles, de tiges ou de racines des espèces *P. baumii*, *P. corymbiferum* et *P. febrifugum* sont utilisés en Afrique et en particulier au Mali pour traiter les parasites externes du bétail (**Wanzala al., 2012**). La décoction des écorces de *P. febrifugum* est également administrée par voie orale en Afrique centrale et de l'Est pour traiter les cas de dysenteries hémorragiques et prévenir les fausses couches chez les bovins (**Minja, 1994 ; Byavu et al., 2000**).

**II.1.4- Aperçu botanique de *Psorospermum aurantiacum***

*P. aurantiacum* (Engl.) est une plante endémique de la ligne montagneuse du Cameroun. Elle est communément appelée « *Atondo feuilles rouges* » appellation trouvée à l’Herbier National du Cameroun.

C'est un arbrisseau d'une hauteur comprise entre 3 et 5 m. La plante est aisément reconnaissable aux poils denses d'un brun orangé d'où l'épithète spécifique *aurantiacum*. Ces poils tapissent la face inférieure de la feuille, contrastant avec le noir brillant du dessus, lorsqu'elle est sèche (Adolf Engler, 1919).



**Figure 1:** *Psorospermum aurantiacum* (a : plante ; b : tiges) (Photo TENE, 2020)

**Tableau I :** Classification (APG III, 2009)

Règne	Plantae
Ordre	Malpighiales
Famille	Hypericaceae
Sous-famille	Hypericoideae
Tribu	Vismieae
Genre	<i>Psorospermum</i>
Espèce	<i>aurantiacum</i>

Carl Ludwig Ledermann découvrit le premier spécimen, en fleurs, en novembre 1909, à Mbo, dans les monts Konga (ou Kongoa, 5°20' N, 9°50' E3), à une altitude de 1 600-1 800 m. Depuis, l'espèce a été observée au Cameroun, dans la Région du Nord-Ouest (Bambui, la réserve forestière de Bafut Ngemba, la réserve forestière de Bali Ngemba, Dom) et de l'Ouest (monts Bamboutos), également au Nigeria, sur le plateau d'Obudu et le plateau de Mambila (Martin Cheek et al., 2010).

En Afrique, *P. aurantiacum* est utilisé notamment pour le traitement d'infections gastro-intestinales, urinaires et dermatologiques, les maladies vénériennes, la stérilité et l'épilepsie (Tchakam et al., 2012).

### II.2- Aperçu botanique des Clusiaceae

Longtemps appelée Guttiferae, la famille des Clusiaceae est une famille de répartition cosmopolite des lieux tempérés à tropicaux et est représentée par six (06) sous familles qui sont : Kielmeyeroidae, Calophylloideae, Moronoboidae, Lorostermonoidae, Hypericoidae et Clusioidae (Adam et al., 1971).

Les plantes de la famille des Clusiaceae sont principalement des arbres, des arbustes épiphytes (croissance grâce à d'autres plantes), des lianes et des plantes herbacées qui sont soit annuelles soit vivaces. Les plantes de cette famille renferment un latex laiteux ou coloré qui s'écoule de l'entaille de l'écorce, des rameaux ou des pétioles des fleurs et des fruits (Bamps, 1970). Ces plantes montrent une grande diversité morphologique. Leur feuillage est sans stipules et leurs feuilles sont persistantes, opposées, verticillées ou alternées, simples et entières. Leurs fleurs unisexuées ou bisexuées sont de teinte blanche, jaune ou rose. Elles possèdent de nombreuses étamines groupées en phalanges. Le fruit a l'aspect d'une drupe, d'une baie ou d'une capsule polylobée dans laquelle se trouvent une ou plusieurs graines dépourvues d'albumen. (Héfin, 1980).

Largement répandue en Afrique et en Asie, cette famille compte une quarantaine de genres se divisant en 1350 espèces trouvées dans les forêts denses très humides, marécageuses et les forêts basses en altitude. Six genres poussent principalement en Afrique (*Allanblackia*, *Calophyllum*, *Garcinia*, *Pentadesma*, *Symphonia* et *Mammea*) (Guedje et al., 2000).

#### II.2.1- Aperçu botanique du genre *Symphonia*.

Les plantes du genre *Symphonia* sont ligneuses. Elles sont réparties en une vingtaine d'espèces, qui sont toutes confinées à Madagascar à l'exception de *S. globulifera*. Ce sont des arbres à branches horizontales. Leurs écorces sont lisses, et jaunâtres. Les feuilles sont opposées, simples, entières et les fleurs bisexuées et régulières. Leurs fruits sont des baies ovoïdes et charnues possédant 5 côtés arrondis. Les graines issues des baies sont réniformes et possèdent un tégument mince (Bamps et al., 1978).

#### II.2.2- Répartition géographique du genre *Symphonia*

Le centre de diversité de *Symphonia* est à Madagascar, où il se limite à la forêt sempervirente. Malgré la déforestation ininterrompue dont Madagascar fait l'objet, aucune espèce de *Symphonia* ne figure encore sur les listes rouges. *S. louvelii* est l'une des espèces les

plus répandues. Mais son statut est incertain à cause d'éventuelles menaces. Des mesures de conservation devraient être évaluées comme c'est le cas pour d'autres espèces de *Symphonia* (Lemmens, 2007).

### II.2.3- Utilisations ethnobotaniques des plantes du genre *Symphonia*.

Plusieurs espèces comme *S. louvelii*, *S. fasciculata*, et *S. globulifera* sont indistinctement exploitées pour l'huile de leurs graines, pour leurs fruits comestibles, pour leur bois et leur exsudat. Car ces parties présentent chacune des propriétés similaires dans les trois espèces citées plus haut (Lemmens, 2007). Les plantes du genre *Symphonia* sont recherchées pour leurs nombreuses applications sur les plans alimentaire, économique et médicinale.

#### i. Sur le plan alimentaire.

L'huile des graines de *S. louvelii* est utilisée pour la préparation des liqueurs. La pulpe du fruit acidulé est comestible et on le fait souvent fermenter pour la transformer en boisson distillée. Les indigènes mangent les fruits crus, cuits ou confits au sucre. Les graines de *S. globulifera* sont oléagineuses et très appréciées (Busson, 1965).

#### ii. Sur le plan économique.

Les graines de certaines espèces sont récoltées pour leur huile, qui n'est pas comestible, mais qu'on utilise pour les cheveux, le corps et dans les produits cosmétiques. Les fruits sont parfois proposés à la vente sur les marchés des villages. La plus grande partie des bois de *S. globulifera* vendus sur le marché international provient d'Amérique tropicale. Les quantités exportées d'Afrique sont bien moindres. Parfois ce bois est commercialisé en mélange au bois d'*Azelia spp* (Oyen, 2005).

#### iii. Sur le plan de la médecine traditionnelle

Les plantes du genre *Symphonia* sont des toniques et aussi des laxatifs pour les femmes enceintes. Le latex recueilli de leurs écorces est utilisé contre les rhumatismes et les tumeurs.

Au Ghana, à partir des écorces, on élabore des toniques pris comme apéritifs et aussi comme médicaments pour soulager les douleurs gastriques et soigner l'onchocercose. La résine sert à soigner les blessures et prévenir les infections de la peau. Au Cameroun la décoction des écorces et du bois est utilisée comme tonique. Au Gabon, les écorces servent dans le traitement des maladies des voies respiratoires, tandis que le latex est utilisé contre la gale. En Ouganda, on utilise les écorces pour traiter la toux chez les enfants. Au Nigeria, on utilise le latex pour traiter la blennorragie et il est très prisé pour arrêter l'hémorragie nasale. En République Démocratique du Congo, le jus des feuilles est utilisé pour arrêter les saignements du nez (Oyen, 2005) et les feuilles grillées servent de cataplasme sur les plaies causées par des morsures de serpents (Lopez et al, 2001). La décoction des écorces et des feuilles s'utilise dans

les fumigations destinées à soulager les douleurs localisées, les rhumatismes et les œdèmes (Bouquet, 1969).

### II.2.4- L'espèce *Symphonia globulifera*.

*S. globulifera* Lf est un arbre de grande taille 25 à 40 m de hauteur présent en Afrique de la Guinée Bissau à la Tanzanie et en Amérique du Mexique au Brésil. Il a une large amplitude écologique et croît dans les forêts qui s'étendent en Afrique de l'Est du niveau de la mer à une altitude de 2600 m. Cette zone connaît une pluviométrie annuelle de 650-2100 mm et une température annuelle moyenne de 23-27 °C (Oyen, 2005).

*S. globulifera* a des fleurs rouge vif. Ce qui facilite sa pollinisation par les papillons, les colibris, les oiseaux percheurs des pays néotropes (Bittrich et Amaral, 1996) ou alors par divers insectes et oiseaux en Afrique (Oyen, 2005). Son tronc qui est glabre libère un latex jaunâtre et visqueux. Il a un diamètre de 80-100 cm. Les branches se trouvent à 21 m au-dessus du sol. Elle est dépourvue de contreforts mais possède des racines échasses ou des pneumatophores dans les zones marécageuses. L'écorce du tronc de couleur chamois est jaunegrise ou brun gris. Elle est lisse et parfois fissurée verticalement ou encore présente des lenticelles en lignes verticales de 5-15 mm d'épaisseur. Sa cime est arrondie avec de nombreuses branches horizontales à feuilles opposées. Cet arbre a une cime sessile ombelliforme avec des nombreuses fleurs terminales sur de courts rameaux latéraux. Les fleurs bisexuées organisées en sympodium fleurissent durant les mois de juillet et septembre (Dick et Heuertz., 2008). Elles présentent une colonne staminale rouge et des anthères noires. Les étamines sont réparties en 5 groupes de 3 ou de 4 soudés à la base pour donner un tube de 3,5 à 10 mm de long. Les fruits sont des baies largement ellipsoïdes ou globuleuses de 1,5 à 4,5 cm fois 2 à 3,5 cm. Ils ont un liquide jaune qui vire au brun à l'air libre et ils renferment 1 à 3 graines ovoïdes comprimées. Ces fruits contiennent des grains d'un rouge intense (Bamps et al., 1978).



**Figure 2:** Feuilles de *S. globulifera* (Photo TENE, 2018)

**Tableau II:** Classification de *S. globulifera* L.f.

Règne	Plantae
Tribu	Symphoneae
Ordre	Malpighiales
Famille	Clusiaceae
Genre	<i>Symphonia</i>
Espèce	<i>globulifera</i> L.f

*S. globulifera* a pour synonyme *Symphonia gabonensis* (Heitz et al., 1943).

De nombreuses appellations vernaculaires désignent le *S. globulifera* en fonction des régions : « *manil marécage* », ou « *palétuvier jaune* » en Guyane française, « *barillo* » au Guatemala et au Honduras, « *cerillo* » au Costa-Rica et au Panama, « *machere* » en Colombie, « *mani* » ou « *paraman* » au Venezuela, « *mataki* » au Surinam, « *manni* » en Guyane, « *anany* » au Brésil, « *brea-caspi* » au Pérou.

Au Cameroun, *S. globulifera* possède diverses dénominations selon les localités. Ainsi elle est appelée « *Ossol, nomonie* » en Fang, « *Mekoa* » en Bété, « *Sisako* » en Douala et « *Kebanti* » en Bangangté (Hefin, 1980).

#### II.2.4.1- Répartition géographique du genre *Symphonia globulifera*

*S. globulifera* est la seule espèce du genre retrouvée en dehors de Madagascar d'où il serait endémique (Dick et Heuertz, 2008). Les analyses phylogénétiques ont pu démontrer que la dispersion des graines par les courants marins était responsable de sa large distribution à travers les Néo-tropiques (Budde et al., 2013). En Afrique centrale, l'espèce a survécu à l'ère glaciaire du Pléistocène essentiellement, en étant regroupée dans les régions montagneuses proches de l'océan Atlantique. Elle pousse spontanément tant dans la forêt ombrophile

d'Amérique tropicale que dans celle d'Afrique tropicale. En Amérique tropicale, on la trouve du Mexique au Brésil et au Pérou. En Afrique tropicale elle se répartit de la Guinée-Bissau à la Tanzanie, à l'ouest de la Zambie, en Angola, et aussi à Madagascar (Oyen, 2005).

*S. globulifera* se trouve généralement dans les régions marécageuses et au bord des cours d'eau des zones humides (Dhasma et Garg, 1990). On le trouve aussi dans les forêts denses humides et dans le domaine sahélo-soudanien. Cette espèce est disséminée sur la quasi-totalité du territoire Camerounais.

### II.2.4.2- Usages ethnobotaniques du genre *Symphonia globulifera*

En médecine traditionnelle, on se sert de ses écorces du tronc comme fumigation pour prévenir toutes sortes de maladies, notamment la variole. La décoction des écorces du tronc s'applique sur les tumeurs, les écorchures et la gale. Les écorces du tronc et le cœur du bois sont employés dans l'Ouest du Cameroun comme laxatif pour les femmes enceintes et comme tonique général (Aubreville, 1950). Les potions élaborées à partir des feuilles sont utilisées pour traiter la malaria. En raison de ses belles fleurs rouges, *S. globulifera* peut être cultivé comme un arbre ornemental. Avec les rameaux de plusieurs espèces de *Symphonia*, on fabrique des couronnes qui se portent sur la tête pendant les cérémonies et les fêtes (Bamps et al., 1978).

Le bois de *S. globulifera* est couramment employé dans la parqueterie, les tonneaux, la charpente et les traverses de chemin de fer. Il sert à fabriquer les caisses, les cageots, contre-plaqué, les articles de sport, des manches d'outils et les pirogues. La gomme exsudée par l'écorce appelé en anglais ``hog gum``, ``mani wax``, est insoluble dans l'eau et est employée comme colle. En menuiserie par exemple on l'utilise aussi pour faire des torches et des chandelles. En Guyane, on l'utilise pour préparer une teinture soluble dans l'ammoniaque, qui sert à donner au cuir une riche couleur brune (Bamps et al., 1978).

En Ouganda, l'arbre atteint une plus grande taille et est considéré comme un arbre à bois. Outre sa résistance aux insectes et aux attaques fongicides, une relative abondance est un atout. Le calfeutrage des canoés et la réparation des Calebasses fissurées avec la résine sont effectués au Cameroun, au Zaïre (actuel RDC) (Dalziel, 1937) et au Congo (Brazzaville) (Bamps, 1970).

Parmi les espèces utilisées, le *S. globulifera* possède de nombreux usages, notamment concernant des maladies parasitaires mis en évidence et répertoriés dans le **Tableau III**.

**Tableau III:** Usage en médecine traditionnelle de *S. globulifera*.

Provenance	Partie de la plante	Méthode de préparation	Usage thérapeutique
Gabon	Ecorces	Décoction	Gâle (scabiose) (Akendengué et al., 1994)
Ouganda	Ecorces	Décoction	Toux, vers intestinaux, jaunisse pré-hépatique, fièvres (Ssegawa et al., 2007)
Ouganda	Latex	Brulé	Chasser les mauvais esprits (Akendengué et al., 1994)
Cameroun	Feuilles	Décoction	Antiparasitaires (Lenta et al., 2007a)
Nigeria	Feuilles	Décoction	Maladies de peau, malaria, diabète (Ajibesin et al., 2008)
Panama	Feuilles	Cataplasme	Douleurs, maladies de peau (Gupta et al., 2005)
Brésil	Ecorces	Infusion	Douleurs dues aux menstruations (Coelho-Ferreira, 2009)
Colombie	Ecorces	Décoction	Leishmaniose cutanée (Lopez et al., 2001)

Ces nombreux usages en médecine traditionnelle ont attiré l'attention des phytochimistes, conduisant ces derniers à effectuer des tests sur les extraits de ces plantes afin d'isoler les composés bioactifs.

### III. Etudes phytochimiques antérieures sur les genres *Psorospermum* et *Symphonia*

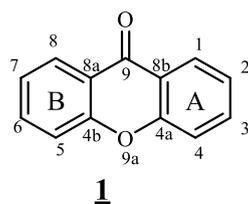
#### III.1- Etudes phytochimiques antérieures du genre *Psorospermum*

Certaines espèces appartenant au genre *Psorospermum* ont été étudiées sur le plan phytochimique. Elles renferment une grande variété de métabolites secondaires, en particulier des anthraquinones, anthrones, bianthrones, vismiones, flavonoïdes, xanthonnes et leurs dérivés O- et C- prénylés, des alcaloïdes, des alcools à longue chaînes, des terpènes et des tanins. Ces molécules ont notamment montré des activités antibactériennes, antiparasitaires, antifongiques, antivirales, anticancéreuses, antioxydantes et neuroprotectrices (Epifano et Genovese, 2013).

##### III.1.1- Les xanthonnes

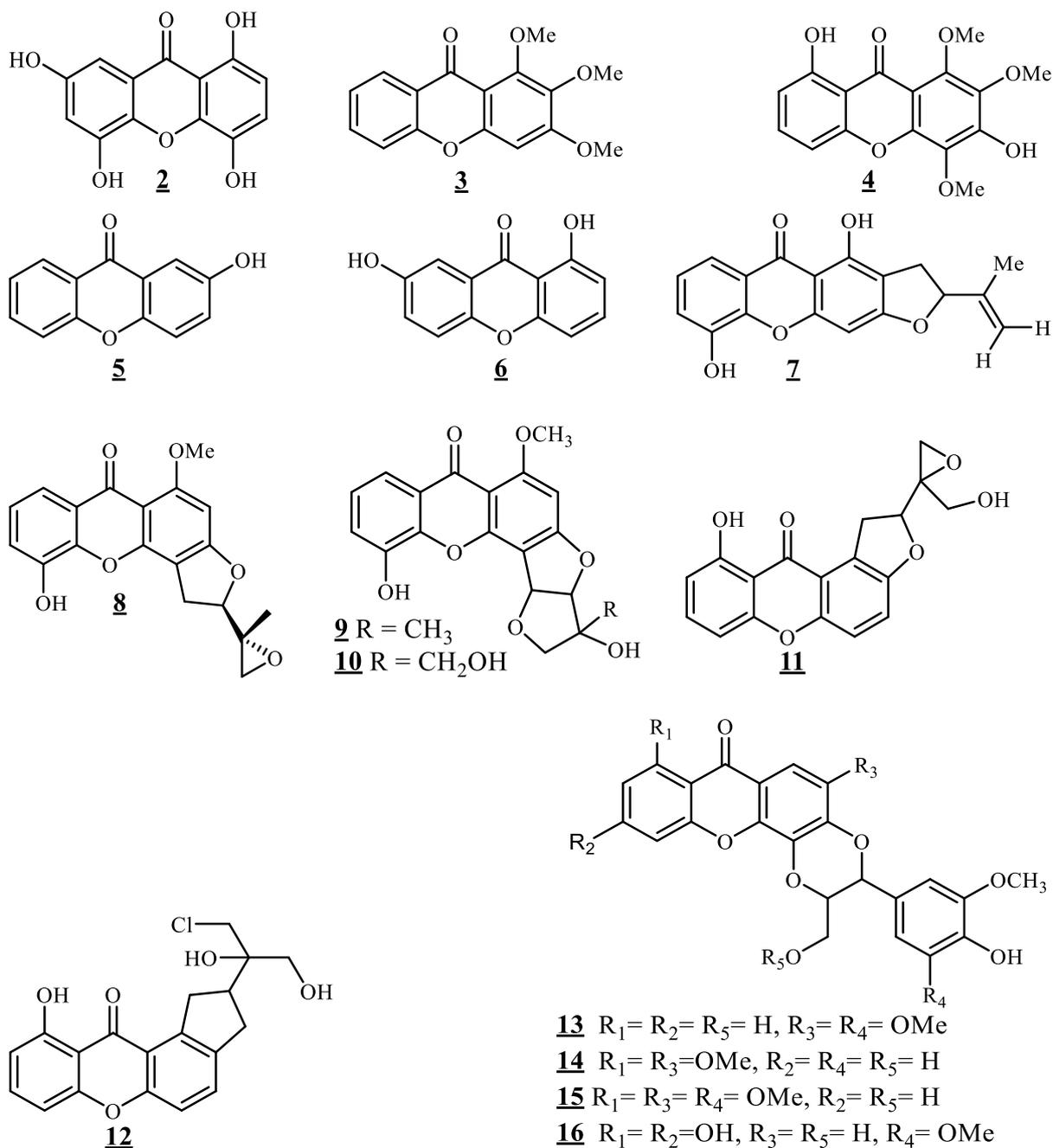
###### a) Généralités

Les xanthonnes (du grec xanthos : jaune) sont des métabolites secondaires qui ne sont pas exclusivement lichéniques (Fig. 3). En effet, elles peuvent être retrouvées chez certaines plantes de la famille des Clusiaceae ou des Guttifereae (Vieira et Kijjoa, 2005). Par exemple, le mangoustanier (*Garcinia mangostana*) contient plusieurs dérivés de xanthonnes. Aussi, des xanthonnes sont décrites chez plusieurs espèces de champignons (Song et al., 2013).

Dibenzo- $\gamma$ -pyrone**Figure 3:** Structure de base d'une xanthone.

Ces dernières années, plus d'une centaine de xanthones nouvelles ont été isolées de plantes, champignons ou lichens (Yang et al., 2012). Leurs squelettes comportent très souvent des groupements hydroxyle, méthyle ou méthoxyle, et elles sont classiquement divisées en six groupes principaux (Negi et al., 2013) : les xanthones oxygénées (divisées en six sous-groupes selon le degré d'oxydation : mono-, di-, tri-, tétra-, penta- et hexa-oxygénées), les xanthones glycosylées, les xanthones prénylées, les xanthonolignoïdes, les bis-xanthones et les xanthones diverses, dont les substituants sont inhabituels. Auparavant dispersées dans les différents groupes, les xanthones chlorées ou chloroxanthones, du fait de leur présence restreinte notamment dans les lichens et de leurs activités biologiques particulières, forment un septième groupe à part entière (Fotie et Bohle, 2006).

Des études menées sur l'extrait des écorces de *P. adamauense* ont permis d'isoler 3 xanthones : adamaxanthone **7**, 1,4,5,7-tétrahydroxyxanthone **2** et 1,2,3-tétraméthoxyxanthone **3** (Tsaffack et al., 2009 ; Tsaffack et al., 2013) ; des extraits des racines de *P. febrifugum* a été isolé la xanthone 3,8-dihydroxy-1,2,4-triméthoxyxanthone **4** (Abou-Shoer et al., 1988). L'étude des extraits d'écorces et de racines de *P. molluscum* Hochr à permis d'obtenir la 2-hydroxyxanthone **5** (Leet et al., 2008). L'extrait des fruits de *P. aurantiacum* a donné la 1,7-dihydroxyxanthone **6** (Kouam et al., 2010). Des racines de *P. febrifugum* ont été isolés des xanthones et leurs dérivés : psorospermine **8**, psorosfebrine **9**, 7-hydroxy-psorosfebrine **10** (Kupchan et al., 1980 ; Habib, A. M. et al., 1987), les xanthones ; psoroxanthine **11** et psoroxanthine chlorhydrine **12** sont des constituants des écorces de *P. molluscum* Hochr (Leet et al., 2008). Des racines de *P. febrifugum* ont été obtenus des xanthonolignoïdes : cadensine D **13**, isocadensine D **14**, cadensine F **15** et cadensine G **16** (Abou-Shoer et al., 1989).



### b) Biosynthèse des xanthonés

Les xanthonés sont des composés hétérocycliques caractérisés par un noyau dibenzopyrone dont la biosynthèse diffère selon les organismes. Chez les végétaux supérieurs, les xanthonés résultent de la condensation du 3-hydroxybenzoyl-CoA issu de la voie shikimique avec 3 molécules de malonyl-CoA, précurseur de la voie acétate-malonate **Schéma 1 (Wang et al., 2003)**. Cette biosynthèse conduit à deux schémas de substitution de base, selon que l'hydroxyle sur le cycle issu du shikimate est en position ortho ou para au moment du couplage oxydatif, on obtient donc soit les xanthonés trisubstitués en 1,3,5 soit alors en 1,3,7.

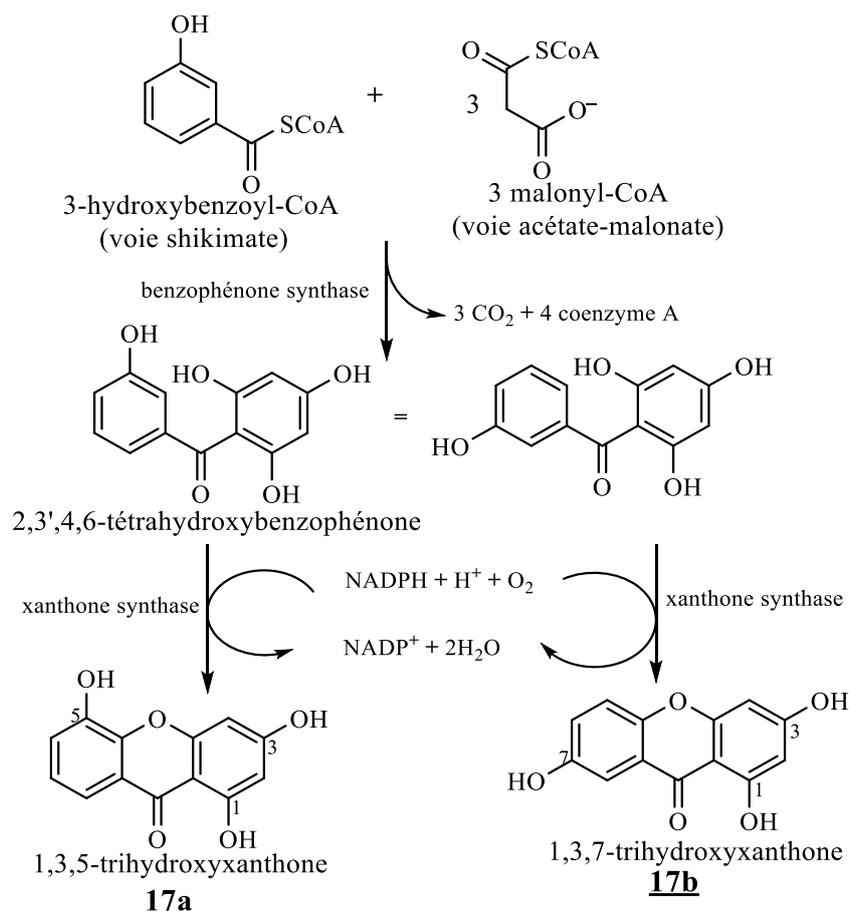


Schéma 1: Biosynthèse des xanthones : cas des trihydroxyxanthones.

### III.1.2- Les triterpénoïdes

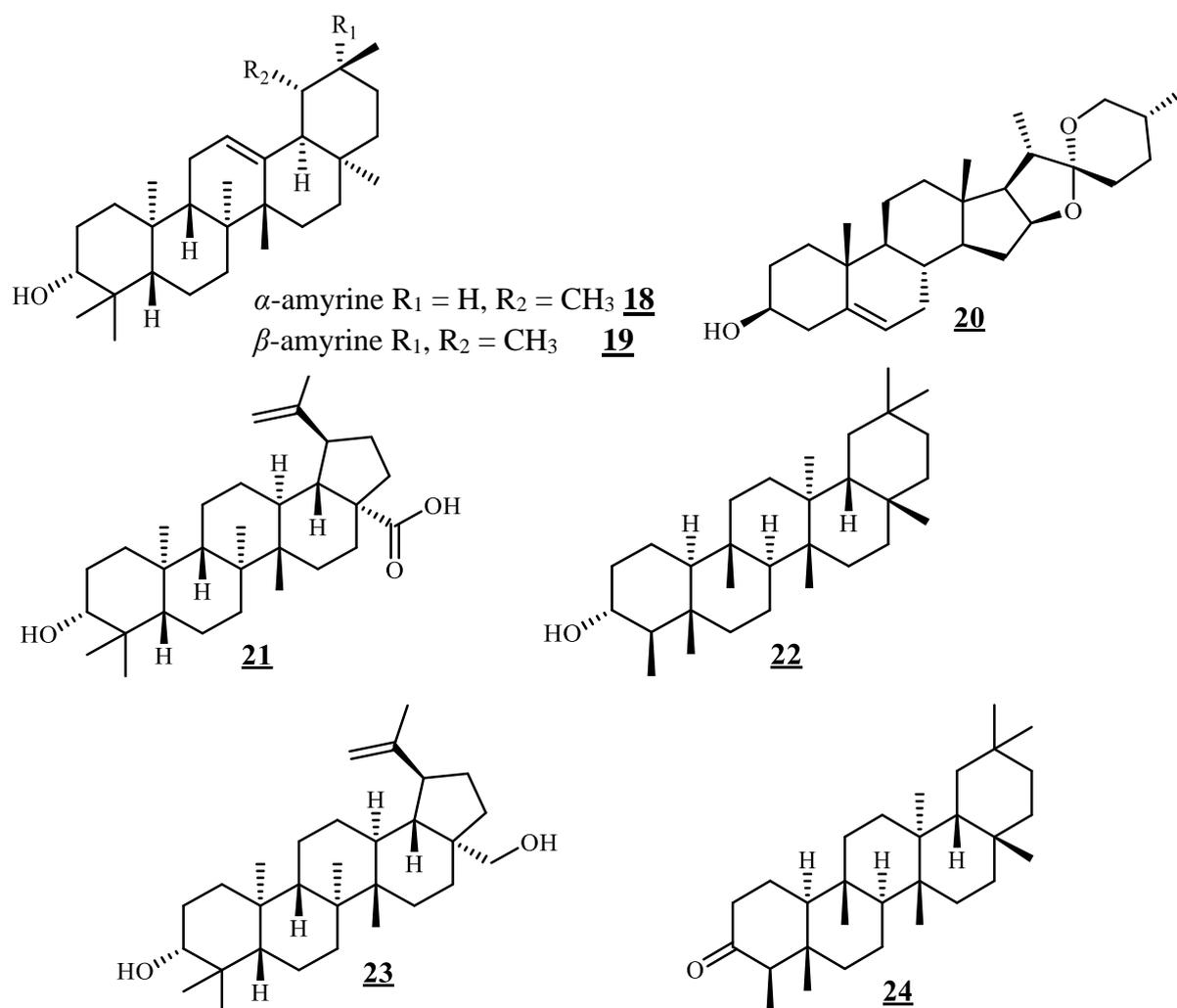
#### a) Généralités

Les terpénoïdes, encore appelés isoprénoïdes et parfois inclus plus largement dans la famille des terpènes, constituent la plus vaste famille connue de produits naturels. Ils comportent dans leurs structures un motif commun constitué de cinq atomes de carbone et appelé isoprène (ou 2-méthylbuta-1,3-diène). Des unités d'isoprène se lient de multiples façons pour former les squelettes de molécules aussi connues que le cholestérol, le menthol, dont beaucoup sont essentielles à la vie végétale et animale.

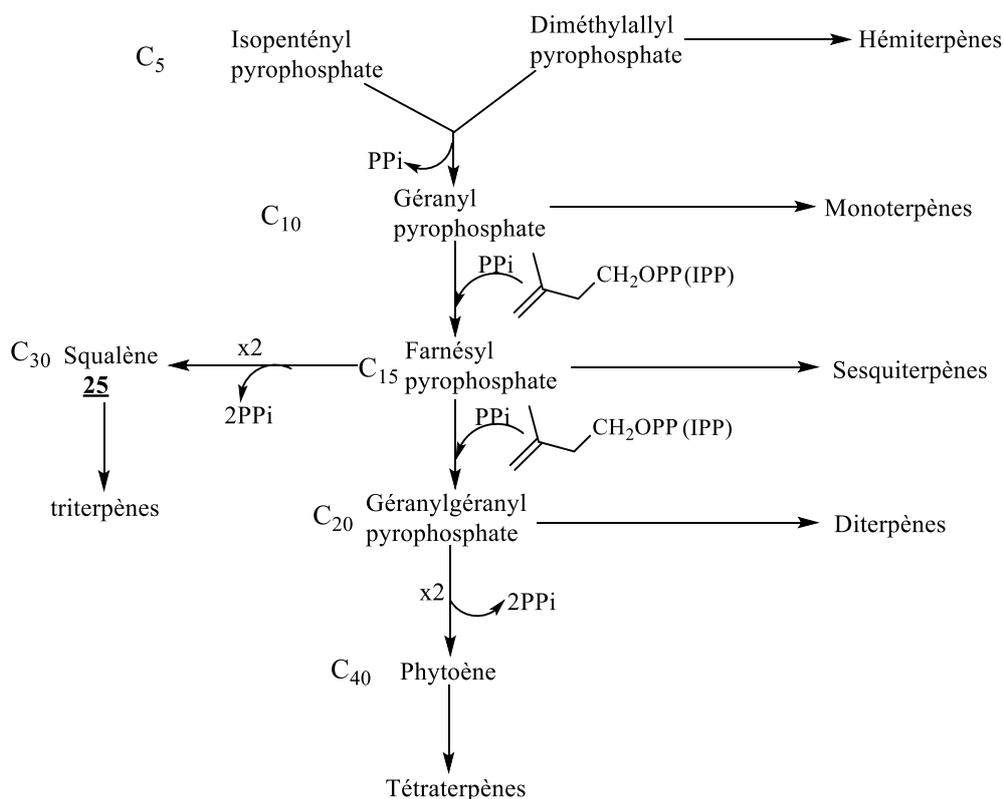
Les terpénoïdes constituent un ensemble de composés organiques dérivants des réarrangements ou des cyclisations de l'unité structurale de base nommée isoprène (2-méthylbutadiène) C<sub>5</sub>H<sub>8</sub> et ont pour formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à-dire (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub>. Ils existent sous forme d'hémiterpènes (C<sub>5</sub>), monoterpènes (C<sub>10</sub>), sesquiterpènes (C<sub>15</sub>), diterpènes (C<sub>20</sub>), triterpènes (C<sub>30</sub>), tétraterpènes (C<sub>40</sub>) etc. comme résumé dans le **Schéma 2** (Dewick, 2002).

La condensation de six unités d'isoprène conduit au squalène qui par la suite est oxydé en Epoxysqualène, le principal précurseur des terpènes. Cette structure linéaire peut se cycliser de deux façons : soit incomplètement pour donner les composés à quatre cycles ou complètement pour donner les composés à cinq cycles. Les composés tétracycliques sont surtout les stéroïdes mais on compte aussi quelques triterpènes tétracycliques. Les pentacycliques sont des triterpènes qui présentent plusieurs classes selon la position des substituants sur le squelette triterpénique.

L'étude phytochimique de l'extrait des feuilles de *P. androsaemifolium* a permis d'isoler des triterpènes ( $\alpha$  et  $\beta$  amyryne **18**, **19**) (Poumale et al., 2008), des racines de *P. corymbuferum* a été obtenue la diosgénine **20** (Zubair et al., 2011). L'Acide bétulinique **21**, friedelan-3-ol **22** ont été isolés de *P. glaberrimum* (Lenta et al., 2008). L'extrait des racines de *P. tenuifolium* s'est avéré contenir la bétuline **23** et la friedeline **24** (Delle et al., 1987).



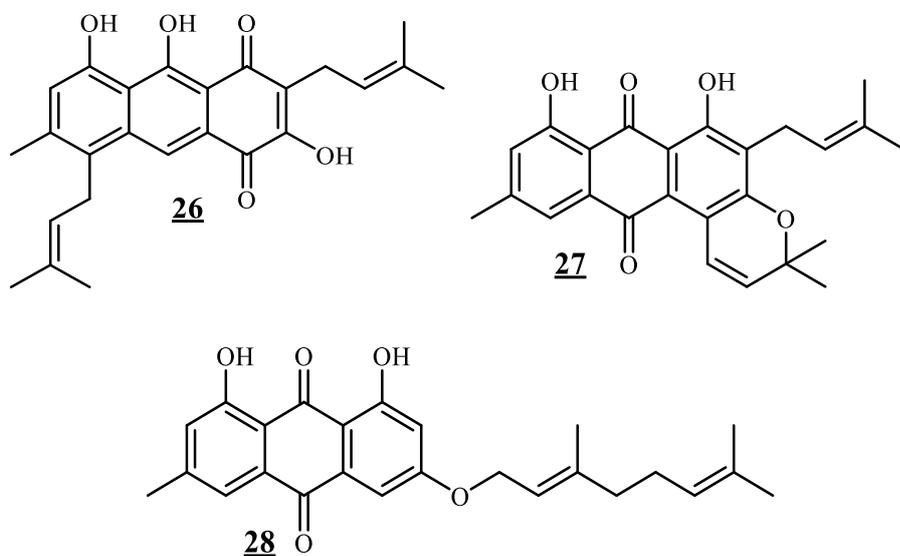
**b) Biosynthèse des triterpènes**

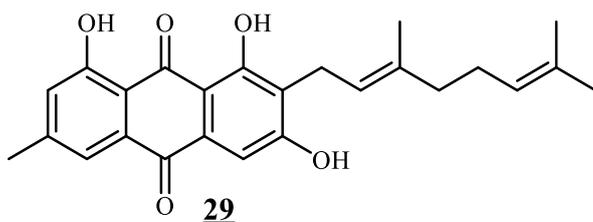


**Schéma 2** : Biosynthèse des terpènes.

**III.1.3- Les anthraquinones**

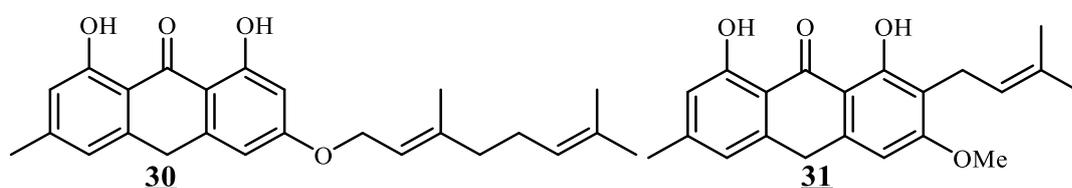
Quelques exemples d'anthraquinones ou leurs dérivés isolés des plantes du genre *Psorospermum* sont présentés ainsi qu'il suit : Il s'agit de la kengaquinone 26, adamaquinone 27, 3-géranyloxyémودية 28, isolés de *P. adamauense* Engl. (Tsaffack et al., 2009 ; Tsaffack et al., 2013). 2-géranylémodine 29 isolé de *P. aurantiacum* (Tiani et al., 2013).





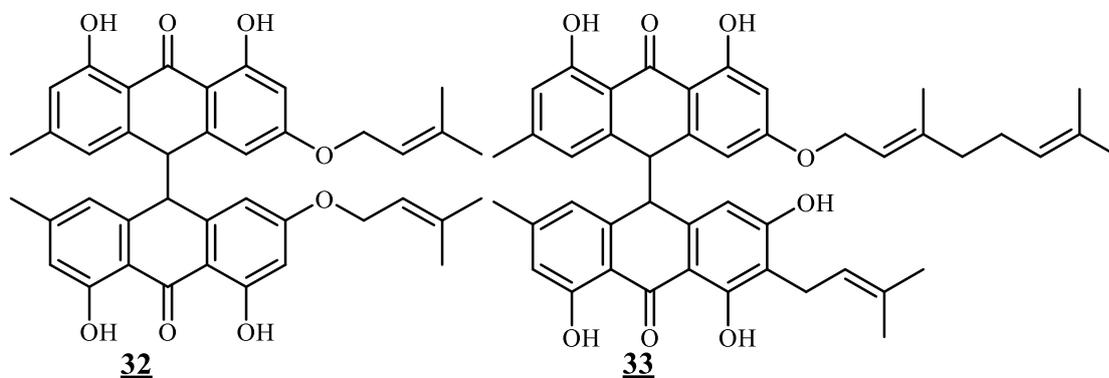
### III.1.4- Les anthrones

Comme exemples d'anthrones isolées de *Psorospermum*, On peut citer la 3-géranlyoxyémidine anthrone **30** obtenue des écorces de *P. adamauense* (Tsaffack et al., 2009 ; Tsaffack et al., 2013), la 2-géranlyémidine anthrone **31** (Delle Monache et al., 1985).



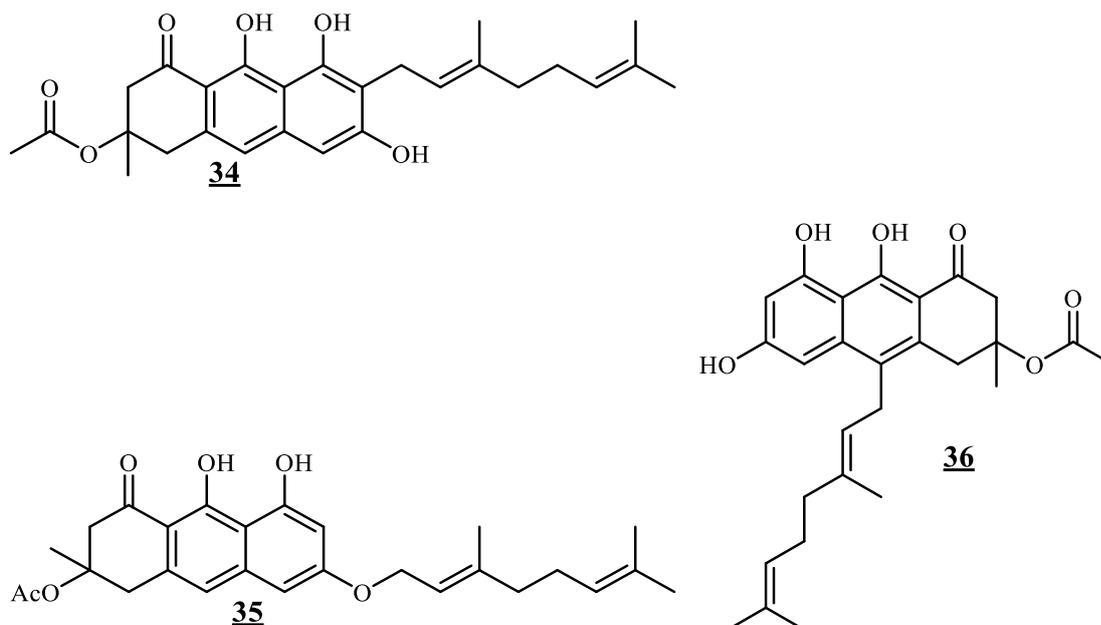
### III.1.5- Les bianthrones

L'étude de l'extrait des écorces de *P. adamauense* a permis d'isoler deux bianthrones : la bianthrone A<sub>2b</sub> **32** et l'adamabianthronne **33** (Tsaffack et al., 2009).



### III.1.6- Les vismiones

Les vismiones ont essentiellement été isolées d'Hypericaceae tropicales, en particulier du genre *Psorospermum*. Nous pouvons citer entre autres l'acétylvismione F **34** isolé de *P. crymbiferum* et l'acétylvismione D **35**, vismione G **36** isolé de *P. glaberrimum* (Delle et al., 1985).



### III.1.7- Les flavonoïdes

#### a) Généralités

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes.

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont déjà été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux cycles aromatiques en C<sub>6</sub> (A et B), portées par une chaîne en C<sub>3</sub> (**Fig. 4**). Les noyaux peuvent être portés soit par les atomes de carbone 1 et 3 (flavonoïde régulier) **37**, soit 1 et 2 de la courte chaîne (flavonoïde transposé) **38**. Les réguliers connus forment les 80% environ tandis que les transposés connus constituent les 20% (**Bruneton, 1999**).

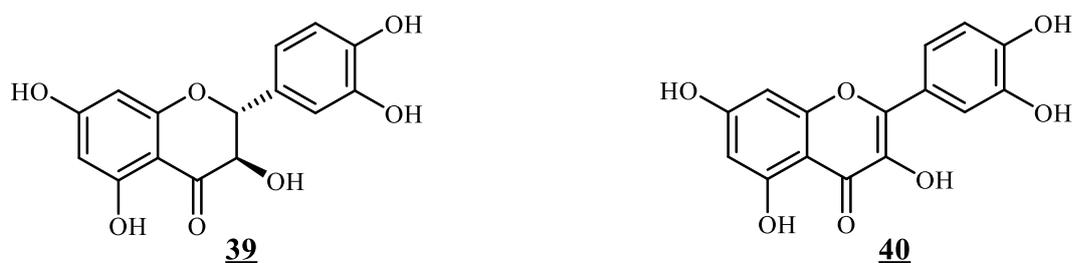


**Figure 4:** squelettes de base des flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont considérés aussi comme des composés polyphénoliques car ils possèdent un grand nombre de fonctions phénoliques dans leurs structures. Ils sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, graines,

bois. Leur fonction principale semble être la coloration des plantes. Il est important de signaler, qu'ils jouent un grand rôle dans la reproduction des plantes car leurs couleurs attirent les insectes pollinifères (Heller et Forkman, 1988).

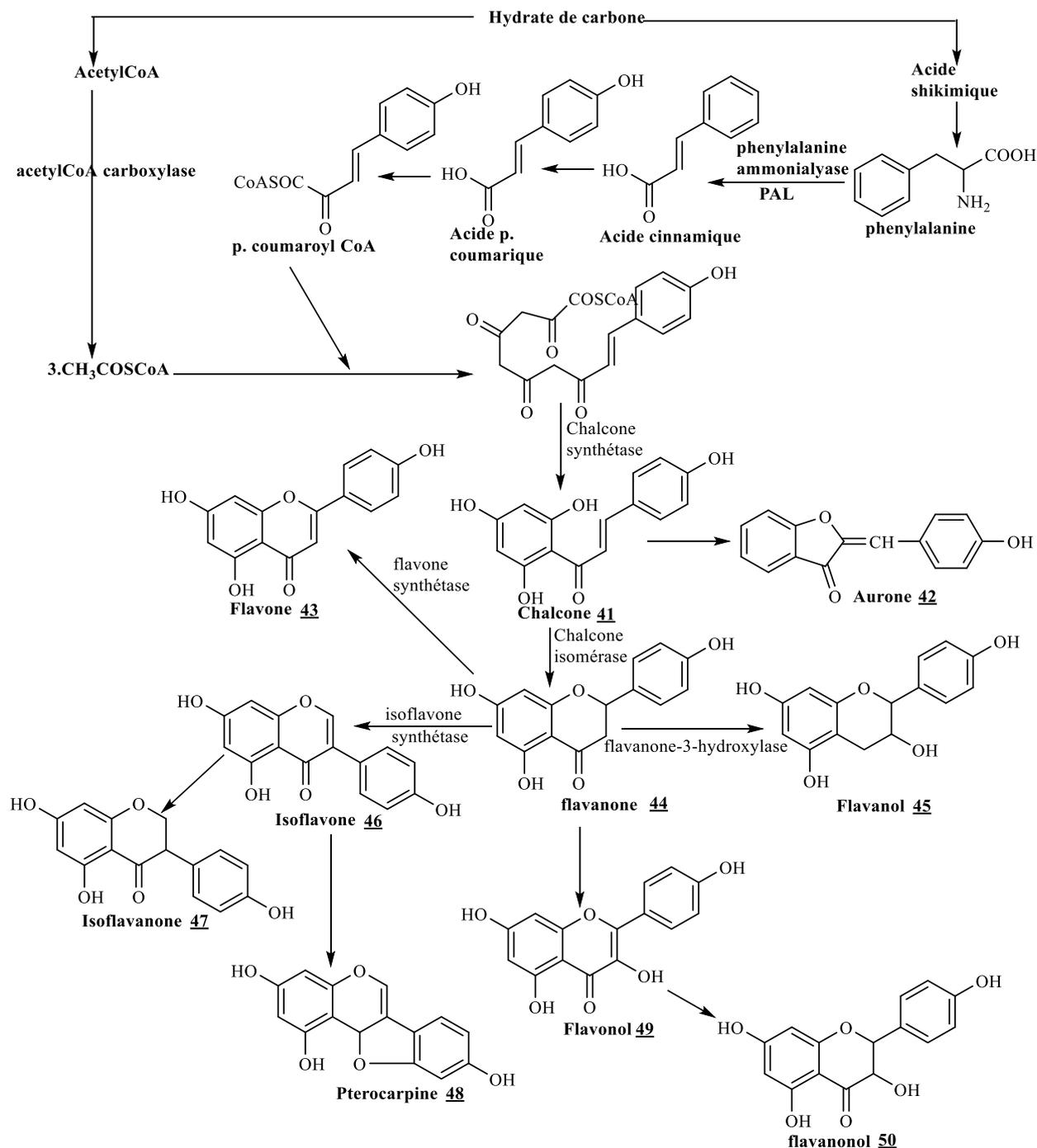
Des études menées sur *P. adamauense* ont permis d'isoler un flavonoïde, la catéchine **39** (Tsaffack et al., 2009 ; Tsaffack et al., 2013). De l'extrait des feuilles de *P. androsaemifolium* le flavonoïde quercétine **40** (Poumale et al., 2008).



### b) Biosynthèse des flavonoïdes

Le mécanisme biogénétique qui conduit à la formation du squelette de base des flavonoïdes a été élucidé par plusieurs chercheurs. Ce squelette qui présente l'enchaînement

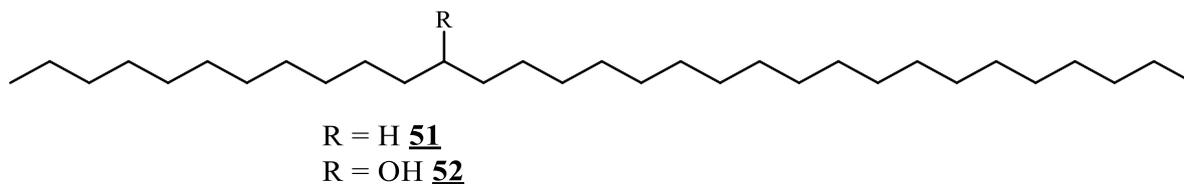
Ar-C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-Ar' ou Ar-C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>-Ar' à une origine mixte. Il a longtemps été présenté comme provenant de la condensation de l'unité Ar-C-C-C avec trois unités d'acétyle CoA **Schéma 3**. L'unité Ar-C-C-C dérive de l'acide cinnamique qui provient de la conversion de la phénylalanine grâce à l'enzyme phénylalanine ammonialyase. La première classe qu'on obtient est celle des chalcones qui se cyclise en flavanone. Par la suite, le squelette de base transposé ou non peut subir des modifications supplémentaires à plusieurs étapes, résultant de l'oxydation, de la réduction, de l'hydroxylation, de la méthylation, de la prénylation etc. (Harbone et Williams, 2000).



**Schéma 3 :** voie de Biosynthèse générale des squelettes de base des différentes classes de flavonoïdes.

### III.1.8- Les alcanes et alcools à longues chaînes

Quelques alcools et alcanes ont aussi été isolés des plantes du genre *Psorospermum*, il s'agit de hentriacontane 51 et 12-hentriacontanol 52 isolés de *P. androsaemifolium* (Poumale et al., 2008).



### III.2- Etude phytochimique du genre *Symphonia*

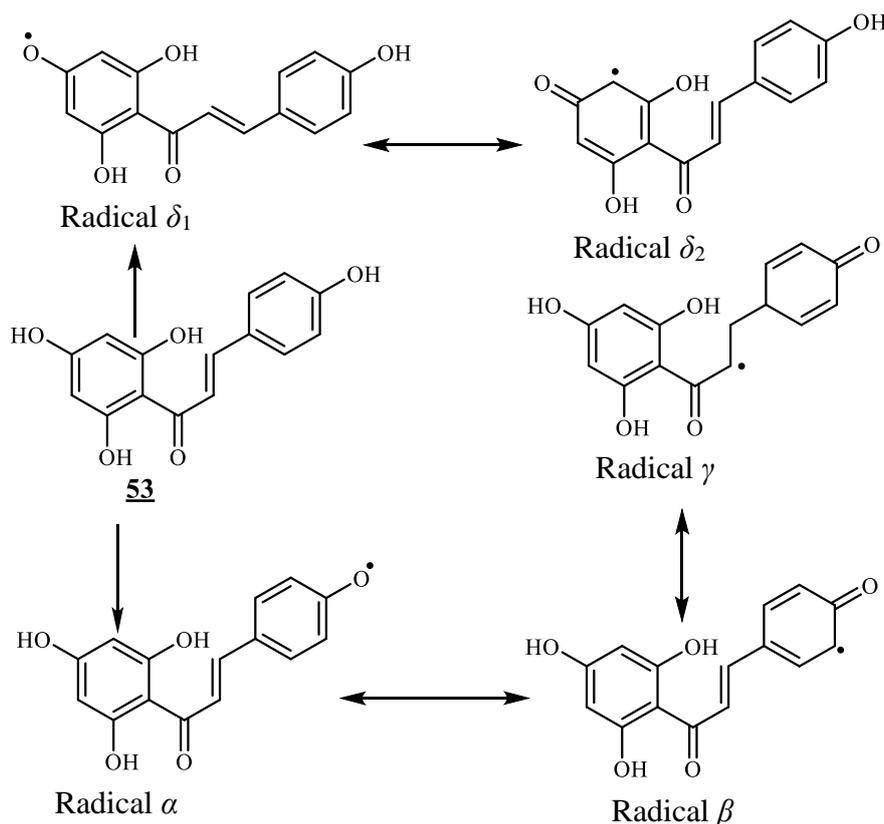
#### III.2.1- Introduction

Les activités antiparasitaires intéressantes des extraits, ont donné lieu à plusieurs études phytochimiques, afin d'isoler des métabolites secondaires d'intérêts biologiques. Des saponines et une trace de tanins ont été décelées dans les écorces de *Symphonia* congolais (**Bouquet, 1972**). Ces métabolites secondaires se répartissent en plusieurs classes phytochimiques : biflavonoïdes, acides gras, terpènes, benzophénones polyhydroxylés, phloroglucinols et xanthones.

#### III.2.2- Biflavonoïdes

Les biflavonoïdes constituent une classe de dimères de flavonoïdes, se différenciant des autres oligomères comme les proanthocyanidines, par le fait qu'ils proviennent biogénétiquement de deux unités constituées. La majorité des représentants de cette classe de produits naturels est formée de dimères de flavone-flavone, flavone-flavanone, flavanone-flavanone, mais rarement de dimères de chalcones et d'isoflavones. Quand les deux unités sont identiques, elles constituent la classe des bisflavonoïdes et quand elles ne le sont pas ce sont les biflavonoïdes. Les liaisons entre les unités flavonoïdes peuvent être soit du type C-C, soit du type C-O-C (**Suzart et al., 2007**).

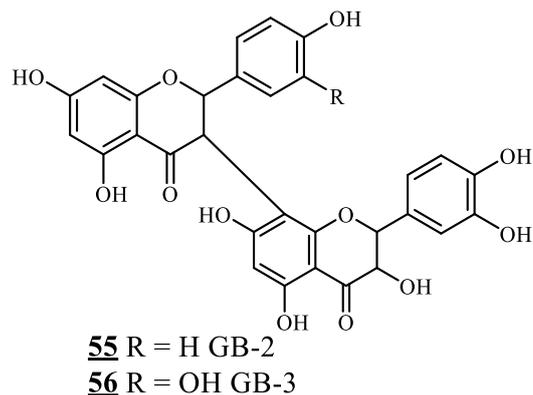
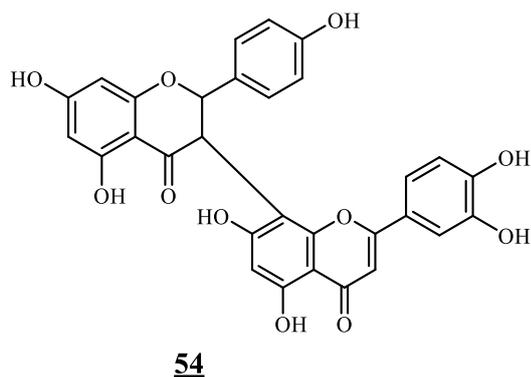
En 1971, Jackson et collaborateurs attribuèrent la biosynthèse des biflavonoïdes au couplage oxydatif de deux radicaux naringiniques 53 après plusieurs expériences au laboratoire (**Jackson et al., 1971**). Ainsi ont-ils proposé le mécanisme radicalaire ci-après (**Schéma 3**) permettant de former la totalité des radicaux précurseurs de biflavonoïdes naturels à partir du composé 53. Ces radicaux sont désignés par :  $R\alpha$ ,  $R\beta$ ,  $R\gamma$ ,  $R\delta_1$  et  $R\delta_2$ .



**Schéma 4:** mécanisme de formation des précurseurs de biflavonoïdes.

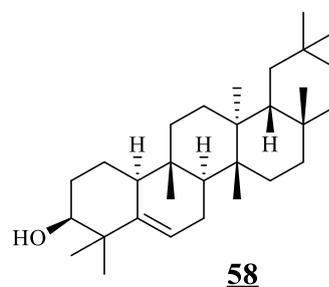
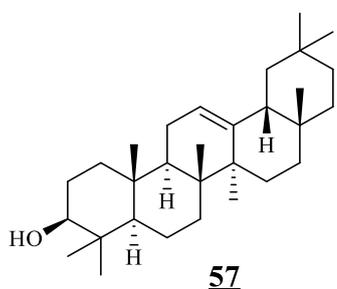
Les principales classes de biflavonoïdes naturels connus proviennent de la condensation de n'importe lesquels de ces radicaux. Les biflavonoïdes sont des combinaisons binaires de toutes les classes de flavonoïdes simples. La jonction entre les atomes de carbone des unités de flavonoïdes les caractérise et permet aussi de les classer. La famille des Clusiaceae est l'une des plus riches en biflavonoïdes. Sur la base de ce schéma, on peut regrouper les biflavonoïdes en plusieurs classes différentes suivant leur type de liaison entre les deux unités flavonoïdes constituantes. On distingue : les biflavonoïdes de jonction C-C et les biflavonoïdes de jonction C-O-C.

Comme exemples de biflavonoïdes ou leurs dérivés isolés des plantes du genre *Symphonia* on peut citer : la morelloflavone **54** (Li et al., 2009) ; GB-2 **55** et GB-3 **56** (Mkouna et al., 2009).



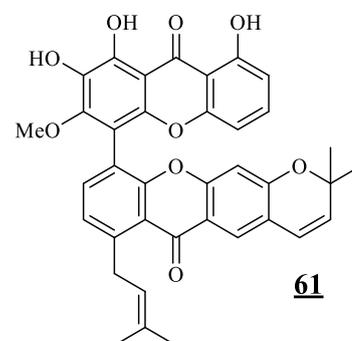
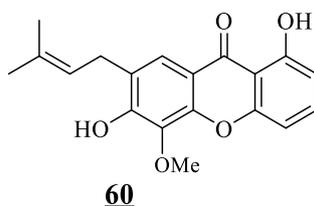
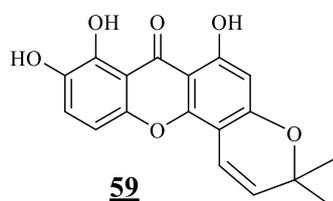
### III.2.3- Les terpenoïdes

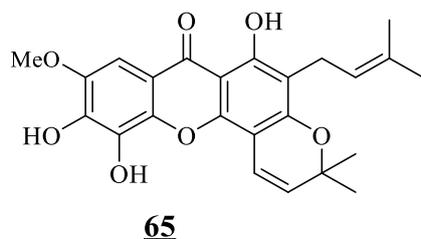
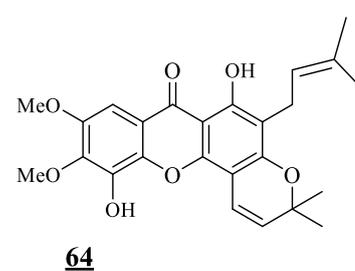
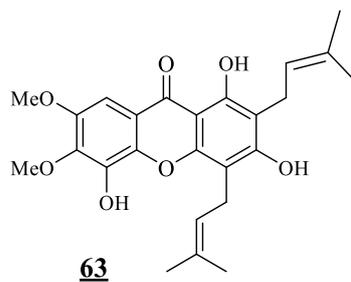
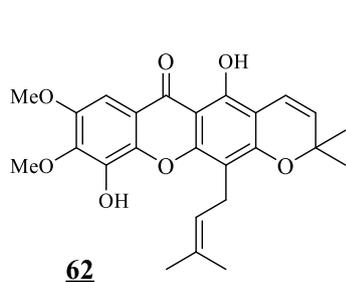
Les terpénoïdes isolés de *S. globulifera* sont les triterpènes pentacycliques du type friedeline : cas de  $\beta$ -amyrine **57**, glutinol **58** (Gari *et al.*, 2020).



### III.2.4- Xanthones

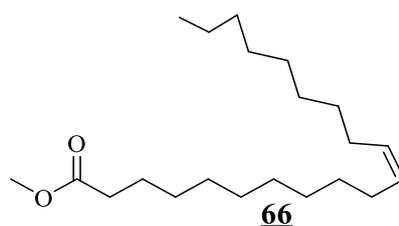
Les xanthones isolées du genre *Symphonia* peuvent être classées en deux groupes : Les xanthones oxygénées simples et les xanthones prénylées. Comme exemples de xanthones isolées de *S. globulifera*, on peut citer le globulixanthone C **59**, D **60**, E **61** (Nkengfack *et al.*, 2002), gaboxanthone **62**, globuliferine **63**, Symphonine **64** (Ngouela *et al.*, 2006) et le 2-(3,3-diméthylallyl)-7-méthoxy-1,5,6-trihydroxy-2'',2''-diméthylpyrano(6'',5'' :3,4)xanthone **65** isolé de *S. Pauciflora* (Pan *et al.*, 2010).





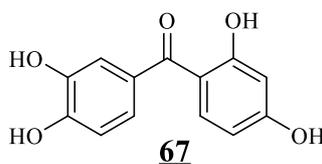
### III.2.5- Acides gras

Un exemple d'acide gras isolé des anthères des fleurs de *S. globulifera* est le méthyl nervonate **66** (Bittrich et al., 2013).

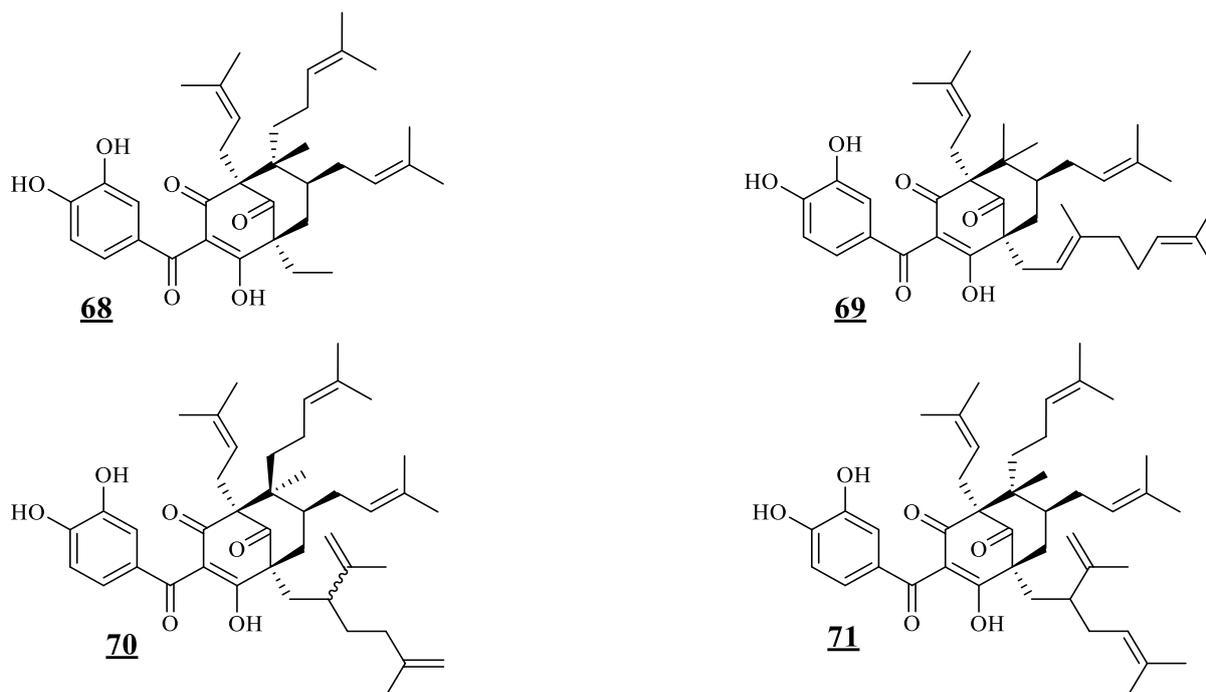


### III.2.6- Benzophénones et Phloroglucinols

La benzophénone isolée d'une Clusiaceae, *S. gabonensis* est la maclurine **67** (Locksley et Murray, 1971).



Les PPAPs (Acyles Phloroglucinols Polycycliques Polyprénylés) sont une seconde famille de métabolites secondaires au potentiel biologique intéressant. Ils sont très présents dans le *S. globulifera*. 17 PPAPs différents ont pu être isolés parmi lesquels les quelques exemples suivants : le guttiférone A **68**, B **69**, C **70**, D **71**, (Ngouela et al., 2006 ; Gustafson et al., 1992).

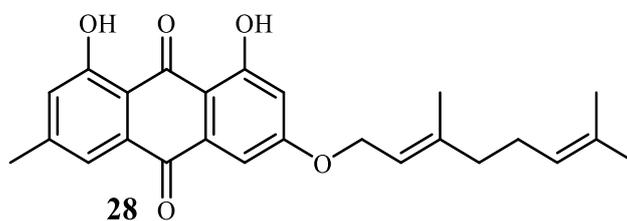


#### IV. Propriétés biologiques et pharmacologiques

##### IV.1- Etudes biologiques antérieures du genre *Psorospermum*

##### IV.1.1- Activité antipaludique

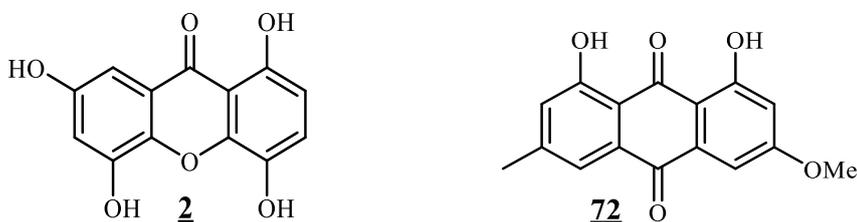
Le fractionnement bioguidé de l'extrait brut de l'écorce de tige de *P. glaberrimum* a montré qu'il présentait une bonne activité anti-plasmodiale contre la souche *P. falciparum* W2, avec une  $CI_{50}$  de  $0,87 \mu\text{g/mL}$ . Parmi les composés isolés de cet extrait, la 3-géranyloxyémidine **28**, a montré une activité anti-plasmodiale notable avec des  $IC_{50}$  de  $0,12 \mu\text{M}$  (Lenta et al., 2008). L'extrait des feuilles de *P. senegalense* a présenté contre *Plasmodium falciparum* une activité intéressante ( $IC_{50} = 10,03 \mu\text{g/mL}$ ) (Jansen et al., 2010).



##### IV.1.2- Activité antimicrobienne

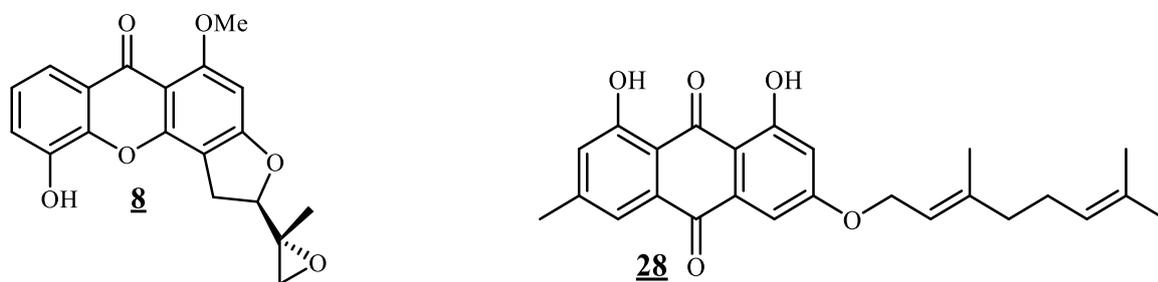
L'activité antimicrobienne de l'extrait de racine de *P. corymbiferum* s'est avérée notable contre un large panel de micro-organismes (bactéries et champignons) tels que *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus cereus* et *Candida albicans* (Zubair et al., 2009a, b). La 1,4,5,7-tétrahydroxyxanthone **2** a montré des activités intéressantes pratiquement identiques à celles des antimicrobiens de

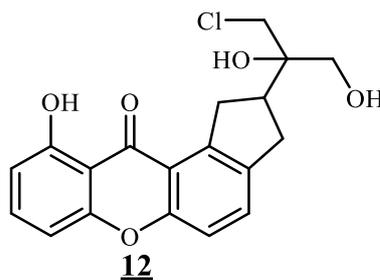
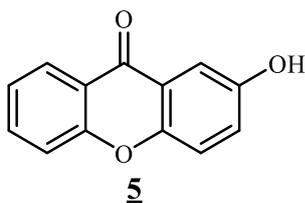
référence (Tsaffack *et al.*, 2009, Tsaffack *et al.*, 2013). Parmi les composés isolés de *P. aurantiacum*, la vismiaquinone **72** a montré une activité antibactérienne modérée avec une CMI de 24  $\mu$ M contre *klebsiella pneumoniae* (Tchakam *et al.*, 2012).



#### IV.1.3- Activité anticancéreuse

La psorospermine **8** et ses dérivés ont montré des activités cytotoxiques intéressantes vis-à-vis de plusieurs lignées cancéreuses avec des  $CI_{50}$  inférieures au nanomolaire dans certains cas (Pouli et Marakos, 2009). Kupchan et collaborateurs ont fourni la première preuve des propriétés anti-leucémiques de la psorospermine **8** isolée de la racine de *P. febrifugum* sur la lignée cellulaire P-388 (Kupchan *et al.*, 1980). La 3-géranxyloxyémordine anthrone **28** isolée de la même plante s'est avérée moins efficace sur la lignée cellulaire P-388 que la psorospermine **8** (Amonkar *et al.*, 1981). Leet et collaborateurs ont effectué un dépistage préliminaire de l'activité anticancéreuse *in vitro* des extraits au dichlorométhane et au méthanol des tiges et des racines de *P. molluscum* Hochr et ont constaté que chacun avait une activité puissante sur un panel de cellules cancéreuses de mammifères avec des  $CI_{50}$  comprises entre 0,2 et 4,0  $\mu$ g/mL. Les deux dérivés de la psoroxanthine **5** et **12** isolés de *P. molluscum* Hochr ont montré des activités cytotoxiques notables sur différentes lignées cellulaires cancéreuses, montrant des  $CI_{50}$  allant de 2  $\mu$ M à 4 nM en fonction du type cellulaire considéré (Leet *et al.*, 2008).





#### IV.1.4- Activité antileishmaniale

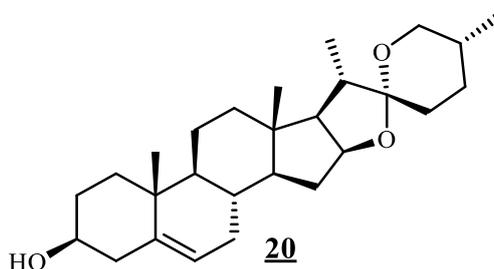
Des extraits de feuilles et d'écorces de racines de *P. guineense* obtenus après macération avec du dichlorométhane, du méthanol et de l'eau ont été testés comme agents anti-leishmaniaux. Le résultat de cette étude a indiqué que seul l'extrait au dichlorométhane des écorcees de racine était actif contre les formes extracellulaire et intracellulaire de *leishmania* major avec des pourcentages de survie de 3,5 et 14,0% à une dose de 35  $\mu\text{g/mL}$  respectivement (Ahua et al., 2007).

#### IV.1.5- Activité anti-inflammatoire

Une huile essentielle obtenue par distillation des tiges des feuilles et des racines de *P. tenuifolium* a été testée pour son activité anti-inflammatoire sur l'œdème de l'oreille de souris induit par le tétradécanoylphorbol-13-acétate. À des concentrations de 5,0 et 2,5  $\mu\text{g/mL}$ , un effet anti-inflammatoire significatif avec des pourcentages de réduction de l'œdème de 92,3 et 76,9% respectivement a été enregistré (Zubair et al., 2009a, b).

#### IV.1.6- Activité antifongique

La diosgénine **20** isolée de *P. corymbiferum* a montré une activité antifongique sur différents isolats cliniques de *Candida* avec une CMI de l'ordre de 40  $\mu\text{M}$  (Zubair et al., 2011).

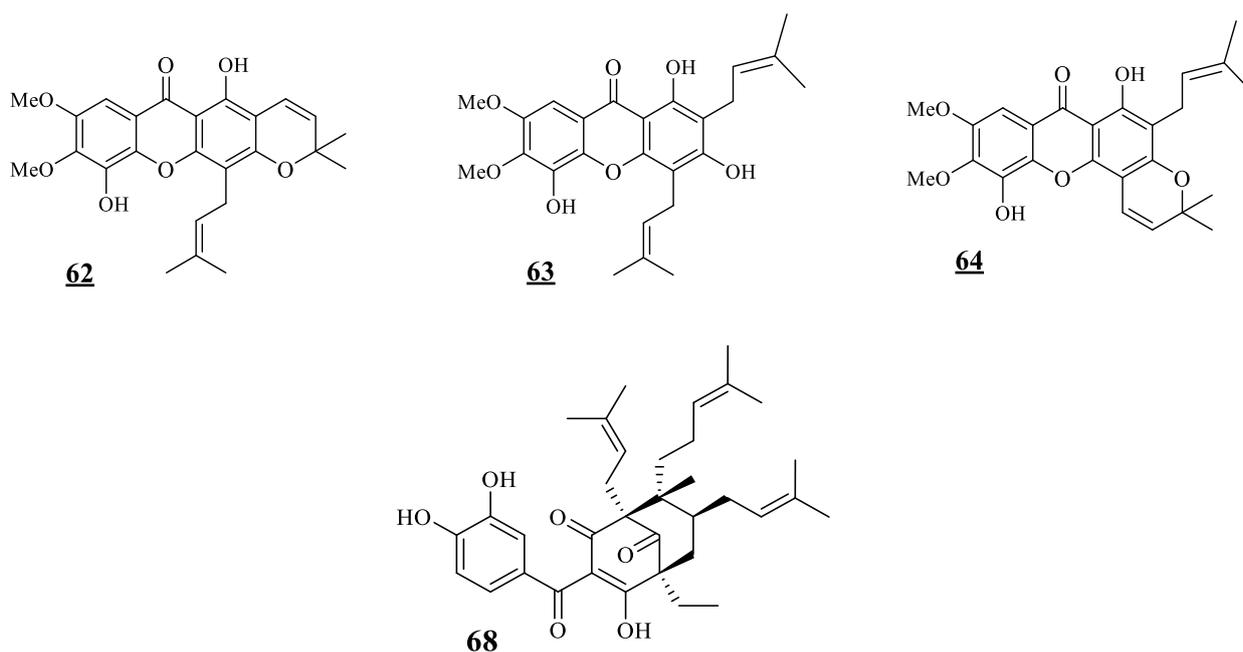


#### IV.2- Investigation biologiques des espèces du genre *Symphonia*.

Les études phytochimiques réalisées sur les métabolites isolés de *S. globulifera* ont été étendues à l'étude de leurs activités biologiques. Un certain nombre d'entre elles ont été réalisées sur des maladies protozoaires ou microbiennes. Les puissantes activités biologiques de ces molécules isolées confirment l'utilisation traditionnelle des plantes.

#### IV.2.1- Activité antimalariale

Les extraits de coquille de graines de *S. globulifera* contiennent trois nouvelles xanthones prénylées [(gaboxanthone **62**, globuliferine **63**, symphonine **64**) et guttiférone A **68**. Le composé **68** possède des activités antiplasmodiales intéressantes sur les souches de *P. falciparum* W2 (Ngouela et al., 2006) (tableau IV). Cette première étude sur le potentiel des extraits de parties de *S. globulifera* a conduit à l'exploration des racines de l'écorce et à l'identification de nouveaux PPAP. Les nouveaux PPAP ont été évalués pour leur activité antimalariale (Marti et al., 2010) (*P. falciparum* FcB1).



**Tableau IV:** Activité anti-plasmodium de *S. globulifera*.

N°	Nom	IC <sub>50</sub> (μM) <i>P. falciparum</i> W2	IC <sub>50</sub> (μM) <i>P. falciparum</i> FcB1
<b>68</b>	guttiférone A	3,17	-
<b>62</b>	gaboxanthone	3,53	-
<b>63</b>	globuliferine	1,29	-
<b>64</b>	symphonine	3,86	-

#### IV.2.2- Activité antioxydante

Il a été prouvé que les globules rouges infectés par *Plasmodium* sont soumis à un stress oxydatif constant causé par des espèces oxydantes réactives exogènes, des espèces azotées réactives produites par le système immunitaire de l'hôte et par la production endogène d'espèces oxydantes réactives. Par conséquent, les composés capables de présenter à la fois des activités antiplasmodiques et antioxydantes sont des potentiels agents antipaludiques. Ainsi, les composés **62**, **63**, **64** et **68**, ont été impliqués dans le dosage DPPH piégeant les radicaux libres

(tableau V). Les xanthones (**62**, **63** et **64**) possèdent une activité antioxydante limitée, tandis que la guttiférone A **68** a montré la meilleure activité avec 89% d'inhibition du radical DPPH.

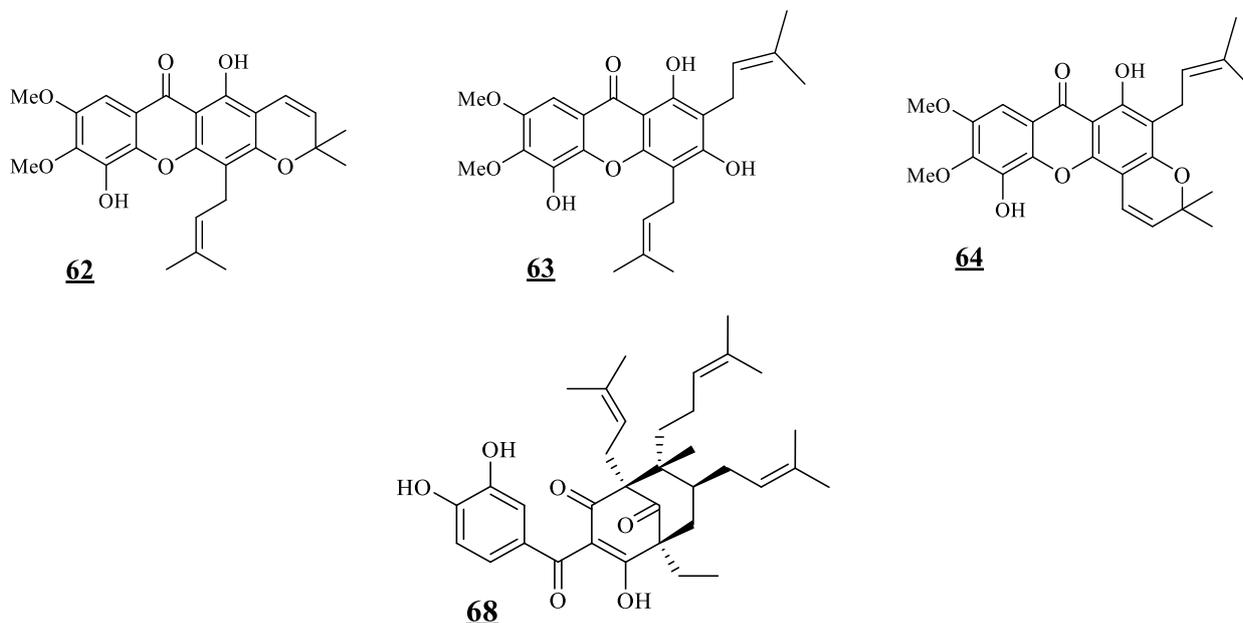
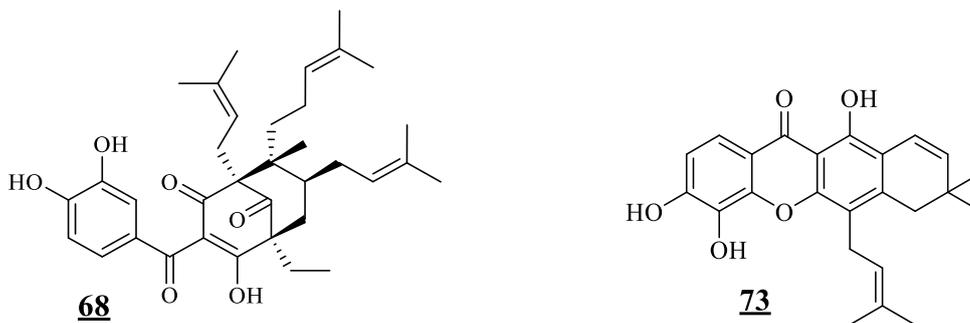


Tableau V: Activité antioxydante *S. globulifera*.

N°	Nom	% Inhibition des radicaux libres DPPH
<b>62</b>	gaboxanthone	28
<b>63</b>	globuliferine	23
<b>64</b>	symphonine	54
<b>68</b>	guttiferone A	89

#### IV.2.3- Activité antileishmaniale

Les PPAP et les xanthones de *S. globulifera* possèdent des propriétés antileishmaniales intéressantes. La guttiférone A **68** est le composé principal de la série (Lenta et al., 2007b). De plus, le xanthone VI **73** extrait des feuilles de *S. globulifera* présente également une activité antiparasitaire intéressante (tableau VI). Un des inconvénients majeurs des agents antileishmaniales réellement utilisés en thérapeutique est leur cytotoxicité substantielle envers les cellules hôtes en raison d'un manque évident de sélectivité. La cytotoxicité relative des composés **68** et **73** a ensuite été évaluée vis-à-vis des cellules normales des muscles squelettiques de rat (cellules L-6). Il est intéressant de noter que les composés susmentionnés ont démontré une faible cytotoxicité ( $IC_{50} = 7,3$  et  $18 \mu M$ , respectivement), ce qui permet d'envisager un usage futur contre le parasite *Leishmania donovani*.

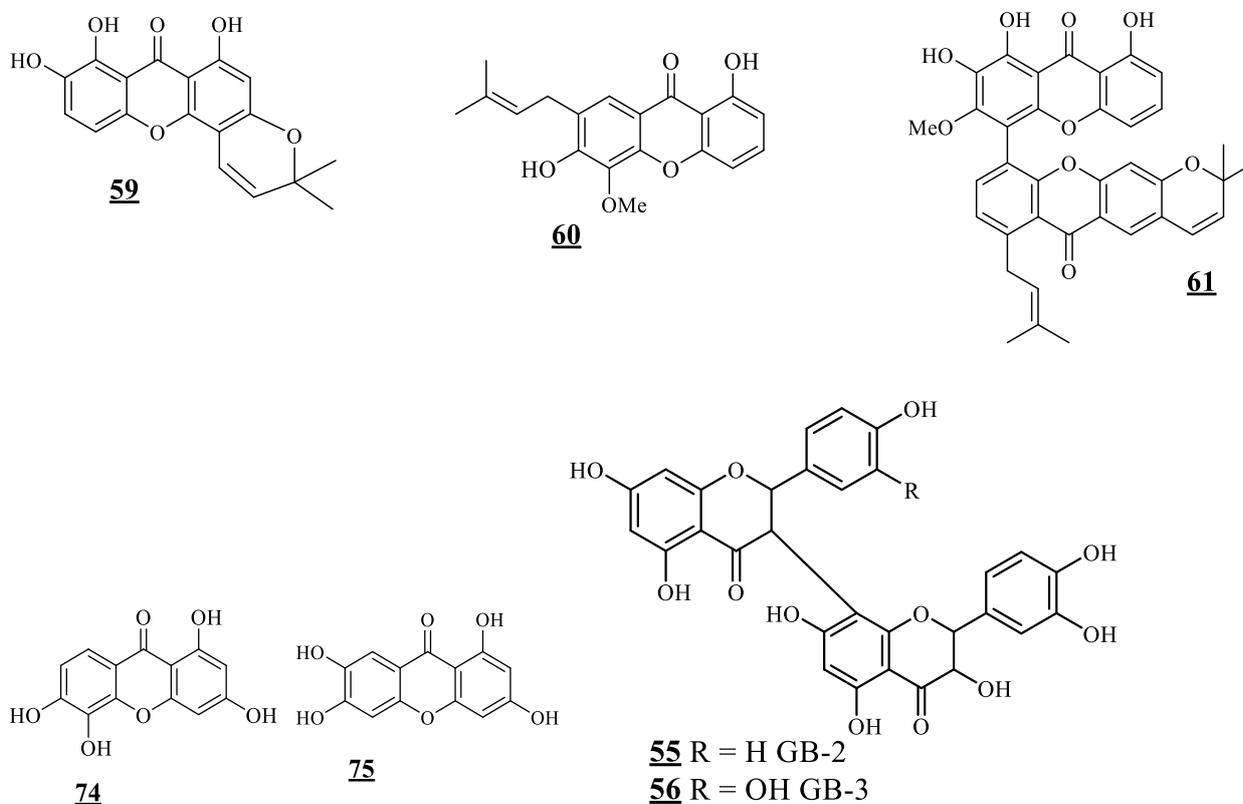


**Tableau VI:** Activité antileishmaniale *S. globulifera*.

N°	Nom	IC <sub>50</sub> (μM) <i>L. donovani</i>
<u>68</u>	guttiférone A	0,16
<u>73</u>	Xanthone V1	1,4

#### IV.2.4- Activité antimicrobienne

Les globulixanthonés C 59, D 60 et E 61 isolés des extraits de *S. globulifera* d'activité antibactérienne avérée ont montré une activité antimicrobienne identique à celle de la streptomycine sur les bactéries Gram positives (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Vibrio anguillarum*) (**Tableau VII**) (Nkengfack et al., 2002). Les biflavonoïdes 55 et 56 ainsi que les xanthonés 74 et 75 possèdent activité antimicrobienne notable (Mkouna et al., 2009).

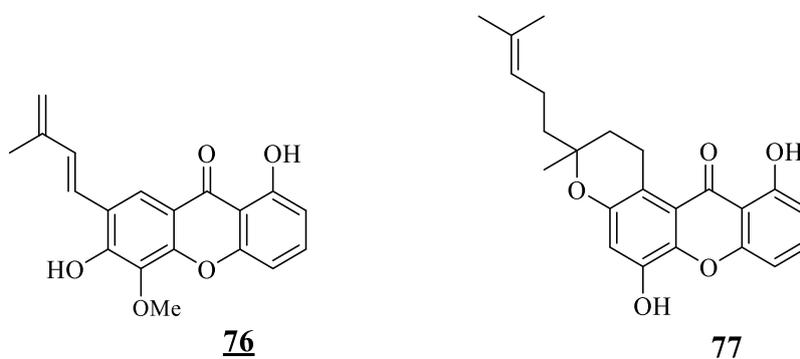


**Tableau VII:** Activité antimicrobienne *S. globulifera*.

N°	Nom	Concentration Minimale Inhibitrice $\mu\text{g/mL}$		
		Bactéries Gram-positives		Bactéries Gram-négatives
		<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>
<b>59</b>	globulixanthone C	14,05	8,24	Inactive
<b>60</b>	globulixanthone D	8	12,5	Inactive
<b>61</b>	globulixanthone E	4,51	0,85	Inactive

**IV.2.5- Activité anticancéreuse**

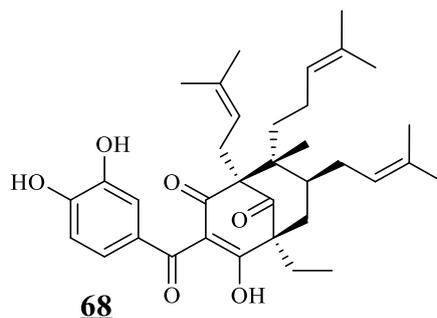
Les globulixanthonés A **76** et B **77** isolés des écorces des racines de *S. globulifera* ont exercé des propriétés cytotoxiques notables sur le carcinome épidermoïde humain du nasopharynx (lignée cellulaire KB) **Tableau VIII** (Nkengfack et al., 2002).

**Tableau VIII:** Activité cytotoxique *S. globulifera*.

N°	Nom	IC <sub>50</sub> KB cells $\mu\text{g/mL}$
<b>76</b>	globulixanthone A	2,15
<b>77</b>	globulixanthone B	1,18

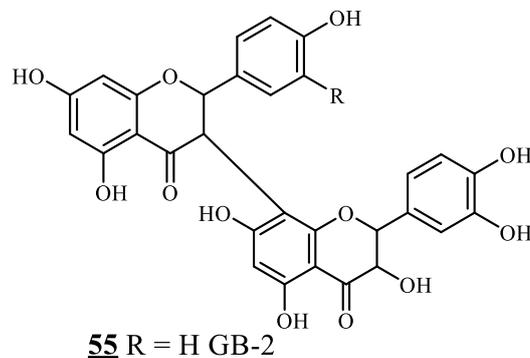
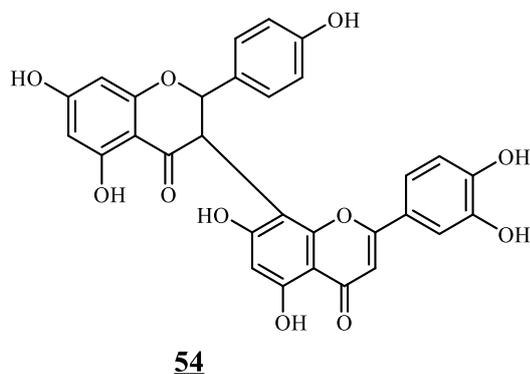
**IV.2.6- Activité anti-VIH**

Les PPAP de *Clusia torresii* (clusianone, 7-épi-clusianone, 18,19-dihydroxycclusianone) se sont avérés être de puissants agents anti-VIH qui agissent en inhibant l'interaction gp120-sCD4. Ce mécanisme d'action dénote une interférence probable avec l'attachement viral au récepteur membranaire CD4 et a un effet sur l'infection. Les extraits de *S. globulifera* ont montré une activité *in vitro* sur les cellules humaines infectées par le VIH (cellules CEM-SS). La guttiférone A **68** ingrédient actif de ces extraits présentes les mêmes propriétés avec une EC<sub>50</sub> comprise entre 1 et 10  $\mu\text{g/mL}$ . Mais aucune indication d'une diminution correspondante de la réplication virale n'a été observée (Gustafson et al., 1992).



#### IV.2.7- Activité anti-FAS

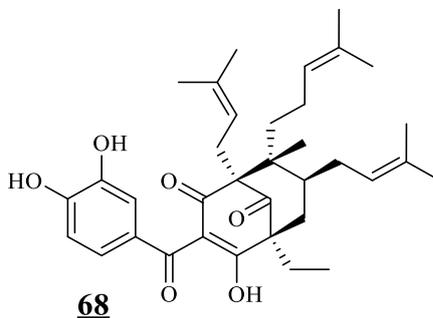
La biosynthèse lipidique est essentielle à la viabilité cellulaire de tous les organismes vivants cellulaires et est notamment régie par l'activité de FAS (acide gras synthase). Comme il existe des différences entre le FAS des différents organismes, le FAS est devenu une cible émergente pour les maladies causées par des micro-organismes tels que les champignons ou les bactéries (Zhao *et al.*, 1997 ; Wang *et al.*, 2012). Deux grands types de FAS prévalent : le type I existe chez les animaux et les champignons, et consiste en un seul polypeptide multifonctionnel, tandis que le type II existe dans les bactéries et les plantes, et comprend plusieurs enzymes, chacune assurant une étape de l'allongement de la chaîne carbonée (Smith, 1994). Dans une étude visant à identifier de nouveaux types d'inhibiteurs du FAS, La morelloflavone **54** et le GB-2 **55**, deux biflavonoïdes de *S. globulifera* se sont avérés actifs sur FAS (Li *et al.*, 2002).



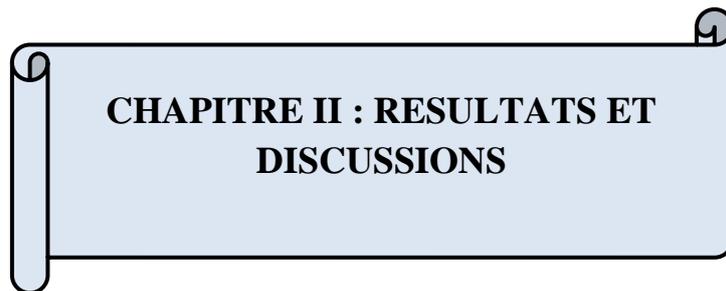
#### IV.2.8- Activité anticholinestérase

L'acétylcholinestérase est une hydrolase responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine en acétate et choline. Il se trouve principalement dans les jonctions neuromusculaires et les synapses, et joue un rôle essentiel dans la transmission des informations nerveuses. Son inhibition, conduisant à une accumulation d'acétylcholine et au blocage de la neurotransmission, est importante notamment pour la désintoxication médicamenteuse (Lin, 2014) ou le traitement de la maladie d'Alzheimer (amélioration de la fonction cognitive) (Silva,

et *al.*, 2014). Le composé **68** isolé de *S. globulifera* est un puissant inhibiteur de l'acétylcholinestérase [IC<sub>50</sub>=AChE 0,88 μM (galanthamine = 0,5)] et de la butyrylcholinestérase [BChE = 2,77 μM (galanthamine = 8,5)] (Fromentin Y et *al.*, 2015).



Les résultats des investigations phytochimiques et biologiques obtenus de ces espèces nous ont encouragés à entreprendre cette étude à la recherche de nouvelles molécules biologiquement actives.



**CHAPITRE II : RESULTATS ET  
DISCUSSIONS**

## CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

### I- Extraction et isolement des produits

#### I.1- Extraction et isolement des produits des tiges de *Psorospermum aurantiacum* Engl.

Les tiges ont été découpées en petits morceaux, séchées et broyées. La poudre obtenue a été extraite à température ambiante pendant 72 heures, avec le méthanol après concentration un résidu visqueux a été obtenu. Par la suite, les fractions suivantes ont été obtenues par solubilité différentielle de ce résidu. Il s'agit des fractions à l'acétate d'éthyle, à l'acétone et au méthanol. Seule la fraction à l'acétate d'éthyle a été investiguée. Cet extrait a subi une chromatographie sur colonne de gel de silice élué avec le mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (10/1) pour donner 38 fractions que nous avons regroupées sur la base d'analyses par CCM en cinq sous-fractions : D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub> et D<sub>5</sub>. La purification de ces sous-fractions a permis d'isoler huit (8) produits purs indexés TED13, TED14, TED15, TED16, TED17 et TED18 (**schéma 5**).

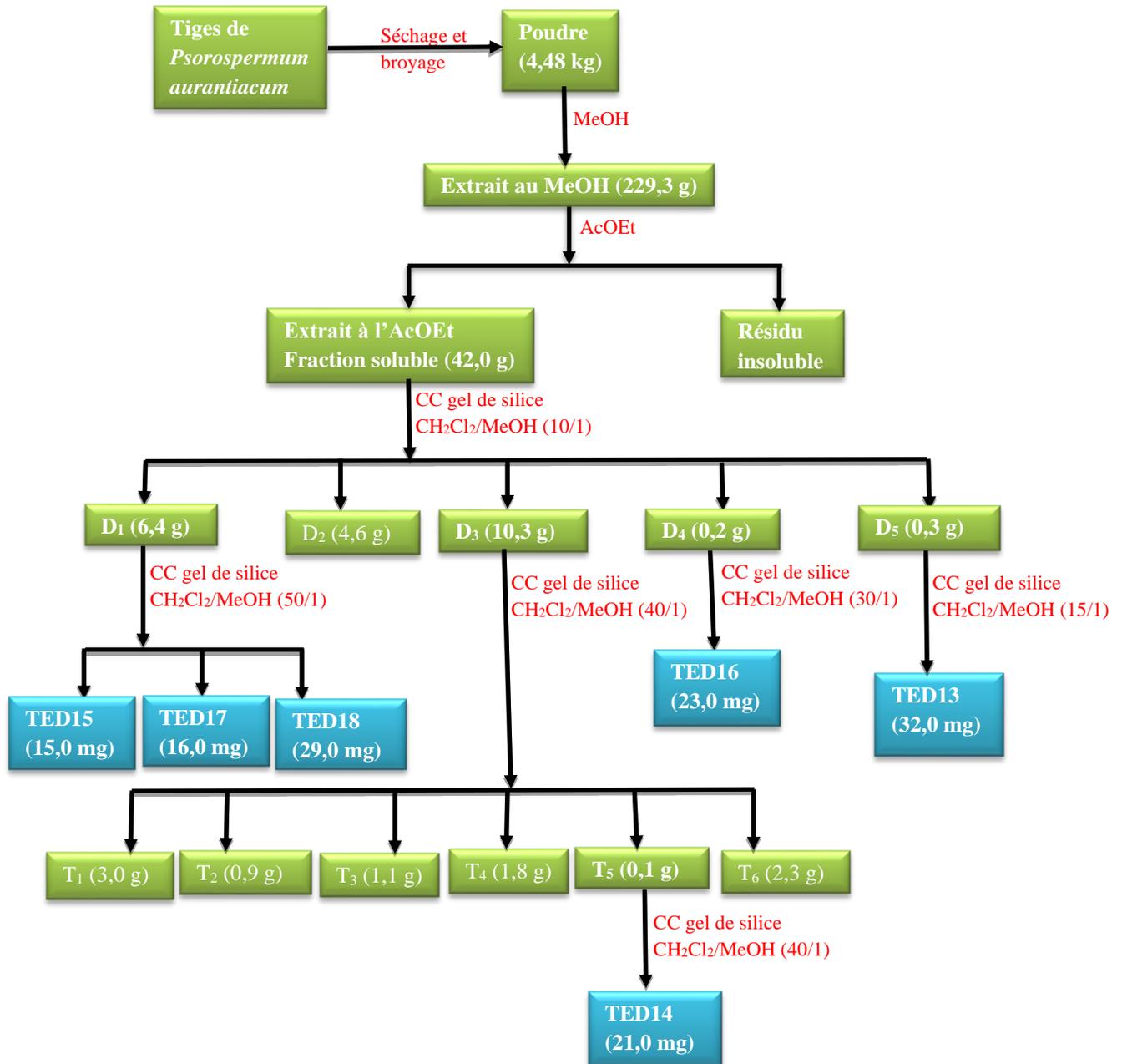


Schéma 5 : Protocole d'extraction et de purification des tiges de *P. aurantiacum*.

I.2- Extraction et isolement des produits des feuilles de *Symphonia globulifera* L.f.

La poudre obtenue du broyage des feuilles séchées a été extraite à température ambiante au méthanol pendant 72 heures. La solution obtenue a été filtrée puis évaporée pour donner une pâte qui a par la suite été réextraite dans un mélange de solvant *n*-hexane/acétate d'éthyle (95/5) pour enlever la chlorophylle. Ce qui nous a donné une pate soluble dans le méthanol et un résidu insoluble (fraction *n*-hexane/acétate d'éthyle). L'extrait soluble au méthanol a servi dans la suite des analyses (schéma 6).

Cet extrait a été fractionné par la suite par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant le mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (10/1). Les 72 fractions obtenues ont été regroupées en quatre sous-fractions : G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub> et G<sub>4</sub> sur la base de l'analyse des plaques CCM. Seules les sous-fractions G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub> et G<sub>4</sub> ont été purifiées car G<sub>1</sub> a montré un mélange très complexe que nous avons mis de côté pour les investigations ultérieures. Cette purification a conduit à l'isolement de quinze (15) produits purs indexés TED1, TED2, TED3, TED4, TED5, TED7, TED8, TED9, GTE-3, GTE-4, GTE-5, GTE-6, GTE-7, GTE-8 et GTE-25 (shéma 6).

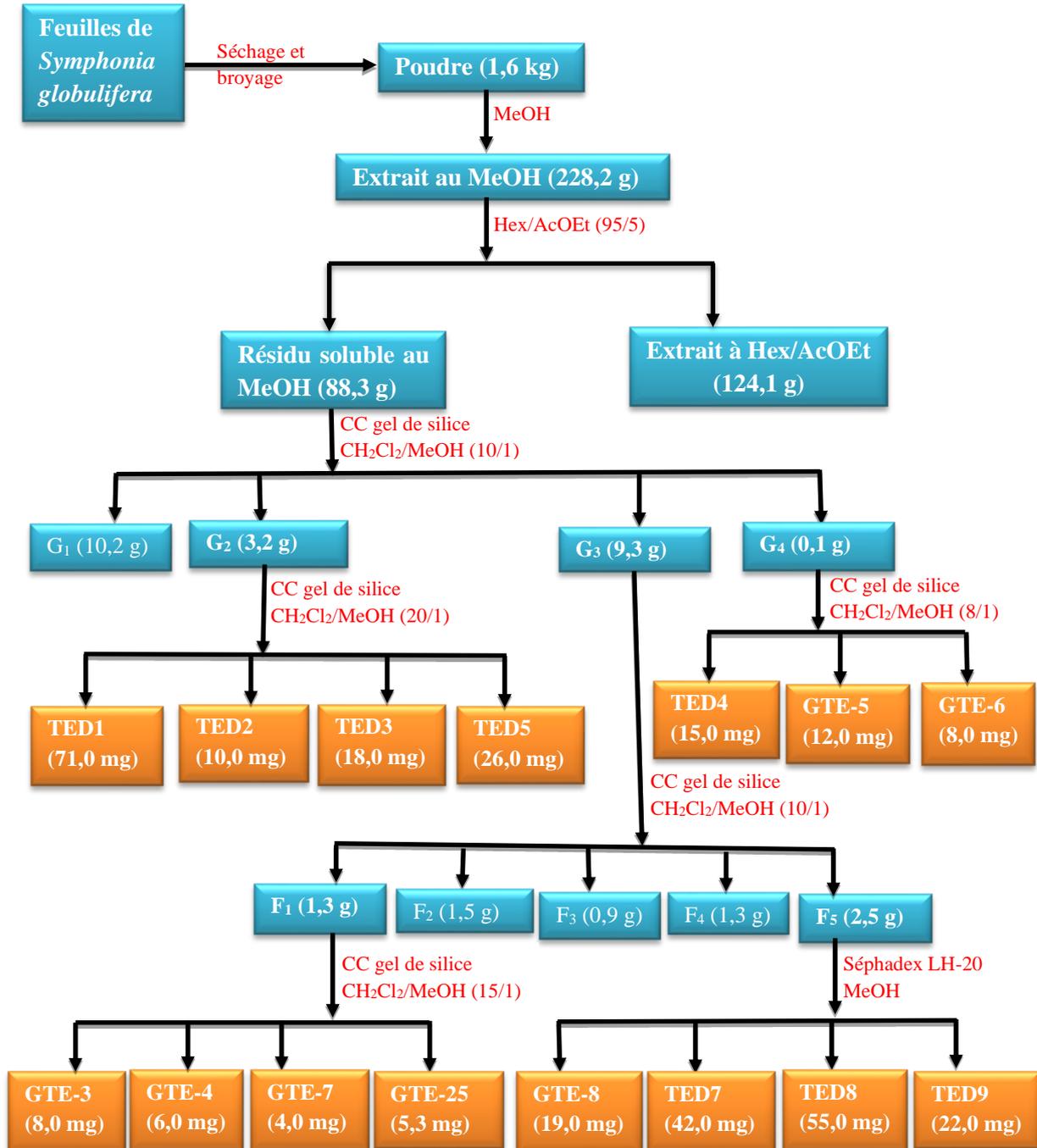


Schéma 6 : Protocole de purification de l'extrait au méthanol des feuilles de *S. globulifera*.

**Tableau IX :** Récapitulatif des composés isolés et caractérisés de *P. aurantiacum*.

N°	Tiges de <i>P. aurantiacum</i>		
	Composés isolés	Aspect et couleur	Noms
1	TED13 <b>78</b>	Poudre amorphe jaune	1,5,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone
2	TED14 <b>79</b>	Poudre amorphe jaune	1,7-dihydroxyxanthone
3	TED15 <b>80</b>	Poudre amorphe marron	bétuline
4	TED16 <b>81</b>	Poudre amorphe jaune	Cadensine H ( <b>nouveau</b> )
5	TED17 <b>82</b>	Poudre amorphe grise	lupéol
6	TED18 <b>83</b>	Poudre amorphe jaune	Acide bétulinique

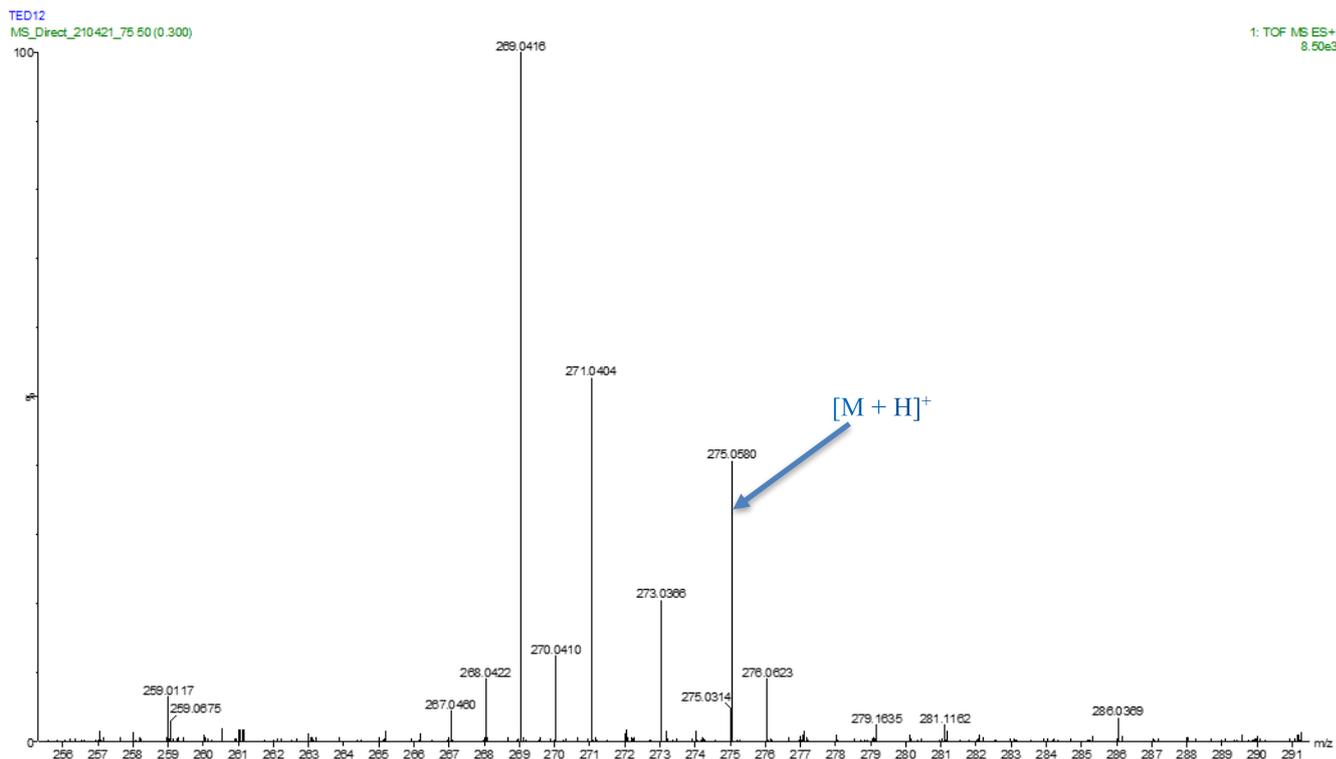
**Tableau X :** Récapitulatif des composés isolés et caractérisés de *S. globulifera*.

N°	Feuilles de <i>S. globulifera</i>		
	Composés isolés	Aspect et couleur	Noms
1	GTE-3 <b>84</b>	Poudre amorphe jaune pâle	Apigénine
2	GTE-4 <b>85</b>	Poudre jaune-orangée	Lutéoline
3	GTE-5 <b>86</b>	Poudre amorphe beige	Génisteine
4	GTE-6 <b>87</b>	Poudre amorphe beige	Isoformononétine
5	GTE-7 <b>88</b>	Poudre amorphe jaune	1,5-dihydroxyxanthone
6	GTE-8 <b>89</b>	Poudre amorphe jaune	Robustaflavone
7	GTE-25 <b>90</b>	Poudre amorphe jaune	5'-O-(1-hydroxyxanthon-5-yl)-1'-hydroxyxanthone ( <b>nouveau</b> )
8	TED1 <b>91</b>	Poudre amorphe blanche	3,15-dihydroxylanosta-7,9(11),24-triene
9	TED2 <b>92</b>	Poudre amorphe marron	Stigmast-5,22-dien-3-O-β-D-glucopyranoside
10	TED3 <b>93</b>	Poudre amorphe blanche	3-β-D (+) glucopyranosyle de β-sitostérol
11	TED4 <b>94</b>	Poudre amorphe violet	Épicatéchine
12	TED7 <b>95</b>	Poudre amorphe jaune	friedelane-2α,3α,28-triol ou pristirol
13	TED8 <b>96</b>	Poudre amorphe jaune	7''-O-methylrobustaflavone
14	TED9 <b>97</b>	Poudre amorphe jaune	Amentoflavone

## II- Caractérisation des composés isolés.

### II.1- Identification de TED13

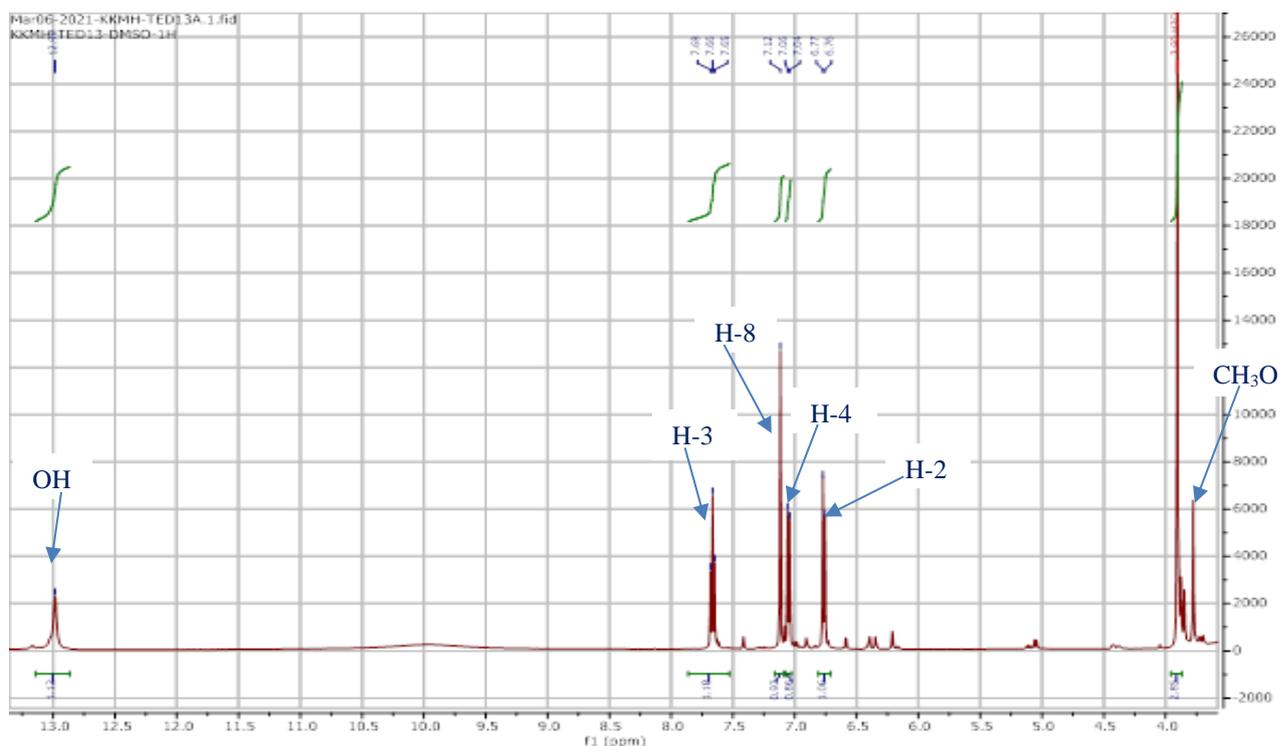
Le composé TED13 a été obtenu sous forme de poudre jaune. Il répond positivement au test des phénols. Sa formule brute  $C_{14}H_{10}O_6$  a été déduite de son spectre de masse (**Fig. 5**) haute résolution qui montre l'ion pseudo-moléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z$  275,0580 correspondant à la formule brute  $C_{14}H_{11}O_6$  (calculée 275,0578). Ceci implique une masse moléculaire de 274 pour TED13 qui compte 10 degrés d'insaturations.



**Figure 5** : Spectre de masse de TED13

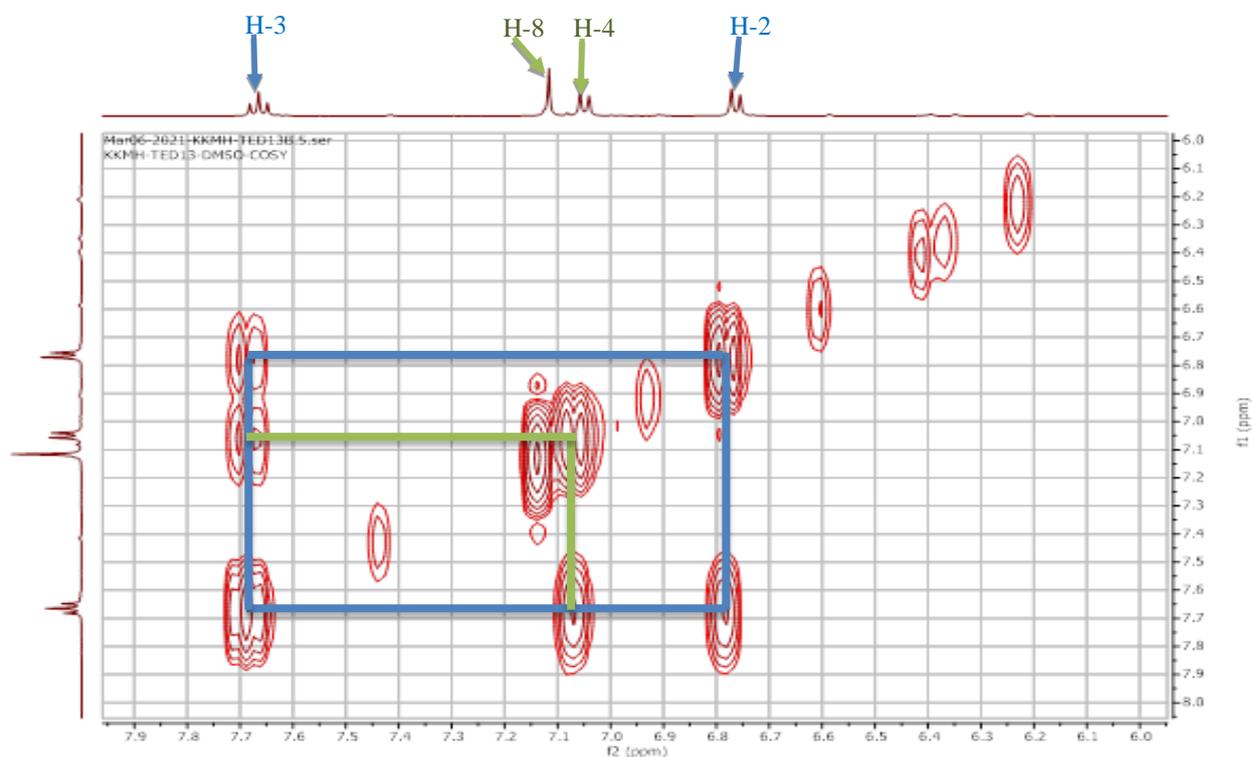
L'analyse du spectre de RMN  $^1H$  (**Fig. 6**) permet d'identifier les signaux caractéristiques d'un squelette de xanthone définissant les systèmes de protons suivants impliqués dans la structure de la molécule :

- Les signaux de trois protons sur un noyau aromatique trisubstitué (noyau A) montrant un couplage *ortho* à  $\delta_H$  6,75 (1H, d,  $J=8,3$  Hz, H-2) ; 7,04 (1H, d,  $J=8,3$  Hz, H-4) et 7,65 (1H, t,  $J=8,3$  Hz, H-3).
- Le signal d'un proton très déblindé sur un noyau aromatique penta-substitué (noyau B) à  $\delta_H$  7,11 (1H, s, H-8).
- La différence remarquable est la présence du signal en singulet d'un proton phénolique chélaté à  $\delta_H$  12,98 (1H, s, OH, noyau A).
- Un signal en singulet de trois protons méthoxyle à  $\delta_H$  3,91 (3H, s, noyau B).



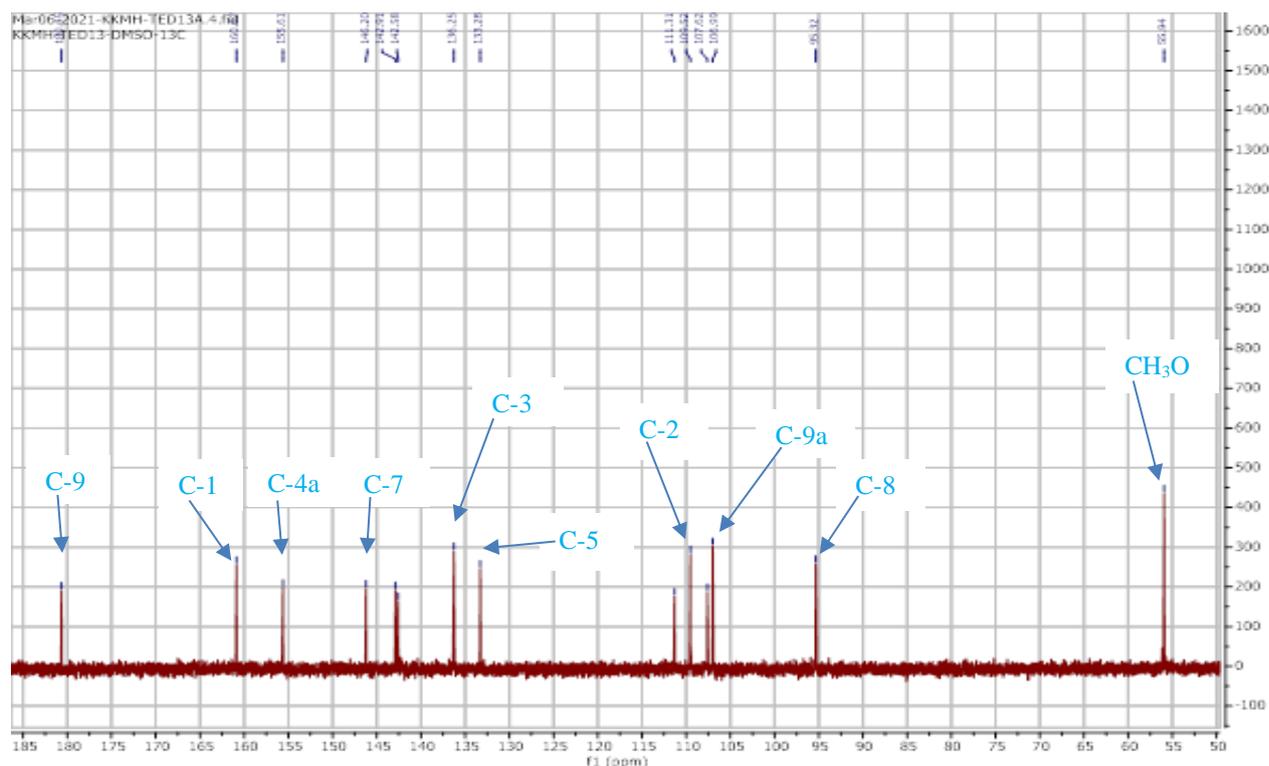
**Figure 6 :** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) de TED13.

Dans le spectre COSY (**Fig. 7**) on note les corrélations entre les protons H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  6,75 (1H, d,  $J=8,3$  Hz)), H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  7,65 (1H, t,  $J=8,3$  Hz) et H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  7,04 (1H, t,  $J=8,3$  Hz)) confirmant le fait qu'ils sont portés par des carbones adjacents.



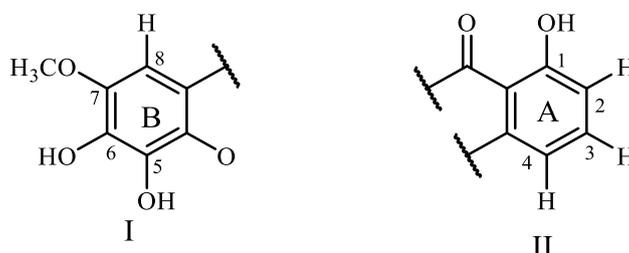
**Figure 7 :** Spectre COSY ( $^1\text{H}-^1\text{H}$ ) de TED13

L'analyse du spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Fig. 8**) et HSQC nous ont permis de voir qu'à l'exception de l'atome de carbone du groupement  $\text{CH}_3\text{O}$  qui est saturé et dont le signal apparaît à  $\delta_{\text{C}}$  55,9 tous les autres 13 atomes de carbones impliqués dans la formule moléculaire sont d'hybridation  $sp^2$ . On note la présence d'un signal de carbonyle qui apparaît à  $\delta_{\text{C}}$  180,6 (C-9) ; des signaux de quatre méthynes à  $\delta_{\text{C}}$  109,5 (C-2) ; 136,2 (C-3) ; 107,6 (C-4) ; 95,3 (C-8) et ceux de huit atomes de carbone quaternaire dont six portent chacun un atome d'oxygène à  $\delta_{\text{C}}$  160,8 (C-1) ; 155,6 (C-4a) ; 142,9 (C-6) ; 142,2 (C-4b) ; 133,3 (C-5) ; 146,2 (C-7), 111,3 (C-8a) et 106,9 (C-9a).



**Figure 8** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de TED13

L'analyse des spectres RMN  $^1\text{H}$  (1D et 2D, COSY), RMN  $^{13}\text{C}$  permet de définir les sous-structures suivantes :



Sur le spectre HMBC (**Fig. 9**) on note les corrélations entre :

- H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  7,65) et les atomes de carbone C-4a ( $\delta_{\text{C}}$  155,6), C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  160,8)
- H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  7,04) et les atomes de carbone C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  109,5), C-4a ( $\delta_{\text{C}}$  155,6)

- H-2 ( $\delta_H$  6,75) et les atomes de carbone C-4 ( $\delta_C$  107,6), C-1 ( $\delta_C$  160,8), C-3 ( $\delta_C$  136,2) respectivement (noyau A)
- H-8 ( $\delta_H$  7,11) et les atomes de carbone C-9 ( $\delta_C$  180,6) ; C-7 ( $\delta_C$  146,2), C-8a ( $\delta_C$  111,3), C-5 ( $\delta_C$  133,3), C-6 ( $\delta_C$  142,9) respectivement (noyau B)
- Les protons du groupe CH<sub>3</sub>O et l'atome de carbone C-7 ( $\delta_C$  146,2).

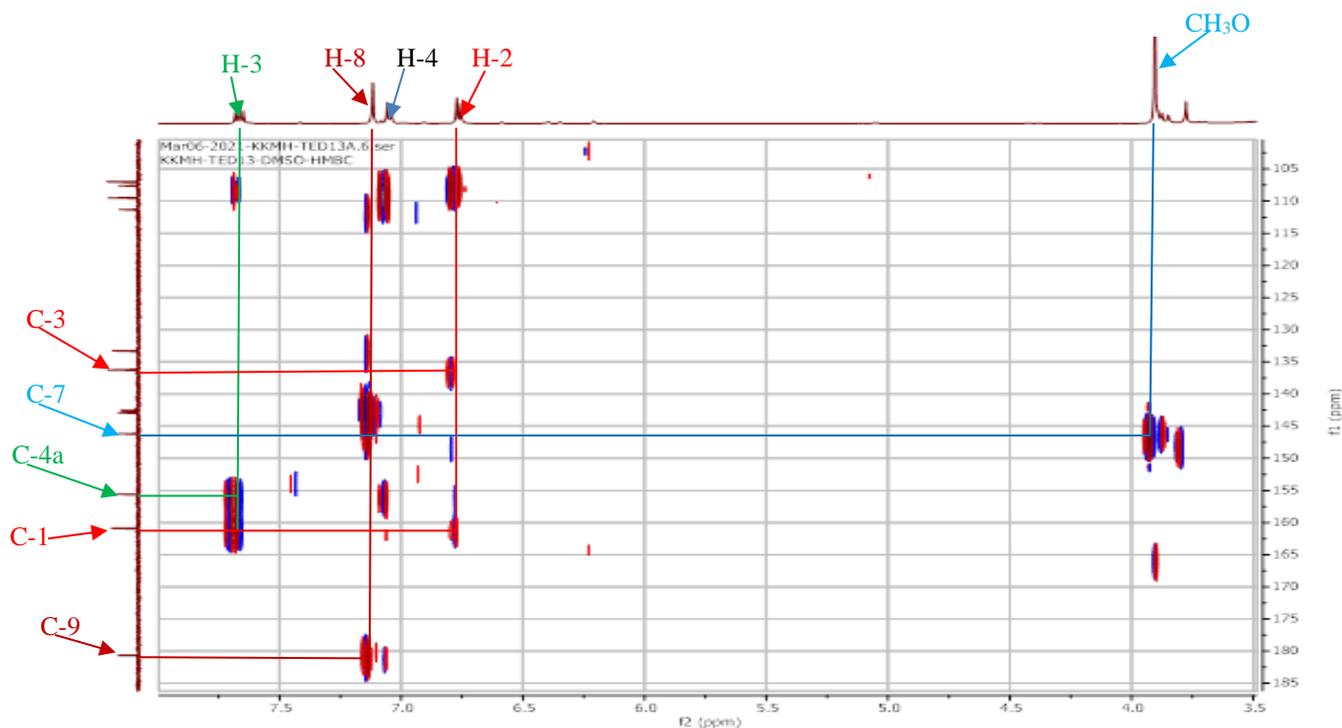
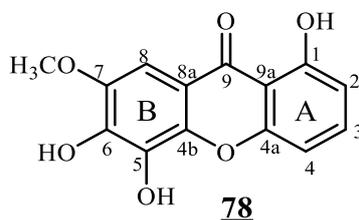


Figure 9 : Spectre HMBC de TED13

Tableau XI : Données spectrales RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) : <sup>1</sup>H (500 MHz) et <sup>13</sup>C (125 MHz) de TED13 comparées à celles retrouvées dans la littérature.

N° C	TED13			(Munekazu <i>et al.</i> , 1995)
	$\delta_C$	DEPT	$\delta_H$ (nH, m, <i>J</i> en Hz)	$\delta_C$
1	160,8	C	12,98 (1H, s, OH)	160,8
2	109,5	CH	6,75 (1H, d, 8,3)	109,5
3	136,2	CH	7,65 (1H, t, 8,3)	136,2
4	107,6	CH	7,04 (1H, d, 8,3)	106,9
4a	155,6	C	-	155,6
4b	142,2	C	-	142,5
5	133,3	C	-	133,2
6	142,9	C	-	142,8
7	146,2	C	-	146,2
8	95,3	CH	7,11 (1H, s)	95,3
8a	111,3	C	-	111,3
9	180,6	C	-	180,6
9a	106,9	C	-	107,6
7-OCH <sub>3</sub>	55,9	CH <sub>3</sub>	3,91 (3H, s)	55,9

Ceci permet non seulement de confirmer les sous-structures, mais aussi de les relier pour donner la structure suivante qui est celle d'une Xanthone le 1,5,6-trihydroxy-7-méthoxyxanthone **78** précédemment isolée d'une autre source (Munekazu *et al.*, 1995).



## II.2- Identification de TED14

Le composé TED14 a été obtenu sous forme de poudre jaune. Il répond positivement au test des phénols. Sa formule brute  $C_{13}H_8O_4$  a été déduite de son spectre de masse haute résolution qui montre l'ion pseudo-moléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z$  229,0543 correspondant à la formule brute  $C_{13}H_9O_4$  (calculée 229,0501). Ceci implique une masse moléculaire de 228 pour TED14 qui est donc une xanthone renfermant 10 degrés d'insaturations.

Son spectre RMN  $^1H$  (Fig. 10) montre deux signaux en singulet de proton phénolique dont l'un chélaté à  $\delta_H$  12,98 (1H, s, OH, noyau A), et l'autre à  $\delta_H$  10,07 (1H, s, OH, noyau B). Nous notons aussi la présence des signaux d'hydrogènes aromatiques à 7,69 (1H, t,  $J = 8,3$  Hz, H-3), 6,78 (1H, d,  $J = 8,3$  Hz, H-2), 7,03 (1H, d,  $J = 8,3$  Hz, H-4), indiquant un modèle vicinal de trois hydrogènes sur l'un des noyaux aromatiques (noyau A). De plus, la RMN  $^1H$  a montré les signaux de trois autres hydrogènes aromatiques *ortho*- et *mé*ta-couplés à 7,53 (1H, d,  $J = 9,0$  Hz, H-5), 7,36 (1H, dd,  $J = 9,0$  et  $3,2$  Hz, H-6) et 7,44 (1H, d,  $J = 3,2$  Hz, H-8) (noyau B).

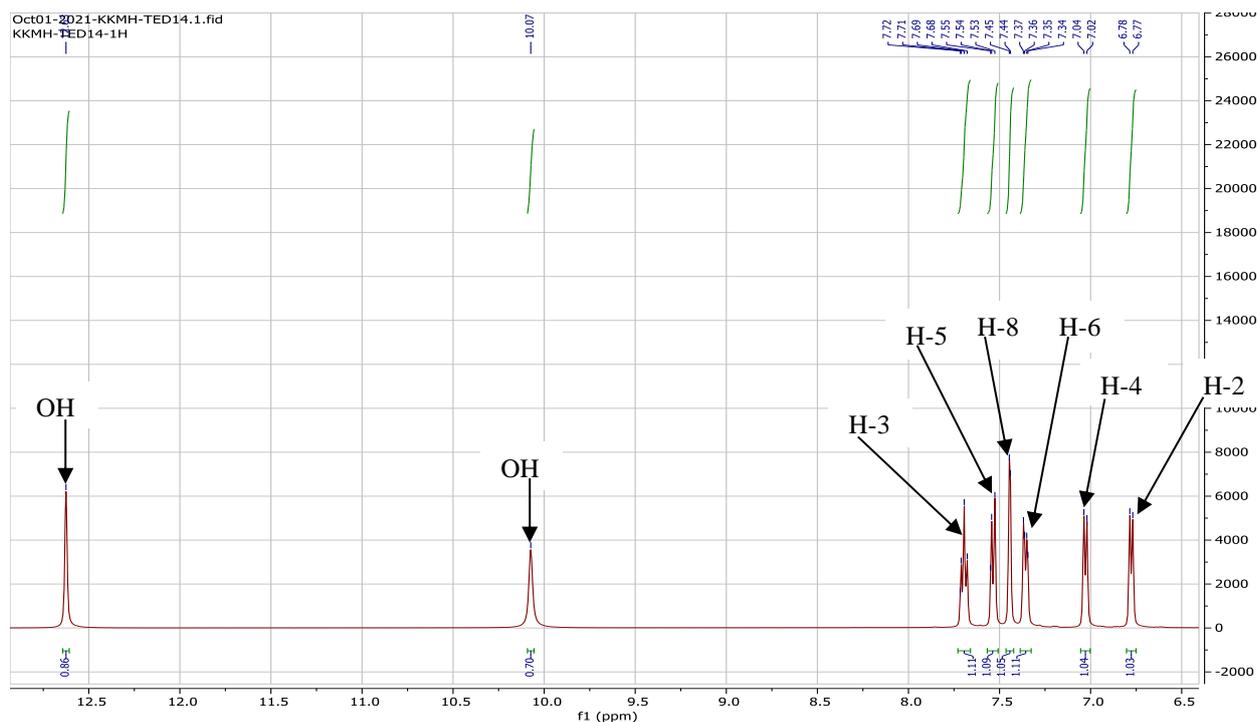


Figure 5 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de TED14.

L'analyse du spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 11) a montré que tous les 13 atomes de carbones impliqués dans la formule moléculaire sont d'hybridation  $sp^2$ . On note la présence d'un carbonyle donc le signal apparait à  $\delta_{\text{C}}$  181,8 (C-9) ; les signaux de six méthynes à  $\delta_{\text{C}}$  110,0 (C-2) ; 137,6 (C-3) ; 107,5 (C-4) ; 108,3 (C-8) et ceux de six atomes de carbone quaternaire dont quatre portent chacun un atome d'oxygène à  $\delta_{\text{C}}$  161,2 (C-1) ; 156,1 (C-4a) ; 149,6 (C-4b) ; 154,4 (C-7), 120,7 (C-8a) et 108,1 (C-9a).

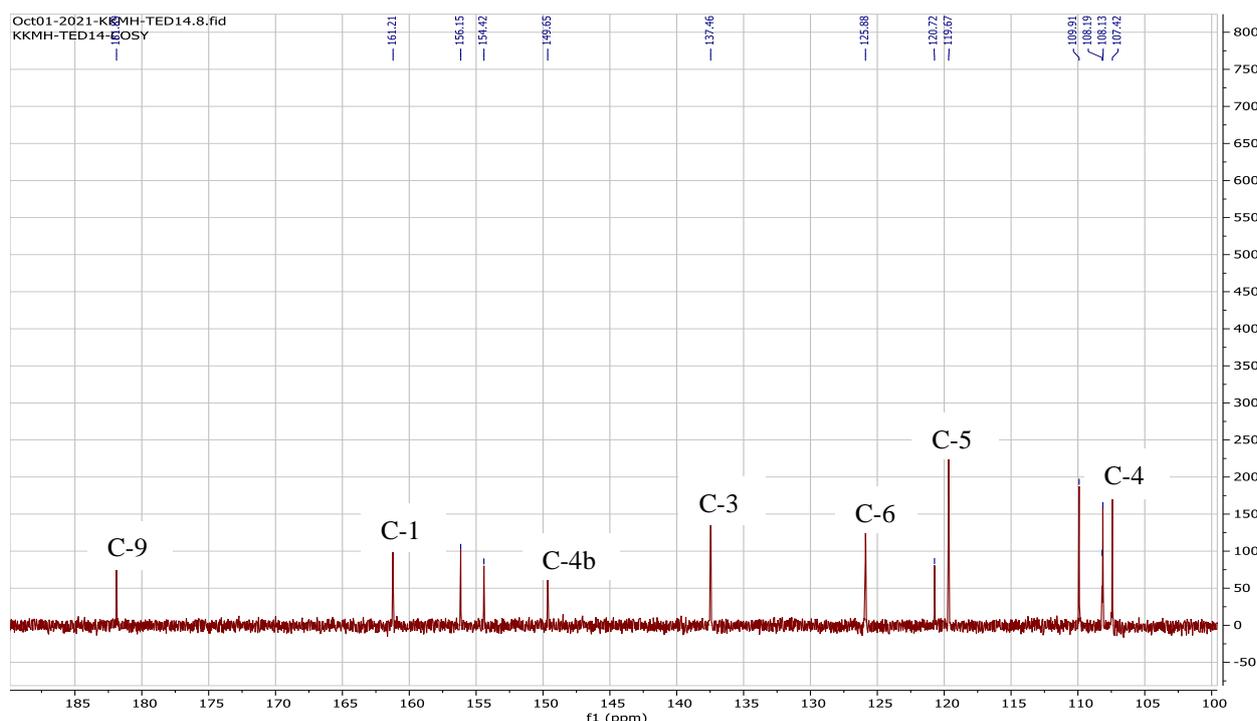
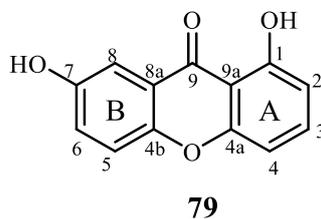


Figure 6 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de TED14.

**Tableau XII** : Données spectrales RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) : <sup>1</sup>H (500 MHz) et <sup>13</sup>C (125 MHz) de TED14.

N° C	TED14		
	$\delta_C$	DEPT	$\delta_H$ (nH, m, <i>J</i> en Hz)
1	161,2	C	12,98 (1H, s, OH)
2	110,0	CH	6,78 (1H, d, 8,3)
3	137,6	CH	7,69 (1H, t, 8,3)
4	107,5	CH	7,03 (1H, d, 8,3)
4a	156,1	C	-
4b	149,6	C	-
5	119,8	CH	7,53 (1H, d, 9,0)
6	126,0	CH	7,36 (1H, dd, 9,0; 3,2)
7	154,4	C	10,07 (1H, s, OH)
8	108,3	CH	7,44 (1H, d, 3,2)
8a	120,7	C	-
9	181,8	C	-
9a	108,1	C	-

L'ensemble de ces informations, confirmée par comparaison de ces valeurs spectroscopiques avec les données de la littérature, nous a permis d'arriver à la structure suivante qui est celle d'une Xanthone le 1,7-dihydroxyxanthone ou Euxanthone **79** (Kouam et al., 2010).



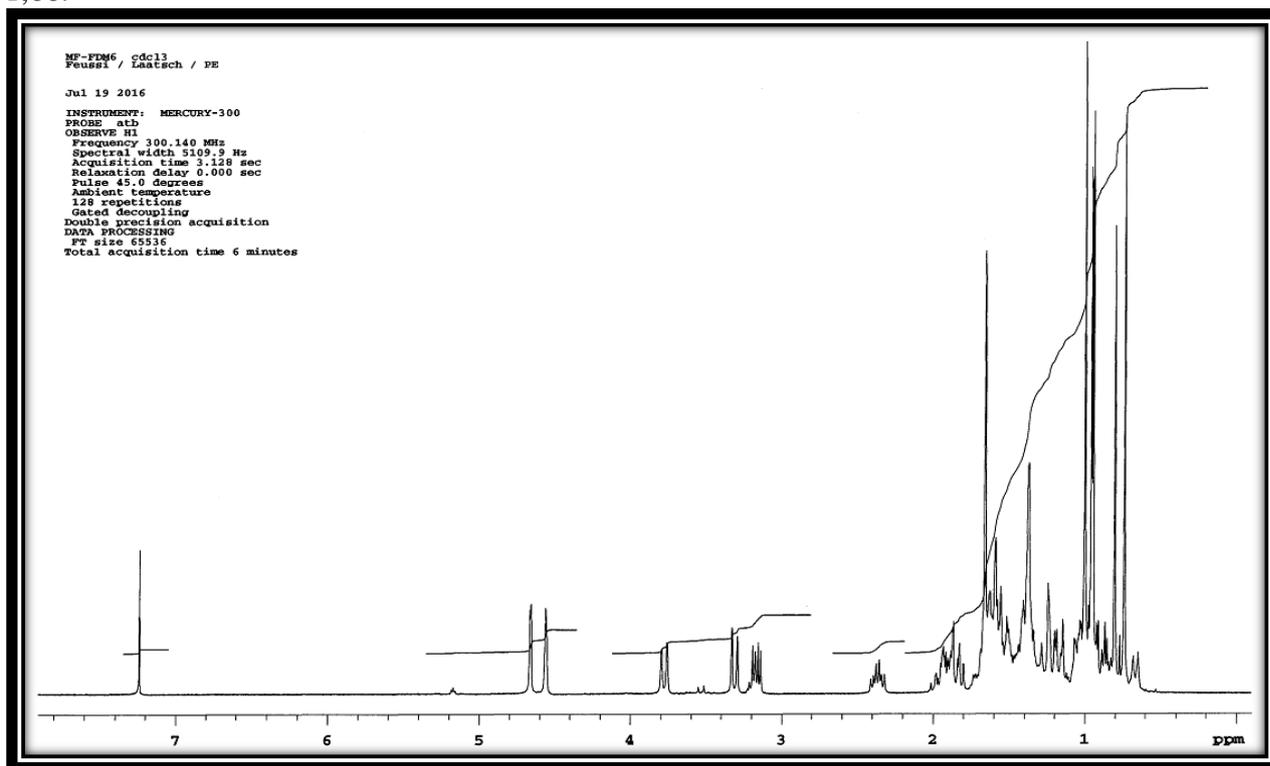
### II.3- Identification de TED15.

TED15 est obtenu sous forme de poudre blanche, il est soluble dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Il répond positivement au test de Libermann-Burchard caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse ESI-MS obtenu en mode positif présente un pic de l'ion moléculaire à m/z 442,3811 [M]<sup>+</sup> correspondant à la formule brute C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub> qui renferme 6 insaturations.

Sur le spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Fig. 12**) on a observé :

- Les doublets des protons géminés à  $\delta_H$  4,56 et 4,69 (H-29), ainsi que le singulet du groupe méthyle à  $\delta_H$  1,66 (H-30), suggérant que TED15 est un dérivé triterpénique de type lupane.
- Une autre paire de doublets à  $\delta_H$  3,34 et 3,78 (H-28), plutôt qu'un singulet de méthyle autour de  $\delta_H$  0,80, ce qui confirme la présence d'un groupe hydroxyle en C-28.

- six singulets intégrant chacun pour 3H attribuables aux six méthyles dont un résonne à  $\delta_H$  1,66.



**Figure 12** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TED15.

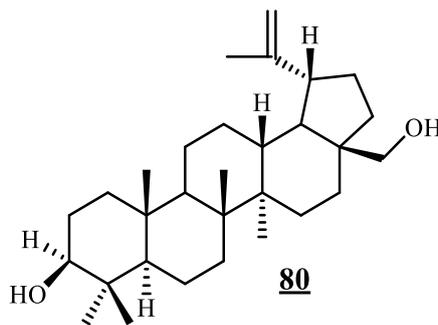
Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  a en outre établi que TED15 est un dérivé triterpénique de type lupane. En effet les signaux de la paire caractéristique de carbone  $sp^2$  comprises dans la double liaison du lupéol ont été observés à  $\delta_C$  150,4 et 109,7 (C-20 et C-29 respectivement) (**Mahato et Kundu, 1994**). On note aussi la présence des signaux d'atomes de carbone oxygéné à  $\delta_C$  79,0 (C-3) et à  $\delta_C$  60,5 (C-28), et ceux en forme de massif entre 14 et 56 ppm. L'ensemble de toutes ces données permettent d'identifier TED15 à un dérivé de lupéol caractérisé par le groupement isopropényl exo-cyclique et une fonction hydroxyle en C-3.

La présence d'une deuxième fonction hydroxyle est déduite par les déplacements chimiques de deux protons géminés donc les signaux sont situés à  $\delta_H$  3,78 et 3,34 et correspondent à ceux d'un groupement  $\text{CH}_2\text{OH}$ .

**Tableau XIII** : Données spectrales de RMN (CDCl<sub>3</sub>) : <sup>1</sup>H (500 MHz) et <sup>13</sup>C (125 MHz) de TED15 comparées à celles de la littérature.

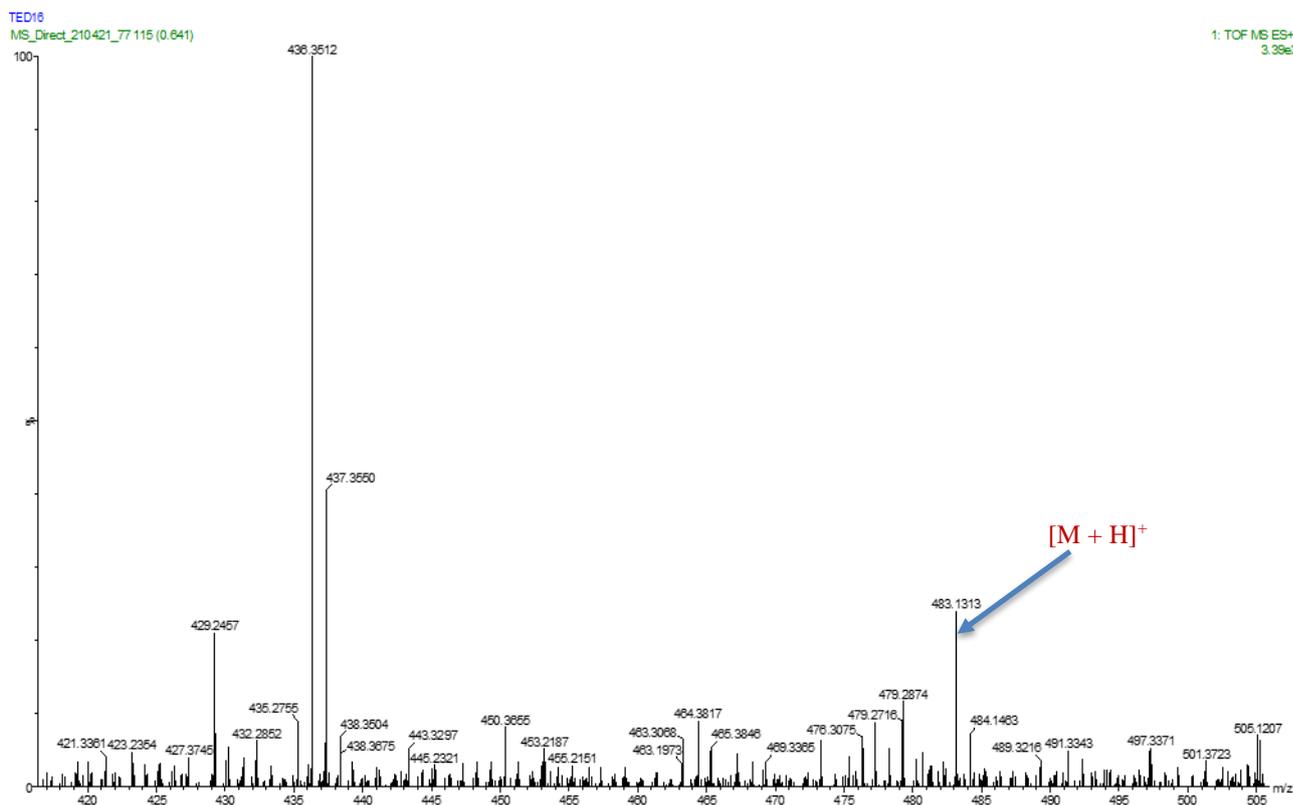
N° C	TED15			Bétuline (Nargis et al., 2014)
	$\delta_C$	DEPT	$\delta_H$ (nH, m, J en Hz)	$\delta_C$
1	38,8	CH <sub>2</sub>	1,55 (2H, m)	38,6
2	27,4	CH <sub>2</sub>	1,45 (2H, m)	27,0
3	79,0	CH	3.16 (1H, dd, 5,3, H-3 $\alpha$ )	78,8
4	37,7	C	-	38,8
5	55,3	CH	0,68 (1H, m)	55,2
6	18,3	CH <sub>2</sub>	1,46 (2H, m)	18,2
7	34,2	CH <sub>2</sub>	1,34 (2H, m)	34,2
8	40,9	C	-	40,8
9	50,4	CH	1,27 (1H, m)	50,3
10	37,3	C	-	37,1
11	20,8	CH <sub>2</sub>	1,37 (2H, m)	20,8
12	25,2	CH <sub>2</sub>	1,63 (2H, m)	25,1
13	37,2	CH	2,13 (1H, td, 3,6 et 12,3)	37,2
14	42,7	C	-	42,6
15	27,0	CH <sub>2</sub>	1,72 (2H, m)	27,0
16	29,2	CH <sub>2</sub>	2,04 (2H, tt, 3,0 et 12,5)	29,1
17	47,8	C	-	47,74
18	47,7	CH	2,85 (1H, m)	48,7
19	48,8	CH	1,45 (1H, m)	47,77
20	150,5	C	-	150,3
21	29,8	CH <sub>2</sub>	1,10 (2H, m)	29,7
22	34,0	CH <sub>2</sub>	1,81 (2H, tt, 3,0 et 13,0)	33,9
23	28,0	CH <sub>3</sub>	0,96 (3H, s)	27,9
24	15,3	CH <sub>3</sub>	0,76 (3H, s)	15,3
25	16,1	CH <sub>3</sub>	0,81 (3H, s)	16,0
26	16,1	CH <sub>3</sub>	0,97 (3H, s)	15,9
27	14,8	CH <sub>3</sub>	0,99 (3H, s)	14,7
28	60,5	C	3.34 (1H, d, 10,8, H-28 $\alpha$ ) 3.78 (1H, d, 10,8, H-28 $\beta$ )	60,8
29	109,7	CH <sub>2</sub>	4,69 (1H, m) 4,56 (1H, m)	109,7
30	19,1	CH <sub>3</sub>	1,66 (3H, s)	19,0

La comparaison de ces données spectrales avec celles trouvées dans la littérature permet de confirmer la structure de TED15 comme étant de la bétuline ou 20(29)-lupène-3,28-diol **80** (Nargis et al., 2014).



#### II.4- Détermination de la structure de TED16

Le composé TED16 a été obtenu sous forme de poudre jaune. Il répond positivement au test au Chlorure Ferrique caractéristique des phénols. Sa formule brute  $C_{25}H_{22}O_{10}$  a été déduite de son spectre de masse (**Fig. 13**) haute résolution qui montre l'ion pseudo-moléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z$  483,1313 correspondant à la formule brute  $C_{25}H_{23}O_{10}$  (calculée 483,1290). Ceci implique une masse moléculaire de 482 pour TED16 possédant 15 sites d'insaturations.

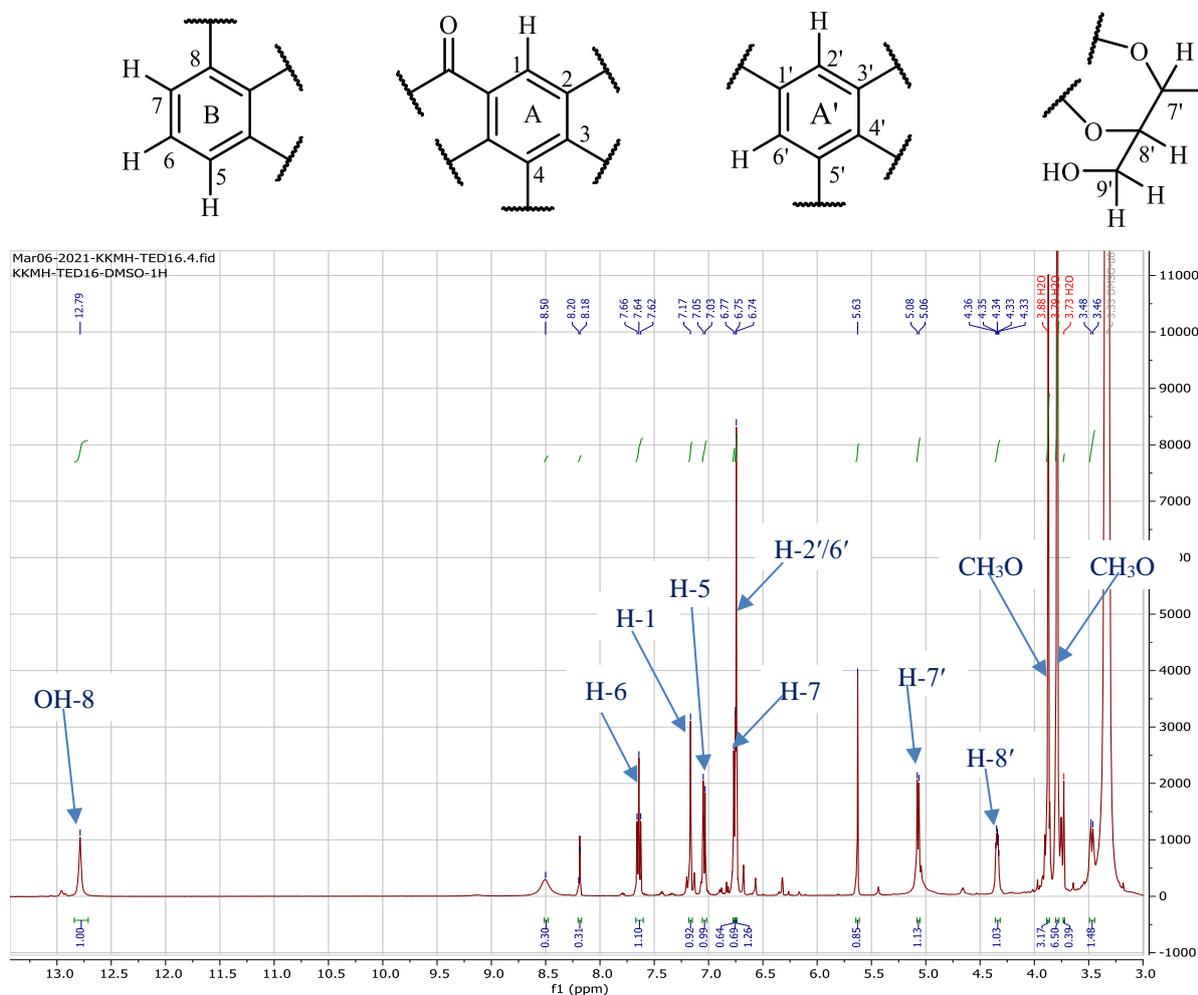


**Figure 13** : Spectre de masse de TED16

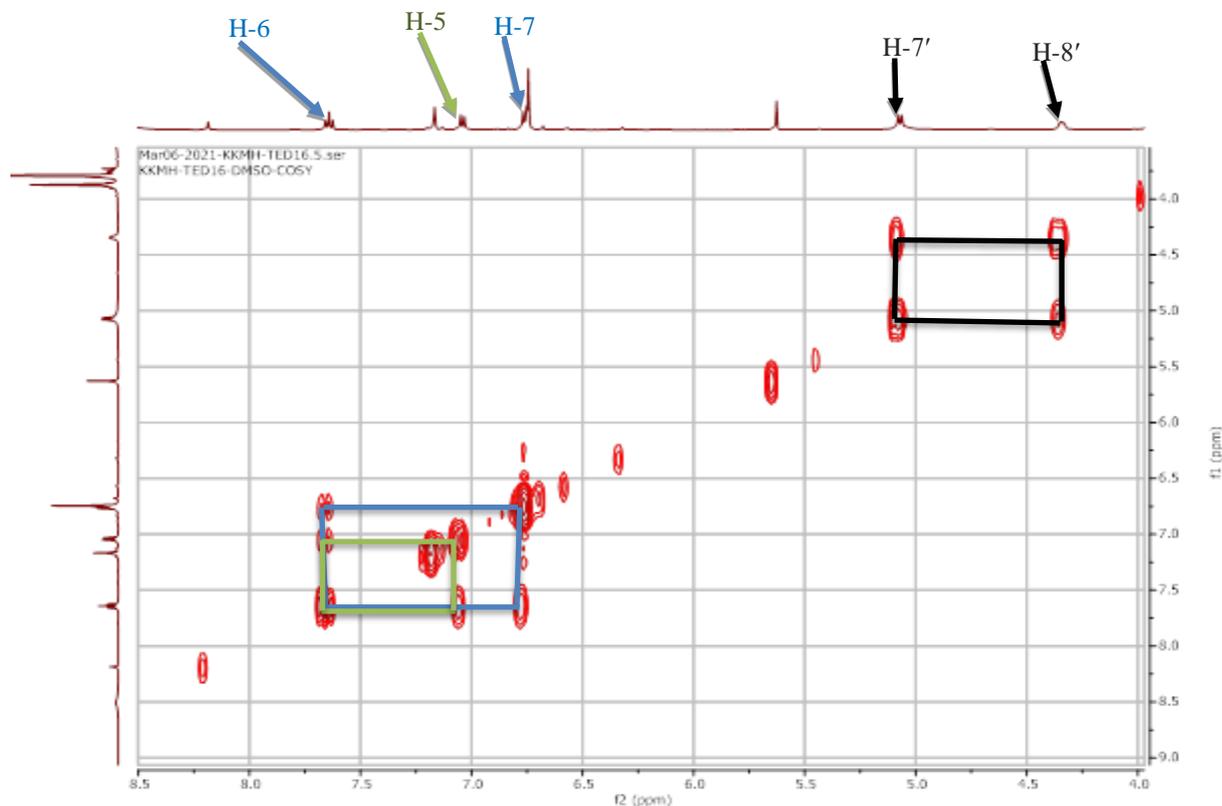
Le spectre de RMN  $^1H$  (**Fig. 14**) montre des singulets de trois groupes méthoxyles à  $\delta_H$  3,88 (3H, s, 2-OCH<sub>3</sub>) et  $\delta_H$  3,79 (6H, s, 3',5'-OCH<sub>3</sub>). On observe également des signaux de six protons aromatiques dans la partie des champs faibles. Il s'agit d'une paire de doublets et d'un triplet représentant trois protons adjacents sur le noyau B trisubstitué à  $\delta_H$  7,64 (1H, t,  $J = 8,4$  Hz, H-6), 7,05 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-5) et 6,77 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-7) un singulet d'un proton à  $\delta_H$  7,17 correspondant à H-1 sur le noyau A. L'absence d'un signal dans les champs faibles

aux environs de  $\delta_H$  8,3 suggère la présence d'un groupement hydroxyle en position C-8 chélaté à la fonction carbonyle de xanthone en *péri* ( $\delta_H$  12,79) et indique l'absence du groupe méthoxy a cette même position comme observé dans la littérature (Abou-Shoer et al., 1989). L'apparition d'un singulet à  $\delta_H$  6,74 correspondant aux protons H-2' et H-6' en méta sur le noyau A' corrobore la nature symétrique du groupement syringénine.

On observe aussi les signaux d'un système de quatre protons aliphatiques dont deux sont diastéréotopiques. On a un doublet à  $\delta_H$  5,08 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-7'), un doublet de triplet à  $\delta_H$  4,35 (1H, dt,  $J = 7,8$  et  $3,3$  Hz, H-8'), des doublets déblindés (protons diastéréotopiques) à  $\delta_H$  3,48 (1H, dd,  $J = 12,5$  et  $4,4$  Hz, H-9'a) et  $\delta_H$  3,75 (1H, dd,  $J = 12,5$  et  $4,4$  Hz, H-9'b). Ce système de protons rappelle le cycle cinnamoyl-1,4-dioxane dont les atomes de carbone oxygénés, C-7' et C-8' apparaissent respectivement à  $\delta_C$  76,7 et à  $\delta_C$  77,7 dans le spectre RMN  $^{13}C$  (Yu et Yang, 1999).



H<sub>z</sub>) et H-6 ( $\delta_H$  7,64 (1H, t,  $J=8,4$  Hz)), entre les protons H-6 ( $\delta_H$  7,64 (1H, t,  $J=8,4$  Hz)) et H-7 ( $\delta_H$  6,77 (1H, d,  $J=8,4$  Hz)) (noyau B), ensuite entre les protons H-8' ( $\delta_H$  4,35 (1H, dt,  $J=7,8$  et 3,3 Hz)) et H-7' ( $\delta_H$  5,08 (1H, d,  $J=7,8$  Hz)).



**Figure 15** : Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de TED16

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Fig. 16**) montre les signaux des vingt-cinq atomes de carbone de la formule brute. L'analyse combinée de ce spectre avec ceux de DEPT 135 (**Fig. 17**) et HSQC (**Fig. 18**) permet de distinguer :

- Les signaux de carbone saturés dont ceux de trois méthoxy à  $\delta_C$  55,7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ) et à  $\delta_C$  56,0 ( $\text{CH}_3\text{O} \times 2$ ), ceux de deux méthynes à  $\delta_C$  76,7 (C-7'), 77,7 (C-8') et celui d'un méthylène à  $\delta_C$  59,7 (C-9').
- Les signaux de dix-neuf atomes de carbone hybridé  $sp^2$  dont ceux des C-2'/6' et C-3'/5' respectivement à  $\delta_C$  105,5 et 147,9 (noyau A'), celui du carbonyle à  $\delta_C$  180,3 (C-9), ceux de quatre méthynes à  $\delta_C$  95,8 ; 106,8 ; 109,8 ; 136,2, ceux de atomes de carbone quaternaire parmi lesquels sept portent chacun un atome d'Oxygène à  $\delta_C$  160,9 ; 155,4 ; 145,5 ; 141,4 ; 140,3 ; 136,3 ; 132,3 ; 125,3 ; 112,4 et 107,8.

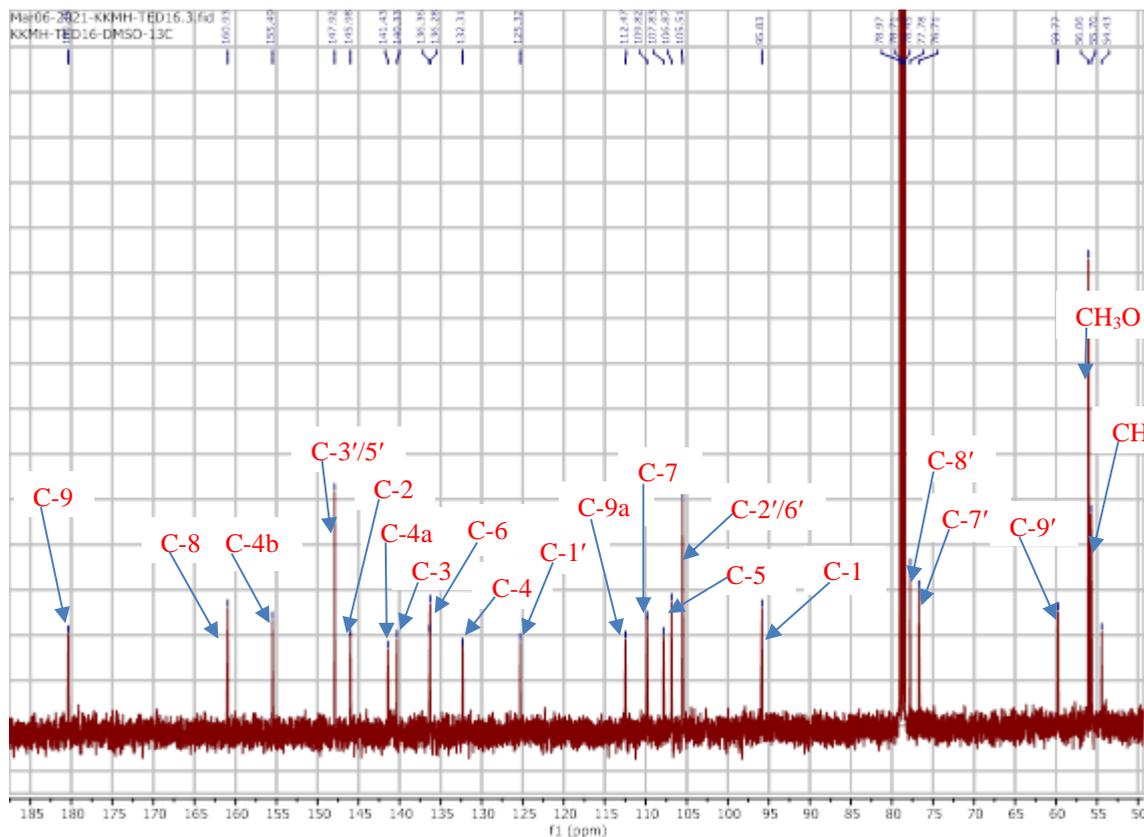


Figure 16 : Spectre RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) de TED16

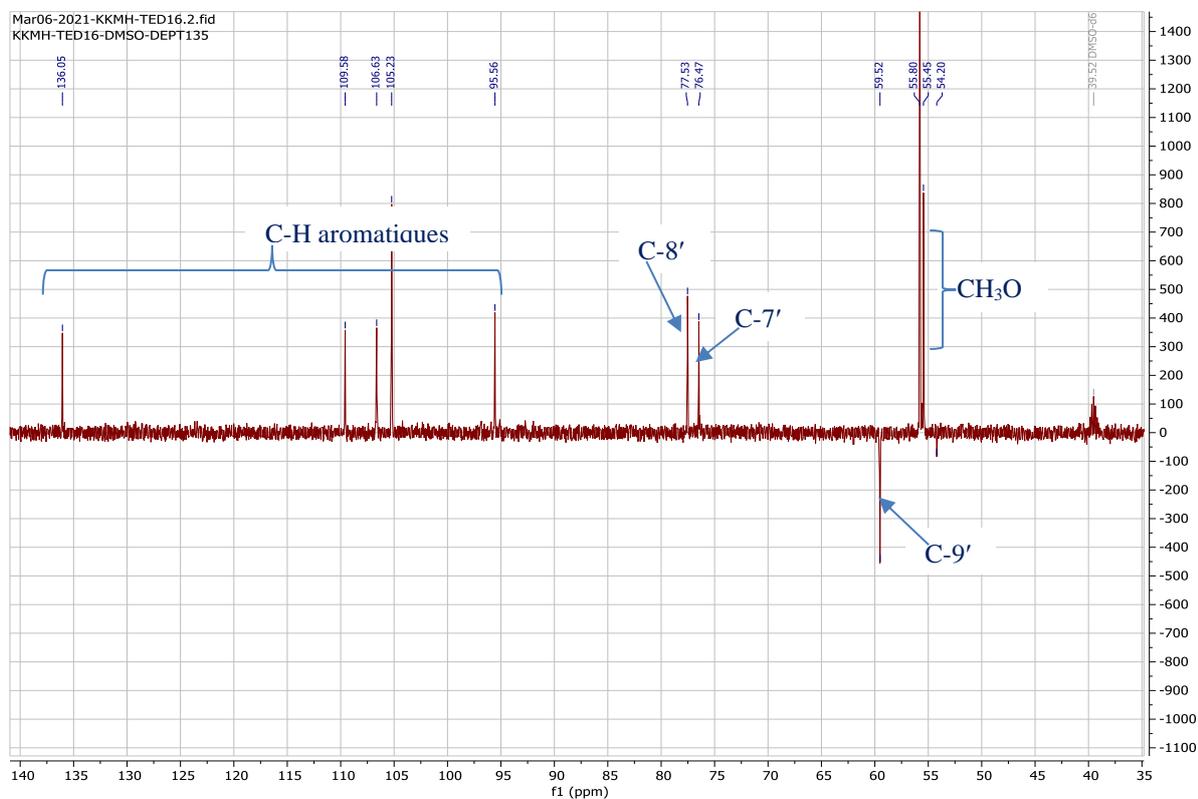
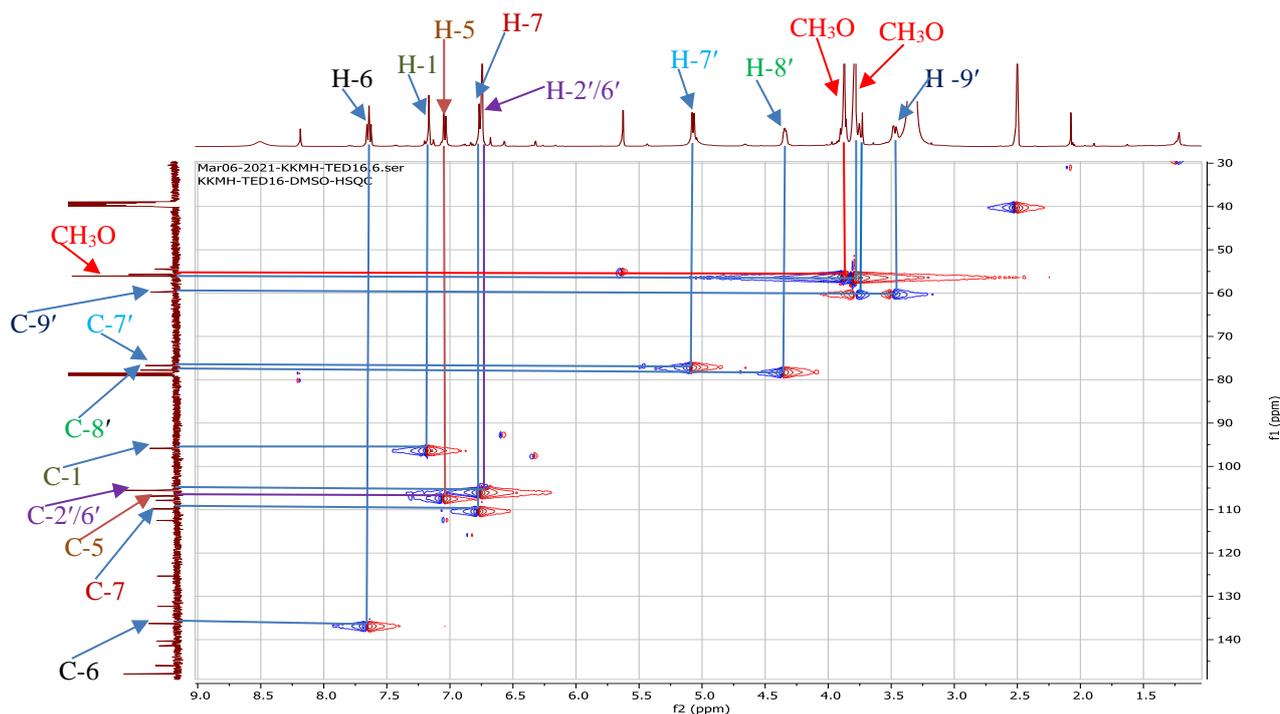
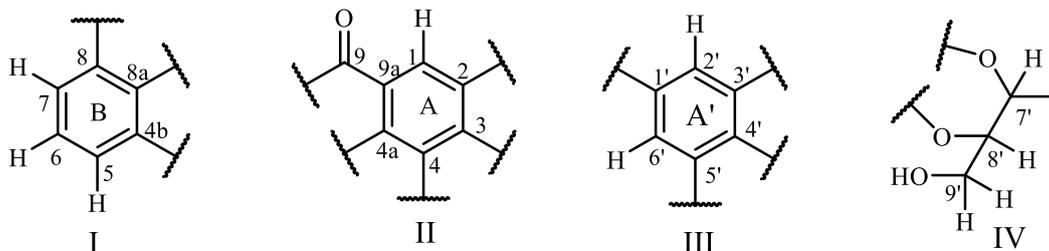


Figure 17 : Spectre DEPT 135 (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) de TED16



**Figure 7** : Spectre HSQC de TED16

Les renseignements obtenus des spectres de RMN  $^1\text{H}$  (1D et 2D COSY), RMN  $^{13}\text{C}$ , DEPT et de son spectre HSQC nous amènent à définir les sous-structures suivantes : I, II, III et IV.



Sur son spectre HMBC (**Fig. 19**), les corrélations observées entre le proton H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  7,17) et les atomes de carbone C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  180,3), C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  145,5), C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  140,3), C-4a ( $\delta_{\text{C}}$  141,3) et C-9a ( $\delta_{\text{C}}$  112,4) d'une part, et celles entre le proton H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  7,64) et les atomes de carbone C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  160,9), C-4b (155,4), entre le proton H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  7,05) et les carbones à  $\delta_{\text{C}}$  107,8 (C-8a), 109,8 (C-7), entre le proton H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  6,77) et les carbones C-8a ( $\delta_{\text{C}}$  107,8), C-5 (106,8), C-6 (136,0) d'autre part ont permis de relier les sous-structures I et II. Les corrélations entre le proton H-7' ( $\delta_{\text{H}}$  5,08) et les atomes de carbone C-2'/6' ( $\delta_{\text{C}}$  105,5) et C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  125,5) ont permis de relier les sous-structures III et IV. Ce qui conduit aux sous-structures I' et II'.



Les corrélations entre les protons des méthoxyles et les atomes de carbone C-3'/5' ( $\delta_C$  147,9), entre les protons du méthoxyle ( $\delta_H$  3,88) montre la présence des méthoxyles sur les carbones C-2, C-3' et C-5'. La position 4' portant un groupe hydroxyle, la liaison entre les sous-structures I' et II' se fait par l'intermédiaire des oxygènes en C-7' et C-8' (sous-structure II') sur les positions encore libres C-3 et C-4 (sous-structure I').

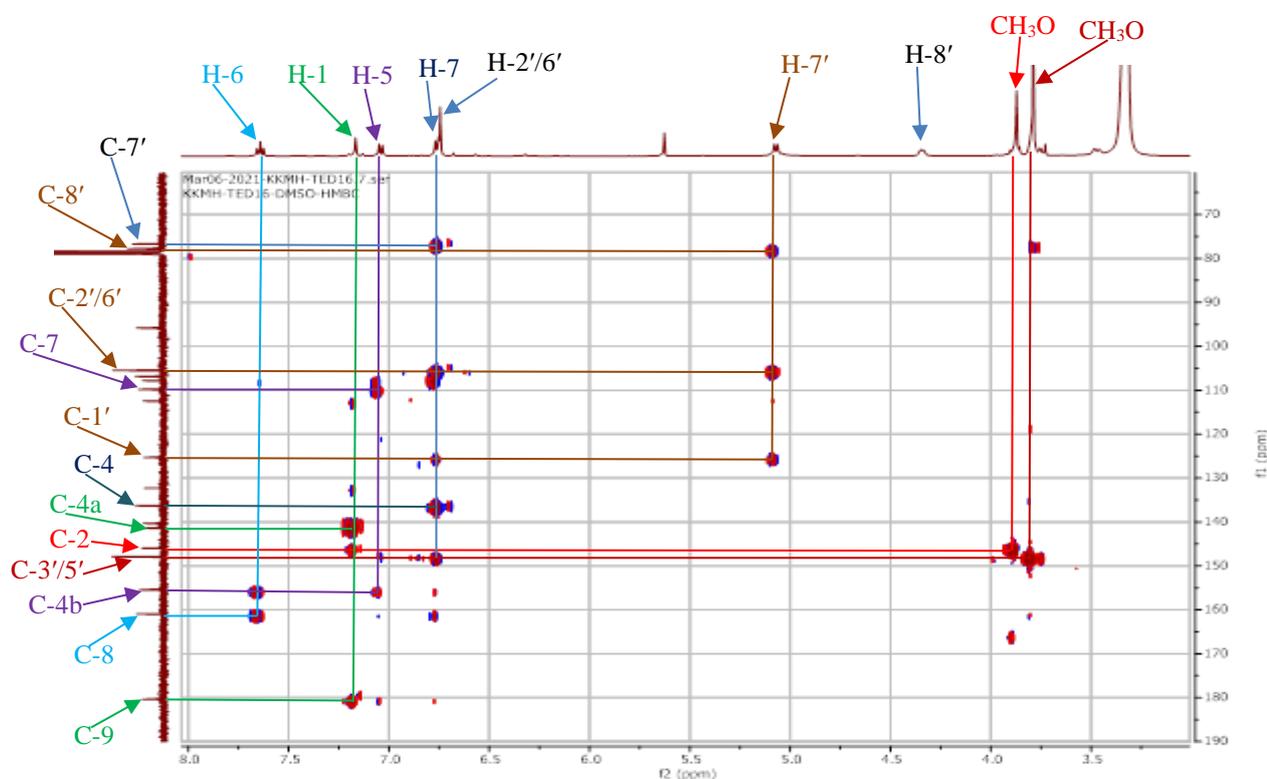
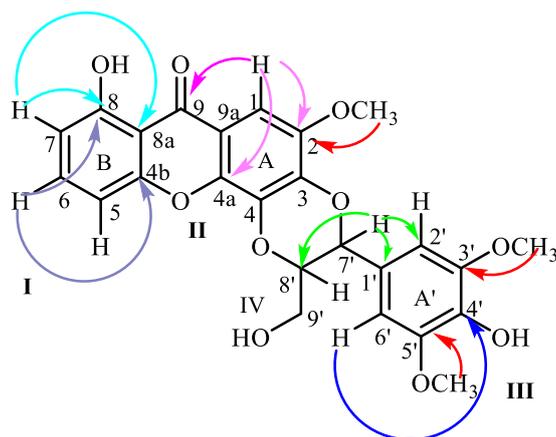


Figure 8 : Spectre HMBC de TED16

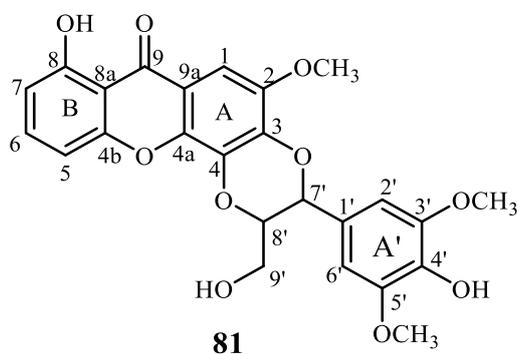


**Schéma 7** : quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de TED16.

**Tableau XIV** : Données spectrales RMN (DMSO-d<sub>6</sub>) : <sup>1</sup>H (500 MHz) et <sup>13</sup>C (125 MHz) du composé TED16

N° C	TED16			
	$\delta_C$	DEPT	$\delta_H$ (nH, m, <i>J</i> en Hz)	HMBC
1	95,8	CH	7,17 (1H, s)	C-9; C-2; C-4a
2	145,5	C	-	-
3	140,3	C	-	-
4	132,3	C	-	-
4a	141,4	C	-	-
4b	155,4	C	-	-
5	106,8	CH	7,05 (1H, d, 8,4)	C-7; C-4b
6	136,0	CH	7,64 (1H, t, 8,4)	C-8; C-4b
7	109,8	CH	6,77 (1H, d, 8,4)	C-8a; C-5; C-6
8	160,9	C	12,79 (1H, s OH)	-
8a	107,8	C	-	-
9	180,3	C	-	-
9a	112,4	C	-	-
1'	125,3	C	-	-
2'	105,5	CH	6,74 (1H, s)	C-7'; C-3'/5', C-4'
3'	147,9	C	-	-
4'	136,3	C	-	-
5'	147,9	C	-	-
6'	105,5	CH	6,74 (1H, s)	C-7'; C-3'/5'
7'	76,7	CH	5,08 (1H, d, 7,8)	C-2'/6'; C-8'; C-1'
8'	77,7	CH	4,35 (1H, dt, 7,8 et 3,3)	-
9'	59,7	CH <sub>2</sub>	3,48 (1H, dd, 12,5 et 4,4) 3,75 (1H, dd, 12,5 et 4,4)	-
3'-OMe	56,0	CH <sub>3</sub>	3,79 (3H, s)	C-3'
5'-OMe	56,0	CH <sub>3</sub>	3,79 (3H, s)	C-5'
2-OMe	55,7	CH <sub>3</sub>	3,88 (3H, s)	C-2

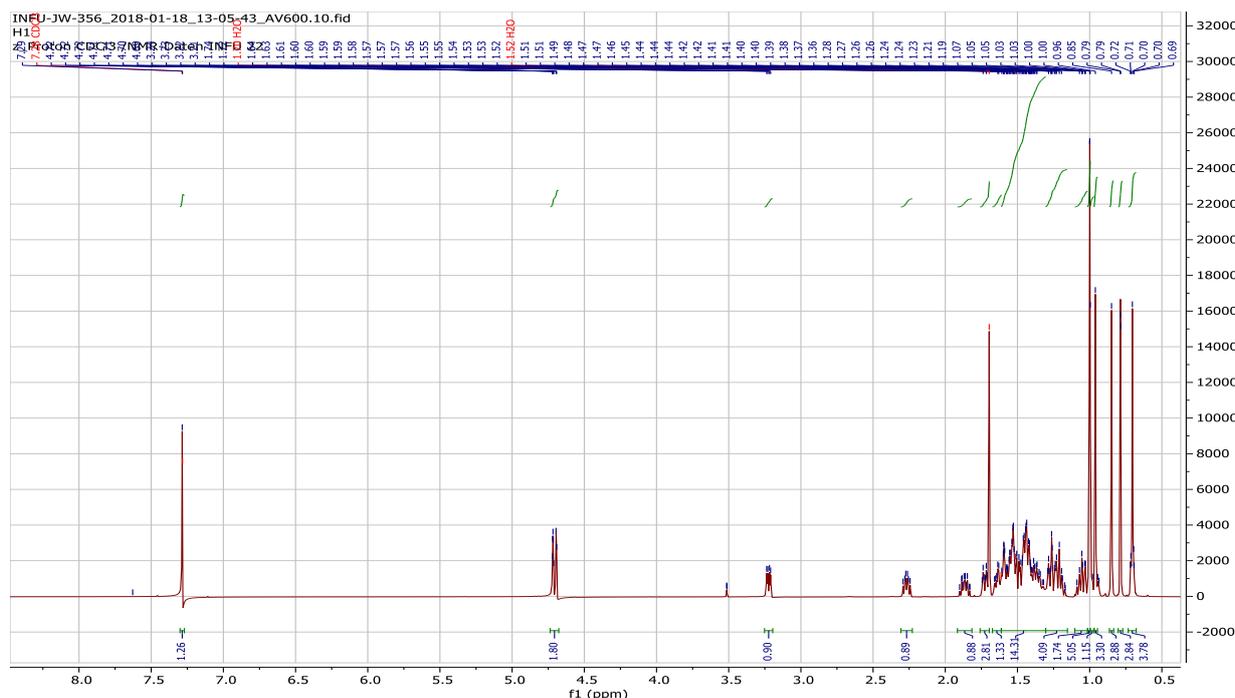
Toutes ces données comparées à celles de la littérature permettent d'attribuer au composé TED16 la structure suivante qui est celle d'une xanthonolignoïde, dérivé nouveau auquel nous avons attribué le nom de Cadensine H ou 8-hydroxycadensine **81**.



### II.5- Identification de TED17

TED17 est obtenu sous forme de poudre grise, il est soluble dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Il répond positivement au test de Libermann-Burchard caractéristique des triterpènes. Sur son spectre de masse on note la présence du pic de l'ion moléculaire à  $m/z = 426,3862 [\text{M}]^+$  correspondant à la formule brute  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$  qui renferme 6 degrés d'insaturations.

En effet, sur son spectre RMN  $^1\text{H}$  (**Fig. 20**) on note la présence d'un signal à  $\delta_{\text{H}}$  1,60 (H-30, s) attribuable à un méthyle vinylique ; celle de deux singulets larges à  $\delta_{\text{H}}$  4,60 (H-29 $\alpha$ ) et 4,48 (H-29 $\beta$ ) attribuables aux protons de l'exométhylène portés par le carbone C-29. Son spectre élargi RMN  $^1\text{H}$  montre la présence de 5 singulets entre  $\delta_{\text{H}}$  0,60 et 1,00 attribuables aux groupements méthyles angulaires.

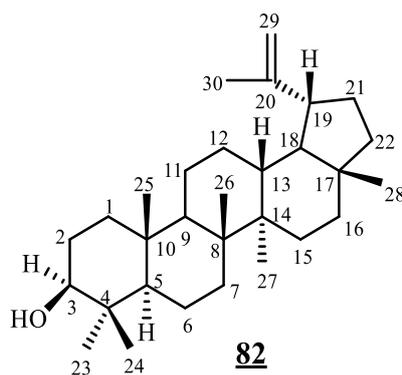


**Figure 20** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de TED17.

**Tableau XV** : Données spectrales RMN (CDCl<sub>3</sub>) : <sup>1</sup>H (500 MHz) et <sup>13</sup>C (125 MHz) de TED17 comparées à celles de la littérature.

N° C	TED17			Lupéol ( <b>Ekouya et al., 2006</b> )
	$\delta_C$	DEPT	$\delta_H$ (nH, m, <i>J</i> en Hz)	$\delta_C$
1	38,8	CH <sub>2</sub>	1,62 (2H, m)	38,9
2	27,4	CH <sub>2</sub>	1,59 (2H, m)	27,5
3	79,1	CH	3,22 (1H, dd, 11,5, 5,0 Hz)	72,2
4	38,7	C	-	39,0
5	55,2	CH	0,68 (1H, t, 9,5 Hz)	55,5
6	18,5	CH <sub>2</sub>	1,49 (2H, m)	18,5
7	34,3	CH <sub>2</sub>	1,40 (2H, m)	34,5
8	40,8	C	-	41,0
9	53,9	CH	1,29 (1H, s)	50,6
10	37,2	C	-	37,3
11	21,0	CH <sub>2</sub>	1,42 (1H, m)	21,1
12	25,1	CH <sub>2</sub>	1,58 (2H, m)	25,3
13	38,0	CH	1,66 (1H, m)	38,2
14	42,8	C	-	43,0
15	27,4	CH <sub>2</sub>	1,65 (2H, m)	27,7
16	35,6	CH <sub>2</sub>	1,37 (2H, m)	35,7
17	42,9	C	-	43,2
18	50,5	CH	1,36 (1H, m)	48,5
19	48,8	CH	2,27 (1H, m)	48,1
20	148,3	C	-	151,1
21	29,8	CH <sub>2</sub>	1,87 (2H, m)	29,9
22	40,0	CH <sub>2</sub>	1,38 (2H, m)	40,2
23	27,9	CH <sub>3</sub>	0,96 (3H, s)	28,2
24	15,2	CH <sub>3</sub>	0,70 (3H, s)	15,5
25	16,5	CH <sub>3</sub>	0,85 (3H, s)	16,3
26	15,5	CH <sub>3</sub>	0,99 (3H, s)	16,1
27	15,0	CH <sub>3</sub>	0,94 (3H, s)	14,7
28	16,7	C	0,79 (3H, s)	18,2
29	109,6	CH <sub>2</sub>	4,60 (1H, s, H-29a) 4,48 (1H, s, H-29b)	109,5
30	19,8	CH <sub>3</sub>	1,69 (3H, s)	19,5

Toutes ces données spectrales comparées à celles décrites dans la littérature (**Mahato et Kundu, 1994**) nous a permis d'identifier TED17 au lupéol **82**, précédemment isolé de *Milletia versicolor* baker (**Ekouya et al., 2006**). Par comparaison aussi avec un échantillon authentique disponible dans notre laboratoire TED17 a effectivement été identifié au lupéol.

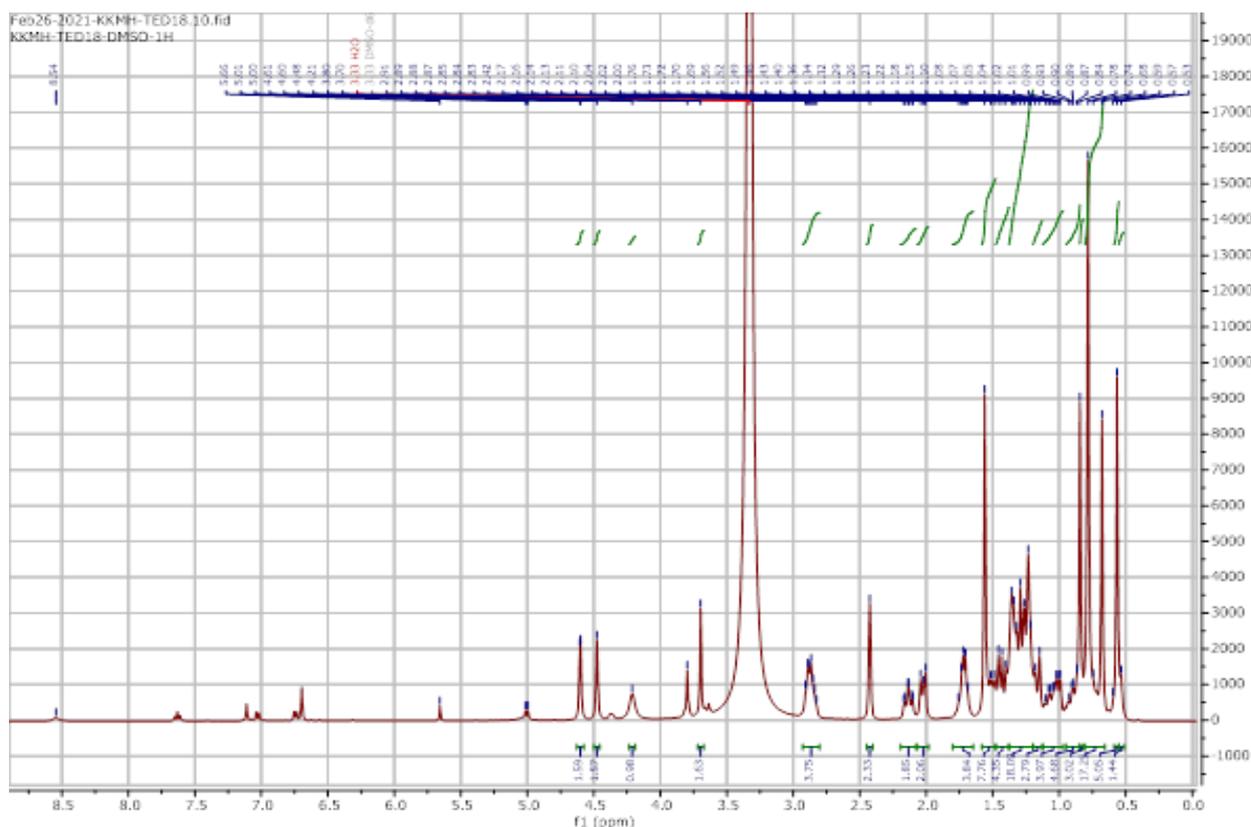


## II.6- Identification de TED18

Soluble dans le DMSO, le composé TED18 précipite dans un mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (50 :1) sous forme de poudre jaune. Il répond positivement au test de Lieberman-Buchard en donnant une coloration rouge violacé caractéristique des triterpènes.

Son spectre de masse ESI haute résolution présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  457,3598 (calculée 457,3603 pour  $\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{O}_3$ ) la formule brute de TED18 est  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$  et elle renferme 7 insaturations.

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  (**Fig. 21**) a montré un motif caractéristique du squelette de type lupane. Les protons de méthylène sur C-16 et C-22 résonnent comme un triplet de triplet à  $\delta_{\text{H}}$  2,04 (2H, tt,  $J = 3,0/12,5$  Hz, H-16) et 1,81 (2H, tt,  $J = 3,0/13,0$  Hz, H-22) respectivement. On a noté également la présence de deux singulets larges d'un proton chacun à  $\delta_{\text{H}}$  3,70 et 8,54 qui sont caractéristiques des signaux d'un hydroxyle et d'un acide carboxylique respectivement. Les protons des méthines en C-19 et C-13 ont également montré deux doublets de doublés de doublés à  $\delta_{\text{H}}$  2,85 (1H, ddd,  $J = 5,0/11,0$  Hz, H-19) et 2,13 (1H, ddd,  $J = 2,5/11,5$  Hz, H-13). Le triplet à  $\delta_{\text{H}}$  3,00 (1H, t,  $J = 5,0$  Hz, H-3) a été attribué au proton en C-3. Il y a un signal de groupe exométhylène à  $\delta_{\text{H}}$  4,60 et 4,48 (1H, chaque dd,  $J = 2,5/2,0$  Hz, H-29) qui, avec un méthyle allylique à  $\delta_{\text{H}}$  1,56 (3H, s, H-30), forme un fragment isopropényle. Les protons de cinq autres groupements méthyles résonnent à  $\delta_{\text{H}}$  0,84, 0,78, 0,67, 0,84 et 0,56.



**Figure 21** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) de TED18.

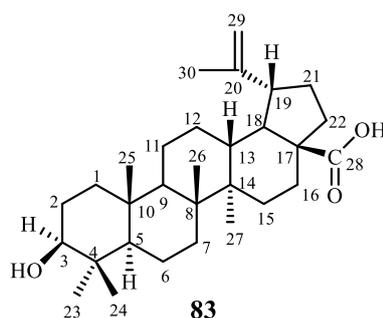
Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  présente les signaux de trente atomes de carbone contenus dans la formule brute. Le spectre HSQC permettant d'attribuer les déplacements chimiques des atomes de carbone protonés, on distingue :

- Six méthyles en C-23 ( $\delta_{\text{C}}$  28,1) C-24 ( $\delta_{\text{C}}$  15,7), C-25 ( $\delta_{\text{C}}$  15,8), C- 26 ( $\delta_{\text{C}}$  16,0), C-27 ( $\delta_{\text{C}}$  14,4) et C-30 ( $\delta_{\text{C}}$  19,0).
- Onze méthylènes en C-29 ( $\delta_{\text{C}}$  109,7), C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  38,3), C-21 ( $\delta_{\text{C}}$  29,2), C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  33,9), C-16 ( $\delta_{\text{C}}$  31,7), C-15 ( $\delta_{\text{C}}$  30,1), C-22 ( $\delta_{\text{C}}$  36,4), C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  27,2), C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  25,1), C-11 ( $\delta_{\text{C}}$  20,5) et C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  18,0).
- Six carbones méthiniques en C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  76,8), C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  54,9), C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  50,0), C-18 ( $\delta_{\text{C}}$  48,6), C-19 ( $\delta_{\text{C}}$  46,6) et C-13 ( $\delta_{\text{C}}$  37,6).
- Six atomes de carbone quaternaire : C-20 ( $\delta_{\text{C}}$  150,3), C-17 ( $\delta_{\text{C}}$  55,4), C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  42,0), C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  40,3), C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  38,5), C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  36,7) et C-28 ( $\delta_{\text{C}}$  177,3 ; C=O).

**Tableau XVI** : Données spectrales RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) : RMN <sup>1</sup>H (500 MHz) et <sup>13</sup>C (125 MHz) de TED18 comparées à celles de la littérature.

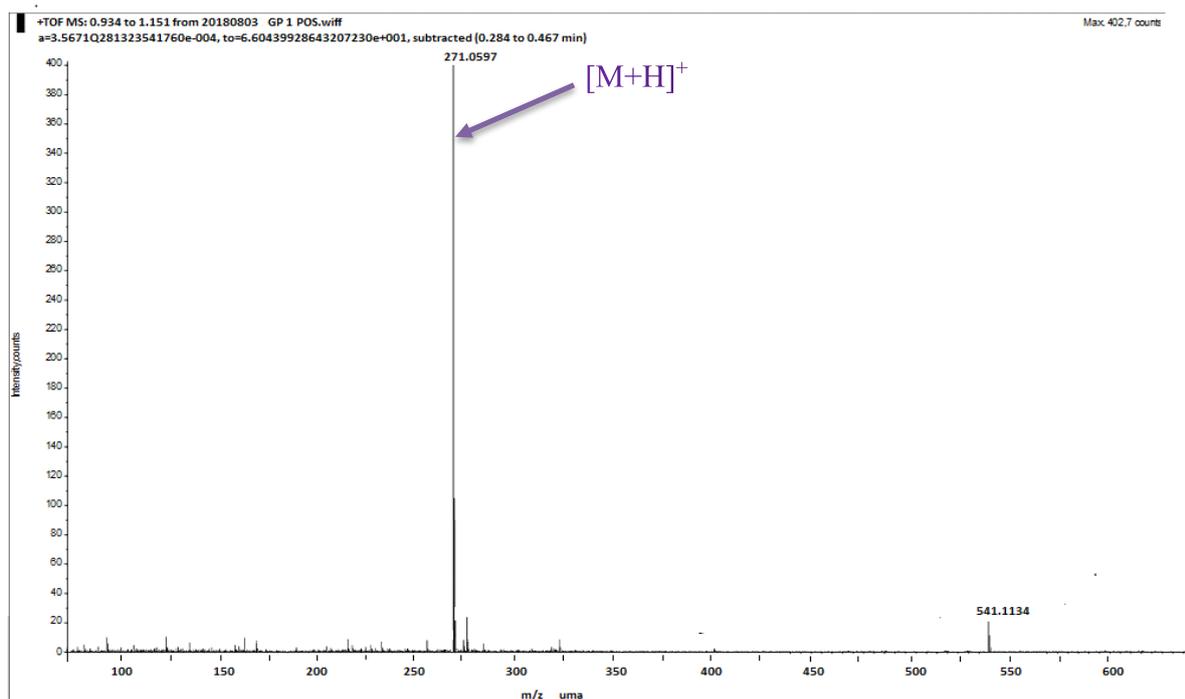
N° C	TED18			(Mahato and Kundu, 1994)
	δ <sub>C</sub>	DEPT	δ <sub>H</sub> (nH, m, <i>J</i> en Hz)	δ <sub>C</sub>
1	38,3	CH <sub>2</sub>	1,55 (2H, m)	38,7
2	27,2	CH <sub>2</sub>	1,45 (2H, m)	27,4
3	76,8	CH	3,00 (1H, m)	78,9
4	38,5	C	-	38,8
5	54,9	CH	0,68 (1H, m)	55,3
6	18,0	CH <sub>2</sub>	1,46 (2H, m)	18,3
7	33,9	CH <sub>2</sub>	1,34 (2H, m)	34,3
8	40,3	C	-	40,7
9	50,0	CH	1,27 (1H, m)	50,5
10	36,7	C	-	37,2
11	20,5	CH <sub>2</sub>	1,37 (2H, m)	20,8
12	25,1	CH <sub>2</sub>	1,63 (2H, m)	25,5
13	37,6	CH	2,13 (1H, td, 3,6 et 12,3)	38,4
14	42,0	C	-	42,4
15	30,1	CH <sub>2</sub>	1,72 (2H, m)	30,5
16	31,7	CH <sub>2</sub>	2,04 (2H, tt, 3,0 et 12,5)	32,1
17	55,4	C	-	56,3
18	46,6	CH	2,85 (1H, m)	46,8
19	48,6	CH	1,45 (1H, m)	49,2
20	150,3	C	-	150,3
21	29,2	CH <sub>2</sub>	1,10 (2H, m)	29,7
22	36,4	CH <sub>2</sub>	1,81 (2H, tt, 3,0 et 13,0)	37,0
23	28,1	CH <sub>3</sub>	0,84 (3H, s)	27,9
24	15,7	CH <sub>3</sub>	0,78 (3H, s)	15,3
25	15,8	CH <sub>3</sub>	0,67 (3H, s)	16,0
26	16,0	CH <sub>3</sub>	0,56 (3H, s)	16,1
27	14,4	CH <sub>3</sub>	0,84 (3H, s)	14,7
28	177,3	C	-	180,5
29	109,7	CH <sub>2</sub>	4,60 (1H, m) 4,48 (1H, m)	109,6
30	19,0	CH <sub>3</sub>	1,56 (3H, s)	19,4

La comparaison des données spectroscopiques de TED18 avec celles de l'acide bétulinique rapportées dans la littérature (Chiedoie *et al.*, 2020) a montré une similitude. La structure de TED18 a été identifiée à celle de l'acide 3β-hydroxy-20 (29) -lupén-28-oïque **83**.



### II.7- Identification de GTE-3

GTE-3 a été obtenu sous forme de poudre jaune pâle dans le système  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (15/1). Il répond positivement aux tests au chlorure ferrique et de Shinoda, suggérant qu'il s'agit d'un flavonoïde. Sa formule brute  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$  a été déduite de son spectre de masse ESI (Fig. 22) en mode positif qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[\text{M} + \text{H}]^+$  à  $m/z$  271,0597 (calculée 271,0606 pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_5$ ) renfermant 11 degrés d'insaturations.

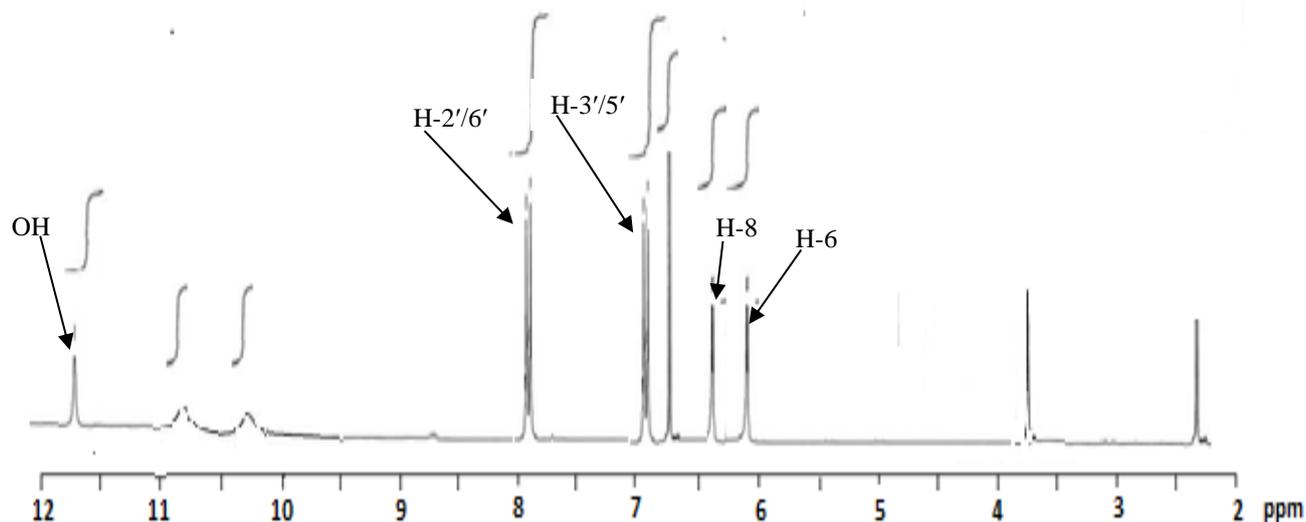


**Figure 22** : Spectre de masse de GTE-3.

L'analyse du spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 23) permet d'identifier les signaux définissant les systèmes de protons suivants impliqués dans la structure de ce flavonoïde.

- Un singulet intégrant pour un proton à  $\delta_{\text{H}}$  6,78 (1H, s, H-3). Ce signal est caractéristique des protons en position H-3 du noyau C des flavones. Ce qui suggère qu'il s'agit d'une flavone.
- Deux doublets intégrant pour deux protons chacun à  $\delta_{\text{H}}$  6,90 (2H, d,  $J=8,9$  Hz, H-3' et H-5') et  $\delta_{\text{H}}$  7,96 (2H, d,  $J=8,9$  Hz, H-2' et H-6') (noyau B).
- Deux doublets attribuables à deux protons en *mé*ta sur un noyau aromatique tétra substitué (noyau A) :  $\delta_{\text{H}}$  6,17 (1H, d,  $J=2,0$  Hz, H-6) et  $\delta_{\text{H}}$  6,42 (1H, d,  $J=2,0$  Hz, H-8).
- Le singulet d'un proton phénolique très déblindé à  $\delta_{\text{H}}$  11,78 (1H, s, OH-5), caractéristique du proton de la fonction phénol en position 5 du noyau A chélaté au carbonyle en *péri* situé sur le cycle C.

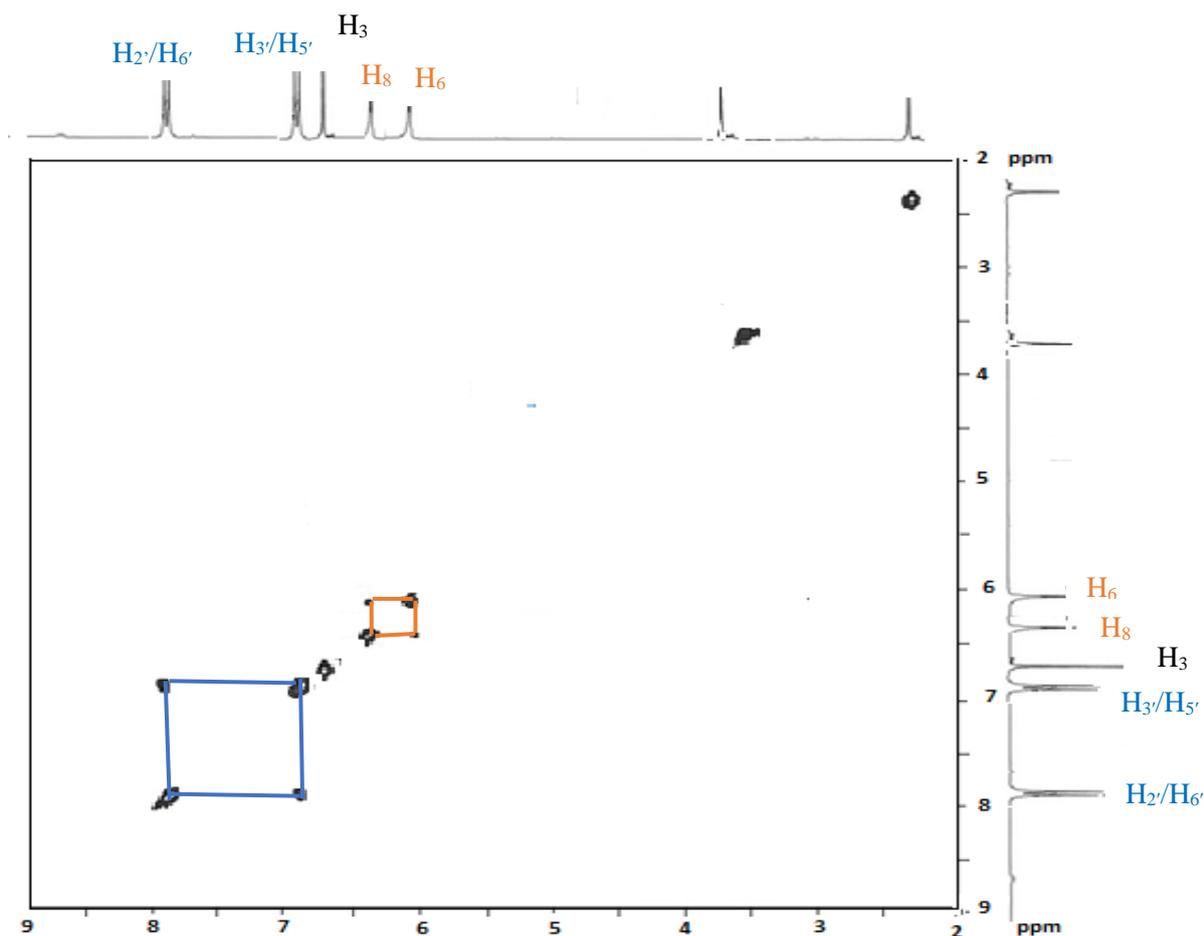
- Deux singulets d'un proton chacun à  $\delta_H$  10,76 (1H, s, OH-7) et à  $\delta_H$  10,34 (1H, s, OH-4') correspondant respectivement aux protons phénoliques en 7 (noyau A) et en 4' (noyau B).



**Figure 23** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  de GTE-3 (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).

Les corrélations homonucléaires observées sur son spectre COSY (**Fig. 24**) montrent des corrélations entre :

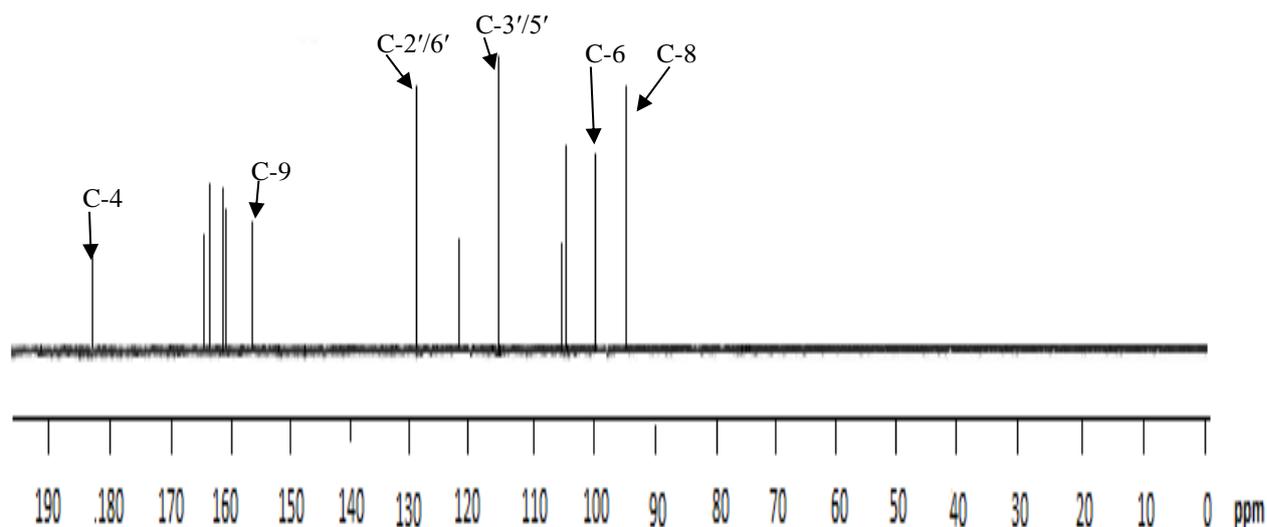
- Les protons H-3'/H-5' ( $\delta_H$  6,90) et les protons H-2'/H-6' ( $\delta_H$  7,96) (noyau B).
- Le proton H-6 ( $\delta_H$  6,17) et le proton ( $\delta_H$  6,42) (noyau A).



**Figure 24** : Spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  de GTE-3.

L'analyse du spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  de GTE-3 (**Fig. 25**) montre 13 signaux. Or la formule moléculaire du composé compte 15 atomes de carbone. Ce qui permet de confirmer qu'il y a isochronisme deux à deux de quatre atomes de carbone d'où la présence d'un élément de symétrie dans la structure de notre composé. Il est également à noter que tous ces atomes de carbone sont hybridés  $sp^2$  et que deux d'entre eux ont des signaux dont les intensités sont relativement supérieures aux autres. Il s'agit des signaux à  $\delta_{\text{C}}$  128,9 et 116,5 correspondant respectivement aux atomes de carbone C-2'/6' et C-3'/5' du noyau B, para-disubstitué.

Ce spectre montre également le signal d'un carbonyle à  $\delta_{\text{C}}$  182,2 (C-4) ; ceux des carbones du noyau aromatique à  $\delta_{\text{C}}$  128,9 (C-2'/C-6') ; 116,5 (C-3'/C-5') ; 103,3 (C-3) ; 99,9 (C-6) et 94,6 (C-8) puis ceux de sept atomes de carbone quaternaire dont cinq portent chacun un atome d'oxygène à  $\delta_{\text{C}}$  164,2 (C-2) ; 163,3 (C-7) ; 161,9 (C-5) ; 161,8 (C-4') et 157,8 (C-9).

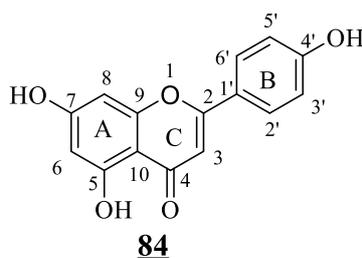


**Figure 25** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  de GTE-3 (100 MHz, DMSO- $d_6$ ).

**Tableau XVII** : Données spectrales RMN (DMSO- $d_6$ ) :  $^1\text{H}$  (400 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de GTE-3 comparées à celles de l'apigénine.

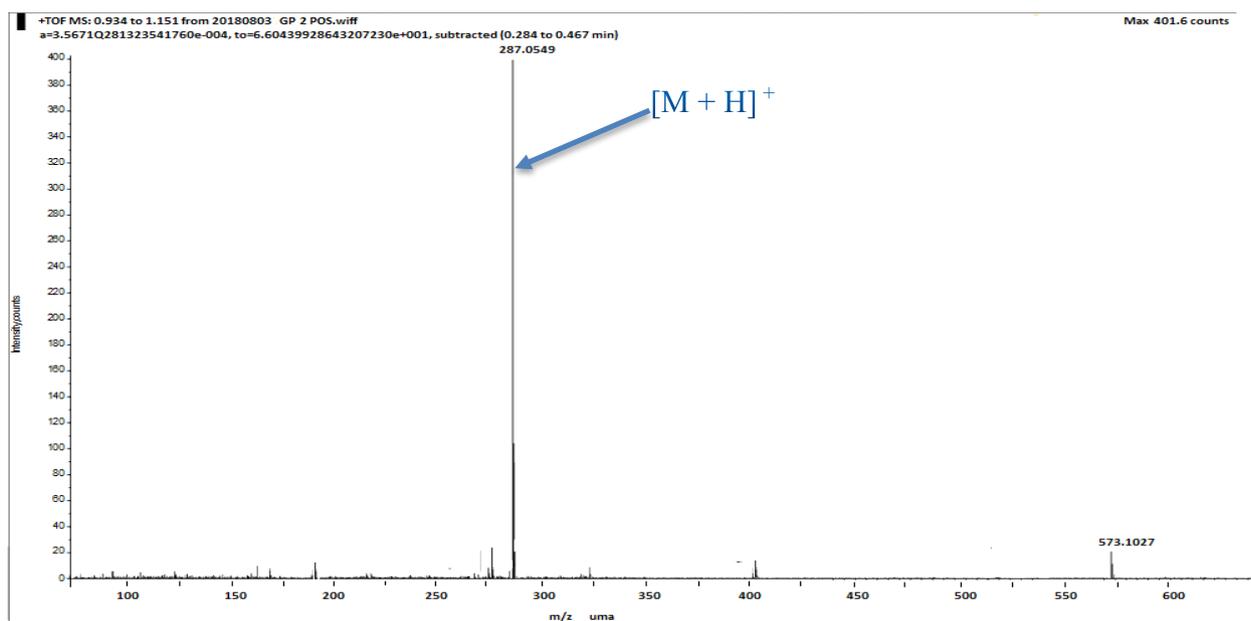
N° C	GTE-3			Apigénine (acétone- $d_6$ ) (Chaturvedula et al., 2013)	
	$\delta_{\text{C}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ en Hz)
2	164,2	C	-	163,9	-
3	103,3	CH	6,78 (1H, s)	103,1	6,77 (1H, s)
4	182,2	C	-	181,9	-
5	161,9	C	11,78 (1H, s, OH)	161,7	12,99 (1H, s, OH)
6	99,9	CH	6,17 (1H, d, 2,0)	99,1	6,22 (1H, d, 2,1)
7	163,3	C	-	164,3	-
8	94,6	CH	6,42 (1H, d, 2,0)	94,2	6,50 (1H, d, 2,1)
9	157,8	C	-	157,5	-
10	105,8	C	-	103,9	-
1'	121,6	C	-	121,4	-
2'	128,9	CH	7,96 (1H, d, 8,9)	128,6	7,92 (1H, d, 8,8)
3'	116,5	CH	6,90 (1H, d, 8,9)	116,2	6,95 (1H, d, 8,8)
4'	161,8	C	-	161,4	-
5'	116,5	CH	6,90 (1H, d, 8,9)	116,2	6,95 (1H, d, 8,8)
6'	128,9	CH	7,96 (1H, d, 8,9)	128,6	7,92 (1H, d, 8,8)

La comparaison de toutes ces données avec celles décrites dans la littérature nous permet d'identifier la structure de GTE-3 à celle de l'apigénine ou 5,7,4'-trihydroxy-2-phenylchromen-4-one **84** précédemment isolé d'une autre source (Chaturvedula et al., 2013).



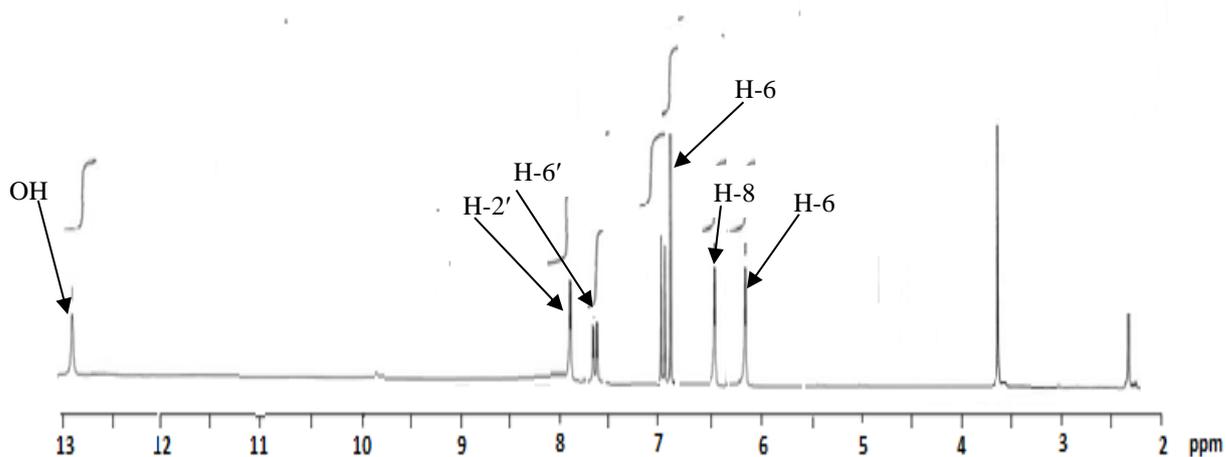
### II.8- Identification de GTE-4

GTE-4 a été obtenu sous forme d'une poudre amorphe jaune-orangé dans le système  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (15/1). Il répond positivement aux tests de Shinoda et au chlorure ferrique. Son spectre de masse ESI (**Fig. 26**) en mode positif présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[\text{M} + \text{H}]^+$  à  $m/z$  287,0549 (calculée 287,0556 pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_6$ ). Ce qui implique la formule brute  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$  correspondant à la masse moléculaire 286 et renfermant 11 degrés d'insaturations. Cette formule moléculaire ne diffère de celle de GTE-3 que par la présence d'un atome d'oxygène supplémentaire. La comparaison de cette formule brute avec celle de GTE-3 suggère qu'il s'agit également d'une flavone.



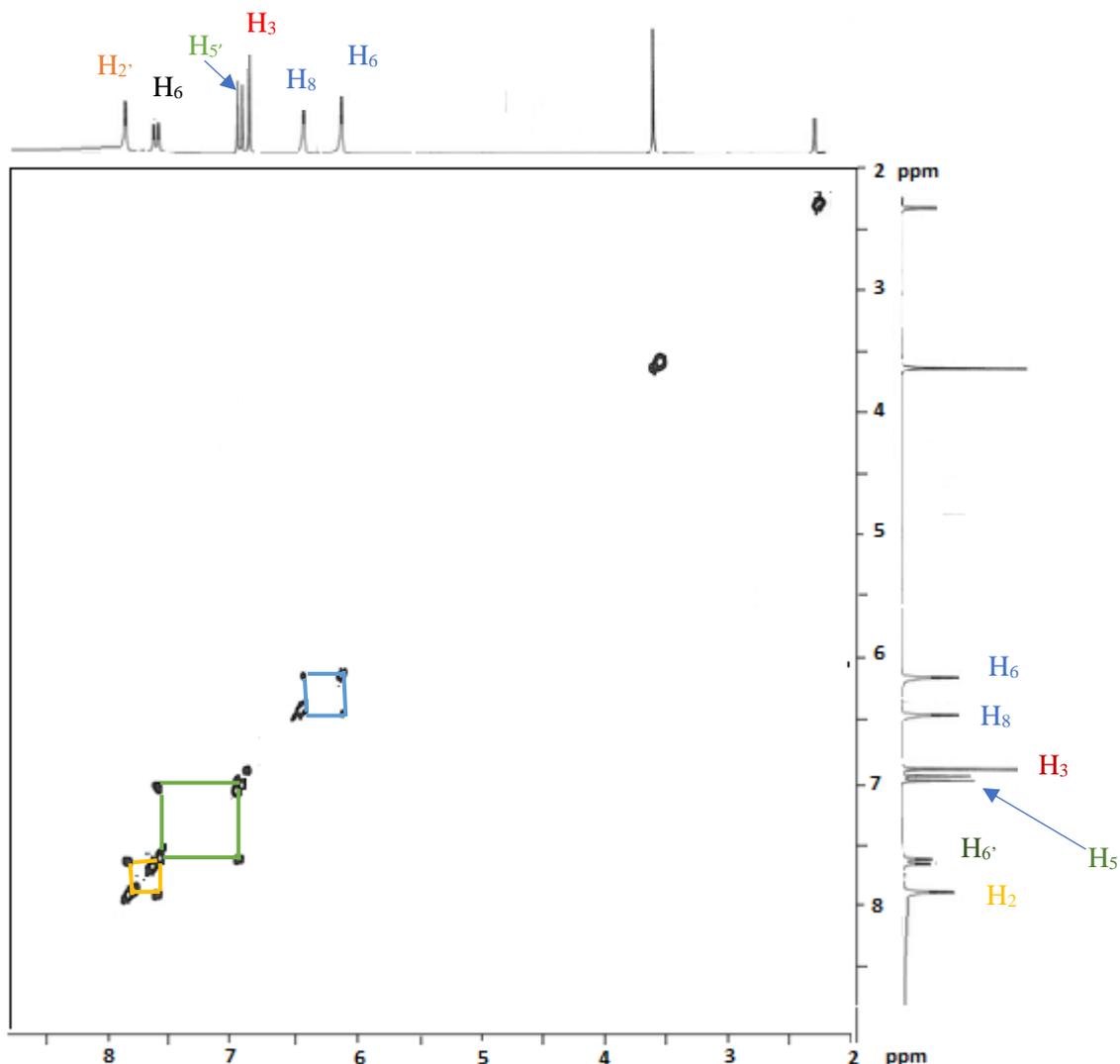
**Figure 26** : Spectre de masse de GTE-4.

L'analyse de son spectre RMN  $^1\text{H}$  (**Fig. 27**) comparé à celui de GTE-3 montre que le second noyau aromatique est *mé*ta et *para*-trisubstitué (noyau B) et les signaux des protons résiduels apparaissent à  $\delta_{\text{H}}$  7,78 (1H, d,  $J=2,3$  Hz, H-2'), 6,88 (1H, d,  $J=8,4$  Hz, H-5') et à  $\delta_{\text{H}}$  7,63 (1H, dd,  $J=2,3$  et 8,4 Hz, H-6').



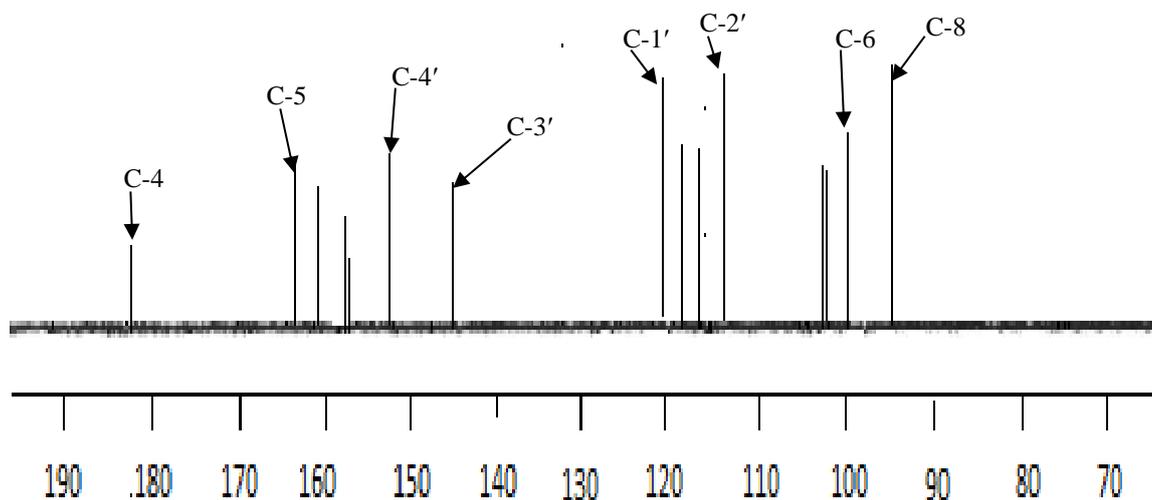
**Figure 27** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de GTE-4.

La présence de ces familles de protons est confirmée par les corrélations observées dans le spectre COSY  $^1\text{H-}^1\text{H}$  (**Fig. 28**) où on remarque : les corrélations entre les protons sur un noyau aromatique *mé*ta et *para*-trisubstitué H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  7,78), H-5' ( $\delta_{\text{H}}$  6,88), H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  7,63) (noyau B), les corrélations entre les protons en *mé*ta sur un noyau aromatique tétra substitué H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  6,26) et H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  6,44) (noyau A).



**Figure 28** : Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de GTE-4.

Les signaux observés sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  de GTE-4, (**Fig. 29**) montrent que tous les 15 atomes de carbone de la molécule sont hybridés  $sp^2$  comme ceux de GTE-3. On distingue le signal de l'atome de carbone du carbonyle conjugué et chélaté à  $\delta_{\text{C}}$  182,4 (C-4) et les signaux de six atomes de carbone d'un noyau aromatique (noyau A) à  $\delta_{\text{C}}$  161,1 (C-5) ; 99,8 (C-6) ; 163,2 (C-7) ; 94,4 (C-8) ; 157,2 (C-9) et 103,2 (C-10). On observe également les signaux de six atomes de carbone d'un autre noyau aromatique (noyau B) à  $\delta_{\text{C}}$  120,1 (C-1') ; 113,1 (C-2') ; 145,9 (C-3') ; 152,2 (C-4') ; 116,4 (C-5') et 118,6 (C-6'). Les signaux de deux atomes de carbone oléfiniques dont l'un porte un atome d'oxygène sont repérés à  $\delta_{\text{C}}$  157,9 (C-2) et 102,6 (C-3).

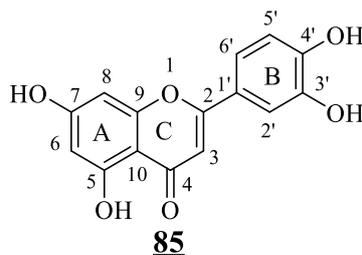


**Figure 29** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) de GTE-4.

**Tableau XVIII** : Données spectrales RMN (DMSO- $d_6$ ) :  $^1\text{H}$  (400 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de GTE-4 comparées à celles de la Lutéoline.

N° C	GTE-4			Lutéoline ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) (Chaturvedula et al., 2013)	
	$\delta_{\text{C}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ en Hz)
2	157,9	C	-	164,0	-
3	102,6	CH	6,78 (1H, s)	102,9	6,75 (1H, s)
4	182,4	C	-	181,8	-
5	161,1	C	12,90 (1H, s, OH)	157,6	12,97 (1H, s ; OH)
6	99,8	CH	6,26 (1H, d, 2,1)	99,2	6,28 (1H, d, 2,0)
7	163,2	C	-	164,3	-
8	94,4	CH	6,44 (1H, d, 2,1)	94,7	6,46 (1H, d, 2,0)
9	157,2	C	-	162,1	-
10	103,2	C	-	103,8	-
1'	120,1	C	-	119,0	-
2'	113,1	CH	7,78 (1H, d, 2,3)	113,2	7,36 (1H, d, 2,0)
3'	145,9	C	-	146,0	-
4'	152,2	C	-	149,7	-
5'	116,4	CH	6,88 (1H, d, 8,4)	116,8	6,85 (1H, d, 9,0)
6'	118,6	CH	7,63 (1H, dd, 2,3 et 8,4)	120,8	7,56 (1H, dd, 2,0 et 9,0)

L'ensemble des données de GTE-4 présentées plus haut comparées à celles décrites dans la littérature permet d'identifier la structure de GTE-4 à celle de la lutéoline ou le 5,7, 3',4'-tetrahydroxy-2-phenylchromen-4-one **85** précédemment isolé d'une autre source (Chaturvedula et al., 2013).



### II.9- Identification de GTE-5

Le composé GTE-5 a été obtenu sous forme d'une poudre amorphe beige dans le système  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (8/1). Il répond positivement aux tests des phénols et des flavonoïdes. Sa formule brute  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$  renfermant 11 degrés d'insaturations a été déduite de son spectre de masse ESI en mode positif qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[\text{M} + \text{H}]^+$  à  $m/z$  271,0611 (calculée 271,0606 pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_5$ ). Ce nombre d'insaturations suggère une structure fortement aromatique.

L'analyse du spectre de RMN  $^1\text{H}$  (**Fig. 30**), permet d'identifier les signaux définissant les systèmes de protons, impliqués dans la structure de cette molécule. Ce spectre, confirme la présence d'un squelette de type isoflavone, car le signal caractéristique du proton H-2 des isoflavones a été repéré comme un singulet fin à  $\delta_{\text{H}}$  8,04 (1H, s, H-2, noyau C) (**Dos Santo et De Carvalho, 1995**). On observe de plus sur ce spectre, entre autres la présence :

- des signaux de deux protons en *mé*ta sur un noyau benzénique tétra-substitué comportant trois substituants oxygénés (noyau A), à :  $\delta_{\text{H}}$  6,21 (1H, d,  $J=2,1$  Hz, H-6) et 6,33 (1H, d,  $J=2,1$  Hz, H-8).
- des signaux de quatre protons formant un système AA'BB' sur un noyau benzénique para substitué par un atome d'oxygène (noyau B) à  $\delta_{\text{H}}$  6,83 (2H, d,  $J=9,3$  Hz, H-3'/H-5') et 7,35 (2H, d,  $J=8,9$  Hz, H-2'/H-6').
- Un signal très déblindé à  $\delta_{\text{H}}$  12,49 (1H, s, OH), caractéristique d'un proton phénolique chelaté à un carbonyle en *péri*.

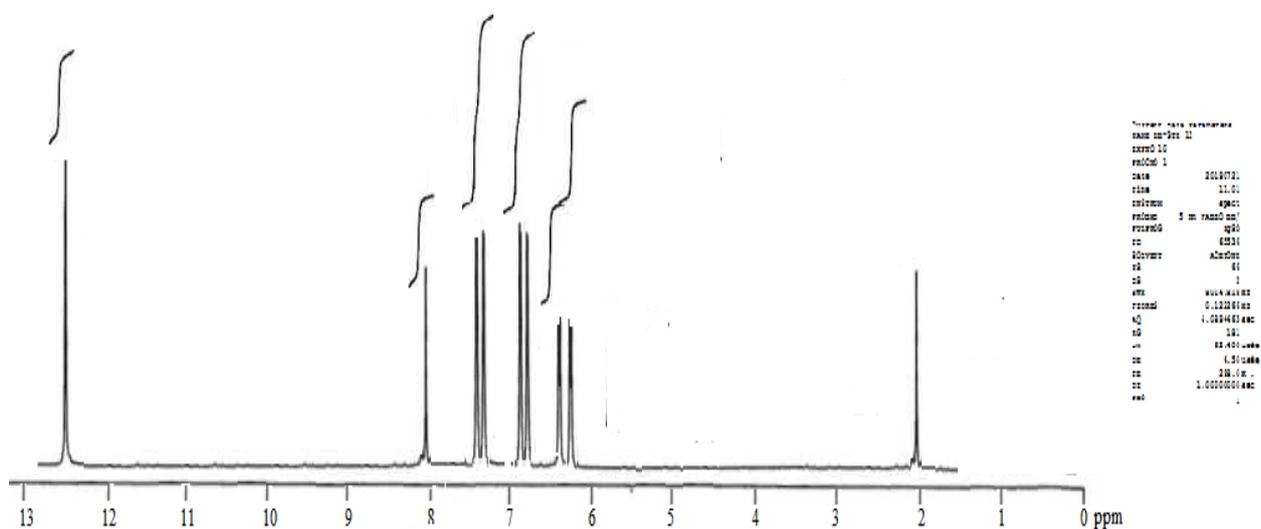


Figure 30 : Spectre RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) de GTE-5.

Les corrélations homonucléaires observées sur son spectre COSY (Fig. 31) se font entre :

- Les protons H-3'/H-5' ( $\delta_H$  6,86) et les protons H-2'/H-6' ( $\delta_H$  7,35) (noyau B).
- Le proton H-6 ( $\delta_H$  6,17) et le proton H-8 ( $\delta_H$  6,42) (noyau A).

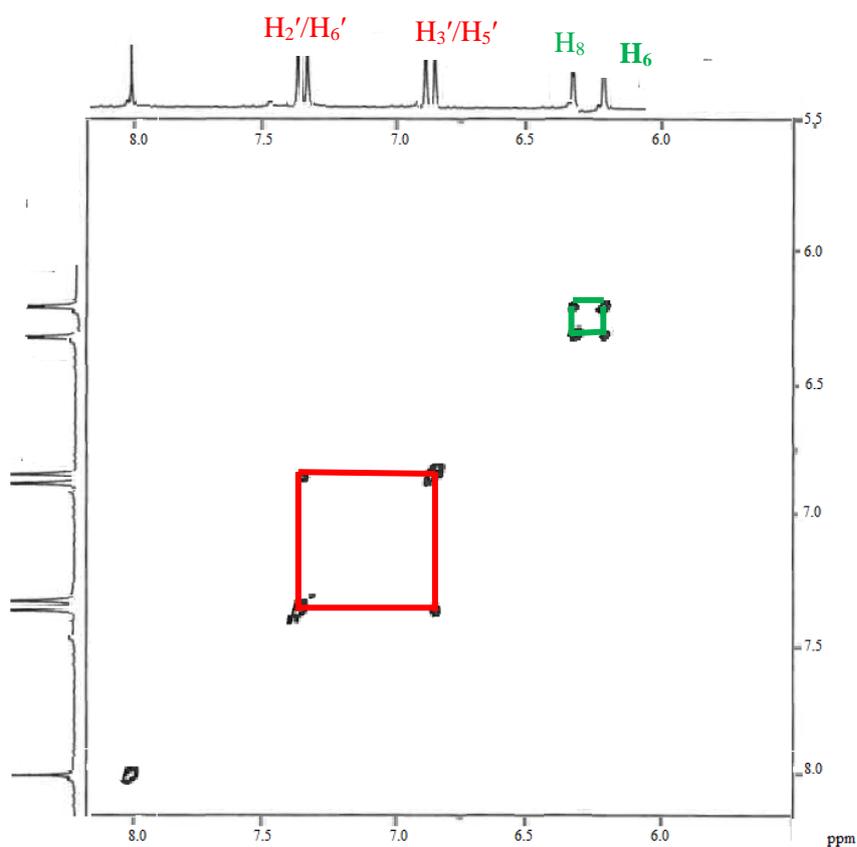
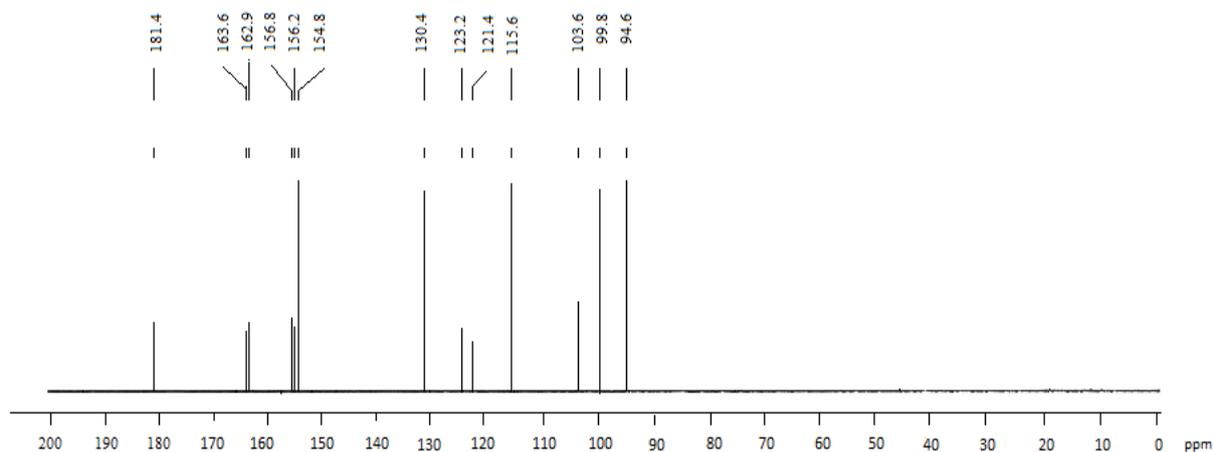


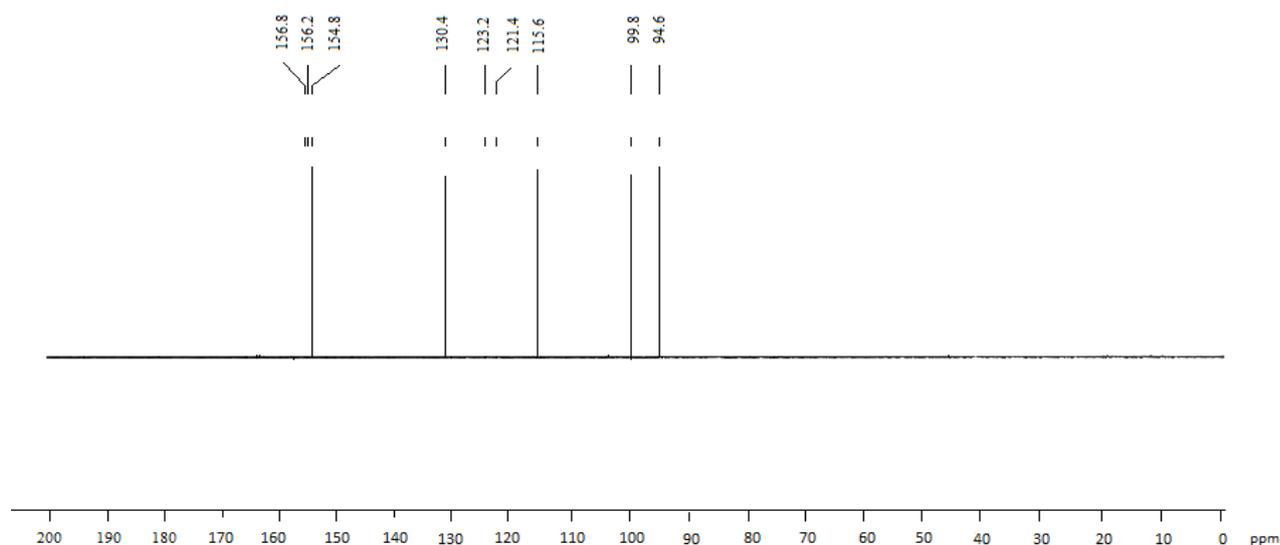
Figure 31 : Spectre COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H de GTE-5

L'analyse du spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  totalement découplé de GTE-5 (**Fig. 32**), montre que tous les atomes de carbone impliqués dans la structure de cette molécule sont hybridés  $sp^2$ . On note la présence des signaux de sept méthines à  $\delta_{\text{C}}$  154,8 ; 130,4 (2x) ; 115,6 (2x) ; 99,8 et 94,6, ceux de huit atomes de carbone quaternaire dont quatre sont liés chacun à un atome d'oxygène à  $\delta_{\text{C}}$  163,6 ; 162,9 ; 156,8 ; 156,2 et celui d'un carbonyle à  $\delta_{\text{C}}$  181,4.



**Figure 32** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) de GTE-5.

L'examen du spectre DEPT 135 (**Fig. 33**) révèle que le signal à  $\delta_{\text{C}}$  154,8 est celui de l'atome de carbone C-2, un méthine qui porte un atome d'oxygène, tandis que celui à  $\delta_{\text{C}}$  181,2 correspond au carbonyle. Ces valeurs confirment la nature isoflavone de GTE-5. (**Tableau XIX**).

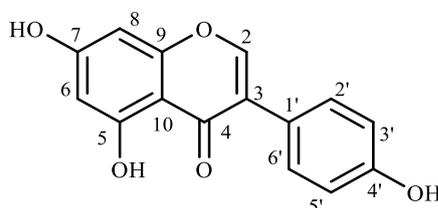


**Figure 33** : Spectre DEPT 135 de GTE-5

**Tableau XIX** : Données spectrales RMN (DMSO- $d_6$ ) :  $^1\text{H}$  (400 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de GTE-5 comparées à celles de la génisteine.

N° C	GTE-5			Genisteine ( <b>Madan et al., 2009</b> )	
	$\delta_C$	DEPT	$\delta_H$ (nH, m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (nH, m, J en Hz)
2	154,8	CH	8,04 (1H, s)	153,9	8,32 (1H, s)
3	123,2	C		122,2	
4	181,4	C		180,1	
5	162,9	C	12,49 (1H, s, 5-OH)	161,9	13,06 (1H, s, 5-OH)
6	99,8	CH	6,21 (1H, d, 2,1)	98,9	6,22 (1H, d, 2,0)
7	163,6	C		164,2	
8	94,6	CH	6,33 (1H, d, 2,1)	93,6	6,38 (1H, d, 2,0)
9	156,8	C		158,1	
10	103,6	C		104,4	
1'	121,4	C		121,1	
2'/6'	130,4	CH	7,35 (2H, d, 8,9)	130,1	7,37 (2H, d, 8,6)
3'/5'	115,6	CH	6,86 (2H, d, 9,3)	115,1	6,87 (2H, d, 8,6)
4'	156,2	C		157,4	

Les données obtenues pour GTE-5 sont très proches de celle décrites pour la génisteine. La confirmation qu'il s'agit de la génisteine ou le 5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl) chromen-4-one est apportée par la comparaison des données de tous les spectres de GTE-5 avec les valeurs citées pour le même produit obtenu d'une source différente (**Madan et al., 2009**).



## 86

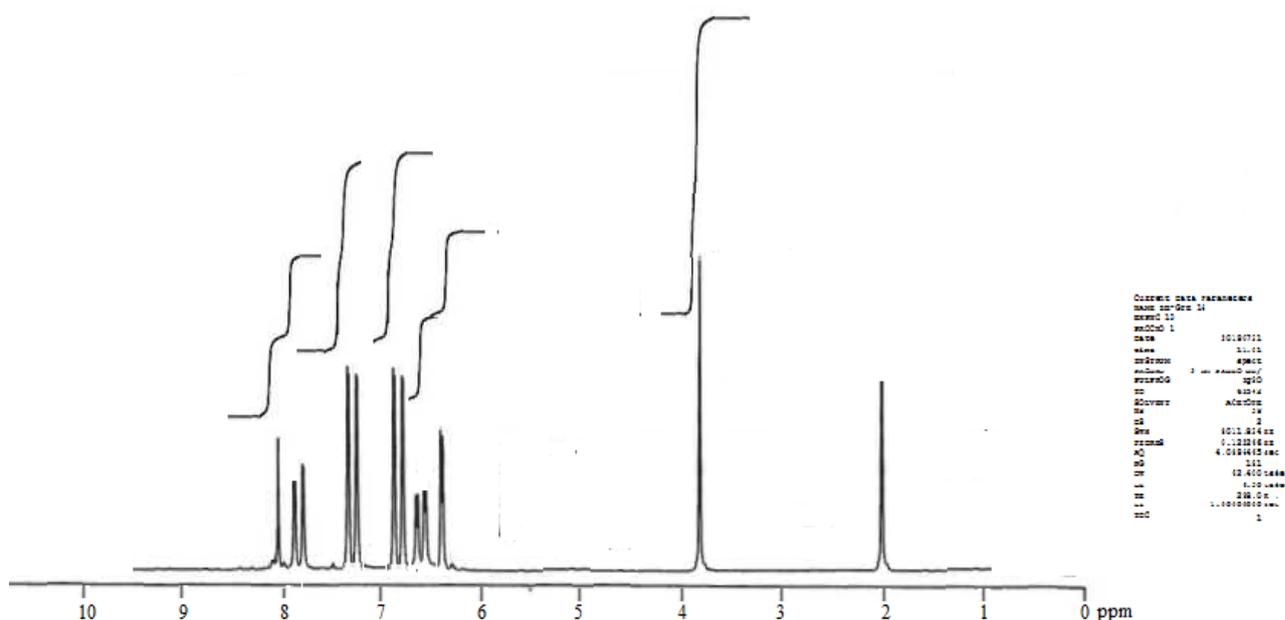
### II.10- Identification de GTE-6

Le composé GTE-6 a été obtenu sous forme de poudre amorphe beige. Il répond positivement aux tests de phénol et des flavonoïdes. Sa formule brute  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$  a été déduite de son spectre de masse ESI à haute résolution, qui montre le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  : 269,0818, (calculée 269,0814 pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_4$ ). Ceci implique une masse moléculaire de 268 pour le composé GTE-6 qui renferme 11 insaturations. Ce haut degré d'insaturation suggère que GTE-6 a une structure aromatique.

L'analyse du spectre de RMN  $^1\text{H}$  (**Fig. 34**), permet d'identifier les signaux définissant les systèmes de protons suivants impliqués dans la structure de cette molécule :

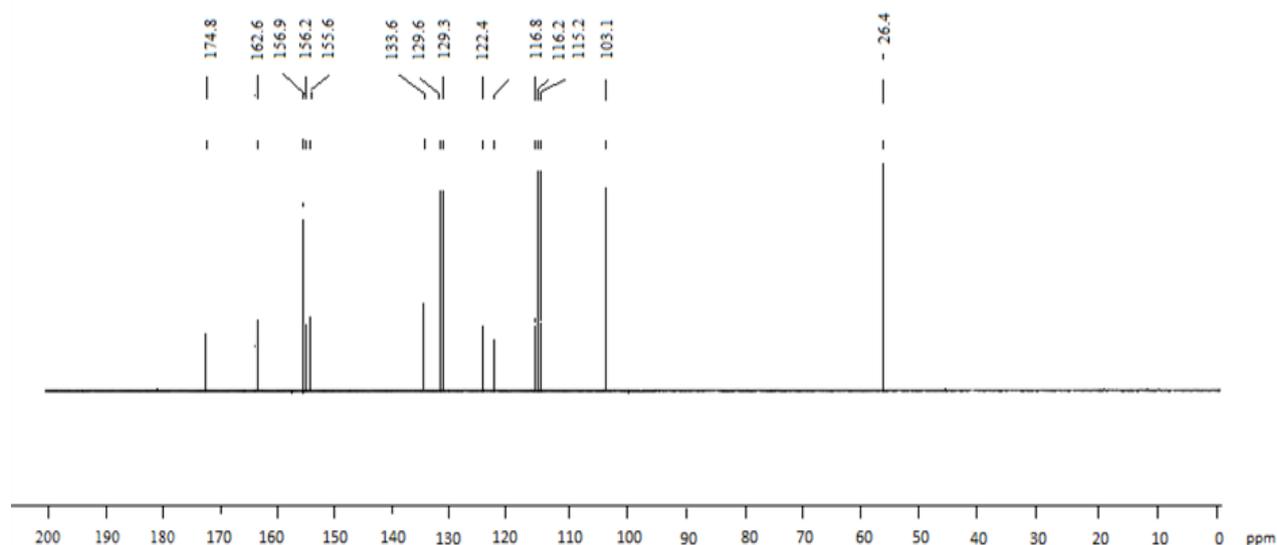
- Un signal d'un proton isolé et très déblindé à  $\delta_H$  8,03 (1H, s), caractéristique du proton H-2 sur le squelette isoflavone (**Dos Santo et De Carvalho, 1995**).

- Les signaux d'un système de trois protons sur le noyau benzénique tri-substitué (noyau A) à  $\delta_H$  6,64 (1H, dd,  $J=2,1$  et  $9,0$  Hz, H-6), 6,46 (1H, d,  $J=2,1$  Hz, H-8) et 7,86 (1H, d,  $J=9,0$  Hz, H-5).
- Les signaux de quatre protons d'un noyau para di-substitué (noyau B) à  $\delta_H$  7,28 (2H, d,  $J=9,0$  Hz, H-2'/H-6') et 6,81 (2H, d,  $J=9,0$  Hz, H-3'/H-5').
- Un signal en singulet fin de trois protons à  $\delta_H$  3,84 qui est celui d'un groupement méthoxyle ( $\text{CH}_3\text{O}$ ).

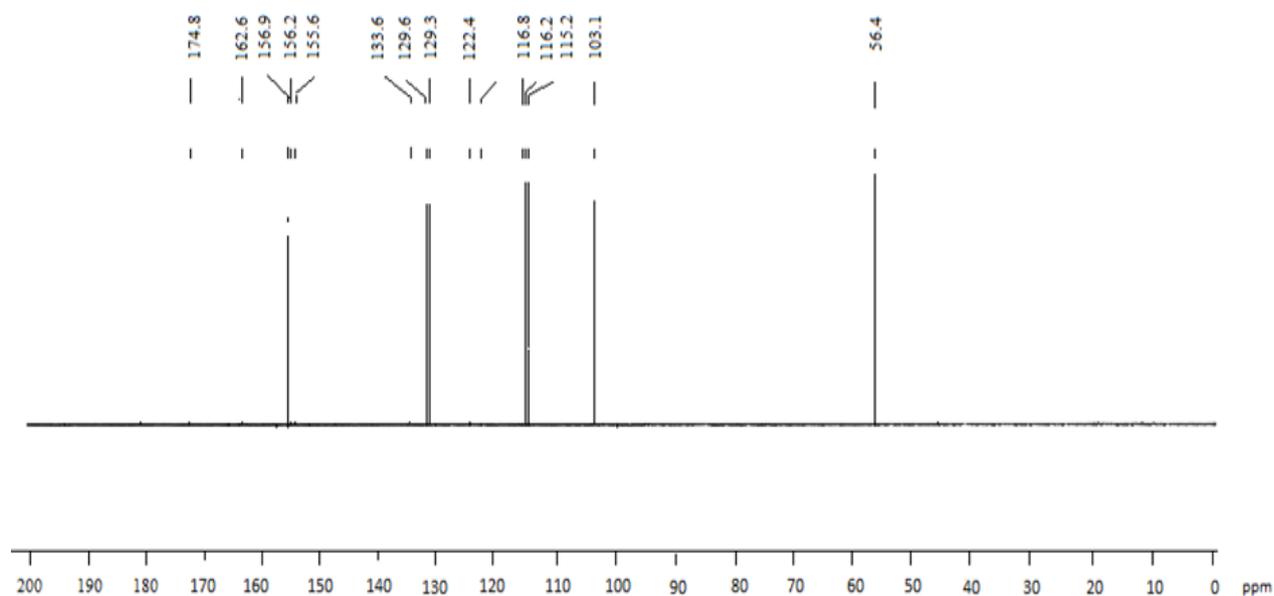


**Figure 34** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de GTE-6.

L'analyse du spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  totalement découplé (**Fig. 35**), fait observer que tous les atomes de carbone impliqués dans la structure de cette molécule sont hybridés  $sp^2$ . On distingue ainsi, les signaux de huit méthines à  $\delta_C$  156,9 ; 129,3 ; 116,8 ; 115,2 (2x) ; 126,6 (2x) et 130,1. Les signaux de sept atomes de carbone quaternaire dont trois sont liés à un atome d'oxygène à  $\delta_C$  162,6 ; 156,2 ; 155,6 et un carbonyle à  $\delta_C$  174,8. Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (**Fig. 35**) et le DEPT 135 (**Fig. 36**), permettent de confirmer que GTE-6 possède un motif isoflavone dans sa structure, car les signaux des atomes de carbone C-2 et C-4 apparaissent respectivement à  $\delta_C$  155,6 et 174,8. Ces valeurs sont caractéristiques de la partie pyrone dans le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  des isoflavones (**Agrawal, 1990**). De plus, les signaux des atomes de carbone C-7 et C-4' sont observés respectivement à  $\delta_C$  162,6 et 156,9. Les atomes de carbone du noyau para di-substitué (noyau B), donnent des signaux intenses à  $\delta_C$  129,6 (C-2'/C-6') et 116,2 (C-3'/C-5').



**Figure 35 :** Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) de GTE-6.



**Figure 36 :** Spectre DEPT 135 de GTE-6

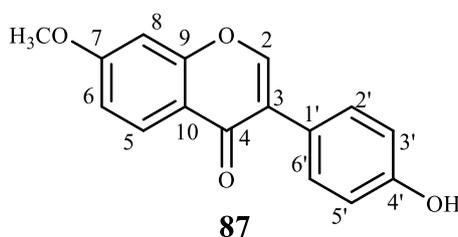
Le spectre HSQC nous a permis d'attribuer les valeurs des déplacements chimiques obtenus à tous les atomes de carbone de la molécule (**Tableau XX**). De plus, l'atome de carbone du groupement méthoxyle ( $-\text{OCH}_3$ ), donne un signal à  $\delta_{\text{C}}$  56,4 et sa position a été déduite de l'expérience du NOE, dans laquelle les corrélations ont été obtenues entre les protons du groupement  $-\text{OCH}_3$  ( $\delta_{\text{C}}$  3,85) et les deux protons H-6 ( $\delta_{\text{C}}$  6,64) et H-8 ( $\delta_{\text{C}}$  6,46) du noyau A. Ainsi l'ensemble de toutes ces données permet de placer le groupement  $-\text{OCH}_3$  sur le carbone C-7 (noyau A). La corrélation observée dans son spectre HMBC entre H-2 du noyau C ( $\delta_{\text{H}}$  8,06) et l'atome de carbone C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  133,6) a permis de relier les atomes de carbone C-3 et C-1'. Ce

qui conduit à une structure d'isoflavone corroborée par les corrélations entre C-1' ( $\delta_C$  133,6 -) et H-2 ( $\delta_H$  8,06), H-3'/H-5' ( $\delta_H$  6,83), H-2'/H-6' ( $\delta_H$  7,28).

**Tableau XX :** Données spectrales RMN (DMSO- $d_6$ ) :  $^1\text{H}$  (400 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de GTE-6 comparées à celles de l'isoformonétine.

N°C	GTE-6			Isoformononétine (Pelter <i>et al.</i> , 1976)	
	$\delta_C$	DEPT	$\delta_H$ (nH, m, $J$ en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (nH, m, $J$ en Hz)
2	155,6	CH	8,06 (1H, s)	156,6	8,04 (1H, s)
3	122,4	C	-	122,1	-
4	174,8	C	-	175,6	-
5	129,3	CH	7,86 (1H, d, 9,0)	129,1	7,89 (1H, d, 9,0)
6	116,8	CH	6,64 (1H, dd, 2,1 et 9,0)	116,1	6,64 (1H, dd, 2,1 et 9,0)
7	162,6	C	-	162,9	-
8	103,1	CH	6,46 (1H, d, 2,1)	103,4	6,46 (1H, d, 2,1)
9	156,2	C	-	157,9	-
10	115,2	C	-	117,4	-
1'	133,6	C	-	134,2	-
2'/6'	129,6	CH	7,28 (2H, d, 9,0)	129,8	7,25 (2H, d, 9,0)
3'/5'	116,2	CH	6,81 (2H, d, 9,0)	115,6	6,88 (2H, d, 9,0)
4'	156,9	C	-	155,8	-
OCH <sub>3</sub>	56,4	CH <sub>3</sub>	3,84 (3H, s)	56,4	3,84 (3H, s)

L'ensemble de ces données comparées avec celles décrites dans la littérature (Pelter *et al.*, 1976), montre que GTE-6 est l'isoformonétine ou le 4-hydroxy-7-méthoxyisoflavone **87**.



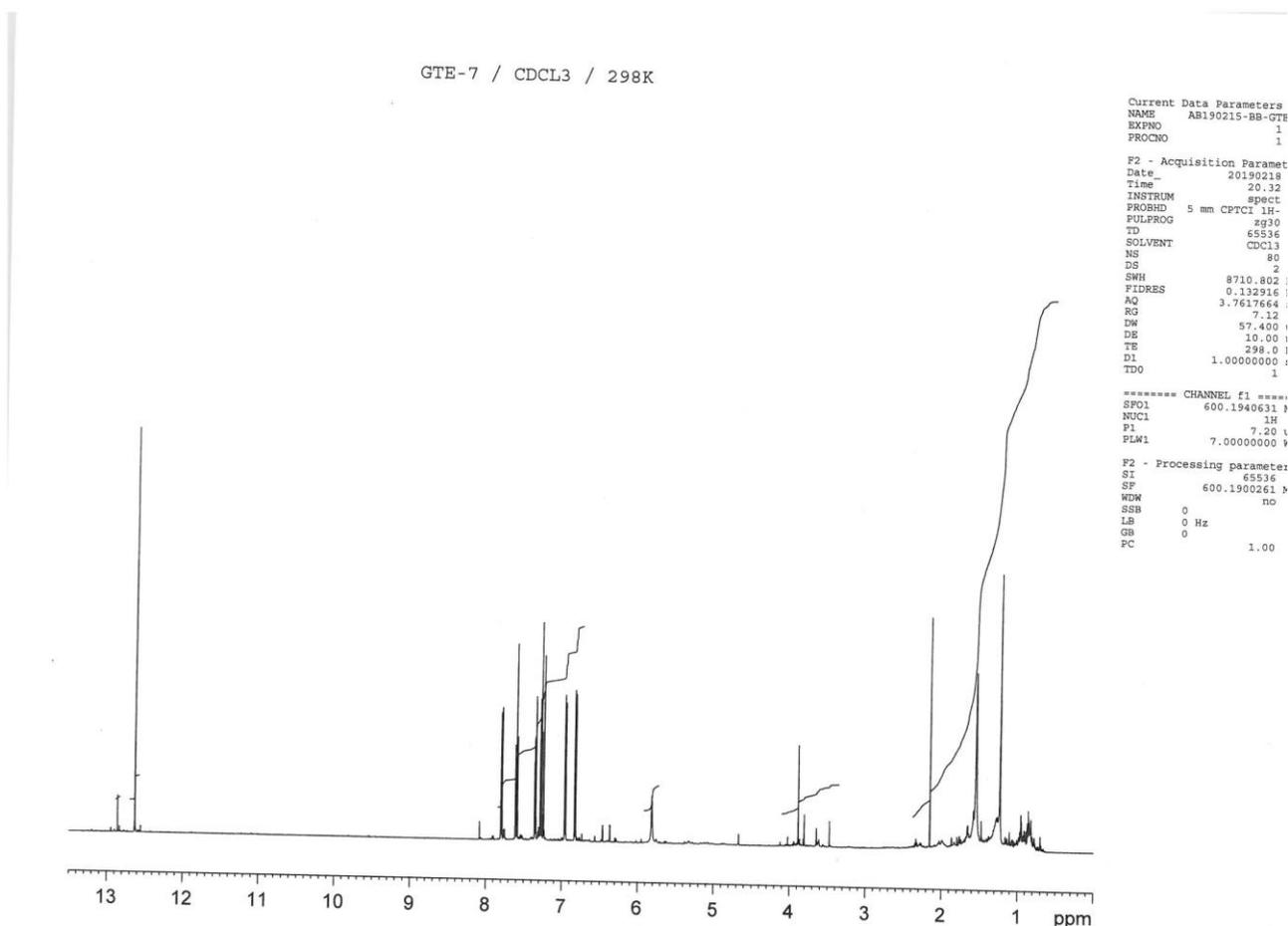
### II.11- Identification de GTE-7

Le composé GTE-7 a été obtenu sous forme de poudre amorphe jaune. Sa formule brute  $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_4$  a été déduite de son spectre de masse ESI en mode positif qui montre l'ion pseudo-moléculaire  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  229,0498 correspondant à la formule brute  $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{O}_4$  (calculée 229,0423). Ceci implique une masse moléculaire de 228 pour GTE-7 qui renferme 10 degrés d'insaturations.

L'analyse de ces spectres RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 37) permet d'identifier les signaux définissant les systèmes de protons suivants impliqués dans la structure :

- Les signaux de trois protons vicinaux sur un noyau aromatique trisubstitué (noyau A) à  $\delta_H$  6,82 (1H, d,  $J=8,0$  Hz) ; 6,96 (1H, d,  $J=8,0$  Hz) et 7,60 (1H, t,  $J=8,0$  Hz).

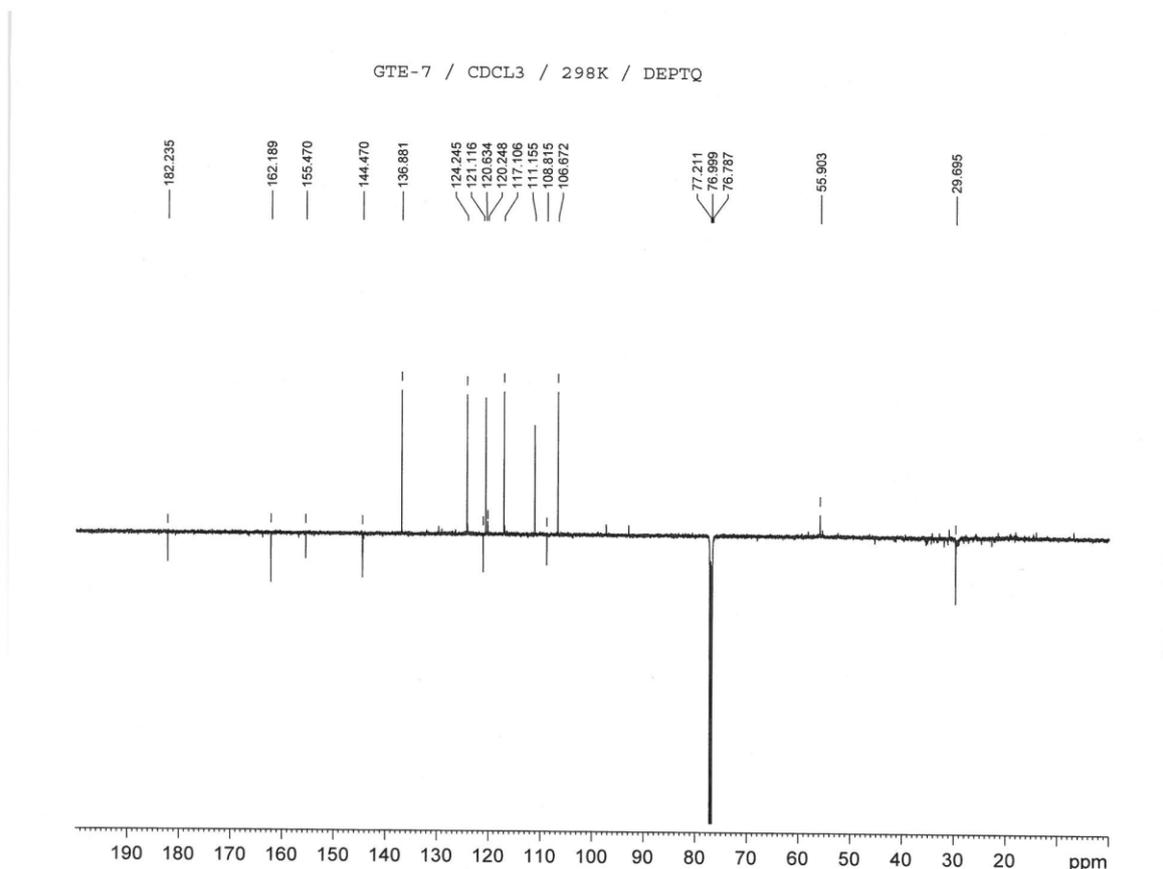
- Les signaux de trois autres protons vicinaux très déblindés sur un noyau aromatique trisubstitué (noyau B) à  $\delta_H$  7,27 (1H, t,  $J=8,0$  Hz) ; 7,35 (1H, d,  $J=8,0$  Hz) et 7,79 (1H, d,  $J=8,0$  Hz).
- Un signal en singulet d'un proton phénolique chélaté à  $\delta_H$  12,85 (1H, s, OH noyau A).
- Un signal en singulet d'un proton phénolique à  $\delta_H$  5,81 (1H, s, OH noyau B).



**Figure 37** : Spectre de RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) de GTE-7

L'analyse du spectre RMN  $^{13}C$  (**Fig. 38**) montre les signaux de 13 atomes de carbone hybridés  $sp^2$ . On note la présence des signaux :

- D'un carbonyle à  $\delta_C$  182,2 (C-9).
- De six méthynes à  $\delta_C$  106,6 (C-6) ;  $\delta_C$  111,1 (C-8) ;  $\delta_C$  117,1 (C-4) ;  $\delta_C$  120,6 (C-2) ;  $\delta_C$  124,2 (C-3) ;  $\delta_C$  136,8 (C-7).
- De six atomes de carbone quaternaire dont quatre portent chacun un atome d'oxygène à  $\delta_C$  162,1 (C-5) ; 155,4 (C-8a) ; 144,8 (C-8b) ; 121,1 (C-1) ; 120,2 (C-4a) ; 108,8 (C-4b).

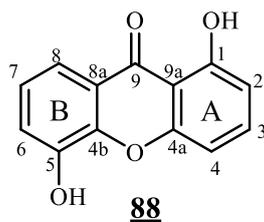


**Figure 38** : Spectre DEPTQ de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de GTE-7

**Tableau XXIXI** : Données spectrales RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $^1\text{H}$  (400 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de GTE-7.

N° C	$\delta_{\text{C}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ en Hz)
1	162,1	C	12,85 (1H, s, OH)
2	106,6	CH	6,96 (1H, d, 8,0)
3	136,8	CH	7,60 (1H, t, 8,0)
4	111,1	CH	6,82 (1H, d, 8,0)
4a	120,2	C	-
4b	108,8	C	-
5	121,1	C	5,81 (1H, s, OH)
6	120,6	CH	7,35 (1H, d, 8,0)
7	124,2	CH	7,27 (1H, t, 8,0)
8	117,1	CH	7,79 (1H, d, 8,0)
8a	155,4	C	-
8b	144,8	C	-
9	182,2	C	-

L'ensemble de ces informations couplé à l'analyse du spectre (1D et 2D) nous a permis d'arriver à la structure suivante qui est celle d'une Xanthone le 1,5-dihydroxyxanthone **88** précédemment isolé d'une autre source (Gabin et al., 2008).



### II.12- Identification de GTE-8.

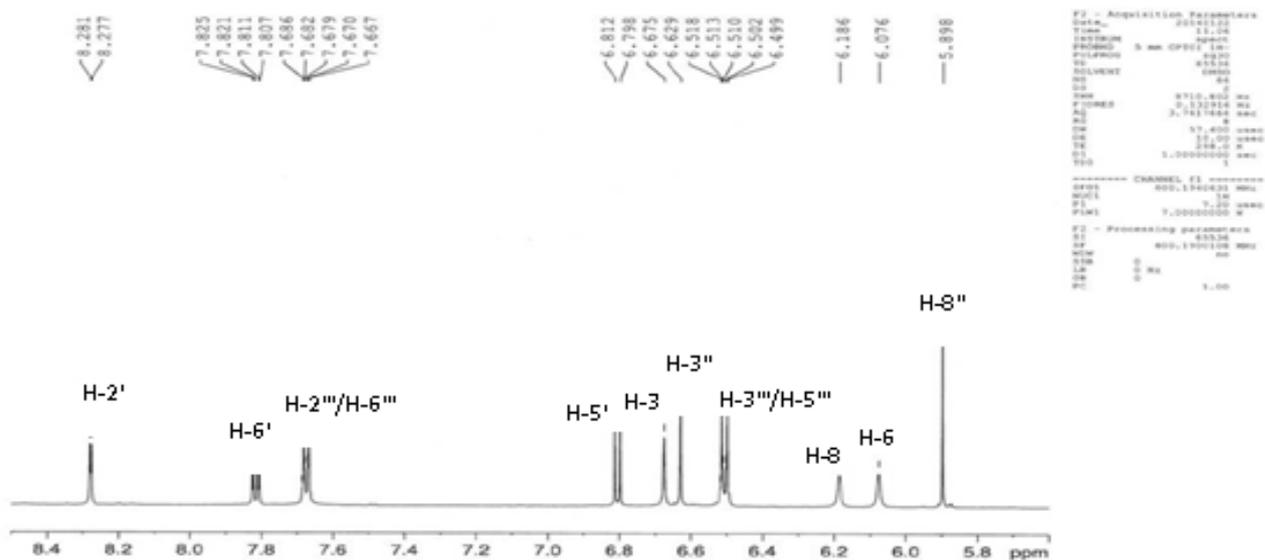
Le composé GTE-8 a été obtenu sous forme de poudre amorphe jaune-orangé. Il répond positivement aux tests de phénol et des flavonoïdes. Sa formule brute  $C_{30}H_{18}O_{10}$  a été déduite de son spectre de masse haute résolution qui montre l'ion pseudo-moléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z$  539,0981 correspondant à la formule brute  $C_{30}H_{19}O_{10}$  (calculé 539,0978). Ceci implique une masse moléculaire de 538 pour GTE-8 qui est donc un biflavonoïde possédant 22 sites d'insaturations.

L'analyse du spectre RMN  $^1H$  (1D et 2D) (**Fig. 39** et **40**) de GTE-8 montre que les systèmes de protons impliqués dans la structure de ce biflavonoïde sont proches de ceux trouvés dans le spectre de TED8. En effet on retrouve :

- Deux signaux en singulet chacun intégrant un proton à  $\delta_H$  6,67 (1H, s, H-3) et 6,62 (1H, s, H-3''). Ces signaux sont caractéristiques des protons en position H-3 dans le noyau des flavones. Ceci confirme que GTE-8 est un dimère constitué de deux unités de flavone.
- Un autre signal en singulet d'un proton aromatique très blindé à  $\delta_H$  5,89 suggérant la présence d'un noyau aromatique penta-substitué portant plusieurs substituants oxygénés (noyau A').
- Les signaux de trois protons déblindés sur un noyau aromatique tri substitué (noyau B) montrant une substitution *ortho/para* à  $\delta_H$  8,27 ( $^1H$ , d, 1,6 Hz, H-2') ; 7,81 (1H, dd, 1,6 et 7,2 Hz, H-6') et 6,81 (1H, d, 7,2 Hz, H-5').
- Les signaux de deux protons très blindés sur un noyau aromatique tétra substitué (noyau A) montrant un couplage *métra*, à  $\delta_H$  6,07 (1H, d, 1,6 Hz, H-6) et 6,18 (1H, d, 1,6 Hz, H-8).

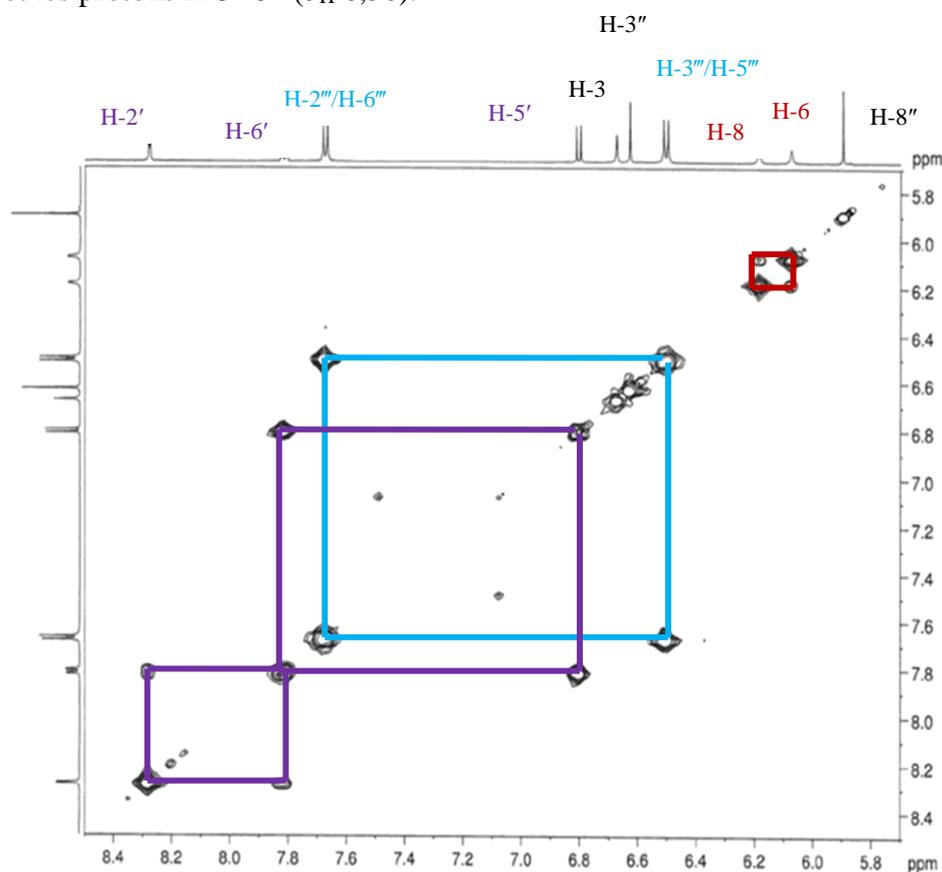
Les signaux de quatre protons sur un noyau aromatique *para* di substitué (noyau B') qui donnent les signaux à  $\delta_H$  6,50 (2H, d, 7,2 Hz, H-2'''/ H-6''') et 7,67 (2H, d, 7,2 Hz, H-3'''/ H-6''').

- Les signaux en singulet de deux protons phénoliques très déblindés à  $\delta_H$  13,10 (1H, s, OH-5, noyau A) et  $\delta_H$  13,20 (1H, s, OH-5'', noyau A'), chacun intégrant un proton typique des protons de la fonction phénol OH en position 5 du motif flavone chélaté au carbonyle en *péri*. Nous avons remarqué que ces valeurs sont très proches de celles décrites pour la robustaflavone.



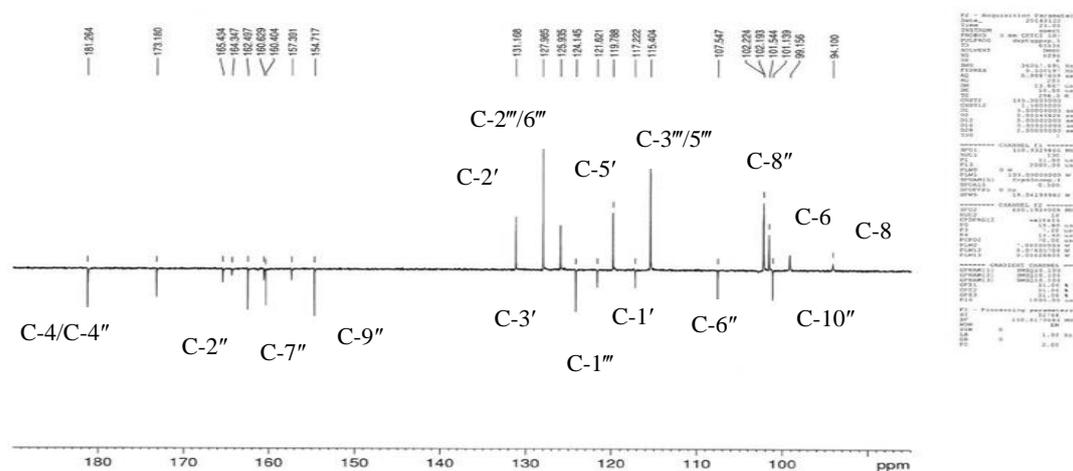
**Figure 39** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  de GTE-8 (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).

Sur son spectre COSY ( $^1\text{H-}^1\text{H}$ ) (**Fig. 40**) on observe : une corrélation entre le proton H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  6,07) et le proton H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  6,18), une corrélation entre le proton H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  7,81) et les protons H-5' ( $\delta_{\text{H}}$  6,80) et le proton à  $\delta_{\text{H}}$  8,27 (H-2') ; une corrélation entre les protons H-2'''/6''' ( $\delta_{\text{H}}$  7,67) et les protons H-3'''/5''' ( $\delta_{\text{H}}$  6,50).



**Figure 40** : Spectre COSY ( $^1\text{H-}^1\text{H}$ ) de GTE-8.

L'analyse du spectre DEPTQ de GTE-8 (**Fig. 41**) montre les signaux de tous les 30 atomes de carbones impliqués dans la formule moléculaire et qui sont d'hybridation  $sp^2$ . Deux de ces signaux sont d'intensités doubles à  $\delta_C$  128,0 et 115,4 correspondants aux atomes de carbone C-2'''/6''' et C-3'''/5''' du noyau B', para di substitué. On note aussi, la présence du signal des deux carbonyles qui apparait à  $\delta_C$  181,3 (C-4 et C-4''); les signaux de douze méthynes à  $\delta_C$  101,5 ; 99,2 ; 94,1 ; 131,2 ; 119,8 ; 125,9 ; 102,22 ; 102,2 et ceux de seize atomes de carbone quaternaire dont dix portent un atome d'oxygène à  $\delta_C$  164,3 ; 161,4 ; 165,5 ; 157,4 ; 165,4 ; 162,5 ; 161,2 ; 160,4 ; 154,7 et 160,6.

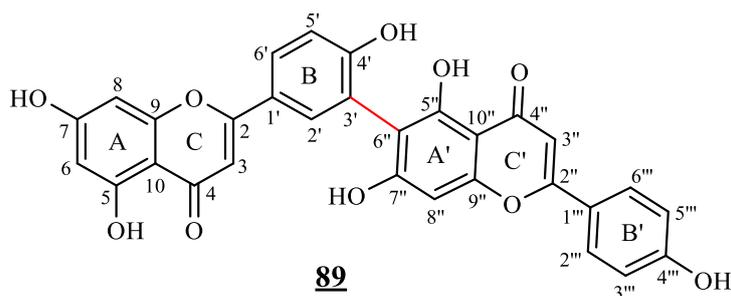


**Figure 41** : Spectre DEPTQ (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de GTE-8.

**Tableau XXII** : Données spectrales RMN (DMSO- $d_6$ ) :  $^1\text{H}$  (500 MHz et  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de GTE-8 comparées a celles de la robustaflavone.

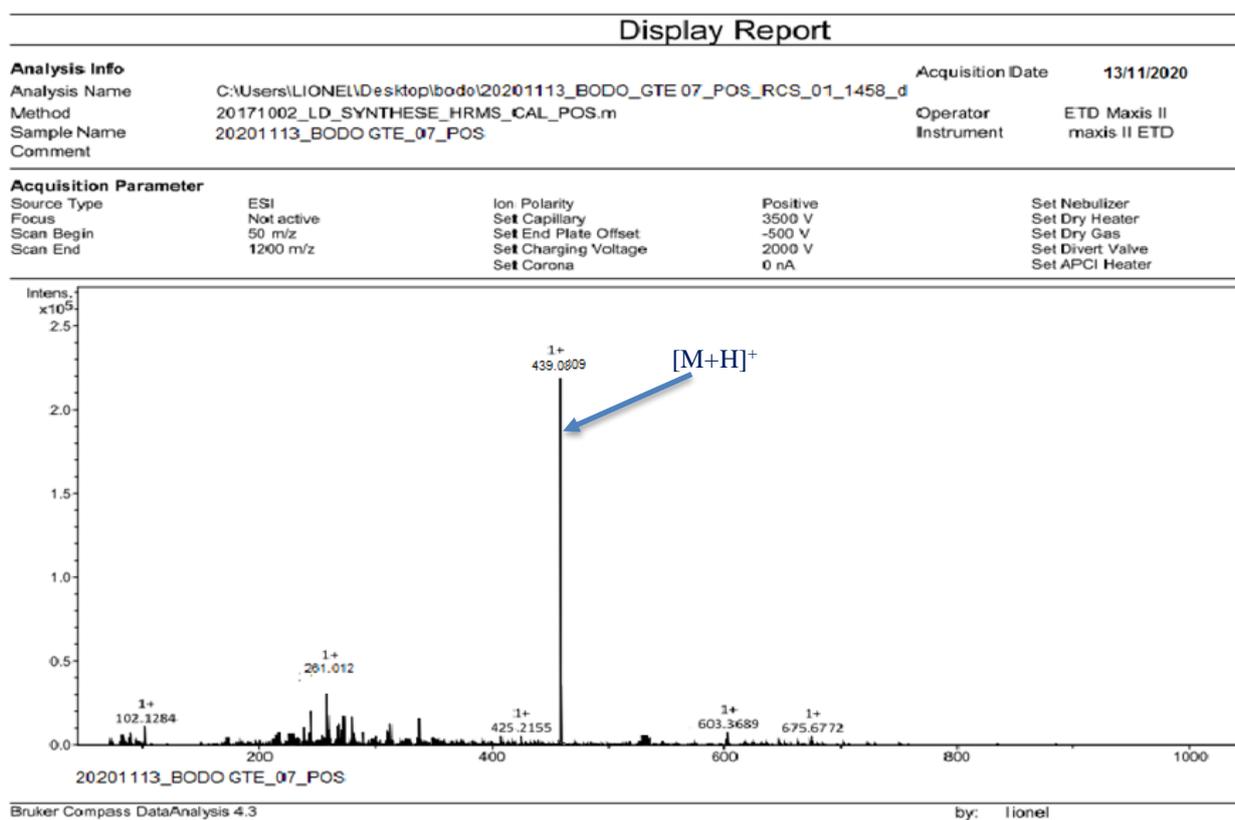
N° C	GTE-8			Robustaflavone (Ndongo et al., 2010)	
	$\delta_c$	DEPT	$\delta_H$ (nH, m, J en Hz)	$\delta_c$	$\delta_H$ (nH, m, J en Hz)
2	164,3	C		166,3	
3	101,5	CH	6,67 (1H, s)	103,2	6,68 (1H, s)
4	181,3	C		181,8	
5	161,4	C	13,10 (1H, s, OH)	161,2	13,01 (1H, s ; OH)
6	99,2	CH	6,07 (1H, d ; 1,8)	98,6	6,19 (1H, d ; 2,1)
7	165,5	C		163,6	
8	94,1	CH	6,18 (1H, d ; 1,8)	93,1	6,52 (1H, d ; 2,2)
9	157,4	C		157,3	
10	103,0	C		102,8	
1'	117,2	C		123,1	
2'	131,2	CH	8,27 (1H, d ; 2,1)	134,5	8,11 (1H, d ; 2,2)
3'	124,1	C		119,7	
4'	165,4	C		159,8	
5'	119,8	CH	6,80 (1H, d ; 8,8)	119,8	7,09 (H, d ; 8,3)
6'	125,9	CH	7,81 (1H, dd ; 2,1 et 8,8)	127,5	7,92 (1H, dd ; 2,2 et 8,4)
2''	162,5	C		163,9	
3''	102,2	CH	6,62 (1H, s)	103,3	6,69 (1H, s)
4''	181,3	C		181,6	
5''	161,2	C	13,20 (1H, s, OH')	160,9	13,06 (1H, s, OH)
6''	107,5	C		103,7	
7''	160,4	C		163,8	
8''	102,2	CH	5,89 (1H, s)	96,9	6,04 (1H, s)
9''	154,7	C		156,2	
10''	101,1	C		103,3	
1'''	121,6	C		120,2	
2'''/6'''	128,0	CH	7,67 (2H, d ; 9,0)	128,4	7,44 (2H, d ; 8,6)
3'''/5'''	115,4	CH	6,50 (2H, d ; 9,0)	116,4	6,68 (2H, d ; 8,6)
4'''	160,6	C		159,6	

Ces résultats montrent que GTE-8 est la robustaflavone ou 4',4'',5,5'',7,7''-hexahydroxy-2,2''-bis(4-hydroxyphényl)-3',6''-bis(4H-1-benzopyran)-4,4'-dione **89** dont la structure a été confirmée en comparant les valeurs relevées pour GTE-8 avec celles mesurées pour un échantillon authentique de robustaflavone isolé auparavant de *Campylospermum flavum* (Ndongo et al., 2010).



### II.13- Détermination de la structure de GTE-25

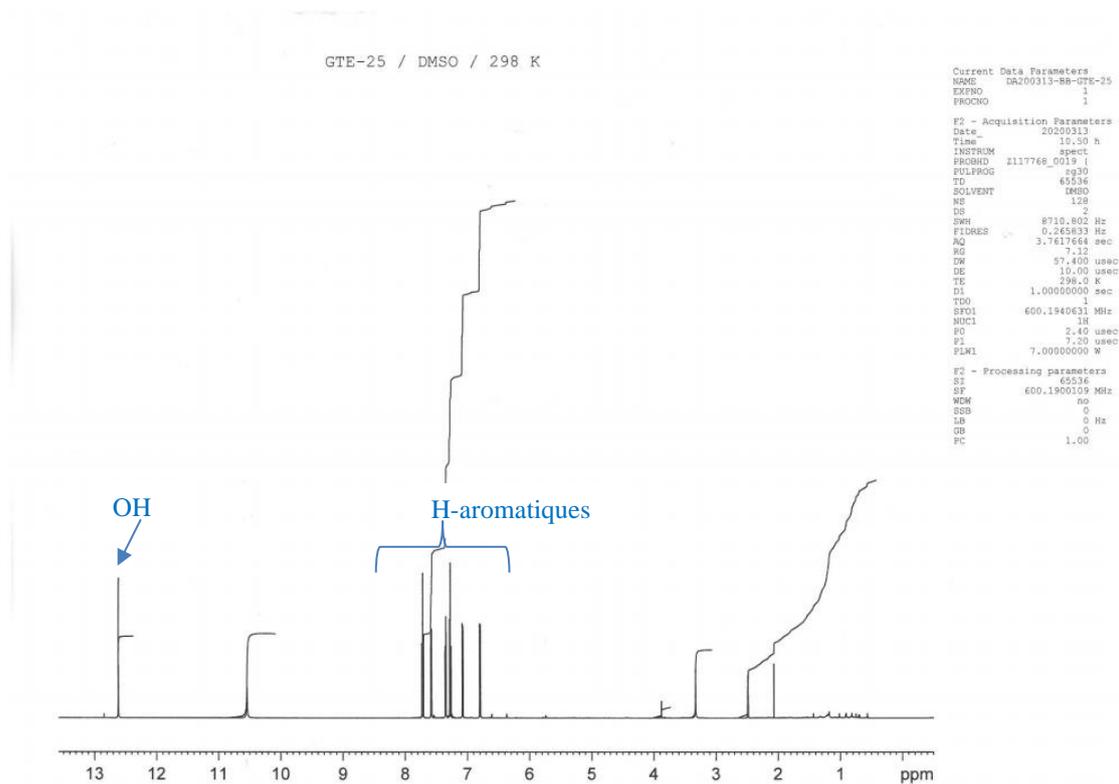
Le composé GTE-25 a été obtenu sous forme de poudre jaune. Sa formule brute  $C_{26}H_{14}O_7$  a été déduite de son spectre de masse ESI (**Fig. 42**) en mode positif qui montre l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  439,0809 (calculée 439,0818). Ceci implique une masse moléculaire de 438 pour GTE-25 qui renferme 20 degrés d'insaturations. La nature dimérique de GTE-25 peut être mise en évidence par la formule brute, les signaux et sa masse en comparaison avec le composé précédent.



**Figure 42** : Spectre de masse ESI de GTE-25

L'analyse de son spectre RMN  $^1H$  (**Fig. 43**) permet d'identifier les signaux caractéristiques d'un squelette de xanthone les systèmes de protons suivants impliqués dans la structure sont présents :

- Les signaux de trois protons sur un noyau aromatique trisubstitué (noyau B) :  $\delta_H$  7,35 (1H, dd,  $J=7,9$  et 1,5 Hz, H-6) ; 7,27 (1H, t,  $J=7,9$  Hz, H-7) et  $\delta_H$  7,79 (1H, dd,  $J=7,9$  et 1,5 Hz, H-8).
- Les signaux de trois autres protons sur un noyau aromatique trisubstitué (noyau A) :  $\delta_H$  6,82 (1H, dd,  $J=8,3$  et 0,8 Hz, H-2) ; 6,95 (1H, dd,  $J=8,3$  et 0,8 Hz, H-4) et  $\delta_H$  7,59 (1H, t,  $J=8,3$  Hz, H-3).
- Un signal en singulet d'un proton phénolique chélaté à  $\delta_H$  12,70 (1H, s, OH noyau A).



**Figure 43** : Spectre RMN  $^1H$  de GTE-25

L'analyse des spectres DEPTQ (**Fig. 44**) et HSQC (**Fig. 45**) montre les signaux de 13 atomes de carbone hybridés  $sp^2$  sur les 26 que compte la formule brute. Ceci montre la nature dimerique et symetrique de GTE-25. On note la présence du signal d'un carbonyle à  $\delta_C$  182,2 (C-9) ; de signaux de six méthines à  $\delta_C$  106,7 (C-4) ; 111,1 (C-2) ; 117,1 (C-8) ; 120,6 (C-6) ; 124,2 (C-7) ; 136,9 (C-3) et ceux de sept atomes de carbone quaternaire dont quatre portent chacun un atome d'oxygène :  $\delta_C$  182,2 (C<sub>9</sub>=O) ; 162,2 (C-1) ; 155,5 (C-4a) ; 144,0 (C-5a) ; 121,1 (C-8a) ; 108,8 (C-9a) et 144,5 (C-5).



Sur le spectre HMBC (Fig. 46 et 47) on observe des corrélations entre : le proton H-2 ( $\delta_H$  7,26) et les atomes de carbone C-1 ( $\delta_C$  162,2) et C-9a ( $\delta_C$  108,8) ; le proton H-3 ( $\delta_H$  7,59) et atomes de carbone C-4a (155,5), C-1( $\delta_C$  162,2) puis C-2 ( $\delta_C$  111,1) ; le proton H-4 ( $\delta_H$  6,95) et atomes de carbone C-9a ( $\delta_C$  108,8) et C-2 ( $\delta_C$  111,1) tous du noyau A. D'autres corrélations apparaissent entre le proton H-6 ( $\delta_H$  7,35) et les atomes de carbone C-5 ( $\delta_C$  144,5) et C-8 ( $\delta_C$  121,1) ; entre le proton H-8 ( $\delta_H$  7,79) et les atomes de carbone C-9 ( $\delta_C$  182,2), C-5a ( $\delta_C$  144,0) et C-6 ( $\delta_C$  120,6).

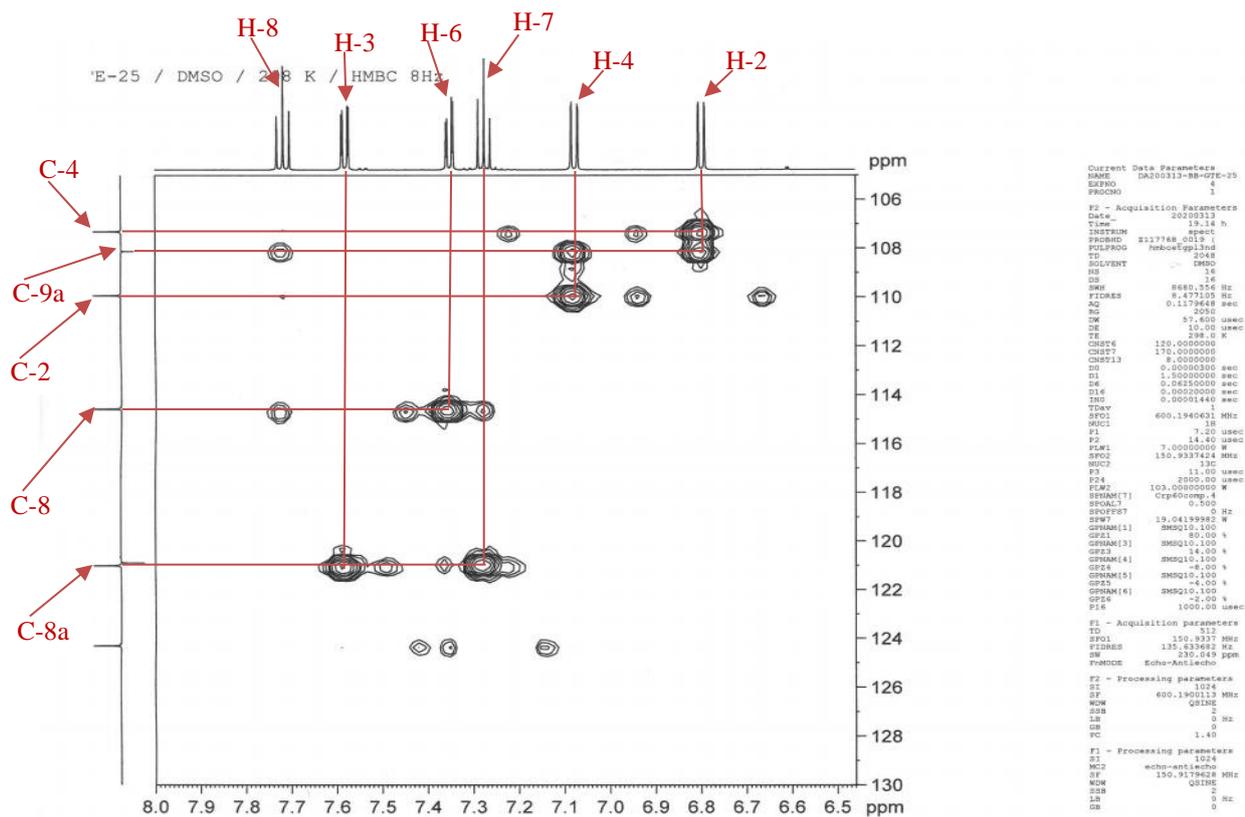


Figure 46 : Spectre HMBC de GTE-25

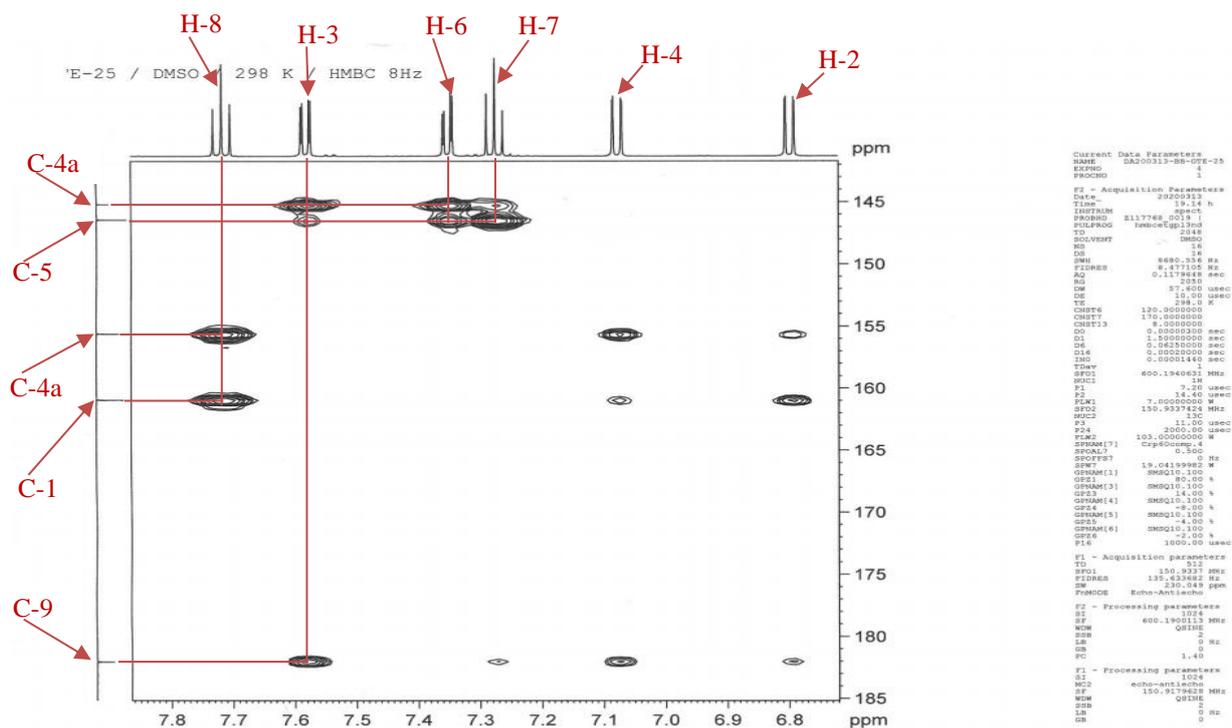


Figure 47 : Spectre HMBC de GTE-25

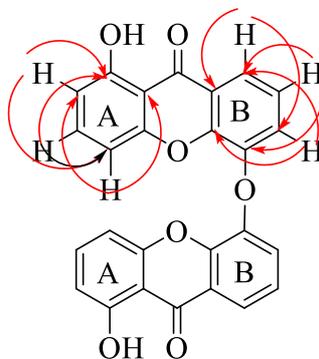
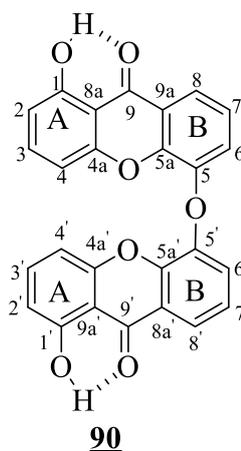


Schéma 8 : corrélations HMBC GTE-25

**Tableau XXIII** : Données spectrales RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) : <sup>1</sup>H (500 MHz) et <sup>13</sup>C (125 MHz) de GTE-25.

Position	$\delta_C$	DEPT	$\delta_H$ (nH, m, <i>J</i> en Hz)	Corrélations HMBC
1	162,2	C	12,70 (1H, s, OH)	-
2	111,1	CH	6,82 (1H, dd, 8,3 et 0,8 Hz)	C-1, C-4, C-3, C-9a
3	136,9	CH	7,59 (1H, t, 8,3 Hz)	C-4a, C-1, C-4
4	106,7	CH	6,95 (1H, dd, 8,3 et 0,8Hz)	C-2, C-3, C-9a
4a	155,5	C	-	-
5	144,5	C	-	-
5a	144,0	C	-	-
6	120,6	CH	7,35 (1H, dd, 7,9 et 1,5 Hz)	C-5, C-8
7	124,2	CH	7,27 (1H, t, 7,9 Hz)	C-5, C-8, C-8a
8	117,1	CH	7,79 (1H, dd, 7,9 et 1,5Hz)	C-6, C-7, C-8a, C-9
8a	121,1	C	-	-
9	182,2	C	-	-
9a	108,8	C	-	-

L'ensemble de ces informations nous a permis d'arriver à la structure suivante qui est celle d'un dimère de xanthone : 5'-O-(1-hydroxyxanthon-5-yl)-1'-hydroxanthone **90** dérivé nouveau.



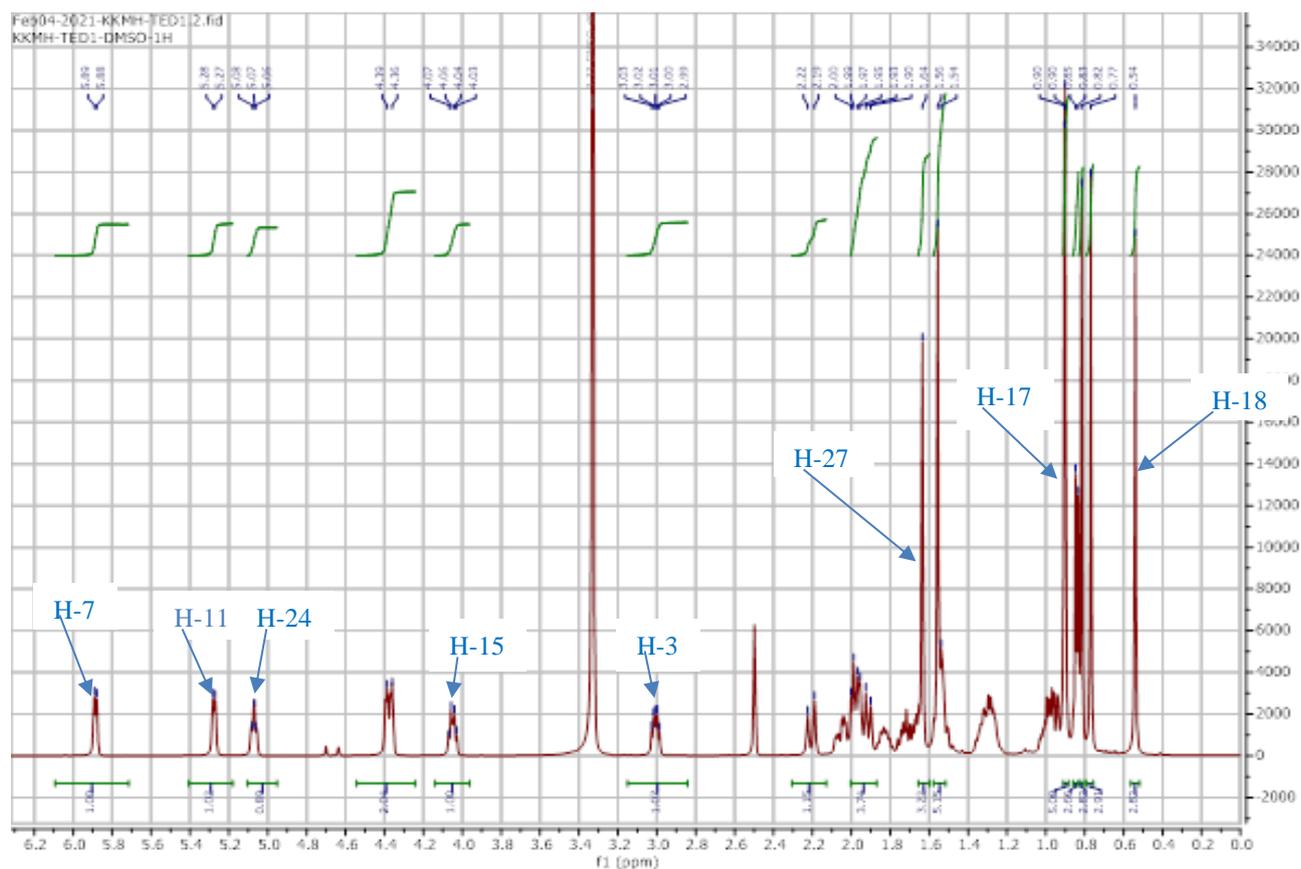
#### II.14- Identification de TED1

Le composé TED1 se présente sous forme de poudre blanche soluble dans le DMSO, il réagit positivement au test de Libermann-Buchard, en donnant une coloration orange-violet caractéristique des terpenoïdes. Sur son spectre de masse haute résolution en impact électronique on observe le pic de l'ion moléculaire à  $m/z = 440,3654$  correspondant à la formule brute  $C_{30}H_{48}O_2$ , qui renferme 7 insaturations.

L'analyse du spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Fig. 48**), montre les signaux de sept méthyles angulaires comprise entre  $\delta_H$  0,55 et 1,64 et un doublet de méthyle à  $\delta_H$  0,85 caractéristique d'un triterpénoïde tétracyclique de la classe des lanostanes (**Nakata et al., 2009**).

On note également, la présence de deux doublets dédoublés intégrant chacun pour un proton à  $\delta_H$  3,02 et 4,05 caractéristiques des protons portés par les atomes de carbone hydroxylés.

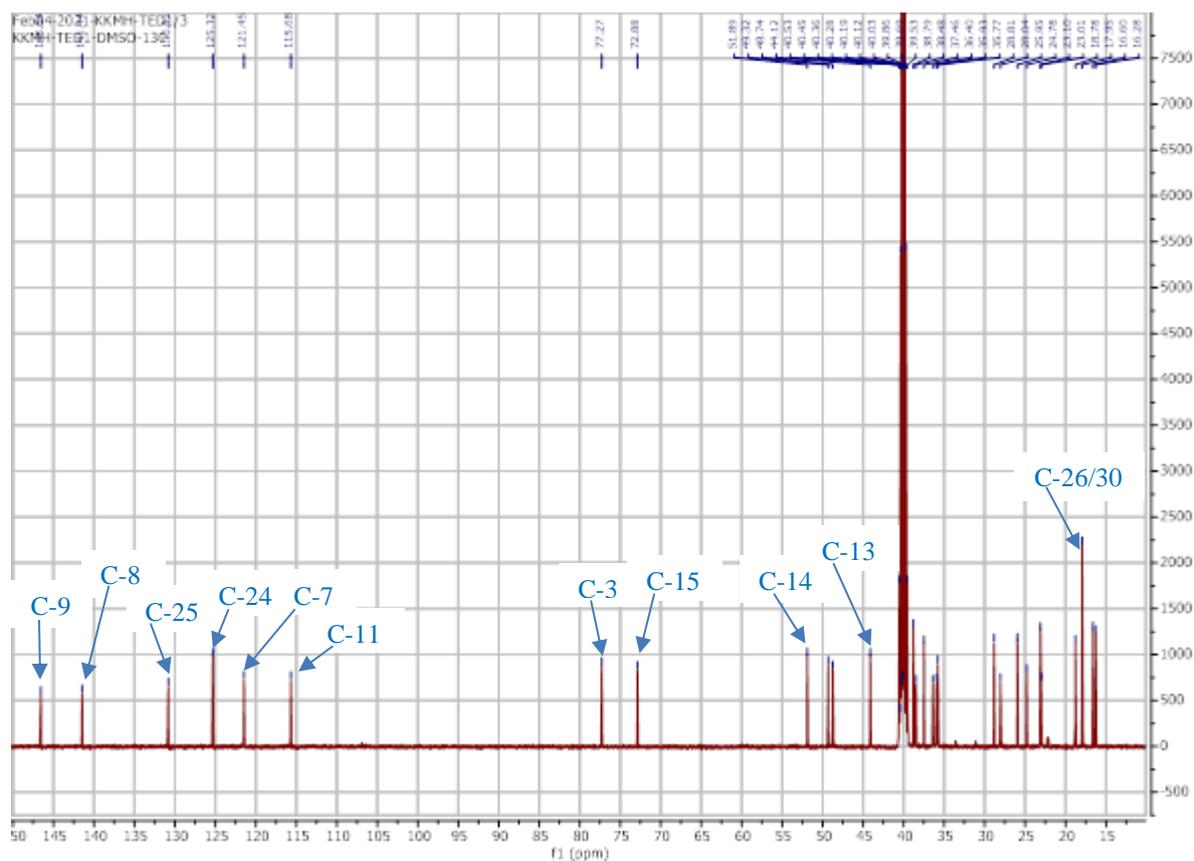
Outre le doublet d'un proton éthylénique à  $\delta_H$  5,08 ( $\delta_C$  125,3) correspondant au proton H-24, on observe également deux autres doublets d'un proton éthylénique chacun à  $\delta_H$  5,89 ( $\delta_C$  121,4) et à  $\delta_H$  5,29 ( $\delta_C$  115,6) attribuable respectivement aux protons H-7 et H-11 sur la base de spectre RMN  $^{13}C$  (Fig. 49).



**Figure 48** : Spectre RMN  $^1H$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED1.

Sur son spectre RMN  $^{13}C$  (Fig. 49) totalement découplé on observe :

- Six signaux dans la zone des carbones oléfiniques à ( $\delta_C$  146,5 ;  $\delta_C$  141,4 ;  $\delta_C$  130,8 ;  $\delta_C$  125,3 ;  $\delta_C$  121,4 et  $\delta_C$  115,6).
- Deux signaux des atomes de carbone hydroxylés à  $\delta_C$  77,2 (C-3) et  $\delta_C$  72,8 (C-15).



**Figure 49** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) de TED1.

Sur son spectre HMBC (**Fig. 50**), on observe les corrélations entre :

- H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,02) et les atomes de carbone C-28 ( $\delta_{\text{C}}$  28,8) et C-29 ( $\delta_{\text{C}}$  16,6).
- H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  5,89) et les atomes de carbone C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  23,0), C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  49,3), C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  146,5) et C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  51,8).
- H-11 ( $\delta_{\text{H}}$  5,29) et les atomes de carbone C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  141,4), C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  37,4), C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  38,4).
- H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  4,05) et les atomes de carbone C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  141,4), C-14 (51,8), C-30 (17,9).

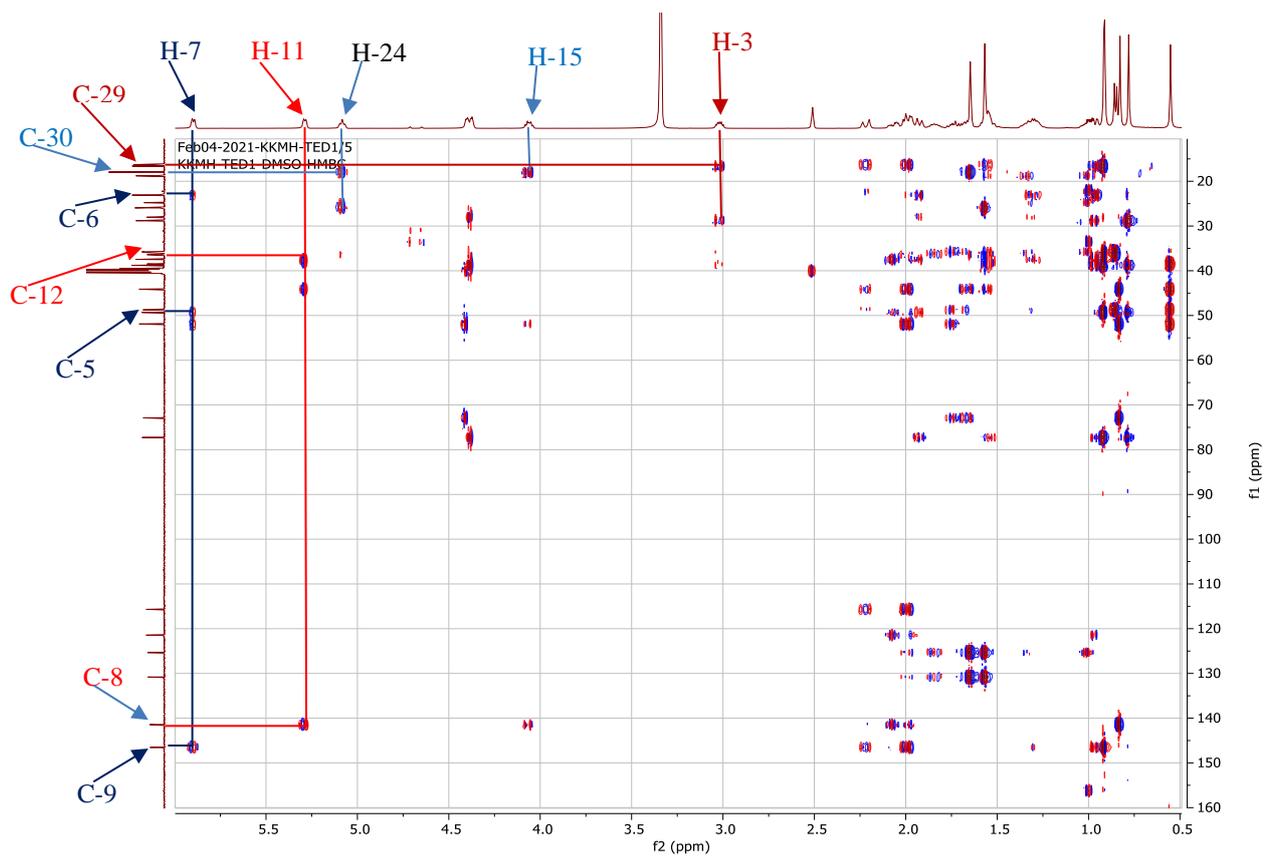


Figure 50 : Spectre HMBC de TED1

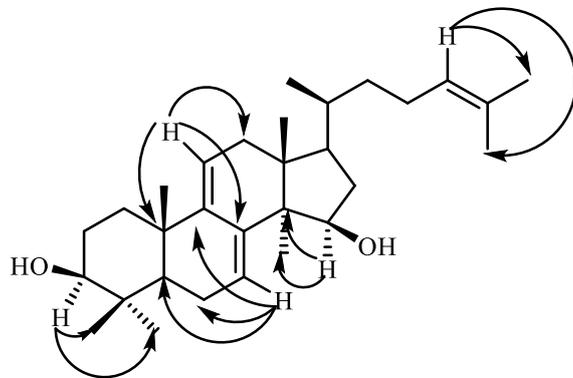
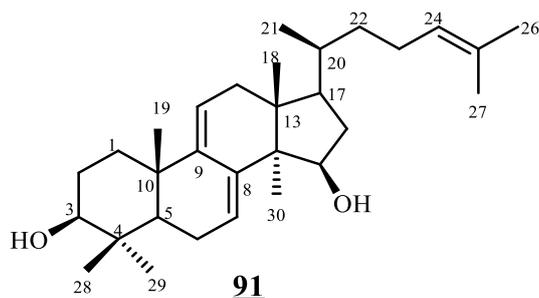


Schéma 9 : Corrélations observées sur le spectre HMBC de TED1

**Tableau XXIV** : Données spectrales RMN (DMSO-d<sub>6</sub>) : <sup>1</sup>H (500 MHz) et <sup>13</sup>C (125 MHz) de TED1 comparées avec celles du polycarpol décrites dans la littérature.

N°	TED1		(Nakata et al., 2009)	
	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub> (nH, m, J en Hz)	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub> (nH, m, J en Hz)
1	35,9	1,30 (2H, t, 10,6)	35,7	Non donné
2	28,0	1,51 (2H, dt, 10,6 et 5,2)	27,8	1,72 (2H, ddd, 1,6, 6,9 et 10,9)
3	77,2	3,02 (1H, d, 10,6)	78,9	3,22(1H, d, 10,9)
4	38,8	-	38,7	-
5	49,3	0,94 (1H, t, 5,3)	48,9	1,07 (1H, dd, 4,0 et 11,6)
6	23,0	1,98 (2H, dd, 5,3 et 10,6)	22,9	2,11 (2H, dd, 4,0 et 6,0)
7	121,4	5,89 (1H, t, 6,5)	121,3	5,83 (1H, d, 6,0)
8	141,4	-	140,9	-
9	146,5	-	146,1	-
10	37,4	-	37,4	-
11	115,6	5,29 (1H, t, 6,2)	116,1	5,29 (1H, d, 5,7)
12	38,4	2,19 (2H, d, 16,5)	38,5	2,03 (1H, dd, 5,7 et 17,8) 2,27 (1H, d, 17,8)
13	44,9	-	44,3	-
14	51,8	-	51,9	-
15	72,8	4,05 (1H, t, 5,9)	74,7	4,25 (1H, dd, 5,9 et 9,3)
16	39,8	1,77 (1H, dt, 9,4 et 5,9)	40,1	1,94-1,97 (m)
17	48,7	1,54 (1H, dt, 7,5 et 14,5)	48,9	Non donné
18	16,2	0,55 (3H, s)	15,8	0,59 (3H, s)
19	23,1	0,92 (3H, s)	22,8	0,96 (3H, s)
20	35,7	1,91 (1H, m)	35,8	
21	18,7	0,85 (3H, d, 6,4)	18,4	0,86 (3H, d, 4,4)
22	36,4	1,29 (2H, m)	36,2	1,21-1,44 (m)
23	24,7	1,94 (2H, dt, 14,5 et 7,5)	24,9	
24	125,3	5,08 (1H, t, 6,5)	124,9	5,06 (1H, t, 6,9)
25	130,8	-	131,2	-
26	17,9	0,83 (3H, s)	17,6	1,58 (3H, s)
27	25,9	1,64 (3H, s)	25,7	1,66 (3H, s)
28	28,8	0,91 (3H, s)	28,1	0,86 (3H, s)
29	16,6	0,78 (3H, s)	15,0	0,98 (3H, s)
30	17,9	0,83 (3H, s)	17,1	0,91 (3H, s)

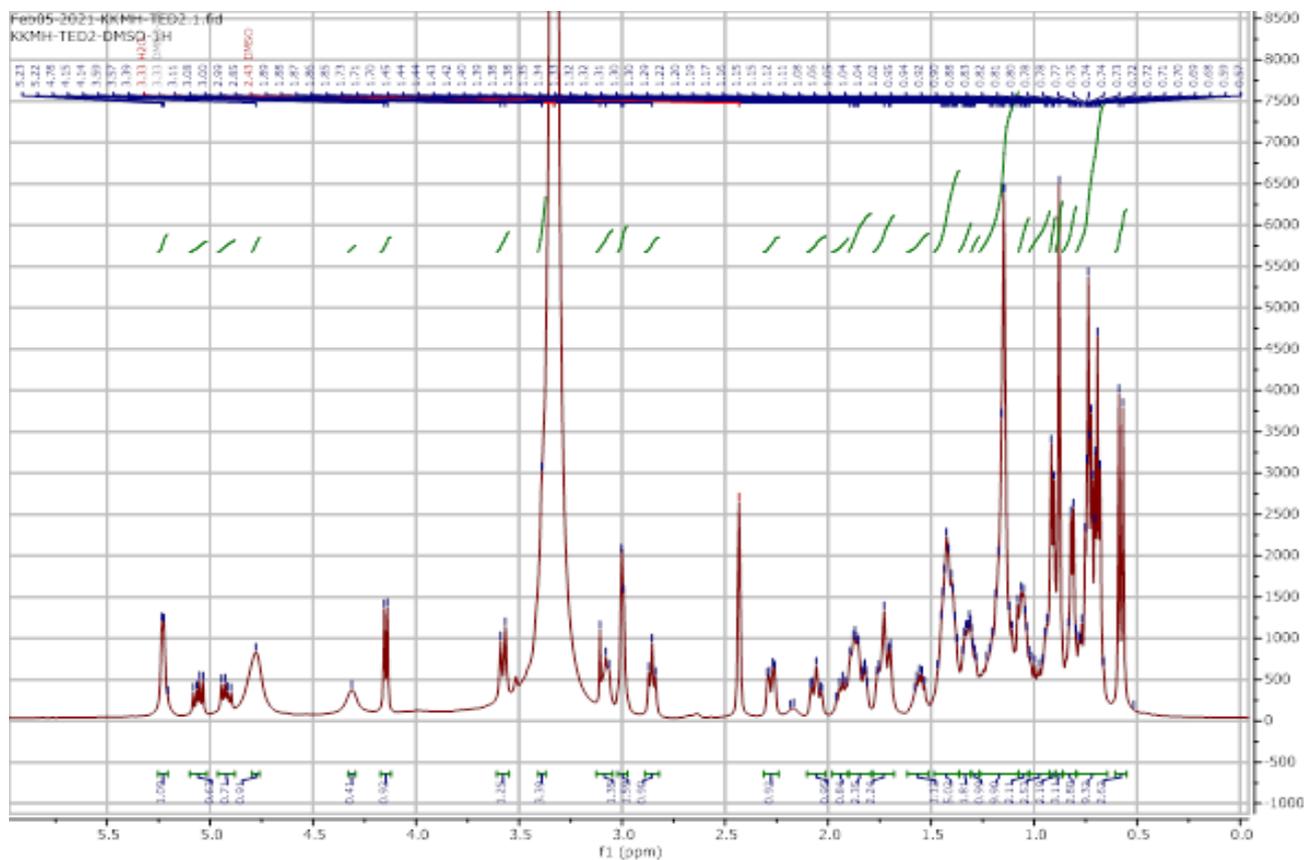
Toutes ces informations spectrales en comparaison avec les données de la littérature, nous permettent d'attribuer au composé TED1 la structure ci-après qui est celle d'un dérivé terpénique de type lanostane, du nom de 3,15-dihydroxylanosta-7,9(11),24-triène **91**. Dérivé déjà isoler d'une autre source sous le nom de polycarpol (Nakata et al., 2009).



### II.15- Identification de TED2

Le composé TED2 a été obtenu sous forme d'une poudre blanche. Il est soluble dans le DMSO et répond positivement au test de Liebermann Burchard en donnant une coloration bleue qui vire rapidement au vert foncé caractéristique des stérols. Il réagit positivement au test de Molish suggérant ainsi la présence d'ose dans la structure de TED2.

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (**Fig. 51**) présente un multiplet à  $\delta_{\text{H}}$  3,41 attribuable au proton situé au pied du groupement hydroxyle en C-3, un large doublet (1H,  $J = 4,5$  Hz) à  $\delta_{\text{H}}$  5,23 attribuable au proton H-6 du stérol. On observe également un doublet dédoublé (1H,  $J = 8,4 ; 15$  Hz) à  $\delta_{\text{H}}$  5,08 attribuable au proton H-22 et un autre doublet dédoublé (1H,  $J = 8,4 ; 15$  Hz) à  $\delta_{\text{H}}$  5,03 attribuable au proton H-23 sur la chaîne latérale d'un stérol et le signal du proton anomérique à  $\delta_{\text{H}}$  4,15. Les signaux des protons du glucose se trouvent entre  $\delta_{\text{H}}$  3,59 et 4,15.



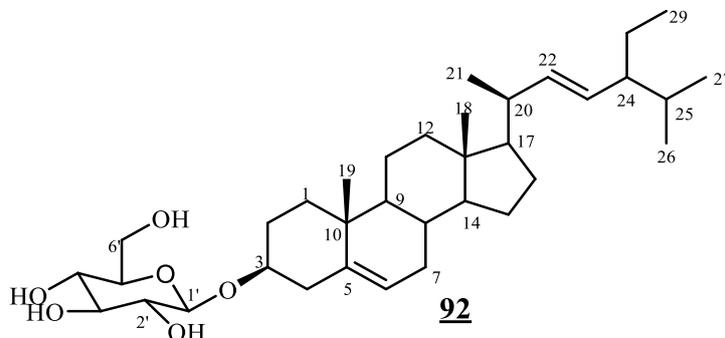
**Figure 51** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) TED2

Sur son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  totalement découplé on observe quatre signaux dans la zone des atomes de carbone oléfiniques ( $\delta_{\text{C}}$  140,8 ; 121,5 ; 138,4 et 129,2). Un signal du carbone anomérique à  $\delta_{\text{C}}$  101,3 indique la présence d'un monosaccharide. Les résonances de quatre méthines à  $\delta_{\text{C}}$  70,5 ; 77,2 ; 73,9 ; et 77,6 aussi bien que la résonance du méthylène à  $\delta_{\text{C}}$  61,6 sont dues respectivement aux carbones C-2', C-3', C-4', C-5', et C-6' du  $\beta$ -D-glucopyranoside. Les stérols possèdent habituellement 27 atomes de carbone, la présence de 48 signaux sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  suggère que ce composé possède quelques traces d'impuretés d'un autre stérol.

**Tableau XXVV** : Données spectrales RMN (DMSO- $d_6$ ) :  $^1\text{H}$  (500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de TED2 comparées à celles de la littérature.

N°	TED2		(Ahmad Ridhay et al., 2012)
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	38,8	2,28 (2H, dd, 13,4 et 4,7)	38,2
2	33,8	1,29 (2H, m)	33,3
3	77,0	3,41 (1H, m)	76,9
4	37,3	1,73 (2H, d, 10,2)	36,7
5	140,8	-	140,4
6	121,5	5,23 (1H, d, 4,5)	121,0
7	31,8	1,39 (2H, m)	31,3
8	31,9	1,70 (1H, s)	31,3
9	50,1	0,99 (1H, s)	49,5
10	36,6	-	36,1
11	21,4	1,17 (2H, m)	22,5
12	42,3	1,89 (2H, m)	41,6
13	42,2	-	41,8
14	56,7	1,08 (1H, m)	56,2
15	25,5	1,15 (2H, m)	24,7
16	29,2	1,82 (2H, s)	29,2
17	55,9	1,03 (1H, m)	56,1
18	12,2	0,68 (3H, s)	11,7
19	19,3	0,97 (3H, s)	18,9
20	35,9	1,31 (1H, m)	35,3
21	19,0	0,91 (3H, d, 6,3)	18,7
22	138,4	5,08 (1H, dd, 8,4 et 15)	137,8
23	129,2	5,03 (1H, dd, 8,4 et 15)	128,7
24	29,7	0,97 (1H, s)	31,2
25	31,7	1,56 (1H, m)	31,2
26	20,0	0,81 (3H, d, 6,3)	19,2
27	19,5	0,88 (3H, d, 6,3)	18,8
28	23,1	1,02 (2H, s)	23,7
29	12,0	0,72 (3H, d, 8,4)	11,5
1'	101,3	4,15 (1H, d, 7,8)	100,7
2'	70,5	3,00 (1H, d, 5,5)	70,1
3'	77,2	3,11 (1H, m)	76,7
4'	73,9	2,85 (1H, t, 8,3)	73,4
5'	77,6	3,08 (1H, m)	76,6
6'	61,6	3,59 (2H, d, 11,6)	61,1

L'ensemble de ces données physiques, spectroscopiques comparées à celles décrites dans la littérature, nous a permis d'identifier la structure de TED2 à celle d'un Glucoside de stigmastérol ou le stigmast-5,22-dien-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside **92** (Ahmad Ridhay et al., 2012).



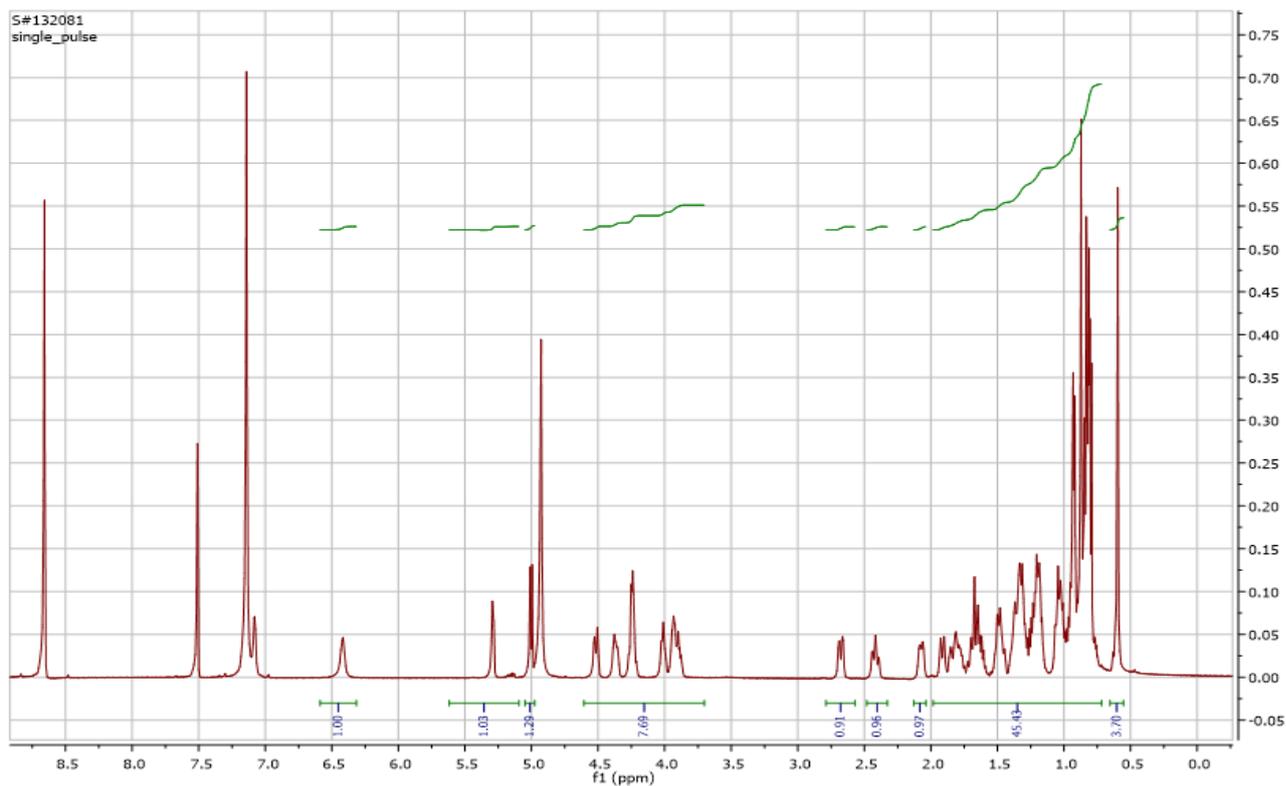
### II.16- Identification de TED3

Le composé TED3 se présente sous forme de poudre blanche dans le mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (20/1). Il est soluble dans le DMSO et répond positivement au test de Liebermann Burchard en donnant une coloration bleue qui vire rapidement au vert foncé caractéristique des stérols. Il réagit positivement aussi au test de Molish suggérant ainsi la présence d'ose dans la structure de TED3. Il s'agirait donc d'un glycoside de stéroïde (Overton, 1977).

TED3 a été identifié au 3- $\beta$ -*D*-glucopyranosyle de  $\beta$ -sitostérol. Ceci par comparaison directe avec un échantillon précédemment isolé dans notre laboratoire et par comparaison de ses données spectrales avec celles décrites dans la littérature.

En effet, l'analyse de son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 52) présente :

- Deux singulets de trois protons chacun à  $\delta_{\text{H}}$  0,59 et 0,87 attribuable respectivement aux protons des méthyles angulaires en C-18 et C-19 ;
- Un triplet de trois protons à  $\delta_{\text{H}}$  0,81 attribuable aux protons en C-29 ;
- Trois doublets de trois protons chacun à  $\delta_{\text{H}}$  0,82 ; 0,80 et à  $\delta_{\text{H}}$  0,78 attribuables respectivement aux protons en C-21, C-26 et C-27 ;
- Un multiplet d'un proton à  $\delta_{\text{H}}$  3,81 correspondant au proton en C-3 ;
- Un triplet d'un proton à  $\delta_{\text{H}}$  5,28 caractéristique du proton oléfinique en C-6 ;
- Les signaux des protons du glucose dans la zone allant de  $\delta_{\text{H}}$  3,89 à  $\delta_{\text{H}}$  4,99 ;
- Un doublet d'un proton à  $\delta_{\text{H}}$  4,99 correspond au proton anomérique du glucose.



**Figure 52 :** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz ;  $\text{DMSO-}d_6$ ) de TED3

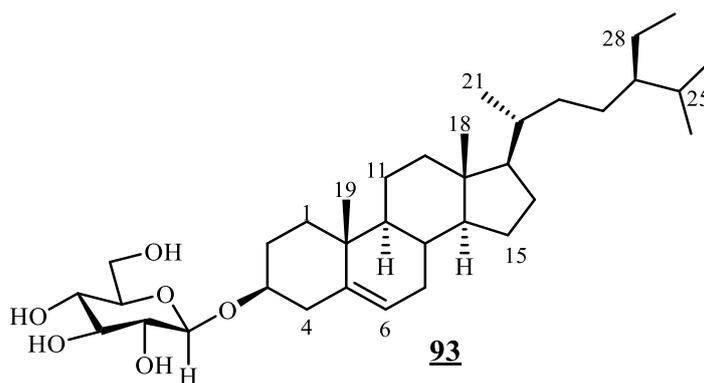
Sur son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  totalement découplé carbone large bande fait ressortir 35 signaux correspondants aux 35 atomes de carbone présents dans la molécule.

Un des signaux de six atomes carbonés du sucre apparaissent à :  $\delta_c$  62,50 (C-6'/ $\text{CH}_2$ ), 71,13 (C-4'/CH), 74,80 (C-2'/CH), 76,53 (C-5'/CH), 77,97 (C-3'/CH), 100,05 (C-1'/CH) montre qu'il s'agit du glucose (Mahbuba et al., 2011).

**Tableau XXVI** : Données spectrales RMN (DMSO- $d_6$ ) :  $^1\text{H}$  (500 MHz,) et  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de TED3 comparées à celles de la littérature.

N° C	TED3		3- $\beta$ -D-glucopyranoside de $\beta$ -sitostérol (Mahbuta et al., 2011)	
	$\delta_C$	$\delta_H$ (nH, m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (nH, m, J en Hz)
1	38,4	1,04 (2H, m)	36,8	1,25 (2H, m)
2	30,7	1,20 (2H, m)	29,1	1,33 (2H, m)
3	80,0	4,1 (1H, m)	78,6	3,13 (1H, m)
4	43,4	1,68 (2H, m)	42,1	2,14 (2H, m)
5	145,3	-	139,9	-
6	124,4	5,28 (1H, s)	121,5	5,09 (1H, s)
7	32,6	1,61 (2H, m)	31,4	1,73(2H, m)
8	32,5	0,93 (1H, m)	31,4	1,22 (1H, m)
9	50,8	0,97 (1H, m)	49,8	1,22 (1H, m)
10	38,9	-	36,2	-
11	22,7	1,18 (2H, m)	20,2	1,33 (2H, m)
12	40,7	1,24 (2H, m)	38,2	1,33 (2H, m)
13	43,9	-	41,8	-
14	58,2	1,02 (1H, m)	56,3	1,22 (1H, m)
15	25,9	1,50 (2H, m)	23,7	1,73 (2H, m)
16	27,9	1, 25 (2H, m)	27,7	1,73 (2H, m)
17	56,6	1, 33 (2H, m)	55,6	1,73 (2H, m)
18	12,4	0,59 (3H, s)	11,2	0,62 (3H, s)
19	20,4	0,87 (3H, s)	19,1	0,94 (3H, s)
20	37,8	1,18 (1H, m)	35,7	1,32 (1H, m)
21	19,6	0,82 (3H, d, 6,2)	18,6	0,84 (3H, d, 6,3)
22	34,6	1,31 (2H, m)	33,5	1,73 (2H, m)
23	27,8	1,36 (2H, m)	25,6	1,73 (2H, m)
24	48,5	0,91 (1H, m)	45,4	1,12 (1H, m)
25	30,9	1,65 (1H, m)	28,7	2,14 (1H, m)
26	19,4	0,80 (3H, d, 7,5)	18,6	0,75 (3H, d, 7,7)
27	20,8	0,78 (3H, d, 1.6)	18,3	0,73 (3H, d, 1,6)
28	23,8	1, 22 (1H, m)	22,6	1,33 (2H, m)
29	13,6	0,81 (3H, t, 6,8)	12,2	0,77 (3H, t, 6,9)
1'	102,0	4,99 (1H, d, 7,9)	100,7	4,11 (1H, d, 7,8)
2'	74,8	4,37(1H, m)	73,2	3,14 (1H, m)
3'	77,9	4,23 (1H, m)	76,1	3,14 (1H, m)
4'	72,1	4,00 (1H, m)	69,9	3,14 (1H, m)
5'	76,5	3,92 (1H, m)	75,6	3,06 (1H, m)
6'	64,3	3,89 (1H, m)	61,3	2,94 (1H, m)

L'ensemble de toutes ces données spectrales comparées à celles de la littérature nous ont permis d'attribuer au composé TED3 la structure **93** qui est celle du 3- $\beta$ -D-glucopyranoside de  $\beta$ -sitostérol (Mahbuta et al., 2011).

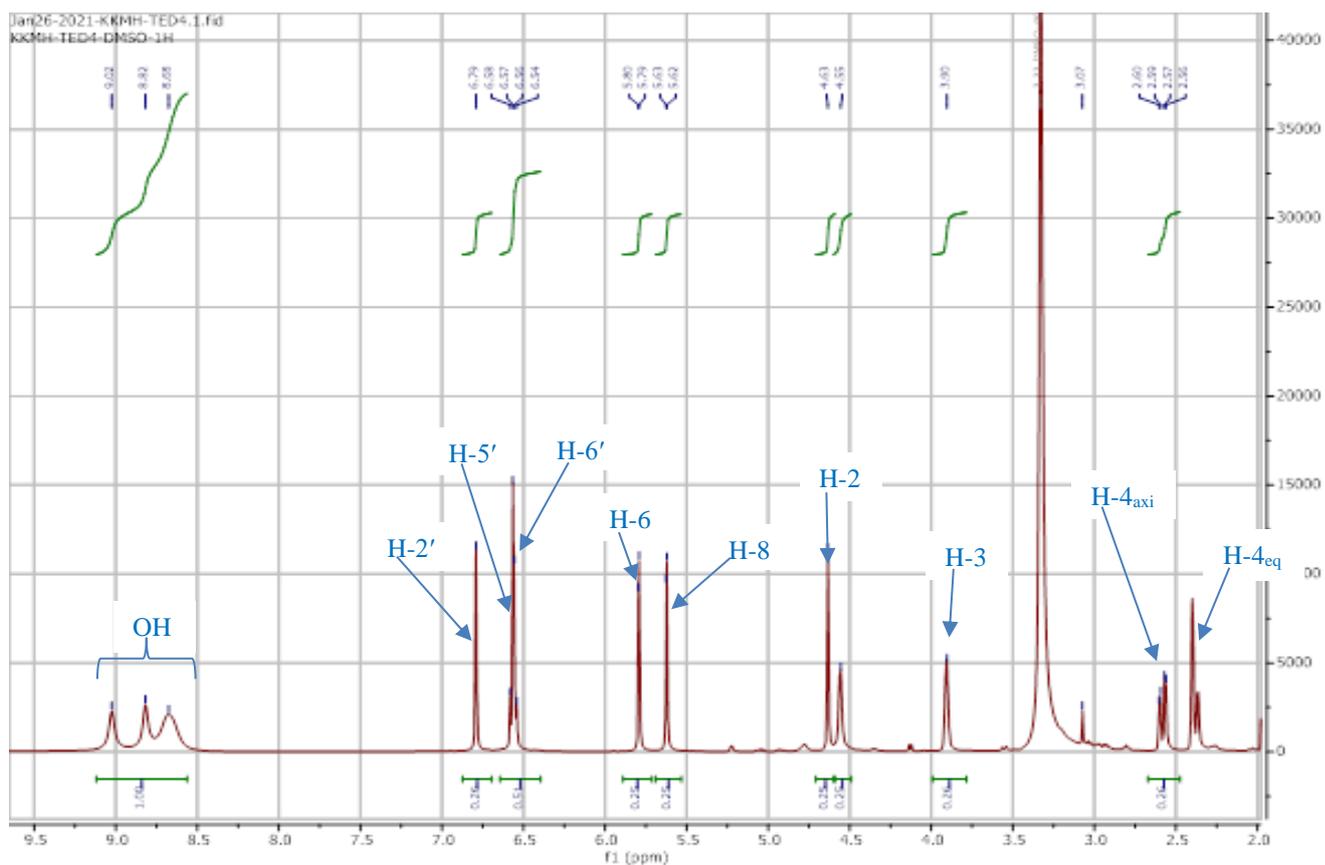


### II.17- Identification de TED4

Le composé TED4 a été isolé sous forme de poudre violette dans le mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (10/1). Il répond positivement au test au  $\text{FeCl}_3$  suggérant la présence des hydroxyles phénoliques et au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Son spectre de masse ESI haute resolution en mode positif présente l'ion pseudo-moléculaire  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  291,0887 (calculée 291,0869 pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_6$ ) ; d'où la formule brute  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$  qui renferme 9 degrés d'insaturations.

L'analyse du spectre de RMN  $^1\text{H}$  (**Fig. 53**) de TED4 laisse apparaître un système de type ABMX de 4 protons à  $\delta_{\text{H}}$  2,60 ; 2,57 ; 3,90 et 4,63 caractéristiques, respectivement des protons H-4eq ; H-4ax, H-3 et H-2 du cycle C du squelette de type flavanol. Par ailleurs, on observe sur ce spectre :

- Trois signaux large, de 4 protons échangeables à l'eau lourde à  $\delta_{\text{H}}$  9,02 ; 8,82 et 8,8 et 8,68 attribuables à 4 hydroxyles phénoliques et un quatrième à  $\delta_{\text{H}}$  4,55 correspondant à l'hydroxyle porté par un carbone hybridé  $sp^3$ .
- Un système ABX constitué d'un doublet à  $\delta_{\text{H}}$  6,79 (1H, d,  $J=1,8$  Hz) ; d'un doublet dédoublé à  $\delta_{\text{H}}$  6,56 (1H, dd,  $J=1,8$  et, 8,3 Hz) et un autre doublet à  $\delta_{\text{H}}$  6,57 (1H, d,  $J=8,3$  Hz) qu'on pourrait attribuer respectivement aux protons H-2', H-6' et H-5' du cycle B.
- Deux doublets d'un proton avec une constante de couplage méta  $J=2,2$  Hz à  $\delta_{\text{H}}$  5,80 et 5,62 caractéristiques des protons H-6 et H-8 du cycle A.



**Figure 53:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz ; DMSO- $d_6$ ) de TED4

Sur son spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) (**Fig. 54**) on observe : les corrélations entre le proton H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,90) et le proton H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4,63). Ce qui confirme la présence des sous-structures (I) et (II) dans la structure de TED4.

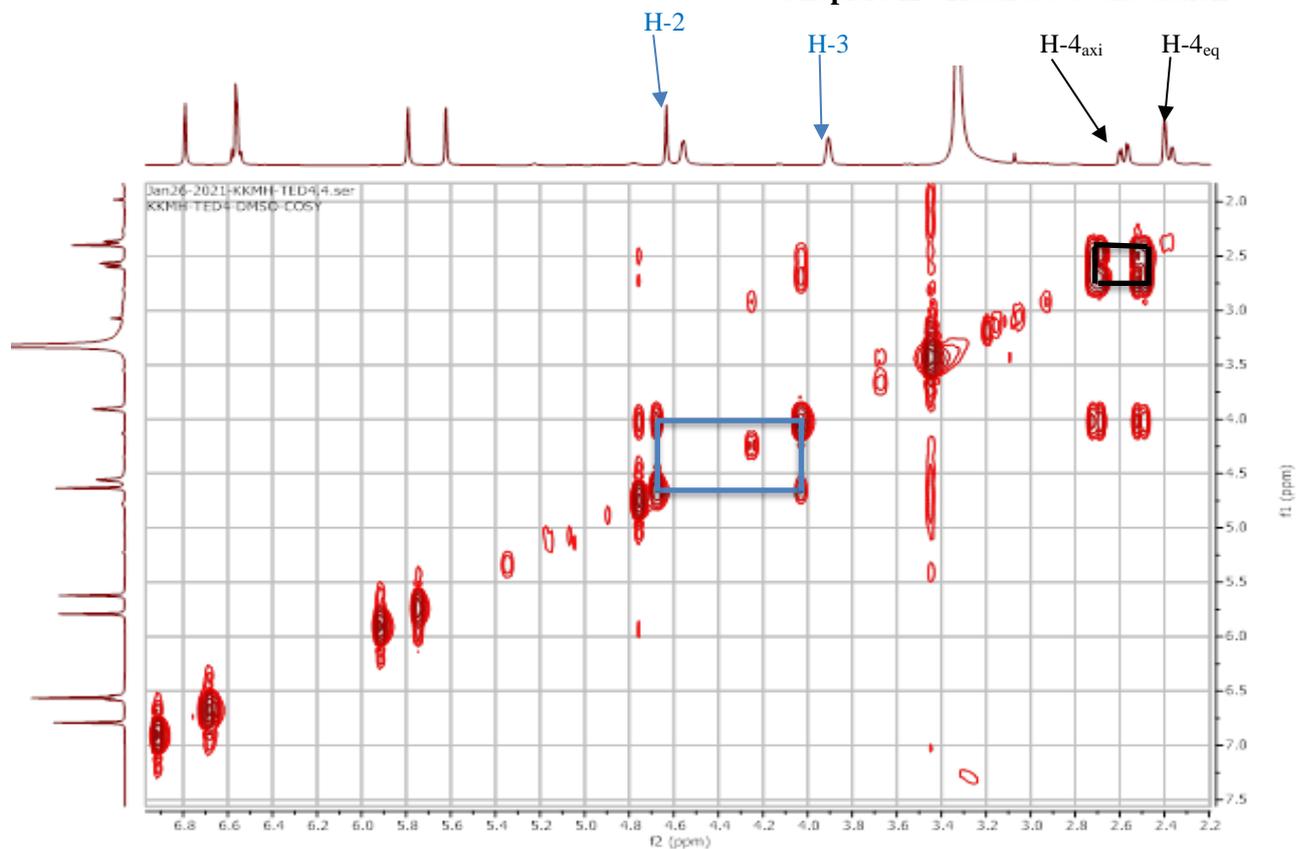


Figure 54 : Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de TED4.



Sur son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Fig. 55**) totalement découplé carbone large bande on observe 15 signaux correspondants aux quinze atomes de carbone présents dans la molécule. L'analyse de ces signaux par la technique DEPT 135 (**Fig. 56**) montre les signaux de :

- Un méthylène hybridé  $sp^3$  à  $\delta_{\text{C}}$  28,2 ppm correspondant au carbone C-4 ;
- Sept méthines, dont 2 hybridés  $sp^3$  à  $\delta_{\text{C}}$  64,9 et 78,0 attribuables respectivement aux carbones C-3 et C-2 ; et 5 hybridés  $sp^2$  ;
- Sept atomes de carbone quaternaire tous hybridés  $sp^2$ .

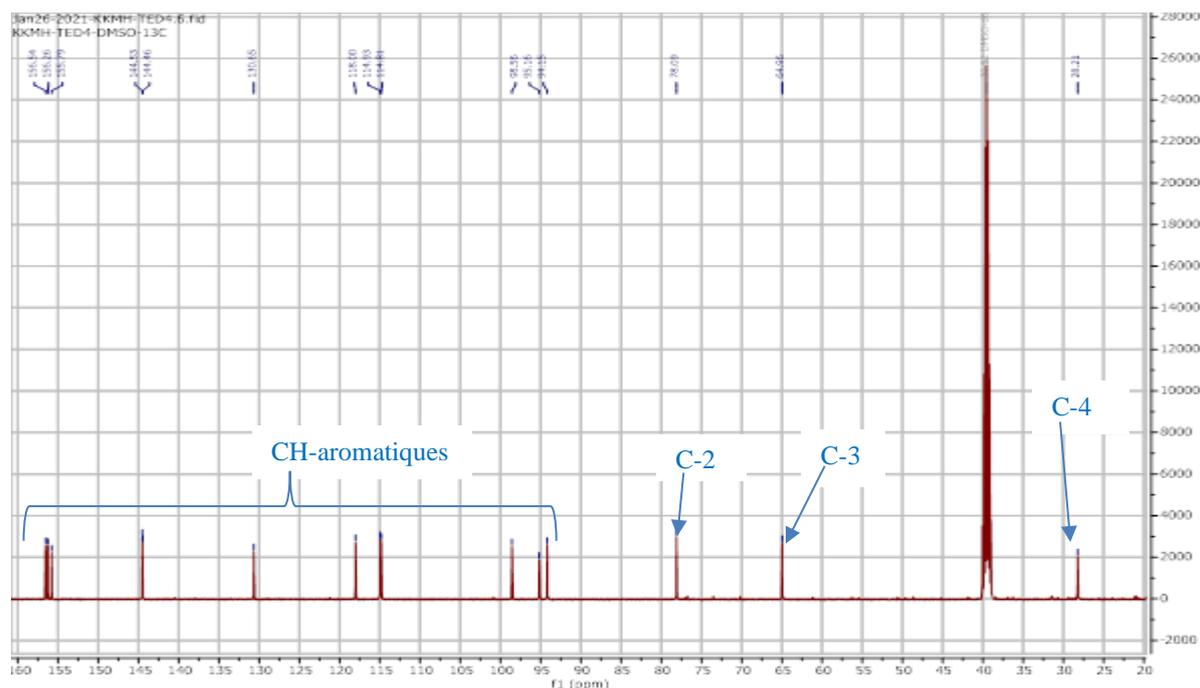


Figure 55 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de TED4

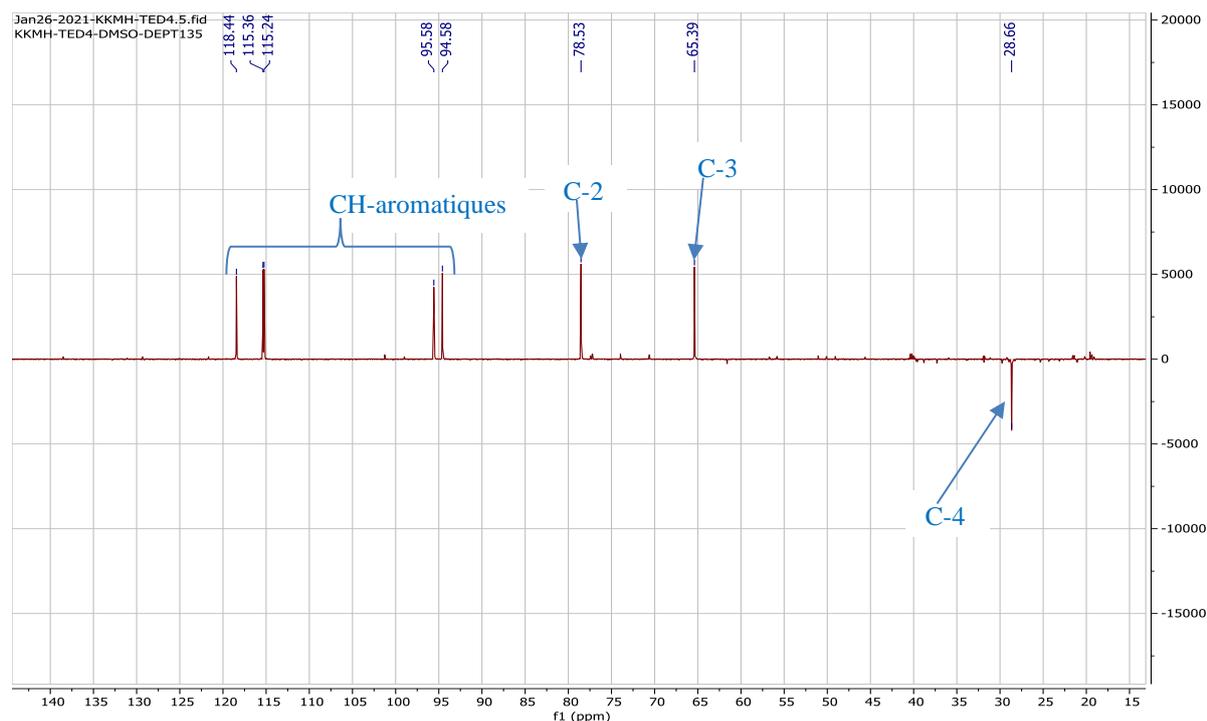


Figure 56 : Spectre DEPT 135 (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de TED4

Les corrélations importantes sont observées sur le spectre HMBC (Fig. 57) entre les protons H-2' ; H-6' et le C-2 ; entre H-2 et les carbones C-1' ; C-2' et C-6' permettant de relier les sous-structures (I) et (II).

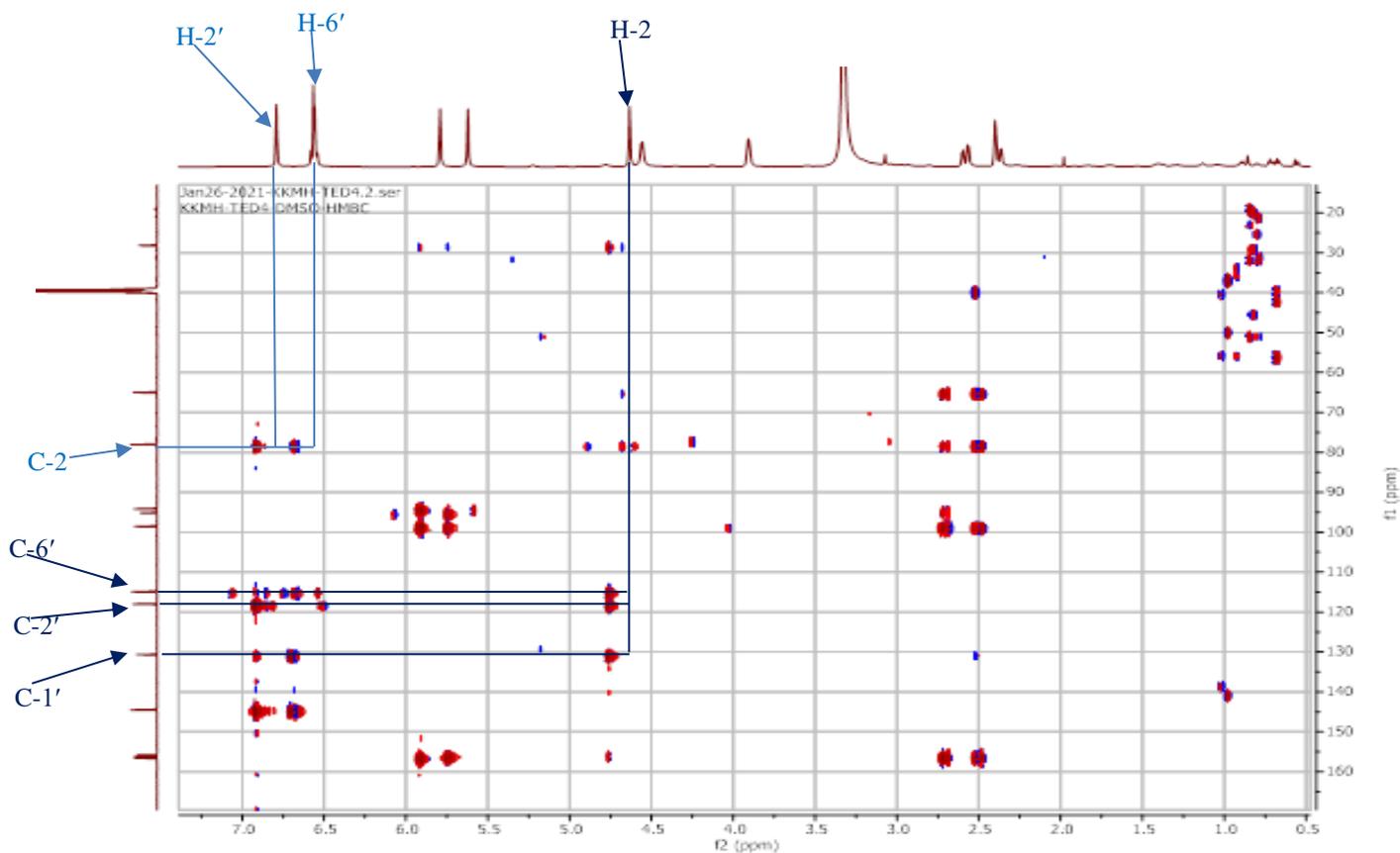


Figure 57 : Spectre HMBC de TED4.

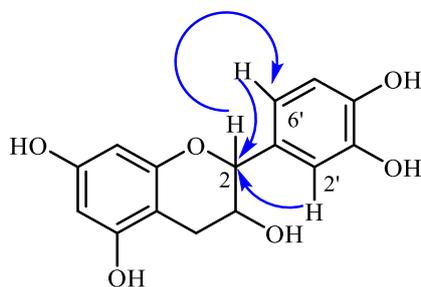
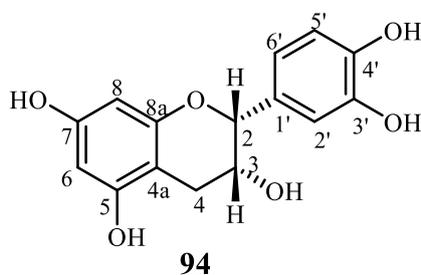


Schéma 10 : Corrélations observées sur le spectre HMBC de TED4

**Tableau XXVII** : Données spectrales RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) : <sup>1</sup>H (500 MHz) et <sup>13</sup>C (125 MHz) de TED4.

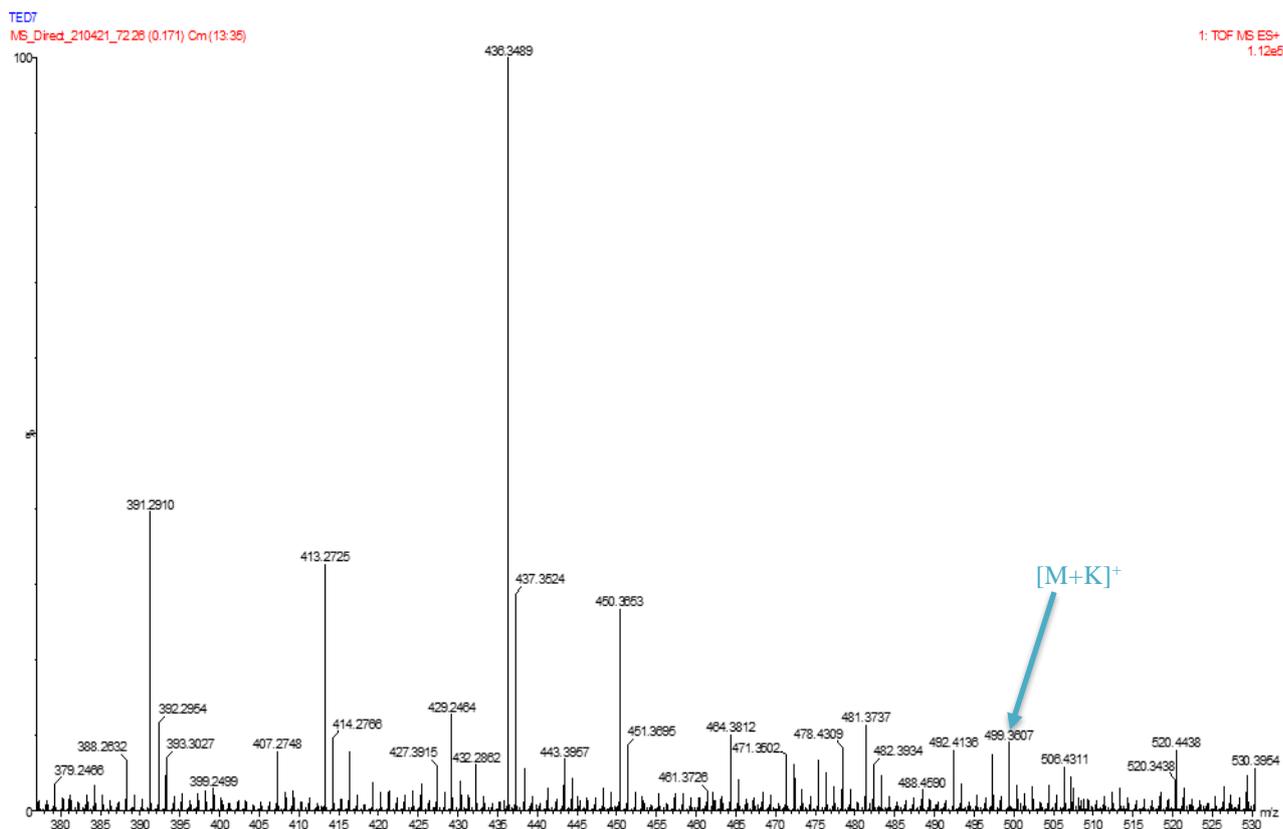
N° C	TED4			(+) - <i>epi</i> -catéchine (El-Razek, 2007)	
	δ <sub>C</sub>	DEPT	δ <sub>H</sub> (nH, m, <i>J</i> en Hz)	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub> (nH, m, <i>J</i> en Hz)
2	78,0	CH	4,63 (1H, s)	79,6	4,85 (s)
3	64,9	CH	3,90 (1H, s)	67,1	4,18 (br s)
4 axi	28,2	CH	2,60 (1H, d, 4,6)	29,2	2,83 (br d, 17,0)
4 eq	28,6	CH	2,57 (1H, d, 4,6)	29,2	2,70 (br d, 17,0)
4a	98,5	C	-	100,0	-
5	156,2	C	-	157,8	-
6	95,1	CH	5,80 (1H, d, 2,3)	96,3	5,99 (d, 1,8)
7	156,5	C	-	157,8	-
8	94,1	CH	5,62 (1H, d, 2,3)	95,5	5,88 (d, 1,8)
8a	155,7	C	-	157,4	-
1'	130,6	C	-	132,5	-
2'	114,8	CH	6,79 (1H, d, 8,0)	115,5	7,01 (d, 1,8)
3'	144,4	C	-	145,6	-
4'	144,5	C	-	145,5	-
5'	114,9	CH	6,57 (1H, d, 1,8)	115,7	6,75 (d, 8,0)
6'	118,0	CH	6,56 (1H, dd, 8,0 et 1,8)	119,6	6,80 (dd, 8,0 et 1,8)

Toutes ces données comparées à celles décrites dans la littérature nous ont permis d'attribuer au composé TED4 la structure de l'épicatéchine **94** isolée la première fois du genre *Symphonia* et décrite antérieurement (Mohamad *et al.*, 2021 ; El-Razek, 2007).



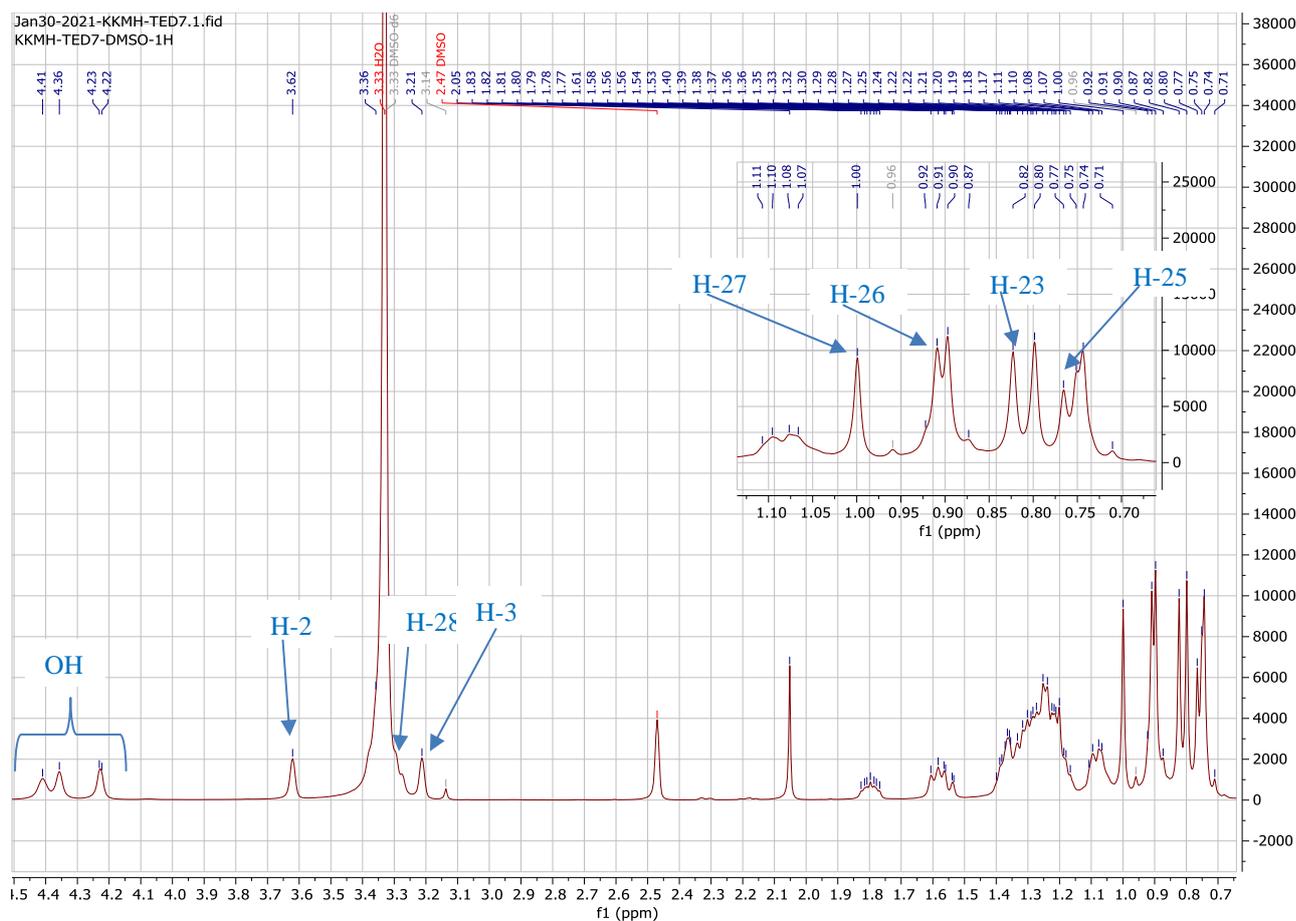
### II.18- Détermination de la structure de TED7.

Le composé TED7 a été isolé sous forme de poudre amorphe jaune. Il est soluble dans le DMSO et répond positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpénoïdes. En SMESIHR (Fig. 58), la formule C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>O<sub>3</sub> a été attribuée à TED7 car le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+K]<sup>+</sup> est apparu à m/z 499,3607 (calculé pour C<sub>30</sub>H<sub>53</sub>KO<sub>3</sub>, 499,3554). TED7 a donc la masse moléculaire 460 et comme la formule brute est C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>O<sub>3</sub>, le nombre d'insaturations est 5.



**Figure 58** : spectre de masse TED7

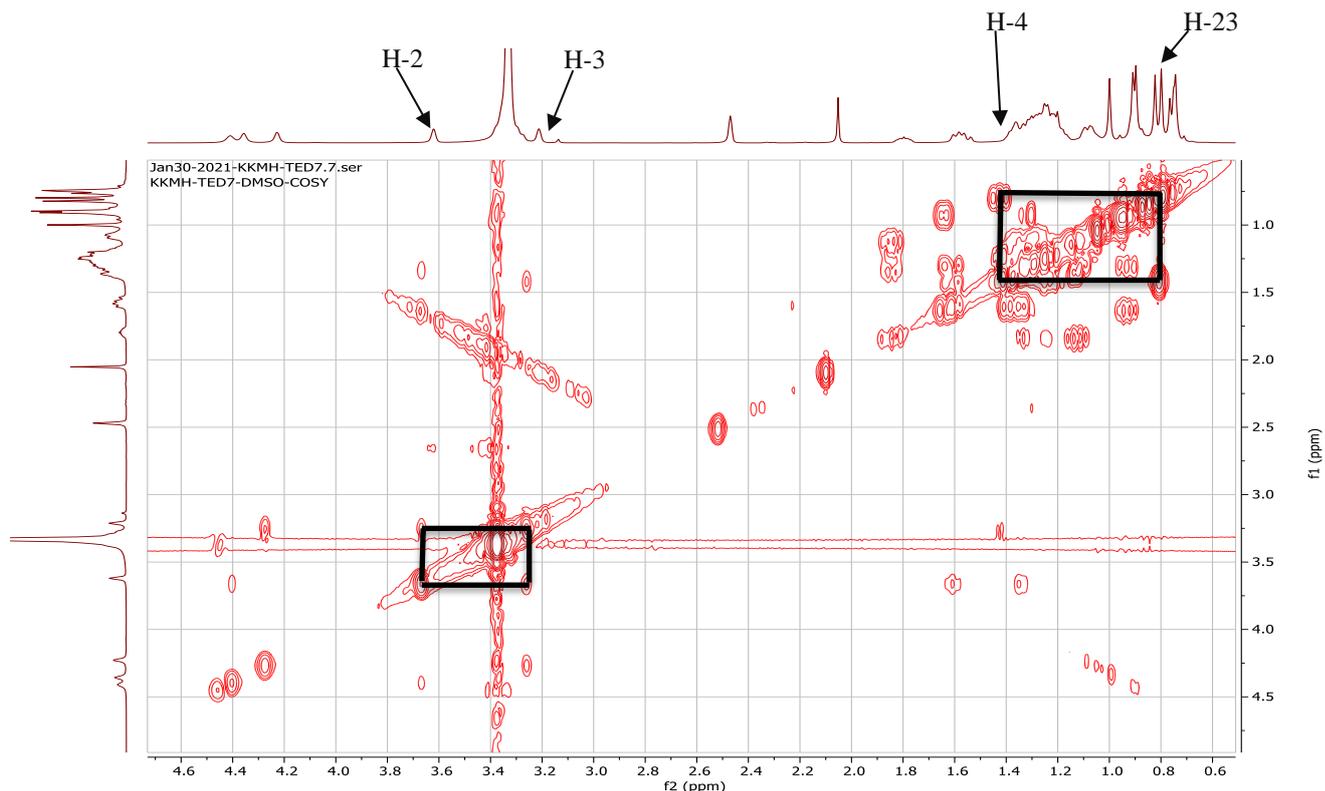
Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (**Fig. 59**) présente six groupes méthyle angulaires entre  $\delta_{\text{H}}$  0,72-1,28 et un groupe méthyle secondaire à  $\delta_{\text{H}}$  0,82 ( $J = 7,2$  Hz, H-23) caractéristiques des dérivés du friedelane (**Mahato et Kundu, 1994**). De plus, ce spectre montre un signal proton du méthylène oxygéné à  $\delta_{\text{H}}$  3,28 (H-28) et deux signaux des protons de méthines oxygénés à  $\delta_{\text{H}}$  3,61 (H-2, m) et 3,19 (1H, d,  $J = 11,2$  Hz, H-3).



**Figure 59** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz ;  $\text{DMSO-}d_6$ ) de TED7.

Dans le spectre COSY (**Fig. 60**), on observe la corrélation entre :

- Le proton H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  3,61) du méthine oxygéné en position 2 avec le proton H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,19) et le proton H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  1,31).
- Le proton H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,19) avec le proton H-4 à ( $\delta_{\text{H}}$  1,39).
- Le proton H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  1,39) et le proton H-23 ( $\delta_{\text{H}}$  0,82).
- Les protons H-19 ( $\delta_{\text{H}}$  1,38) et le proton H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  1,24).



**Figure 60** : Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de TED7

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Fig. 61**) montre les signaux des trente atomes de carbone contenus dans la formule moléculaire. L'analyse de ces signaux par les techniques DEPT 135 et HSQC (**Fig. 62** et **Fig. 63**) révèle la présence de sept signaux à  $\delta_{\text{C}}$  11,3 ; 16,4 ; 18,2 ; 18,7 ; 19,5 ; 33,2 et 34,6 correspondant à sept groupes méthyle d'un squelette triterpénoïde pentacyclique, dont celui à  $\delta_{\text{C}}$  11,3 (C-23) est caractéristique d'un squelette de type friedelane (**Mahato et Kundu, 1994**). On observe aussi les signaux de onze groupes méthylène entre  $\delta_{\text{C}}$  17,7 et 66,6, dont un porte un hydroxyle à  $\delta_{\text{C}}$  66,6 (C-28) ; ceux de six groupes méthine dont deux oxygénés à  $\delta_{\text{C}}$  70,6 (C-2) et 75,2 (C-3) ; ceux de six atomes carbones quaternaires entre  $\delta_{\text{C}}$  21,1 et 38,9.

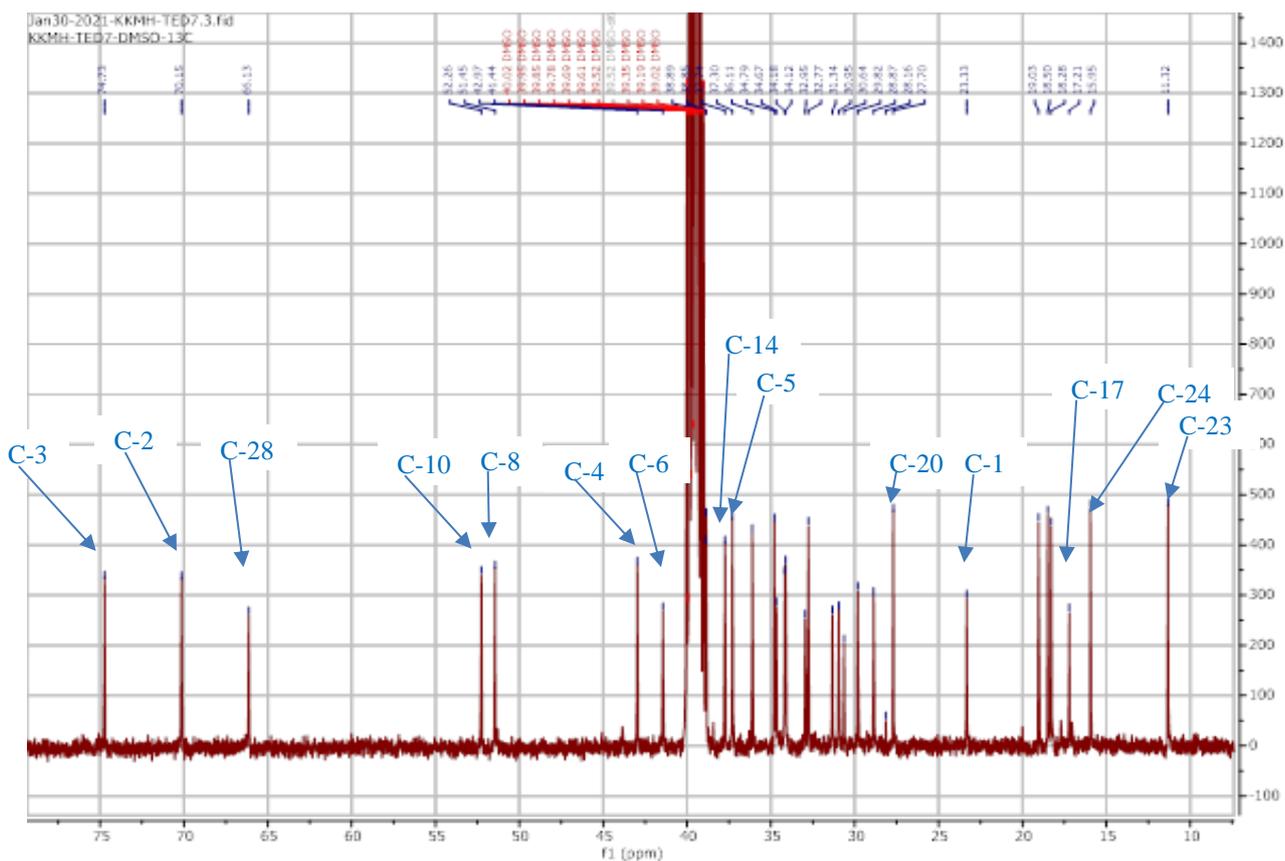


Figure 61 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz ; DMSO- $d_6$ ) de TED7

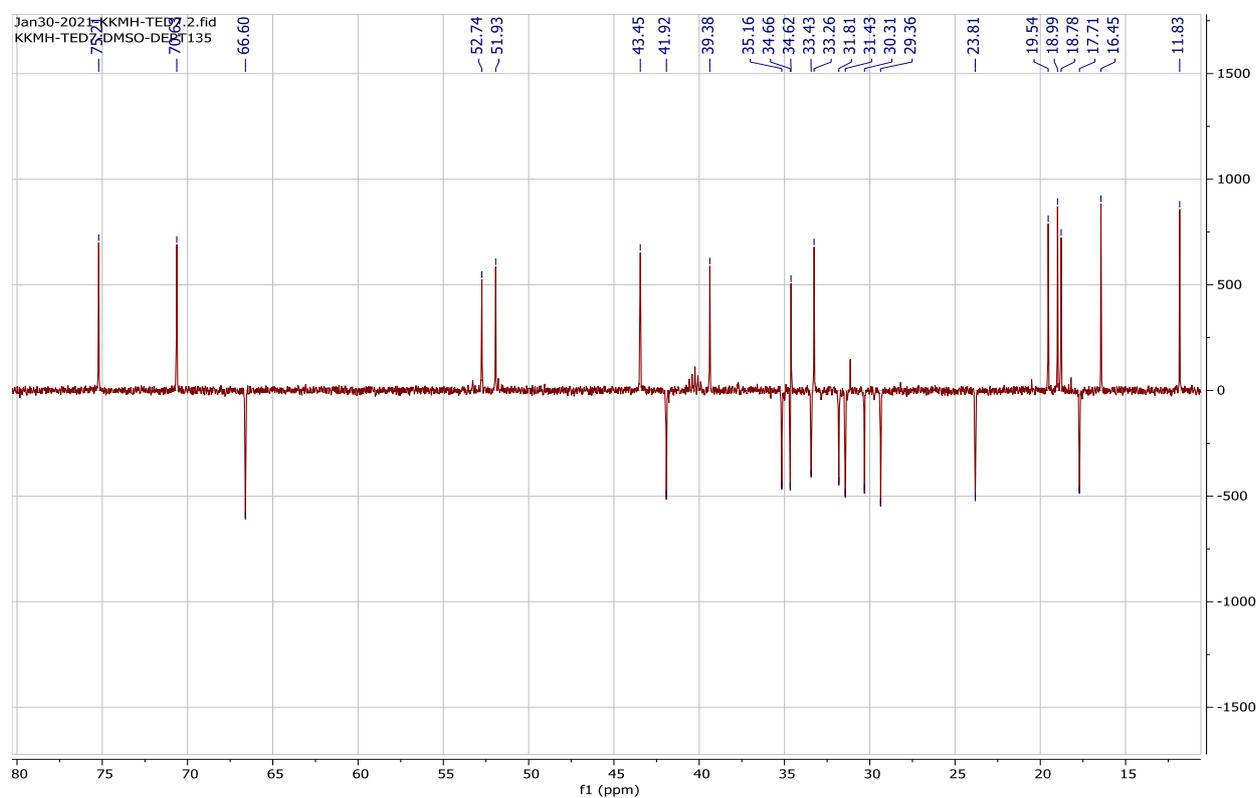
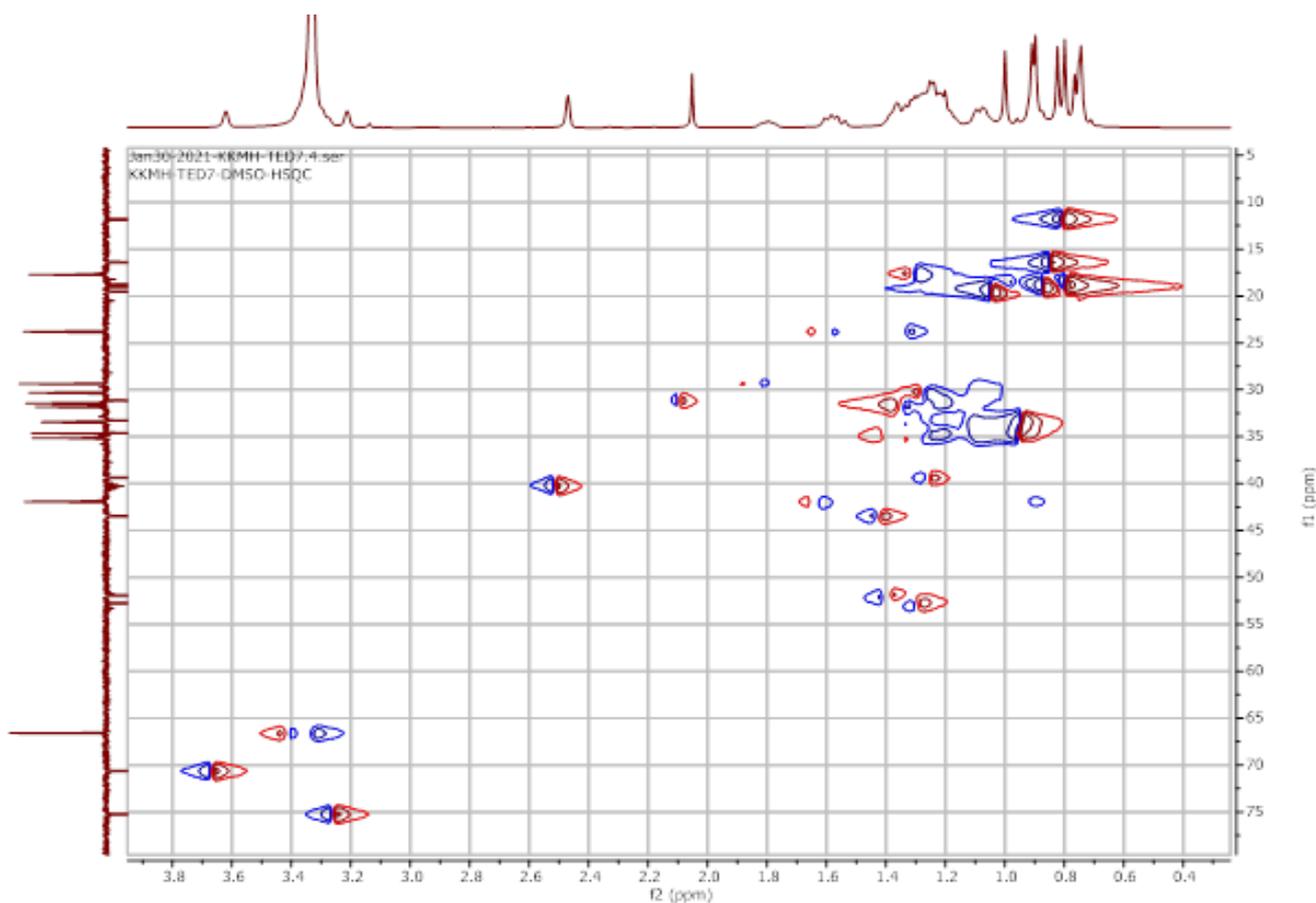


Figure 62 : Spectre DEPT 135 (125 MHz ; DMSO- $d_6$ ) de TED7



**Figure 63** : Spectre de HSQC de TED7

Le spectre HMBC (**Fig. 64**) montre des corrélations entre :

- H-23 et C-3 ( $\delta_C$  75,2), C-4 ( $\delta_C$  42,9) et C-5 ( $\delta_C$  37,7).
- Les protons du méthyle CH<sub>3</sub>-29 ( $\delta_H$  1,10) et C-19 ( $\delta_C$  31,3) et C-30 ( $\delta_C$  33,2). Les protons du méthyle CH<sub>3</sub>-27 ( $\delta_H$  0,99) et C-14 ( $\delta_C$  38,8).
- Les protons CH<sub>3</sub>-26 ( $\delta_H$  0,91) et C-18 ( $\delta_C$  39,3).
- Entre les protons du méthyle CH<sub>3</sub>-25 ( $\delta_H$  0,76) et C-8 ( $\delta_C$  51,4).

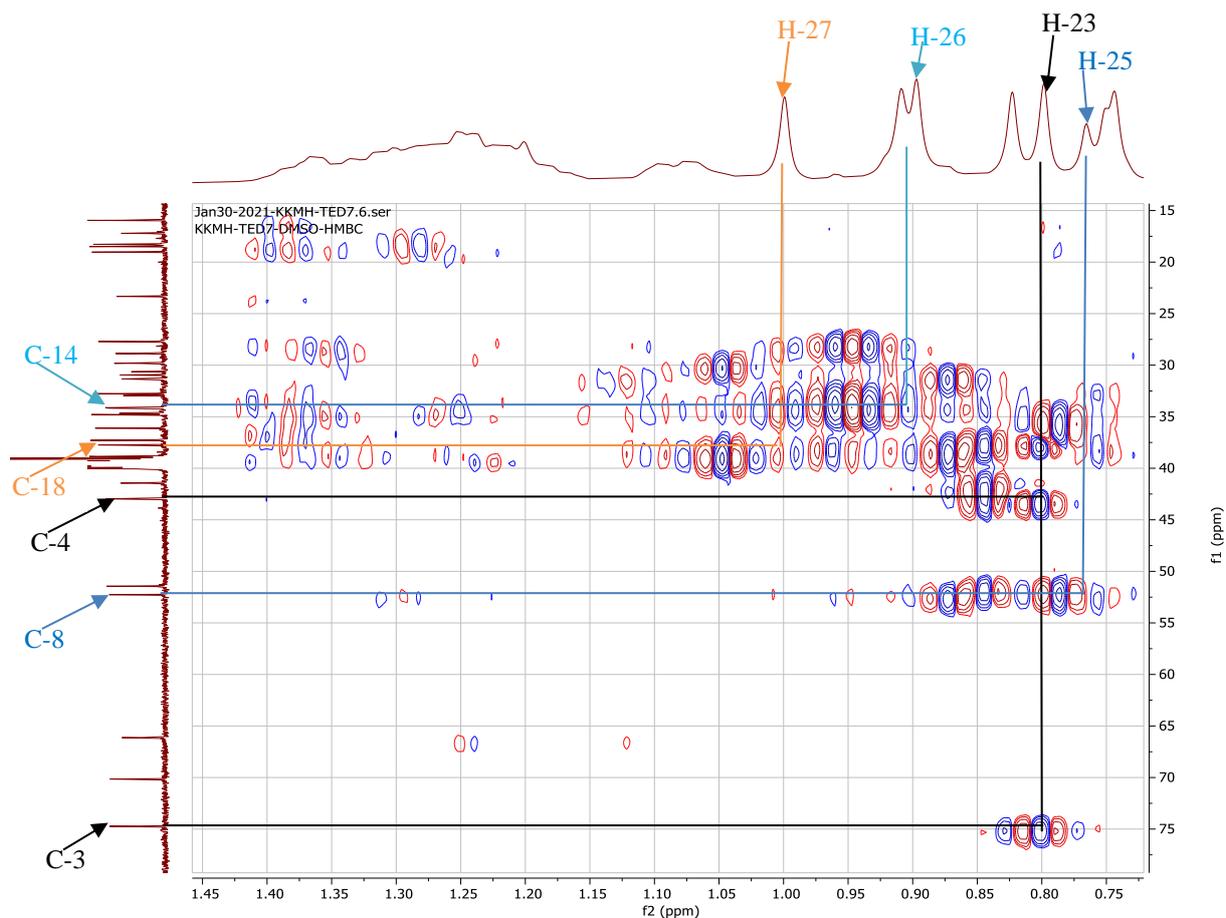


Figure 64 : Spectre HMBC de TED7

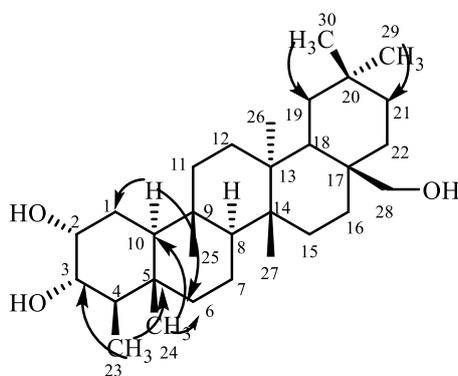
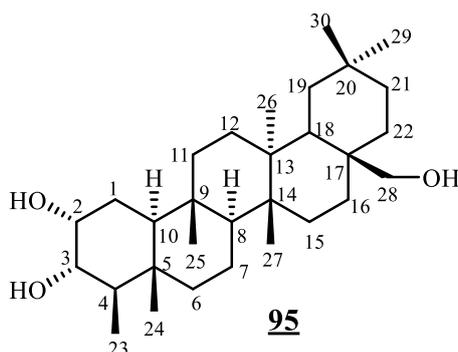


Schéma 11 : quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de TED7

**Tableau XXVIII** : Données spectrales RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) : <sup>1</sup>H (500 MHz) et <sup>13</sup>C (125 MHz) de TED7.

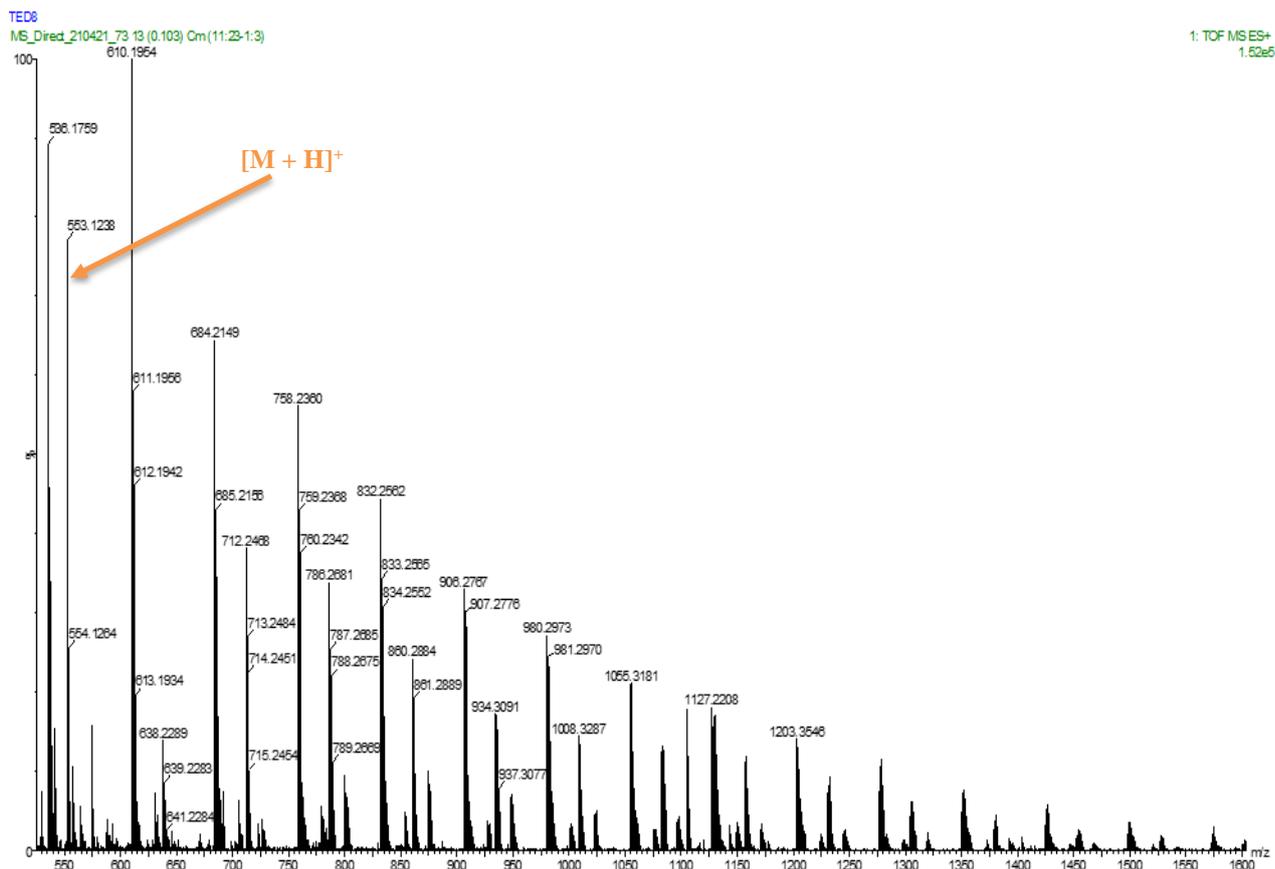
N° C	TED7			
	$\delta_C$	DEPT	$\delta_H$ (nH, m, <i>J</i> en Hz)	HMBC
1	23,3	CH <sub>2</sub>	1,31 (2H, m)	-
2	70,6	CH	3,61 (1H, m)	
3	75,2	CH	3,19 (1H, t, 11,2)	-
4	42,9	CH	1,39 (1H, d, 11,2)	C-23; C-24
5	37,7	C	-	-
6	41,4	CH <sub>2</sub>	1,60 (2H, m)	C-24
7	17,7	CH <sub>2</sub>	1,28 (2H, m)	C-6; C-8
8	51,4	CH	1,36 (1H, m)	C-25
9	36,1	C	-	-
10	52,2	CH	1,26 (1H, m)	C-1; C-6; C-24; C-25
11	34,7	CH <sub>2</sub>	1,44 (2H, m)	C-25
12	29,8	CH <sub>2</sub>	1,32 (2H, m)	C-27
13	38,9	C	-	-
14	38,8	C	-	-
15	30,6	CH <sub>2</sub>	1,30 (2H, m)	C-8; C-26
16	34,7	CH <sub>2</sub>	1,44 (2H, m)	C-22
17	30,9	C	-	-
18	39,3	CH	1,24 (1H, m)	C-27; C-12
19	31,3	CH <sub>2</sub>	1,38 (1H, m)	-
20	28,1	C	-	-
21	29,3	CH <sub>2</sub>	1,32 (2H, m)	C-29; C-30
22	35,1	CH <sub>2</sub>	1,20 (2H, m)	-
23	11,3	CH <sub>3</sub>	0,82 (3H, d, 7,2)	C-3; C-4; C-5
24	16,4	CH <sub>3</sub>	0,87 (3H, s)	C-6; C-4; C-10
25	18,7	CH <sub>3</sub>	0,76 (3H, s)	C-8
26	18,2	CH <sub>3</sub>	0,91 (3H, s)	C-14
27	19,5	CH <sub>3</sub>	0,99 (3H, s)	C-18
28	66,6	CH <sub>2</sub>	3,28 (2H, s)	-
29	34,6	CH <sub>3</sub>	1,10 (3H, s)	C-19; C-30
30	33,2	CH <sub>3</sub>	1,22 (3H, s)	C-19; C-21; C-29

Sur la base des données de RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C (**Tableau XXVIII**), le composé TED7 a été identifié comme étant le friedelane-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,28-triol **95** appelé pristriol. Ce composé est un composé connu qui a déjà été isolé du genre *Pristimera* de la famille des Celastraceae (**Sukumar et al., 1990**), mais les données spectroscopiques RMN (1D et 2D) et spectrométriques sont décrites ici pour la première fois dans la littérature.



### II.19- Identification de TED8.

Le composé TED8 a été obtenu sous forme de poudre amorphe jaune. Il répond positivement aux tests de phénol et des flavonoïdes. Sa formule brute  $C_{31}H_{21}O_{10}$  a été déduite de son spectre de masse (**Fig. 65**) haute résolution qui montre l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  553,1238 correspondant à la formule brute  $C_{31}H_{20}O_{10}$  (calculé 553,1135). Ceci implique une masse moléculaire de 552 pour TED8 renfermant 22 degrés d'insaturations.



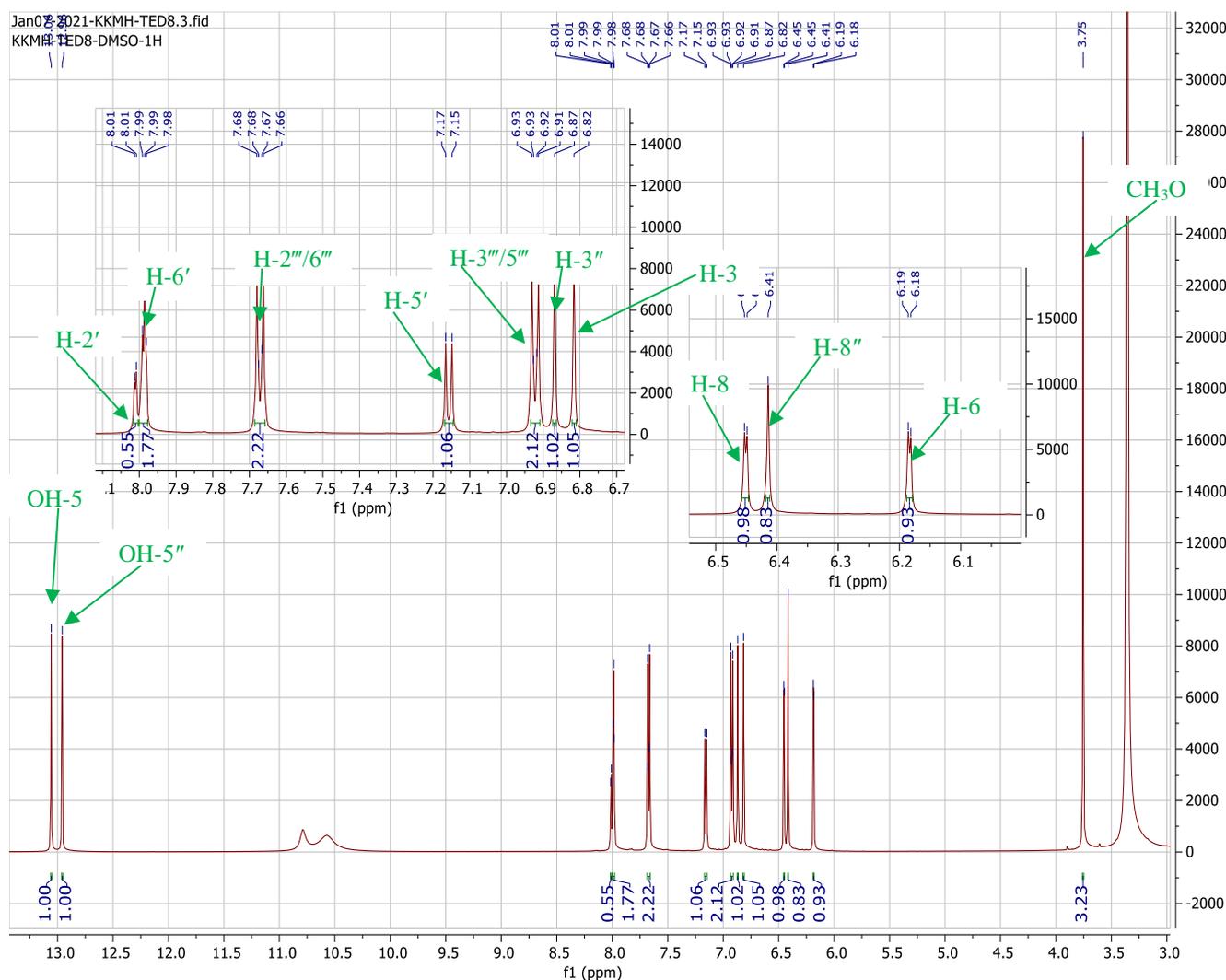
**Figure 65** : Spectre de masse de TED8

L'analyse de son spectre de RMN  $^1H$  (**Fig. 66**) permet d'identifier les signaux caractéristiques d'un dimère de flavonoïde ayant les systèmes de protons suivants impliqués dans la structure de ce biflavonoïde.

- Deux signaux en singulet chacun intégrant un proton à  $\delta_H$  6,82 (1H, s, H-3) et 6,87 (1H, s, H-3''). Ces signaux sont caractéristiques des protons en position H-3 dans le noyau C des flavones. Ceci confirme que TED8 est un dimère constitué de deux unités de flavone.
- Un autre signal en singulet d'un proton aromatique très blindé à  $\delta_H$  6,42 suggérant la présence d'un noyau aromatique penta-substitué portant plusieurs substituants oxygénés (noyau A').
- Les signaux de trois protons déblindés sur un noyau aromatique tri substitué (noyau B) montrant une substitution *ortho/méta* à  $\delta_H$  8,02 (1H, d,  $J=2,5$  Hz, H-2') ; 7,97 (1H, dd,  $J=8,5$  et 2,5 Hz, H-6') et 7,16 (1H, d,  $J=8,5$  Hz, H-5').
- Les signaux de deux protons très blindés sur un noyau aromatique tétra substitué (noyau A) montrant un couplage *méta*, à  $\delta_H$  6,19 (1H, d,  $J=2,1$  Hz, H-6) et 6,46 (1H, d,  $J=2,1$  Hz, H-8).

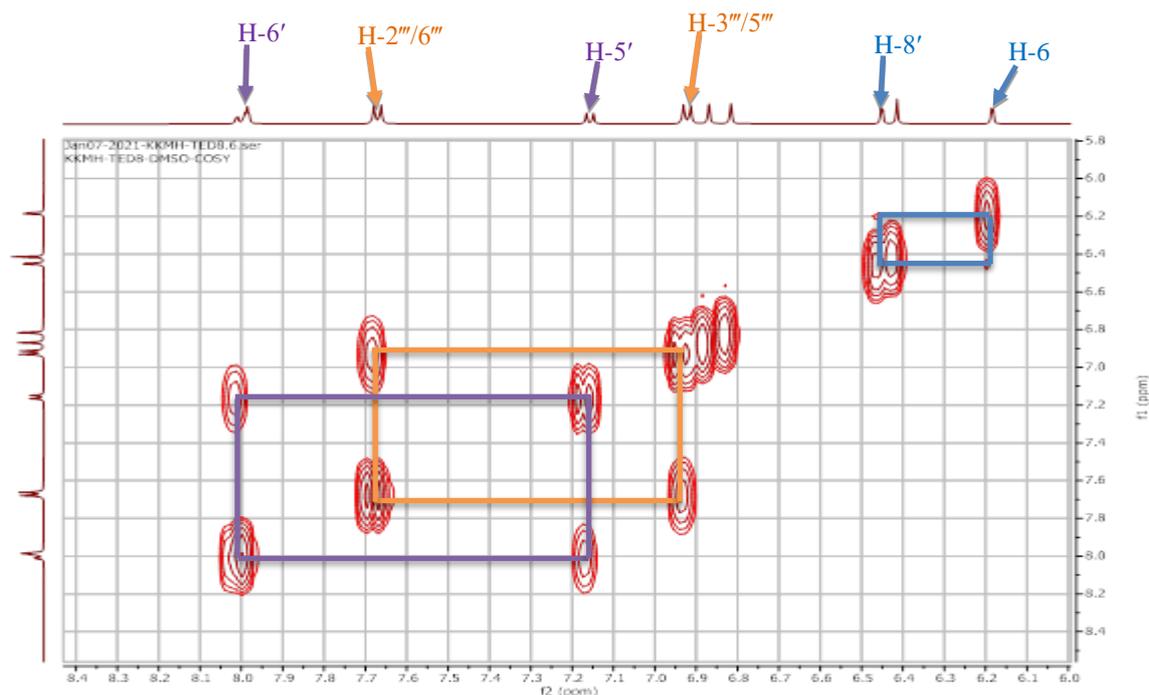
Les signaux de quatre protons sur un noyau aromatique *para* di substitué (noyau B') qui donnent les signaux à  $\delta_H$  7,69 (2H, d,  $J=8,9$  Hz, H-2'''/6''') et  $\delta_H$  7,95 (2H, d,  $J=8,9$  Hz, H-3'''/5''').

- Les signaux en singulet de deux protons phénoliques très déblindés à  $\delta_H$  13,01 (1H, s, OH-5, noyau A) et  $\delta_H$  12,98 (1H, s, OH-5'', noyau A'), chacun intégrant un proton typique des protons de la fonction phénol en position 5 du motif flavone chélaté au carbonyle en *péri*. Nous avons remarqué que ces valeurs sont très proches de celles décrites pour la robustaflavone.
- Un signal en singulet fin des protons du groupe méthoxyle à  $\delta_H$  3,75 (3H, s).



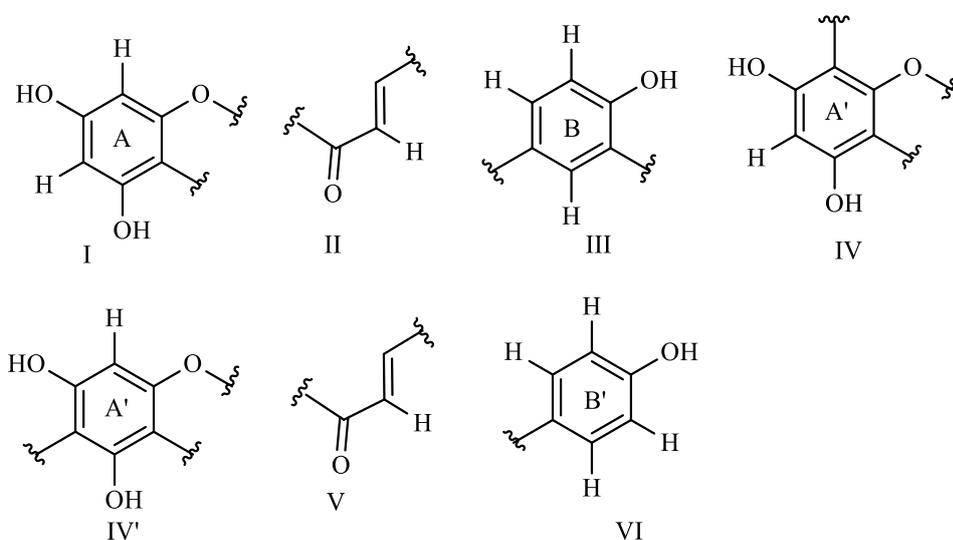
**Figure 66** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de TED8

Sur son spectre COSY ( $^1\text{H-}^1\text{H}$ ) (**Fig. 67**) on observe : une corrélation entre le proton H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  6,19) et le proton H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  6,46) ; une corrélation entre le proton H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  6,97) et le proton H-5' ( $\delta_{\text{H}}$  7,16) ; une corrélation entre les protons H-2'''/6''' ( $\delta_{\text{H}}$  7,69) et les protons H-3'''/5''' ( $\delta_{\text{H}}$  6,95).



**Figure 67** : Spectre COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) de TED8.

Ces renseignements obtenus du spectre RMN  $^1\text{H}$  (1D et 2D COSY) nous amènent à définir les fragments de structures suivants :



L'analyse du spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (**Fig. 68**) et DEPT 135 (**Fig. 69**) permet de voir qu'à l'exception de l'atome de carbone du groupement  $\text{CH}_3\text{O}$  qui est saturé et dont le signal apparaît à  $\delta_{\text{C}}$  55,4 ppm tous les autres 30 atomes de carbone impliqués dans la formule moléculaire sont d'hybridation  $sp^2$  et que les signaux de deux sont d'intensités doubles à  $\delta_{\text{C}}$  127,9 et  $\delta_{\text{C}}$  114,4 correspondant ainsi aux atomes de carbone C-2'''/6''' and C-3'''/5''' du noyau B', para di substitué. On note aussi, des signaux de deux carbonyles qui apparaissent à 182,1 et 181,6 ppm (C-4 et C-4'') ; ceux de douze méthynes à  $\delta_{\text{C}}$  103,0 ; 98,8 ; 94,0 ; 131,3 ; 116,1 ; 127,7 ; 103,2 ; 98,7 et

ceux de seize atomes de carbone quaternaire dont dix portent chacun un atome d'oxygène à  $\delta_C$  164,0 ; 160,5 ; 163,7 ; 157,3 ; 159,5 ; 163,2 ; 160,5 ; 161,4 ; 154,5 et 162,1.

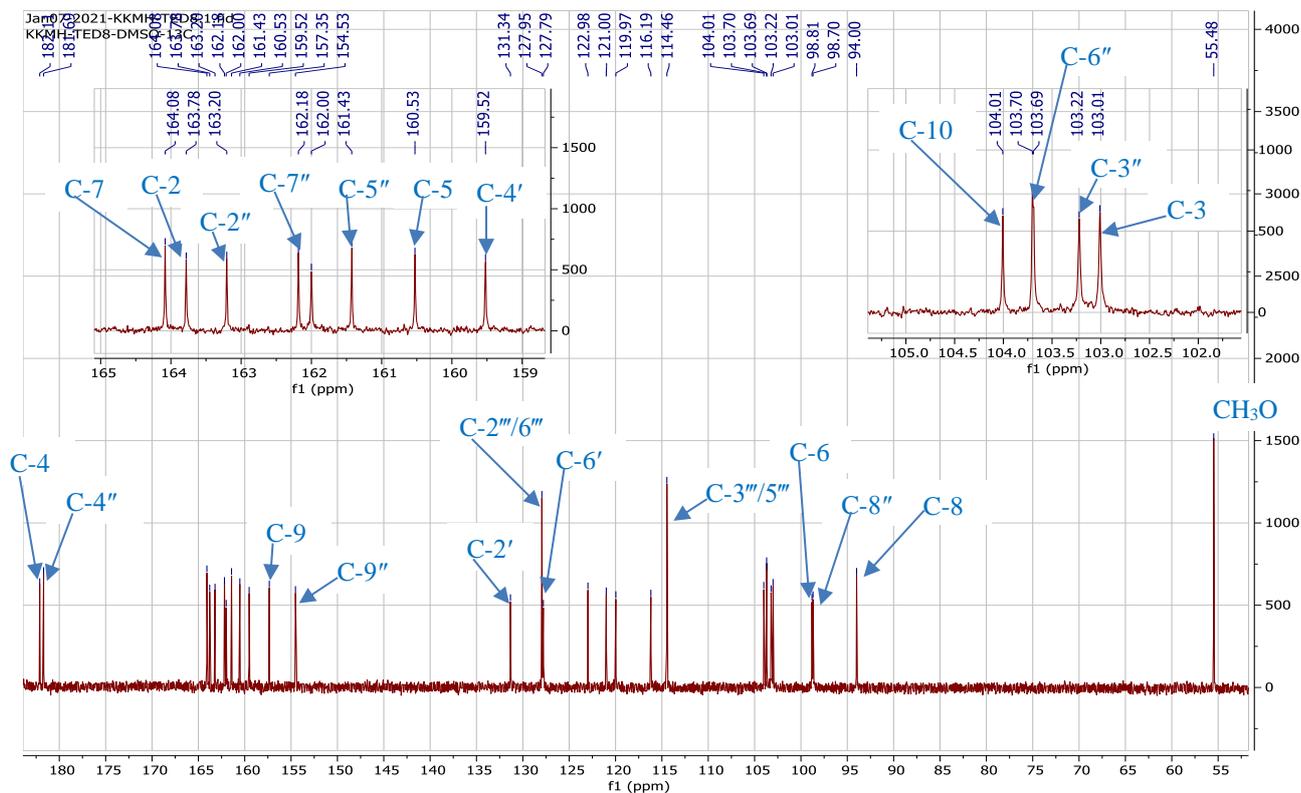


Figure 68 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de TED8

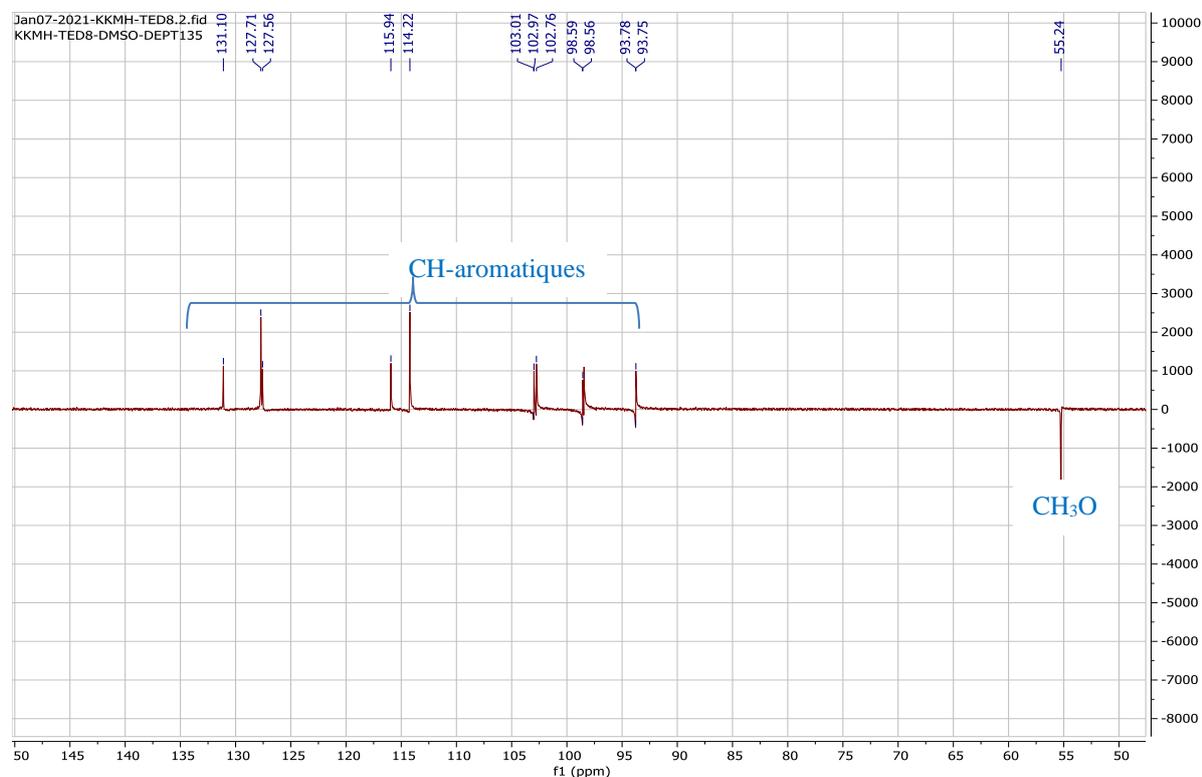
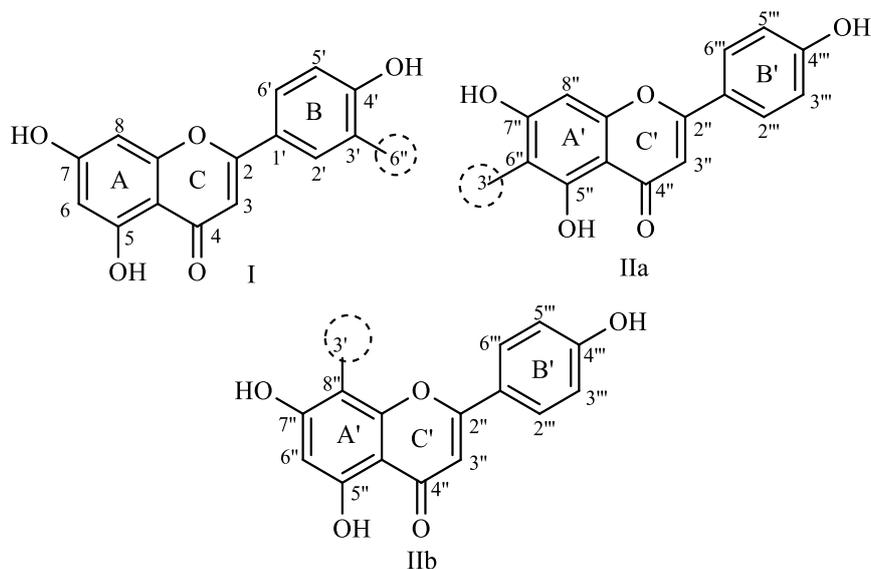


Figure 69 : Spectre DEPT 135 (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de TED8

Les renseignements obtenus des spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  nous amènent à définir les sous-structures suivantes : I, IIa et IIb.

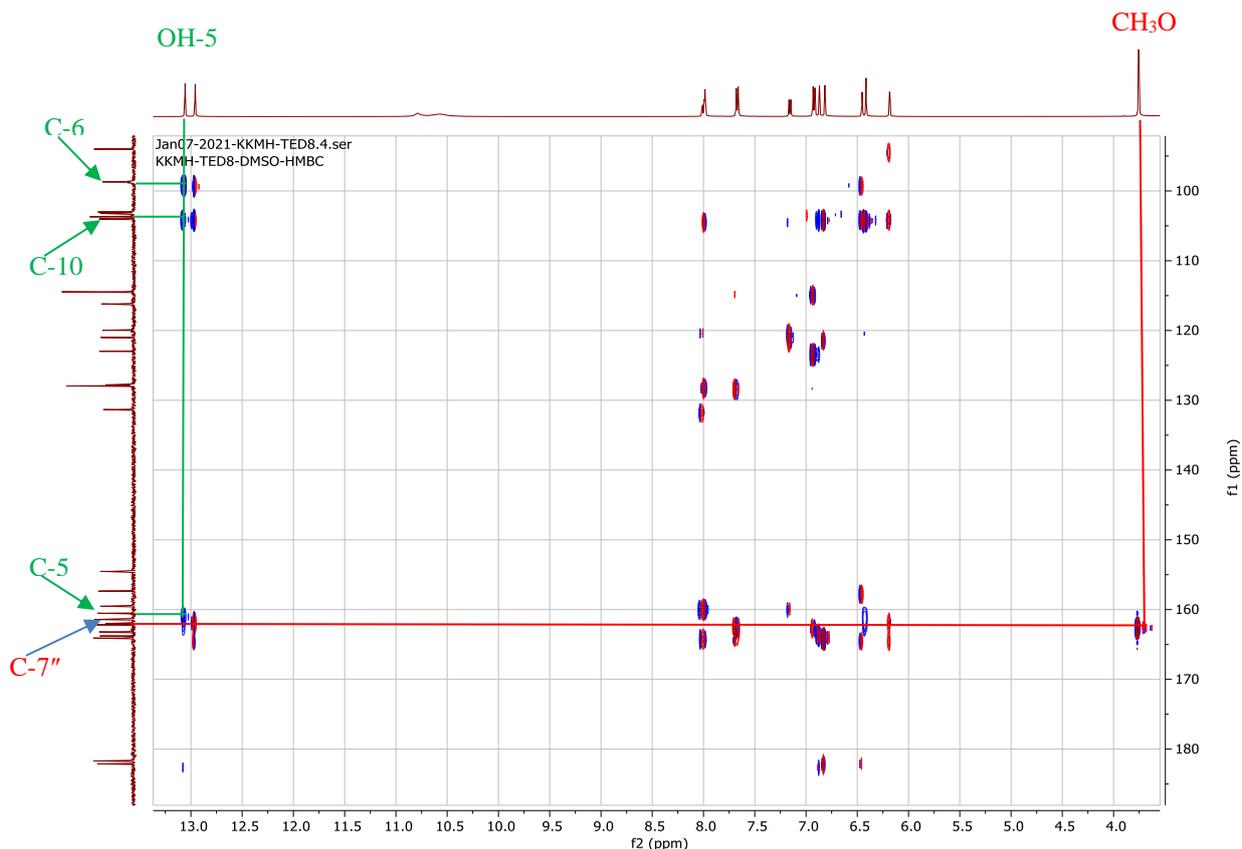


Sous-structures possibles impliquées dans la structure de TED8.

L'analyse du spectre HMBC (**Fig. 70 et 71**) de TED8 fait voir les corrélations entre le 5-OH ( $\delta_{\text{H}}$  13,01) proton très déblindé et les atomes de carbone à  $\delta_{\text{C}}$  160,5 (C-5), 98,8 (C-6) et 104,0 (C-10).

En plus on observe des corrélations entre le proton H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  8,02) porté par l'atome de carbone C-2' ( $\delta_{\text{C}}$  131,3) et les atomes de carbone C-4' (159,5), C-6' ( $\delta_{\text{C}}$  127,7) et C-6'' ( $\delta_{\text{C}}$  103,6). Une corrélation concerne le proton H-8'' ( $\delta_{\text{H}}$  6,42) porté par l'atome de carbone C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  98,8) et les atomes de carbone C-7'' ( $\delta_{\text{C}}$  162,1), C-9'' ( $\delta_{\text{C}}$  154,5), C-6'' ( $\delta_{\text{C}}$  103,6) et C-10'' ( $\delta_{\text{C}}$  103,7) confirmant que TED8 est un biflavonoïde dans lequel les deux unités flavonoïdes sont liées par une liaison entre les atomes de carbone C-3'-C-6'. Alors TED8 est un dérivé méthylé de la robustaflavone dont on doit préciser la position du substituant.

Les corrélations entre le proton H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  6,82) et les atomes de carbone C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  163,7), C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  121,0) et C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  104,0) d'une part, et celle entre le proton H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  8,02) et les atomes de carbone C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  159,5), C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  121,0) et C-3' ( $\delta_{\text{C}}$  119,9) d'autre part montre que TED8 possède le squelette de robustaflavone. On observe des corrélations entre le proton H-5' ( $\delta_{\text{H}}$  7,16) et l'atome de carbone C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  159,5) ; entre le proton H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  7,97) et les atomes de carbone C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  159,5) et C-2' ( $\delta_{\text{C}}$  131,3).



**Figure 70** : Spectre HMBC de TED8 région  $\delta_H$  3,5 et 13,5.

Une corrélation importante de son spectre HMBC a permis de voir que la jonction interflavonyle se trouve entre le carbone C-3' (noyau B, sous-structure I) et le carbone C-6'' (noyau A', sous-structure IIa). Il s'agit de la corrélation entre le proton H-2' du noyau B ( $\delta_H$  8,02) et l'atome de carbone C-6'' ( $\delta_C$  104,1) du noyau A' et enfin les protons du groupement OCH<sub>3</sub> ( $\delta_H$  3,75) corrélaient avec l'atome de carbone C-7'' ( $\delta_C$  162,1) ce qui montre que le groupement méthoxyle est fixé en position C-7''.

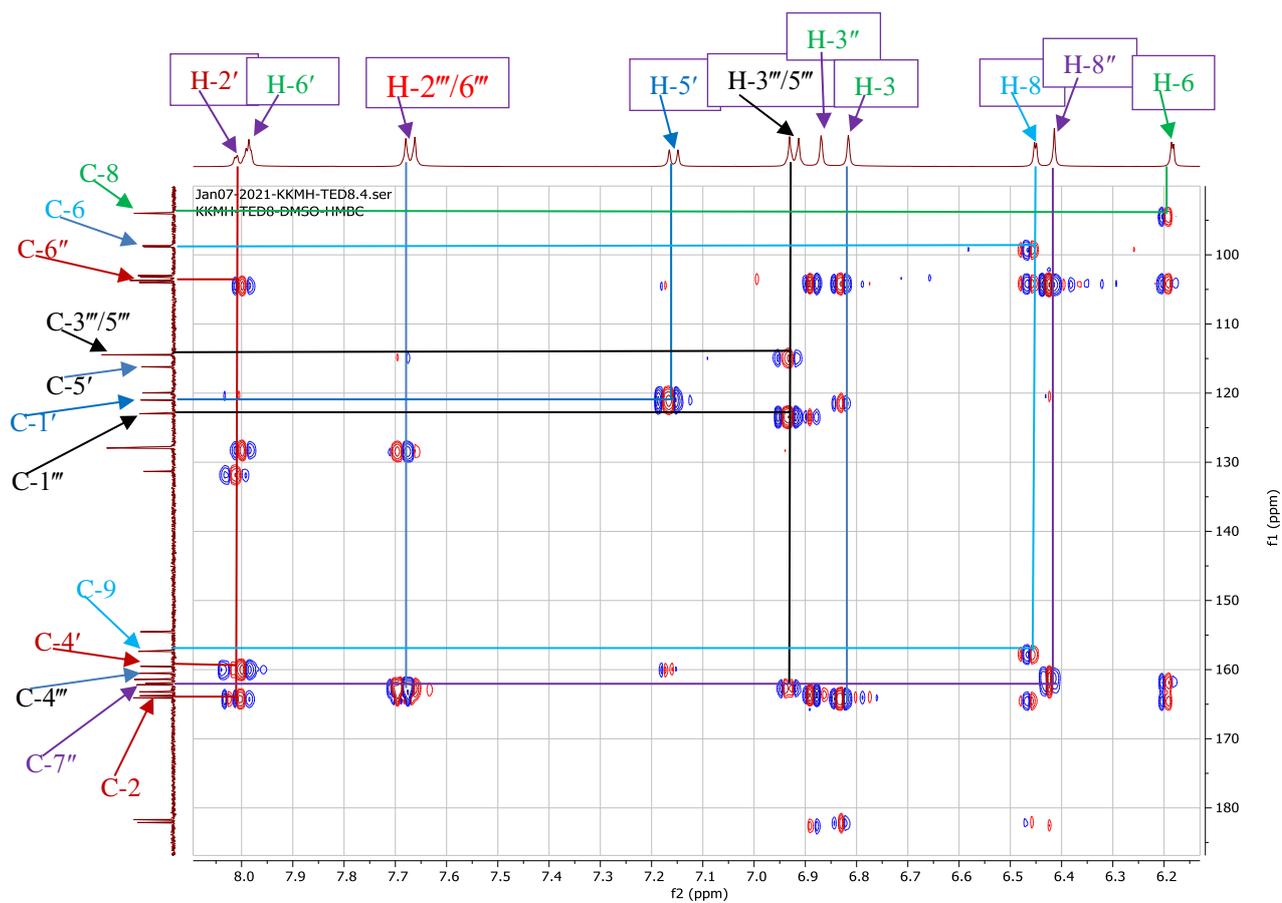


Figure 71 : Spectre HMBC de TED8 région  $\delta_H$  6,15 et 8,5.

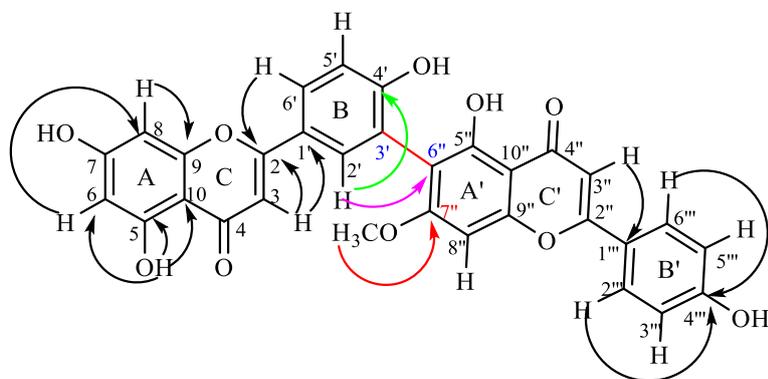
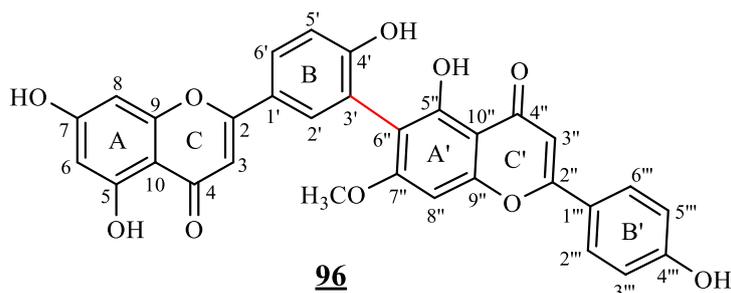


Schéma 12 : Corrélations observées sur le spectre HMBC TED8.

**Tableau XXIX :** Données spectrales RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) : <sup>1</sup>H (500 MHz) et <sup>13</sup>C (125 MHz) du composé TED8 comparées à celles de 7''-*O*-méthylrobustaflavone.

N° C	TED8			7''- <i>O</i> -méthylrobustaflavone (Xu et Fang, 1991 ; Silva et al., 1995)	
	δ <sub>C</sub>	DEPT	δ <sub>H</sub> (nH, m, <i>J</i> en Hz)	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub> (nH, m, <i>J</i> en Hz)
2	163,7	C	-	163,7	-
3	103,0	CH	6,82 (1H, s)	103,1	6,98 (1H, s)
4	182,1	C	-	181,6	-
5	160,5	C	13,01 (1H, s, OH)	161,4	13,11 (1H, s, OH)
6	98,8	CH	6,19 (1H, d, 2,1)	98,8	6,19 (1H, d, 1,9)
7	164,0	C	-	164,1	-
8	94,0	CH	6,46 (1H, d, 2,1)	94,0	6,48 (1H, d, 1,9)
9	157,3	C	-	157,3	-
10	104,0	C	-	103,7	-
1'	121,0	C	-	121,0	-
2'	131,3	CH	8,02 (1H, d, 2,5)	130,7	7,78 (1H, d, 2,2)
3'	119,9	C	-	120,5	-
4'	159,5	C	-	159,4	-
5'	116,1	CH	7,16 (1H, d, 8,5)	116,1	7,05 (1H, d, 8,8)
6'	127,7	CH	7,97 (1H, dd, 8,5 et 2,5)	127,6	7,95 (1H, dd, 8,8 et 2,2)
2''	163,2	C	-	163,9	-
3''	103,2	CH	6,87 (1H, s)	102,8	6,93 (1H, s)
4''	181,6	C	-	181,9	-
5''	161,4	C	12,98 (1H, s, OH)	158,1	12,87 (1H, s, OH)
6''	103,6	C	-	109,3	-
7''	162,1	C	-	162,9	-
8''	98,7	CH	6,42 (1H, s)	90,6	6,80 (1H, s)
9''	154,5	C	-	156,8	-
10''	103,7	C	-	104,6	-
1'''	123,4	C	-	121,1	-
2'''/6'''	122,7	CH	7,69 (2H, d, 8,9)	128,5	8,03 (2H, d, 8,8)
3'''/5'''	114,4	CH	6,95 (2H, d, 8,9)	116,0	6,98 (2H, d, 8,7)
4'''	161,4	C	-	161,3	-
OCH <sub>3</sub> -7''	55,4	CH <sub>3</sub>	3,75 (3H, s)	56,3	3,86 (3H, s)

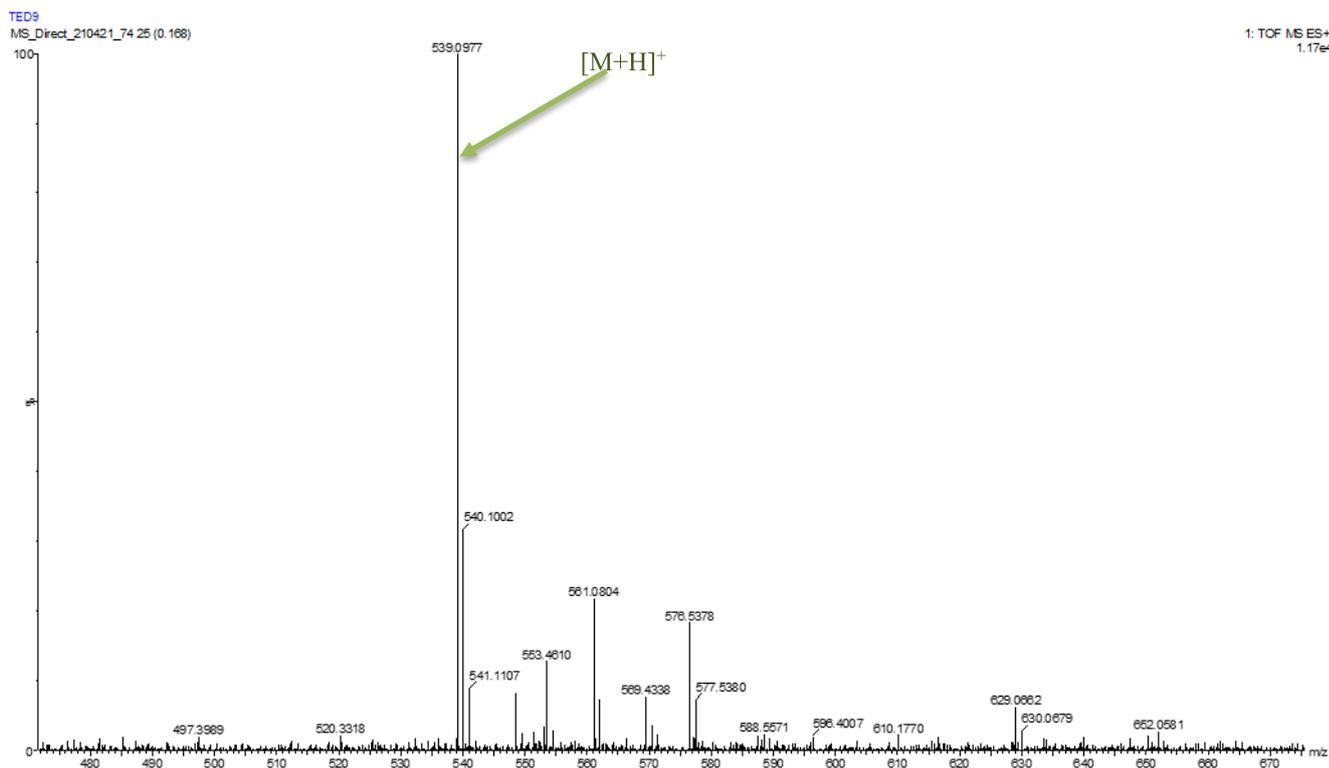
Ces données montrent que TED8 a la structure qui est la 7''-*O*-méthylrobustaflavone **96** récemment décrite sous le nom de 4',4'',5,5'',7,-pentahydroxy-7''-*O*-methyl-3',6''-biflavone, isolé auparavant de *Podocarpus fleuryi* (Xu et Fang, 1991 ; Silva et al., 1995).



## II.20- Identification de TED9

TED9 a été obtenu sous forme de poudre de couleur jaune. Il répond positivement au test des flavonoïdes (Mg/HCl) et au test de phénol (FeCl<sub>3</sub>).

Le spectre de masse (**Fig. 72**) haute résolution de TED9 permet de repérer l'ion pseudo-moléculaire [M+H]<sup>+</sup> à m/z 539,0977 correspondant à la formule C<sub>30</sub>H<sub>19</sub>O<sub>10</sub> (calculée 539,0978). Ceci confère à TED9 la formule brute C<sub>30</sub>H<sub>18</sub>O<sub>10</sub> correspondant à la masse moléculaire 538 et renfermant 22 degrés d'insaturations.



**Figure 72** : Spectre de masse de TED9

L'analyse du spectre RMN <sup>1</sup>H (**Fig. 73**) de TED9 montre que les systèmes de protons impliqués dans la structure de ce biflavonoïde sont très proches de ceux trouvés dans les spectres de TED8. En effet on retrouve :

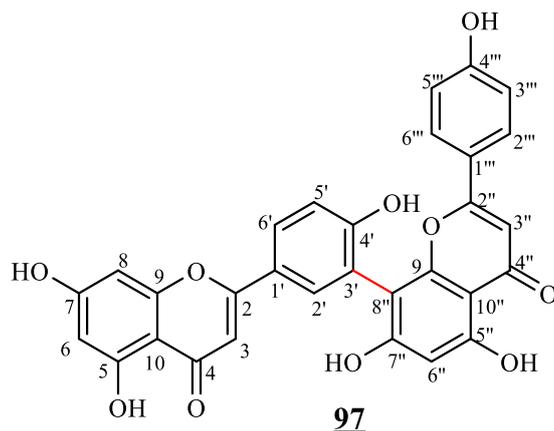
- Deux signaux en singulet à  $\delta_H$  6,82 (1H, s, H-3) et à  $\delta_H$  6,78 (1H, s, H-3'') qui renvoient aux protons du squelette des flavones (II et V).
- Un autre singulet d'un proton à  $\delta_H$  6,41 suggérant la présence d'un noyau aromatique penta substitué (noyau A') (IV et IV').
- Trois protons couplant en *ortho*/*mé*ta sur un noyau benzénique (noyau B) dont les signaux apparaissent à  $\delta_H$  8,00 (1H, dd, 8,8 et 2,1 Hz, H-6'), 8,01 (1H, d, 2,1 Hz, H-2') et à  $\delta_H$  7,16 (1H, d, 8,8 Hz, H-5') (III).



**Tableau XXX** : Données spectrales RMN (DMSO- $d_6$ ) :  $^1\text{H}$  (500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de TED9 comparées à celles de l'Amentoflavone.

N° C	TED9			Amentoflavone (Ndongo et al., 2010)
	$\delta_{\text{C}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	164,2	C	-	164,1
3	103,0	CH	6,78 (1H, s)	102,0
4	182,9	C	-	181,7
5	162,3	C	12,96 (1H, s, OH)	161,1
6	99,3	CH	6,19 (1H, d, 2,1)	98,6
7	164,6	C	-	164,1
8	94,5	CH	6,47 (1H, d, 2,1)	93,7
9	157,8	C	-	157,1
10	104,1	C	-	103,4
1'	121,4	C	-	118,3
2'	131,8	CH	8,01 (1H, d, 2,1)	131,1
3'	120,4	C	-	122,0
4'	160,0	C	-	162,7
5'	116,6	CH	7,16 (1H, d, 8,8)	117,8
6'	128,2	CH	8,00 (1H, dd, 8,8 et 2,1)	126,6
2''	164,1	C	-	162,8
3''	103,4	CH	6,82 (1H, s)	102,2
4''	182,1	C	-	181,2
5''	161,5	C	13,09 (1H, s, OH)	160,2
6''	99,1	CH	6,41 (1H, s)	100,3
7''	161,9	C	-	161,4
8''	104,4	C	-	103,6
9''	154,9	C	-	154,4
10''	104,2	C	-	102,3
1'''	121,8	C	-	121,5
2'''/6'''	128,6	CH	7,58 (2H, d, 8,6)	127,9
3'''/5'''	116,2	CH	6,73 (2H, d, 8,6)	115,3
4'''	161,0	C	-	160,4

Les données repérées sont peu différentes de celles décrites pour l'Amentoflavone et elles confirment le squelette carboné. Ces résultats montrent que TED9 est l'Amentoflavone ou le 4',4'',5,5'',7,7''-hexahydroxy-2,2''-bis(4-hydroxyphényl)-3',8''-bis(4H-1-benzopyran)-4,4'-dione. Une autre preuve de structure apportée par la comparaison des données spectrales que nous avons obtenues avec celle d'un échantillon authentique d'Amentoflavone isolé auparavant de *Campylospermum flavum* (Ndongo et al., 2010).



### III. Évaluation des activités antibactérienne et antioxydante

#### III.1. Tests antibactériens

Il ressort des précédents travaux effectués sur quelques espèces du genre *Symphonia* et *Psorospermum*, que les différentes parties (racines, troncs, écorces du tronc, feuilles et fruits) sont utilisées dans la médecine traditionnelle tropicale et subtropicale, Pour traiter plusieurs infections parmi lesquelles les infections microbiennes (Nkengfack *et al.*, 2002 ; Mkounga *et al.*, 2009 ; Tsaffack *et al.*, 2009 Tchakam *et al.*, 2012). Pour vérifier voire confirmer cette utilisation en médecine traditionnelle, il nous a semblé nécessaire dans le cadre de notre travail, de soumettre les extraits bruts ainsi que certains composés isolés de *S. globulifera* et *P. aurantiacum*, aux tests antibactériens. De plus les composés testés sont des composés phénoliques et quelques triterpènes qui n'ont pas encore été soumis à des tests antibactériens. Les paramètres d'inhibition de ces composés ont été évalués par détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et des Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) par la technique de micro dilution en milieu liquide telle que décrite par CLSI (*Clinical Laboratory Standard Institute*) 2012 (protocole M07-A9).

#### ➤ Résultats de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de certains composés isolés de *S. globulifera* (91 ; 95 et 96) a été menée sur un total de six souches bactériennes dont deux souches de référence de l'American Type Culture Collection, ATCC à savoir *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300 et ATCC 33591), trois de BEI Resources à savoir *Shigella flexneri* NR 518, *Pseudomonas aeruginosa* NR 48982 et *Klebsiella pneumoniae* NR 41897 et une souche d'isolat clinique de la collection du laboratoire, à savoir *Salmonella typhi* CPC. Les paramètres d'inhibition de ces composés ont été évalués en déterminant les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et les Concentrations Bactéricides Minimales (CMB) en utilisant la méthode de microdilution en bouillon telle que décrite par le CLSI (*Clinical Laboratory Standard Institute*) 2012 (protocole

M07-A9) et comparées à la ciprofloxacine de référence standard. Les tests ont été effectués en double. A la fin du temps d'incubation, 20 µL de résazurine ont été ajoutés dans chaque puits et les plaques réincubées à 37 °C pendant 30 min et la plus faible concentration des composés n'a montré aucune croissance bactérienne marquée par le non-changement. La coloration de la résazurine (bleu) correspond à la concentration bactéricide du composé. Les résultats (**Tableau XXXI**) ont montré que tous les composés testés (**91**; **95** et **96**) sont inactifs contre toutes les souches avec une valeur CMI supérieure à 200 µg/mL.

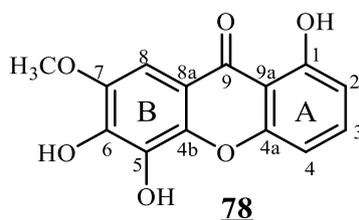
**Tableau XXXI** : Concentrations Minimales inhibitrices (CMI) et Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) (µg/mL) des composés isolés de *S. globulifera*.

	PA		KP		ST		SA		SAMR		SF	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<b>91</b>	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
<b>94</b>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<b>95</b>	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
<b>96</b>	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
<b>97</b>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<b>CP</b>	0,063	0,031	0,03	0,063	0,02	0,063	0,031	0,125	0,015	0,031	0,015	0,1

**SF** : *Shigella flexneri* NR 518, **SAMR** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthiciline ATCC 33591, **SA** : *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, **ST** : *Salmonella typhi* CPC (Centre Pasteur du Cameroun), *Pseudomonas aeruginosa* NR 48982 ; **KP** : *Klebsiella pneumonia* NR 41897, **CP** : Ciprofloxacine, >200 : non actif.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de deux extraits bruts de *P. aurantiacum*, ainsi que celle de certains produits purs isolés (**78**, **80** et **83**), a été fait contre cinq bactéries responsables de certains pathogènes comme la diarrhée, il s'agit de deux souches de référence de l'American Type Culture Collection, ATCC à savoir *Staphylococcus aureus* (ATCC33591 et ATCC43300) et quatre souches d'isolats cliniques de la collection du laboratoire à savoir *Salmonella typhi* CPC, *Klebsiella pneumonia* NR 41897, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Shigella flexneri* NR 518. Les paramètres d'inhibition de ces composés ont été évalués en déterminant les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et les Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) par la technique de micro dilution en milieu liquide telle que décrite par le CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute) 2012 (protocole M07-A9), avec de légères modifications et par rapport à la ciprofloxacine de référence standard. 20 microlitres (20 µL) de résazurine ont ensuite été introduits dans tous les puits et les microplaques ont été à nouveau incubées à 37 °C pendant 30 min (**Mativandlela et al., 2006**). La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été définie comme la concentration la plus faible dans l'échantillon qui a

empêché la croissance bactérienne. L'extrait au méthanol et la fraction à l'extrait à l'acétate d'éthyle des tiges de *P. aurantiacum* ont tout les deux montré une activité antibactérienne moyenne contre cinq souches bactériennes avec des CMI et des CMB allant de 125 à 2000 µg/mL aucune activité sur *Klebsiella pneumonia* avec des CMI et CMB supérieurs à 2000 µg/mL comparées au composé de référence (**Tableau XXXII**). Parmi tous les composés testés, seul le 1,5,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone **78** était actif sur toutes les souches avec une CMI inférieure à 100 µg/mL, les autres composés testés (**80** et **83**) étant inactifs sur certaines des souches avec une CMI supérieure à 100 µg/mL. Ainsi, sur la base de ces résultats, le composé **78** présente un large spectre d'activité par rapport aux autres composés testés et doit être considéré comme le plus actif avec une CMI allant de 12,5 à 50 µg/mL. Alors que les composés (**80** et **83**) ont montré une activité modérée sur *Klebsiella pneumonia* et *Staphylococcus aureus* résistant à la méthiciline avec une CMI de 100 µg/mL respectivement.



**Tableau XXXII** : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) (µg/mL) des composés isolés de *P. aurantiacum*

	SF		KP		ST		EC		SAMR		SA	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<b>ME</b>	500	2000	>2000	>2000	125	500	125	500	250	1000	125	500
<b>EE</b>	1000	>2000	>2000	>2000	250	1000	125	>500	500	2000	250	500
<b>80</b>	>100	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>83</b>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	100	>100	>100	>100
<b>82</b>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<b>78</b>	25	>100	50	>100	25	>100	25	100	12,5	25	25	100
<b>81</b>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<b>CP</b>	0,063	0,031	0,03	0,063	0,02	0,063	0,031	0,125	0,015	0,031	0,015	0,1

**SF** : *Shigella flexneri* NR 518, **SAMR** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthiciline ATCC 33591, **SA** : *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, **ST** : *Salmonella typhi* CPC (Centre Pasteur du Cameroun), **KP** : *Klebsiella pneumonia* NR 41897, **EC** : *Escherichia coli* ATCC 25922, **CP** : Ciprofloxacine, **>100** : composés non actifs, **>2000** : extraits bruts non actifs, **ME** : Extrait brut au méthanol, **EE** : Extrait à l'AcOEt.

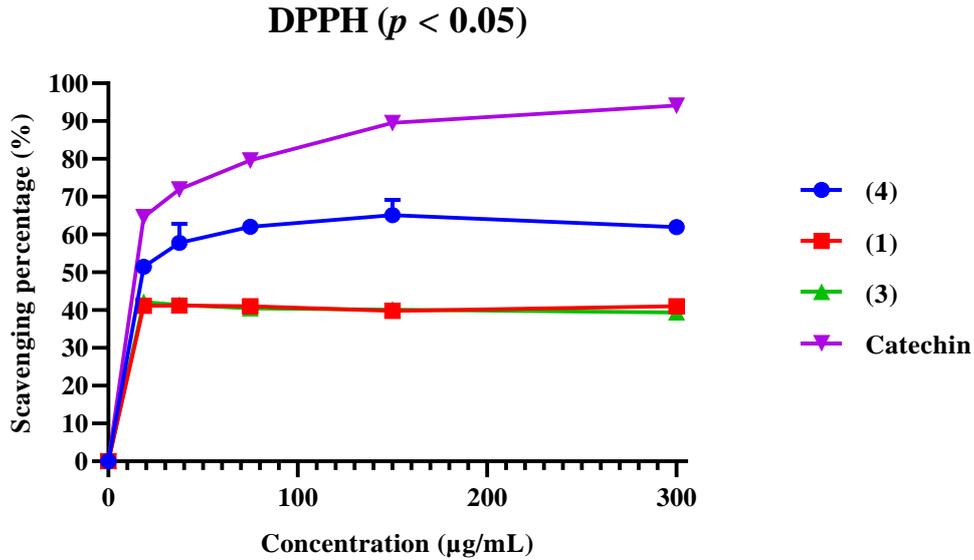
### III.2. Evaluation de l'activité antioxydante de quelques composés

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer l'activité antioxydante. Dans cette étude, les activités antioxydantes ont été obtenues par deux tests complémentaires, à savoir le dosage DPPH pour l'activité de piégeage des radicaux et le dosage du pouvoir réducteur-antioxydant ferrique (FRAP) pour évaluer le pouvoir réducteur. L'activité de piégeage du DPPH est considérée comme une méthode classique, simple, rapide et peu coûteuse pour évaluer les propriétés antioxydantes. Cette méthode est basée sur la capacité des composés à agir comme donneurs d'H pour réduire les radicaux libres. Cependant, cette méthode est incapable de mettre en évidence le pouvoir réducteur d'un composé antioxydant. Pour cette raison, le test FRAP a été ajouté comme méthode complémentaire (Gulsen *et al.*, 2015).

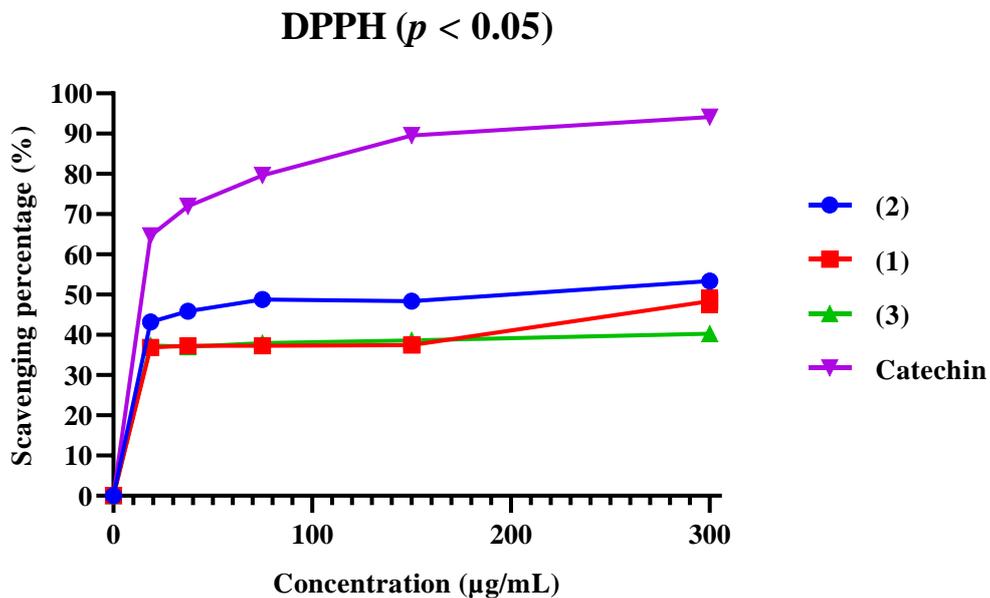
#### III.2.1. Activité de piégeage des radicaux DPPH.

Les composés friedelan-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,28-triol **95** et polycarpol **91** isolés de *S. globulifera* n'ont montré aucune activité de piégeage des radicaux DPPH tandis que, le composé 7''-O-methoxyrobustaflavone **96** possède une EC<sub>50</sub> plus grande (l'activité la plus faible) par rapport à celle de la catéchine qui possède une valeur faible de EC<sub>50</sub> (l'activité la plus grande) (Tableau XXXIII). L'activité de piégeage radicalaire du produit 7''-O-methoxyrobustaflavone **96** est comparable à celle de la catéchine qui a été utilisée comme antioxydant de référence. Le composé 8-hydroxycadensine **81** isolé de *P. aurantiacum* possède une EC<sub>50</sub> plus grande (l'activité la plus faible) que celle de 1,5,6-trihydroxy-7-méthoxyxanthone **78** qui possède une valeur plus faible de EC<sub>50</sub> (l'activité la plus grande). L'acide bétulinique **91** n'a montré aucune activité de piégeage des radicaux DPPH (Tableau XXXIV). Le pouvoir antioxydant de ces composés est donc inférieur à celui de la catéchine utilisée comme antioxydant de référence.

Les figures 74 et 75 montrent la courbe dose-réponse de l'activité de piégeage des radicaux DPPH de ces composés en comparaison avec celle de la catéchine. Ces résultats sont en accord avec le dosage FRAP, où le composé **96** isolé de *S. globulifera* présente la meilleure activité antioxydante que les composés **81** et **78** isolés de *P. aurantiacum*.



**Figure 74 :** Effet des composés isolés [95 (1), 91 (3), 96 (4)] de *S. globulifera* et de Catéchine sur le piégeage des radicaux libres DPPH.



**Figure 75 :** Effet des composés isolés [81 (1), 78 (2), 83 (3)] de *P. aurantiacum* et de Catéchine sur le piégeage des radicaux libres DPPH.

### III.2.2. Evaluation de la capacité réductrice (FRAP).

Le dosage du pouvoir réducteur est basé sur la réduction de  $Fe^{3+}$  dans le ferricyanure de potassium en  $Fe^{2+}$  qui forme un complexe bleu. La formation de ce complexe bleu est suivie à

$\lambda = 593$  nm. Plus le pouvoir réducteur de l'analyte est grand, plus la concentration du complexe formé est élevée, conduisant à des valeurs d'absorbance plus élevées. Le composé **96** isolé de *S. globulifera* avait un pouvoir réducteur de  $81,38 \mu\text{g}$  d'EGA/mg de poids sec et était donc le plus puissant par rapport aux composés **95** et **91** (Tableau XXXIII). Les composés **95** et **91** n'avaient pas d'activité FRAP. Le composé **78** isolé de *P. aurantiacum* avait un pouvoir réducteur de  $70,378 \mu\text{g}$  d'EGA/mg de poids sec et était donc le plus puissant par rapport au composé **81** avec un pouvoir réducteur de  $66,969 \mu\text{g}$  d'EGA/mg de poids sec, **83** n'avait pas d'activité FRAP. La forte activité antioxydante des substances phénoliques est souvent attribuée aux hydroxyles -OH. Ce sont de puissants donneurs d'Hydrogène car ils permettent la délocalisation des électrons à travers la molécule. Cela stabilise efficacement les radicaux phénoxy résultants. Les groupements -OH dans la structure des composés **96**, **78** et **81** expliquent probablement leur pouvoir réducteur. Une autre caractéristique importante des composés phénoliques et une caractéristique des composés **96**, **78** et **81** est la planéité de ces molécules, qui permet la conjugaison et la délocalisation des électrons. Ces facteurs sont associés à une augmentation de la stabilité radicalaire. Les liaisons Hydrogènes intramoléculaires entre groupes voisins -OH et C=O augmentent la conjugaison du cycle aromatique et augmentent le pouvoir donneur d'Hydrogène de la molécule (Soobrattee et al., 2005). En effet, les radicaux résultants ont un plus grand potentiel de délocalisation des électrons. La présence d'un groupe  $\alpha,\beta$ -carbonyle insaturé dans les biflavonoïdes augmente également l'activité antioxydante (Gülçin et al., 2005) et elle est observée dans le composé **96**. La forte activité antioxydante du biflavonoïde **96** peut également être attribuée aux caractéristiques structurelles mentionnées ci-dessus. L'absence d'activité de piégeage observée pour les composés **95**, **91** et **83** est due au fait que les groupements -OH ne sont pas phénoliques. La diminution de l'activité de piégeage observée pour le composé **81** par rapport aux autres composés est probablement associée à la présence des substituants lipophiles (groupe méthoxy) dans sa structure. La catéchine utilisée ici comme antioxydant de référence avait un pouvoir réducteur de  $318,963 \mu\text{g}$  d'EGA/mg de poids sec car ne possédant pas de substituants lipophiles. Le composé **81** n'a que deux groupes hydroxyle phénoliques, alors que le composé **96** en a cinq et le composé **78** trois (Tableau XXXIV). En raison du nombre inférieur de groupes hydroxyles disponibles pour le don de radicaux hydrogène et la stabilisation des radicaux libres, le composé **81** a présenté une activité antioxydante inférieure, comme en témoigne sa valeur de  $EC_{50}$  plus élevée.

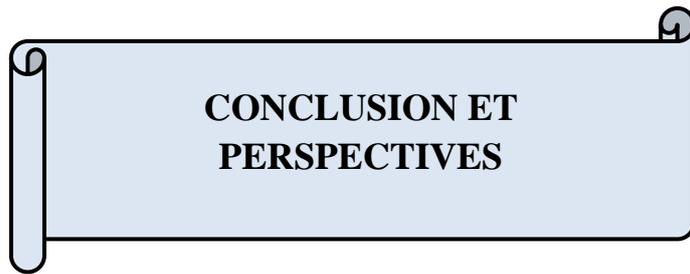
**Tableau XXXIII :** Activité antioxydante par les dosages DPPH et FRAP (n = 3) de *S. globulifera*.

Composés	Activité de piégeage radical		Puissance de réduction
	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	EC <sub>50</sub> (µg/mL)	FRAP µg EGA/mg dw
<b><u>95</u></b>	-	-	-
<b><u>91</u></b>	-	-	-
<b><u>96</u></b>	6,58 ± 0,65	506,15 ± 50,00	81,38 ± 2,48
<b>Catéchine</b>	2,47 ± 0,00	190,00 ± 0,00	318,96 ± 2,63

**Tableau XXXIV :** Activité antioxydante par les dosages DPPH et FRAP (n = 3) de *P. aurantiacum*.

Composés	Activité de piégeage radical		Puissance de réduction
	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	EC <sub>50</sub> (µg/mL)	FRAP µg EGA/mg dw
<b><u>81</u></b>	298,00 ± 0,12	22923,07 ± 9,23	66,96 ± 3,22
<b><u>78</u></b>	74,21 ± 0,08	5708,46 ± 6,15	70,37 ± 0,89
<b><u>83</u></b>	-	-	-
<b>Catéchine</b>	13,21 ± 0,07	1016,15 ± 5,32	318,96 ± 2,63

Légende : µg/mL : microgrammes d'échantillon par millilitre de solution ; µg EGA/mg ps : équivalents en microgrammes d'acide gallique par milligramme de poids sec. Les données sont exprimées en moyenne ± SD ; La catéchine a été utilisée comme composé de référence. Les différences statistiques entre la catéchine et les composés sont analysés avec une valeur seuil de P < 0,05.



**CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES**

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre travail a porté sur l'étude phytochimique et l'évaluation des propriétés antibactérienne et antioxydante des constituants chimiques de deux plantes médicinales au Cameroun, utilisées par les guérisseurs traditionnels pour traiter les problèmes de santé, *S. globulifera* et *P. aurantiacum*. Cette étude nous a permis d'isoler et de caractériser complètement vingt (20) composés. Ces composés appartiennent à plusieurs classes structurales, parmi lesquelles on note : cinq triterpènes, deux phytostérols, treize composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les biflavonoïdes, ainsi que les xanthones donc deux dérivés nouveaux.

Les flavonoïdes isolés de la première plante appartiennent aux sous classes des isoflavones, flavones et flavanol. Les isoflavones isolés sont 5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphényl)chromen-4-one ou génisteine **86**, l'isoformonétine ou le 4-hydroxy-7-méthoxyisoflavone **87**, les flavones l'apigénine ou 5,7,4'-trihydroxy-2-phénylchromen-4-one **84**, la lutéoline ou le 3,5,7,4'-tetrahydroxy-2-phénylchromen-4-one **85** et le flavanol qui est le (+)-*épi*-catéchine **94**. Les biflavonoïdes isolés appartiennent à la sous classe des biflavones, il s'agit de la robustaflavone ou 4',4'',5,5'',7,7''-hexahydroxy-2,2''-bis(4-hydroxyphényl)-3',6''-bis(4H-1-benzopyran)-4,4''-dione **89**, 7''-O-méthylrobustaflavone ou 4',4'',5,5'',7,-pentahydroxy-7''-O-méthyl-3',6''-biflavone **96**, l'Amentoflavone **97**. Les xanthones et dérivés isolés des deux plantes sont : le 1,5-dihydroxyxanthone **88**, le 5'-O-(1-hydroxyxanthon-5-yl)-1'-hydroxanthone **90** décrit pour la première fois, isolés de *S. globulifera*, le 1,5,6-trihydroxy-7-méthoxyxanthone **78**, le 1,7-dihydroxyxanthone ou Euxanthone **79** et une xanthonolignoïde nouvelle auquel nous avons attribué le nom de Cadensine H ou de 8-hydroxycadensine **81**, isolés de *P. aurantiacum*. Les triterpènes appartiennent à plusieurs classes structurales au sein desquelles on distingue : Un dérivé de friedelane au nom de pristirol ou friedelane-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,28-triol **95**, dérivé connu mais la description est faite ici pour la première fois, un lanostane, le 3,15-dihydroxylanosta-7,9(11),24-triène ou polycarpol **91**, isolés de *S. globulifera*. Les triterpènes de type lupane, la bétuline ou 20(29)-lupène-3,28-diol **80**, le lupéol **82** et l'acide bétulinique ou l'acide 3 $\beta$ -hydroxy-20 (29) -lupén-28-oïque **83** isolés de *P. aurantiacum*. Les trois phytostérols, tous isolés de *S. globulifera*. Il s'agit : le Glucoside de stigmastérol ou le stigmast-5,22-dien-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside **92**, 3- $\beta$ -D-glucopyranoside de  $\beta$ -sitostérol **93**.

Les structures des composés ont été établies grâce aux spectres de masse (ESI, IE) et de RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT), RMN 2D (COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ , HSQC et HMBC). Certaines ont été confirmées soit par comparaison de leurs données physiques et spectroscopiques avec celles de la littérature soit par comparaison directe avec des échantillons authentiques disponibles dans notre laboratoire.

Sur le plan biologique, l'extrait au méthanol et la fraction à l'acétate d'éthyle de *P. aurantiacum* et certains composés isolés des deux plantes ont été évalués soit pour leur activité antioxydante soit pour leur activité antibactérienne. Les résultats obtenus ont montré que l'extraits au méthanol, ainsi que la fraction à l'acétate d'éthyle des tiges de *P. aurantiacum* sont actifs sur certaines souches bactériennes notamment *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* avec des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) allant de 125 à 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Quelques composés purs isolés de ces plantes ont également été testés sur six souches bactériennes. Les résultats obtenus ont montré que les composés isolés de *S. globulifera* sont inactifs avec une CMI supérieure à 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sur toutes les souches bactériennes. Cependant pour les composés isolés de *P. aurantiacum* seul le 1,5,6-trihydroxy-7-méthoxyxanthone **78** a montré une activité sur toutes les souches bactériennes avec une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de 12,5 à 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  et une Concentration Minimale Bactéricide (CMB) de 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sur le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthiciline. Les résultats obtenus ont montré qu'un dérivé de la xanthone (1,5,6-trihydroxy-7-méthoxyxanthone **78**) présentait des activités antibactériennes sur les souches responsables de diarrhées, de troubles gastro-antériques, de maladies vénériennes et une activité antibactérienne prononcée sur les maladies vénériennes chroniques. Cela peut être conforme aux revendications curatives des guérisseurs traditionnels sur *P. aurantiacum* pour traiter les diarrhées, maladies vénériennes, les troubles gastro-intestinaux et les problèmes urinaires, et notre dérivé de xanthone**78** pourrait être principalement responsable de ces activités, mais d'autres études sont encore nécessaires.

Par ailleurs, quelques produits isolés des deux plantes ont également été évalués pour leur activité antioxydante avec les méthodes de DPPH et FRAP.

Avec la méthode DPPH, le composé 7''-O-methoxyrobustaflavone **96** de *S. globulifera* possède une  $\text{EC}_{50}$  plus grande (l'activité la plus faible) tandis qu'un composé de *P. aurantiacum* le 1,5,6-trihydroxy-7-méthoxyxanthone **78** possède une valeur plus faible de  $\text{EC}_{50}$  (l'activité la plus grande).

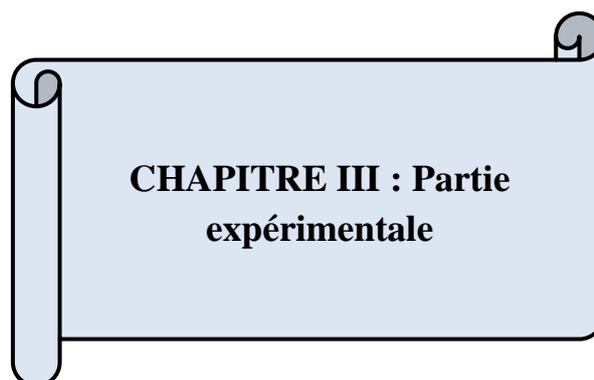
Avec la méthode FRAP, Le composé 7''-O-methoxyrobustaflavone **96** isolé de *S. globulifera* et le composé 1,5,6-trihydroxy-7-méthoxyxanthone **78** isolés de *P. aurantiacum* ont présenté les pouvoirs réducteurs les plus élevés à la concentration utilisée.

Au regard de ces résultats, nous pouvons déduire que les multiples usages en médecine traditionnelle de *P. aurantiacum*, seraient dus à la présence de ce composé doué d'activités biologiques que nous venons de décrire.

Nous prévoyons dans nos prochaines investigations de :

- Mener des études cytotoxiques et la toxicité du produit actif tel que le 1,5,6-trihydroxy-7-méthoxyxanthone **78** afin de mettre sur pied un phytomédicament issus de cette plante.
- Évaluer les activités antiplasmodium et *anticandida* afin d'établir la corrélation entre les prétentions curatives et les activités réellement observées de *Symphonia globulifera*.
- Effectuer les modifications structurales sur certains composés et étudier leurs mécanismes d'action antibactériens et antioxydants.
- Etendre l'élucidation structurale aux composés restants puis, parachever l'étude chimique des fractions restantes.

Toutes ces investigations contribueront à augmenter le nombre de métabolites secondaires bioactifs et à permettre une connaissance scientifique de la composition des potions soignantes. Ainsi, des bases scientifiques et des conseils pourront être introduits dans la pratique de la médecine traditionnelle.



**CHAPITRE III : Partie  
expérimentale**

## CHAPITRE III : Partie expérimentale

### I. Appareillage

Les spectres de masse haute résolution ont été obtenus avec un spectromètre compact QTOF (Bruker, Allemagne) équipé d'une source HRESI. Le spectromètre a fonctionné en modes positif et négatif (plage de masse : 50-1500, avec un taux de balayage de 1,00 Hz) avec un contrôle automatique du gain pour fournir des mesures de masse de haute précision avec un écart de 1 ppm en utilisant le Na Formate comme étalon. Les paramètres suivants ont été utilisés pour les expériences : tension de pulvérisation de 4,5 kV, température capillaire de 200 °C. L'azote a été utilisé comme gaz gaine (4 L/min). Les spectres RMN 1D et 2D ont été enregistrés sur Bruker Bio Spin GmbH dans des solvants deutérés (CDCl<sub>3</sub> et DMSO-*d*<sub>6</sub>). Les déplacements chimiques ont été rapportés en (ppm) en utilisant le tétraméthylsilane (TMS) (Sigma-Aldrich) comme étalon interne, tandis que les constantes de couplage (J) ont été mesurées en Hz. La Chromatographie sur colonne a été réalisée sur du gel de silice 230-400 mesh, Merck (Merck, Darmstadt, Allemagne), 70-230 mesh (Merck) ou Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich). La chromatographie sur couche mince (CCM) a été effectuée sur des feuilles d'aluminium pré-enduite de gel de silice Merck (60 F254) et les tâches des composés ont été détectées par pulvérisation d'acide sulfurique dilué avant chauffage ou par inspection visuelle avec une lampe UV à 254 nm et 365 nm.

### III. Matériel végétal

Les feuilles de *S. globulifera* ont été récoltées en novembre 2018 au Mont Kala une localité située dans la Région Centre du Cameroun et identifiées par M. Nana Victor, botaniste à l'Herbier National du Cameroun, où un spécimen de référence est déposé sous le n° 24345/HNC.

Les tiges (écorces et bois) de *P. aurantiacum* ont été récoltées en octobre 2020 au pied du Mont Bana une localité située dans la région ouest du Cameroun et identifiées toujours par M. Nana Victor, botaniste à l'Herbier National du Cameroun, où un spécimen de référence est déposé sous le N°52651/HNC.

### III. Extraction et isolement des produits

#### III.1. Tiges (écorces et bois) de *Psorospermum aurantiacum*

Tiges (écorces et bois) de *P. aurantiacum* ont été découpées en morceaux, séchées, réduites en fine poudre (4,48 kg) puis extraites à température ambiante pendant 72 heures, avec le méthanol. Après concentration un résidu visqueux (229,3 g) a été obtenu. Par la suite, les fractions suivantes ont été obtenues par solubilité différentielle de ce résidu. Il s'agit des

fractions à l'acétate d'éthyle, à l'acétone et au méthanol. Seule la fraction à l'acétate d'éthyle a été investiguée. Seule la fraction à l'acétate d'éthyle a servi dans la suite de l'investigation. Cet extrait a été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice éluée avec le mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  10/1 (v/v) pour donner 38 fractions de 300 mL chacune que nous avons regroupées sur la base d'analyses par CCM en cinq sous-fractions : D<sub>1</sub> (6,4 g), D<sub>2</sub> (4,6 g), D<sub>3</sub> (10,3), D<sub>4</sub> (0,2 g) et D<sub>5</sub> (0,3 g). La sous-fraction D<sub>1</sub> (6,4 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice éluée avec le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  50/1 (v/v) pour donner les composés TED15 (15,0 mg), TED17 (16,0 mg) et TED18 (29,0 mg). La purification de la sous-fraction D<sub>4</sub> (0,2 g) par chromatographie sur colonne de gel de silice avec comme éluant le mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  30/1 (v/v) a permis d'isoler le produit pur TED16 (23,0 mg). La fraction D<sub>5</sub> (0,3 g) a quant à elle été soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice élué avec le mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  15/1 (v/v) pour donner les composés TED12 (16,0 mg) et TED13 (32,0 mg). La sous-fraction D<sub>3</sub> (10,3 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice éluée avec le mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  50/1 (v/v) résultant en la collecte de 85 sous-fractions de 30 mL chacune que nous avons regroupées sur la base de plaques CCM en six sous-fractions : T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>5</sub> et T<sub>6</sub> de 150 mL chacune. La purification de la sous-fraction T<sub>5</sub> par chromatographie sur colonne de gel de silice avec comme éluant le système  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  40/1 (v/v) a permis d'obtenir les produits purs : TED11 (29,0 mg), TED14 (21,0 mg).

### III.2. Feuilles de *Symphonia globulifera*

La poudre (1,63 kg) obtenue du broyage des feuilles séchées de *S. globulifera* a été extraite à température ambiante au méthanol pendant 72h. La solution obtenue a été filtrée puis évaporée à sec pour donner une pâte qui a par la suite été réextraite dans un mélange de solvant hexane/acétate d'éthyle 95/5 (v/v) pour enlever la chlorophylle. Ce qui nous a donné une pâte soluble dans le méthanol et un résidu insoluble (fraction hexane/acétate).

L'extrait soluble au méthanol a été fractionné par la suite par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant le mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  10/1 (v/v). Les 72 fractions de 150 mL chacune obtenues ont été regroupées en quatre sous-fractions : G<sub>1</sub> (10,2 g), G<sub>2</sub> (3,1 g), G<sub>3</sub> (9,3 g) et G<sub>4</sub> (0,1 g) sur la base de l'analyse des plaques CCM. Seules les sous-fractions G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub> et G<sub>4</sub> ont été purifiées car G<sub>1</sub> s'est avérée être un mélange très complexe que nous avons mis de côté pour des investigations ultérieures. La Chromatographie sur colonne (CC) de G<sub>3</sub> (9,3 g) sur gel de silice et éluée avec un mélange de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  10/1 (v/v) nous a donné cinq sous-fractions de 75 mL chacune (F<sub>1</sub> à F<sub>5</sub>). La sous-fraction F<sub>5</sub> (2,5 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne de Sephadex LH-20 et éluée avec du méthanol

pour donner les composés TED7 (42,0 mg), GTE-8 (19,0 mg), TED8 (55,0 mg) et TED9 (22,0 mg). La sous-fraction G<sub>2</sub> (3,1 g) a également été soumise à une CC sur gel de silice et éluée avec un mélange de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 20/1 (v/v) pour donner les composés TED1 (71,0 mg), TED2 (10,0 mg), TED3 (18,0 mg) et TED5 (26,0 mg). La CC de G<sub>4</sub> (0,1g) sur gel de silice et éluée avec un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 8/1 (v/v) a donné les composés TED4 (15,0 mg), GTE-5 (12,0 mg) et GTE-6 (8,0 mg). La sous-fraction F<sub>1</sub> (1,3 g) a subi une CC de gel de silice avec comme éluant le mélange de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 15/1 (v/v) pour donner les composés GTE-3 (8,0 mg), GTE-4 (6,0 mg), GTE-7 (4,0 mg) et GTE-25 (5,3 mg).

## IV. Fractionnement et isolement

### IV.1. Chromatographie sur Couche Mince

La chromatographie sur couche mince est basée sur le phénomène de partage. Cette méthode a pour but de vérifier l'état de pureté des produits obtenus ainsi que de chercher le système d'éluant à utiliser lors de la chromatographie sur colonne. Des plaques finies de silice fluorescente sur l'aluminium ont été utilisées. Le développement s'est produit avec le mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> /MeOH (v/v) comme éluant.

La chromatographie sur Couche Mince comporte plusieurs étapes.

- Préparation de la plaque chromatographique : Sur la plaque chromatographique, les lignes des dépôts et le front du solvant sont marquées.
- Dépôt de l'échantillon : L'extrait à analyser est dissous dans un solvant organique. A l'aide d'un capillaire, les dépôts doivent être de l'ordre de 10  $\mu$ L et distants de 8 mm au cas de plusieurs dépôts.
- Révélation : La révélation des taches est faite à l'aide d'une lampe UV à  $\lambda = 254$  nm et à  $\lambda = 366$  nm et par pulvérisation avec une solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3%) suivie d'un chauffage dans une étuve à 60° pendant 10 minutes suivie du calcul de la référence frontale (Rf).

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par la tache (xi)}}{\text{Distance parcourue par le solvant (xo)}}$$

### IV.2. Chromatographie sur colonne

La chromatographie sur colonne permet de séparer un mélange en vue d'isoler de petites quantités de chacun des constituants de ce mélange. La silice gel 60 a été utilisée comme phase stationnaire. Il existe deux modes d'éluion en chromatographie sur colonne.

- En mode isocratique : La polarité de la phase mobile est maintenue du début jusqu'à la fin de l'éluion.

- Par gradient de polarité : Le système de l'éluant varie selon un ordre croissant.

La préparation de la colonne se fait en étapes.

- Activation du gel de silice : Le gel de silice est activé soit par abandon de 24h dans le solvant de préparation à la température ambiante, soit par chauffage dans une étuve à 110 °C pendant 20 minutes.

- Préparation de la colonne : Une fois activé, le gel de silice est introduit dans la colonne à l'aide d'un solvant. Pour éviter la cassure de la phase stationnaire, le solvant doit être versé en continue.

- Dépôt de l'extrait à fractionner : L'extrait est mélangé avec un volume de Chlorure de Méthylène puis on a ajouté un peu de gel de silice. Le solvant est évaporé dans l'étuve jusqu'à obtention d'une poudre fine. Le dépôt est préparé avec 2 g d'extrait et 50 g de gel de silice (30 fois à la masse du dépôt).

### **IV.3. Méthode de purification**

Les autres méthodes de purification utilisées ont été la Chromatographie sur Couche Mince préparative et le lavage avec un solvant organique.

La Chromatographie sur Couche Mince préparative se fait avec les fractions rassemblées ayant les mêmes profils chromatographiques et dont la masse est supérieure à 30 mg après évaporation. La tache bien isolée et majoritaire est grattée de la plaque puis la silice est extraite par un solvant et enfin, une filtration simple permet de séparer le gel de silice de la solution du produit à rechercher. Une évaporation sous pression réduite pour éliminer le solvant permet de recueillir le produit purifié.

Le lavage du produit par un solvant organique consiste à verser dans le flacon quelques mL de solvant et le produit dissous est siphonné à l'aide d'une pipette. La solution obtenue est concentrée sous pression réduite pour donner le produit recherché.

## **V. Matériels biologiques et méthodes**

### **V.1. Evaluation de l'activité antibactérienne**

#### **V.1.1. Préparation des solutions stocks d'extraits, et d'antibactériens de référence**

Les solutions mères des composés ont été préparées à 10 mg/mL en dissolvant 10 mg d'extrait dans 1 mL de DMSO absolu. La ciprofloxacine quant à elle a été préparée dans les mêmes conditions, à 1 mg/mL dans de l'eau distillée stérile acidifiée et a servi de témoin positif au cours des tests.

### V.1.2. Préparation des Inocula bactériens

Les différents inocula bactériens ont été préparés selon l'étalon standard 0,5 Mc Farland. Pour cela, une suspension mère a été préparée à la turbidité 0,5 Mc Farland (correspondant à une concentration approximative de  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) à partir des cultures jeunes de 24h sur Gélose Muller Hinton (MHA). Elle a été ensuite diluée à  $5 \times 10^5$  UFC/mL pour les tests.

### V.1.3. Principe de la méthode de micro dilution

La méthode de micro dilution est basée sur la capacité d'un microorganisme à croître en milieu supplémenté ou non en substances antimicrobiennes. Les paramètres d'inhibitions CMI et CMB sont révélés par colorimétrie à la résazurine. Le principe est basé sur la réduction de la résazurine de couleur bleue en résorufine de couleur rose par les déshydrogénases membranaires des cellules viables.

### V.1.4. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI)

Les essais ont été effectués en duplicat dans les microplaques stériles de 96 puits. En effet, 192  $\mu$ L de milieu de culture MHB ont été introduits dans les premiers puits et 100  $\mu$ L dans le reste des puits de la plaque. Par la suite, 8  $\mu$ L d'une solution stérile de chaque échantillon de composé concentré à 10 mg/mL ont été prélevés et introduits dans les puits correspondants puis s'en est suivie une série de 4 dilutions de raison géométrique d'ordre 2. Enfin, 100  $\mu$ L d'une suspension bactérienne à la charge  $1 \times 10^6$  cellules/mL ont été répartis dans les puits tests et ceux du contrôle négatif. Les concentrations des composés et de la ciprofloxacine dans les puits allaient de 200  $\mu$ g/mL à 12,5  $\mu$ g/mL et de 1,95  $\mu$ g/mL à 0,153  $\mu$ g/mL respectivement et la charge finale de l'inoculum dans chaque cupule était de  $5 \times 10^5$  cellules/mL. Le contrôle de stérilité était constitué uniquement du milieu de culture. Le contrôle positif était composé du milieu de culture, de l'inoculum et de la ciprofloxacine. Les microplaques ont été recouvertes puis incubées à 37 °C pendant 24 heures. A la fin de la période d'incubation, 20  $\mu$ L d'une solution de résazurine (0,15 mg/mL) fraîchement préparée ont été ajoutés dans tous les puits et les plaques ont été une fois de plus incubées dans les mêmes conditions pendant 30 minutes. La plus petite concentration à laquelle on n'observe aucun changement de coloration du bleu au rose correspondant à une absence de croissance visible de la bactérie a été considérée comme CMI.

### V.1.5. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)

La détermination de ce paramètre a été effectuée par subculture en milieu liquide des préparations prélevées des plaques ayant servi à la détermination des CMI.

A l'issue du temps d'incubation des plaques de détermination des CMI, 25  $\mu\text{L}$  d'aliqots des cupules inhibitrices ont été prélevés de façon aseptique et transférés dans des cupules correspondantes d'une autre plaque stérile contenant 175  $\mu\text{L}$  de MHB. Ainsi, les quantités de composés contenues dans ces différentes cupules ont été diluées 8 fois afin d'éliminer l'effet inhibiteur du composé testé. Le contrôle de stérilité était constitué du milieu de culture. Le contrôle positif était constitué du milieu de culture, l'inoculum et la ciprofloxacine tandis que le contrôle négatif était constitué de l'inoculum et du milieu de culture. Les plaques ont été recouvertes et incubées à 37 °C pendant 48 heures. Les tests ont été effectués en duplicat. A l'issue du temps d'incubation, 20  $\mu\text{L}$  de résazurine ont été ajoutés dans chaque cupule et les plaques réincubées à 37 °C pendant 30 min. La plus petite concentration des composés n'ayant montré aucune croissance bactérienne par manque de changement de coloration de la résazurine (bleue) a été considérée comme concentration bactéricide du composé.

## V.2. Evaluation de l'activité antioxydante

### V.2.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Pour préparer une solution standard de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH $\cdot$ ), 3 mg de DPPH ont été dissous dans 75 mL de méthanol (Blois, 1958). Cette solution a été prélevée et diluée 2 fois avec du méthanol pour obtenir 225 mL de solution finale. Après avoir préparé les différentes solutions, 2000  $\mu\text{L}$  de la solution DPPH ont été pipetés dans des tubes à essai et 500  $\mu\text{L}$  de solution contenant le composé isolé et la catéchine à différentes concentrations ont ensuite été ajoutés à chaque tube à essai jusqu'à un volume final de 2,5 mL par tube. Tous les tests ont été effectués en triple dans une chambre noire. La densité optique a été mesurée à une longueur d'onde de 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de la marque Thermo-Fisher-Scientific : Evolution 300 UV-VIS, après 30 min d'incubation.

### V.2.2. Test du dosage FRAP (ferric reduction antioxydant power)

Le dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) est basé sur la réduction du complexe ferrique tripyridyltriazine ( $\text{Fe}^{3+}$  - TPTZ) en complexe ferreux tripyridyltriazine ( $\text{Fe}^{2+}$  -TPTZ) en présence d'un antioxydant préparé comme suit : 2000  $\mu\text{L}$  de solution FRAP sont pipetés et mis dans différents tubes à essai, suivis de 75  $\mu\text{L}$  de solution contenant le composé isolé ou catéchine à différentes concentrations (Benzie *et al.*, 1999). Les tests sont effectués en triple et le mélange est incubé pendant 30 min. La densité optique a été mesurée à 593 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de la marque Thermo-Fisher-Scientific : Evolution 300 UV-VIS. La solution de FRAP est préparée comme suit : 14,1 mg de TPTZ sont dilués dans 9

mL de HCl à 40 mM, de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$  à 20 mM) et du tampon acétate 300 mM à pH = 3,6 les 3 mélanges dans le rapport de 1 : 1 : 10 respectivement.

### V.2.3. Analyses statistiques

Les données sont exprimées comme les moyennes  $\pm$  SD de trois expériences indépendantes. Une valeur de  $p < 0,05$  est considérée comme étant statistiquement significative. La représentation graphique des données est réalisée à l'aide du logiciel Graph Pad Prism 8.0.1 (Microsoft, USA). L'IC<sub>50</sub> et l'EC<sub>50</sub> sont déterminées à l'aide du logiciel SPSS Statistic Software version 23.0.

## VI. Tests qualitatifs des composés isolés

### VI.1. Test de Shinoda

But : identification des flavonoïdes

Réactifs : Alcool, Acide chlorhydrique (HCl), Copeaux de magnésium

On a dissous 1mg du produit isolé dans 1ml d'éthanol placé dans un tube à essais et on a ajouté cinq gouttes d'acide chlorhydrique concentré puis quelques copeaux de magnésium. On a constaté une coloration rouge brique qui caractérise la présence des flavonoïdes.

### VI.2. Test au chlorure ferrique

But : identification des phénols

Réactifs :  $\text{FeCl}_3$ , EtOH

Dans 5 ml d'éthanol contenus dans un tube à essais, on a mis quelques cristaux du composé. Ensuite à la solution obtenue, on a ajouté trois gouttes d'une solution aqueuse de chlorure ferrique. Une coloration violette très foncé nous a confirmé la présence des phénols.

### VI.3. Test de Molisch

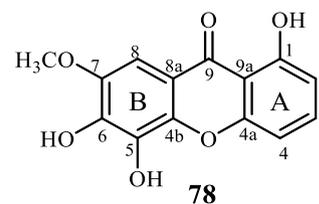
Il permet de caractériser les sucres. Quelques cristaux de produits sont dissous dans l'eau distillée contenue dans un tube à essai. On y ajoute un volume égal d'alpha naphthol à 1%. A la solution obtenue, on introduit quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. La présence des glycosides se détecte par la formation d'anneau brun à l'interphase.

### VI.4. Test de Libermann-Büchard

La détection des terpenoïdes dans les différents extraits a été faite. A cet effet, 2 mg de l'extrait méthanolique ont été dissous dans 6 mL de chloroforme. Puis respectivement 5 gouttes d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré ont été ajoutées à la solution obtenue. On a noté la présence des terpenoïdes par la coloration bleue qui vire rapidement au vert foncé.

## VII. Données physico-chimiques des produits isolés

**TED13 : 1,5,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone :  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_6$**



Poudre amorphe jaune.

Test de phénol positif.

CIMS (CH<sub>4</sub>) [M+H]<sup>+</sup> m/z 275,0580 (calculée 275,0578)

**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** : δ (ppm) : 12,98 (1H, s, OH), 6,75 (1H, d, 8,3, H-2), 7,65 (1H, t, 8,3, H-3), 7,04 (1H, d, 8,3, H-4), 7,11 (1H, s, H-8), 3,91 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)**: δ<sub>c</sub> (ppm) : 55,9 (OCH<sub>3</sub>) ; 160,8 (C-1) ; 109,5 (C-2) ; 136,2 (C-3) ; 107,6 (C-4) ; 155,6 (C-4a) ; 142,2 (C-4b) ; 133,3 (C-5) ; 142,9 (C-6) ; 146,2 (C-7) ; 95,3 (C-8) ; 111,3 (C-8a) ; 180,6 (C-9) ; 106,9 (C-9a).

**TED14 : 1,7-dihydroxyxanthone : C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>**

Poudre amorphe jaune.

Test de phénol positif.

CIMS (CH<sub>4</sub>) [M + H]<sup>+</sup> m/z 229,0543 (calculée 229,0501)

**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** : δ (ppm) : 6,78 (1H, d, 8,3 Hz, H-2), 7,69 (1H, t, 8,3 Hz, H-3), 7,03 (1H, d, 8,3 Hz, H-4), 7,53 (1H, d, 9,0 Hz, H-5), 7,36 (1H, dd, 9,0 ; 3,2 Hz, H-6), 7,44 (1H, d, 3,2 Hz, H-8).

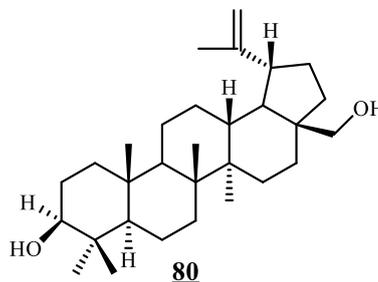
**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** : δ (ppm) : 108,3 (C-8), 108,1 (C-9a), 107,5 (C-4), 110,0 (C-2), 120,7 (C-8a), 119,8 (C-5), 126,0 (C-6), 137,6 (C-3), 149,6 (C-4b), 154,4 (C-7), 156,1 (C-4a), 161,2 (C-1), 181,8 (C-9).

**TED15 : bétuline : C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>**

Poudre amorphe blanche.

Test de Libermann-büchard positif.

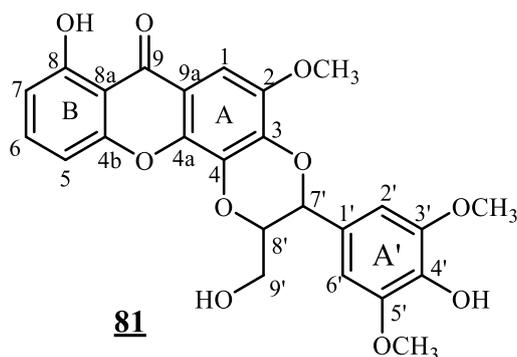
EIMS [M]<sup>+</sup> m/z 442,3811



**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) : 4,69 (1H, d, H-29b), 4,56 (1H, d, H-29a), 3,78 (1H, d, *J* = 10,8, H-28b), 3,34 (1H, d, *J* = 10,8, H-28a), 3,16 (1H, dd, *J* = 5,3, H-3α), 1,66 (3H, s, H-30), 0,99 (3H, s, H-27), 0,97 (3H, s, H-26), 0,96 (3H, s, H-23), 0,81 (3H, s, H-25), 0,76 (3H, s, H-24).

**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) : 150,5 (C-20), 109,7 (C-29), 79,0 (C-3), 60,5 (C-28), 55,3 (C-5), 50,4 (C-9), 48,8 (C-19), 47,8 (C-17), 47,7 (C-18), 42,7 (C-14), 40,9 (C-8), 38,8 (C-1), 38,7 (C-4), 37,3 (C-10), 37,2 (C-13), 34,2 (C-7), 34,0 (C-22), 29,8 (C-21), 29,2 (C-16), 28,0 (C-23), 27,4 (C-2), 27,0 (C-15), 25,2 (C-12), 20,8 (C-11), 19,1 (C-30), 18,3 (C-6), 16,1 (C-25), 16,1 (C-26), 15,3 (C-24), 14,8 (C-27).

**TED16: Cadensine H: C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub>**



Poudre amorphe jaune.

Test de phénol positif.

CIMS (CH<sub>4</sub>) [M + H]<sup>+</sup> m/z 483,1313 (calculée 482,1291).

**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)** : δ (ppm) : 7,17 (1H, s, H-1), 7,05 (1H, d, 8,4, H-5), 7,64 (1H, t, 8,4, H-6), 6,77 (1H, d, 8,4, H-7), 12,79 (1H, s OH), 6,74 (1H, s, H-2'), 6,74 (1H, s, H-6'), 5,08 (1H, d, 7,8, H-7'), 4,35 (1H, dt, 7,8 et 3,3, H-8'), 3,48 (1H, dd, 12,5 et 4,4, H-9'a), 3,75 (1H, dd, 12,5 et 4,4, H-9'b), 3,88 (3H, s, -OMe), 3,88 (3H, s, -OMe), 3,79 (3H, s, -OMe).

**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)** : δ (ppm) : 95,8 (C-1), 145,5 (C-2), 140,3 (C-3), 132,3 (C-4), 141,4 (C-4a), 155,4 (C-4b), 106,8 (C-5), 136,2 (C-6), 109,8 (C-7), 160,9 (C-8), 107,8 (C-8a), 180,3 (C-9), 112,4 (C-9a), 125,3 (C-1'), 105,5 (C-2'), 147,9 (C-3'), 136,2 (C-4'), 147,9 (C-5'), 105,5 (C-6'), 76,7 (C-7'), 77,7 (C-8'), 59,7 (C-9'), 56,0 (OMe), 56,0 (OMe), 55,7 (OMe).

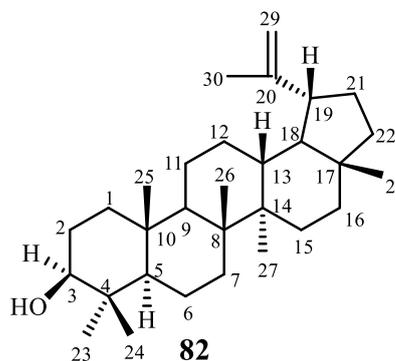
**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)** : δ (ppm) : 17,9 (C-26) ; 25,9 (C-27) ; 28,8 (C-28) ; 16,6 (C-29) ; 17,9 (C-30) ; 35,9 (C-1) ; 28,0 (C-2) ; 77,2 (C-3) ; 38,8 (C-4) ; 49,3 (C-5) ; 23,0 (C-6) ; 121,4 (C-7) ; 141,4 (C-8) ; 146,5 (C-9) ; 37,4 (C-10) ; 115,6 (C-11) ; 38,4 (C-12) ; 44,9 (C-13) ; 51,8 (C-14) ; 72,8 (C-15) ; 39,8 (C-16) ; 48,7 (C-17) ; 16,2 (C-18) ; 23,1 (C-19) ; 35,7 (C-20) ; 18,7 (C-21) ; 36,4 (C-22) ; 24,7 (C-23) ; 125,3 (C-24) ; 130,8 (C-25).

### TED17 : lupéol : C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O

Poudre amorphe blanche.

Test de Libermann-büchard positif.

EIMS [M]<sup>+</sup> m/z 426,3862



**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ (ppm) : 4,60 (1H, s, H-29a), 4,48 (1H, s, H-29b), 1,69 (H-30, s), 1,62 (2H, m, H-1), 3,22 (1H, dd, J = 11,5, 5,0 Hz, H-3), 0,68 (1H, t, J = 9,5 Hz, H-5), 1,29 (1H, s, H-9), 1,58 (2H, m, H-12), 2,27 (1H, m, H-19), 1,87 (2H, m, H-21), 1,65 (2H, m, H-15), 1,66 (1H, m, H-13), 1,59 (2H, m, H-2), 1,49 (2H, m, H-6), 1,40 (2H, m, H-7), 1,42 (1H, m, H-

11), 1,37 (2H, m, H-16), 1,36 (1H, m, H-18), 1,38 (2H, m, H-22), 0,99 (s, 3H, Me-26), 0,96 (s, 3H, Me-23), 0,94 (s, 3H, Me-27), 0,85 (s, 3H, Me-25), 0,79 (s, 3H, Me-28), 0,70 (s, 3H, Me-24).

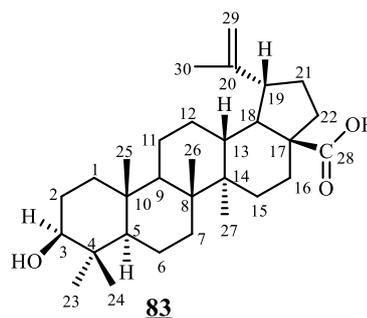
**RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) : 148,3 (C-20), 109,6 (C-29), 79,1 (C-3), 55,2 (C-5), 53,9 (C-9), 50,5 (C-18), 48,8 (C-19), 42,9 (C-17), 42,8 (C-14), 40,8 (C-8), 40,0 (C-22), 38,7 (C-4), 38,8 (C-1), 38,0 (C-13), 37,2 (C-10), 35,6 (C-16), 34,3 (C-7), 29,8 (C-21), 27,9 (C-23), 27,4 (C-15), 27,4 (C-2), 25,1 (C-12), 21,0 (C-11), 19,8 (C-30), 18,5 (C-6), 16,7 (C-28), 16,5 (C-25), 15,5 (C-26), 15,2 (C-24), 15,0 (C-27).

**TED18 : Acide bétulinique :  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$**

Poudre amorphe blanche.

Test de Libermann-büchard positif.

CIMS ( $\text{CH}_4$ )  $[\text{M}+\text{H}]^+$  m/z 457,3598 (calculée 457,3603)



**RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) :**  $\delta$  (ppm) : 1,55 (2H, m, H-1), 1,45 (2H, m, H-2), 3,00 (1H, m, H-3), 0,68 (1H, m, H-5), 1,46 (2H, m, H-6), 1,34 (2H, m, H-7), 1,27 (1H, m, H-9), 1,37 (2H, m, H-11), 1,63 (2H, m, H-12), 2,13 (1H, td, 3,6 et 12,3, H-13), 1,72 (2H, m, H-15), 2,04 (2H, tt, 3,0 et 12,5, H-16), 2,85 (1H, m, H-18), 1,45 (1H, m, H-19), 1,10 (2H, m, H-21), 1,81 (2H, tt, 3,0 et 13,0, H-22), 0,84 (3H, s, H-23), 0,78 (3H, s, H-24), 0,67 (3H, s, H-25), 0,56 (3H, s, H-26), 0,84 (3H, s, H-27), 4,60 (1H, m, H-29a), 4,48 (1H, m, H-29b), 1,56 (3H, s, H-30).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) :**  $\delta$  (ppm) : 28,1 (C-23) ; 15,7 (C-24) ; 15,8 (C-25) ; 16,0 (C-26) ; 14,4 (C-27) ; 19,0 (C-30) ; 38,3 (C-1) ; 27,2 (C-2) ; 76,8 (C-3) ; 38,5 (C-4) ; 54,9 (C-5) ; 18,0 (C-6) ; 33,9 (C-7) ; 40,3 (C-8) ; 50,0 (C-9) ; 36,7 (C-10) ; 20,5 (C-11) ; 25,1 (C-12) ; 37,6 (C-13) ; 42,0 (C-14) ; 30,1 (C-15) ; 31,7 (C-16) ; 55,4 (C-17) ; 46,6 (C-18) ; 48,6 (C-19) ; 150,3 (C-20) ; 29,2 (C-21) ; 36,4 (C-22) ; 177,3 (C-28) ; 109,7 (C-29).

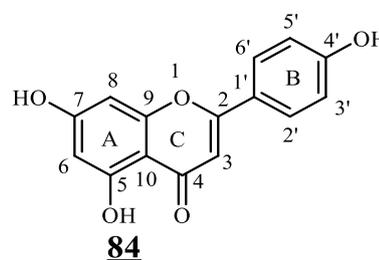
**GTE-3 : Apigénine :  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$**

Poudre amorphe jaune-pâle.

Test de phénol positif.

Test de flavonoïdes positif.

CIMS ( $\text{CH}_4$ )  $[\text{M}+\text{H}]^+$  m/z 271,0597 (calculée 271,0606)



**Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) :**  $\delta$  (ppm) : 6,78 (1H, s, H-3) ; 11,78 (1H, s, H-5) ; 6,17 (1H, d, 2,0 Hz, H-6) ; 6,42 (1H, d, 2,0 Hz, H-8) ; 7,96 (2H, d, 8,9 Hz, H-2'/H-6') ; 6,90 (2H, d, 8,9 Hz, H-3'/H-5').

**Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )**  $\delta$  (ppm): 164,2 (s, C-2) ; 103,3 (d, C-3) ; 182,2 (s, C-4) ; 161,9 (s, C-5) ; 99,9 (d, C-6) ; 163,3 (s, C-7) ; 94,6 (d, C-8) ; 157,8 (s, C-9) ; 105,8 (s, C-10) ; 121,6 (s, C-1') ; 116,5 (d, C-3'/C5') ; 128,9 (d, C-2'/C6') ; 161,8 (s, C-4').

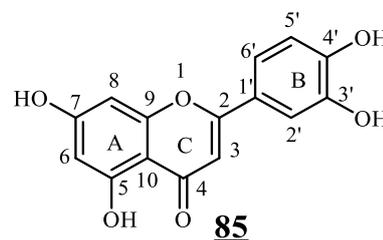
**GTE-4 : Lutéoline :  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$**

Poudre amorphe jaune-orangé.

Test de phénol positif.

Test de flavonoïdes positif.

CIMS ( $\text{CH}_4$ )  $[\text{M} + \text{H}]^+$   $m/z$  287,0549 (calculée 287,0556)



**Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )** ;  $\delta$  (ppm) :6,78 (1H, s, H-5) ; 12,90 (1H, s, H-5) ; 6,26 (1H, d, 2,1 Hz, H-6) ; 6,44 (1H, d, 2,1 Hz H-8) ; 7,78 (1H, d, 2,3 Hz, H-2') ; 6,88 (1H, d, 8,4 Hz, H-5') ;7,63 (1H, dd, 2,3 et 8,4 Hz, H-6').

**Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )**;  $\delta$  (ppm) : 157,9 (s, C-2); 102,6 (d, C-3); 182,4 (s, C-4); 161,1 (s, C-5); 99,8 (d,C-6) ; 163,2 (s, C-7) ; 94,4 (d,C-8) ; 157,2 ( s, C-9) ;103,2 (s,C-10) ; 120,1 (s, C-1') 113,1 (d, C-2') ; 145,9(s, C-3') ; 152,2 (s, C-4') ; 116,4 (d, C-5') ; 118,6(d, C-6').

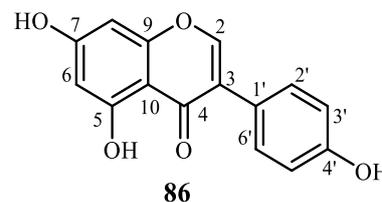
**GTE-5 : Génisteine :  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$**

Poudre amorphe beige

Test de phénols positif.

Test de flavonoïdes positif.

ESI HRMS  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  : 271,0611 (calculée pour 271,0606)



**RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, acétone  $d_6$ )**:  $\delta$  (ppm): 8,04 (1H, s); 12,49 (1H, s, 5-OH); 6,21 (1H, d, 2,1); 6,33 (1H, d, 2,1); 7,35 (2H, d, 8,9); 6,86 (2H, d, 9,3).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, acétone  $d_6$ )**:  $\delta$  (ppm): 154,8 (CH, C2); 123,2 (C, C3); 181,4 (C, C4); 162,9 (C, C5); 99,8 (CH, C6); 163,6 (C, C7); 94,6 (CH, C8), 156,8 (C, C9); 130,6 (C, C10); 121,4 (C, C1'); 130,4 (CH, C2'/C6'); 115,6 (CH, C3'/C5'); 156,2 (C, C4').

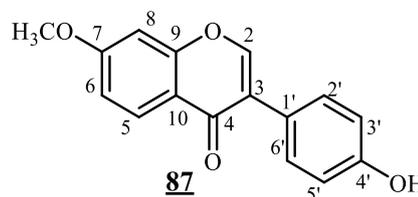
**GTE-6 : Isoformononétine :  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$**

Poudre beige amorphe

Test de phénols positif ;

Test de flavonoïdes positif.

ESI HRMS  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  : 269,0818 (calculée 269,0814)



**RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, acétone- $d_6$ )**:  $\delta$  (ppm): 8,06 (1H, s); 7,86 (1H, d, 9); 6,64 (1H, dd, 2,1 et 9); 6,46 (1H, d, 2,1); 7,28 (2H, d, 9); 6,81 (2H, d).

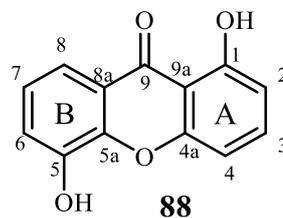
**RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 155,6 (CH, C<sub>2</sub>); 122,4 (C, C<sub>3</sub>); 174,8 (C, C<sub>4</sub>); 129,3 (CH, C<sub>5</sub>); 116,8 (CH, C<sub>6</sub>); 162,6 (CH, C<sub>7</sub>); 103,1 (CH, C<sub>8</sub>); 156,2 (C, C<sub>9</sub>); 115,2 (C, C<sub>10</sub>); 133,6 (C, C<sub>1'</sub>); 129,6 (CH, C<sub>2'/C<sub>6'</sub></sub>); 116,2 (CH, C<sub>3'/C<sub>5'</sub></sub>); 156,9 (C, C<sub>4'</sub>); 56,4 (OCH<sub>3</sub>).

**GTE-7 : 1,5-dihydroxyxanthone : C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>**

Poudre amorphe jaune

Test de phénol positif

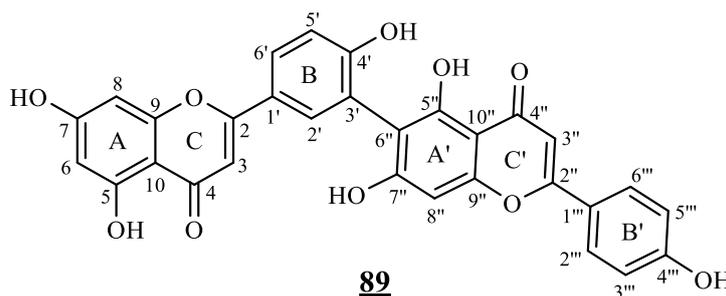
ESI MS [M+H]<sup>+</sup> m/z 229,0498 (calculée 229,0423)



**RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) :**  $\delta$  (ppm) : 6,96 (1H, d, 8,0 Hz, H-2) ; 6,82 (1H, d, 8,0 Hz, H-4) ; 7,60 (1H, t, 8,0 Hz, H-3) ; 7,27 (1H, t, 8,0 Hz, H-7) ; 7,79 (1H, d, 8,0 Hz, H-8) ; 7,35 (1H, dd, 8,0 Hz, H-6) ; 5,81 (1H, s, OH, H-5) et 12,85 (1H, s, OH, H-1).

**RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) :**  $\delta$  (ppm) : 162,01 (C-1) ; 106,6 (C-2) ; 136,8 (C-3) ; 111,1 (C-4) ; 120,2 (C-4a) ; 121,1 (C-5) ; 108,8 (C-5a); 120,6 (C-6); 124,2 (C-7); 117,1 (C-8); 155,4 (C-8a); 182,2 (C-9) et 144,8 (C-9a).

**GTE-8 : Robustaflavone : C<sub>30</sub>H<sub>18</sub>O<sub>10</sub>**



Poudre amorphe et jaune.

Test de phénol positif.

Test de flavonoïdes positif.

IC-SMHR [M+H]<sup>+</sup> m/z 539,0981 (calculée 539,0978)

**RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 7,81 (1H, dd, 2,1 et 8,8 Hz, H-6') ; 6,80 (1H, d, 8,8 Hz, H-5') ; 8,27 (1H, d, 2,1 Hz, H-2') ; 6,67 (1H, s, H-3) ; 6,07 (1H, d, 1,8Hz, H-6) ; 6,18 (1H, d, 1,8 Hz, H-8) ; 6,62 (1H, s, H-3'') ; 5,89 (1H, s, H-8'') ; 7,67 (2H, d, 9,0 Hz, H-2''' et H-6''') ; 6,50 (2H, d, 9,0 Hz, H-3''' et H-5''') ; 13,20 (1H, s, OH-5'') ; 13,10 (1H, s, OH-5).

**RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) :**  $\delta$  (ppm) : 164,3 (C, C-2) ; 101,5(CH, C-3); 181,3 (C, C-4) ; 161,4 (C, C-5); 99,2 (CH, C-6) ; 165,5 (C, C-7); 94,1 (CH, C-8); 157,4 (C, C-9); 103,0 (C, C-10); 117,2 (C, C-1'); 131,2 (CH, C-2'); 124,1 (C, C-3'); 165,4 (C, C-4'); 119,8 (CH, C-5'); 125,9 (CH, C-6'); 162,5 (C, C-2''); 102,2 (CH, C-3''); 181,3 (C, C-4''); 161,2 (C, C-5''); 107,5

(C, C-6''); 160,4 (C, C-7''); 102,2 (CH, C-8''); 154,7 (C, C-9''); 101,1 (C, C-10''); 121,6 (C, C-1''); 128,0 (CH, C-2'''/6'''); 115,4 (CH, C-3'''/5'''); 160,6 (C, C-4''').

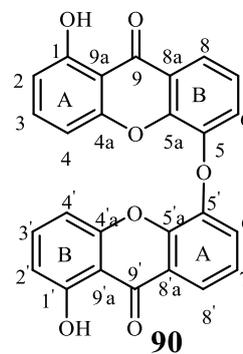
**GTE-25: 5'-O-(1-hydroxyxanthon-5-yl)-1'-hydroxyxanthone: C<sub>26</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>**

Poudre amorphe jaune.

Poudre amorphe jaune

Test de phénol positif.

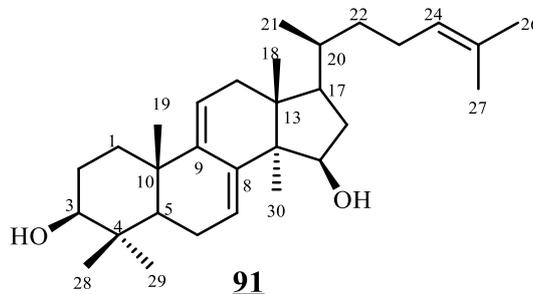
ESI MS [M+H]<sup>+</sup> m/z 439,0809 (calculée pour 439,0818)



**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** :  $\delta$  (ppm) : 12,70 (1H, s, OH) ; 6,82 (1H, dd, 8,3 et 0,8 Hz, H-2) ; 7,59 (1H, t, 8,3 Hz, H-3) ; 6,95 (1H, dd, 8,3 et 0,8 Hz, H-4) ; 7,35 (1H, dd, 7,9 et 1,5 Hz, H-6) ; 7,27 (1H, t, 7,9 Hz, H-7) et 7,79 (1H, dd, 7,9 et 1,5 Hz, H-8).

**RMN<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** :  $\delta$  (ppm) : 162,2 (C-1) ; 111,1 (C-2); 136,9 (C-3); 106,7 (C-4); 155,5 (C-4a); 144,5 (C-5); 144,0 (C-5a); 120,6 (C-6); 124,2 (C-7); 117,1 (C-8); 121,1 (C-8a); 182,2 (C-9) et 108,8 (C-9a).

**TED1 : 3,15-dihydroxylanosta-7,9(11),24-triene : C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub>**



Poudre amorphe blanche.

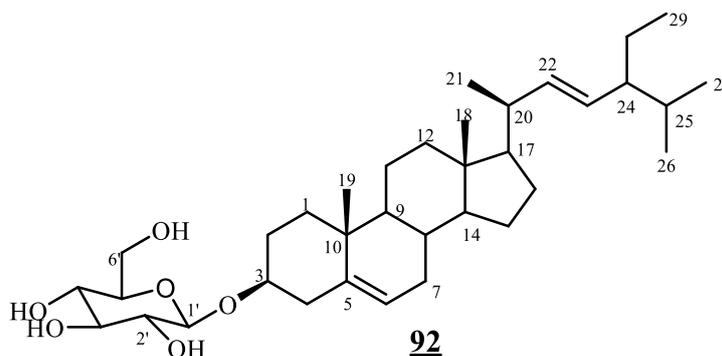
Test de Libermann-büchard positif.

EIMS m/z 440 observée à m/z 440,3654

**RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)**:  $\delta$  (ppm): 1,30 (2H, t, 10,6, H-1), 1,51 (2H, dt, 10,6 et 5,2, H-2), 3,02 (1H, d, 10,6, H-3), 0,94 (1H, t, 5,3, H-5), 1,98 (2H, dd, 5,3 et 10,6, H-6), 5,89 (1H, t, 6,5, H-7), 5,29 (1H, t, 6,2, H-11), 2,19 (2H, d, 16,5, H-12), 4,05 (1H, t, 5,9, H-15), 1,77 (1H, dt, 9,4 et 5,9, H-16), 1,54 (1H, dt, 7,5 et 14,5, H-17), 0,55 (3H, s, H-18), 0,92 (3H, s, H-19), 1,91 (1H, m, H-20), 0,85 (3H, d, 6,4, H-21), 1,29 (2H, m, H-22), 1,94 (2H, dt, 14,5 et 7,5, H-23), 5,08 (1H, t, 6,5, H-24), 0,83 (3H, s, H-26), 1,64 (3H, s, H-27), 0,91 (3H, s, H-28), 0,78 (3H, s, H-29), 0,83 (3H, s, H-30).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) :**  $\delta$  (ppm) : 17,9 (C-26) ; 25,9 (C-27) ; 28,8 (C-28) ; 16,6 (C-29) ; 17,9 (C-30) ; 35,9 (C-1) ; 28,0 (C-2) ; 77,2 (C-3) ; 38,8 (C-4) ; 49,3 (C-5) ; 23,0 (C-6) ; 121,4 (C-7) ; 141,4 (C-8) ; 146,5 (C-9) ; 37,4 (C-10) ; 115,6 (C-11) ; 38,4 (C-12) ; 44,9 (C-13) ; 51,8 (C-14) ; 72,8 (C-15) ; 39,8 (C-16) ; 48,7 (C-17) ; 16,2 (C-18) ; 23,1 (C-19) ; 35,7 (C-20) ; 18,7 (C-21) ; 36,4 (C-22) ; 24,7 (C-23) ; 125,3 (C-24) ; 130,8 (C-25).

**TED2: Stigmast-5,22-dien-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside:  $\text{C}_{35}\text{H}_{58}\text{O}_6$**



Poudre amorphe blanche.

Test de Libermann-büchard positif.

Test de Molisch positif.

CIMS ( $\text{CH}_4$ )  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  575,4312 (calculée 575, 4313)

**RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm): 2,28 (2H, dd, 13,4 et 4,7, H-1), 1,29 (2H, m, H-2), 3,41 (1H, m, H-3), 1,73 (2H, d, 10,2, H-4), 5,23 (1H, d, 4,5, H-6), 1,39 (2H, m, H-7), 1,70 (1H, s, H-8), 0,99 (1H, s, H-9), 1,17 (2H, m, H-11), 1,89 (2H, m, H-12), 1,08 (1H, m, H-14), 1,15 (2H, m, H-15), 1,82 (2H, s, H-16), 1,03 (1H, m, H-17), 0,68 (3H, s, H-18), 0,97 (3H, s, H-19), 1,31 (1H, m, H-20), 0,91 (3H, d, 6,3, H-21), 5,08 (1H, dd, 8,4 et 15, H-22), 5,03 (1H, dd, 8,4 et 15, H-23), 0,97 (1H, s, H-24), 1,56 (1H, m, H-25), 0,81 (3H, d, 6,3, H-26), 0,88 (3H, d, 6,3, H-27), 1,02 (2H, s, H-28), 0,72 (3H, d, 8,4, H-29), 4,15 (1H, d, 7,8, H-1'), 3,00 (1H, d, 5,5, H-2'), 3,11 (1H, m, H-3'), 2,85 (1H, t, 8,3, H-4'), 3,08 (1H, m, H-5'), 3,59 (2H, d, 11,6, H-6').

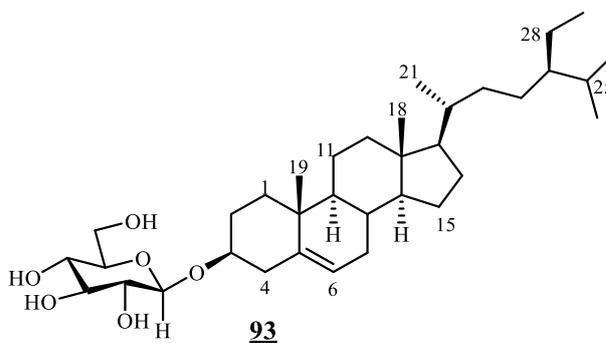
**RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) :**  $\delta$  (ppm) : 38,8 (C-1) ; 33,8 (C-2) ; 77,0 (C-3) ; 37,3 (C-4) ; 140,8 (C-5) ; 121,5 (C-6) ; 31,8 (C-7) ; 31,9 (C-8) ; 50,1 (C-9) ; 36,6 (C-10) ; 21,4 (C-11) ; 42,3 (C-12) ; 42,2 (C-13) ; 56,7 (C-14) ; 25,5 (C-15) ; 29,2 (C-16) ; 55,9 (C-17) ; 12,2 (C-18) ; 13,3 (C-19) ; 35,9 (C-20) ; 19,0 (C-21) ; 138,4 (C-22) ; 129,2 (C-23) ; 29,7 (C-24) ; 31,7 (C-25) ; 20,0 (C-26) ; 19,5 (C-27) ; 23,1 (C-28) ; 12,0 (C-29) ; 101,3 (C-1') ; 70,5 (C-2') ; 77,2 (C-3') ; 73,9 (C-4') ; 77,6 (C-5') ; 61,6 (C-6').

**TED3 : 3- $\beta$ -D-glucopyranosyle de  $\beta$ -sitostérol :  $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_6$**

Poudre amorphe blanche.

Test de Libermann-büchard positif.

Test de Molisch positif.



**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 1,04 (2H, m, H-1), 1,20 (2H, m, H-2), 4,1 (1H, m, H-3), 1,68 (2H, m, H-4), 5,28 (1H, s, H-6), 1,61 (2H, m, H-7), 0,93 (1H, m, H-8), 0,97 (1H, m, H-9), 1,18 (2H, m, H-11), 1,24 (2H, m, H-12), 1,02 (1H, m, H-14), 1,50 (2H, m, H-15), 1,25 (2H, m, H-16), 1,33 (2H, m, H-17), 0,59 (3H, s, H-18), 0,87 (3H, s, H-19), 1,18 (1H, m, H-20), 0,82 (3H, d, 6,2, H-21), 1,31 (2H, m, H-22), 1,36 (2H, m, H-23), 0,91 (1H, m, H-24), 1,65 (1H, m, H-25), 0,80 (3H, d, 7,5, H-26), 0,78 (3H, d, 1,6, H-27), 1,22 (1H, m, H-28), 0,81 (3H, t, 6,8, H-29), 4,99 (1H, d, 7,9, H-1'), 4,37 (1H, m, H-2'), 4,23 (1H, m, H-3'), 4,00 (1H, m, H-4'), 3,92 (1H, m, H-5'), 3,89 (1H, m, H-6').

**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) : 38,40 (C-1), 30,72 (C-2), 80,07 (C-3), 43,40 (C-4), 145,35 (C-5), 124,40 (C-6), 32,64 (C-7), 32,50 (C-8), 50,80 (C-9), 38,94 (C-10), 22,74 (C-11), 40,79 (C-12), 43,93 (C-13), 58,28 (C-14), 25,97 (C-15), 27,97 (C-16), 56,69 (C-17), 12,43 (C-18), 20,47 (C-19), 37,86 (C-20), 19,67 (C-21), 34,65 (C-22), 27,82 (C-23), 48,50 (C-24), 30,90 (C-25), 19,44 (C-26), 20,88 (C-27), 23,84 (C-28), 13,62 (C-29), 102,05 (C-1'), 74,80 (C-2'), 77,97 (C-3'), 72,13 (C-4'), 76,53 (C-5'), 64,30 (C-6').

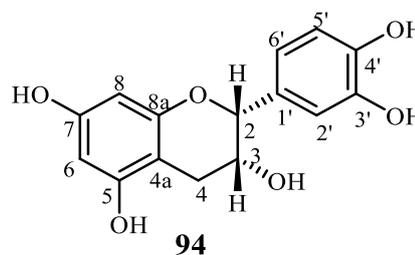
**TED4 : Épicatéchine : C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>**

Poudre amorphe violette.

Test de phénol positif.

Test de flavonoïdes positif.

CIMS (CH<sub>4</sub>) [M + H]<sup>+</sup> m/z 291,0887 (calculée 291,0869)



**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) : 4,63 (1H, s, H-2), 3,90 (1H, s, H-3), 2,60 (1H, d, 4,6, H-4<sub>axi</sub>), 2,57 (1H, d, 4,6, H-4<sub>eq</sub>), 5,80 (1H, d, 2,3, H-6), 5,62 (1H, d, 2,3, H-8), 6,79 (1H, d, 8,0, H-2'), 6,57 (1H, d, 1,8, H-5'), 6,56 (1H, dd, 8 et 1,8, H-6').

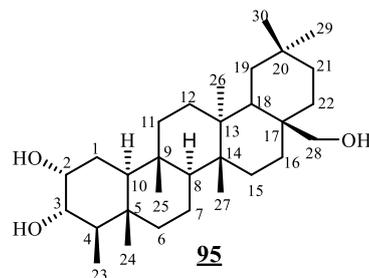
**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)**  $\delta$  78,0 (C-2) ; 64,9 (C-3) ; 28,2 (C-4<sub>axi</sub>) ; 28,6 (C-4<sub>eq</sub>) ; 98,5 (C-4) ; 156,2 (C-5) ; 95,1 (C-6) ; 156,5 (C-7) ; 94,1 (C-8) ; 155,7 (C-8a) ; 130,6 (C-1') ; 114,8 (C-2') ; 144,4 (C-3') ; 144,5 (C-4') ; 114,9 (C-5') ; 118,0 (C-6').

**TED7: friedelane-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,28-triol: C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>O<sub>3</sub>**

Poudre amorphe jaune.

Test de Libermann-büchard positif.

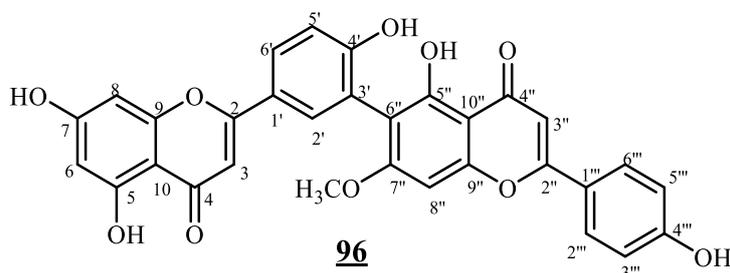
HRESIMS  $m/z$   $[M+K]^+$  499,3607 (calculée 499,3554)



**RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm): 1,31 (2H, m, H-1), 3,61 (1H, m, H-2), 3,19 (1H, t, 11,2, H-3), 1,39 (1H, d, 11,2, H-4), 1,60 (2H, m, H-6), 1,28 (2H, m, H-7), 1,36 (1H, m, H-8), 1,26 (1H, m, H-10), 1,44 (2H, m, H-11), 1,32 (2H, m, H-12), 1,30 (2H, m, H-15), 1,44 (2H, m, H-16), 1,24 (1H, m, H-18), 1,38 (1H, m, H-19), 1,32 (2H, m, H-21), 1,20 (2H, m, H-22), 0,82 (3H, d, 7,2, H-23), 0,87 (3H, s, H-24), 0,76 (3H, s, H-25), 0,91 (3H, s, H-26), 0,99 (3H, s, H-27), 3,28 (2H, s, H-28), 1,10 (3H, s, H-29), 1,22 (3H, s, H-30).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm) : 23,3 (C-1), 70,6 (C-2), 75,2 (C-3), 42,9 (C-4), 37,7 (C-5), 41,4 (C-6), 17,7 (C-7), 51,4 (C-8), 36,1 (C-9), 52,2 (C-10), 34,7 (C-11), 29,8 (C-12), 38,9 (C-13), 38,8 (C-14), 30,6 (C-15), 34,7 (C-16), 30,9 (C-17), 39,3 (C-18), 31,3 (C-19), 28,1 (C-20), 29,3 (C-21), 35,1 (C-22), 11,3 (C-23), 16,4 (C-24), 18,7 (C-25), 18,2 (C-26), 19,5 (C-27), 66,6 (C-28), 34,6 (C-29), 33,2 (C-30).

**TED8 : 7''-O-methylrobustaflavone :  $\text{C}_{31}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$**



Poudre amorphe jaune.

Test de phénol positif.

Test de flavonoïdes positif.

CIMS ( $\text{CH}_4$ )  $[M+H]^+$   $m/z$  553,1238 (calculée pour 553,1135)

**RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm) : 6,82 (1H, s, H-3), 13,01 (1H, s, OH), 6,19 (1H, d, 2,1, H-6), 6,46 (1H, d, 2,1, H-8), 8,02 (1H, d, 2,5, H-2'), 7,16 (1H, d, 8,5, H-5'), 7,97 (1H, dd, 8,5 et 2,5, H-6'), 6,87 (1H, s, H-3''), 12,98 (1H, s, OH), 6,42 (1H, s, H-8''), 7,69 (2H, d, 8,9, H-2'''/6'''), 6,95 (2H, d, 8,9, H-3'''/5'''), 3,75 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ -7'').

**RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm) : 55,4 ( $\text{OCH}_3$ ) ; 163,7 (C-2) ; 103,0 (C-3) ; 182,1 (C-4) ; 160,5 (C-5) ; 98,8 (C-6) ; 164,0 (C-7) ; 94,0 (C-8) ; 157,3 (C-9) ; 121,0 (C-1') ; 131,3 (C-2') ; 119,49 (C-3') ; 159,5 (C-4') ; 116,1 (C-5') ; 127,7 (C-6') ; 163,72 (C-2'') ; 103,2 (C-3'') ;

181,6 (C-4''); 161,4 (C-5''); 103,6 (C-6''); 162,1 (C-7''); 98,7 (C-8''); 154,5 (C-9''); 103,7 (C-10''); 123,4 (C-1'''); 122,7 (C-2'''/6'''); 114,4 (C-3'''/5'''); 161,4 (C-4''').

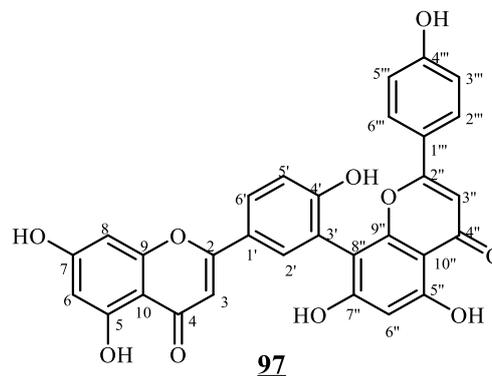
**TED9 : Amentoflavone : C<sub>30</sub>H<sub>18</sub>O<sub>10</sub>**

Poudre jaune.

Test de phénol positif.

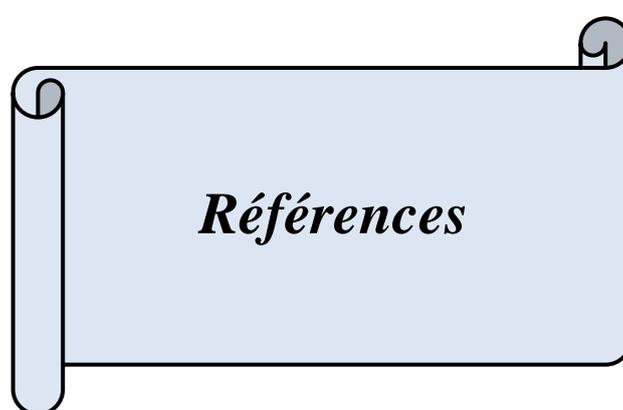
Test de flavonoïdes positif.

CIMS (CH<sub>4</sub>) m/z [M+H]<sup>+</sup> 539,0977 (calculée 539,0978)



**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) : 6,78 (1H, s, H-3), 12,96 (1H, s, OH), 6,19 (1H, d, 2,1, H-6), 6,47 (1H, d, 2,1, H-8), 8,01 (1H, d, 2,1, H-2'), 7,16 (1H, d, 8,8, H-5'), 8,00 (1H, dd, 8,8 et 2,1, H-6'), 6,82 (1H, s, H-3''), 13,09 (1H, s, OH), 6,41 (1H, s, H-6''), 7,58 (2H, d, 8,6, H-2'''/6'''), 6,73 (2H, d, 8,6, H-3'''/5''').

**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) : 164,2 (C-2) ; 103,0 (C-3) ; 182,9 (C-4) ; 162,3 (C-5) ; 99,3 (C-6) ; 164,6 (C-7) ; 94,5 (C-8) ; 157,8 (C-9) ; 104,1 (C-10) ; 121,4 (C-1') ; 131,4 (C-2') ; 120,4 (C-3') ; 160,0 (C-4') ; 116,6 (C-5') ; 128,2 (C-6') ; 164,1 (C-2'') ; 103,4 (C-3'') ; 182,1 (C-4'') ; 161,5 (C-5'') ; 99,1 (C-6'') ; 161,9 (C-7'') ; 104,4 (C-8'') ; 154,9 (C-9'') ; 104,2 (C-10'') ; 121,8 (C-1''') ; 128,6 (C-2'''/6''') ; 116,2 (C-3'''/5''') ; 161,0 (C-4''').



## Références

- Abou-Shoer M., Boettner F. E., Chang C. J. and Cassady J. M., (1988). Antitumor and cytotoxic xanthonones of *Psorospermum febrifugum*. *Phytochemistry* **27**, 2795-2800.
- Abou-Shoer M., Habib A. A. M., Chang C. J. and Cassady J. M., (1989). Seven xanthonolignonoids from *Psorospermum febrifugum*. *Phytochemistry* **28**, 2483-2487.
- Abou-Shoer M., Suwanborirux K., Chang C. and Cassady J. M., (1989). Novel tetrahydrofurobenzofuranoxanthonones from *Psorospermum febrifugum*. *Tetrahedron Letters* **30**, 3385-3388.
- Adjanohoun J., (1996). Contribution to Ethnobotanical and Floristic Studies in Cameroon.
- Adam J. G., (1971). Flore descriptive des monts Nimba Edition du Museum ed. ; Paris.
- Adolf E., (1919). « Guttiferae africanae III » Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie **55**, 383.
- Agrawal P. K., (1990): Carbon-13 NMR of flavonoids (studies in organic chemistry series, no.39). (Ed). Elsevier, Amsterdam 38.
- Ahmad R., Alfian N., Nunuk H. S., Tjodi H. and Ian van A., (2012). A stigmasterol glycoside from the root wood of *Melochia Umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. *Indonesia Journal of Chemistry* **12**, 1.
- Ahua K. M., Ioset J. R., Ioset K. N., Diallo D., Mael J. and Hostettmann K., (2007). Antileishmanial activities associated with plants used in the Malian traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* **110**, 99-104
- Ajibesin K., Ekpo B., Bala D., Essien E. and Adesanya S., (2008). Ethnobotanical survey of Akwa Ibom State of Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology* **115**, 387-408.
- Akendengué B. and Louis A. M., (1994). Medicinal plants used by the Masango people in Gabon, *Journal of Ethnopharmacology* **41**, 193-200.
- Amonkar A., Chang C. J. and Cassady J. M., (1981). 6-Geranyloxy-3-methyl-1,8-dihydroxyanthrone, a novel antileukemic agent from *Psorospermum febrifugum* Spach var. *ferrugineum* (Hook. fil). *Experientia* **3**, 1138-1139.
- Arkininstall W., in (Presses de l'Institut de Recherche Scientifique, (1979). Revue de recherche scientifique. *Spécial Médecine traditionnelle au Zaïre* 135-158.
- Aubréville A., (1950). Flore forestière soudano-guinéenne : AOF, Cameroun, AEF. Paris : *Société d'éditions géographiques* 523.

- Bamps P., Robson N. and Verdcourt B., (1978). Flora of Tropical East Africa. Crown Agents for Oversea Governments and Administrations 14.
- Bamps P., (1970). Notes sur les Guttiferae d'Afrique tropical. *Bulletin du jardin botanique National Belge* **40**, 281-290.
- Benzie I. F. F. and Strain J. J., (1999). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Journal of Analytical Biochemistry* **239**, 70-76.
- Bittrich V., Nascimento-Junior J. E., Amaral M. C. E. and Nogueira P. C., (2013). The Anther Oil of *Symphonia globulifera* L.f. (Clusiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **49**, 131-134.
- Bittrich V. and Amaral M. C. E., (1996). Pollination biology of *Symphonia globulifera* (Clusiaceae). *Plant Systematics and Evolution* **200**, 101-110.
- Blois M. S., (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical, *Nature* 1199-1200.
- Bossard E., (1996). La médecine traditionnelle au centre et à l'ouest de l'Angola. (Ministério da ciência e tecnologia. *Instituto de investigação científica tropical*, 531.
- Bouquet A. and Debray M., (1969). Plantes médicinales de la Côte d'Ivoire. (Travaux et Documents de l'O.R.S.T.O.M.
- Bouquet A., (1969). Féticheurs et médecine traditionnelles du Congo (Brazzaville). Mémoires O.R.S.T.O.M 36, 282.
- Bouquet A., (1972). Plantes médicinales du Congo-Brazzaville : *Uvariopsis*, *Pauridiantha*, *Diospyros*. Paris : ORSTOM 113.
- Bruneton (1999). J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). Paris : Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier 1120.
- Bryce J., Boschi-Pinto C., Shibuya K., Black R. E., (2005). Who child health epidemiology reference group. Who estimates of the causes of death in children, *Lancet* **365**, 1147-1152?
- Budde K. B., González-Martínez S. C., Hardy O. J. and Heuertz M., (2013). The ancient tropical rainforest tree *Symphonia globulifera* L. f. (Clusiaceae) was not restricted to postulated Pleistocene refugia in Atlantic Equatorial Africa, *Heredity* **111**, 66-76.
- Busson F., (1965). Plantes Alimentaires de l'Afrique de l'ouest : Etude botanique biologique et chimique. Conte, Marseille 211-215.

- Byavu N., Henrard C., Dubois M. and Malaisse F., (2000). Phytothérapie traditionnelle des bovins dans les élevages de la plaine de la Rusizi. *Agronomy Society and Environnement* **4**, 135-156.
- Chaturvedula V. S. P. and Prakash I., (2013). Flavonoids from *Astragalus propinquus*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **5**, 261-265.
- Chiedozié O. E., Modupe M. A. and James D. H., (2020). Isolation and characterization of betulinic acid from the stem bark of *Feretia canthioides* Hiern and its antimalarial potential. *Bulletin of the National Research Centre* 44-49.
- Coelho-Ferreira M., (2009). Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). *Journal of Ethnopharmacology* **126**, 159-175.
- Dalziel J. M., (1937). -The Useful Plants of West Tropical Africa. **Londres** **1**, 612.
- Delle M. F., Botta B., Delle M. G. and Marini B. G. B., (1985). Chemistry of the *Psorospermum* genus. Part 3. Prenylated anthranoids from *Psorospermum* species. *Phytochemistry* **24**, 1855-1856.
- Delle M. G., Botta B., Oguakwa J. U. and Delle Monache F., (1987). Chemistry of the *Psorospermum* genus. 6. New vismiones from *Psorospermum tenuifolium*. *Bulletin of Chemical Society of Ethiopia* **1**, 42-46.
- Delle M. G., Delle M. F., Di B. R. and Oguakwa J. U., (1987). Chemistry of the *Psorospermum* genus. Part 5. New metabolites from *Psorospermum tenuifolium*. *Phytochemistry* **26**, 2611-2613.
- Dewick P. M., (2002). Medicinal Natural Products, a Biosynthetic Approach, 2nd edition, New York: John Wiley and Sons 167-289.
- Dhasma H. A. and Garg H. S., (1990). Xanthonés of *Halenia elliptica* *phytochemistry* 2819-2321.
- Dick C. and Heuertz M., (2008). The complex biogeographic history of widespread tropical tree species, *Evolution* **62**, 2760-2774.
- Dos Santo S. A. and De Carvalho M. G., (1995). Unambiguous <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C assignment of isoflavones from *Virola caducifolia*. *The Journal of the Brazilian Chemical Society* **6**, 349-352.
- Durand J. M., Les plantes bienfaisantes du Ruanda et de l'Urundi. (Astrida, 1960).
- Ekouya A., Ongoka P. R., Itoua B., Ouabonzi A., Ouamba J., Diatwa M. and Abena A. A., (2006). Isolement de trois triterpènes de *Milletia versicolor* Baker. *Journal-Société Ouest Africaine de Chimie* **21**, 490-492.

- El-Razek ABD M. H., (2007). NMR Assignments of Four Catechin Epimers. *Asian Journal of Chemistry* **6**, 4867-4872.
- Epifano F., Fiorito S. and Genovese S., (2013). Phytochemistry and pharmacognosy of the genus *Psorospermum*. *Phytochemistry Review* **12**, 673-684.
- Fotie J. and Bohle D. S., (2006). Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry **5**, 15-31.
- Francesco E. Serena F. and Salvatore G., (2013). Phytochemistry and pharmacognosy of the genus *Psorospermum*. *Phytochemistry Review* **12**, 673-684.
- Fromentin Y., Kevin C., Marina K., Sylvie M., Nicolas G.-K., Marie-Christine L., (2015). *Symphonia globulifera*, a Widespread Source of Complex Metabolites with Potent Biological Activities. *Planta Medica* **81**, 95-107.
- Gabin N. L., Alain M. L., Celine D. M., Jean G. T., Justin K., Paula C., Fernande N. N., Naz Q., David L., Muhammad I. C. and Beiban S., (2008). Polyanxanthone A, B and C, three xanthenes from the wood trunk of *Garcinia polyantha* Oliv. *Phytochemistry* **69**, 1013-1017.
- Gari Vidal Ccana-Ccapatinta, Jennyfer A. A. M., Matheus H. T., Milton G., Jean C. A. S. de C. and Jairo K. B., (2020). *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub. And *Symphonia globulifera* L.f.: The Botanical Sources of Isoflavonoids and Benzophenones in Brazilian Red Propolis. *Molecules* **25**, 2060.
- Gera Y., Ume U., Tor-Anyiin T. A., Iheukwumere, (2015). Ethnobotanical survey of anti-diarrheal medicinal plants among Tiv people of Nigeria. *Arch of Applied Science Research* **7**, 16-21.
- Guedje M. N., Fankap R. and Nkongmenek B. A., (2000). Le genre *Garcinia* au Cameroun, diversité et utilisation traditionnelle. XVIème Congrès de l'AETFAT, Résumés. *Scripta Botanica Belgica* **20**, 37-38.
- Gülçin I., Alici H. A. and Cesur M., (2005). Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **53**, 281-285.
- Gulsen T., Mehmet O., Mehmet E. D. and Aziz T., (2015). Antioxidant and anticholinesterase activities of five wild mushroom species with total bioactive contents. *Pharmaceutical Biology* **53**, 824-830.
- Gupta M. P., Solís P. N., Calderón A. I., Guionneau-Sinclair F., Correa M., Galdames C., Guerra C., Espinosa A., Alvenda G. I., Robles G. and Ocampo R., (2005). Medical ethnobotany of the Teribes of Bocas del Toro, Panama. *Journal of Ethnopharmacology* **96**, 389-401.
- Gustafson K. R., Blunt J. W., Munro M. H. G., Fuller R. W., Mckee T. C., Cardellina J. H., McMahon J. B., Cragg G. M. and Boyd M. R., (1992). The guttiferones, HIV-Inhibitory

Benzophenones from *Symphonia globulifera*, *Garcinia livingstonei*, *Garcinia ovalifolia* and *Clusia rosea*. ***Tetrahedron* 48**, 10093-10102.

Habib A. M., Reddy K. S., McCloud T. G., Chang C. J. and Cassady J. M., (1987). New xanthenes from *Psorospermum febrifugum*. ***Journal of Natatural Products* 50**, 141-145.

Harborne J. B. and Williams C. A., (2000). Advances in flavonoid research sinse 1992. ***Phytochemistry* 55**, 481-504.

Héfin, (1980.) " Etude sur la forêt et le bois du Cameroun" librairie Larousse, Paris Vème 55-56.

Heitz H., (1943). La forêt du Gabon, Larousse, Paris 53-66.

Heller W. and Forkman G., (1988). « The flavonoids: Advances in Research since 1980 », Editor Harborne J. B. Chapman and Hall, London 138.

Hutchinson J. and Dalziel J. M., (1954). Flora of West Tropical Africa. Ed. Keay, R.W., Crown Agents for Overseas Governments and Administrations, Millbanks, London S.W.1 (U.K.).

Jackson B., Locksley. H. D., Scheinmann F. and Wolstenholme W. A., (1971). Extractives from Guttiferea. Part XXII. The Isolation and Structure of Four Novel Biflavanones from the Heartwoods of *Garicinia buchananii* Baker and *G. eugeniifolia* Wall. ***Journal of the chemical society***. Series. C. 3791-3804.

Jansen O., Angenot L., Tits M., Nicolas J. P., de Mol P., Nikiema J. B. and Frederich M., (2010). Evaluation of 13 selected medicinal plants from Burkina Faso for their antiplasmodial properties. ***Journal of Ethnopharmacology* 130**, 143-150.

Kerharo J. and Adam J. G., (1964). Plantes médicinales et toxiques des Peuls et des Toucouleurs du Sénégal. ***Journal d'Agriculture Tropicale et de Botanique Appliquée* 11**, 384-444.

Kibungu Kembelo A. O., (2003). Quelques plantes médicinales du Bas-Congo et leurs usages.

Kisangau D. P., Lyaruu H. V. M., Hosea K. M. and Joseph C. C., (2007). Use of traditional medicines in the management of HIV/AIDS opportunistic infections in Tanzania: a case in the Buhkoba rural district. ***Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 3**.

Konaté K., Souza A., Kassi Y. T., Dibala I. C., Barro N., Millogo-Rasolodimby J. and Nacoulma O. G., (2011). Phytochemical composition, Antioxidant and Anti-inflammatory potential of bioactive fractions from extracts of three medicinal plants traditionally used to treat liver diseases in Burkina Faso. ***International Journal of Phytomedicine* 3**, 406-415.

Kouam S. F., Njonkou Y. L. N., Kuigoua G. M., Ngadjui B. T., Hussain H., Green I. R., Schulz B. and Krohn K., (2010). Psorantin, a unique methylene linked dimer of vismin and kenganthranol E, two anthranoid derivatives from the fruits of *Psorospermum aurantiacum* (Hypericaceae). *Phytochemistry Letters* **3**, 185-189.

Kupchan S. M., Streelman D. R. and Sneden A. T., (1980). Psorospermin, a new antileukemic xanthone from *Psorospermum febrifugum*. *Journal of Natural Products* **43**, 296-301.

Leet J. E., Liu X., Drexler D. M., Cantone J. L., Huang S., Mamber S. W., Fairchild C. R., Hussain R., Newman D. J. and Kingston D. G. I., (2008). Cytotoxic xanthenes from *Psorospermum molluscum* from the Madagascar rain forest. *Journal of Natural Products* **71**, 460-463.

Lemmens R. H. M. J., (2007). *Chrysophyllum lacourtianum* De Wild. In: Louppe D., Oteng-Amoako A. A., Brink M. (eds.). *Prota, Timbers/Bois d'œuvre 1*. PROTA, Wageningen, Pays-Bas **7**, 180-183.

Lenta B. N., Vonthron-Sénécheau C., Fongang Soh R., Tantangmo F., Ngouela S., Kaiser M., Tsamo E., Anton R. and Weniger B., (2007a). In vitro antiprotozoal activities and cytotoxicity of some selected Cameroonian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* **11**, 8-12.

Lenta B. N., Vonthron-Sénécheau C., Weniger B., Devkota K. P., Ngoupayo J., Kaiser M., Naz Q., Choudhary M. I., Tsamo E. and Sewald N., (2007b). Leishmanicidal and cholinesterase inhibiting activities of phenolic compounds from *Allanblackia monticola* and *Symphonia globulifera*. *Molecules* **12**, 1548-1557.

Lenta B. N., Devkota K. P., Ngouela S., Fekam B. F., Naz Q., Choudhary M. I., Tsamo E., Rosenthal P. J. and Sewald N., (2008). Anti-plasmodial and cholinesterase inhibiting activities of some constituents of *Psorospermum glaberrimum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **56**, 222-226.

Li X. C., Joshi A. S., ElSohly H. N., Khan S. I., Jacob M. R., Zhang Z., Khan I. A., Ferreira D., Walker L. A., Broedel S. E., Raulli R. E. and Cihlar R. L., (2002). Fatty acid synthase inhibitors from plants: isolation, structure elucidation, and SAR studies. *Journal of Natural Products* **65**, 1909-1914.

Lin S. K., (2014). Rapid detoxification of benzodiazepine or Z-drugs dependence using acetylcholinesterase inhibitors. *Medical Hypotheses* **83**, 108-110.

- Locksley H. D. and Murray I. G., (1971). Extractives from Guttiferae. Part XIX. The isolation of two benzophenones, six xanthones and two biflavonoids from the heartwood of *Allanblackia floribunda* Oliver. *Journal of Chemical Society* 1332-1338.
- Lopez A., Hudson J. B. and Towers G. H. N., (2001). Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* **77**, 189-196.
- Madan S., Singh G. N., Kohli K., Al, M., Kumar Y., Singh R. and Prakash O., (2009). Isoflavonoids from *flemingia strobilifera* (L) R. BR. ROOTS, *Acta Poloniae Pharmaceutica Drugs Research* **66**, 297-303.
- Mahato S. B. and Kundu A. P., (1994). <sup>13</sup>C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids a compilation and some salient features. *Phytochemistry* **37**, 1517-1575.
- Mahbuta K., Mirajum B. and Abdul Q., (2011). Sterols and Sterols Glucoside from *Phyllanthus* Species. *Journal of Science* **60**, 5-10.
- Malgras D. Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. (Karthala, 1992).
- Manatsathit S., Dupont H. L., Farthing M., Kositchaiwat C., Leelakusolvong S., Ramakrishna B. S., Sabra A., Speelman P., Surangsrirat S., (2002). Working Party of the Program Committ of the Bangkok World Congress of Gastroenterology. Guideline for the management of acute diarrhea in adults. *Journal Gastroenterol Hepatol* **17**, 54-71.
- Marti G., Eparvier V., Moretti C., Prado S., Grellier P., Hue N., Thoison O., Delpech B., Guéritte F. and Litaudon M., (2010). Antiplasmodial benzophenone derivatives from the root barks of *Symphonia globulifera* (Clusiaceae). *Phytochemistry* **71**, 964-974.
- Martin C., Yvette H. and Jean-Michel O., (2010). The plants of Dom, Bamenda Highlands, Cameroon : a conservation checklist, Kew Publishing, Kew, Richmond, 97.
- Mativandlela S. P. N., Lall N., Meyer J. J. M., (2006). Antibacterial, antifungal and antitubercular activity of (the roots of) *Pelargonium reniforme* (CURT) and *Pelargonium sidoides* (DC) (Geraniaceae) root extracts. *South African Journal of Botany* **72**, 232-237.
- Minja M. M. J., in (Presses universitaires de Namur, 1994). Métissages en santé animale de Madagascar à Haïti 335-364.
- Mkouna P., Fomum Z. T., Meyer M., Bodo B. and Nkengfack A. E., (2009). Globulixanthone F, a new polyoxygenated xanthone with an isoprenoid group and two antimicrobial biflavonoids from the stem bark of *Symphonia globulifera*. *Natural Products Communications* **4**, 803-808.
- Mohamad F., Supriatno S., Desi H., Rani M., Nenden I., Dewa G. K., Mohamad N. A., Nurlelasari, Agus S. and Unang S., (2021). Four Flavan-3-ol Compounds from The Stem Bark of *Chisocheton balansae* C. DC. (Meliaceae). *Molecules* **1**, 9-15.

Munekazu I., Hideki T., Tetsuro I., Toshiyuki T. and Mohammad A., (1995). Two prenylated anthrones in *Harungana madagascariensis*. ***Phytochemistry* 1**, 267-270.

Nakata T., Taji S., Yamada T. and Tanaka R., (2009). New lanostane triterpenoids, Inonotsutriols D and E, from *Inonotus obliquus*. ***Osaka University of pharmaceutical sciences* 4**, 469-1094.

Nargis J., Melati K., Sadiq N. K., Naeem K. and Hasnah O., (2014). Phytochemicals from the Bark of *Garcinia hombroniana* and Their Biological Activities. ***Records of Natural Products* 8**, 312-316.

Ndongo J. T., Shaaban M., Ngo-Mbing J., Ngonu B. D., Atchadé A. de T., Pegnyemb D. E. and Laatsch H., (2010). Phenolic dimmers and an indole alkaloid from *Campylospermum flavum* (Ochnaceae). ***Phytochemistry* 71**, 1872-1878.

Negi J. S., Bisht V. K., Singh P., Rawat M. S. and Joshi G. P., (2013). ***Journal of Applied Chemistry***, 1-9.

Ngouela S., Lenta B. N., NOUNGOUÉ D. T., Ngoupayo J., Boyom F. F., Tsamo E., Gut J., Rosenthal P. J. and Connolly J. D., (2006). Anti-plasmodial and antioxidant activities of constituents of the seed shells of *Symphonia globulifera* Linn f. ***Phytochemistry* 67**, 302-306.

Nkengfack A. E., Mkounga P., Meyer M., Fomum Z. T. and Bodo B., (2002). Globulixanthenes C, D, and E: Three prenylated xanthenes with antimicrobial properties from the root bark of *symphonia globulifera*. ***Phytochemistry* 61**, 181-187.

Nkengfack A. E., Mkounga P., Fomum Z. T., Meyer M. and Bodo B., (2002). Globulixanthenes A and B, two new cytotoxic xanthenes with isoprenoid groups from the root bark of *Symphonia globulifera*. ***Journal of Natural Products* 65**, 734-736.

Nürk N. M. and Blattner F. R., (2010). Cladistic analysis of morphological characters in *Hypericum* (Hypericaceae). ***Taxon* 59**, 1495-1507.

OMS. Centre des médias. Alimentation du nourrisson et du jeune enfant. Aide-mémoire n°342- Juillet 2015.

OMS. Centre des médias. Maladies diarrhéiques. Aide-mémoire n°330- Mai 2017.

Overton K., (1977). Terpenoids and Steroids: Special periodical reports. *The Chemical Society*, Burlington House. London W1V OBN, 2.

Oyen L. P. A., (2005). *Symphonia globulifera* L.f. [internet]. Enregistrement de Protobase. Dans : Louppe D, AA Oteng- Amoako, Brink. M, (eds) PROTA (Ressources Végétales de l'Afrique tropicale). Wageningen : Pays-Bas [http:// data base](http://data base).

Pan E., Shugeng C., Peggy J., Brodiea J. S., Millerb R. R., Fidy R., Chris B., Rabodo A., Vincent E. R. and David G. I. K., (2010). An antiproliferative xanthone of *Symphonia pauciflora* from the Madagascar rainforest. *Natural Product Communication* **5**, 751-754.

Pelter A., Ward R. S. and Gray T. J., (1976). The proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of flavonoids and related compounds. *Journal of the Chemical Society Perkin Trans I*, 2475.

Polygenis-Bigendako M.-J., (1990). Recherches ethnopharmacognosiques sur les plantes utilisées en médecine traditionnelle au Burundi occidental. (Université libre de Bruxelles), 352.

Pouli N. and Marakos P., (2009). Fused xanthone derivatives as antiproliferative agents. *Anticancer Agents Medicinal Chemistry* **9**, 77-98

Poumale H. M. P., Randrianasolo R., Rakotoarimanga J. V., Raharisololalao A., Krebs H. C., Tchouankeu J. C. and Ngadjui B. T., (2008). Flavonoid glycosides and other constituents of *Psorospermum androsaemifolium* Baker (Clusiaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **56**, 1428-1430.

Robson N., Guttiferae, (1961). *Flora of Zimbabwe* **1**, 378.

Ruhfel B. R., Stevens P. F. and Davi, C. C., (2013). Combined Morphological and Molecular Phylogeny of the Clusioid Clade (Malpighiales) and the Placement of the Ancient Rosid Macrofossil *Paleoclusia*. *International Journal of Plant Sciences* **174**, 910-936.

Silva G. L., Chai H., Gupta M. P., Farnsworth N. R., Cordell G. A., Pezzuto J. M., Beecher C. W. W. and Kinghorn A., (1995). Cytotoxic biflavonoids from *Selaginella willdenowii*. *Phytochemistry* **40**, 129-34.

Silva T., Reis J., Teixeira J. and Borges F., (2014). Alzheimer's disease, enzyme targets and drug discovery struggles: from natural products to drug prototypes. *Ageing Research Reviews* **15**, 116-145.

Smith S., (1994). The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal* **8**, 1248-1259.

Song, X.-Q., Zhang X., Han, Q.-J., Li, X.-B., Li G., Li R.-J., Jiao Y., Zhou J.-C. and Lou H.-X., (2013). *Phytochemistry Letters* **6**, 318-321.

Soobrattee M. A., Neergheen V. S., Luximon-Ramma A., Aruoma O. I. and Bahoru T., (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutat. Res. /Fundam. Molecular Mechanisms of Substitution Mutagenesis* **579**, 200-213.

Ssegawa P. and Kasenene J. M., (2007). Medicinal plant diversity and uses in Sango Bay area, Southern Uganda. *Journal of Ethnopharmacology* **113**, 521-540.

Stevens P. F., (2007). The families and genera of vascular plants. Ed. Kubitzki, K., Hypericaceae, Springer, **Berlin Heidelberg** (Germany).

Sukumar E., Bhima R. R. and Kundu A. B., (1990). A Friedelane triol from the roots of *Przstimeria grahamii*. **Phytochemistry** **9**, 3044-3046.

Suzart L. R., de S. Daniel J. F., de Carvalho M. G. and Kaplan M. A. C., (2007). Flavonoidic biodiversity and pharmacologic aspects in the species of the *Ouratea* and *Luxemburgia* genera (Ochnaceae). **Quinmica Nova** **4**, 984-987.

Tabuti J. R. S., Lye K. A. and Dhillion S. S., (2003). Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. **Journal of Ethnopharmacology** **88**, 19-44.

Tchakam P. D., Lunga P. K., Kowa T. K., Lonfuo A. H. N., Wabo H. K., Tapondjou L. A., Tane P. and Kuate J. R., (2012). Antimicrobial and antioxidant activities of the extracts and compounds from the leaves of *Psorospermum aurantiacum* Engl and *Hypericum lanceolatum* Lam. **BMC Complementary and Alternative Medicine** **12**, 136.

Temah C., (2009), « Les déterminants de l'épidémie du VIH/Sida en Afrique subsaharienne », **Revue d'économie du développement** **23**, 73-106

Tiani G. M., Ishtiaq A., Krohn K., Green I. R. and Nkengfack A. E., (2013). Kenganthranol F, a new anthranol from *Psorospermum aurantiacum*. **Natural Products Communications** **8**, 103-104.

Timo D. S., Mtui D. J., and Balemba O.B., (2013). Ethnopharmacological Survey of Plants Used in the Traditional Treatment of Gastrointestinal Pain, Inflammation and Diarrhea in Africa: Future Perspectives for Integration into Modern Medicine. *Anim* [Internet] **3**, 158-227.

Tsaffack M., Nguemeving J. R., Kuete V., Le Sage B., Ndejoung T. B. L., Mkounga P., PenlapBeng V., Hultin P. G, Tsamo E and Nkengfack A. E., (2009). Two new antimicrobial dimeric compounds: febrifuquinone, a vismione-anthraquinone coupled pigment and adamabianthrone, from two *Psorospermum* species. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin** **57**, 1113-1118.

Tsaffack M., Wache B. M. O., Jean R. N., Pierre, M., Victor K., Sterner O., Michelle M. and Augustin E. N., (2013). Antimicrobial prenylated xanthenes and anthraquinones from barks and fruits of *Psorospermum adamauense* (Engl). **Natural Products Journal** **3**, 60-65.

Van Puyvelde L., Ngaboyisonga M., Rwangabo P. C., Mukarugambwa S. and Kayonga A., (1977). Enquêtes ethnobotaniques sur la médecine traditionnelle rwandaise. Préfecture de Kibuye. **Univ. Nat. Institut National de Recherche Scientifique**, 1.

Verger P. F. E., (2005). The use of plants in Yoruba society. (Editoria Schwarcz, 1995).

- Vieira L. M. M. and Kijjoo A., (2005). *Current Medicinal Chemistry* **12**, 2413-2446.
- Wanzala W., Takken W., Mukabana W. R., Pala A. O. and Hassanali A., (2012). Ethnoknowledge of Bukusu community on livestock tick prevention and control in Bungoma district, western Kenya. *Journal of Ethnopharmacology* **140**, 298-324.
- Wang C. Z., Maier U. H., Keil M., Zenk M. H., Bacher A., Rohdich F. and Eisenreich W., (2003). Phenylalanine-independent biosynthesis of 1,3,5,8-tetrahydroxyxanthone. A retrobiosynthetic NMR study with root cultures of *Swertia chirata*. *European Journal of Biochemistry* **270**, 2950-2958.
- Wang J., Hudson R. and Sintim H. O., (2012). Inhibitors of fatty acid synthesis in prokaryotes and eukaryotes as anti-infective, anticancer and anti-obesity drugs. *Future Medicinal Chemistry* **4**, 1113-1151.
- Xu Yaming and Fang Shengding. From Zhiwu Xuebao (1991) **33**, 162-3.
- Yang C.-H., Ma L., Wei Z. P., Han F. and Gao J., (2012). *Chinese Herbal Medicines* **4**, 87-102.
- Yu D. Q., Yang J. S., (1999). Analytical Chemistry Handbook, Part 7 (second Edition) [M]. Beijing: *Chemical Industry Press* 835.
- Zubair M. F., Oladosu I. A., Olawore N. O., Usman L. A., Fakunle C. O., Hamid A. A. and Ali M. S., (2011). Bioactive steroid from the root bark of *Psorospermum corymbiferum*. *Chinese Journal Natural Medicines* **9**, 264-266.
- Zubair M. F., Oladosu I. A., Olawore N. O. and Fakunle C. O., (2009a). Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oil of Nigerian *Psorospermum tenuifolium*. *International Journal of Essential Oil Therapeutics* **3**, 22-24.
- Zubair M. F., Olawore N. O. and Oladosu I. A., (2009b). Biochemical evaluation of the root bark of *Psorospermum corymbiferum*. *Journal of Chemical Society of Nigeria* **34**, 30-33.
- Zubair M. F., Oladosu I. A. and Olawore N. O., (2010). Chemical composition of the leaf oil of *Psorospermum corymbiferum* Hochr. *Growing in Africa Journal of Essential Oil Research* **22**, 529-530.
- Zhao X. J., McElhaney-Feser G. E., Sheridan M. J., Broedel S. E. J. R. and Cihlar R. L., (1997). Avirulence of *Candida albicans* FAS2 mutants in a mouse model of systemic candidiasis. *Infection and Immunity* **65**, 829-832.

### Liste des publications

**D.-G. Téné**, A.E. Tih, M.H.K. Kamdem, R.M. Talla, P.H.B. Diboue, Y.K.D. Melogmo, C.R. Dzukoug, E.M. Mmutlane, D.T. Ndinteh, B. Bodo, R.T. Ghogomu 2021. Antibacterial and antioxidant activities of compounds isolated from the leaves of *Symphonia globulifera* (Clusiaceae) and their chemophenetic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2021.104345>.

**D.-G. Téné**, B. Abderamane, M.H.K. Kamdem, P.H.B. Diboue, Y.K.D. Melogmo, E.M. Mmutlane, D.T. Ndinteh, A.E. Tih, R.T. Ghogomu 2022. A new xanthonolignoid and other constituents of *Psorospermum aurantiacum* (Hypericaceae) stems with antibacterial and antioxidant activities. *South African Journal of Botany*. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.07.012>.



## Antibacterial and antioxidant activities of compounds isolated from the leaves of *Symphonia globulifera* (Clusiaceae) and their chemophenetic significance

Dénis-Grégoire Téné<sup>a,\*</sup>, Anastasie Ewola Tih<sup>a</sup>, Michael Hermann Kengne Kamdem<sup>b,c,d</sup>, Rostan Mangoua Talla<sup>a</sup>, Patrick Hervé Betote Diboue<sup>f</sup>, Yanick Kevin Dongmo Melongo<sup>e</sup>, Carelle Raïssa Dzukoug<sup>a</sup>, Edwin Mpoh Mmutlane<sup>d</sup>, Derek Tantoh Ndinteh<sup>b,c</sup>, Bernard Bodo<sup>g</sup>, Raphaël Tih Ghogomu<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, The University of Yaoundé 1, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon

<sup>b</sup> Drug Discovery and Smart Molecules Research Laboratory, Department of Chemical Sciences, University of Johannesburg, P.O. Box 1711, Doornfontein, Johannesburg, 2028, South Africa

<sup>c</sup> Center for Natural Product Research (CNPR), Chemical Sciences Department, University of Johannesburg, 2028, South Africa

<sup>d</sup> Research Center for Synthesis and Catalysis; Department of Chemical Sciences, University of Johannesburg-Kingsway Campus, Auckland Park, 2008, South Africa

<sup>e</sup> Laboratory of Phytochemistry and Medicinal Plants Studies, Faculty of Science, The University of Yaoundé 1, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon

<sup>f</sup> Laboratory of Pharmacology, Centre for Research on Medicinal Plants and Traditional Medicine, Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies, P.O. Box 13033, Yaoundé, Cameroon

<sup>g</sup> Laboratoire de chimie des Substances naturelles, Muséum National d'Histoire Naturelle, 63 Rue Buffon, 75005, Paris, France

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

*Symphonia globulifera*

Clusiaceae

Pristriol

7''-O-methylrobustaflavone

Antibacterial activity

### ABSTRACT

The phytochemical study was done on the methanol extract from the leaves of *Symphonia globulifera*. This plant has been used in traditional medicine to treat of different ailments such as malaria, diseases of the skin, diabetes, cough, intestinal worms, pre-hepatic jaundice and fever. Chromatographic fractionation and purification of this extract led to the isolation and characterization of twelve compounds (1–12) including pristriol (1), robustaflavone (2), polycarpol (3), 7''-O-methylrobustaflavone (4), amentoflavone (5), stigmaterol glucoside (6), epicatechin (7), apigenin (8), luteolin (9), 1,5-dihydroxyxanthone (10),  $\beta$ -sitosterol 3- $\beta$ -D-glucopyranoside (11) and a mixture of stigmaterol and  $\beta$ -sitosterol (12). The structures of compounds 1–12 were elucidated on the basis of 1D and 2D NMR, mass spectrometric and the spectroscopic data as well as comparison with the literature. All these compounds were isolated for the first time from *Symphonia* genus. The NMR spectra and structure elucidation of compound 1 were reported for the first in the literature. The antibacterial and antioxidant activities of three of these compounds were evaluated. The chemophenetic significance of these compounds is also discussed.

### 1. Subject and source

The Clusiaceae (Guttiferae) is a family of cosmopolitan distribution from temperate to tropical locations. The family is divided into six different subfamilies, namely Kielmeyeroideae, Calophylloideae, Moronoideae, Lorostermonoideae, Hypericoideae and Clusiodeae (Adam, 1971). The genus *Symphonia* belongs to subfamily Clusiodeae, with about twenty species all of which are confined to Madagascar (Bamps et al., 1978). *Symphonia globulifera*, is the only species of the genus found

outside Madagascar (Dick and Heuertz, 2008). This species is spread over almost the entire Cameroonian territory. *S. globulifera* has bright red flowers, which facilitates its pollination by butterflies, hummingbirds, perching birds of neotropical countries (Bittrich and Amaral, 1996) or by various insects and birds in Africa (Oyen, 2005). Its trunk, which is hairless, releases a yellowish and viscous latex. It has no buttresses but has stilt roots or pneumatophores in swampy areas. The buff-colored bark of the trunk is yellow-gray or gray-brown. Bisexual flowers organized in sympodium bloom during the months of July and September

\* Corresponding author.

E-mail address: [denisgregoire\\_tene@yahoo.fr](mailto:denisgregoire_tene@yahoo.fr) (D.-G. Téné).

(Dick and Heuertz, 2008). The bark of the trunk, the wood, the leaves, of this plant are widely used in many African countries including Cameroon, Uganda, Gabon, Nigeria, Congo to treat certain human ailments such as: malaria, diseases of the skin, diabetes (Ajibesin et al., 2008); cough, intestinal worms, pre-hepatic jaundice, fevers (Ssegawa et al., 2007), it is also an antiparasitic (Lenta et al., 2007a,b). In the present study, the leaves of *S. globulifera* were collected in November 2018 at Mount Kala (GPS coordinates: Latitude 3° 51' 32" N, Longitude 11° 39' 53" E, altitude 1838 m), a locality in the Centre Region of Cameroon and identified by Mr. Nana Victor, a botanist at the National Herbarium of Cameroon, where a voucher specimen is deposited under the reference No. 24345 HNC.

## 2. Previous work

The many uses of *S. globulifera* in traditional medicine have attracted the attention of phytochemists and biologists, leading the latter to carry out biological tests and chemical investigations on various extracts of this plant. It's the methanolic extract of the leaves of *S. globulifera* from Cameroon, which was first tested in 2007, against these parasitic targets (*Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei* rhodesiense and *Leishmania donovani*), as well as on healthy cells (L-6). Thus, the antiparasitic activity of the methanolic extract of the leaves of *S. globulifera* was evaluated with an  $IC_{50} = 4.1 \pm 0.5 \mu\text{g/mL}$  on *P. falciparum*, an  $IC_{50} = 11.5 \pm 0.5 \mu\text{g/mL}$  on *T. brucei* rhodesiense,  $IC_{50} = 2.1 \pm 0.8 \mu\text{g/mL}$  on *L. donovani* and an  $IC_{50} = 52.3 \pm 5.6 \mu\text{g/mL}$  on L-6 cytotoxicity (Lenta et al., 2007a,b). Previous phytochemical studies on leaves (Li et al., 2002; Lenta et al., 2007a,b); stems (Mkouna et al., 2009); roots (Nkengfack et al., 2002); seeds (Ngouela et al., 2006); wood (Locksley et al., 1966a,b) reported the isolation of phloroglucinols (guttiferone A, B, C, D; symphonone A, B); xanthenes (globulixanthone C, D, E; symphonine; 1,3,5,6-tetrahydroxyxanthone) and biflavonoids (morelloflavone, GB-2 and GB-3) as well as a fatty acid methyl nervonate (Bittrich et al., 2013). Some of these exhibits a wide range of biological and pharmacological activities such as cytotoxic, antimicrobial, antiparasitic, anti-leishmanial, as well as inhibitory activity of HIV (Gustafson et al., 1992) and anti FAS (Wang et al., 2012).

## 3. Present study

### 3.1. General experimental procedures

For this study, methanol was used for the extraction of plant material. Methylene chloride and methanol were used as pure or binary mixtures at different polarities for the purification of the compounds. High resolution mass spectra were obtained with a QTOF Compact Spectrometer (Bruker, Germany) equipped with a HRESI source. The spectrometer was operated in positive and negative modes (mass range: 50–1500, with a scan rate of 1.00 Hz) with automatic gain control to provide high-accuracy mass measurements within 1 ppm deviation using Na Formate as calibrant. The following parameters were used for experiments: spray voltage of 4.5 kV, capillary temperature of 200 °C. Nitrogen was used as sheath gas (4 L/min). The 1D and 2D NMR spectra were recorded on Bruker Bio Spin GmbH in deuterated solvents ( $\text{CDCl}_3$  and  $\text{DMSO}-d_6$ ). Chemical shifts were reported in  $\delta$  (ppm) using tetramethylsilane (TMS) (Sigma-Aldrich) as an internal standard, while coupling constants ( $J$ ) were measured in Hz. Column chromatography was performed on 230–400 mesh silica gel, Merck (Merck, Darmstadt, Germany), 70–230 mesh (Merck) or Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich). Thin Layer Chromatography (TLC) was performed on aluminum foil pre-coated with Merck (60 F<sub>254</sub>) silica gel (Merck) and compound spots were detected by spraying dilute sulfuric acid before heating. Plate at approximately 100 °C or by visual inspection UV lamp at 254 nm and 365 nm.

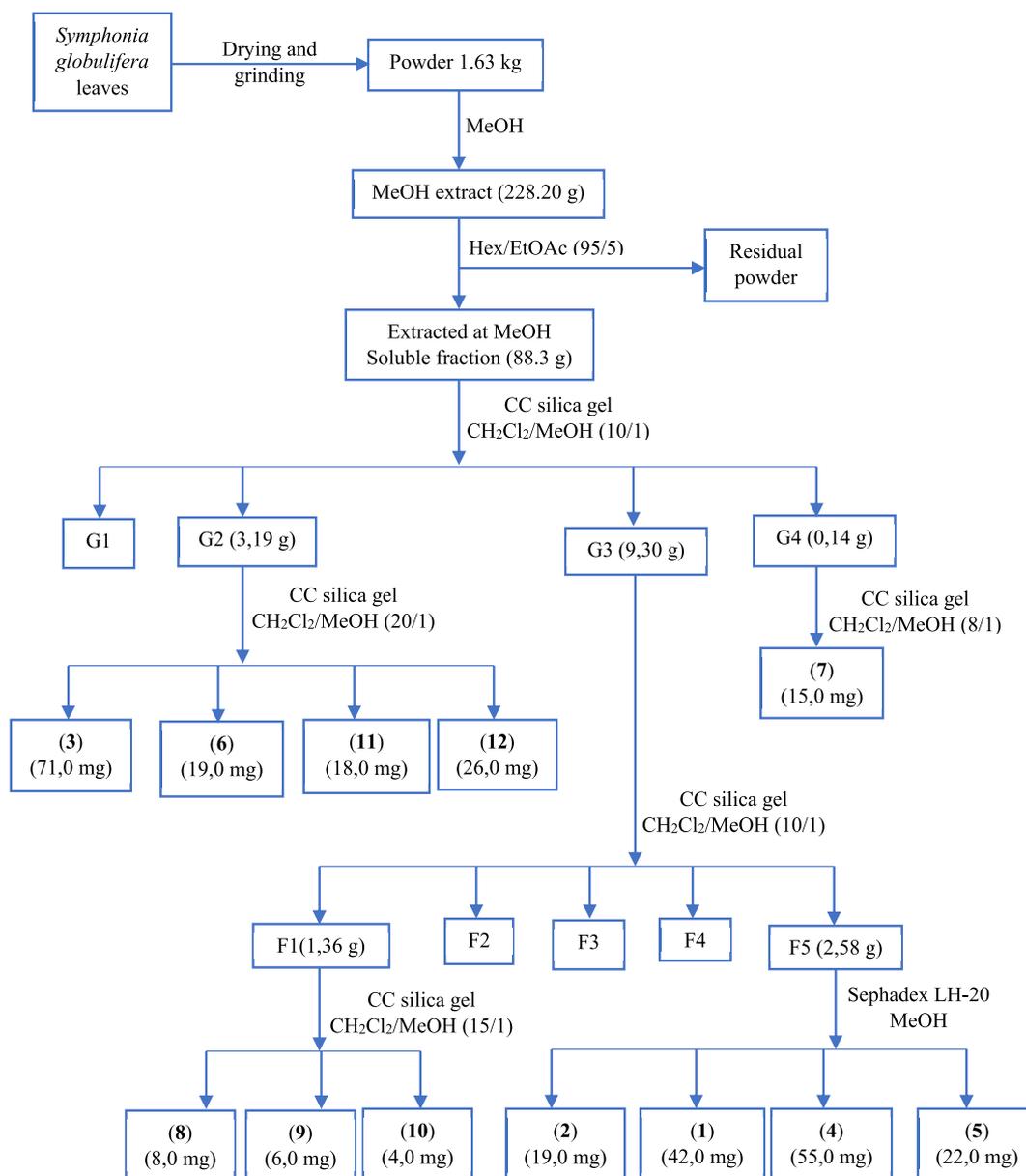
### 3.2. Extraction and isolation

The powder obtained from the grinding of dried leaves of *S. globulifera* (1.63 kg) was extracted at room temperature for 72 h, with methanol and concentrated to dryness to give a viscous residue (228.20 g). This residue was then re-extracted into a mixture of *n*-hexane/ethyl acetate solvent (95/5) to remove the chlorophyll to give a paste (88.30 g). This extract was then subjected to column chromatography (CC) over silica gel column and eluted with a mixture  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (10/1). A total of 72 sub-fractions of 300 mL each were collected and combined according to TLC profiles monitoring to four sub-fractions (G<sub>1</sub> to G<sub>4</sub>). Further column chromatography (CC) on G<sub>3</sub> (9.3 g) over silica gel and eluted with a mixture of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (10/1) to yield five sub-fractions (F<sub>1</sub> to F<sub>5</sub>). Sub-fraction F<sub>5</sub> (2.58 g) was subjected to column chromatography over sephadex LH-20 and eluted with methanol to afford compounds (1) (42.0 mg), (2) (14.0 mg), (4) (55.0 mg) and (5) (22.0 mg). Sub-fraction G<sub>2</sub> (3.19 g) was also subjected to CC over silica gel and eluted with a mixture of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (20/1) to yield compounds (3) (71.0 mg), (6) (19.0 mg), (11) (18.0 mg) and (12) (26.0 mg). Successive CC on G<sub>4</sub> (0.14 g) over silica gel and eluted with a mixture of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (8/1) yield compound (7) (15.0 mg). Sub-fraction F<sub>1</sub> (1.36 g) was also subjected to CC over silica gel and eluted with a mixture of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (15/1) to afford compounds (8) (8.0 mg), (9) (6.0 mg) and (10) (4.0 mg) (Scheme 1).

### 3.3. Identification of compounds

The structures of 1–12 were elucidated on the basis of 1D and 2D NMR spectroscopic data and by comparison with the literature. The methanol extract of *S. globulifera* leaves was fractionated and purified over silica gel and sephadex LH-20 yield the isolation of friedelane-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,28-triol (1), robustaflavone (2) (Ndongo et al., 2010), 7''-O-methylrobustaflavone (4) (Xu and Fang 1991; Silva et al., 1995), 3,15-dihydroxyplanosta-7, 9 (11), 24-triene derivative known as polycarpol (3) (Nakata et al., 2009); amentoflavone (5) (Ndongo et al., 2010), stigmast-5, 22-dien-3-O-glucopyranoside (6) (Ahmad et al., 2012), epicatechin (7) (Mohamad et al., 2021), apigenin (8), luteolin (9) (Chaturvedula et al., 2013), 1,5-dihydroxyxanthone (10) (Gabin et al., 2008),  $\beta$ -sitosterol 3- $\beta$ -D-glucopyranoside (11) (Mahbuba et al., 2011) and a mixture of stigmaterol and  $\beta$ -sitosterol (12) (Sob et al., 2010) (Fig. 1).

Compound 1 was isolated as a yellow powder. It is soluble in DMSO and responds positively to the Liebermann-Burchard's test characteristic of triterpenoids. The HRESIMS (Fig. S1) shows a pseudo-molecular ion peak at  $m/z$  499.3607  $[\text{M}+\text{K}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{KO}_3$ , 499.3554) from which the molecular formula  $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_3$  was deduced. The  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum (Fig. S2) of 1 shows thirty carbons signals consistent with the empirical formula. Analysis of these signals using DEPT and HSQC techniques (Fig. S3 and Fig. S5) reveals the presence of seven signals at  $\delta_{\text{C}}$  11.3; 16.4; 18.2; 18.7; 19.5; 33.2 and 34.6 corresponding to seven methyl groups of a pentacyclic triterpenoid skeleton, of which that at  $\delta_{\text{C}}$  11.3 (C-23) is characteristic of a friedelane-type skeleton (Mahato and Kundu, 1994). Eleven methylene groups appearing between  $\delta_{\text{C}}$  17.7 and 66.6, one of which carries a hydroxyl group at  $\delta_{\text{C}}$  66.6 (C-28); six methine groups among which two oxygenated methine groups at  $\delta_{\text{C}}$  70.6 (C-2) and 75.2 (C-3); six quaternary carbons between  $\delta_{\text{C}}$  21.1 and 38.9. The  $^1\text{H}$  NMR spectrum (Fig. S4) of 1 exhibit six angular methyl groups between  $\delta_{\text{H}}$  0.72–1.28 and a secondary methyl group at  $\delta_{\text{H}}$  0.82 ( $J = 7.2$  Hz, H-23) characteristic of friedelane derivatives (Mahato and Kundu, 1994). In addition, the  $^1\text{H}$  NMR spectrum (Fig. S4) of 1 also shows one oxymethylene proton signal at  $\delta_{\text{H}}$  3.28 (H-28) and two oxygenated methine proton signals at  $\delta_{\text{H}}$  3.61 (H-2, m) and 3.19 (1H, d,  $J = 11.2$  Hz, H-3). In the COSY spectrum (Fig. S7), the oxygenated methine proton H-2 at  $\delta_{\text{H}}$  3.61 shows correlations with the proton H-3 at  $\delta_{\text{H}}$  3.19 and proton H-1 at  $\delta_{\text{H}}$  1.31. Proton H-3 also exhibits correlation with the proton H-4 at  $\delta_{\text{H}}$  1.39. Proton H-4 also correlates with proton H-23 at  $\delta_{\text{H}}$



**Scheme 1.** Extraction and purification protocol for the methanol extract from the leaves of *Symphonia globulifera*.

0.82. Protons H-19 at  $\delta_{\text{H}}$  1.38 show correlation with the proton H-18 at  $\delta_{\text{H}}$  1.24. The HMBC spectrum (Fig. S6) shows correlations of H-23 to C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  75.2), C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  42.9) and C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  16.4). Protons of methyl CH<sub>3</sub>-29 ( $\delta_{\text{H}}$  1.10) to C-19 ( $\delta_{\text{C}}$  31.3) and C-30 ( $\delta_{\text{C}}$  33.2). Those of the methyl CH<sub>3</sub>-27 ( $\delta_{\text{H}}$  0.99) to C-18 ( $\delta_{\text{C}}$  39.3), CH<sub>3</sub>-26 ( $\delta_{\text{H}}$  0.91) to C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  38.8) and CH<sub>3</sub>-25 ( $\delta_{\text{H}}$  0.76) to C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  51.4). Based on the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data (Table 1), compound 1 was identified as friedelane-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,28-triol called pristriol. Compound 1 is a known compound which has already been reported in another genus belonging to Celastraceae family such as *Pristimera* (Sukumar et al., 1990) but the NMR spectroscopic (1D and 2D) and spectrometric data were reported for the first time in the literature.

### 3.4. Antibacterial activity assay

The antibacterial activity of some isolated compounds 1; 3 and 4 was conducted on a total of six bacterial strains including two reference strains from American Type Culture Collection, ATCC namely *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300 and ATCC 33591), three from BEI

Resources namely *Shigella flexneri* NR 518, *Pseudomonas aeruginosa* NR 48982 and *Klebsiella pneumoniae* NR 41897 and one clinical isolate strain from Laboratory collection namely *Salmonella typhi* CPC. The inhibition parameters of these compounds were evaluated by determining the Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) and Minimum Bactericidal Concentrations (MBC) by using the broth microdilution method as described by CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute) 2012 (protocol M07-A9) and compared to the standard reference ciprofloxacin. The tests were carried out in duplicate. At the end of the incubation time, 20  $\mu\text{L}$  of resazurin were added to each well and the plates reincubated at 37 °C for 30 min and the smallest concentration of the compounds which showed no bacterial growth marked by the non-change. Staining of resazurin (blue) was considered to be the bactericidal concentration of the compound. The results (Table 2) showed that, all the compounds tested (1; 3 and 4) were found to be inactive against all strains with a MIC value greater than 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

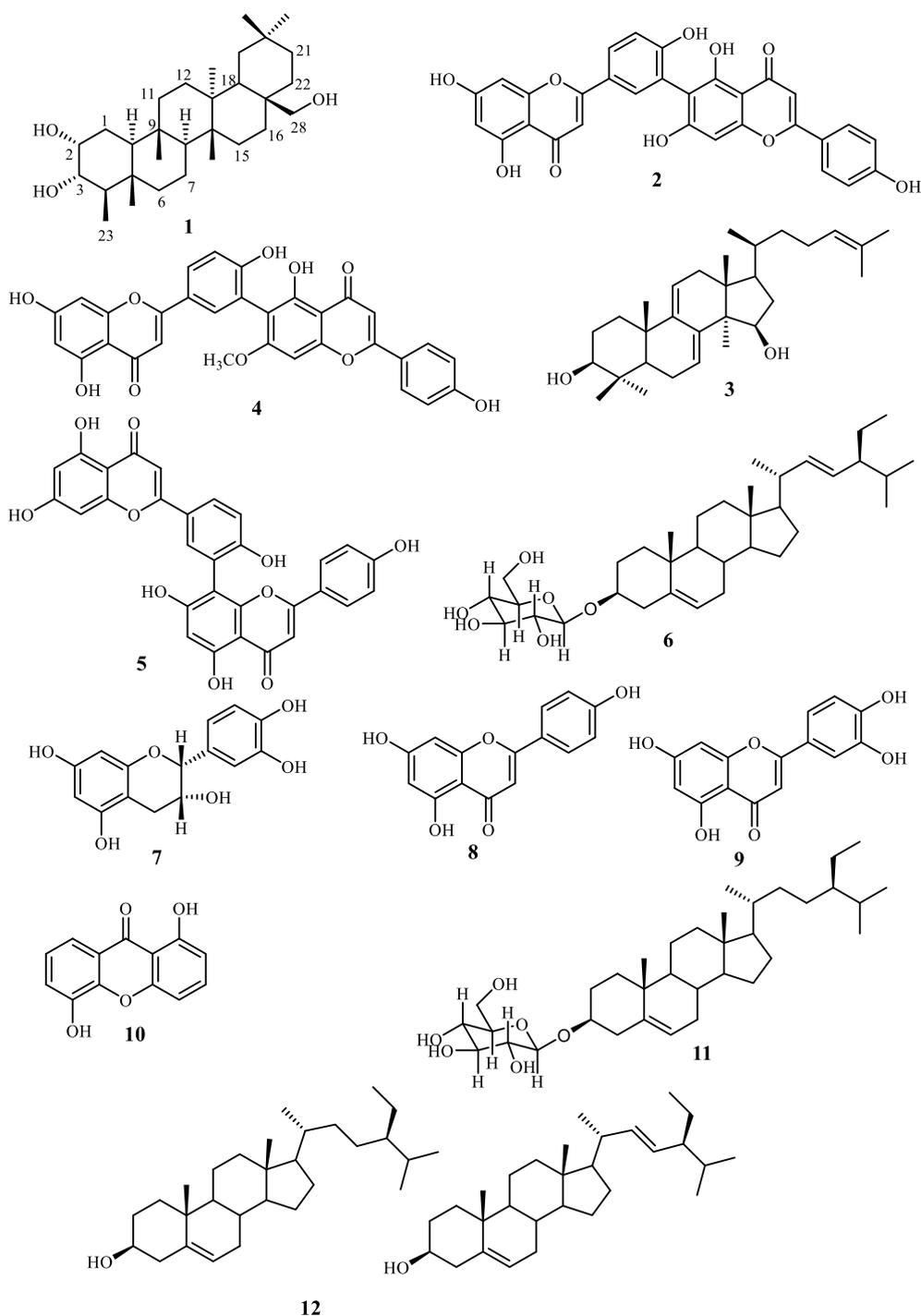


Fig. 1. Structures of compounds 1-12.

### 3.5. Antioxidant activity

The antioxidant activity of some isolated compounds **1**; **3** and **4** were evaluated using two complementary tests, namely the DPPH assay for the free radical scavenging activity and the ferric antioxidant-reducing power (FRAP) assay to assess the reducing power. DPPH scavenging activity is considered to be a classic, simple, quick and inexpensive method for evaluating antioxidant properties. This method is based on the ability of compounds to act as H donors to reduce free radicals. However, this method is unable to demonstrate the reducing power of an antioxidant compound. For this reason, the FRAP test was added as a complementary method (Gulsen et al., 2015).

The standard solution of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) was prepared using the method described by Blois in 1958 and compared to the standard reference catechin. This solution was taken and diluted twice with methanol to obtain 225 mL of final solution. After preparing the different solutions, 2000  $\mu$ L of the DPPH solution was pipetted into test tubes and 500  $\mu$ L of solution containing the isolated compound and catechin at different concentrations was then added to each test tube up to a volume final 2.5 mL per tube. All tests were performed in triplicate in a darkroom. The optical density was measured at a wavelength of 515 nm using a spectrophotometer of the Thermo-Fisher-Scientific brand: Evolution 300 UV-VIS, after 30 min of incubation.

The determination of the iron reducing antioxidant power (FRAP) is

**Table 1**

<sup>1</sup>H NMR ((500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) and <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) data of friedelane-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,28-triol (1).

Position	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (nH, m, J in Hz)	HMBC
1	23.3	1.31 (2H, m)	–
2	70.6	3.61 (1H, m)	–
3	75.2	3.19 (1H, t, 11.2)	–
4	42.9	1.39 (1H, d, 11.2)	C-23; C-24
5	37.7	–	–
6	41.4	1.60 (2H, m)	C-24
7	17.7	1.28 (2H, m)	C-6; C-8
8	51.4	1.36 (1H, m)	C-25
9	36.1	–	–
10	52.2	1.26 (1H, m)	C-1; C-6; C-24; C-25
11	34.7	1.44 (2H, m)	C-25
12	29.8	1.32 (2H, m)	C-27
13	38.9	–	–
14	38.8	–	–
15	30.6	1.30 (2H, m)	C-8; C-26
16	34.7	1.44 (2H, m)	C-22
17	30.9	–	–
18	39.3	1.24 (1H, m)	C-27; C-12
19	31.3	1.38 (1H, m)	–
20	28.1	–	–
21	29.3	1.32 (2H, m)	C-29; C-30
22	35.1	1.20 (2H, m)	–
23	11.3	0.82 (3H, d, 7.2)	C-3; C-4; C-5
24	16.4	0.87 (3H, s)	C-6; C-4; C-10
25	18.7	0.76 (3H, s)	C-8
26	18.2	0.91 (3H, s)	C-14
27	19.5	0.99 (3H, s)	C-18
28	66.6	3.28 (2H, s)	–
29	34.6	1.10 (3H, s)	C-19; C-30
30	33.2	1.22 (3H, s)	C-19; C-21; C-29

based on the reduction of the tripyridyltriazine ferric complex (Fe<sup>3+</sup> - TPTZ) to the tripyridyltriazine ferrous complex (Fe<sup>2+</sup> -TPTZ) in the presence of an antioxidant, 2000  $\mu$ L of FRAP solution were pipetted into different test tubes, followed by 75  $\mu$ L of solution containing the isolated compound or catechin at different concentrations (Benzie et al., 1999). The tests were performed in triplicate and the mixture was incubated for 30 min. The optical density was measured at 593 nm using a Thermo-Fisher-Scientific brand spectrophotometer: Evolution 300 UV-VIS. The FRAP solution was prepared as follows: 14.1 mg of TPTZ were diluted in 9 mL 40 mM HCl then ferric chloride (20 mM FeCl<sub>3</sub>) and 300 mM acetate buffer at pH = 3.6 mixed in the ratio of 1: 1: 10 respectively to form the FRAP solution. A concentration of 300  $\mu$ g/mL in DMSO of catechin and each tested compound was prepared during DPPH and FRAP tests.

Data are expressed as the means  $\pm$  SD of three independent experiments. A p-value <0.05 was considered to be statistically significant. The graphical representation of the data was carried out using the Graph Pad Prism 8.0.1 software (Microsoft, USA). IC<sub>50</sub> and EC<sub>50</sub> were determined using SPSS Statistic Software version 23.0. The results showed that, friedelane-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,28-triol (1) and polycarpol (3) exhibited no DPPH free radical scavenging and no FRAP activities while, 7''-O-methoxyrobustaflavone (4) has a greater EC<sub>50</sub> (the lowest activity) compared to

that of the catechin which has a low value of EC<sub>50</sub> (the highest activity). The absence of the DPPH and FRAP activities observed for compounds 1 and 3 are due to the fact that, the –OH groups aren't phenolic. The free radical scavenging activity of 7''-O-methoxyrobustaflavone (4) is comparable to that of catechin which has been used as a standard antioxidant. This radical scavenging activity is supported by the FRAP test (Table 3). Moreover, Fig. S2 shows the dose-response curve of the DPPH free radical scavenging activity of some compounds isolated from *S. globulifera* versus catechin. The reducing power assay is based on the reduction of Fe<sup>3+</sup> in potassium ferricyanide to Fe<sup>2+</sup> which forms a blue complex. The formation of this blue complex is followed at  $\lambda = 593$  nm. The greater the reducing power of the analyte, the higher concentration of the complex formed, leading to higher absorbance values. Compound 4 had a reducing power of 81.38  $\mu$ g EGA/mg dry weight and was therefore the most potent compared to compounds 1 and 3 (Fig. S30). Compounds 1 and 3 had no FRAP activity. The high antioxidant activity of phenolic substances is often attributed to their –OH fragments. They are powerful donors of H because they allow the delocalization of electrons through the molecule. This effectively stabilizes the resulting phenoxy radicals. The –OH fragments in the structure of compound 4 probably explain its reducing power. Another important characteristic of phenolic compounds and compound 4 is the flatness of the molecule, which allows the conjugation and delocalization of electrons. These factors are associated with an increase in radical stability. Intramolecular H bonds between neighboring groups – OH and C = O increase the conjugation of the aromatic ring and increase the H-donating power of the molecule (Soobrattee et al., 2005). Indeed, the resulting radicals have a greater potential for delocalization of electrons. The presence of an unsaturated  $\alpha,\beta$ -carbonyl group in biflavonoids also increases antioxidant activity (Gülçin et al., 2005) and is observed in compound 4. The strong antioxidant activity of biflavonoid 4 can also be attributed to structural characteristics mentioned above. The decrease in scavenging activity observed for compound 4 relative to catechin is probably associated with the presence of a lipophilic substituent (methoxy group) in its structure.

**Table 3**

Antioxidant activity by the DPPH and FRAP assays (n = 3).

Compounds	Radical scavenging activity		Reducing power
	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)	FRAP $\mu$ g EGA/mg dw
(1)	–	–	–
(3)	–	–	–
(4)	6.58 $\pm$ 0.65	506.15 $\pm$ 50.00	81.38 $\pm$ 2.48
catechin	2.47 $\pm$ 0.00	190.00 $\pm$ 0.00	318.96 $\pm$ 2.63

Legend:  $\mu$ g/mL: micrograms of sample per milliliter of solution;  $\mu$ g EGA/mg dw: equivalent micrograms of gallic acid per milligram dry weight. Data are expressed as mean  $\pm$  SD; Catechin was used as a reference compound. Statistical differences between catechin and compounds are analyzed with a cutoff value of P < 0.05.

**Table 2**

Minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) ( $\mu$ g/mL).

	PA		KP		ST		SA		SA		SF	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
4	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
7	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
1	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
3	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
5	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
CP	0,063	0,031	0,03	0,063	0,02	0,063	0,031	0,125	0,015	0,031	0,015	0,1

SF: *Shigella flexneri* NR 518, SAMR: *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, SA: *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, ST: *Salmonella typhi* CPC (Cameroon Pasteur Center), *Pseudomonas aeruginosa* NR 48982; KP: *Klebsiella pneumonia* NR NR 41897, CP: Ciprofloxacin, > 200: not active.

#### 4. Chemophenetic significance

In this phytochemical study, twelve compounds (1–12, Fig. 1) were isolated from the leaves of *S. globulifera*, including two triterpenoids (1 and 3), three phytosteroids (6; 11 and 12), three flavonoids (7–9), three biflavonoids (2; 4–5) and one xanthone (10). All of these compounds are reported for the first time in the genus *Symphonia*. Pristriol (1), 15-dihydroxylanosta-7, 9 (11), 24-triene (3) and 7'-O-methylrobustaflavone (4) were newly isolated from the Clusiaceae family. But it should be noted that triterpenoids and xanthenes, flavonoids as well as biflavonoids are widely distributed in the Clusiaceae family (Karla et al., 2017; Lekshmi et al., 2018). Biflavonoids and xanthone are not surprising since biflavonoids have been isolated from plants of the family Clusiaceae and the genus *Symphonia* (Mkouna et al., 2009) and xanthenes isolated from different parts of plants of the genus *Symphonia* (Ende et al., 2010; Nkengfack et al., 2002; Ngouela et al., 2006; Locksley et al., 1966a,b). Although studies have been carried out on the plant of the genus *Symphonia*. This genus belongs to the Clusioideae subfamily and to the Symphoneae tribe which has been the subject of much chemical work. Some of the isolated compounds have been reported from plants of this subfamily. Moreover, robustaflavone (2), amentoflavone (5) stigmaterol glucoside (6),  $\beta$ -sitosterol 3- $\beta$ -D-glucopyranoside (11), 1, 5-dihydroxyxanthone (10), luteolin (9), Apigenin (8) and a mixture of stigmaterol and  $\beta$ -sitosterol (12) have been reported from the genus *Garcinia* (Herbin et al., 1970; Gabin et al., 2008; Elfita et al., 2009; Al-Shagdari et al., 2013; Consolacion et al., 2014; Bintou et al., 2016). Epicatechin (7) has also been reported previously in different parts of other genus of the Clusiaceae family, including the stem bark of *Calophyllum nervosum*, roots, stems, leaves, flowers and fruits of *C. brasiliense* (Juliana et al., 2004; Muhammad et al., 2005), as well as luteolin (9) isolated also from the aerial parts of *Hypericum tomentosum* (Ouassila et al., 2012). Very few studies have been carried out on other species of the genus *Symphonia*. Moreover, a xanthone with anti-proliferative activity was also isolated from *S. pauciflora* (Ende et al., 2010).

In conclusion, the study of the leaves of *S. globulifera* led to the isolation of compounds which enriches knowledge on the phytochemistry of the plant and provides additional information on the possible chemophenetic markers present in this species and has shown the presence of common metabolites found in the Clusiaceae family. The position of this genus within the Clusiaceae plant family and the Clusioideae subfamily is in good agreement with current results and previous chemotaxonomic analyzes.

#### CRedit authorship contribution statement

**Dénis-Grégoire Téné:** Conceptualization, Investigation, Methodology, Writing - original draft. **Anastasia Ewola Tih:** Supervision, Writing - review & editing. **Michael Hermann Kengne Kamdem:** Formal analysis, Resources. **Rostan Mangoua Talla:** Writing - review & editing. **Patrick Hervé Betote Diboue:** antioxidant activity. **Yanick Kevin Dongmo Melongo:** antibacterial activity. **Carelle Raïssa Dzukoug:** Writing & review. **Edwin Mpo Mmutlane:** Formal analysis, Resources. **Derek Tantoh Ndinteh:** Formal analysis, Resources. **Bernard Bodo:** Formal analysis, Resources. **Raphaël Tih Ghogomu:** Supervision, Writing - review & editing.

#### Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgements

The authors thank the University of Johannesburg, faculty of

Sciences, Department of Chemical Sciences (South Africa) and the Natural Substances Chemistry Laboratory (Muséum National d'Histoire Naturelle Paris, France) for recording the spectra.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <https://doi.org/10.1016/j.bse.2021.104345>.

#### References

- Adam, J.G., 1971. Flore descriptive des monts, Nimba Edition. du Museum ed., Paris.
- Ajibesin, K., Ekpo, B., Bala, D., Essien, E., Adesanya, S., 2008. Ethnobotanical survey of Akwa Ibom state of Nigeria. *J. Ethnopharmacol.* 115, 387–408. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.021>.
- Ahmad, R., Alfian, N., Nunuk, H., Soekanto, Tjodi H., Ian van, A., 2012. A stigmaterol glycoside from the root wood of *Melochia Umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. Indonesia Journal of Chemistry 12 (1).
- Al-Shagdari, A., Adonis, B.A., Osmany, C.R., Anna, L.P., Luca, R., 2013. Biflavonoids, Main constituents from *Garcinia bakeriana* leaves. *Nat. Prod. Commun.* 8 (9).
- Bamps, P., Robson, N., Verdcourt, B., 1978. Flora of tropical East Africa. Crown Agents for Oversea Governments and Administrations 14.
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J., 1999. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *J. Anal. Biochem.* 239, 70–76.
- Bintou, A., Anastasie, E.T., Ghogomu, R.T., Alain, B., Bernard, B., 2016. New flavonoid C–O–C dimers and other chemical constituents from *Garcinia brevipedicellata* stem heartwood. *Zeitschrift für Naturforschung* 71 (7–8), 233–241. <https://doi.org/10.1515/znc-2015-0125>.
- Bittrich, V., Amaral, M.C.E., 1996. Pollination Biology of *Symphonia globulifera* (Clusiaceae). *Plant Systemat. Evol.* 200, 101–110. <https://doi.org/10.1007/BF00984751>.
- Bittrich, V., Nascimento-Junior, J.E., Amaral, M.C.E., Nogueira, P.C., 2013. The Anther oil of *Symphonia globulifera* L.f. (Clusiaceae). *Biochem. Systemat. Ecol.* 49, 131–134. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.03.011>.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181 (4617), 1199–1200.
- Chaturvedula, V.S.P., Prakash, I., 2013. Flavonoids from *Astragalus propinquus*. *J. Chem. Pharmaceut. Res.* 5, 261–265.
- Consolacion, Y., Ragasa, Oscar, B., Torres, Elizabeth M., Chien-Chang, S., 2014. Sterols and triglyceride from the fruit of *Garcinia binucao*. *Der Pharma Chem.* 6 (6), 229–232.
- Dick, C., Heuertz, M., 2008. The complex biogeographic history of widespread tropical tree species. *Evolution* 62, 2760–2774. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00506.x>.
- Elfita, E., Muharni, M., Madyawati, L., Darwati, D., Ari, W., Supriyatna, S., Husein, B., Dachriyanus, D., Paul, C., Louis, M., Kenne, F., Sandra, A., Luc, P., 2009. Antiplasmodial and other constituents from four Indonesian *Garcinia* spp. *Phytochemistry* 70, 907–912. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.04.024>.
- Ende, P., Shugeng, C., Peggy, J., Brodia, James, S., Miller, Roland, R., Fidy, R., Chris, B., Rabodo, A., Vincent, E., Rasamisonc, David G.I.K., 2010. An antiproliferative xanthone of *Symphonia pauciflora* from the Madagascar rainforest. *Nat. Prod. Commun.* 5 (5), 751–754. <https://doi.org/10.1177/1934578X1000500515>.
- Gulsen, T., Mehmet, O., Mehmet, E.D., Aziz, T., 2015. Antioxidant and anticholinesterase activities of five wild mushroom species with total bioactive contents. *Pharmaceut. Biol.* 53, 824–830. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.943245>.
- Gülçin, I., Alici, H.A., Cesur, M., 2005. Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chem. Pharm. Bull.* 53, 281–285. <https://doi.org/10.1248/cpb.53.281>.
- Gustafson, K.R., Blunt, J.W., Munro, M.H.G., Fuller, R.W., Mckee, T.C., Cardellina, J.H., McMahon, J.B., Cragg, G.M., Boyd, M.R., 1992. The guttiferones, HIV-Inhibitory Benzophenones from *Symphonia globulifera*, *Garcinia livingstonei*, *Garcinia ovalifolia* and *Clusia rosea*. *Tetrahedron* 48, 10093–10102. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)89039-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)89039-6).
- Gabin, N.L., Alain, M.L., Celine, D.M., Jean, G.T., Justin, K., Paula, C., Fernande, N.N., Naz, Q., David, L., Muhammad, I.C., Beiban, S., 2008. Polyanxanthone A, B and C, three xanthenes from the wood trunk of *Garcinia polyantha* Oliv. *Phytochemistry* 69, 1013–1017.
- Herbin, G.A., Jackson, B., Locksley, H.D., Scheinmann, F., Stenholme, W.W.A., 1970. The biflavonoids of *Garcinia volkensii* (Guttiferae). *Phytochemistry* 9, 221–226.
- Juliana, B.P., Cechinel-Filho, V., Vânia, F., Noldin, Mara R.K., Sartor, D.E.B. Isaías, Alexandre, B.C., 2004. Antimicrobial Activity of Fractions and Compounds from *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae/Guttiferae) *Zeitschrift für Naturforschung* 59 c, 657–662. <https://doi.org/10.1515/znc-2004-9-1009>.
- Karla, M.M., Da, Silva, Andrea, B., Da, Nóbrega, Bruno, L., Maria, C.A., Adriana, Q., Lobão, Alessandra L., Valverde, Selma, R., De Paiva, Ana, J., 2017. *Clusia criuva* Cambess. (Clusiaceae): anatomical characterization, chemical prospecting and antioxidant activity. *An Acad. Bras Ciências* 89 (3), 1565–1578. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160286>.
- Lekshmi, N., Menon, Ganapathy S., Kozhiparambil, G., Raghuc, Koranappallil, B., Rameshkumara, 2018. Chemical composition and cytotoxicity of *Garcinia rubro-echinata*, a Western Ghats Endemic species. *Nat. Prod. Commun.* 13 (11), 1497–1499. <https://doi.org/10.1177/1934578X1801301121>.

- Lenta, B.N., Vonthron-Sénécheau, C., Fongang, S.R., Tantangmo, F., Ngouela, S., Kaiser, M., Tsamo, E., Anton, R., Weniger, B., 2007a. In vitro antiprotozoal activities and cytotoxicity of some selected Cameroonian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 11, 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.10.036>.
- Lenta, B.N., Vonthron-Sénécheau, C., Weniger, B., Devkota, K.P., Ngoupayo, J., Kaiser, M., Naz, Q., Choudhary, M.I., Tsamo, E., Sewald, N., 2007b. Leishmanicidal and cholinesterase inhibiting activities of phenolic compounds from *Allanblackia monticola* and *Symphonia globulifera*. *Molecules* 12, 1548–1557. <https://doi.org/10.3390/12081548>.
- Li, X.C., Joshi, A.S., El Sohly, H.N., Khan, S.I., Jacob, M.R., Zhang, Z., Khan, I.A., Ferreira, D., Walker, L.A., Broedel, S.E., Rauli, R.E., Cihlar, R.L., 2002. Fatty acid synthase inhibitors from plants: isolation, structure elucidation, and SAR studies. *J. Nat. Prod.* 65, 1909–1914. <https://doi.org/10.1021/np020289t>.
- Locksley, H.D., Moore, I., Scheinmann, F., 1966a. Extractives from Guttiferae. Part III'. The isolation and structure of symphoxanthone and Globuxanthone from *Symphonia globulifera* L. *J. Chem. Soc. Sect. C* 2186–2190.
- Locksley, H.D., Moore, I., Scheinmann, F., 1966b. Extractives from Guttiferae. Part II. The isolation and structure of four polyhydroxyxanthones in *Symphonia globulifera* L. *J. Chem. Soc. Sect. C* 430–432.
- Mahato, S.B., Kundu, A.P., 1994. <sup>13</sup>C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids a compilation and some salient features. *Phytochemistry* 37, 1517–1575. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)89569-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)89569-2).
- Mahbuba, K., Mirajum, B., Abdul, Q., 2011. Sterols and sterols glucoside from *Phyllanthus* species. *J. Sci.* 60 (1), 5–10.
- Mkouna, P., Fomum, Z.T., Meyer, M., Bodo, B., Nkengfack, A.E., 2009. Globulixanthone F, a new polyoxygenated xanthone with an isoprenoid group and two antimicrobial biflavonoids from the stem bark of *Symphonia globulifera*. *Nat. Prod. Commun.* 803–808. <https://doi.org/10.1177/1934578X0900400613>.
- Mohamad, F., Supriatno, S., Desi, H., Rani, M., Nenden, I., Dewa, G.K., Mohamad, N.A., Nurlelarsari, Agus S., Unang, S., 2021. Four flavan-3-ol compounds from the stem bark of *Chisocheton balansae* C. DC. (Meliaceae). *Molecules* 16 (1), 9–15. <https://doi.org/10.20884/1.jm.2021.16.1.642>.
- Muhammad, T., Muhammad, S.I., Farediah, A., Dayar, A., 2005. A polyisoprenylated ketone from *Calophyllum enervosum*. *Phytochemistry* 66, 723–726.
- Nakata, T., Taji, S., Yamada, T., Tanaka, R., 2009. New lanostane triterpenoids, Inonotsutriols D and E, from *Inonotus obliquus*. *Osaka university of pharmaceutical sciences* 4, 469–1094. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.07.001>.
- Ndongo, J.T., Shaaban, M., Ngo-Mbing, J., Ngono, B.D., Atchadé, A. de T., Pegnyemb, D. E., Laatsch, H., 2010. Phenolic dimmers and an indole alkaloid from *Campylospermum flavum* (Ochnaceae). *Phytochemistry* 71, 1872–1878. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.08.006>.
- Ngouela, S., Lenta, B.N., Nougoué, D.T., Ngoupayo, J., Boyom, F.F., Tsamo, E., Gut, J., Rosenthal, P.J., Connolly, J.D., 2006. Anti-plasmodial and antioxidant activities of constituents of the seed shells of *Symphonia globulifera* Linn f. *Phytochemistry* 67, 302–306. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.11.004>.
- Nkengfack, A.E., Mkouna, P., Meyer, M., Fomum, Z.T., Bodo, B., 2002. Globulixanthones C, D, and E: three prenylated xanthones with antimicrobial properties from the root bark of *Symphonia globulifera*. *Phytochemistry* 61, 181–187. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00222-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00222-4).
- Ouassila, T., Lahouel, M., Elhani, M., Lamia, B., Joel, B., Christian, B., Zahia, K., 2012. Components and antioxidant activity of *Hypericum tomentosum* L. (Clusiaceae). *Journal of Biologically Active Products from Nature* 2 (3), 158–166. <https://doi.org/10.1080/22311866.2012.10719123>.
- Oyen, L.P.A., 2005. *Symphonia globulifera* L.f. Enregistrement de Protobase. Dans: Louppe, D., Oteng-Amoako, A.A., Brink, M. (Eds.), PROTA (Ressources Végétales de l'Afrique tropicale). Wageningen : Pays-Bas. <http://data base>.
- Silva, G.L., Chai, H., Gupta, M.P., Farnsworth, N.R., Cordell, G.A., Pezzuto, J.M., Beecher, C.W.W., Kinghorn, A., 1995. Cytotoxic biflavonoids from *Selaginella willdenowii*. *Phytochemistry* 40 (1), 129–134. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00212-P](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00212-P).
- Sob, S.V.T., Wabbo, H.K., Tchinda, A.T., Tane, P., Ngadui, B.T., Ye, Y., 2010. Anthraquinones, sterols, triterpenoids and xanthones from *Cassia obtusifolia*. *Biochem. Systemat. Ecol.* 38, 342–345.
- Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O.I., Bahoru, T., 2005. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutat. Res./Fundam. Molecular Mechanisms of Substitution Mutagenesis* 579, 200–213. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.03.023>.
- Ssegawa, P., Kasenene, J.M., 2007. Medicinal plant diversity and uses in Sango Bay area, Southern Uganda. *J. Ethnopharmacol.* 113, 521–540. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.07.014>.
- Sukumar, E., Bhima, R.R., Kundu, A.B., 1990. A Friedelane triol from the roots of *Przstimeria grahamii*. *Phytochemistry* 29 (9), 3044–3046. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)87137-J](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)87137-J).
- Wang, J., Hudson, R., Sintim, H.O., 2012. Inhibitors of fatty acid synthesis in prokaryotes and eukaryotes as anti-infective, anticancer and anti-obesity drugs. *Future Medicinal Chemistry* 4, 1113–1151. <https://doi.org/10.4155/fmc.12.62>.
- Xu, Yaming, Fang, 1991. Shengding From Zhiwu Xuebao 33 (2), 162–163.



## A new xanthonolignoid and other constituents of *Psorospermum aurantiacum* (Hypericaceae) stems with antibacterial and antioxidant activities



Dénis-Grégoire Téné<sup>a,\*</sup>, Bintou Abderamane<sup>b</sup>, Michael Hermann Kengne Kamdem<sup>c,d,e</sup>, Patrick Hervé Betote Diboue<sup>e</sup>, Yanick Kevin Dongmo Melogmo<sup>f,g</sup>, Edwin Mpho Mmutlane<sup>d,e</sup>, Derek Tantoh Ndinteh<sup>c,d</sup>, Anastasie Ewola Tih<sup>a</sup>, Raphaël Tih Ghogomu<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, The University of Yaoundé 1, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon

<sup>b</sup> Faculté des sciences, Département de Chimie, Université de Ndjamen, Ndjamen, Tchad

<sup>c</sup> Drug Discovery and Smart Molecules Research Laboratory, Department of Chemical Sciences, University of Johannesburg, P.O. Box 1711, Doornfontein, Johannesburg 2028, South Africa

<sup>d</sup> Center for Natural Product Research (CNPR), Department of Chemical Sciences, University of Johannesburg, 2028, South Africa

<sup>e</sup> Research Center for Synthesis and Catalysis, Department of Chemical Sciences, University of Johannesburg-Kingsway Campus, Auckland Park 2008, South Africa

<sup>f</sup> Laboratory of Pharmacology, Centre for Research on Medicinal Plants and Traditional Medicine, Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies, P.O. Box 13033, Yaoundé, Cameroon

<sup>g</sup> Laboratory of phytobiochemistry and medicinal plants studies, Faculty of Science, The University of Yaoundé 1, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 15 November 2021

Revised 30 June 2022

Accepted 8 July 2022

Available online xxx

Edited by Dr. S.V. Vuuren

#### Keywords:

*Psorospermum aurantiacum*

Hypericaceae

Stems

Xanthonolignoid

Antibacterial and antioxidant activity

### ABSTRACT

The ethyl acetate fraction of *Psorospermum aurantiacum* stems has furnished cadensin H (**1**) a new compound belonging to the class of xanthonolignoid alongside with six compounds: 1,5,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone (**2**), betulinic acid (**3**), 1,7-dihydroxyxanthone (**4**), betulin (**5**), lupeol (**6**) and stigmaterol glucoside (**7**). The crude methanolic extract and ethyl acetate fraction, as well as some major isolated compounds were evaluated for antibacterial and antioxidant activities. *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *SSalmonella typhi*, *EEscherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, were used as test organisms. The crude extract has moderate activity against *Shigella flexneri*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *SSalmonella typhi* and *EEscherichia coli* strains with MICs values ranging from 125 to 500 µg/mL, and MBC of 500 µg/mL for *Staphylococcus aureus*, *SSalmonella typhi* and *EEscherichia coli*. While the ethyl acetate fraction has moderate activity against *S. flexneri*, methicillin resistant *S. aureus*, *SSalmonella typhi* and *EEscherichia coli* with MIC ranging from 250 to 1000 µg/mL and MBC from 500 to 1000 µg/mL for *S. flexneri*, *S. aureus*, *E. coli* strains. Among all the compounds tested, only 1,5,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone showed moderate activity on all bacterial strains with MICs values from 12.5 to 50 µg/mL and MBC of 25 µg/mL and 100 µg/mL on methicillin-resistant *S. aureus*, 100 µg/mL on *EEscherichia coli*. DPPH for radical scavenging and iron reducing antioxidant (FRAP) were used to evaluate antioxidant activity. Compound (**2**) showed important activity with the first reagent while compound (**1**) showed moderate activity with the second reagent. The structures of the isolated compounds were established using modern spectroscopic methods including 1D and 2D NMR and High-resolution mass spectrometry and by comparing with data reported in the literature.

© 2022 SAAB. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

**Abbreviation:** <sup>13</sup>C NMR, Carbon-13 nuclear magnetic resonance; <sup>1</sup>H NMR, Proton nuclear magnetic resonance; DEPT, Distortionless Enhancement by Polarization Transfer; COZY, Correlation spectroscopy; HMBC, Heteronuclear multiple bond correlation; HSQC, Heteronuclear Single Quantum Correlation; s, Singlet; t, Triplet; d, Doublet; dd, Doublet of doublet; dt, Doublet of Triplet; *P.*, *Psorospermum*; *J*, Coupling constant; *m/z*, Mass/charge ratio; CIMS, Chemical ionization Mass spectroscopy; EIMS, electron ionization Mass spectroscopy; CDCl<sub>3</sub>, Deuterated chloroform; DMSO-*d*<sub>6</sub>, Deuterated dimethyl sulfoxide; MHz, MegaHerz; Hz, Herz

\* Corresponding author.

E-mail address: [denisregoire\\_tene@yahoo.fr](mailto:denisregoire_tene@yahoo.fr) (D.-G. Téné).

<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.07.012>

0254-6299/© 2022 SAAB. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

*Psorospermum aurantiacum* is a well-known African medicinal plant belonging to the Hypericaceae family (subfamily: Hypericoideae), it is a plant species endemic to the Cameroon mountain line and it is also found in Nigeria on the Obudu and Mambila plateau (Martin Cheek et al., 2010). In Cameroon and other African countries, *P. aurantiacum* is used for the treatment of gastrointestinal, urinary and dermatological infections, venereal diseases, infertility or epilepsy (Tchakam et al., 2012). Previous phytochemical studies on the

bark of *P. adamauense* (Tsaffack et al., 2009); the root bark of *P. glaberrimum* (Lenta et al., 2008); leaves of *P. androseamifolium* (Poumale et al., 2008); the roots of *P. febrifugum* (Abou-Shoer et al., 1989); the roots of *P. tenuifolium* (Delle et al., 1987a; Delle et al., 1987b) and of *P. aurantiacum* (Kouam et al., 2010; Tiani et al., 2013) have reported the isolation and characterization of 1,4,5,7-tetrahydroxyxanthone, betulinic acid, kengaquinone, 3-geranyloxyemodine, glaberrianthron, quercetin, cadensin G and F, 12-hentriacontanol,  $\alpha$  and  $\beta$ -amirine, betulin, kengathranol B and vismiaquinone C. Some of them exhibit biological and pharmacological activities; antimalarial (Jansen et al., 2010); antimicrobial, anti-inflammatory and antifungal (Tchakam et al., 2012; Zubair et al., 2009a, Zubair et al., 2009b; Zubair et al., 2010); cytotoxic and antileishmanial (Pouli and Marakos, 2009; Ahua et al., 2007). It emerges from previous work carried out on species of the genus *Psorospermum*, that the different parts (roots, bark of roots, stems, bark of stems, leaves and fruits) are used in the traditional tropical and subtropical pharmacopeia, in the treatment of several infections microbial (Lenta et al., 2008; Tsaffack et al., 2009; Tchakam et al., 2012). To verify or even confirm this use in traditional medicine, it seemed necessary in the context of our work to subject some compounds isolated from *P. aurantiacum* to antibacterial and antioxidant tests. As part of our research for biologically active compounds from Cameroonian medicinal plants, we examined the stems of *P. aurantiacum*. Which has not been studied before and reports the isolation, structural elucidation, antibacterial and antioxidant activities of a novel xanthonolignoid as well as other known compounds.

## 2. Experimental

### 2.1. General experimental procedures

High-resolution mass spectra were obtained with a QTOF Compact Spectrometer (Bruker, Germany) equipped with an HRESI source. The spectrometer was operated in positive and negative modes (mass range: 50–1500, with a scan rate of 1.00 Hz) with automatic gain control to provide high-accuracy mass measurements within 1 ppm deviation using Na Formate as calibrant. The following parameters were used for experiments: spray voltage of 4.5 kV, capillary temperature of 200 °C. Nitrogen was used as sheath gas (4 L/min). The 1D and 2D NMR spectra were recorded on Bruker Bio Spin GmbH in deuterated solvents ( $\text{CDCl}_3$  and  $\text{DMSO}-d_6$ ). Chemical shifts were reported in  $\delta$  (ppm) using tetramethylsilane (TMS) (Sigma-Aldrich) as an internal standard, while coupling constants ( $J$ ) were measured in Hz. Column chromatography was performed on 230–400 mesh silica gel, Merck (Merck, Darmstadt, Germany), 70–230 mesh (Merck) or Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich). Thin Layer Chromatography (TLC) was performed on aluminum foil pre-coated with Merck (60 F254) silica gel (Merck) and compound spots were detected by spraying dilute sulfuric acid before heating, plate at approximately 100 °C or by visual inspection UV lamp at 254 nm and 365 nm. CD spectra were recorded using a Jasco J700 spectro-polarimeter in  $\text{CH}_3\text{CN}$ .

### 2.2. Plant material

The stems of *P. aurantiacum* were harvested in October 2020 at the foot of Mount Bana (GPS coordinates: 5° 08' 55" N, 10° 19' 56" E, Altitude 2045 m), a locality in the western region of Cameroon and identified by Mr. Nana Victor, a botanist at the National Herbarium of Cameroon, where a reference specimen is deposited under N° 52651/HNC.

### 2.3. Extraction and isolation

For this study, methanol was used for the extraction of plant material. Methylene chloride and methanol were used as pure or binary mixtures at different polarities for the purification of the compounds.

The air-dried stems of *P. aurantiacum* reduced into fine powder (4.48 kg) was extracted with methanol at room temperature. After removal of solvent, the obtained residue (229.30 g) was washed successively with warm ethyl acetate and acetone. Only the ethyl acetate fraction was purified after removal of solvent by column chromatography on silica gel support eluted with a  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  mixture (10/1) to give 38 fractions which we have grouped based on analysis by TLC into five subfractions;  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ,  $D_4$  and  $D_5$ . Sub-fraction  $D_1$  (6.40 g) was next chromatographed on a silica gel column using the mixture of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (50/1) as eluent. 30 fractions ( $T_1$ – $T_{30}$ ) were collected and combined based on TLC analysis. Fractions  $T_{15}$ – $T_{22}$  (0.39 g) were chromatographed on silica gel using  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (50/1) as eluent, to give a pure compound (7) (11.0 mg). The  $T_8$ – $T_{16}$  fractions were concentrated to dryness and the residue obtained (1.06 g) was subjected to column chromatography on silica gel eluted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  to give three pure compounds (5) (8.0 mg), (3) (29.0 mg) and (6) (16.0 mg). Purification of sub-fraction  $D_4$  (0.24 g) by chromatography on a silica gel column with a  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  mixture (30/1) as eluent gave a pure compound (1) (18.0 mg). Fraction  $D_5$  (0.36 g) was subjected to column chromatography on silica gel eluted with a  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  mixture (15/1) to give two pure compounds (2) (32.0 mg) and (4) (6.0 mg).

### 2.4. Physical and spectroscopic data of compounds 1–7

Compound 1, Yellow amorphous powder ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) (18.0 mg);  $[\alpha]_D^{20} -2.12$  ( $c = 0.0468$  g/mL,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ); CIMS  $[M + H]^+$   $m/z$  483.1313 (calculated for  $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{O}_{10}$  483.1325);  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) and  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) NMR data presented in Table 1.

Compound 2, CIMS ( $\text{CH}_4$ )  $m/z$   $[M + H]^+$  275.0580 (calculated for  $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_6$  275.0556);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  3.91 (3H, s, -OMe), 6.75 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-2), 7.65 (1H, t,  $J = 8.3$  Hz, H-3), 7.04 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-4), 7.11 (1H, s, H-8), 12.98 (1H, s, OH).

Compound 3, CIMS  $m/z$  ( $\text{CH}_4$ )  $[M + H]^+$  457.3598 Calculated for  $\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{O}_3$  457.3603;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  3.00 (1H, t,  $J = 5.0$  Hz, H-3); 2.04 (2H, tt,  $J = 3.0 / 12.5$  Hz, H-16); 1.81 (2H, tt,  $J = 3.0 / 13.0$  Hz, H-22); 2.85 (1H, m, H-18); 4.48 (1H, s, H-29a); 4.60 (1H, s, H-29b); 0.84 (3H, s, H-23); 0.78 (3H, s, H-24); 0.67 (3H, s, H-25); 0.56 (3H, s, H-26); 0.84 (3H, s, H-27); 1.56 (3H, s, H-30).

Compound 4, CIMS ( $\text{CH}_4$ )  $m/z$   $[M + H]^+$  229.0543 (Calculated for  $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{O}_4$  229.0501);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$ : 6.78 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-2), 7.69 (1H, t,  $J = 8.3$  Hz, H-3), 7.03 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-4), 7.53 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-5), 7.36 (1H, dd,  $J = 9.0 ; 3.2$  Hz, H-6), 7.44 (1H, d,  $J = 3.2$  Hz, H-8).

Compound 5, EIMS  $m/z = 442.3811$   $[M]^+$ .  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$   $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  4.69 (1H, d, H-29b), 4.56 (1H, d, H-29a), 3.78 (1H, d,  $J = 10.8$ , H-28b), 3.34 (1H, d,  $J = 10.8$ , H-28a), 3.16 (1H, dd,  $J = 5.3$ , H-3 $\alpha$ ), 1.66 (3H, s, H-30), 0.99 (3H, s, H-27), 0.97 (3H, s, H-26), 0.96 (3H, s, H-23), 0.81 (3H, s, H-25), 0.76 (3H, s, H-24).

Compound 6, EIMS  $m/z = 426.3862$   $[M]^+$ .  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$  4.60 (1H, s, H-29a), 4.48 (1H, s, H-29b), 1.69 (H-30, s), 1.62 (2H, m, H-1), 3.22 (1H, dd,  $J = 11.5, 5.0$  Hz, H-3), 0.68 (1H, t,  $J = 9.5$  Hz, H-5), 1.29 (1H, s, H-9), 1.58 (2H, m, H-12), 2.27 (1H, m, H-19), 1.87 (2H, m, H-21), 1.65 (2H, m, H-15), 1.66 (1H, m, H-13), 1.59 (2H, m, H-2), 1.49 (2H, m, H-6), 1.40 (2H, m, H-7), 1.42 (1H, m, H-11), 1.37 (2H, m, H-16), 1.36 (1H, m, H-18), 1.38 (2H, m, H-22), 0.99 (s, 3H, Me-26), 0.96 (s, 3H, Me-23), 0.94 (s, 3H, Me-27), 0.85 (s, 3H, Me-25), 0.79 (s, 3H, Me-28), 0.70 (s, 3H, Me-24).

**Table 1**  
<sup>1</sup>H (500 MHz) and <sup>13</sup>C (125 MHz) NMR data of cadensin H (1) in DMSO-*d*<sub>6</sub>.

Position	δ <sub>c</sub> (ppm)	δ <sub>H</sub> (nH, m, J/Hz)	HMBC
1	95.8	7.17 (1H, s)	C-9; C-2; C-4a
2	145.5	–	–
3	140.3	–	–
4	132.3	–	–
4a	141.4	–	–
4b	155.4	–	–
5	106.8	7.05 (1H, d, 8.4)	C-4b ; C-7
6	136.0	7.64 (1H, t, 8.4)	C-8; C-4b
7	109.8	6.77 (1H, d, 8.4)	C-8a; C-8
8	160.9	–	–
8a	107.8	–	–
9	180.3	–	–
9a	112.4	–	–
1'	125.3	–	–
2'	105.5	6.74 (1H, s)	C-7' ; C-3'/5'; 4'
3'	147.9	–	–
4'	136.3	–	–
5'	147.9	–	–
6'	105.5	6.74 (1H, s)	C-7' ; C-3'/5'; 4'
7'	76.7	5.08 (1H, d, 7.8)	C-2'/6'; C-1'; C-8'
8'	77.7	4.35 (1H, dt, 7.8 and 3.3)	–
9'	59.7	3.48 (1H, dd, 12.5 and 4.4) 3.75 (1H, dd, 12.5 and 4.4)	–
2-OCH <sub>3</sub>	55.7	3.88 (3H, s)	C-2
8-OH	–	12.79 (1H, s OH)	–
3'-OCH <sub>3</sub>	56.0	3.79 (3H, s)	C-3'/5'
5'-OCH <sub>3</sub>	56.0	3.79 (3H, s)	C-3'/5'

Compound **7**, CIMS (CH<sub>4</sub>) *m/z* [M + H]<sup>+</sup> 575.4312 (Calculated for C<sub>35</sub>H<sub>59</sub>O<sub>6</sub> 575.4345); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>); δ<sub>H</sub> 2.28 (2H, dd, *J* = 13.4/4.7 Hz, H-1), 1.29 (2H, m, H-2), 3.41 (1H, m, H-3), 1.73 (2H, d, *J* = 10.2 Hz, H-4), 5.23 (1H, d, *J* = 4.5 Hz, H-6), 1.39 (2H, m, H-7), 1.70 (1H, s, H-8), 0.99 (1H, s, H-9), 1.17 (2H, m, H-11), 1.89 (2H, m, H-12), 1.08 (1H, m, H-14), 1.15 (2H, m, H-15), 1.82 (2H, s, H-16), 1.03 (1H, m, H-17), 0.68 (3H, s, H-18), 0.97 (3H, s, H-19), 1.31 (1H, m, H-20), 0.91 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, H-21), 5.08 (1H, dd, *J* = 8.4/15 Hz, H-22), 5.03 (1H, dd, *J* = 8.4/15 Hz, H-23), 0.97 (1H, s, H-24), 1.56 (1H, m, H-25), 0.81 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, H-26), 0.88 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, H-27), 1.02 (2H, s, H-28), 0.72 (3H, d, *J* = 8.4 Hz, H-29), 4.15 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1), 3.00 (1H, d, *J* = 5.5 Hz, H-2), 3.11 (1H, m, H-3), 2.85 (1H, t, *J* = 8.3 Hz, H-4), 3.08 (1H, m, H-5), 3.59 (2H, d, *J* = 11.6 Hz, H-6).

## 2.5. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities

### 2.5.1. Assessment of antibacterial activity

The antibacterial activity of some isolated compounds (**2**); (**3**) and (**6**) was carried out using six bacterial strains including two reference strains from American Type Culture Collection, ATCC namely *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300 and ATCC 33591), three from BEI Resources namely *Shigella flexneri* NR 518, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Klebsiella pneumonia* NR 41897 and one clinical isolate strain from Laboratory collection namely *SSalmonella typhi* CPC. The inhibition parameters of these compounds were evaluated by the Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) and Minimum Bactericidal Concentrations (MBC) by using the broth microdilution method as described by CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute) 2012 (protocol M07-A9) and compared to the standard reference ciprofloxacin. Each test was carried out twice. At the end of the incubation time, 20 μL of resazurin were added to each well and the plates were reincubated at 37 °C for 30 min and the smallest concentration of the compounds showed no bacterial growth marked by the non-change. The staining of resazurin (blue) was the bactericidal concentration of the compound.

### 2.5.2. Antioxidant activity

The antioxidant activity of some isolated compounds (**1**); (**2**) and (**3**) were evaluated using two complementary tests, namely the DPPH assay for the free radical scavenging activity and the ferric antioxidant-reducing power (FRAP) assay to assess the reducing power. DPPH scavenging activity is a classic, simple, quick and cheap method for evaluating antioxidant properties. This method is based on the ability of compounds to act as H donors to reduce free radicals. However, this method is unable to demonstrate the reducing power of an antioxidant compound. For this reason, the FRAP test was added as a complementary method (Gulsen et al., 2015).

The standard solution of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) was prepared using the method described by (Blois 1958) and compared to the standard reference catechin. This solution was taken and diluted twice with methanol to obtain 225 mL of the final solution. After preparing the different solutions, 2000 μL of the DPPH solution was pipetted into test tubes and 500 μL of solution containing the isolated compound and catechin at different concentrations was then added to each test tube up to a volume of 2.5 mL. All tests were performed in triplicate in a darkroom. The optical density was measured at a wavelength of 515 nm after 30 min of incubation using a spectrophotometer of the Thermo-Fisher-Scientific brand: Evolution 300 UV-vis.

The determination of the iron-reducing antioxidant power (FRAP) is based on the reduction of the tripyridyltriazine ferric complex (Fe<sup>3+</sup>-TPTZ) to the tripyridyltriazine ferrous complex (Fe<sup>2+</sup>-TPTZ) in the presence of an antioxidant. 2000 μL of FRAP solution were placed into different test tubes, followed by 75 μL of solution containing the isolated compound or catechin at different concentrations (Benzie and Strain, 1999). The tests were performed in triplicate and the mixture was incubated for 30 min. The optical density was measured at 593 nm using a Thermo-Fisher-Scientific brand spectrophotometer: Evolution 300 UV-vis. The FRAP solution was prepared as follows: 14.1 mg of TPTZ was diluted in 9 mL 40 mM HCl then ferric chloride (20 mM FeCl<sub>3</sub>) and 300 mM acetate buffer at pH = 3.6 mixed in the ratio of 1: 1: 10 respectively to form the FRAP solution. A concentration of 300 μg/mL in DMSO of catechin and each tested compound was prepared during DPPH and FRAP tests.

Data are expressed as the means ± SD of three independent experiments. A *p*-value <0.05 was considered to be statistically significant. The graphical representation of the data was carried out using the Graph Pad Prism 8.0.1 software (Microsoft, USA). IC<sub>50</sub> and EC<sub>50</sub> were determined using SPSS Statistic Software version 23.0.

## 3. Results and discussion

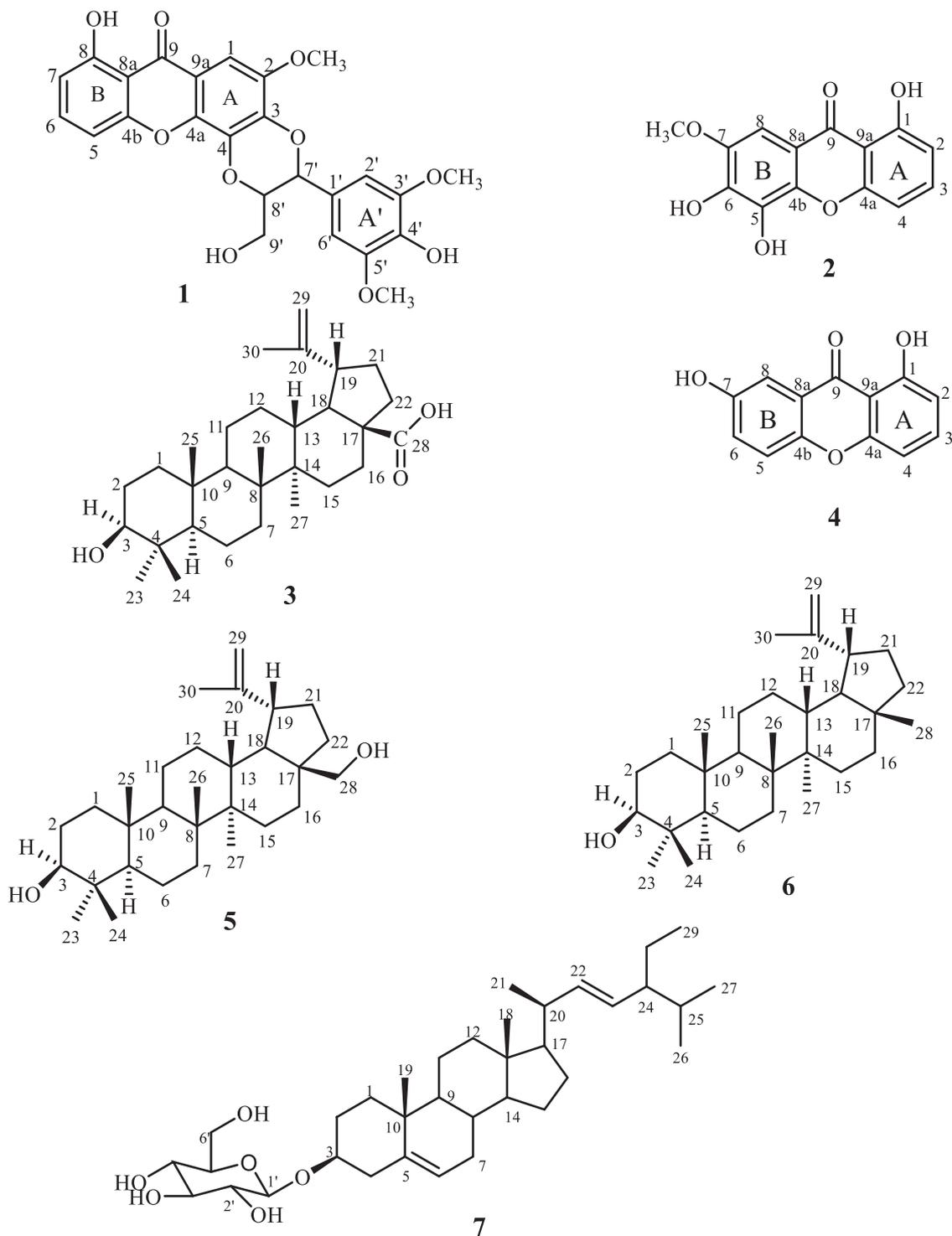
### 3.1. Elucidation of structures

The dried crushed stems of *P. aurantiacum* were extracted at room temperature with methanol and the extract was concentrated to dryness to obtain a residue, which was fractionated by chromatography. The ethyl acetate fraction was chromatographed, and the fractions obtained were further subjected to a series of column chromatography on a silica gel support. Seven pure compounds were isolated among which a new xanthonolignoid (**1**) and six known compounds. Structures of these compounds were established by comparing with data reported in the literature as 1,5,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone (**2**) (Munekazu et al., 1995), betulinic acid (**3**) (Chiedozie et al., 2020), 1,7-dihydroxyxanthone (**4**) (Kouam et al., 2010), betulin (**5**) (Nargis et al., 2014), lupeol (**6**) (Ekouya et al., 2006) and stigmaterol glucoside (**7**) (Ahmad et al., 2012), respectively (Fig. 1).

Compound (**1**) was obtained in the form of a yellow powder in the CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (30/1) mixture. It responds positively to the ferric chloride test characteristic of phenols. Its high-resolution mass

spectrometry (**Fig. S1**) shows the pseudo molecular ion peak  $[M + H]^+$  at  $m/z$  483.1313 (calculated for  $C_{25}H_{23}O_{10}$  483.1325) contains fifteen degrees of unsaturation. The  $^1H$  NMR spectrum (**Fig. S4**) showed singlet resonances of three methoxyl groups at  $\delta_H$  3.88 (3H, s, 2-OCH<sub>3</sub>) and  $\delta_H$  3.79 (6H, s, 3',5'-OCH<sub>3</sub>), signals for six aromatic protons are also observed in the downfield part. A three-spin system consisting of a pair of doublets and a triplet representing three adjacent spins of protons ortho to nucleus B respectively at  $\delta_H$  7.64 (1H, t,  $J = 8.4$  Hz, H-6),  $\delta_H$  7.05 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5) and at  $\delta_H$  6.77 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-7), as well as the proton at  $\delta_H$  7.17 (1H, s, H-1) on nucleus A. The absence of a downfield signal around  $\delta_H$  8.3 suggested the

substitution of a proton at the C-8 position by a hydroxyl group. This is supported by the presence of a signal at  $\delta_H$  12.79 which indicates the presence of a peri-carbonyl OH group of the xanthone and the absence of the methoxy group at this same position as observed in the literature (Abou-Shoer et al., 1989). The appearance of the H-2' and H-6' protons as singlets at  $\delta_H$  6.74 integrating for two protons is rationalized by the symmetry of the syringenin group. A four-proton system consisting of a doublet at about  $\delta_H$  5.08 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-7') coupled to a triplet doublet at about  $\delta_H$  4.35 (1H, dt,  $J = 7.8$  and 3.3 Hz, H-8') and two other diastereotopic protons in split doublet at about  $\delta_H$  3.48 (1H, dd,  $J = 12.5$  and 4.4 Hz, H-9') and  $\delta_H$  3.75 (1H, dd,  $J =$



**Fig. 1.** Structures of Compounds 1–7.

= 12.5 and 4.4 Hz, H-9') respectively which recalls the cinnamoyl-1,4-dioxane cycle, as well as the signals of  $\delta_C$  76.7 (C-7') and  $\delta_C$  77.7 (C-8') observably on its  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum (Yu and Yang, 1999). The above results have been fully supported, on the one hand, by the COZY spectrum (Fig. S6) where we observe the correlations between the protons at  $\delta_H$  7.05 and 7.64, the protons at  $\delta_H$  7.64 and 6.76 (nucleus B), then the protons at  $\delta_H$  4.34 and 5.06, and on the other hand by the long-range heteronuclear correlation experiment (HMBC). The broadband decoupled  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum (Fig. S2) of compound (1) showed twenty-two carbon signals among which had three double intensities. These were sorted out by the DEPT and HSQC techniques (Fig. S3 and Fig. S5), making it possible to see that with the exception of the atoms of carbon of the  $\text{CH}_3\text{O}$  groups which are hybridized to  $sp^3$  and whose signal appears at  $\delta_C$  55.7 (2-OCH<sub>3</sub>) and another of double intensity at  $\delta_C$  56.0 (3',5'-OCH<sub>3</sub>), two methynes at  $\delta_C$  76.7 (C-7');  $\delta_C$  77.7 (C-8') and one methylene at  $\delta_C$  59.7 (C-9'), all other nineteen carbon atoms shown in the molecule are  $sp^2$  hybridization and two are of intensity double  $\delta_C$  105.5 and 147.9 corresponding to the carbons C-2'/6' and C-3'/5' respectively of the tetrasubstituted nucleus A'. We also noticed the presence of the signal of a carbonyl which appears at  $\delta_C$  180.3 (C-9), four methynes and ten quaternary carbon atoms, seven of which carry an oxygen atom. On the HMBC spectrum (Fig. S7) we observed the correlations between the proton at  $\delta_H$  7.17 (H-1) and the carbon atoms at  $\delta_C$  180.3 (C-9);  $\delta_C$  145.5 (C-2); and  $\delta_C$  141.3 (C-4a) on the one hand, that between the proton H-6 ( $\delta_H$  7.64) and carbons at  $\delta_C$  160.9 (C-8) and  $\delta_C$  155.4 (C-4b), the proton at  $\delta_H$  7.05 (H-5) and the carbons at  $\delta_C$  155.4 (C-4b),  $\delta_C$  109.8 (C-7);  $\delta_H$  6.77 (H-7) and the carbon atoms at  $\delta_C$  160.9 (C-8) and  $\delta_C$  107.8 (C-8a) on the other hand confirms that compound (1) has a xanthone backbone. Finally, the correlations between the proton H-7' ( $\delta_H$  5.08) and the C-2'/6' carbons ( $\delta_C$  105.5); C-1' ( $\delta_C$  125.5), and C-8' ( $\delta_C$  77.7); the H-2'/6' protons ( $\delta_H$  6.74) and the C-7' carbons atoms ( $\delta_C$  76.7), C-3',5' ( $\delta_C$  147.9). The positions of the substituents were deduced by the HMBC spectrum, in which the correlation between 2-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_H$  3.88, 3H, s) and C-2 ( $\delta_C$  145.5) suggested the location of this methoxyl group at C-2 and the correlation between the 3',5'-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_H$  3.79, 6H, s) and the C-3',5' carbons ( $\delta_C$  147.9) showed the localization of these methoxyl groups at C-3',5' respectively. The C-4' position carries a hydroxyl group. Based on the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR data (Table 1) on the above results, the structure of compound (1) which is a xanthonolignoid was determined to be cadensin H or 8-hydroxycadensin.

### 3.2. Antibacterial activity assay

The antibacterial activity of the methanolic extract and ethyl acetate fraction of the stems of *P. aurantiacum*, as well as that of some

isolated pure compounds (2); (3) and (6), was carried out on a total of six bacterial strains including two reference strains from the American Type Culture Collection, ATCC namely *Staphylococcus aureus* (ATCC33591 and ATCC43300) and four strains of clinical isolates from the laboratory's collection namely *SSalmonella typhi* CPC, *Klebsiella pneumonia* NR 41897, *EEscherichia coli* ATCC 25922 and *Shigella flexneri* NR 518. The inhibition parameters of these compounds were evaluated by the Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) and Minimum Bactericidal Concentrations (MBC) by the technique of micro-dilution in liquid medium as described by the CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute) 2012 (protocol M07-A9), with slight modifications and compared to the standard reference ciprofloxacin. 20  $\mu\text{l}$  (20  $\mu\text{L}$ ) of resazurin were then introduced into all the wells and the microplates were again incubated at 37 °C for 30 min (Mati-vandelea et al., 2006). The minimum inhibitory concentration (MIC) was defined as the lowest concentration in the sample that prevented bacterial growth. The results (Table 2) showed that the methanol extract and ethyl acetate fraction showed moderate activity with MICs and MBCs ranging from 125 to 2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  on five bacterial strains and showed no activity on *Klebsiella pneumonia* with MIC and MBC greater than 2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Among all the compounds tested, only compound (2) is active on all strains with a MIC of less than 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , the other compounds tested being inactive on all the strains with a MIC of greater than 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Thus, based on these results, compound (2) exhibits a broad spectral activity compared to the other compounds tested and must be considered the most active with a MIC ranging from 12.5 to 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . While compounds (3) and (4) showed moderate activity on *Klebsiella pneumonia* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a MIC of 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Scheme 1.

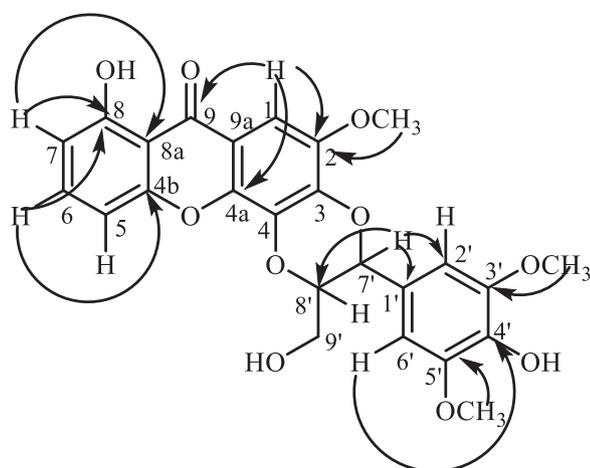
### 3.3. Antioxidant activity assay

There are several methods for determining antioxidant activity. In this study, the antioxidant activities were obtained by two complementary tests, namely the DPPH assay for the radical scavenging activity and the ferric antioxidant-reducing power (FRAP) assay to assess the reducing power. DPPH scavenging activity is considered to be a classic, simple, quick and inexpensive method for evaluating antioxidant properties. This method is based on the ability of compounds to act as H donors to reduce free radicals. However, this method is unable to demonstrate the reducing power of an antioxidant compound. For this reason, the FRAP test was added as a complementary method (Gulsen et al., 2015). Compound (1) (8-hydroxycadensin) has a greater  $\text{EC}_{50}$  (the lowest activity) compared to compound (2) (1,5,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone) which has a lower value of  $\text{EC}_{50}$  (the activity the largest) while,

**Table 2**  
Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) and Minimum Bactericidal Concentrations (MBC) ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

	SF		KP		ST		EC		SAMR		SA	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<b>ME</b>	500	2000	>2000	>2000	125	500	125	500	250	1000	125	500
<b>EE</b>	1000	>2000	>2000	>2000	250	1000	125	>500	500	2000	250	500
<b>1</b>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<b>2</b>	25	>100	50	>100	25	>100	25	100	12.5	25	25	100
<b>3</b>	>100	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>4</b>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<b>5</b>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<b>6</b>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	100	>100	>100	>100
<b>7</b>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<b>CP</b>	0.063	0.031	0.03	0.063	0.02	0.063	0.031	0.125	0.015	0.031	0.015	0.1

**SF:** *Shigella flexneri* NR 518, **SAMR:** *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, **SA:** *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, **ST:** *Salmonella typhi* CPC (centre Pasteur du Cameroun), **KP:** *Klebsiella pneumonia* NR 41897, **EC:** *Escherichia coli* ATCC 25922, **CP:** Ciprofloxacin, > **100:** not active compounds, > **2000:** not active crude extracts and fraction, **ME:** Crude methanol extract, **EE:** AcOEt fraction.



Scheme 1. HMBC correlations of compound 1.

Betulinic acid shows no DPPH radical scavenging activity (Table 3). The observed oxidizing activity of these compounds is lower than that of catechin used as a standard antioxidant. Fig. 2 shows the dose-response curve of the DPPH radical scavenging activity of these compounds versus catechin. These results are in agreement with the FRAP assay, where compound dilution (2) exhibited better antioxidant activity than compound (1).

The reducing activity assay is based on the reduction of  $\text{Fe}^{3+}$  in potassium ferricyanide to  $\text{Fe}^{2+}$  which forms a blue complex. The formation of this blue complex is followed at  $\lambda=593$  nm. The greater the reducing activity of the analyte, the higher is the concentration of the complex formed, leading to higher absorbance values. Compound (2) had a reducing effect of  $70.378 \mu\text{g EGA}/\text{mg}$  dry weight and was therefore the most potent compared to compound (1) with a reducing effect of  $66.969 \mu\text{g EGA}/\text{mg}$  dry weight. Compound 3 had no FRAP activity. The strong antioxidant activity of phenolic substances is often attributed to their -OH fragments. They are powerful H donors because they allow the delocalization of electrons through the molecule. This effectively stabilizes the resulting phenoxy radicals. The -OH fragments in the structure of compounds (2) and (1) probably explain their reducing power. Another important characteristic of phenolic compounds and a characteristic of compounds (2) and (1) is the flatness of these molecules, which allows the conjugation and delocalization of electrons. These factors are associated with an increase in radical stability. The intramolecular H bonds between neighboring groups - OH and C=O increase the conjugation of the aromatic ring and increase the H donor power of the molecule (Soo-brattee et al., 2005). Indeed, the resulting radicals have a greater potential for delocalization of electrons. The presence of an unsaturated  $\alpha,\beta$ -carbonyl group in these molecules also increases the antioxidant activity (Gülçin et al., 2005) and is observed in compound

Table 3  
Antioxidant activity by the DPPH and FRAP assays ( $n = 3$ ).

Compounds	Radical scavenging activity		Reducing power FRAP $\mu\text{g EGA}/\text{mg}$ dw
	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	
1	298.00 00 ± 0.12	22,923.07 07 ± 9.23	66.96 96 ± 3.22
2	74.21 21 ± 0.08	5708.46 46 ± 6.15	70.37 37 ± 0.89
3	–	–	–
catechin	13.21 21 ± 0.07	1016.15 15 ± 5.32	318.96 96 ± 2.63

Legend:  $\mu\text{g}/\text{mL}$ : micrograms of sample per milliliter of solution;  $\mu\text{g EGA}/\text{mg dw}$ : equivalent micrograms of gallic acid per milligram dry weight. Data are expressed as mean ± SD; Catechin was used as a reference compound. Statistical differences between catechin and compounds are analyzed with a cutoff value of  $P < 0.05$ .

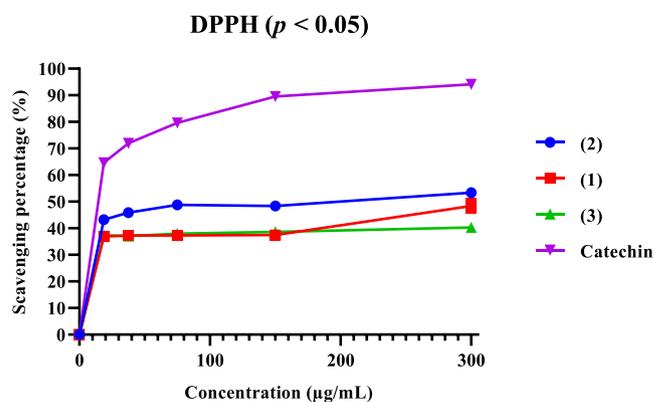


Fig. 2. Effect of isolated compounds [(1), (2), (3)] of *Psorospermum aurantiacum* and Catechin on the scavenging of free radicals DPPH.

(2). The strong antioxidant activity of xanthone (2) can also be attributed to the characteristic structural features mentioned above. The absence of trapping activity observed for compound (3) is due to the fact that the -OH groups are not phenolic. The decrease in the trapping activity observed for compound (1) relative to compound (2) is probably associated with the presence of lipophilic substituents (methoxyl group) in its structure. Compound (1) has only two phenolic hydroxyl groups, then compound (2) has three (Table 3). Due to the lower number of hydroxyl groups available for hydrogen radical donation and free radical stabilization, compound (1) exhibited lower antioxidant activity as evidenced by its higher EC<sub>50</sub> value.

#### 4. Conclusion

A previously unreported xanthonolignoid, 8-hydroxycadensin (1), as well as the known compounds, 1,5,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone (2), betulinic acid (3), 1,7-dihydroxyxanthone (4), betulin (5), lupeol (6) and stigmaterol glucoside (7), have been isolated from the stems of *P. aurantiacum*. These compounds enrich knowledge on the phytochemistry of the plant and provide additional information on possible chemogenetic markers present in this species and have shown the presence of common metabolites found in the Hypericaceae family. The position of this genus within the plant family Hypericaceae and the subfamily Hypericoideae is in good agreement with current results and previous chemotaxonomic analyzes. In addition, the biological activities of some of these compounds against bacterial strains, as well as their antioxidant activity partially justify the use of this plant in the treatment of some infections.

#### Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### CRedit authorship contribution statement

Dénis-Grégoire Téné: Conceptualization, Investigation, Methodology, Writing – original draft. Bintou Abderamane: Writing – review & editing. Michael Hermann Kengne Kamdem: Formal analysis, Resources, Writing – review & editing. Edwin Mpho Mmutlane: Formal analysis, Resources. Derek Tantoh Ndinteh: Supervision, Writing – review & editing. Anastasie Ewola Tih: Supervision, Writing – review & editing. Raphaël Tih Ghogomu: Supervision, Writing – review & editing.

## Acknowledgments

The authors are thankful to the Department of Chemical Sciences, Faculty of Science of the University of Johannesburg, (South Africa) for recording the spectra.

## Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.sajb.2022.07.012.

## References

- Abou-Shoer, M., Suwanborirux, K., Chang, C., Cassady, J.M., 1989. Novel tetrahydrofurobenzofuranoxanthones from *Psorospermum febrifugum*. *Tetrahedron Letters* 30, 3385–3388.
- Ahmad, R., Alfian, N., Nunuk, H.S., Tjodi, H., Ian van, A., 2012. A stigmaterol glycoside from the root wood of *Melochia Umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. *Indonesia Journal of Chemistry* 12, 1.
- Ahwa, K.M., Ioset, J.R., Ioset, K.N., Diallo, D., Mauel, J., Hostettmann, K., 2007. Antileishmanial activities associated with plants used in the Malian traditional medicine. *J Ethnopharmacol* 110, 99–104.
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J., 1999. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Journal of Analytical Biochemistry* 239, 70–76.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181 (4617), 1199–1200.
- Chiedozié, O.E., Modupe, M.A., James, D.H., 2020. Isolation and characterization of betulinic acid from the stem bark of *Feretia canthioides* Hiern and its antimalarial potential. *Bulletin of the National Research Centre* 44, 49.
- Delle, M.G., Botta, B., Oguakwa, J.U., Delle, M.F., 1987a. New vismiones from *Psorospermum tenuifolium*. *The Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* 1, 42–46.
- Delle, M.G., Delle, M.F., Di, B.R., Oguakwa, J.U., 1987b. Chemistry of the *Psorospermum* genus. Part 5. New metabolites from *Psorospermum tenuifolium*. *Phytochemistry* 26, 2611–2613.
- Ekouya, A., Ongoka, P.R., Itoua, B., Ouabonzi, A., Ouamba, J., Diatowa, M., Abena, A.A., 2006. Isolement de trois triterpènes de *Milletia versicolor* Baker. *Journal-Société Ouest Africaine de Chimie* 21, 490–492.
- Gulsen, T., Mehmet, O., Mehmet, E.D., Aziz, T., 2015. Antioxidant and anticholinesterase activities of five wild mushroom species with total bioactive contents. *Pharmaceutical Biology* 53, 824–830.
- Gülçin, I., Alici, H.A., Cesur, M., 2005. Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 53, 281–285.
- Jansen, O., Angenot, L., Tits, M., Nicolas, J.P., De Mol, P., Nikiema, J.B., Frederich, M., 2010. Evaluation of 13 selected medicinal plants from Burkina Faso for their antiplasmodial properties. *The Journal of Ethnopharmacology* 130, 143–150.
- Kouam, S.F., Njonkou, Y.L.N., Kuigoua, G.M., Ngadjui, B.T., Hussain, H., Green, I.R., Schulz, B., Krohn, K., 2010. Psorantin, a unique methylene linked dimer of vismin and kenganthranol E, two anthranoid derivatives from the fruits of *Psorospermum aurantiacum* (Hypericaceae). *Phytochemistry Letters* 3, 185–189.
- Lenta, B.N., Devkota, K.P., Ngouela, S., Fekam, B.F., Naz, Q., Choudhary, M.L., Tsamo, E., Rosenthal, P.J., Sewald, N., 2008. Anti-plasmodial and cholinesterase inhibiting activities of some constituents of *Psorospermum glaberrimum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 56, 222–226.
- Martin, C., Yvette, H., Jean-Michel, O., 2010. The plants of Dom, Bamenda Highlands. Cameroon: a Conservation Checklist. Kew Publishing, Kew, Richmond, p. 97.
- Mativandla, S.P.N., Lall, N., Meyer, J.J.M., 2006. Antibacterial, antifungal and antitubercular activity of (the roots of) *Pelargonium reniforme* (CURT) and *Pelargonium sidoides* (DC) (Geraniaceae) root extracts. *South African Journal of Botany* 72, 232–237.
- Munekazu, I., Hideki, T., Tetsuro, I., Toshiyuki, T., Mohammad, A., 1995. Two prenylated anthrones in *harungana madagascariensis*. *Phytochemistry* 40 (1), 267–271.
- Nargis, J., Melati, K., Sadiq, N.K., Naeem, K., Hasnah, O., 2014. Phytochemicals from the Bark of *Garcinia hombroniana* and their biological activities. *Records of Natural Products* 8 (3), 312–331.
- Pouli, N., Marakos, P., 2009. Fused xanthone derivatives as antiproliferative agents. *Anticancer Agents in Medical Chemistry* 9, 77–98.
- Poumale, H.M.P., Randrianasolo, R., Rakotoarimanga, J.V., Raharisololalao, A., Krebs, H.C., Tchouankeu, J.C., Ngadjui, B.T., 2008. Flavonoid glycosides and other constituents of *Psorospermum androsaemifolium* Baker (Clusiaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 56, 1428–1430.
- Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruom, O.I., Bahoru, T., 2005. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Substitution Mutagenesis*, 579, 200–213.
- Tchakam, P.D., Lunga, P.K., Kowa, T.K., Lonfuo, A.H.N., Wabo, H.K., Tapondjou, L.A., Tane, P., Kuiate, J.R., 2012. Antimicrobial and antioxidant activities of the extracts and compounds from the leaves of *Psorospermum aurantiacum* Engl and *Hypericum lanceolatum* Lam. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 12, 136.
- Tsaffack, M., Nguemeving, J.R., Kuete, V., Le Sage, B., Ndejouong, T.B.L., Mkounga, P., Penlap, B.V., Hultin, P.G., Tsamo, E., Nkengfack, A.E., 2009. Two new antimicrobial dimeric compounds: febrifiquinone, a vismione-anthraquinone coupled pigment and adamabianthrone, from two *Psorospermum* species. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 57, 1113–1118.
- Tiani, G.M., Ishtiaq, A., Krohn, K., Green, I.R., Nkengfack, A.E., 2013. A new anthranol from *Psorospermum aurantiacum*. *Natural Product Communications* 8, 103–104.
- Yu, D.Q., Yang, J.S., 1999. *Analytical Chemistry Handbook*, Part 7, 2nd Edition. Chemical Industry Press, Beijing, p. 835. [M].
- Zubair, M.F., Oladosu, I.A., Olawore, N.O., Fakunle, C.O., 2009a. Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oil of Nigerian *Psorospermum tenuifolium*. *International Journal of Essential Oil Therapeutics* 3, 22–24.
- Zubair, M.F., Olawore, N.O., Oladosu, I.A., 2009b. Biochemical evaluation of the root bark of *Psorospermum corymbiferum*. *Journal of Chemical Society of Nigeria* 34, 30–33155.
- Zubair, M.F., Oladosu, I.A., Olawore, N.O., 2010. Chemical composition of the leaf oil of *Psorospermum corymbiferum* Hochr. Growing in Africa *Journal of Essential Oil Research* 22, 529–530.