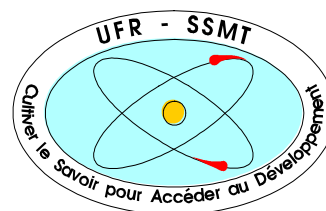




UNIVERSITÉ
Félix HOUPHOUËT-BOIGNY



Unité de Formation et de Recherche des Sciences
des Structure de la Matière et de Technologie

N° d'ordre : **810** / 2013

THESE

Présentée à

L'UFR-SSMT

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE FELIX HOUPHOUËT-BOIGNY ABIDJAN

Option : Chimie Organique Structurale

Par

KASSI AMIAN BRISE BENJAMIN

Maître ès Sciences

**Contribution à l'étude phytochimique
de *Santaloides afzelii* R.Br. (Connaraceae) et
des amandes de *Mangifera indica* Lam (Anacardiaceae)**

Soutenue le 24 Août 2013 devant la commission de jury :

Président : KOUKOUA Gérard

Professeur Titulaire, Université FHB (Abidjan)

Rapporteur : KANKO Coffi

Maître de Conférences, Université FHB (Abidjan)

Rapporteur : SIAKA Sorho

Maître de Conférences, INP-HB (Yamoussoukro)

Directeur : SORO Yaya

Maître de Conférences, INP-HB (Yamoussoukro)

Co-directeur : TOURE Seikou Amadou

Professeur Titulaire, Université FHB (Abidjan)

REMERCIEMENTS

Ce travail de recherche a été effectué dans le Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN) de l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT- BOIGNY (INP-HB) de Yamoussoukro, en collaboration avec le Laboratoire de Chimie Organique Structurale (LACOS) de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan, sous la codirection scientifique des Professeurs SORO Yaya et TOURE Seikou Amadou.

J'exprime ma vive reconnaissance au Professeur SORO Yaya de l'INP-HB de Yamoussoukro, pour m'avoir accueilli dans son groupe de recherche et pour avoir accepté de diriger cette thèse. Vos conseils et critiques m'ont orienté dans mes travaux. Vous avez mis à ma disposition les moyens matériels pour mener à bien ce travail. Je rends hommage au dévouement et à la générosité que vous m'avez toujours manifestés.

Je remercie le Professeur TOURE Seikou Amadou, de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan, pour avoir accepté de co-diriger cette thèse. Vous m'avez fait confiance en acceptant de diriger mon DEA et en co-dirigeant cette thèse. Vous avez non seulement accordé un intérêt particulier à ce projet, mais votre sens du travail bien fait et votre grande ouverture d'esprit, m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je remercie le Professeur KOUKOUA Gérard, de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan, pour avoir accepté de présider le jury de ma soutenance de thèse.

Je remercie les Professeurs KANKO Coffi de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan et SIAKA Sorho de l'INP-HB de Yamoussoukro, pour avoir accepté, malgré leurs multiples occupations de juger ce travail en tant que rapporteurs. Je tiens à leur exprimer ma sincère reconnaissance pour leurs recommandations, critiques, suggestions et grande disponibilité.

Je remercie le Professeur ADJOU Ané, Doyen de l'UFR SSMT de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan, pour ses sages conseils.

Je remercie le Professeur SISOUMA Drissa de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan, Directeur du LACOS, pour ses sages conseils et sa grande disponibilité.

Je remercie le Professeur YAO Benjamin de l'INP-HB de Yamoussoukro, Directeur de LAPISEN, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.

Je remercie le Professeur ADIMA Augustin de l'INP-HB de Yamoussoukro, pour sa sympathie et sa grande disponibilité.

Je remercie les Professeurs DJAKOURE Léon, AHIBO-COFFY Antoine, BAMBA EL Hadj, GOLI Martin, YAO Thomas N'Guessan, TONZIBO Félix, ATTIOUA Barthélemy, KONE Soleymane, enseignants-chercheurs à l'UFR SSMT de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan, pour les enseignements et conseils.

Je remercie le Professeur AKE ASSI Laurent de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan (Centre National Floristique d'Abidjan), pour avoir participé à l'identification de la plante *Santaloïdes afzelii*.

Je remercie les Docteurs ADJE Félix, AW Sadat, GUEU Soumahoro, FANOU Didier, BRITON Bi Gouessé Henri, SORO Doudjo, NIAMKE Florence et Mme AW, enseignants-chercheurs à l'INP-HB de Yamoussoukro, pour les critiques et suggestions apportées à ce travail.

Je remercie les Docteurs AKOUA Philomène, YAPO Denis, BOKA Robert, OUSSOU Raphaël, RAMIARANTSO Harisol, KOFFI Murielle, SIOMENAN Coulibali, YAPI Acafou Thierry et OKPEKON Timothé, Enseignants Chercheurs à l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan, pour leur soutien moral.

Je remercie tous mes amis du LAPISEN que sont messieurs GOLLY Julien, KOFFI Emmanuel, YOBOUET Augustin, KESSE Philipe, ANOHE Jean Baptiste, KANON Guy, TANOHE Firmin, AHON Marcel, TIA Vama Etienne pour leur amitié et leur précieuse aide.

Je remercie tous mes camarades du Laboratoire de Chimie Organique de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan, Séri, Kabran, Florence, Zon, Apka, Molou, Kablan, Diane et Timotou pour leur encouragement.

Notre gratitude va également à l'endroit de tout le personnel du LAPISEN et du LACOS.

Certaines analyses ont été effectuées au Laboratoire “Synthèse et Réactivité des Substances Naturelles” UMR 6514 de l’Université de Poitiers.

Je remercie le professeur Jean Marie COUSTARD, Directeur Adjoint du Laboratoire Synthèse et Réactivité des Substances Naturelles (SRSN), pour avoir fait preuve d’une grande disponibilité dans la détermination des structures moléculaires et pour sa grande générosité à mon égard lors de mes deux stages au sein de son laboratoire.

Je remercie le professeur André AMBLES, Directeur du laboratoire SRSN, pour m’avoir accueilli et soutenu tout au long de mes deux stages au sein du Laboratoire SRSN.

Je remercie aussi messieurs Philippe BERTRAND, Laurent GRASSET, Laurent LEMEE, et mademoiselle Sylvie LU qui, grâce à leurs compétences techniques sur les différents appareils utilisés (HPLC/UV(DAD), LC/MS, GC/MS, RMN), m’ont permis de mener à bien l’identification structurale des molécules.

Je remercie également messieurs Sébastien THIBAUDEAU, Sébastien PAPOT et mesdames Helene CARENE, Claire GUICHARD pour leur soutien.

Enfin, pour leur soutien sans faille et permanent, je tiens à remercier de tout cœur mes parents, mes frères, mes sœurs et mes amis.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

Sigles

AFNOR : Association Française pour la NORmalisation

DFR-GCAA : Département de Formation et de Recherche en Génie Chimique et Agro-Alimentaire

UFR-SSMT : Unité de Formation et de Recherche en Sciences des Structures, de la Matière et de Technologie

INP-HB : Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY

LAPISEN : Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles

LACOS : Laboratoire de Chimie Organique Structurale

Solvants et réactifs

AcOEt : Acétate d'éthyle

AGE : Acides Gras Essentiels

AGPI : Acides Gras Poly Insaturés

BHA : Butylhydroxyanisole

BHT : Butylhydroxytoluène

CDCl₃ : Chloroforme deutérié

CHCl₃ : Chloroforme ou trichlorométhane

CH₂Cl₂ : Dichlorométhane

DMSO-d₆ : Diméthylsulfoxyde deutérié

EtOH : Ethanol

TFA : Acide trifluoroacétique

HCl : Acide chlorhydrique

H₂O : Eau

H₂SO₄ : Acide sulfurique

MeOH : Méthanol

MeOH-d₄ / CD₃OD : Méthanol deutérié

NaCl : Chlorure de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

Techniques chromatographiques

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

FID : Flamme Ionisation Detector (Détecteur par Ionisation de Flamme)

GC-MS : Gaz Chromatography-Mass Spectrometry (Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse)

HPLC : High Performance Liquid Chromatography (Chromatographie Liquide à Haute Performance)

Techniques RMN et attributions

COSY: Correlated Spectroscopy

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Coherence

RMN ¹H : Résonance Magnétique Nucléaire du proton

RMN ¹³C: Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13

δ (ppm): Déplacement chimique exprimé en ppm

J (Hz): Constante de couplage exprimé en Hertz

d : doublet

s : singulet

t : triplet

m : multiplet

ppm: partie par million

Techniques UltraViolette et attributions

DAD: Diode Array Detector

UV: Ultra-Violet

λ_{max}: Longueur d'onde maximale

nm: nanomètre

Techniques de masse et attributions

EI : Electronic Impact (Impact Electronique)

ESI : ElectroSpray Ionization (Ionisation par Electrospray)

HR : Haute Résolution

m/z : masse / charge

Autres abréviations

%A : Pourcentage d'acidité

Cal : Calorie

d : densité

°C : degré Celsius

g : gramme

pH : Potentiel Hydrogène

méq : milliéquivalent

mL : millilitre

M. indica : *Mangifera indica*

S. afzelii : *Santaloïdes afzelii*

DEDICACES

A mes parents

A mes frères et sœurs

A ma fille et ma femme

A tous les membres de ma famille

A mes amis

A mes encadrateurs

Je vous dédie cette thèse

Table des matières

INTRODUCTION	1
PREMIÈRE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	1
CHAPITRE I : DESCRIPTION DES PLANTES ETUDIEES.....	4
I - FAMILLE DES ANACARDIACEAE	4
I-1- Introduction	4
I-2- Présentation du genre <i>Mangifera indica</i>	5
I-3-Etudes antérieures sur l'amande du fruit de <i>Mangifera Indica</i>	10
II : FAMILLE DES CONNARACEAE	11
II-1- Introduction.....	11
II-2- Présentation du genre <i>Santaloïdes afzelii</i>	11
II-3- Travaux scientifiques antérieurs sur la famille des connaraceae	13
CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES DES VEGETAUX.....	18
I- ALCALOÏDES ET COMPOSES AZOTES	19
II- COMPOSES PHENOLIQUES	20
II-1- Flavonoïdes	21
II-2- Acides phénoliques	27
II-3- Tanins.....	29
III- COMPOSES TERPENIQUES.....	33
III-1-Monoterpènes	33
III-2-Sesquiterpènes	34
III-3-Diterpènes	34
III-4-Triterpènes	35
III-5-Tetraterpènes	36
DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES.....	4

CHAPITRE I : MATERIEL.....	36
I-MATERIEL VEGETAL.....	36
I-1-Amandes du noyau de <i>Mangifera indica</i>	36
I-2-Différents organes de <i>Santaloïdes afzelii</i>	36
II-MATERIEL DE LABORATOIRE	37
II-1- Colonne Chromatographique CC.....	37
II-2- Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).....	37
II-3- Couplage GC-MS.....	37
II-4- Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	37
II-5- Ultraviolet (UV).....	37
II-6- Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	37
CHAPITRE II: METHODES	38
I-EXTRACTION.....	38
II-SCREENING PHYTOCHIMIQUE	39
II-1-Test de détection des polyphénols	39
II-2- Test de détection des alcaloïdes	40
II-3- Test de détection des quinones	41
II-4-Test de détection des saponines	41
II-5- Test de détection des stérols et terpènes	41
III-ANALYSES COLORIMETRIQUES DES ECHANTILLONS	42
III-1- Polyphénols totaux	42
III-2- Flavonoïdes totaux.....	42
IV- METHODES CHROMATOGRAPHIQUES	42
IV-1- Chromatographie sur couche mince	42
IV-2- Chromatographie liquide haute performance	43
IV-3- Chromatographie sur colonne ouverte	44

IV-4- Chromatographie en Phase Gazeuse	44
IV-5- Couplage Chromatographie en phase Gazeuse-Spectrométrie de Masse.....	45
V- METHODES PHYSICO-CHIMIQUES	45
V-1-Recristallisation	45
V-2- Spectrométrie de masse	46
V-3- Spectrophotométrie UV-visible	46
V-4- Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire.....	46
V-5-Caractéristiques physico-chimiques des huiles et beurres.....	47
V-6-Hydrolyse acide des flavonoïdes O-glycosylés	52
V-7-Hydrolyse basique des lipides	53
V-8-Méthylation des acides gras.....	54
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION	36
CHAPITRE I : ANALYSES PHYTOCHIMIQUES	55
I-EXTRACTION.....	55
II-SCREENING PHYTOCHIMIQUE	56
II-1- Screening phytochimique des feuilles, écorces et graines de <i>Santaloïdes afzelii</i>	56
II-2- Screening phytochimique des tourteaux d'amandes de <i>Mangifera indica</i>	56
III-TESTS COLORIMETRIQUES	57
IV-ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE <i>Mangifera indica</i>	58
IV-1-Etude de l'huile de l'amande.....	58
IV-2-Etude de l'extrait à l'acétate d'éthyle.....	71
V-ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE <i>Santaloïdes afzelii</i>	81
V-1-Etude de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles	81
V-2-Etude de l'extrait à l'acétate d'éthyle des graines	90
V-3-Etude de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces.....	99
V-4-Etude de l'extrait éthanolique des feuilles.....	106

V-5-Etude de l'extrait au dichlorométhane des feuilles.....	110
V-6-Etude de l'extrait au dichlorométhane des écorces.....	124
V-7-Etude de l'extrait au dichlorométhane des graines	131
CHAPITRE II : ACTIVITES BIOLOGIQUES	133
I-ACTIVITES ANTIBACTERIENNES	133
I-1-Test d'efficacité des substances	133
I-2-Détermination de la CMI et CMB de quelques métabolites secondaires isolés.....	134
II-ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	135
CONCLUSION	138

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Photographie du fruit de <i>M. indica</i>	7
Figure 2: Photographie des feuilles et graines de <i>S. afzelii</i>	13
Figure 3: Structures de quelques cycles d'alcaloïdes	19
Figure 4: Squelette de base des flavonoïdes.....	21
Figure 5: Schéma de la biosynthèse des flavonoïdes	22
Figure 6: Structure de base de quelques flavonoïdes	23
Figure 7: Schéma biosynthétique des grandes classes d'isoflavonoïdes et leurs inter-conversions.....	25
Figure 8: Structures de quelques acides hydroxybenzoïques et de l'acide benzoïque	27
Figure 9: Structures de quelques acides hydroxycinnamiques et de l'acide cinnamique	28
Figure 10: Structure des dimères du type B	33
Figure 11: Structures de quelques monoterpènes.....	34
Figure 12: Structures de quelques sesquiterpènes.....	34
Figure 13: Structures de quelques diterpènes.....	35
Figure 14: Structures de quelques triterpènes	35
Figure 15: Structures de deux tetraterpènes	36
Figure 16: Photographie des étapes d'obtention des noyaux de mangue.....	36
Figure 17: Schéma d'extraction et de fractionnement des métabolites secondaires.....	38
Figure 18: Schéma de la réaction d'hydrolyse des triglycérides.....	53
Figure 19: Chromatogramme GC des insaponifiables de l'amande de <i>Mangifera indica</i>	64
Figure 20: Chromatogramme GC des acides gras de l'amande de <i>Mangifera indica</i>	67
Figure 21 : Chromatogramme HPLC de l'extrait à l'AcOEt de l'amande de <i>M.indica</i> à 280 nm	71
Figure 22: Schéma de purification de l'extrait à l'AcOEt de l'amande <i>M. indica</i>	73
Figure 23: CCM du suivi de fractionnement de l'extrait à l'AcOEt de l'amande de <i>M. indica</i> sur gel de silice (par fluorescence sous UV à 254 nm)	73
Figure 24 : Spectre COSY du composé 3 dans le méthanol-d4	79

Figure 25: Spectre HSQC du composé 3 dans le méthanol-d4	80
Figure 26: Chromatogramme HPLC de l'extrait à l'AcOEt des feuilles de <i>S. afzelii</i> à 280 nm	82
Figure 27: Schéma de purification de l'extrait à l'AcOEt des feuilles de <i>S. afzelii</i>	83
Figure 28: Analyse HPLC / UV du fractionnement de l'extrait à l'AcOEt de <i>S. afzelii</i>	84
Figure 29: Spectre HMBC du composé 4 dans le MeOH-d4	86
Figure 30: Spectre HMBC du composé 5 dans le DMSO-d6	89
Figure 31: Chromatogramme HPLC de l'extrait à l'AcOEt des graines de <i>S. afzelii</i> à 280 nm	91
Figure 32: Schéma de purification sur gel de silice de l'extrait à l'AcOEt des graines de <i>S. afzelii</i>	92
Figure 33: Schéma de purification sur séphadex de l'extrait à l'AcOEt des graines de <i>S. afzelii</i>	92
Figure 34: Spectre COSY du composé 6 dans le DMSO-d6	95
Figure 35: Spectre HSQC du composé 6 dans le DMSO-d6	96
Figure 36: Spectre HMBC du composé 6 dans le DMSO-d6	97
Figure 37 : Chromatogramme HPLC de l'extrait à l'AcOEt des écorces de <i>S. afzelii</i> à 280 nm	99
Figure 38: Schéma de purification de l'extrait à l'AcOEt des écorces de <i>S. afzelii</i>	100
Figure 39: Suivi du fractionnement par HPLC de l'extrait à l'AcOEt des écorces de <i>S. afzelii</i>	100
Figure 40: Spectres RMN ¹ H des composés 6 et 7 dans le DMSO-d6	102
Figure 41: Spectre COSY du composé 7 dans le MeOH-d4	103
Figure 42: Spectre HSQC du composé 7 dans le MeOH-d4	103
Figure 43: Schéma de purification de l'extrait EtOH de <i>S. afzelii</i>	106
Figure 44: Suivi du fractionnement de l'extrait EtOH de <i>S. afzelii</i> par CCM	106
Figure 45: Spectre COSY du composé 8 dans le MeOH-d4	108
Figure 46: Spectre HSQC du composé 8 dans le MeOH-d4	109
Figure 47: Schéma de purification de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ des feuilles de <i>S. afzelii</i>	110

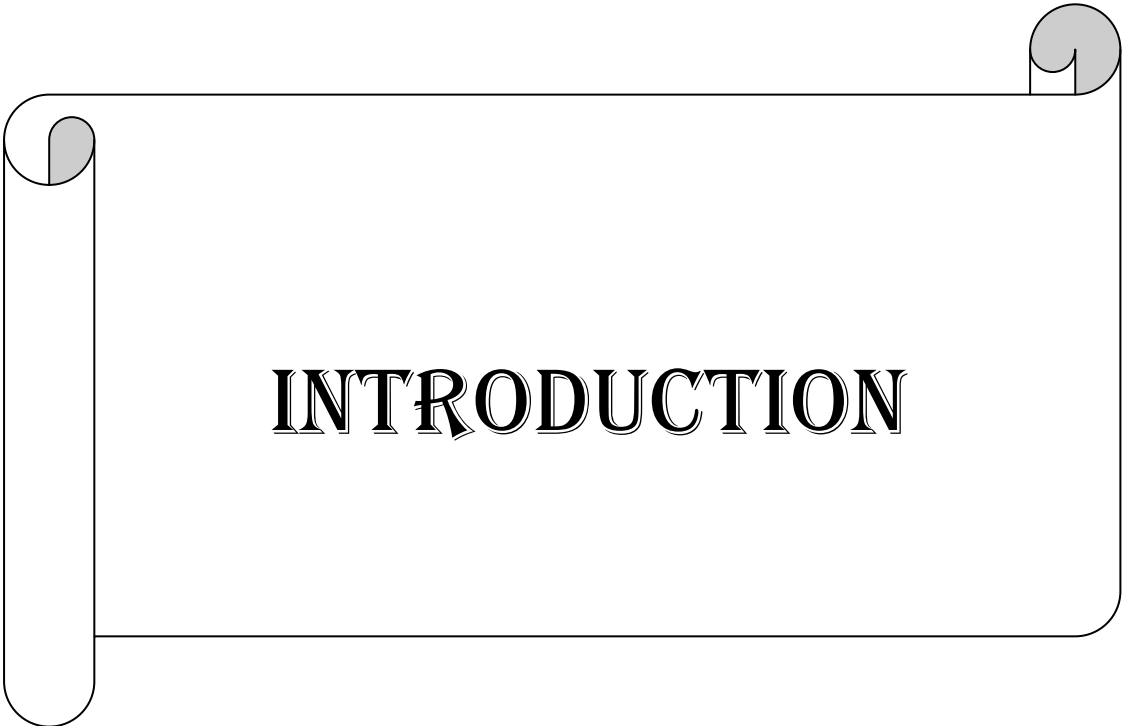
Figure 48: Spectre RMN ^1H du composé 9 dans le CDCl_3	111
Figure 49: Spectre RMN ^{13}C du composé 9 dans le CDCl_3	112
Figure 50: Spectre DEPT 135 du composé 9 dans le CDCl_3	112
Figure 51: Chromatogramme GC de la fraction F2 des feuilles de <i>S. afzelii</i>	114
Figure 52: Chromatogramme GC de la fraction F4 des feuilles de <i>S. afzelii</i>	114
Figure 53: Spectre de masse du composé 12.....	115
Figure 54: Spectre de masse du composé 17.....	116
Figure 55: Spectre de masse du composé 18.....	118
Figure 56: Spectre de masse du composé 19.....	119
Figure 57: Spectre de masse du composé 20.....	120
Figure 58: Spectre de masse du composé 21.....	121
Figure 59: Schéma de purification de l'extrait au CH_2Cl_2 des écorces de <i>S. afzelii</i>	124
Figure 60: Spectre RMN ^1H du composé 22 dans le CDCl_3	126
Figure 61: Spectre RMN ^{13}C du composé 22 dans le CDCl_3	127
Figure 62: Spectre RMN DEPT 135 du composé 22 dans le CDCl_3	127
Figure 63: Spectre HMBC du composé 22 dans le CDCl_3	128
Figure 64: Spectre HSQC du composé 22 dans le CDCl_3	129
Figure 65: Spectre COSY du composé 22 dans le CDCl_3	129
Figure 66: Schéma de purification de l'extrait au CH_2Cl_2 des graines de <i>S. afzelii</i>	131
Figure 67: Chromatogramme GC de la fraction G6 de l'extrait au CH_2Cl_2 des graines de <i>S. afzelii</i>	131
Figure 68: Le chromatogramme CCM des fractions polaires des amandes de <i>Mangifera indica</i> présentant une activité antioxydante avec le DPPH.	136
Figure 69: Les chromatogrammes CCM des extraits de feuilles, écorces et graines de <i>Santaloïdes afzelii</i> présentant une activité antioxydante avec le DPPH.	137
Figure 70: Spectre RMN ^{13}C du composé 1 dans du méthanol- d_4	a
Figure 71: Spectre RMN ^1H du composé 1 dans du méthanol- d_4	b
Figure 72: Spectre RMN ^{13}C du composé 2 dans le méthanol- d_4	c

Figure 73 : Spectre RMN ^1H du composé 2 dans le méthanol- d_4	c
Figure 74: Spectre RMN ^1H du composé 3 dans le méthanol- d_4	d
Figure 75: Spectre RMN ^{13}C du composé 3 dans le méthanol- d_4	d
Figure 76 : Spectre DEPT 135 du composé 3 dans le méthanol- d_4	e
Figure 77: Spectre RMN ^1H du composé 4 dans le DMSO- d_6	f
Figure 78: Spectre RMN ^{13}C du composé 4 dans le MeOH- d_4	g
Figure 79: Spectre RMN ^1H du composé 5 dans le MeOH- d_4	h
Figure 80: Spectre RMN ^{13}C du composé 5 dans le MeOH- d_4	i
Figure 81: Spectre RMN ^1H du composé 6 dans le DMSO- d_6	j
Figure 82: Spectre DEPT 135 du composé 6 dans le DMSO- d_6	j
Figure 83: Spectre RMN ^{13}C du composé 6 dans le DMSO- d_6	k
Figure 84: Spectre RMN ^{13}C du composé 7 dans le MeOH- d_4	l
Figure 85: Spectre DEPT 135 du composé 7 dans le MeOH- d_4	m
Figure 86: Spectre RMN ^1H du composé 8 dans le MeOH- d_4	m
Figure 87: Le spectre RMN ^{13}C du composé 8 dans le MeOH- d_4	n
Figure 88: Spectre RMN DEPT 135 du composé 8 dans le MeOH- d_4	n
Figure 89: Photographie de la UV / Visible	q
Figure 90: Photographie de la LC / MS	q
Figure 91: Photographie de la HPLC	r
Figure 92: Photographie de la GC / MS	r
Figure 93: Photographie de la RMN	s

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Position de <i>M. indica</i> dans la systématization	5
Tableau 2: Quelques noms africains de <i>M. indica</i>	5
Tableau 3: Position de <i>S. afzelii</i> dans la systématique	11
Tableau 4: Quelques noms africains de <i>S. afzelii</i>	12
Tableau 5: Quelques origines de flavonoïdes et isoflavonoïdes	26
Tableau 6: Quelques origines des acides phénoliques	29
Tableau 7: Quelques tanins hydrolysables et leurs origines	30
Tableau 8: Quelques terpènes issus du règne végétal	36
Tableau 9: Résultats des extractions et fractionnements des deux plantes	55
Tableau 10: Screening phytochimique de <i>Santaloïdes afzelii</i>	56
Tableau 11 : Screening phytochimique de l'amande de <i>Mangifera indica</i>	57
Tableau 12: Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux des plantes étudiées	57
Tableau 13: Caractéristiques physico-chimiques des beurres et huiles d'amandes de dix variétés de mangues	59
Tableau 14: Caractéristiques physico-chimiques des beurres d'amandes de mangues comparées à celles d'autres beurres couramment utilisés en Côte d'Ivoire	60
Tableau 15: Caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'amande de mangue (Kent) comparées à celles d'autres huiles couramment utilisées en Côte d'Ivoire	60
Tableau 16: Composition en insaponifiables majeurs des beurres et huiles d'amandes de mangues	65
Tableau 17: Composition en acides gras majeurs des beurres et huiles de l'amande de mangues	67
Tableau 18: Teneurs en acides gras des beurres et huiles d'amande de huit variétés de mangues comparées à celles de grande consommation en Côte d'Ivoire	69
Tableau 19: Caractéristiques HPLC et UV/vis de la fraction AcOEt de l'amande de mangue	72
Tableau 20: Caractéristiques en RMN ¹ H, ¹³ C et DEPT 135 du composé 1 dans le méthanol-d ₄	75
Tableau 21: Caractéristiques en RMN ¹ H, ¹³ C et DEPT 135 du composé 2 dans le méthanol-d ₄	76

Tableau 22: Caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé 3 dans le méthanol- d_4	81
Tableau 23: Caractéristiques HPLC et UV/vis de l'extrait à l'AcOEt des feuilles de <i>S. afzelii</i>	82
Tableau 24: Caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé 4 dans le DMSO- d_6	87
Tableau 25: Caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé 5 dans le DMSO- d_6	90
Tableau 26: Caractéristiques HPLC et UV/vis de l'extrait AcOEt des graines de <i>S. afzelii</i>	91
Tableau 27: Caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé 6 dans le DMSO- d_6	98
Tableau 28: Caractéristiques HPLC et UV/vis de l'extrait AcOEt des écorces de <i>S. afzelii</i>	99
Tableau 29: Déplacements chimiques du composé 7 dans le MeOH- d_4	105
Tableau 30: Caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé 8 dans du MeOH- d_4	109
Tableau 31: Déplacements chimiques du composé 9 dans le CDCl_3	113
Tableau 32: Résultat de l'analyse GC/SM de la fraction F2 des feuilles de <i>Santaloïdes afzelii</i>	122
Tableau 33: Résultat de l'analyse GC/SM de la fraction F4 des feuilles de <i>Santaloïdes afzelii</i>	123
Tableau 34: Déplacements chimiques du composé 22 dans le CDCl_3	130
Tableau 35: Résultats de l'analyse GC/SM de la fraction G6 de l'extrait au CH_2Cl_2 des graines de <i>S. afzelii</i>	132
Tableau 36: Résultat des tests d'efficacité des extraits totaux.....	134
Tableau 37: Résultats de la CMI, CMB et du rapport CMB/CMI des composés 1, 3 et 4	134



INTRODUCTION

Depuis quelques années, le développement durable s'inscrit dans les débats publics et politiques. C'est un développement qui répond aux besoins du présent sans compromettre la capacité des générations futures à répondre à leurs propres besoins. Ce concept représente un nouveau défi pour la recherche scientifique [1] et s'articule autour de grands axes thématiques tels que la sécurité alimentaire, l'énergie, la santé et l'environnement.

La flore tropicale, riche et diversifiée contient une multitude de plantes qui contribuent à la satisfaction des besoins nutritionnels, médicaux et à l'activité économique des populations [2]. La connaissance et la gestion de cette biodiversité végétale sont des composantes importantes de sa durabilité dont dépendent, directement ou indirectement, les sociétés humaines, et donc le développement durable [1]. L'étude des plantes possédant des propriétés potentiellement valorisables dans les domaines médical et alimentaire est d'actualité.

Dans le domaine médical, le phénomène d'effet secondaire des produits pharmaceutiques et la résistance des bactéries face aux antibiotiques, représentent un frein au développement. Ainsi, l'utilisation des produits naturels bioactifs, comme solution est d'actualité. Conscient de ce fait, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) mène un programme de promotion et de développement des médicaments traditionnels utilisés par plus de 80% de la population du tiers-monde [3]. Aujourd'hui, la médecine traditionnelle, qui utilise les plantes dans les soins, est en expansion mais l'insuffisance de bases scientifiques limite l'usage de certaines plantes.

Dans le domaine alimentaire, pour faire face à la crise alimentaire qui secoue le monde entier depuis quelques années, la valorisation de nos matières premières agricoles s'impose. Ainsi, plusieurs études menées sur les huiles végétales ont montré qu'elles sont riches en acides gras essentiels que l'organisme ne peut synthétiser [4, 5].

Face à ce défi, deux ressources naturelles insuffisamment valorisées, ont particulièrement retenu notre attention. Ce sont *Santaloides afzelii* et les amandes de *Mangifera indica*.

Mangifera indica (la mangue), cultivée pour sa douce saveur, constitue une alternative importante en agro-industrie à cause de sa composition physico-chimique et de ses propriétés nutritionnelles [6, 7]. Plusieurs études réalisées sur différents organes de *M. indica* (feuilles, racines, écorces, fleurs, fruits) ont montré leurs richesses en métabolites secondaires [8-10].

Son noyau, après l'extraction de la pulpe, est généralement abandonné dans la nature, constituant ainsi un déchet agricole et posant un problème de salubrité. Des études réalisées sur l'amande du fruit de *M. indica* ont montré la présence de composés polyphénoliques [11], connus pour leurs vastes domaines d'activités biologiques. Cependant, très peu d'études ont été réalisées sur les espèces de Côte d'Ivoire à notre connaissance. C'est ce qui justifie le choix de son étude afin de mieux le valoriser.

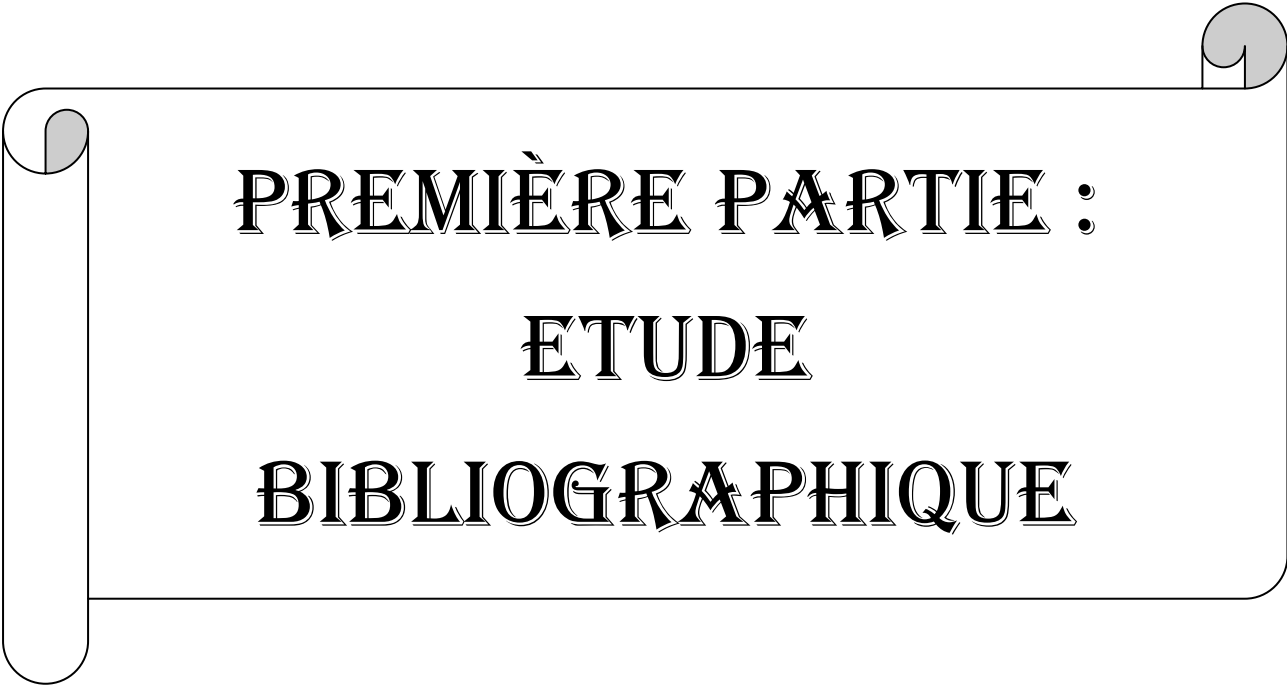
Les études chimiques réalisées sur la famille des Connaraceae, ont montré leurs richesses en triterpènes [12] et en composés phénoliques notamment les flavonoïdes [13]. Ces derniers sont largement présents dans le règne végétal et représentent une catégorie très importante de métabolites secondaires avec de multiples propriétés biologiques. Dans les pays tropicaux, en particulier en Côte d'Ivoire, l'espèce *Santaloïdes afzelii*, qui appartient à la famille des Connaraceae, est souvent employé pour le traitement de divers maux [14, 15] tels que les maux de ventre et les douleurs musculaire [19] et pour ses propriétés médico-magiques [16], aphrodisiaques et analgésiques [19]. Cependant, cette plante n'a jamais fait l'objet d'étude phytochimique à notre connaissance.

C'est dans ce contexte que le Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN) de l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT- BOIGNY (INP-HB) de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire) en collaboration avec le Laboratoire de Chimie Organique Structurale de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (Ex Université de Cocody-Abidjan) (Côte d'Ivoire) a entrepris ce projet intitulé **«Contribution à l'étude phytochimique de *Santaloïdes afzelii* R.Br. (Connaraceae) et des amandes de *Mangifera indica* Lam (Anacardiaceae)»**.

Cette étude a pour objectif la valorisation de la biodiversité végétale peu ou sous-utilisée par les communautés rurales de Côte d'Ivoire. Ce projet de recherche vise à caractériser les extraits totaux et/ou fractions des organes sélectionnés de ces deux plantes, à établir la structure moléculaire des métabolites secondaires et à évaluer les activités antibactérienne et antioxydante de quelques composés isolés.

Ce travail de thèse s'articule autour de trois parties. La première partie, consacrée à la revue bibliographique, aborde les généralités sur les plantes retenues et les métabolites secondaires. La deuxième partie présente le matériel végétal et les méthodes utilisées pour le screening phytochimique, les analyses colorimétriques, l'extraction ainsi que les méthodes

chromatographiques, spectrales et physicochimiques. La troisième partie présente les résultats obtenus sur la caractérisation physicochimique, le screening phytochimique, dosage des polyphénols et l'étude phytochimique des plantes étudiées suivis de leur discussion.

A decorative scroll frame with a light gray background and a black border. The frame has rounded corners and a vertical strip on the left side. The text is centered within the frame.

PREMIÈRE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : DESCRIPTION DES PLANTES ETUDIEES

Dans cette étude, les plantes étudiées sont *Mangifera indica* Lam. (Anacardiaceae) et *Santaloïdes afzelii* R.Br. ex Planch (Connaraceae).

Ces deux plantes sont des angiospermes (*Magnoliophyta*) selon la classification de Cronquist [17]. Elle est la dernière version des classifications majeures basées essentiellement sur des critères morphologiques, anatomiques et chimiques. Elle est encore utilisée dans de nombreux ouvrages et bases de données comme le Système d'Information Taxonomique Intégré (ITIS). Selon la classification de Cronquist 1981, les Anacardiaceae et les Connaraceae sont issues de la même sous-classe des Rosidae.

I - FAMILLE DES ANACARDIACEAE

I-1- Introduction

La famille des Anacardiaceae comprend 600 espèces réparties en 70 genres. Ce sont des arbres ou des arbustes des régions tempérées [18].

Les Anacardiaceae sont des dicotylédones appartenant à l'ordre des Sapindales, qui comprend également les Staphyleaceae, Melianthaceae, Bretschneideraceae, Akaniaceae, Sapindaceae, Hippocastanaceae, Aceraceae, Burseraceae, Julianiaceae, Simaroubaceae, Cneoraceae, Meliaceae, Rutaceae et Zygophyllaceae [17].

Parmi les Anacardiaceae, on trouve les genres suivants :

- *Anacardium*, avec l'anacardier qui fournit la noix de cajou ;
- *Mangifera*, avec le manguier qui produit les mangues ;
- *Pistacia*, avec le pistachier, qui donne les pistaches ;
- *Rhus*, avec les sumacs d'où on tire des vernis.

Selon le rapport de la FAO publié en 2002, le fruit de *Mangifera indica* et *Anacardium occidentale* (noix de cajou) sont parmi les Anacardiaceae les plus commercialisés au monde [188].

I-2- Présentation du genre *Mangifera indica*

I-2-1- Classification systématique

La position de *M. indica* dans la systématique est donnée dans le tableau 1.

Tableau 1: Position de *M. indica* dans la systématisation

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida (Dicotylédones)</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Anacardiaceae</i>
Genre	<i>Mangifera</i>
Espèce	<i>Indica</i>

I-2-2- Noms africains

Quelques noms africains de *M. indica* sont donnés dans le tableau 2.

Tableau 2: Quelques noms africains de *M. indica*

Pays	Ethnies	Noms
ANTILLES	Créole	Mangove
BENIN	Fon ; Goun	Manga ; mangatin
CONGO	Akwa	Onmangourou
	Laali	Moumago ; Manga
CÔTE D'IVOIRE	Baoulé	Amango
	Malinké	Mangoro
GABON	Apindji	Wéba-montanga
NIGERIA	Yoruba	Mangoro
MALI	Bambara	Mâgoro
TOGO	Ewé	Mangoti

I-2-3-Origin et distribution

La mangue fut mentionnée pour la première fois dans les écritures hindoues datant de 4 000 ans avant Jésus Christ. Elle est originaire des collines se trouvant au pied de l'Himalaya entre l'Inde et la Birmanie [20]. Quarante à soixante espèces de cette variété sauvage poussent encore en Inde et en Asie du sud-est. Ces fruits sont de petites tailles avec une texture très fibreuse et un goût très prononcé de térébenthine [21].

Des moines bouddhistes auraient exporté des plants de manguiers lors de leurs voyages en Malaisie et en Asie de l'est aux IV^e et V^e siècles avant Jésus Christ. Les Perses les auraient ensuite introduits en Afrique au X^e siècle. Vers le XVI^e siècle, les Portugais ont largement contribué à répandre la culture du manguier dans le reste du monde tropical.

I-2-4-Description botanique

Le manguier (*M. indica*) appartient à la même famille que le pistachier et l'anacardier. C'est un arbre sempervirent, aux feuilles longues et lancéolées. Les jeunes feuilles délicates sont de couleur bronze alors que les anciennes sont coriaces, brillantes et vert-foncées. Les panicules terminales regroupent plusieurs milliers de petites fleurs jaunâtres ou rosées à cinq pétales. Lors de chaque inflorescence, seules quelques fleurs se transforment en fruits. Les manguiers atteignent leur pleine production vers l'âge de 10 ans et peuvent produire de façon rentable durant une bonne vingtaine d'années, l'arbre pouvant vivre plus de 100 ans et atteindre 10 à 30 mètres de haut [21, 22].

I-2-5-Fruit

La mangue (figure 1), fruit du manguier est l'un des fruits tropicaux les plus comestibles après la banane, l'ananas, la papaye et l'avocat. Elle est connue dans le monde entier pour sa saveur incomparable. On la trouve sous des formes et des tailles très variées : ronde, ovale, allongée, plate ou en forme de cœur. Elle mesure 5 à 15 cm de large sur 7 à 25 cm de long. Son poids est compris entre 150 g et 2 kg. Sa peau est résistante, lisse et parfumée, et se revêt de jaune, d'orange, de rouge, de vert, de vert-rosé ou de plusieurs de ces quatre couleurs à la fois selon la variété et la maturité. La pulpe est charnue, juteuse, sucrée, légèrement acidulée et parfois fibreuse [22].



Figure 1: Photographie du fruit de *M. indica*

Avec un apport énergétique de 60 Cal pour 100g, la mangue est moins calorique que le raisin (72 Cal), la cerise (68 Cal) et le kaki (64 Cal). Sa chair renferme en moyenne 14,3g de glucides pour 100g, mais cette teneur peut parfois dépasser 20g selon le degré de maturité. Les glucides de la mangue sont constituées en moyenne de 73% de saccharose, 20% de fructose, 5% de glucose, ainsi que de sucres complexes en quantités minimales. Les protéides et les lipides sont très peu abondants, comme dans la plupart des fruits frais. Leurs valeurs sont respectivement de 0,6 et 0,1g pour 100g. Le goût acidulé de la mangue est dû à la présence d'une faible quantité d'acide citrique, et sa teneur en eau dépasse 83%. Dans la mangue, deux vitamines sont présentes en quantité importante : la provitamine A (importante notamment pour la vision et la peau) et la vitamine C. Les minéraux les plus abondants sont le potassium (150mg/100g) et le fer qui atteint la teneur remarquable de 1,2mg pour 100g, alors que, dans les autres fruits, celle-ci dépasse rarement 0,4mg [23].

Au cœur du fruit, se trouve un noyau plus ou moins plat et réniforme contenant une amande qui représente environ 15% du fruit et protégée par une enveloppe ligneuse blanche. Anigbogu et ses collaborateurs ont montré, en 2006, que ces amandes séchées, peuvent être incorporées jusqu'à 45% dans l'alimentation des agneaux en croissance. Cette incorporation augmente la croissance de 28% (de 951g à 1225g de matière sèche /jour) [24].

I-2-6-Marché mondial de la mangue

Selon les données de la FAO [188], la mangue occupe la sixième place dans la production fruitière mondiale, après l'orange, la banane, le raisin, la pomme et la banane plantain. En termes d'évolution, la production de mangue a augmenté de 50% approximativement entre 1990 et 2001, ce qui plaçait la mangue devant l'avocat et l'ananas dont les taux de croissance au cours de la même période étaient respectivement de 30% et 22%. Les principaux pays producteurs mondiaux de mangues sont l'Inde avec près de 46% de la production mondiale, suivie de la Chine (12,8%), du Mexique (6%) et de la Thaïlande (5,4%).

Selon la FAO, le principal pays exportateur de mangue est le Mexique, avec plus 200 000 tonnes par an, soit 30% du marché mondial. Le second est le Brésil, avec 9,3% des parts de marché. Il est suivi du Pakistan puis des Philippines. L'Inde, premier producteur mondial, n'occupe que la cinquième place. En Afrique, les deux pays les plus présents sur le marché mondial de la mangue sont la Côte d'Ivoire et l'Afrique du Sud qui occupent successivement la 11^{ème} et 9^{ème} place dans le classement des exportateurs mondiaux [188].

En Côte d'Ivoire, la principale région de production de mangue est la région de Korhogo (Nord) à environ 650 km d'Abidjan. D'autres zones de production existent, mais elles sont encore peu exploitées en raison de la forte pluviométrie, propice à l'apparition de maladies (anthracnose). De nombreuses variétés de mangues sont produites, la plus commercialisée est la variété Kent. Les récoltes commencent en mars et vont jusqu'en juillet [25].

I-2-7-Vertus thérapeutiques

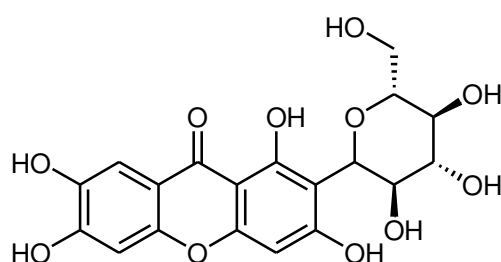
De nombreuses recherches effectuées sur différentes parties de *M. indica* ont indiqué que cette plante possède un nombre important de propriétés pharmacologiques [22]. Les fruits combattent le scorbut mais provoquent de violentes diarrhées lorsqu'on en consomme abondamment. Pulvérisés, les noyaux sont recommandés en cas de diarrhées et d'hémorroïdes. Les fleurs livrent des remèdes pour le cœur, contre les vers et la dysenterie. Les feuilles sont administrées en cas de fièvre et sont diurétiques. Grâce à sa haute teneur en tanins, la décoction des feuilles agit contre les maux de la gorge, de la bouche et des dents ainsi contre l'asthme, la blennorragie, la dysenterie et la bronchite. Elles fournissent une teinture jaune. L'écorce a aussi de nombreuses vertus curatives contre la dysenterie, la blennorragie, les rhumatismes et les hémorroïdes [22].

Les extraits riches en substances polyphénoliques des écorces de *M. indica* ont montré *in vitro* une activité anti-amibienne sur *Entamoeba histolytica* [26]. L'extrait à l'éther de pétrole d'écorces a présenté une activité insecticide sur *Rhodnius neglectus* [27]. L'extrait à l'éthanol 95 % des feuilles séchées de *M. indica* a présenté une activité antibactérienne sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* [28]. L'extrait obtenu après digestion aqueuse de feuilles est actif sur *Sarcinia lutea* et *Staphylococcus aureus* [29]. L'extrait au méthanol d'écorces est actif sur *Klebsiella pneumonia* et *Staphylococcus aureus* avec une CMI de 125 µg/mL [30]. L'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *M. indica* a montré de réelles activités analgésiques et anti-inflammatoires dues à la présence de substances polyphénoliques [31]. L'extrait au méthanol de l'écorce de la tige a montré une puissante activité anti-oxydante due à la présence de mangiférine [32] et une activité anticancéreuse [33].

I-2-8- Données phytochimiques

La revue de la littérature scientifique montre que *Mangifera indica* a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques. Tous les organes de la plante ont été analysés.

Anjaneyulu et ses collaborateurs ont isolé des racines de *M. indica*, des triterpénoïdes [10]. On retrouve dans les tiges des tanins, des pigments de type xanthone tel que la mangiférine [9]. Dans le fruit, les familles de substances isolées sont nombreuses : hydrocarbures, esters, aldéhydes et cétones, alcools et lactones [8]. La peau de mangue a montré une bonne activité antioxydante due à la présence de polyphénols et de flavonoïdes [34].



Mangiférine

En fait, parmi les fruits tropicaux, la mangue mûre renferme une quantité importante de composés phénoliques [35]. La mangue est également caractérisée par sa teneur élevée en mangiférine et en gallotanins, composés phénoliques faisant partie de la famille des xanthones et des tanins [36].

I-3-Etudes antérieures sur l'amande du fruit de *Mangifera Indica*

La mangue, cultivée pour sa douce saveur, constitue une alternative importante de résidus agro-industriels à cause de sa composition physico-chimique et de ses propriétés nutritionnelles [37]. Son noyau est généralement abandonné dans la nature, posant un problème de salubrité, alors qu'il possède plusieurs propriétés biologiques : anti-diarrhéique [38], antibactérienne [39] et antioxydante [37].

En 2008, Riberio et Barbosa ont montré que l'extrait hydro-alcoolique de l'amande de mangue est riche en composés phénoliques [11], substances que l'on retrouve dans les aliments d'origine végétale. Les polyphénols que l'on rencontre dans les amandes sont: les acides phénoliques [40], l'acide éllagique [41], les xanthones-C-glycosides, les gallotanins [40] et la benzophénone [42].

L'extrait à l'éthanol de l'amande de mangue a montré des activités antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et antalgiques [43].

II : FAMILLE DES CONNARACEAE

II-1- Introduction

La famille des Connaraceae est une famille de plantes dicotylédones qui comprend 300 à 350 espèces réparties en 3 à 12 genres. Ce sont des arbres, des arbustes ou le plus souvent des lianes des zones tropicales [18].

La famille des Connaraceae regroupe un nombre très important de genres ou sous-familles. On distingue les genres *Agelaea* (*Agelaea trinervis*), *Byrsocarpus* (*Byrsocarpus coccineus*), *Connarus* (*Connarus championii* et *Connarus conchocarpus*), *Rourea* (*Rourea minor*), *Santaloïdes* (*Santaloïdes afzelii*), *Cnestis* (*Cnestis palaba*, *Cnestis ferruginea* et *Cnestis glabra*), *Manotes* (*Manotes longiflora*), *Ellipanthus*, *Hemandradenia*, *Jollydora*, genre *Pseudoconnarus*, genre *Vismianthus*.

En Côte d'Ivoire, sont représentés les genres : *Connarus*, *Agelaea*, *Manotes*, *Cnestis*, *Byrsocarpus*, *Santaloïdes* [44]. Le genre *Santaloïdes afzelii* se rencontre dans les villes Korhogo, Boundiali et Toumodi [45].

II-2- Présentation du genre *Santaloïdes afzelii*

II-2-1- Classification systématique

La position de *Santaloïdes afzelii* dans la systématique est donnée par le tableau 3.

Tableau 3: Position de *S. afzelii* dans la systématique

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida (Dicotylédones)</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Rosales</i>
Famille	<i>Connaraceae</i>
Genre	<i>Santaloïdes</i>
Espèce	<i>Afzelii</i>

II-2-2-Noms africains

Quelques noms africains de *S. afzelii* sont donnés dans le tableau 4.

Tableau 4: Quelques noms africains de *S. afzelii*

Pays	Ethnies	Noms
DAHOMÉY	Batonnun	Marisoma ou Sessenfergu
	gbe-fon	Ganganrissé
GHANA	akan-brong	Huma-tarakwa
GUINÉE	manding-maninka	Kononi soro
CÔTE D'IVOIRE	Abouré	Eka
	Baoulé	Niama boboahué
	Gagou	Botrobatra tiama
	manding-maninka	Déni m'bro / Konoré soro
NIGER	fula-fulfulde	Yangara buhili
	Hausa	Kimbar mahalbaa
NIGERIA	Eggon	Mbaching

II-2-3-Origine et distribution

Ce sont des arbres, des arbustes ou le plus souvent des lianes des zones tropicales [18]. Elle est largement dispersée en Afrique tropicale (du Sénégal au Cameroun et du Soudan au Zimbabwe). En Côte d'Ivoire, on la retrouve au centre et au nord [45].

II-2-4-Description botanique

Le genre *S. afzelii* (R.Br. Planch ex) G. Schellenb est connu sous un certain nombre de synonymes: *Rourea afzelii*, *Rourea splendide*, *Rourea gudjuana*, *Santaloïdes splendidum*, *Santaloïdes gudjuana* [16].

C'est un arbuste ou petit arbre de 3 à 20 m de haut, dont la tige est flexible et grimpante. L'écorce est lisse à tranche verte puis rosée sur les pieds âgés. Les rameaux sont bruns et sans poil. Les feuilles sont alternes, imparipennées, à folioles alternes ou subopposées. Les fruits (figure 2) sont coniques à sommet obtus et base arrondie. Ils sont rouges à maturité, secs, formant une capsule et s'ouvrant par une fente avec une graine noire. La floraison se fait généralement en début de saison sèche [16].



Figure 2: Photographie des feuilles et graines de *S. afzelii*

II-2-5-Vertus thérapeutiques

Dans les pays tropicaux, *Santaloides afzelii* est souvent employé pour le traitement de divers maux [14]. Cette plante est utilisée dans la pharmacopée ivoirienne pour ses propriétés analgésiques et aphrodisiaques [19]. La décoction d'écorce, en lavement, calmerait les maux de ventre. Le fruit de *S. afzelii*, au goût de cerise, est comestible. Les feuilles et écorces ont une utilisation médico-magique [16], elles sont utilisées pour avoir un foyer conjugal stable, par simple bain avec le macéré [46].

II-3- Travaux scientifiques antérieurs sur la famille des connaraceae

II-3-1-Données pharmacologiques

Des études préliminaires entreprises sur des extraits de cinq plantes médicinales de la famille des connaraceae ont montré une activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* [47].

Les extraits aqueux et éthanolique de *Cnestis ferruginea* ont montré une activité anticonvulsivante [48]. L'extrait aqueux de ses racines a montré une activité anti-stress [49].

Les plantes du genre *Cnestis* sont souvent toxiques. Des études phytochimiques ont révélé la présence d'une neurotoxine, inhibant la synthèse protéique dans des cellules en culture. Cette neurotoxine a été isolée des feuilles de *Cnestis ferruginea* [50], des graines de *Cnestis palaba* (Lour.) Merr [51] et des écorces de racines de *Cnestis glabra* avec un rendement de l'ordre de 0,4% [52]. C'est un composé thermostable, insoluble dans les solvants organiques usuels et qui donne une réaction positive à la ninhydrine. L'hydrolyse acide ne modifie pas son comportement sur un analyseur d'acides aminés. La toxine est provisoirement appelée méthionine sulfoximine (MSX).

Manotes longiflora, plante utilisée dans le traitement des ophtalmies en Côte d'Ivoire, s'est révélée active sur les *cocci* gram positif en bactériologie. Les essais de caractérisation en tube ou CCM ont montré la présence de flavonoïdes, de tanins, de quinones, de terpènes et de stéroïdes [53].

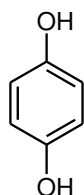
La tige de *Brysocarpus Coccineus* Schum et Thonn, est utilisée en médecine traditionnelle et a des propriétés antibactériennes sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi qu'une activité antifongique sur *Rhizopus stolon* et *Epidermophyton floccosum* [54]. Son extrait éthanolique a montré des propriétés utérotoniques [55].

Akindede et Adeyemi ont montré que des extraits de *Byrsocarpus Coccineus* possèdent une activité antipyrétique [56] et antidiarrhée [57]. Les extraits aqueux de ses feuilles ont des activités antiinflammatoire [58, 60], antioxydante [62] et peuvent être un remède potentiel pour le traitement de certains désordres du système nerveux central chez les humains [61]. La décoction des racines de *Rourea minor* (Gaertn.) Alston a des propriétés antiseptiques et antituberculeuses [59].

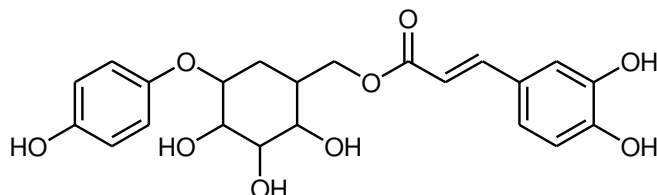
II-3-2- Etudes phytochimiques

Les études phytochimiques ont montré la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de saponines et de glycosides, comme les familles de constituants principaux de l'extrait des racines de *Cnestis ferruginea* [49].

Ces feuilles de *Cnestis ferruginea* renferment deux composés phénoliques : le *para*-hydroxyphénol et la 6'-(3'', 4''-dihydroxycinnamoyl) arbutine [63].

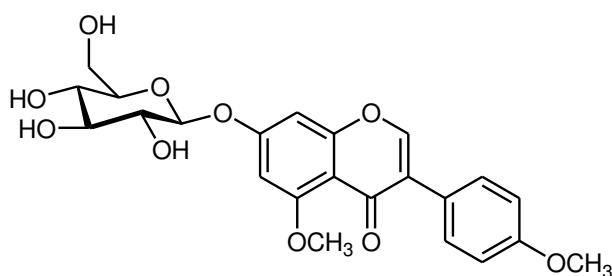


para-hydroxyphénol



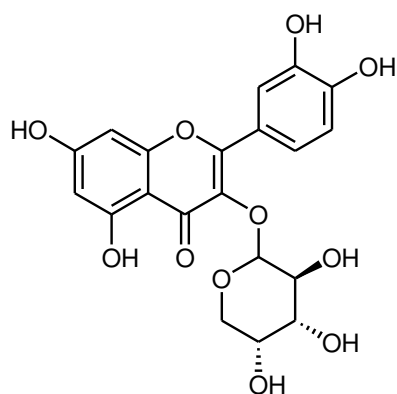
6'-(3'', 4''-dihydroxycinnamoyl) arbutine

Une nouvelle isoflavone (l'afformosine 7-*O*-galactoside) a été isolée des fruits de *Cnestis ferruginea*. Cette molécule a montré une bonne activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ainsi qu'une bonne activité antifongique sur *Candida albicans* [64].

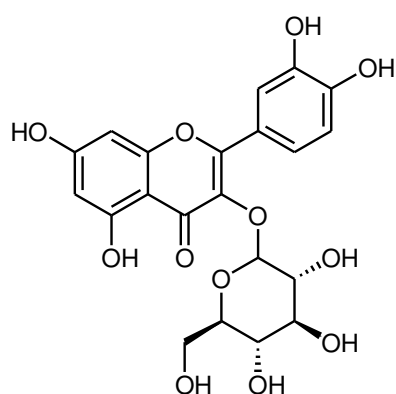


Afformosine 7-*O*-galactoside

Le criblage phytochimique préliminaire de trois extraits de la tige de *Brysocarpus Coccineus* a montré la présence de saponines, de sucres réducteurs, de stéroïdes, de glycosides, de flavonoïdes et d'anthraquinones [54]. Ses feuilles contiennent deux flavonoïdes glycosides (Quercétin 3-*O*- α -arabinoside et quercétin 3-*O*- β -D-glucoside) [65].

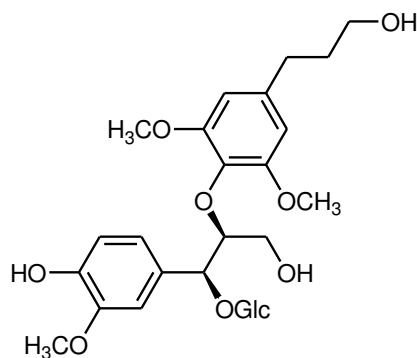


Quercétin 3-*O*- α -arabinoside

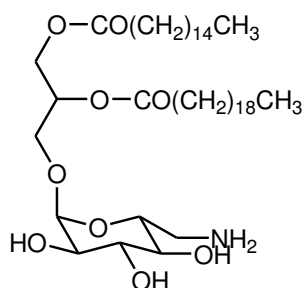


Quercétin 3-*O*- β -D-glucoside

La décoction des racines de *Rourea minor* est riche en β -d-glycosides, β -sitostérol, méso-inositol et hentriacontane [59]. L'extrait au chloroforme des tiges sèches de *Rourea minor* présente une bonne activité sur *Plasmodium falciparum*, il contient des composés glycosylés tels que la rourinoside et la rouremine [66].

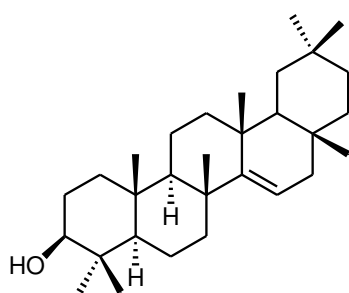


Rourinoside

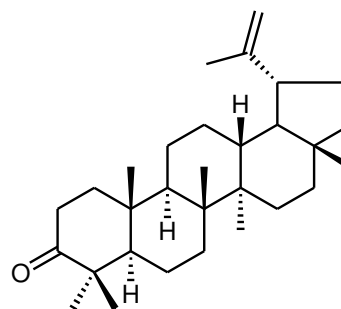


Rouremine

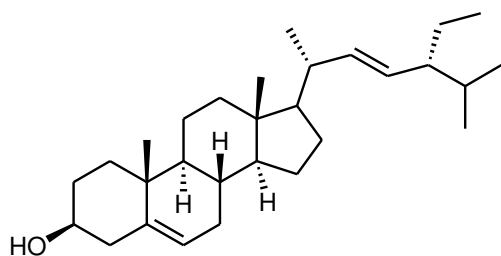
Les feuilles et tiges de *Rourea doniana* Baker renferment cinq triterpènes (le lupéol, la lupénone, l'alpha-amérinone, la bêta-amérinone et le taraxérol), un flavonol (le 7,4'-diméthyl kaempférol), une coumarine (la scopolétine) et quatre phytostéroïdes (le β -sitostérol, le stigmastérol, le β -sitostéryl-3-O- β -d-glucopyranoside et le stigmastéryl-3-O- β -d-glucopyranoside) [12].



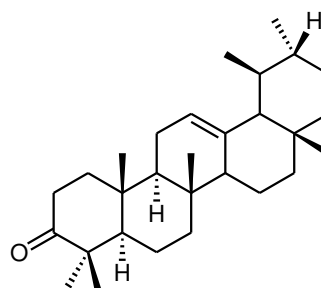
Taraxérol



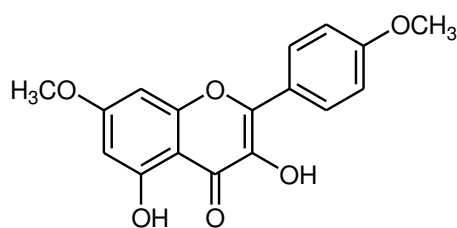
Lupénone



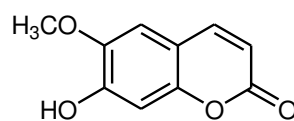
Sigmastérol



amérinone

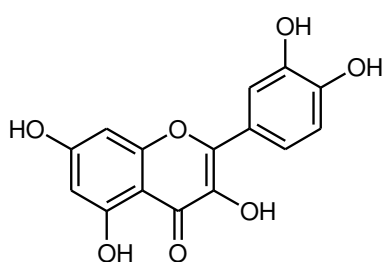


7,4'-diméthyl kaempférol

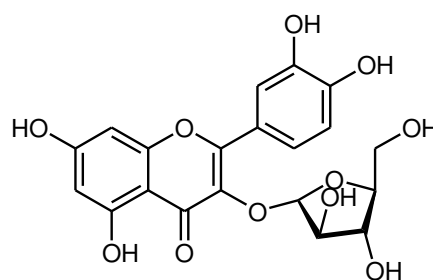


scopolétine

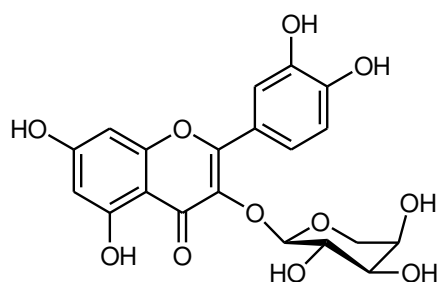
L'extrait éthanolique des feuilles de *Rourea induta* Planch renferme quatre flavonoïdes : la quercétine, la quercétine-3-*O*- α -arabinofuranoside, la quercétine-3-*O*- β -xyloside et la quercétine-3-*O*- β -galactoside [13].



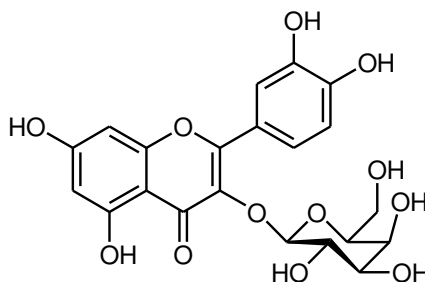
Quercétine



Quercétine-3-*O*- α -arabinofuranoside



Quercétine-3-*O*- β -xyloside



Quercétine-3-*O*- β -galactoside

Les graines de *Roureopsis obliquifoliata* contiennent 45% d'huile riche en acides gras dont le majoritaire est l'acide palmitique (50%) [67].

NB : *Santaloïdes afzelii* n'a pas fait l'objet d'étude phytochimique à notre connaissance.

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES DES VEGETAUX

Les plantes produisent un grand nombre de composés appelés métabolites secondaires. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures, d'où le nom de métabolites secondaires. Ils ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique. On les trouve dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. En fonction de la structure et des propriétés de ces molécules, elles peuvent participer à la protection de la plante contre des prédateurs (mauvais goût, toxicité, etc..) ou les moisissures. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux. Ce sont :

- Les alcaloïdes et composés azotés ;
- Les composés phénoliques ;
- Les composés terpéniques.

A ces trois catégories s'ajoutent :

- Les hétérosides, constitués de dérivés glycosylés de composés terpéniques, phénoliques et plus rarement d'alcaloïdes. Ces glycosylations affectent largement leurs propriétés biochimiques telle que l'extractibilité dans différents solvants mais également leurs effets biologiques (toxicité, propriétés pharmacologiques) ;

- les « composés mixtes » ou « composés d'origine mixte », qui correspondent à des condensations de molécules provenant des trois principales catégories et qui peuvent souvent être rattachés à l'une des catégories précédentes.

I- ALCALOÏDES ET COMPOSES AZOTES

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés, basiques et hétérocycliques. Les principaux cycles (figure 3) sont l'indole, la quinoline, l'isoquinoline, la pyridine et la quinolizidine.

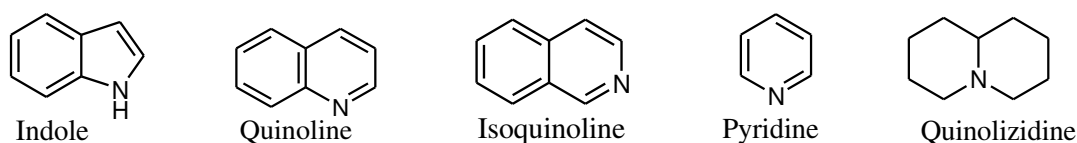
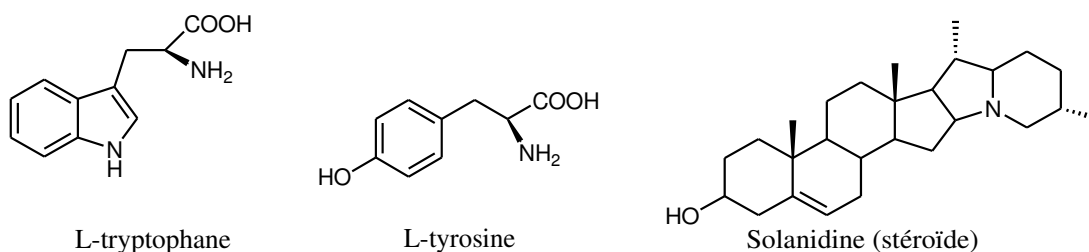


Figure 3: Structures de quelques cycles d'alcaloïdes

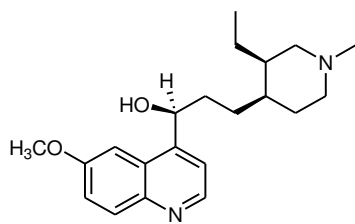
Les alcaloïdes s'extraient soit par l'eau acide, soit par des solvants comme le chloroforme après alcalinisation [68]. Ils précipitent généralement avec des réactifs iodométriques (réactif de Dragendorff) et sont très souvent biologiquement actifs. La saveur amère est une caractéristique générale chez les alcaloïdes.

Selon la classification biogénétique, les alcaloïdes sont issus principalement du métabolisme des acides aminés (tyrosine, tryptophane). Certains présentent des éléments de structures dérivées des terpènes (solanidine).

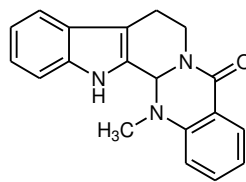


Chez les végétaux, les alcaloïdes sont particulièrement abondants chez certaines familles telles que : les Rubiaceae, les Rutaceae, les Solanaceae, les Fabaceae, les Apocynaceae, les Papaveraceae, les Légumineuses.

La *N*-méthylquinicinol dérivée de la quinoline et l'évodiamine dérivée de l'indoloquinazoline ont été isolées respectivement des écorces de *Guettarda noumeana* (Rubiaceae) [69] et de *Zanthoxylum atchoum* (Rutaceae) [70].

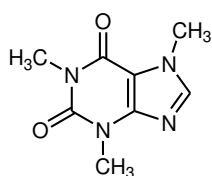


N- méthylquinicinol

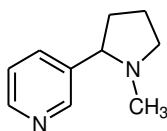


Evodiamine

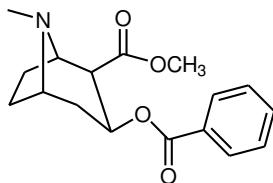
De nombreux alcaloïdes comme la cocaïne, la nicotine et la caféine sont des stimulants ou sédatifs. D'autres alcaloïdes (quinine) sont utilisés en pharmacie. La caféine se trouve dans les grains de café, les feuilles de thé ainsi que la noix de cola. La nicotine est présente dans les feuilles de tabac (*Solanaceae*). La quinine est présente chez *Cinchona officinalis* (*Rubiaceae*).



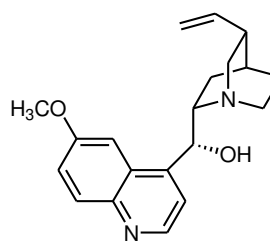
Caféine



Nicotine



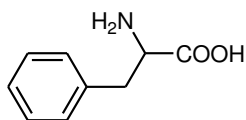
Cocaïne



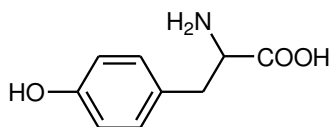
Quinine

II- COMPOSES PHENOLIQUES

Les composés phénoliques sont des molécules aromatiques constituées de groupement phényle (C_6) et de groupement hydroxyle ($-OH$). Il en existe environ 4500. On peut inclure dans cette famille les tanins, les coumarines, la lignine et les flavonoïdes. Ces composés sont typiques aux plantes vasculaires et ont colonisé l'environnement aérien. La plupart de ces composés dérivent d'acides aminés aromatiques : la tyrosine et la phénylalanine.



Phénylalanine



Tyrosine

Les polyphénols tels que les anthocyanes, les flavonols, les flavanols, les acides phénoliques, constituent une classe importante de métabolites secondaires du règne végétal. Au cours des vingt (20) dernières années, le rôle des composés phénoliques dans la physiologie des plantes, mais également dans de nombreuses interactions plantes-environnement, a été démontré et accepté. Les propriétés biologiques et physico-chimiques de ces composés ont déjà été largement étudiées : propriétés antioxydante [71, 72],

anticancéreuse [72, 73], anti-inflammatoire et antibactérienne [74], ainsi que leur action vasodilatatrice [75].

La consommation d'aliments de diverses origines végétales (fruits, légumes, céréales) est encouragée, car elle permet d'apporter une diversité de composés phénoliques bénéfiques pour la santé [76]. Toutefois, il est déconseillé de prendre des suppléments nutritionnels riches en polyphénols à cause de leurs possibles effets néfastes à haute dose [77].

II-1- Flavonoïdes

Les flavonoïdes, avec environ 9000 structures élucidées à ce jour, représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles de végétaux. On attribue à ces flavonoïdes des propriétés variées : antioxydante [78], antitumorale, veinotonique [79], anti-inflammatoire, analgésique, anti-allergique, antispasmodique, anti-bactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ou anti-estrogénique [71, 72, 74, 80]. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires.

Ce groupe de composés est défini par une structure générale en C_{15} , caractérisée par un enchaînement de deux cycles phényles, A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en $C_6-C_3-C_6$) (figure 4). Le pont en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (Ar-C3-Ar).

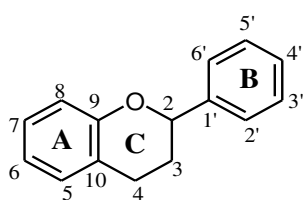


Figure 4: Squelette de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes au sens strict dérivent d'une structure 1,3-diphénylpropane. L'enchaînement propanique est le plus souvent sous forme d'hétérocycle pyranique, à l'exception de deux groupes : les chalcones et les aurones (Figure 6). Ils sont produits selon la même voie biosynthétique par l'intermédiaire de la 2',4',6',4 tétrahydroxychalcone, formée par la chalcone synthase (enzyme liée dans la formation des flavonoïdes) à partir de trois (3) malonyl-CoA, un précurseur de la voie acétate-malonate, et du 4-coumaroyl-CoA, issu de la

voie shikimate (Figure 5). Les flavonoïdes peuvent ensuite être modifiés par des réactions d'hydroxylation, de méthylation, de glycosylation et d'acylation [81].

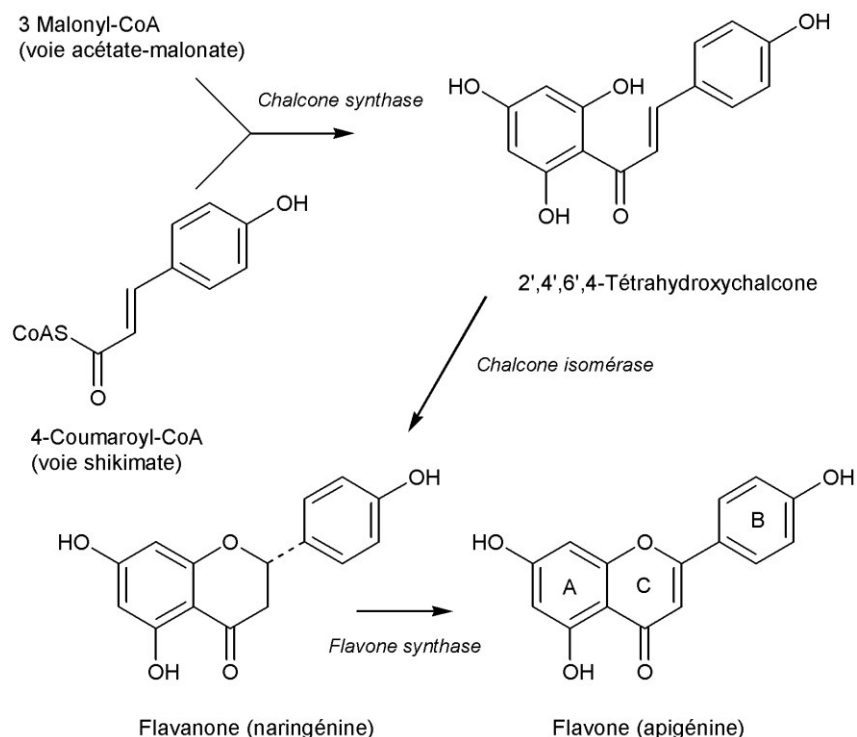
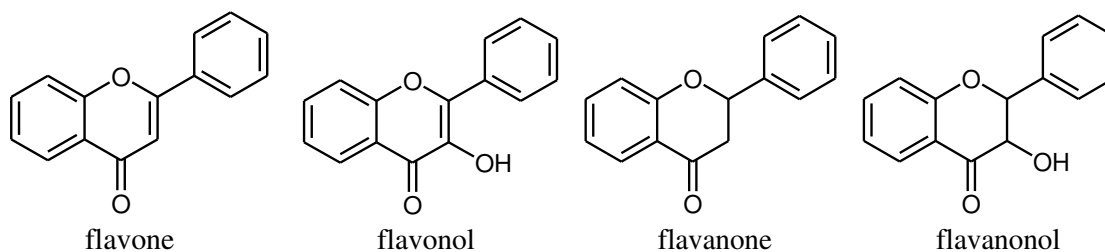


Figure 5: Schéma de la biosynthèse des flavonoïdes

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On distingue les flavonoïdes au sens strict (flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, anthocyanidols, flavyliums chalcones, aurones), et les isoflavonoïdes (isoflavones, isoflavanes, isoflavonols, ptérocarpanes, coumaronochromones, 3-arylcoumarines, coumestanes, roténoïdes) (figure 6). Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune.



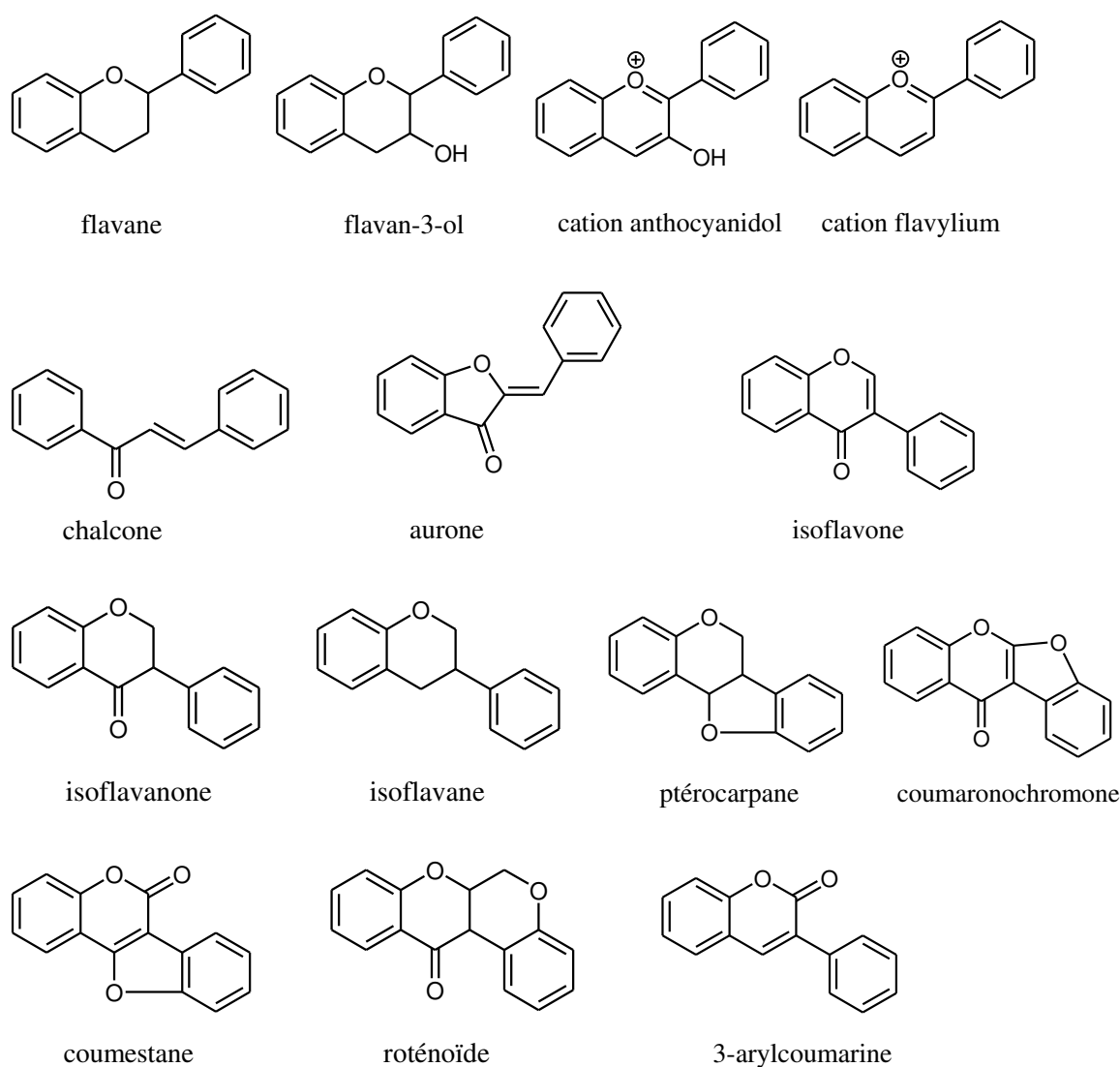


Figure 6: Structure de base de quelques flavonoïdes

Les flavonoïdes sont souvent hydroxylés en positions 3, 5, 7, 3', 4' et 5'. Dans les plantes, ils sont souvent sous les formes *O*- ou *C*-glycosylés. La liaison avec l'aglycone se fait entre le carbone 1 du glycoside et l'aglycone par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène (*O*-glycoside). Les *C*-glucosides ont des sucres liés au carbone de l'aglycone, toujours en position 6 ou 8. Les glucides les plus souvent rencontrés sont le L-rhamnose, le D-glucose, le D-galactose et le L-arabinose [82].

Les isoflavonoïdes constituent une grande et très diversifiée sous-classe des flavonoïdes. Ils dérivent d'une structure 1,2-diphénylpropane (Figure 7). Malgré leur caractérisation sporadique dans la classe des dicotylédones, ils sont en effet presque spécifiques de la famille des Fabacées. Cette spécificité est probablement due à la présence dans cette famille de l'enzyme responsable du réarrangement du 2-phénylchromone

(flavanone) au 3-phénylchromone (isoflavone) [83]. En dépit de cette distribution restreinte dans le règne végétal, on observe une large et très surprenante variation structurale des isoflavonoïdes. Elles peuvent être classées en catégories structurales (3-arylcoumarines, coumaronochromones, coumestanes, isoflavanes, isoflavènes, isoflavones, roténoïdes, ptérocarpanes) qui diffèrent entre elles, par le degré d'oxydation et l'existence ou non, d'hétérocycles supplémentaires.

Parmi tous les isoflavonoïdes répertoriés dans le règne végétal, la catégorie la plus largement représentée est celle des isoflavones non glycosylées. Les isoflavones glycosylées quant à elles, existent mais sont plus rares (*O*-glycosylées et exceptionnellement *C*-glycosylées). Certains isoflavonoïdes possèdent un cycle supplémentaire résultant de la cyclisation du dérivé 2'-hydroxylé. Les ptérocarpanes et leurs dérivés ainsi que les coumaronochromones en font partie. D'autres ont une structure de type coumarinique induite par l'oxydation d'une isoflavène. C'est le cas par exemple des coumestanes et de leurs dérivés. Un dernier groupe d'isoflavonoïdes possèdent non seulement un cycle, mais en plus un carbone supplémentaire. C'est le cas des roténoïdes qui proviennent d'une cyclisation oxydative de la 2'-méthoxyisoflavone. Les roténoïdes sont rencontrés principalement chez les Fabacées mais on les rencontre aussi de façon sporadique dans d'autres familles notamment les genres : *Boerhaavia* et *Mirabilis* (Nyctaginaceae) [84, 85], *Iris* (Iridaceae) [86], *Macaranga* (Euphorbiaceae) [87] et *Sarcolobus* (Asclépiadaceae) [88]. Les roténoïdes sont connus essentiellement pour leur activité insecticide.

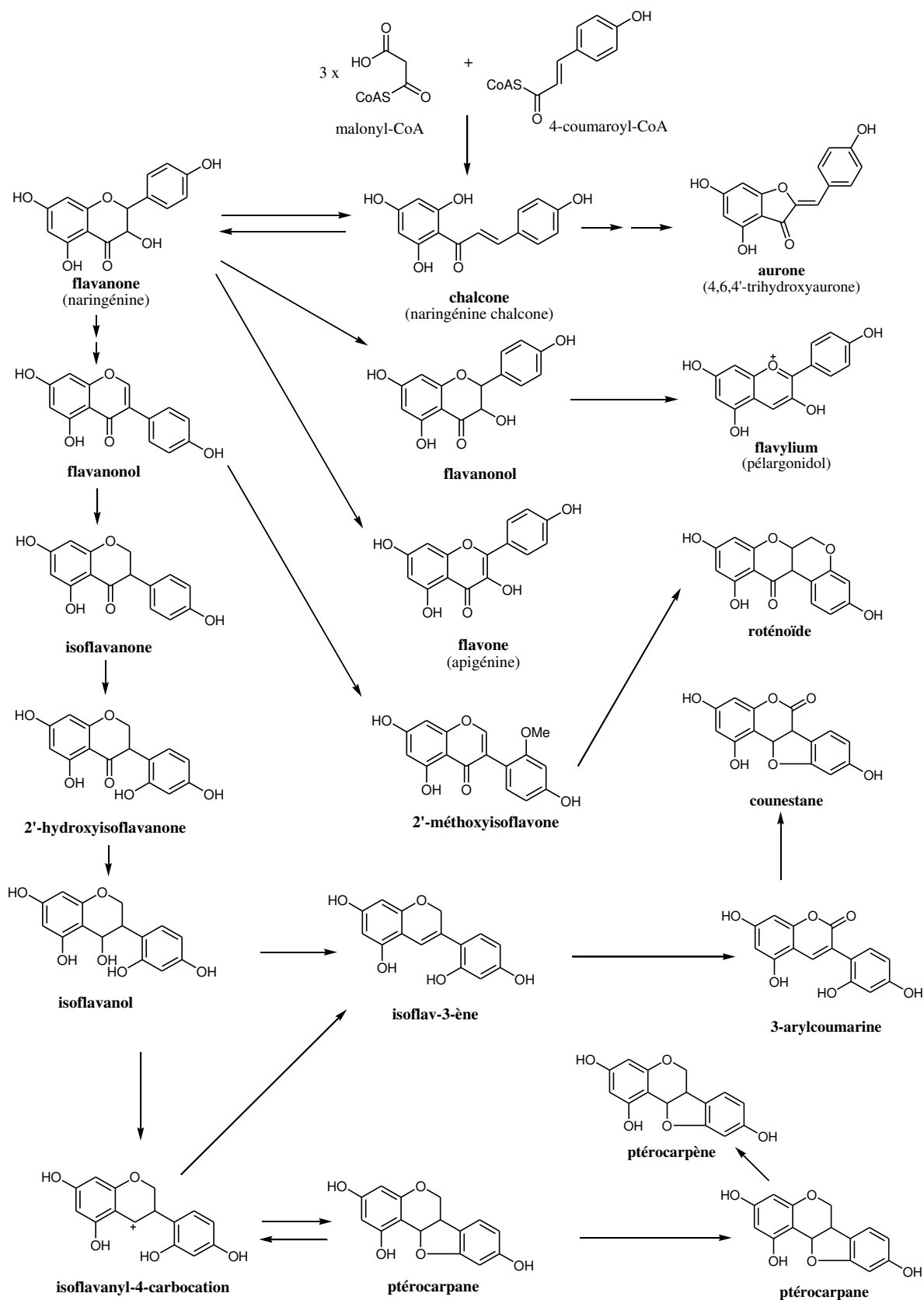


Figure 7: Schéma biosynthétique des grandes classes d'isoflavonoïdes et leurs inter-conversions

Les flavonoïdes et isoflavonoïdes sont d'origines diverses comme on peut le constater dans le tableau 5.

Tableau 5: Quelques origines de flavonoïdes et isoflavonoïdes

Flavonoïdes	Partie de la plante	Nom de la plante	Famille de la plante	Références
Quercetin 3- <i>O</i> - α -arabinoside et quercetin 3- β -D-glucoside	Feuilles	<i>Byrsocarpus coccineus</i> . Schum and thonn	connaraceae	[65]
Myricetin 4'- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranoside et Quercetin 3'- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranoside	feuilles et tiges	<i>Oenothera speciosa</i> Nutt.	Onagraceae	[89]
Quercetin-3- <i>O</i> -rutinoside et Quercetin	Feuilles	<i>Bauhinia monandra</i> (Kurz)	Fabaceae	[90]
isoflavone, genistein-7- <i>O</i> -genitiobioside	Tubercule	<i>Arachide</i> (<i>Apios americana</i> Medik. groundnut)	Fabaceae	[91]
isoflavones, pentandrine	Écorce des tiges	<i>Ceiba pentandra</i> L. Gaertn.	Bombacaceae	[92]
anthocyanidine 3- <i>O</i> -acylrutinoside-5- <i>O</i> -glucoside	Tubercule	<i>Solanum stenotomum</i>	Solanaceae	[93]
Anthocyanine 3- <i>O</i> -glucoside	Fleurs	<i>Rosa</i> , <i>Cinnamomeae</i>	Rosaceae	[94]
Anthocyanine, malvidine glycosides	Fleurs bleu	<i>Petunia hybrida</i>	Solanaceae	[95]
Flavan-3-ol, épicatechine	Feuilles	<i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiaceae	[96]
Flavonol-3- <i>O</i> -glucoside	Feuilles	<i>Ribes biebersteinii</i> Berl	Grossulariaceae	[97]
Flavone-6- <i>C</i> -glucoside	Partie aérienne	<i>Clematis rehderiana</i>	Ranunculaceae	[98]
Flavone-8- <i>C</i> -glucoside	Fleurs	<i>Trollius ledebouri</i> Reichb	Ranunculaceae	[99]
Flavone-6,8- <i>C</i> -glucoside et Flavonol-7- <i>O</i> -glucoside	Partie aérienne	<i>Salvia officinalis</i>	Labiatae	[100]
Flavonol-3,5- <i>O</i> -glucoside	Feuilles	<i>Chiococca braquiata</i>	Rubiaceae	[101]
5-hydroxy-6,7,4'-triméthoxyflavone	Feuilles	<i>Lippia multiflora</i>	Verbenaceae	[187]

II-2- Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés non flavoniques. Ils sont présents dans les plantes sous forme combinée. On distingue 2 classes d'acides phénoliques : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques.

II-2-1-Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques dérivent de l'acide benzoïque. Ces acides phénols existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides. Ils peuvent intégrer les structures chimiques de certains tanins. Ils sont largement répandus chez les angiospermes [102]. Leur squelette de base est composé de 7 atomes de carbone (C_6-C_1). Les plus fréquents sont les acides *p*-hydroxybenzoïque, protocatéchine, gallique, vanillique et syringique (figure 8).

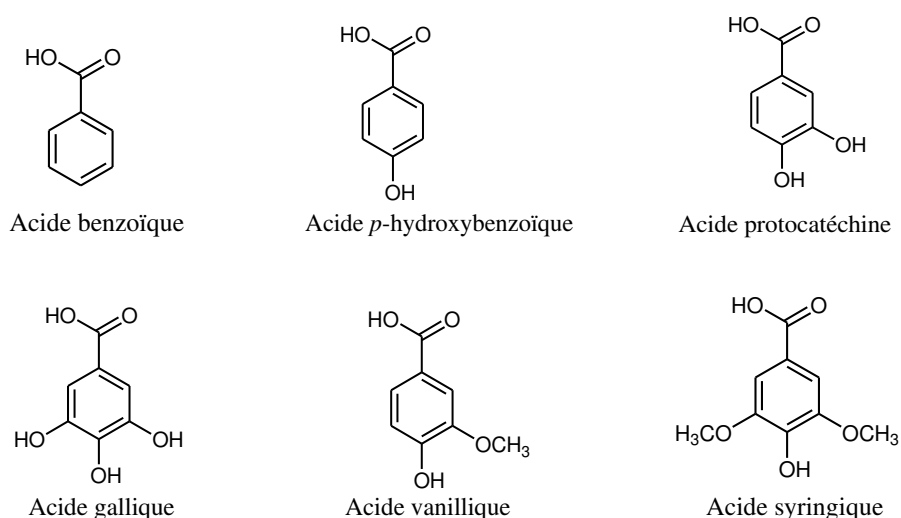


Figure 8: Structures de quelques acides hydroxybenzoïques et de l'acide benzoïque

II-2-2-Acides hydroxycinnamiques et dérivés

Les acides hydroxycinnamiques sont très largement répandus dans les végétaux supérieurs. Ils ont des structures basées sur celle de l'acide coumarique ou des acides caféique, férulique et sinapique. Leur squelette de base est composé de 9 atomes de carbone (C_6-C_3). Les plus rencontrés sont les acides cinnamiques, coumariques, caféiques, féruliques, sinapiques (figure 9).

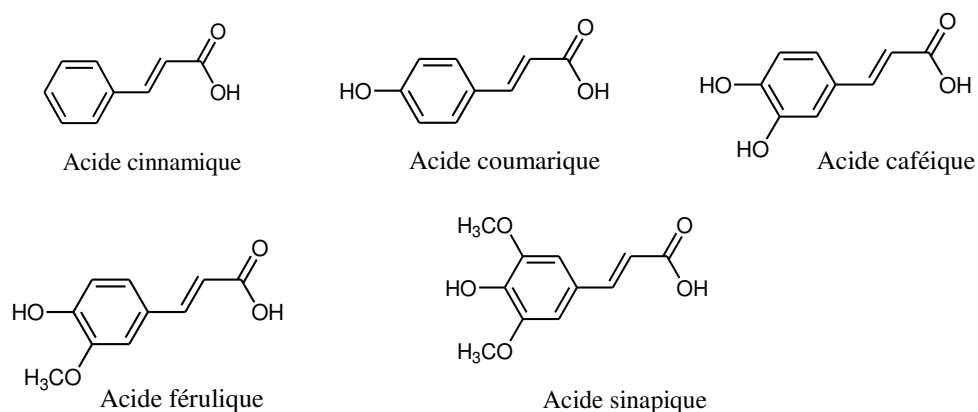
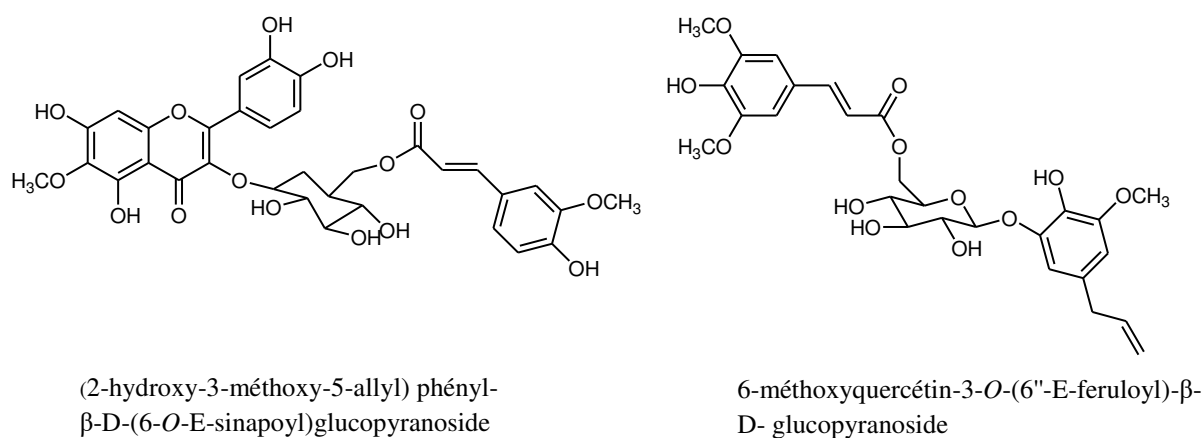


Figure 9: Structures de quelques acides hydroxycinnamiques et de l'acide cinnamique

Les hydroxycinnamiques et leurs dérivés existent à l'état libre ou sous forme d'esters ou de glucosides. On peut citer le (2-hydroxy-3-méthoxy-5-allyl)phényl- β -D-(6-*O*-E-sinapoyl)glucopyranoside isolé des fruits de *Pimenta dioica* Merri. (Myrtaceae) [103] et le 6-méthoxyquercétin-3-*O*-(6''-E-feruloyl)- β -D-glucopyranoside isolé des fruits de *Paepalanthus polyanthus* (Eriocaulaceae) [104].



Les acides phénoliques prédominants dans la pomme de terre sont l'acide chlorogénique et ses isomères, l'acide caféique, l'acide quinique et la L-tyrosine, présents en concentrations plus faibles [105].

Les acides phénoliques sont d'origines diverses comme le montre le tableau 6.

Tableau 6: Quelques origines des acides phénoliques

Acides phénoliques et dérivés	Partie de la plante	Nom de la plante	Famille de la plante	Références
Acide protocatéchine	Peau du fruit	<i>Mangifera indica</i> L.	Anacardiaceae	[101]
Acide cinnamique Acide benzoïque	Graines et racines	<i>Lolium multiflorum</i> Lam	Poaceae	[63]
Méthyl 2,5-hydroxycinnamate	Feuilles	<i>Murraya paniculata</i> L.	Rutaceae	[102]
Acide gallique	Feuilles	<i>Rhus trilobata</i>	Anacardiaceae	[103]
Ester d'acide caféique	Feuilles	<i>Piper sanguineispicum</i> Trel.	Piperaceae	[104]

II-3- Tanins

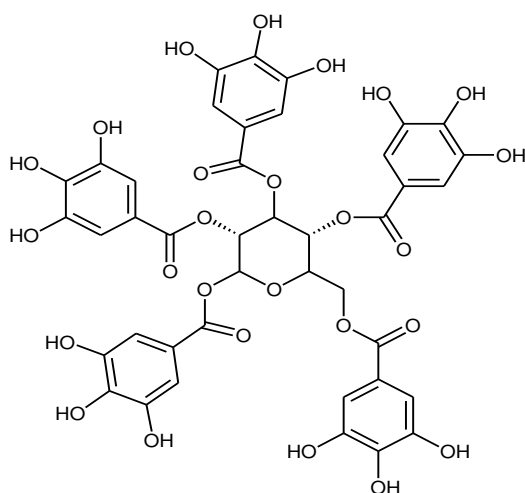
Les tanins sont des composés polyphénoliques ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre dure et imputrescible, en se fixant sur les protéines [111]. On distingue deux grands groupes de tanins : les tanins hydrolysables (gallotanins et ellagitanins) et les tanins condensés (procyanidines).

II-3-1-Tanins hydrolysables

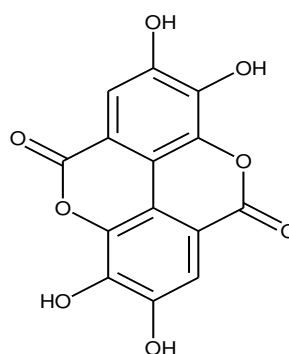
Il s'agit d'esters d'acide gallique ou d'acide éllagique (dérivé du shikimate) et de glucose. On retrouve des gallotanins accumulés dans certaines galles de végétaux qui étaient utilisées pour la fabrication d'encre. Les tanins libérés dans le vin par les tonneaux de chênes

sont des ellagitannins, contrairement à ceux apportés par la peau des baies de raisin qui sont des tanins non-hydrolysables.

Le pentagalloylglucose est un composé polyphénolique possédant une activité antivirale sur Herpes Simplex Virus type 1 (HSV-1) [112, 113] et une activité antidiabétique [114]. Le pentagalloylglucose peut être oxydé en ellagitannins par une enzyme phénoloxydase des feuilles de *Tellima grandiflora* (Saxifragaceae) [115].



Pentagalloylglucose



Acide ellagique

Les tanins hydrolysables sont caractéristiques d'un groupe de familles de plantes (Tableau7). On trouve les gallotanins dans la famille des Anacardiaceae, Fagaceae, Ericaceae, Geraniaceae, Aceraceae et les ellagitannins dans la famille des Fagaceae, Combretaceae, Myrtaceae, Araliaceae.

Tableau 7: Quelques tanins hydrolysables et leurs origines

Tanins hydrolysables	Partie de la plante	Nom de la plante	Famille de la plante	Références
Acide ellagique glucosylé	Feuilles	<i>Diplopanax stachyanthus</i> Hand.-Mazz	Araliaceae	[116]
Pentagalloylglucose	Tige	<i>Rhus trichocarpa</i> Miquel	Anacardiaceae	[117]
Pentagalloylglucose	Fruits	<i>Pistacia lentiscus</i> L.	Anacardiaceae	[118]
acide 3,3'-di-O-méthylellagique et	Racines	<i>Terminalia macroptera</i> . Guill. et	Combretaceae	[119]

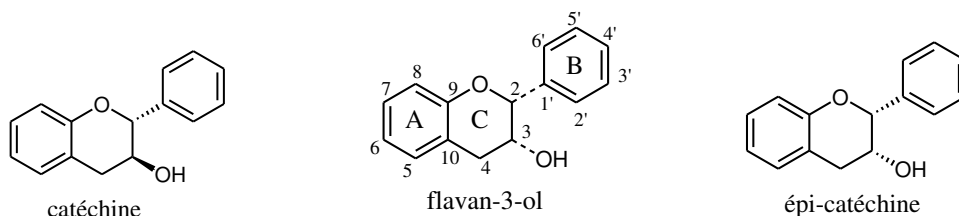
acide 3,4,3',4'-tétra- <i>O</i> -méthylellagique		Perr		
acide 4'- <i>O</i> -galloyl-3,4'-di- <i>O</i> -méthylellagique 4- <i>O</i> -β-D-xylopyranoside	Racines	<i>Terminalia superba</i> Engl.	Combretaceae	[120]

II-3-2-Tanins condensés

Les tanins condensés ou procyanidines sont des polymères ou oligomères de flavan-3-ols. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone de types 4→8 ou 4→6. Ces tanins sont très abondants dans certains végétaux consommés par l'homme comme les prunes, les fraises et les pommes ou dans des boissons comme le vin [121]. C'est eux qui confèrent une astringence à ces produits alimentaires.

Les tanins ont des propriétés antioxydantes [122], antivirales, antibactériennes et antiinflammatoires [111]. Leurs aptitudes à piéger les radicaux libres pourraient réduire les risques de maladies cardiovasculaires et de cancer [123]. La présence des tanins dimères dans le cacao (chocolat) explique son effet bénéfique pour la santé [124].

Au plan biogénétique, les flavan-3-ols sont issus du métabolisme des flavonoïdes par hydroxylation en position 3 d'une flavanone. Les 2,3-dihydroflavon-3-ols formés sont ensuite réduits en flavan-3,4-diols puis en flavan-3-ols. La configuration habituelle des flavon-3-ols est 2*R*,3*S* (catéchols) ou 2*R*,3*R* (épi-catéchols) [125]. Les énantiomères comme 2*S*,3*S* (ent-catéchol) sont beaucoup moins fréquents.



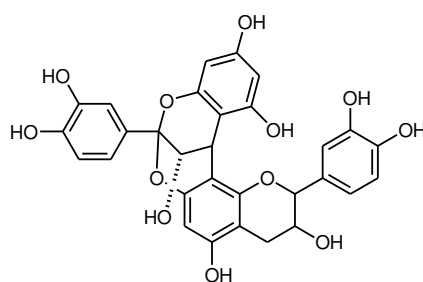
Au plan chimique, les tanins peuvent être obtenus par voie de synthèse [126]. La formation des oligomères et polymères implique la présence de flavan-3,4-diols. Ces molécules, très réactives du fait du caractère benzylique de leur hydroxyle en C4, donnent

facilement un carbocation qui réagit aussitôt sur les carbones nucléophiles C8 ou C6 d'un autre flavan-3-ol. La répétition de ce mécanisme conduit aux oligomères et polymères.

En milieu acide, des polymérisations sont observées. Un milieu basique engendre quant à lui une ouverture de l'hétérocycle C. Il existe plusieurs voies d'accès à la liaison C4-C8, mais aucune n'est stéréosélective. Le dimère obtenu sera nécessairement protégé car les fonctions phénols et la liaison intermonomérique sont très fragiles en dehors de la zone de pH 5-7. En conditions basiques, les phénols conduisent aux quinones correspondantes, qui elles-mêmes provoquent l'ouverture de l'hétérocycle C. Les tanins condensés ou proanthocyanidines ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide, à chaud, par rupture de la liaison intermonomérique [127].

Dans le raisin on distingue deux types de proanthocyanidines suivant la nature de l'anthocyane libérée. D'une part, les procyanidines (polymères de catéchine et d'épicatéchine) libèrent de la cyanidine et d'autre part, les prodelphinidines (polymères de gallocatéchine et d'épigallocatéchine) libèrent de la delphinidine [128].

Les procyanidines se distinguent par leur nombre d'unités monomériques et le type de liaison les reliant entre elles. Ainsi, une trentaine de procyanidines dimères, trimères et tétramères ont déjà été identifiées [129]. Les procyanidines de type A contiennent une liaison éther supplémentaire entre le carbone C-2 et l'hydroxyle sur les C-5 ou C-7 du noyau A [130].



Procyanidine A2

Le type B se caractérise par une liaison intermonomérique qui peut être soit C4-C8 (B1 à B4) ou C4-C6 (B5 à B8), de conformation *trans* par rapport à l'hydroxyle porté par le carbone C-3. La stéréochimie du carbone C-2 est généralement de configuration absolue (*R*), mais il existe quelques exceptions. Les structures des principaux dimères de type B du raisin sont représentés par la Figure10.

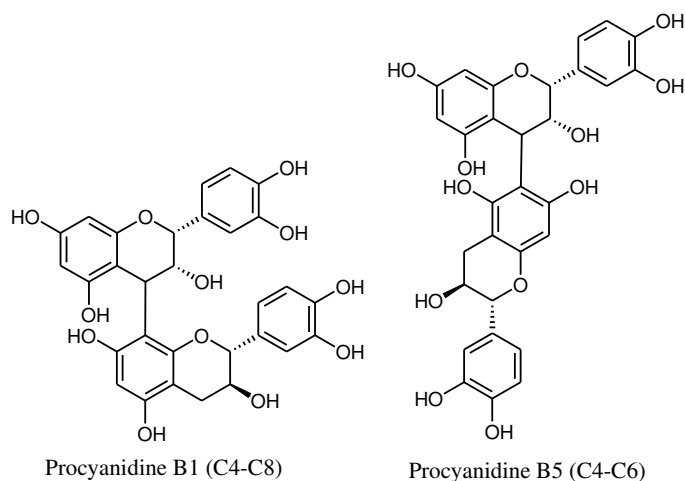


Figure 10: Structure des dimères du type B

III- COMPOSES TERPENIQUES

Les terpénoïdes sont des molécules à nombre de carbones multiples de 5, et dont le précurseur est l'isopentényl diphosphate (IPP). Ils sont formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonees ramifiées dérivées du 2-méthyl butadiène (C_5H_8)_n. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou former des anneaux.

Ce sont des lipides synthétisés à partir de l'acétyl-CoA. Il existe environ 20000 composés terpéniques connus. Ils sont stockés dans les vacuoles au niveau des écorces, des épines, des racines ou encore des feuilles. On en retrouve également dans le latex. La classification des terpénoïdes repose sur le nombre d'unités terpéniques. Ainsi on a les :

- hémiterpènes composés d'une unité isoprène (C5) ;
- monoterpènes composés de deux unités isoprène (C10) ;
- sesquiterpènes composés de trois unités isoprène (C15) ;
- diterpènes composés de quatre unités isoprène (C20) ;
- triterpènes composés de six unités isoprène (C30) ;
- tétraterpènes composés de huit unités isoprène (C40) ;
- polyterpènes au delà de C40.

Ils possèdent de nombreuses activités biologiques. Les acides triterpéniques isolés des résines de *Boswellia carteri* (Burseraceae) possèdent une activité anti inflammatoire [131].

III-1-Monoterpènes

Les monoterpènes sont des composés à 10 carbones, souvent volatils, aromatiques et biologiquement actifs. Ils sont largement présents dans les huiles essentielles [132].

On distingue les monoterpènes linéaires (Geraniol, Linalol), les monoterpènes monocycliques (Menthol, Limonène) et les monoterpènes bicycliques (β et α -pinène). (Figure 11)

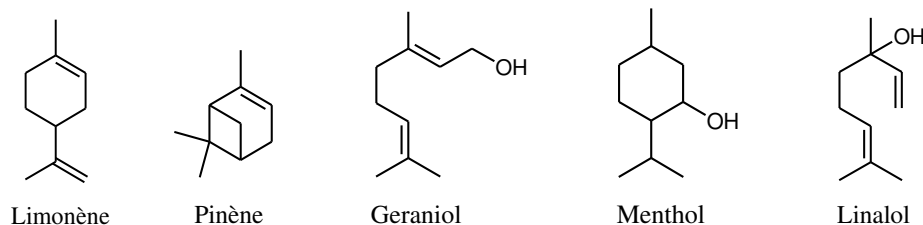


Figure 11: Structures de quelques monoterpènes

III-2-Sesquiterpènes

Ce sont des composés à 15 carbones et assez représentés chez les végétaux. On distingue :

- les sesquiterpènes linéaires (le farnésol), abondamment utilisés en parfumerie ;
- les sesquiterpènes polycycliques (le caryophyllène), responsables du caractère piquant du poivre ;
- les sesquiterpènes monocycliques (l'acide S-(+)-abscissique), une phytohormone présente dans les bourgeons, les feuilles et les fruits de nombreuses plantes [133].

La figure 12 donne la structure de quelques sesquiterpènes.

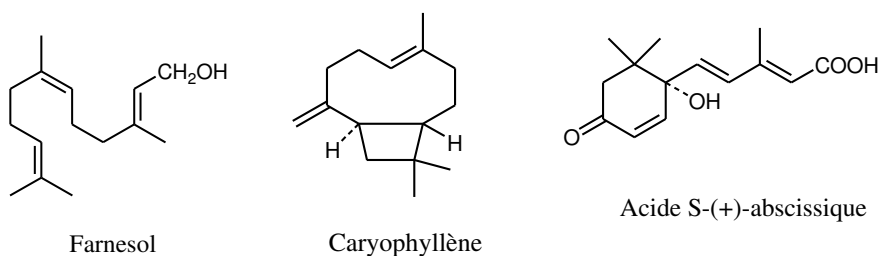


Figure 12: Structures de quelques sesquiterpènes

III-3-Diterpènes

Ce sont des composés terpéniques à 20 carbones. On retrouve parmi les dérivés de diterpènes, les composés acycliques comme le phytol (présent sous forme estérifiée dans la chlorophylle), les diterpènes de résine (Acide abiétique) et les diterpènes toxiques comme la grayanotoxine [102]. (Figure 13)

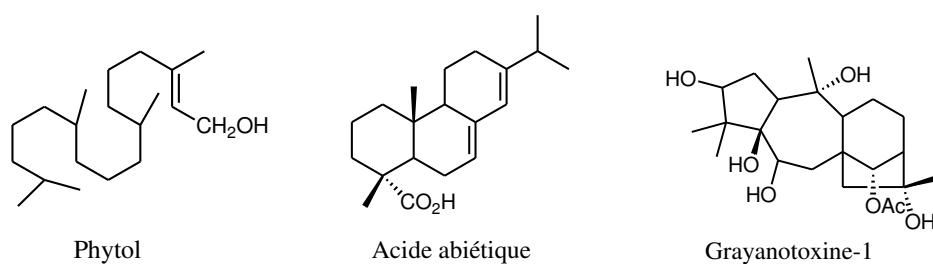


Figure 13: Structures de quelques diterpènes

III-4-Triterpènes

Cette famille regroupe des composés dérivés d'une unité à 30 carbones, le squalène. Ils sont très répandus, notamment dans le règne animal et végétal, à l'état libre, estérifié, ou sous forme hétérosidique. Ils peuvent être des:

- composés aliphatiques tels que le squalène rencontré dans le règne animal ou dans l'insaponifiable d'huiles végétales (Olive, Lin, Arachide) et qui est un intermédiaire dans la biogénèse des triterpènes cycliques et des stéroïdes ;
- composés tétracycliques tels que les stéroïdes et les phytostérols ;
- composés pentacycliques tels que l' α -amyrine et la β -amyrine très fréquents chez les plantes et connues pour leurs propriétés antidiarrhéique et analgésique [134].

Les structures de quelques triterpènes sont données à la figure 14.

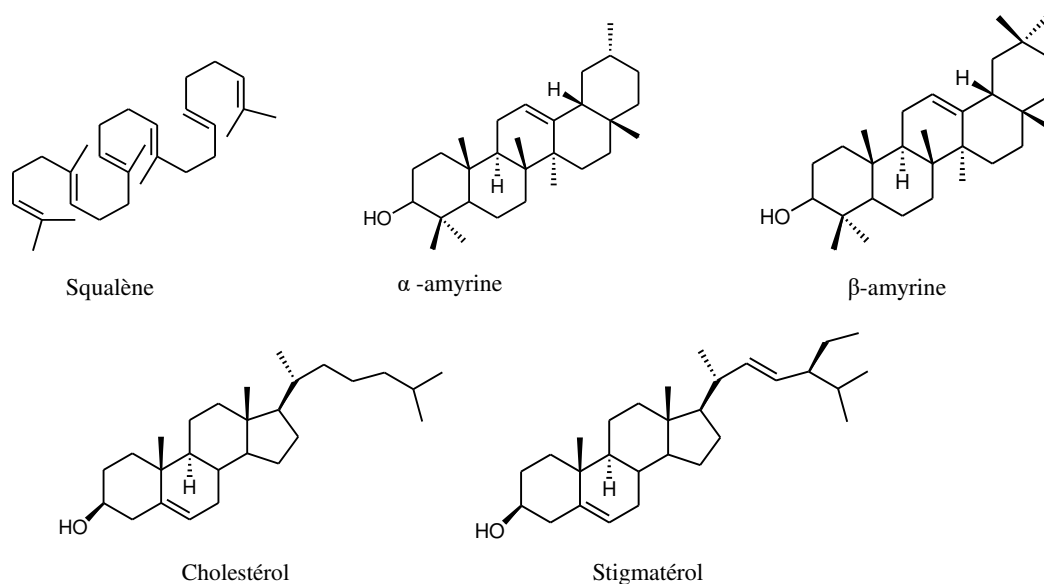


Figure 14: Structures de quelques triterpènes

III-5-Tetraterpènes

Cette famille de terpènes à 40 carbones, compte en particulier les caroténoïdes dont un pigment photosynthétique majeur est le β -carotène mais également des pigments aux propriétés anti-oxydantes comme le lycopène (figure 15).

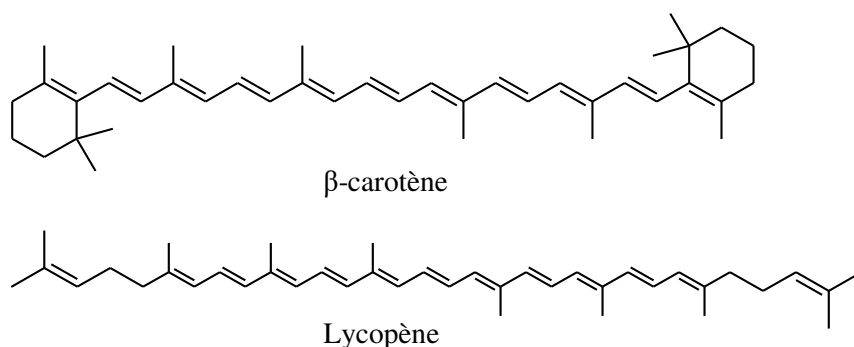


Figure 15: Structures de deux tetraterpènes

Le β -carotène et le lycopène sont des antioxydants liposolubles que l'on retrouve dans des légumes comme les carottes, le brocoli, la tomate et la citrouille [135].

Les composés terpéniques sont répandus dans les écorces, les épines, les racines ou encore les feuilles des végétaux (Tableau 8).

Tableau 8: Quelques terpènes issus du règne végétal

Composés terpéniques	Partie de la plante	Nom de la plante	Famille de la plante	Références
Diterpène	Racines	<i>Viguiera arenaria</i> Baker	Asteraceae	[136]
Diterpène Glycosylé	Feuilles	<i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni)	Asteraceae	[137]
Sesquiterpène	Toutes les parties	<i>Heteropappus altaicus</i> (willd.)	Asteraceae	[138]
Sesquiterpène lactones vernolide et vernodaline	Feuilles	<i>Vernonia colorata</i> (Willd.)	Asteraceae	[139]
Triterpénoïde	Feuilles	<i>Ligustrum lucidum</i> Ait.	Oleaceae	[140]
		<i>Orthosiphon stamineus</i> , Benth	Lamiaceae	[141]
		<i>Lippia</i>	Verbenaceae	[187]

		<i>multiflora</i>		
--	--	-------------------	--	--

A decorative scroll frame with a light gray background and a black border. The frame has a vertical scroll on the left and a horizontal scroll on the top right, both with a light gray fill and a black outline. The text is centered within the frame.

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE I : MATERIEL

I-MATERIEL VEGETAL

Lors du criblage d'activités biologiques, *Santaloïdes afzelii* et les amandes de *Mangifera indica* ont été sélectionnés pour une investigation phytochimique approfondie à cause de leurs propriétés antioxydantes et activités antibactériennes élevées.

Le matériel végétal est constitué de feuilles, graines et écorces de *Santaloïdes afzelii* (connaraceae) et des amandes du noyau du fruit de *Mangifera indica*.

Santaloïdes afzelii n'a pas fait l'objet d'étude phytochimique à notre connaissance. Les travaux présentés ici concernent l'isolement et l'identification de composés organiques des différents organes.

Mangifera indica a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques. Tous les organes ont été étudiés, mais très peu d'études phytochimiques concernent les amandes du noyau. Il s'agit dans cette étude d'extraire les huiles des amandes, de les caractériser en vue de les valoriser. Les tourteaux résultant sont également étudiés afin d'envisager leurs éventuelles valorisations.

I-1-Amandes du noyau de *Mangifera indica*

Les fruits mûrs de *Mangifera indica* ont été récoltés en Avril 2008, dans un verger de Yamoussoukro dans le centre de la Côte d'Ivoire. Ils sont acheminés au LAPISEN. Après consommation de la pulpe, les noyaux de mangues sont débarrassés de leurs enveloppes (Figure 16), puis séchés pendant 5 jours au soleil et 48 heures à 50°C à l'étuve. Les amandes sèches sont broyées et conservées au réfrigérateur à 4°C.



(A)Opération d'épluchage (B)Noyau débarrassé de la pulpe (C) Ouverture du noyau (D)Amande obtenue

Figure 16: Photographie des étapes d'obtention des noyaux de mangue

I-2-Différents organes de *Santaloïdes afzelii*

Les organes (feuilles, écorces et graines) de *Santaloïdes afzelii* ont été récoltés en novembre 2009, à Korhogo dans le nord de la Côte d'Ivoire. La plante a été identifiée par le

Professeur AKE Assi du Centre National Floristique de l'Université Félix HOUPOUET BOIGNY d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Ils sont acheminés en moins de 16 heures au LAPISEN. Les différents organes sont séparés et séchés dans une salle à l'abri du soleil à température ambiante pendant 30 jours. Les différents organes séchés sont broyés et conservés au réfrigérateur à 4°C.

II-MATERIEL DE LABORATOIRE

II-1- Colonne Chromatographique CC

Le fractionnement des extraits est réalisé à l'aide des colonnes chromatographiques sur gel de Silice 63-200µm et de Séphadex LH20.

II-2- Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

Une HPLC (Annexe) équipée d'un passeur d'échantillons, d'une boucle d'injection 20 µL, d'un détecteur à barrette de diode et d'une colonne RP-18, 5µm (150 mm x 4,6 mm), est utilisée pour l'analyse des extraits polaires.

II-3- Couplage GC-MS

Une GC/MS (Annexe) muni d'un injecteur split/splitless, d'une colonne capillaire BP-X5 et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) est utilisée pour l'analyse des extraits apolaires.

II-4- Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Un spectromètre de type Bruker, 400MHz (Annexe) a été utilisé pour les analyses RMN.

II-5- Ultraviolet (UV).

Un spectrophotomètre UV-visible JASCO V-530 (Annexe), équipé d'un enregistreur de spectres est utilisé pour la quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux des extraits.

II-6- Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

Des plaques de gel de silice (Silicagel 60 Å) à support en aluminium prêtes à l'emploi, sont utilisées pour la chromatographie sur couche mince.

CHAPITRE II: METHODES

Cette partie décrit les méthodes mises en œuvre pour le screening phytochimique, l'extraction, l'identification et la quantification ainsi que les caractéristiques des solutions d'extraction.

I-EXTRACTION

Une masse de poudre du matériel végétal est introduite dans un ballon puis macérée avec une quantité d'hexane distillé sous agitation pendant 24 heures. Les macérés obtenus sont filtrés sur du coton puis sur du papier filtre. La même opération est répétée 2 fois sur le marc obtenu. Les différents filtrats sont réunis et concentrés à l'évaporateur rotatif à 40°C. Le résidu brut obtenu constitue l'extrait à l'hexane (E_{Hexane}).

Le marc est séché et extrait dans les mêmes conditions avec un mélange éthanol/eau (70/30 : v/v). L'extrait éthanolique ($E_{\text{EtOH } 70\%}$) est dissous dans l'eau et est fractionné par extraction liquide/liquide (3 fois) en utilisant successivement le dichlorométhane (fraction $F_{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$) et l'acétate d'éthyle (fraction F_{AcOEt}). La phase aqueuse épuisée constitue la fraction F_{Aqueuse} .

Les différentes fractions (fraction $F_{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$ et fraction F_{AcOEt}) sont concentrées à l'évaporateur rotatif à 40°C et la fraction F_{Aqueuse} est lyophilisée. Les extraits et fractions sont conservés au congélateur à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation.

La figure 17 résume le schéma d'extraction et de fractionnement.

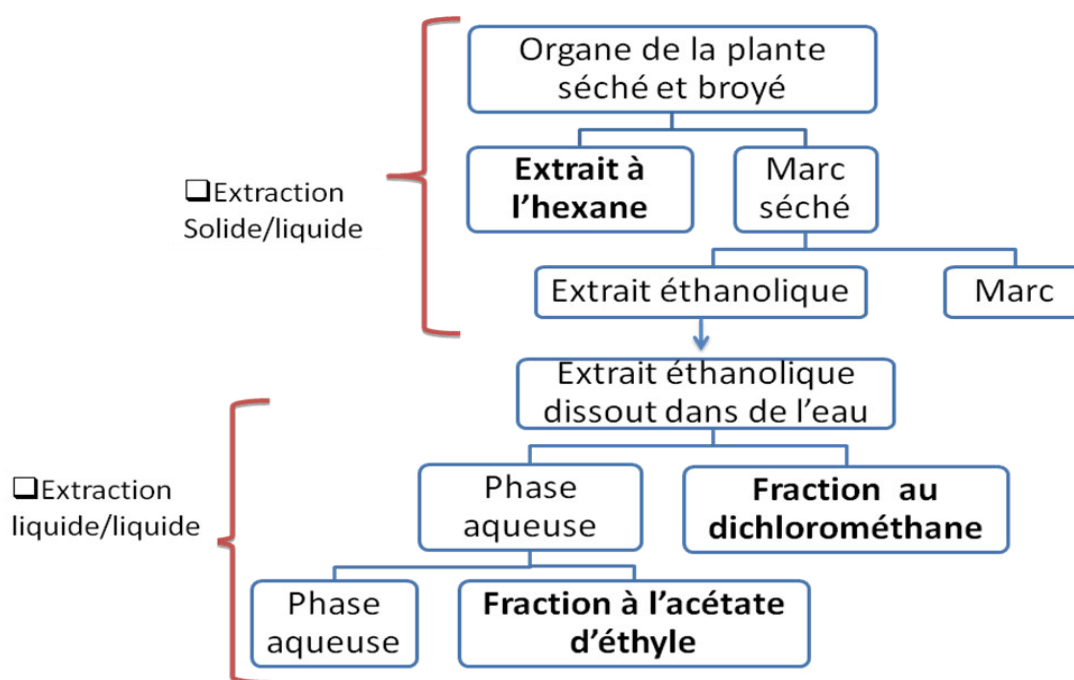


Figure 17: Schéma d'extraction et de fractionnement des métabolites secondaires

II-SCREENING PHYTOCHIMIQUE

Les analyses chimiques préliminaires effectuées permettent d'avoir une idée générale sur les différentes familles de métabolites secondaires présentes dans les plantes. Elles sont basées sur des tests consistant en l'apparition de coloration ou de précipités spécifiques et caractéristiques des classes de métabolites secondaires à l'aide de réactifs appropriés[102]. Tous les tests sont repris trois fois au moins.

II-1-Test de détection des polyphénols

Les substances polyphénoliques constituent le groupe le plus important des métabolites secondaires des végétaux. Cependant, la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié un groupement hydroxyle est fondamentale pour les composés de ce groupe.

Dans un tube à essai contenant 5 mL d'infusé à 5% (5g de broyat dans 100 mL d'eau bouillante) est ajouté 1 mL d'une solution aqueuse diluée de trichlorure de fer (FeCl_3) à 1%. En présence de composés polyphénoliques, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

II-1-1-Test de détection des tanins

Pour caractériser la présence de tanins catéchiques, 1 mL d'acide chlorhydrique concentré est ajouté à 5 mL d'infusé à 5% contenus dans un tube à essai. L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 15 mn. En présence de tanins catéchiques, il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.

La différenciation des tanins (catéchiques et galliques) est obtenue par la réaction de Stiasny. 30 mL d'infusé à 5% contenus dans un tube à essai sont ajoutés 15 mL de réactif de Stiasny (mélange de 10 mL de formaldéhyde à 40% et de 5 mL d'acide chlorhydrique (HCl) concentré). L'ensemble est chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 mn. L'obtention d'un précipité est l'indication de la présence de tanins catéchiques. Le mélange est filtré et le filtrat est saturé avec de l'acétate de sodium pulvérisé. Après ajout de 1 mL d'une solution de FeCl_3 à 1%, le développement d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

II-1-2- Test de détection des flavonoïdes

Ce sont des pigments universels des végétaux responsables de la coloration des fruits, des fleurs et parfois des feuilles. Les flavonoïdes se caractérisent par la réaction à la cyanidine.

Dans un tube à essai contenant 5 mL d'infusé à 5% sont ajoutés 5 mL d'alcool chlorhydrique (mélange de même volume de l'alcool à 95°, de l'eau distillée et de HCl concentré), 1 mL d'alcool isoamylique puis quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose-orangée (flavones) ou rose-violacée (flavanones) ou rouge (flavonones, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques. La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aures, les catéchines et les isoflavones.

II-1-3- Test de détection des leucoanthocyane

Les leucoanthocyanes se caractérisent par la réaction à la cyanidine sans ajout de copeaux de magnésium avec un chauffage pendant 15 min au bain-marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge-cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

II-2- Test de détection des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques et présentant une forte activité pharmacologique.

Dans un erlenmeyer de 250 mL contenant 10 g de poudre végétale sont ajoutés 50 mL d'une solution d'acide sulfurique (H_2SO_4) diluée au 1/10. Le mélange est agité et macéré pendant 24 heures à la température ambiante du laboratoire puis filtré sur papier.

Un (1) mL de filtrat est introduit dans 2 tubes à essai. Dans les tubes 1 et 2 sont ajoutées respectivement 5 gouttes de réactif de Mayer et 5 gouttes de réactif de Dragendorff. La formation de précipité caractérise les alcaloïdes.

II-3- Test de détection des quinones

Les quinones existent sous deux formes (libres et combinées). Les premières sont directement mises en évidence par la réaction de Bornträger tandis que les secondes doivent être hydrolysées avant leur mise en évidence.

Introduire dans un tube à essai 1 mL d'extrait chloroformique, ajouter 1 mL de NH_4OH dilué puis agiter. La coloration rouge/violet indique la présence d'anthraquinones libres.

A une partie du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, ajouter 5 mL de solution d'acide chlorhydrique dilué au 1/5. L'ensemble est porté au bain-marie bouillant dans un tube à essais pendant 30 mn. Après refroidissement, ajouter 3 à 4 gouttes de FeCl_3 à 10 % et chauffer le mélange pendant 5 mn au bain-marie. Refroidir l'hydrolysât et extraire avec 5 mL de chloroforme. A 1 mL de cet extrait chloroformique, ajouter 1 mL de NH_4OH dilué puis agiter. La coloration rouge/violet indique la présence d'anthraquinones combinées.

II-4-Test de détection des saponines

Introduire 1 g de poudre végétale dans un erlenmeyer de 250 mL. Ajouter 100 mL d'eau distillée. Chauffer légèrement le mélange. Filtrer, refroidir et ajuster à 100 ml avec de l'eau distillée. Dans un tube à essai, introduire 20 mL du filtrat et agiter vigoureusement pendant 15 secondes. Placer le tube verticalement pendant 15 minutes. Au bout de cette période, si la mousse persiste, la drogue végétale contient des saponines.

II-5- Test de détection des stérols et terpènes

Les stérols et terpènes ont été mis en évidence par la réaction de Liebermann Burchard. Un volume de 5 mL de la solution à analyser est évaporé à sec dans une capsule sur un bain de sable. Le résidu obtenu est dissout à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ puis transvasé dans un tube à essai auquel est ajouté 0,5 mL d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. La réaction est positive s'il y a l'apparition d'un anneau pourpre ou violet virant au bleu puis au vert.

III-ANALYSES COLORIMETRIQUES DES ECHANTILLONS

Les analyses quantitatives des polyphénols et flavonoïdes ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre UV-visible. Pour le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux, nous avons réalisé deux types d'extraits [71]: l'extrait à l'acide sulfurique à 0,01N et au méthanol.

Une masse de broyat végétal est mise à macérer pendant 4h dans le milieu d'extraction, avec un ratio $R = 1/100$ (masse/volume).

III-1- Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode décrite par Wood *et coll.* en 2002 [142].

Un volume de 2,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au $1/10^e$ est ajouté à 30 μ L d'extrait. Le mélange est maintenu pendant 2 min à l'obscurité à la température ambiante puis 2 mL de carbonate de sodium (75 g.L^{-1}) y sont ajoutés. La solution est alors incubée à 50°C pendant 15 min. La lecture de l'absorbance est réalisée au spectrophotomètre UV-visible à $\lambda=760 \text{ nm}$. L'acide gallique est utilisé comme standard de référence pour la quantification des polyphénols totaux exprimés en mmol.L^{-1} d'équivalent acide gallique ($\text{mmol.L}^{-1} \text{ AG. eq}$).

III-2- Flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée selon la méthode décrite par Marinova *et coll.* en 2005 [143].

Un volume de 0,3 mL de nitrite de sodium (NaNO_2) à 5% (m/v) et 0,3 mL de chlorure d'Aluminium (AlCl_3) à 10% (m/v) sont ajoutés à 1 mL d'extrait. Après 5 min d'incubation, le mélange est mis en contact avec 2 mL de soude (NaOH , 1M). Le volume obtenu est ajusté à 10 mL puis agité vigoureusement. L'absorbance est mesurée à $\lambda=510 \text{ nm}$. La quercétine est utilisée comme standard de référence pour la quantification des flavonoïdes totaux exprimés en mmol.L^{-1} d'équivalent quercétine ($\text{mmol.L}^{-1} \text{ Quer eq}$).

IV- METHODES CHROMATOGRAPHIQUES

IV-1- Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) est employée dans le suivi des purifications et permet de vérifier la présence et le degré de pureté des produits étudiés. Une plaque de CCM se compose d'un support en aluminium, en plastique ou en verre, sur lequel

est fixée une fine couche d'adsorbant (silice, cellulose, alumine, polyamide) qui est la phase stationnaire.

L'échantillon à étudier, déposé à l'état liquide par appositions successives au moyen d'une micropipette en verre et éventuellement séché par ventilation sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque. Le comportement de chaque molécule sur la plaque dépend des interactions existant entre soluté, phase mobile et phase stationnaire. La CCM est généralement considérée comme une technique de chromatographie d'adsorption, mais le partage peut intervenir, dans le cas de l'utilisation d'une phase stationnaire liquide sous forme de film.

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son R_f (Rapport frontal ou référence frontale) qui est le rapport de la distance parcourue par cette molécule sur celle parcourue par la phase mobile (front du solvant). Nous utilisons essentiellement des plaques de gel de silice (Silicagel 60 Å, 70-200µm) à support en aluminium prêtes à l'emploi. Elles sont imprégnées d'un réactif permettant une meilleure visibilité des molécules absorbant à 254 nm.

Pour cette étude, les systèmes de solvants les plus couramment employés avec ces plaques sont pour les extraits apolaires le mélange éther de pétrole/acétate d'éthyle (4:1) et pour les extraits polaires les mélanges acétate d'éthyle/méthanol/eau (100/12/8) ou dichlorométhane/méthanol (4/1).

Les plaques CCM sont analysées en lumière visible, sous fluorescence UV (254 et 356 nm) et révélées par des réactifs appropriés.

IV-2- Chromatographie liquide haute performance

La Chromatographie liquide haute performance (HPLC) repose sur les mêmes principes de base que la CCM. Elle est plus complexe et son utilisation nécessite beaucoup de précautions. Un système de HPLC classique comprend les éléments suivants :

- un système de pompage à haute pression (200-300 bars) ;
- un injecteur (manuel ou automatique) pour introduire dans le système à haute pression, l'échantillon solubilisé dans un solvant adéquat et exempt de particules en suspension (risque de colonne bouchée par colmatage) ;
- une colonne contenant la phase stationnaire de granulométrie très fine ;

-
- un détecteur ultraviolet ;
 - une interface permettant de visualiser les signaux enregistrés par le détecteur (intégrateur ou logiciel informatique).

Pour cette étude, les analyses HPLC/UV(DAD) ont été réalisées en phase inverse avec une colonne HPLC de type RP-18 (5µm) Lichro CART® 150-4,6mm. Les solvants A et B sont respectivement l'eau (0,2% TFA) et l'acétonitrile. Le gradient utilisé est : 10 à 20% (B) en 40 min, 20 à 30% (B) en 5 min, 30 à 40% (B) en 5 min, 40 à 45% (B) en 5 min et l'initialisation à 10% (B) pendant 5 min.

Le débit est fixé à 0,8 mL/min, le volume d'injection est fixé à 20µL et la concentration des échantillons est de 0,1 mg/mL. La détection se fait à 254, 280, 325 et 530 nm.

IV-3- Chromatographie sur colonne ouverte

Plusieurs types de phases ont été mis en œuvre pour les colonnes en verre. La taille et le diamètre de la colonne sont choisis en fonction de la quantité d'échantillon à purifier et de la résolution souhaitée. La quantité de phase stationnaire utilisée est généralement 30 à 50 fois supérieure à la quantité d'échantillon déposée. L'extrait à fractionner peut être déposé en phase liquide concentrée ou en phase solide.

Pour la chromatographie d'adsorption, la phase stationnaire utilisée est la silice 60 Å (15-40 µm) préalablement activée pendant 1heure à l'étuve à 100°C. La chromatographie d'exclusion est réalisée sur gel de Sephadex LH 20.

IV-4- Chromatographie en Phase Gazeuse

Les analyses ont été réalisées sur un chromatographe Hewlett-Packard 6890 muni d'un injecteur split/splitless et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). La colonne capillaire de type BP-X5 (5% phényle et 95% méthylpolysiloxane) mesure 30 m de long, et présente un diamètre intérieur de 0,25 mm et une épaisseur de film de 0,25 µm. Le gaz vecteur est l'hélium, les débits sont les suivants :

- Gaz vecteur (1 mL.min⁻¹) ;
- Air (400 mL.min⁻¹) ;
- Hydrogène (30 mL.min⁻¹).

Les conditions utilisées sont les suivantes :

-
- Température de l'injecteur (250°C) ;
 - Température du détecteur (300°C) ;
 - Programme de colonne (température initiale 60°C, puis montée en température de 5°C/min jusqu'à 300°C).

IV-5- Couplage Chromatographie en phase Gazeuse-Spectrométrie de Masse

L'appareil utilisé est un spectromètre Thermo Finnigan AUTOMASS couplé à un chromatographe en phase gazeuse Trace GC Thermo Finnigan.

Les conditions de chromatographie sont les mêmes que celles décrites pour la (CPG). L'ionisation se fait par impact électronique et la séparation des ions dans un filtre quadripolaire. Les conditions de l'analyse en spectrométrie de masse sont les suivantes :

- Température de l'injecteur (300°C) ;
- Température de la source (200°C) ;
- Température de la ligne de transfert (290°C) ;
- Energie d'ionisation (70eV).

V- METHODES PHYSICO-CHIMIQUES

V-1-Recrystallisation

La recrystallisation est une méthode de purification utilisée pour les composés sous forme de cristal ou de poudre (état microcristallin).

Le principe est basé sur la solubilité des mélanges à séparer. En effet, lorsqu'on veut isoler ou purifier un composé présent dans un mélange par cette méthode, la première étape consiste à trouver le meilleur solvant de recrystallisation.

On appelle meilleur solvant de recrystallisation, le solvant dans lequel le produit à recrystalliser est peu soluble à froid et très soluble à chaud alors que les impuretés sont insolubles à chaud.

Par chauffage suivi immédiatement de filtration, on élimine une partie des impuretés insolubles à chaud. Le refroidissement permet au produit de cristalliser. La filtration suivante permet d'éliminer le solvant et la partie des impuretés solubles à froid.

V-2- Spectrométrie de masse

Les spectres de masse en electrospray (ESI-SM) ont été enregistrés en mode positif sur un spectromètre de masse SM-QP 2010 de type Shimadzu et rapportés dans les unités de la masse à la charge (m/z). Le mode de l'ionisation utilisé a été l'impact électronique (EI, 70eV).

Les spectres de masse en mode "electro-spray" à haute résolution (HRESI-SM) ont été enregistrés en mode positif par un spectromètre quadripolaire hybride global de temps de vol "Time of Flight" ou Q-TOF Ultima (Waters-Micromass).

V-3- Spectrophotométrie UV-visible

Les spectres UV des composés ont été mesurés lors des analyses HPLC/UV grâce au détecteur à barrettes de diodes du système HP 1100. Un spectrophotomètre UV-visible JASCO V- 530, équipé d'un enregistreur de spectres est utilisé pour la quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux des extraits.

V-4- Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été mesurés à 400 MHz et 100 MHz respectivement, avec des appareils de type Brüker Avance 400.

Les échantillons ont été solubilisés dans les solvants deutérés CDCl_3 , DMSO- d_6 , MeOH- d_4 et D_2O . Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS). Les constantes de couplage sont exprimées en Hz. Les programmes de séquences impulsionsnelles standards fournis par Brüker ont permis de réaliser les expériences bidimensionnelles COSY, HSQC et HMBC.

V-4-1-Corrélations homonucléaires

La COSY ($^1\text{H} - ^1\text{H}$) est une expérience qui fournit des informations sur les couplages homonucléaires $^2J_{\text{HH}}$ et $^3J_{\text{HH}}$ (protons séparés par deux ou trois liaisons) entre les protons voisins et ceux qui sont adjacents.

V-4-2-Corrélations hétéronucléaires

La HSQC ($^1J_{\text{HC}}$) est une technique qui permet d'observer les couplages entre les carbones et les protons qui leur sont directement liés.

La HMBC ($^2J_{\text{HC}}$, $^3J_{\text{HC}}$) permet la détection des couplages longue distance.

V-5-Caractéristiques physico-chimiques des huiles et beurres

Les caractéristiques physico-chimiques ont été déterminées selon les normes AFNOR [144, 145].

V-5-1-Indice d'acide

L'indice d'acide (UICPA 2.201 ou ISO 660) est le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans un gramme (1g) de corps gras. Plus explicitement, l'indice d'acide permet de déterminer le taux d'acides gras libres présents dans l'huile. Il est exprimé en milligrammes de KOH par gramme d'huile.

V-5-1-1-Principe

Les acides gras libres de l'huile sont neutralisés à froid par un excès de potasse alcoolique selon la réaction suivante :



V-5-1-2-Mode opératoire

Dans un erlenmeyer, 0,4g d'huile est dissout dans 10mL d'un mélange d'isobutanol et d'éthanol (1/1 : volume/volume). Après ajout de 10mL de potasse alcoolique le mélange est agité. L'excès de potasse alcoolique est dosé en présence de phénolphthaléine par une solution d'acide chlorhydrique de normalité N jusqu'à décoloration.

Un essai à blanc est effectué dans les mêmes conditions et l'indice d'acide (I_a) se calcule par les formules des relations 1 et 2.

$$\boxed{I_a = \frac{56,1 \times N \times (V' - V)}{m}} \quad (1) \text{ ou en pourcentage } \boxed{\% A = \frac{282 \times N \times (V' - V)}{10m}} \quad (2)$$

Avec V et V' les volumes respectifs de la solution d'acide chlorhydrique versée pour la prise d'essai et pour l'essai à blanc;

N : la normalité en meq.g/ mL de solution l'acide chlorhydrique ;

m : la masse en gramme de la prise d'essai ;

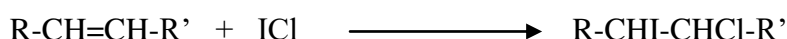
56,1 et 282 : les masses molaires (en g/mol) respectives de la potasse et de l'acide oléique.

V-5-2-Indice d'iode

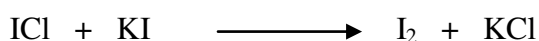
L'indice d'iode (NF 660, UICPA 2.205, ISO 3961) représente le nombre de grammes d'iode fixé par 100g de corps gras. C'est une addition pure et simple de l'iode sur les doubles liaisons et qui caractérise l'insaturation du corps gras. Cet indice indique le degré de saturation de la matière grasse.

V-5-2-1- Principe

Une prise d'essai est dissoute dans du tétrachlorure de carbone suivi de l'addition du réactif de Wijs en excès. La réaction résultante est la suivante :



L'excès d'ICl réagit avec l'iodure de potassium selon la réaction:



Le diiode (I_2) libéré est dosé par le thiosulfate de sodium.

V-5-2-2-Mode opératoire

Dans un erlenmeyer, 0,5g d'huile est dissout dans 20mL de tétrachlorure de carbone puis 25mL de réactif de Wijs sont ajoutés. L'erlenmeyer est bouché, agité lentement et laissé à l'obscurité pendant une heure. Après le retrait, 20mL d'iodure de potassium et 150mL d'eau distillée y sont ajoutés. Le diiode (I_2) libéré est titré par la solution de thiosulfate de sodium. On utilise l'empois d'amidon vers la fin du dosage.

L'indice d'iode est donné par la formule de la relation (3).

$$I_i = \frac{12,69 \times C \times (V' - V)}{m} \quad (3)$$

Où V' est le volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour l'essai à blanc ;

V est le volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour la prise d'essai ;

C est la concentration en mol/L de la solution de thiosulfate de sodium utilisée ;

m est la masse en gramme de la prise d'essai ;

12,69 est le dixième de la masse molaire de l'iode.

V-5-3-Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (NE 1-2-50, UICPA 2.501 ou AOCS Cd 8b-90 (97) ou ISO 3961) mesure le nombre de microgrammes d'oxygène actif pour un kilogramme de corps gras c'est-

à-dire qu'il informe sur la capacité qu'a la matière grasse à s'oxyder. En présence de l'oxygène de l'air, les acides gras insaturés entrant dans la composition des corps gras s'oxydent en donnant des peroxydes. Ce phénomène a lieu lors d'un long stockage des corps gras. La détermination de la quantité des peroxydes d'un corps gras montre son altération par oxydation.

V-5-3-1-Principe

Un corps gras en solution dans l'acide acétique et le chloroforme est traité par une solution d'iodure de potassium. L'iode libéré est dosé par la solution de thiosulfate de sodium.

V-5-3-2- Mode opératoire

Dans un erlenmeyer, 0,7g d'huile est ajouté à 10 mL de chloroforme puis l'ensemble est agité rapidement. Après ajout de 15mL d'acide acétique et 1mL de la solution d'iodure de potassium, la solution obtenue est bouchée, agitée pendant une minute et placée à l'obscurité pendant 5 minutes. L'eau distillée (15mL) est ajoutée et le mélange est titré sous agitation vigoureuse par la solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré. Un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions. L'indice de peroxyde (I_p) est donné par la formule de la relation (4).

$$I_p = \frac{10 \times (V - V')}{m} \quad (4) \quad \text{Avec } V \text{ et } V' \text{ les volumes respectifs de la prise d'essai et de l'essai à blanc et } m \text{ la masse de la prise d'essai.}$$

V-5-4-Indice de réfraction

L'indice de réfraction (n) (UICPA 2.102 ou ISO 6320) d'un milieu transparent est défini par le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide (c) et la vitesse dans ce milieu (v_1). Sa détermination peut servir à identifier un liquide organique et contrôler sa pureté.

L'indice de réfraction diminue d'environ 0,00045 par degré avec un accroissement de la température au voisinage de 20°C. Pour ramener à 20°C l'indice de réfraction mesuré à une autre température, on applique la formule de la relation (5).

$$n^{20} = n^t + 0,00045 \times (t-20) \quad (5)$$

Avec n^{20} et n^t les indices de réfraction respectifs à 20°C et à la température t .

Les indices de réfraction des huiles ont été déterminés à l'aide d'un réfractomètre de marque OPL.

V-5-5-Indice de saponification

L'indice de saponification (NF T 60-220, UICPA 2.202 ou ISO 3657) est le nombre de milligrammes de potasse caustique nécessaire pour transformer en savon les acides gras libres ou combinés d'un gramme (1g) de corps gras. Il permet d'évaluer la capacité de la matière grasse à être utilisée en savonnerie.

V-5-5-1- Principe

Les acides gras libres et estérifiés de la matière grasse sont neutralisés à chaud par un excès de solution de potasse alcoolique selon la réaction suivante.



V-5-5-2-Mode opératoire

Dans un erlenmeyer contenant 2g d'huile sont ajoutés 25mL de la solution de potasse alcoolique. Le mélange est porté à reflux pendant une heure. La solution savonneuse obtenue est titrée à chaud avec la solution d'acide chlorhydrique en présence de phénolphthaléine. Un essai à blanc est réalisé parallèlement.

L'indice de saponification (I_s) est donné par la formule de la relation (6).

$$I_s = \frac{56,1 \times C \times (V_0 - V)}{m} \quad (6)$$

Avec V_0 et V les volumes en mL respectifs des solutions d'acide chlorhydrique versées pour l'essai à blanc et pour la prise d'essai ;

C : la concentration en mol/L de la solution d'acide chlorhydrique utilisée ;

m : la masse en gramme de la prise d'essai ;

56,1 est la masse molaire en g/mol de la potasse alcoolique.

V-5-6-Teneur en eau et en matières volatiles

La teneur en eau et en matières volatiles (NFT 60-201, UICPA 2.601 ou ISO 662) représente les quantités d'eau et de matières volatiles contenues dans l'huile.

V-5-6-1-Principe

Le séchage à 105°C d'une prise d'essai préalablement pesée permet, après refroidissement et une nouvelle pesée, de déterminer la teneur en eau et en matières volatiles.

V-5-6-1-Mode opératoire

Un bécher contenant de l'huile est pesé et porté à l'étuve à 105°C pendant 30 minutes. Après son retrait de l'étuve, il est refroidi au dessiccateur puis pesé jusqu'à stabilisation de la masse de l'échantillon.

La teneur en eau et en matières volatiles (T_e) se détermine par la formule de la relation (7).

$$T_e = 100 \frac{m_i - m_f}{m_i} \quad (7) \quad \text{Où } m_i \text{ et } m_f \text{ sont les masses initiale et finale respectives de l'huile}$$

V-5-7-Densité

La densité ou masse spécifique (NF 6883, ISO 6883) représente la masse de l'unité de volume à une température T.

V-5-7-1-Principe

Des volumes identiques d'huile et d'eau sont pesés. La détermination du rapport des masses respectives de l'huile et l'eau permet de déterminer la densité de l'huile.

V-5-7-2-Mode opératoire

Des volumes d'un (1) mL d'huile sèche et d'eau sont pesés. Les masses déterminées respectivement pour la prise d'essai et l'eau distillée permettent de déterminer la densité (d). Elle a été déterminée à la température ambiante du laboratoire (28°C) selon la formule de la relation (8).

$$d = \frac{\rho_{huile}}{\rho_{eau}} \quad (8) \quad \text{Avec } \rho_{huile} \text{ et } \rho_{eau} \text{ les masses volumiques respectives de l'huile et de l'eau distillée.}$$

V-5-8-Insaponifiables

Les insaponifiables (NF T60-205N ou :1975) sont les matières qui ne sont pas décomposées par la potasse et qui restent solubles dans les solvants habituels. Cette fraction, insoluble dans l'eau, renferme des stérols et des hormones (stéroïdes), des vitamines liposolubles (A, D, E, K), des alcools de la série grasse de poids moléculaires élevés et des cires.

V-5-8-1-Principe

Après la saponification d'un corps gras, la solution contient en plus de la potasse alcoolique en excès et du savon, du glycérol et des constituants de l'insaponifiable. Ces derniers, assez solubles dans l'éthanol à 95 % et moins dans l'éthanol à 50 % sont extractibles de leurs solutions hydro alcooliques par l'hexane. Les extraits, après élimination du solvant, sont séchés puis pesés.

V-5-8-2- Mode opératoire

Dans un ballon de 250 mL, sont successivement ajoutés 5 g d'huile, 50 mL de solution de potasse alcoolique (0,5N) et la pierre ponce. Le mélange est porté à reflux pendant une heure suivi de l'ajout de 50 mL d'eau distillée. Après agitation et repos, le contenu du ballon est transféré dans une ampoule à décanter et le ballon est rincé avec 50 mL d'hexane pour récupérer le maximum de produit. L'ampoule est énergétiquement agitée et laissée au repos jusqu'à la séparation complète des deux phases. La solution savonneuse est récupérée dans une deuxième ampoule puis rincée trois fois avec 50 mL d'hexane. Les trois extraits sont réunis dans une même ampoule, lavés avec 50 mL d'alcool éthylique à 50% en agitant pendant une minute et laissés au repos (le lavage est repris trois fois). L'élimination de la solution hydro alcoolique est suivie de l'ajout du carbonate de sodium à l'hexane. Après filtration, le filtrat est transféré dans un ballon à fond rond préalablement pesé et le solvant est éliminé au rotavapor. Le ballon est séché à l'étuve à 105°C pendant 45 minutes, refroidis au dessiccateur puis pesé.

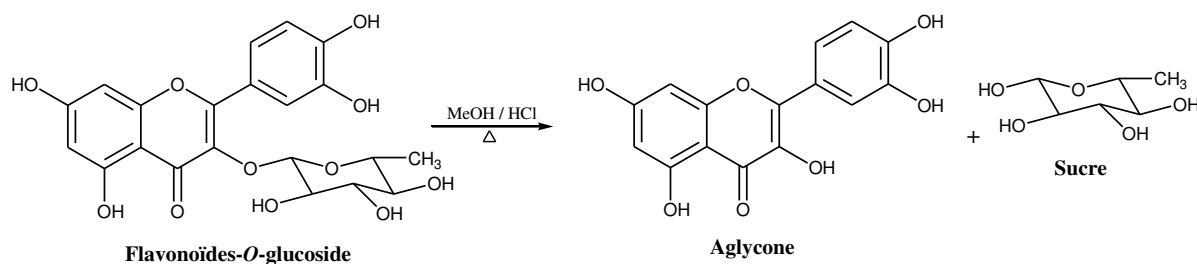
La teneur en insaponifiables est exprimée dans la formule de la relation (9).

$$\boxed{\% \text{ d'insaponifiables} = 100 \frac{m_1}{m_0}} \quad (9)$$

Où m_0 et m_1 sont les masses respectives en gramme de la prise d'essai et du résidu sec.

V-6-Hydrolyse acide des flavonoïdes O-glycosylés

Les aglycones des flavonoïdes O-glycosylés présents dans l'extrait polaire sont obtenus par hydrolyse acide. Les extraits au méthanol ou à l'éthanol sont chauffés à reflux pendant environ 2h dans une solution méthanolique acide (MeOH / HCl (8%) : 5 /4). Les aglycones sont ensuite extraits par l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec de l'eau jusqu'à atteindre un pH neutre. Après évaporation du solvant, le résidu est repris dans le méthanol pour la suite des analyses.



V-7-Hydrolyse basique des lipides

V-7-1-Principe

L'hydrolyse de l'huile est basée sur la transformation des triglycérides en acide (figure 18). Les réactions sont suivies par chromatographie sur couche mince (CCM).

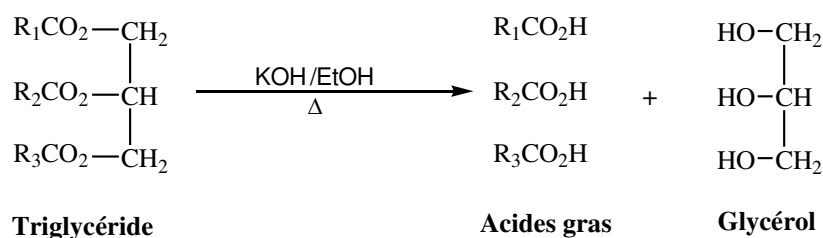


Figure 18: Schéma de la réaction d'hydrolyse des triglycérides

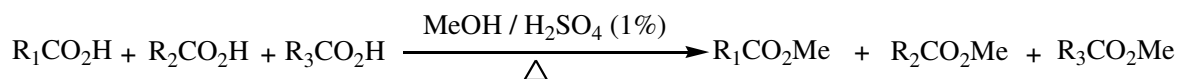
V-7-2- Mode opératoire

Dans un ballon tricol à fond rond, sont successivement introduits 0,1g d'huile, 10mL d'éthanol à 95% et 5mL de la solution d'hydroxyde de potassium (3M). Le mélange réactionnel est chauffé à reflux et la réaction est suivie par CCM jusqu'à la disparition totale des triglycérides (éluant : Acétate d'éthyle/Dichlorométhane : 4/1). Après une heure de réaction, le chauffage est arrêté et le milieu est laissé au repos jusqu'à refroidissement. L'eau (30mL) est ajoutée et le contenu du ballon est transvasé dans une ampoule à décanter. Le mélange est extrait avec l'éther éthylique (3x15mL) pour récupérer les insaponifiables. La phase aqueuse est acidifiée à pH acide avec une solution d'acide chlorhydrique (6M) et extraite avec l'éther éthylique (3x15mL). La phase organique contenant les acides gras libres est lavée à l'eau (3x15mL) pour éliminer la glycérine puis séchée sur sulfate de magnésium anhydre (MgSO_4). Après filtration et évaporation, les acides gras libres sont récupérés.

V-8-Méthylation des acides gras

V-8-1-Principe

La réaction d'estérification des acides gras par le méthanol en présence d'un acide fort (H_2SO_4) est :



V-8-2-Mode opératoire

Dans un ballon tricol à fond rond, sont successivement introduits 5g d'acides gras et 50mL d'une solution d'acide sulfurique à 1% dans le méthanol. Le mélange est chauffé à reflux et suivi par CCM (éluant : Dichlorométhane). Après 25 minutes, la CCM indique que tous les acides gras ont été estérifiés. Le chauffage est interrompu et 30mL d'eau sont ajoutés et l'ensemble est refroidi naturellement. Le contenu du ballon est transvasé dans une ampoule à décanter. Les esters méthyliques sont extraits avec de l'hexane (3x15mL). La phase organique est lavée avec de l'eau (2x20mL) puis séchée sur sulfate de magnésium anhydre. Après filtration et élimination du solvant, les esters méthyliques sont récupérés ($R_F = 0,83$ avec le dichlorométhane).

A decorative scroll frame with a black outline and grey shaded scroll ends on the left and right sides.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE I : ANALYSES PHYTOCHIMIQUES

I-EXTRACTION

Les valeurs du tableau 9 montrent que l'éthanol extrait au moins 1,5 à 9,1 fois plus de composés que l'hexane.

Les amandes de *M. indica*, les feuilles, les graines et les écorces de *S. afzelii* contiennent respectivement 11,00% ; 1,01% ; 2,15% et 0,58% de substances extractibles à l'hexane. Les amandes de *M. indica* et les écorces de *S. afzelii* sont respectivement les plus riches et les plus pauvres en composés.

L'examen du fractionnement de l'extrait à l'éthanol montre que le dichlorométhane récupère moins de composés que l'acétate d'éthyle. Les composés sont donc majoritairement polaires. Les proportions des composés récupérés par les deux solvants organiques utilisés (CH_2Cl_2 et AcOEt) dans les amandes de *M. indica*, les feuilles, les graines et les écorces de *S. afzelii* sont respectivement de 9,19% ; 30,09% ; 18,50% ; 18,67%. Les feuilles de *S. afzelii* sont donc les plus riches en composés extractibles par ces solvants. Les graines et les écorces de *S. afzelii* contiennent des quantités équivalentes de ce type de composés.

Dans tous les cas, la majorité des composés de l'extrait à l'éthanol ont été piégés par l'eau. Les masses des extraits et fractions sont consignées dans le tableau 9.

Tableau 9: Résultats des extractions et fractionnements des deux plantes

Extraits ou fractions	ORGANES ETUDIES			
	Amandes de <i>M. indica</i> (500g)	Feuilles de <i>S. afzelii</i> (450g)	Graines de <i>S. afzelii</i> (300g)	Ecorces de <i>S. afzelii</i> (400g)
E hexanique	55,00g	4,56g	6,45g	2,31g
E EtOH 70%	85,00g	23,00g	10,00g	21,00g
F CH_2Cl_2	1,27g	1,82g	0,45g	0,64g
F AcOEt	6,54g	5,10g	1,40g	3,28g

II-SCREENING PHYTOCHIMIQUE

II-1- Screening phytochimique des feuilles, écorces et graines de *Santaloïdes afzelii*

Le screening phytochimique réalisé sur les feuilles, les écorces et les graines de *Santaloïdes afzelii* présenté dans le tableau 10 révèle une forte présence de composés phénoliques. Nous observons une présence modérée d'alcaloïdes, de stéroïdes et de terpénoïdes dans les feuilles et graines. Les saponines, anthraquinones, terpénoïdes, stéroïdes et alcaloïdes sont sous forme de trace dans les écorces. On observe une absence d'anthraquinones dans les feuilles et les graines de cette plante.

Les résultats du screening sont en accord avec ceux de l'extraction. En effet, les terpénoïdes et stéroïdes, majoritairement extraits par l'hexane sont sous forme de trace dans les écorces et cela justifie la très faible proportion (0,58%) de composés extractibles à l'hexane trouvée dans les écorces.

Tableau 10: Screening phytochimique de *Santaloïdes afzelii*

Substances	Tests	Résultats		
		Feuilles	Graines	Ecorces
Flavonoïdes	Cyanidine	+++	++	+++
Tanins	Chlorure de fer	++	+	+++
Tanins catéchiques	Stiasny	++	+	++
Tanins galliques	Stiasny	+	++	+
Alcaloïdes	Dragendorff	++	++	+
Terpénoïdes et stéroïdes	Liberman Buchard	++	++	+
Saponines	Formation de mousse	+	+	+
Anthraquinones	Ammonium	-	-	+

+++ : forte présence, ++ : présence, + : trace, - : absence

II-2- Screening phytochimique des tourteaux d'amandes de *Mangifera indica*

Les tourteaux d'amandes de *M. indica* représentent le marc obtenu après extraction à l'hexane. Le Screening phytochimique de ces tourteaux présenté dans le tableau 11 révèle la forte présence de tanins galliques. Les terpénoïdes et stéroïdes, anthraquinones et les alcaloïdes sont présents dans les amandes. Les flavonoïdes et saponines sont sous forme de trace. On observe une absence de tanins catéchiques. La présence de terpénoïdes et stéroïdes

pourrait être due à l'huile résiduelle encore présente dans les tourteaux d'amande de mangue et traduirait une extraction insuffisante à l'hexane.

Tableau 11 : Screening phytochimique de l'amande de *Mangifera indica*

Substances	Tests	Résultats
Flavonoïdes	Cyanidine	+
Tanins	Chlorure de fer	+++
Tanins catéchiques	Stiasny	-
Tanins galliques	Stiasny	+++
Alcaloïdes	Dragendorff	++
Terpénoïdes et stéroïdes	Liberman Buchard	++
Saponines	Formation de mousse	+
Anthraquinones	Ammonium	++

+++ : forte présence, ++ : présence, + : trace, - : absence

III-TESTS COLORIMETRIQUES

Le screening phytochimique a montré la forte présence de composés phénoliques. Les polyphénols sont extraits des végétaux soit par des milieux hydro-alcooliques soit par solvants organiques polaires [146].

Les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux des organes des plantes étudiées sont données dans le tableau 12. Deux types d'extraction par macération du matériel végétal ont été utilisés.

Tableau 12: Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux des plantes étudiées

Analyses	Plantes	Extrait H ₂ SO ₄ (0,01N)	Extrait Méthanol
Polyphénols totaux (mg/100g de matière sèche eq. acide gallique)	Feuilles de <i>S. afzelii</i>	66,00	146,50
	Ecorces de <i>S. afzelii</i>	125,50	195,33
	Graines de <i>S. afzelii</i>	63,50	76,66
	Amandes de <i>M. indica</i>	153,50	283,00
Flavonoïdes totaux (mg/100g de matière sèche eq. quercétine)	Feuilles de <i>S. afzelii</i>	16,75	28,00
	Ecorces de <i>S. afzelii</i>	35,00	51,00
	Graines de <i>S. afzelii</i>	16,50	18,50
	Amandes de <i>M. indica</i>	10,00	18,50

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux, entrepris sur les amandes de *M.indica* et les feuilles, écorces et graines de *S. afzelii*, révèle que les polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux sont plus abondants dans l'extrait méthanolique. Ce résultat est en accord avec la forte solubilité des polyphénols (acide phénolique, flavonoïde, anthocyane) dans le méthanol. Le résultat de ce dosage montre également que les amandes de *M.indica* sont plus riches en polyphénol et plus pauvres en flavonoïdes que les feuilles, écorces et graines de *S. afzelii*.

IV-ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE *Mangifera indica*

IV-1-Etude de l'huile de l'amande

Il ressort que les amandes de mangues étudiées ont de faibles teneurs en huile (environ 10%), comparée à celles des graines oléagineuses qui sont de 40 % en moyenne [147, 148]. Sachant que la macération ne permet pas d'extraire la totalité de la matière grasse, ces teneurs pourraient être améliorées.

Les huiles obtenues sont solides à la température ambiante à l'exception de celle de l'espèce Kent. Elles ont une coloration jaune-blanche. Les huiles solides seront appelées « beurres » dans la suite de l'étude.

IV-1-1-Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques des beurres et huiles d'amande de dix (10) variétés de *M. indica*, réalisées à la température ambiante (28°C), sont consignées dans le tableau 13. Les noms des espèces sont ceux donnés par le propriétaire du verger et les vendeuses au marché de Yamoussoukro et confirmés par le botaniste de l'INP-HB de Yamoussoukro.

Il faut noter qu'au cours des opérations d'extractions, les lipides peuvent être modifiés par l'élévation de la température et l'action oxydante de l'air ou par des activités enzymatiques. Ces phénomènes peuvent influencer certains paramètres physico-chimiques.

Les caractéristiques physico-chimiques des beurres et huiles d'amande de différentes variétés de mangues sont comparées à celles d'autres beurres et huiles couramment utilisés en Côte d'Ivoire pour diverses applications (Tableaux 14 et 15).

Tableau 13: Caractéristiques physico-chimiques des beurres et huiles d'amandes de dix variétés de mangues

Variétés de mangues	Rendements (%)	Densités (28°C)	Indices de réfraction	Indices d'acide (mg de KOH/g)	Acidités (%)	Indices d'iode (g d'iode/100g)	Indices de peroxydes (mécq d'O ₂ /kg)	Indices de saponification (mg de KOH/g)	Teneurs en eau et matières volatiles (%)	Teneur en insaponifiables (%)
Rubis	10,16	0,85	1,463	5,41	2,72	46,40	1,40	199,21	1,08	1,90
Kent	7,04	0,87	1,480	27,06	13,60	54,46	4,28	190,29	12,30	0,94
Retard	7,84	0,88	1,461	5,41	2,72	46,86	1,38	187,56	6,84	2,83
Key	8,70	0,87	1,458	7,09	5,44	45,34	2,23	ND	6,52	1,90
Assabonie	9,88	0,95	1,461	10,00	5,03	42,18	5,71	164,17	3,22	1,00
Smith tête de chat	9,19	0,81	1,458	10,00	5,03	36,38	20,71	ND	7,00	2,00
Smith normal	9,22	0,77	1,460	10,00	5,03	37,87	30,71	170,96	1,64	1,10
Palmer	10,61	0,85	1,460	3,33	1,68	37,88	17,50	182,85	7,50	2,00
Gouverneur	7,50	0,81	1,459	2,50	1,26	42,63	12,43	172,73	1,95	2,74
Aravia	8,40	0,81	1,458	5,83	2,93	42,18	7,14	172,45	6,32	1,20

Tableau 14: Caractéristiques physico-chimiques des beurres d'amandes de mangues comparées à celles d'autres beurres couramment utilisés en Côte d'Ivoire

Paramètres	Beurres de mangues	Beurres de Karité	Beurres de Makoré	Beurres de Cacao
Densités (28°C)	0,77 - 0,95	0,90	0,90	0,88 - 0,90
Indices de réfraction	1,458 - 1,463	1,463-1,468	1,465	1,455-1,458
Indices d'acide (mg de KOH/g)	2,50 - 10,00	17,06	13,79	≤ 1,00
Indices d'iode (g d'iode/ 100g)	36,38 - 46,40	57,00-66,00	49,00-55,00	33,00-42,00
Indices de peroxydes (méq d'O ₂ /kg)	1,38 - 30,71	4,35	2,83	≤ 5,00
Indices de saponification (mg de KOH/g)	164,17-199,21	178-193	209 – 220	188 - 200
Teneurs en insaponifiables (%)	1,00 - 2,83	3,00 - 5,00	-	0,30 - 6,34
Teneurs en eau et matières volatiles (%)	1,08 - 7,50	0,25 – 1,67	0,10 - 1,24	≤ 3,00

Tableau 15: Caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'amande de mangue (Kent) comparées à celles d'autres huiles couramment utilisées en Côte d'Ivoire

Paramètres	huile de mangue	Huile de coton	Huile de palme
Densités (28°C)	0,87	0,91 - 0,92	0,89 - 0,90
Indices de réfraction	1,480	1,458-1,466	1,454-1,456
Indices d'acide (mg de KOH/g)	27,06	0,60	10,00
Indices d'iode (g d'iode/ 100g)	54,46	100,00-115,00	50,00 - 55,00
Indices de peroxydes (méq d'O ₂ /kg)	4,28	10,00	1,80 - 3,00
Indices de saponification (mg de KOH/g)	190,29	189 – 198	190 - 209
Teneurs en insaponifiables (%)	0,94	0,80 - 1,50	0,50 - 1,20
Teneurs en eau et matières volatiles (%)	12,30	-	0,05 - 2,00

IV-1-1-1-Indice d'acide

L'indice d'acide nous renseigne sur la teneur en acides gras libres de l'huile. Ses valeurs sont équivalentes à un taux d'acidité exprimé en pourcentage. Les valeurs de l'indice d'acide des beurres d'amandes de mangues varient de 2,50 à 10. Ces valeurs sont inférieures à celles des beurres de Karité (17,06) et de Makoré (13,79) mais se situent dans la même zone que celle du beurre de Cacao ($\leq 1,00$). L'huile de la variété Kent a un indice d'acide de 27,06 largement supérieur à celui des huiles de Coton (0,6) et de Palme (10). Ces valeurs demeurent supérieures à celles admises pour les huiles comestibles (≤ 4 mg de KOH/g d'huile) [149]. Les acides gras indésirables pourraient être éliminés par raffinage de ces beurres et huiles.

IV-1-1-2-Indice de peroxyde

C'est un paramètre très utile pour apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative. Les valeurs d'indice de peroxydes des beurres d'amandes de mangues varient de 1,38 à 30,71. Ces indices sont généralement supérieurs à ceux des beurres de Karité (4,35), de Makoré (2,83) et de Cacao ($\leq 5,00$). Les indices de peroxydes des variétés Smith normal, Smith tête de chat et Palmer sont supérieurs à la valeur admise pour les huiles végétales brutes comestibles (≤ 15 méq/kg d'huile) [150]. Ces valeurs élevées pourraient être dues à l'oxydation des acides gras libres insaturés présents dans les beurres et pourraient entraîner leur rapide détérioration. Toutefois, pour éviter cette oxydation, des antioxydants tels que le ButylHydroxyAnisol (BHA) ou le ButylHydroxyToluène (BHT) pourraient être ajoutés à ces beurres. L'huile de Kent a un indice de peroxyde plus élevé que celui de l'huile de Palme (1,8 - 3,0) mais environ deux fois plus faible que celui de l'huile de Coton (10). Cette valeur respecte la norme pour les huiles végétales brutes comestibles (≤ 15 méq/kg d'huile).

IV-1-1-3-Densité

Les densités des beurres et huiles d'amandes de mangues varient entre 0,77 (Smith normal) et 0,95 (Assabonie). Ces valeurs, à l'exception de celle de la variété Assabonie, sont

inférieures à celles des beurres de Karité (0,9), de Makoré (0,9) et de Cacao (0,88 - 0,90), à celles des huiles de Palme (0,89 - 0,90), de Coton (0,91 - 0,92) et à celles des huiles végétales en général comprises entre 0,91 et 0,96 [149]. Ces faibles valeurs pourraient traduire la présence de composés à chaînes plus courtes, comparativement aux huiles végétales et au beurre de Karité. La densité de l'huile étant influencée par sa composition chimique, on peut conclure que les variétés étudiées pourraient avoir des compositions chimiques voisines.

IV-1-1-4-Indice de réfraction

L'indice de réfraction dépend, comme la densité, de la composition chimique de l'huile et de la température. Il croît avec l'insaturation ou avec la présence sur les chaînes grasses de fonctions secondaires. Les valeurs d'indice de réfraction (1,458 à 1,463) des beurres de mangues sont voisines de celle des beurres de Cacao (1,455-1,458), légèrement inférieures à celles des beurres de Karité (1,463 - 1,468) et de Makoré (1,465). L'indice de réfraction de l'huile de Kent (1,480) est supérieur à celui des beurres de mangues ainsi qu'à celui des huiles de Coton (1,458 - 1,466) et de palme (1,454-1,456) [151].

IV-1-1-5-Indice d'iode

L'indice d'iode est un paramètre chimique qui nous renseigne sur l'insaturation globale de l'huile. Nos beurres ont des indices d'iode qui varient de 36,38 à 46,86. Ces valeurs sont voisines de celles des beurres de Cacao (33-42) mais inférieures à celles des beurres de Karité (57 - 66) et de Makoré (49 - 55). L'indice d'iode de l'huile de Kent (54,46) est inférieur à celui de l'huile de coton (100 - 105), proche de celui de l'huile de palme (50 - 55) mais est largement supérieur à celui des beurres de mangues. On peut conclure alors que cette huile contient le plus grand pourcentage en composés insaturés comparée aux beurres de mangues. Ces valeurs sont en accord avec son aspect (liquide).

IV-1-1-6-Teneur en eau et matières volatiles

Les teneurs en eau et matières volatiles des beurres de mangues varient de 1,08 à 7,50%. Ces valeurs sont généralement supérieures à celles des beurres de karité (0,10-1,24%), de makoré (0,25-1,67%) et aussi à la teneur maximale préconisée par la réglementation pour les aliments qui est de 0,2% [150]. L'huile de Kent possède la plus grande teneur en eau et matières volatiles (12,30%) comparativement à celles des beurres de mangues. Cette teneur est généralement plus élevée que celle de l'huile de palme (0,05 – 2%) et proche de celle de l'huile de Coton (0,80-1,50%). La présence élevée d'eau et de matières volatiles pourrait

favoriser une activité enzymatique. Ce qui laisse supposer que nos beurres et huile seraient plus susceptibles de subir l'altération hydrolytique ou enzymatique qui conduit à la formation de produits secondaires : les monoglycérides et les diglycérides. Ces valeurs élevées pourraient également traduire le caractère hygroscopique de ces beurres et huile en présence d'humidité de l'air.

IV-1-1-7-Indice de saponification

Il nous renseigne sur la richesse de l'huile en acides gras à chaînes longues pour une masse donnée de triglycérides. Les différentes valeurs de l'indice de saponification obtenues pour les beurres de mangues varient entre 164,17 et 199,21mg de KOH/g d'huile. Ces valeurs sont voisines de celles des beurres de Karité, de Makoré et de Cacao respectivement de 178-193 et 188-200mg de KOH/g d'huile et inférieurs à celles des beurres de Makoré. L'indice de saponification de l'huile de la variété Kent (190,29) est légèrement inférieur à ceux des huiles de Coton (189 - 198) et de Palme (190 - 209). Ces indices sont supérieurs à l'indice moyen de saponification (≥ 109) [81]. Cela indique que les beurres et huiles d'amandes de mangues peuvent constituer de bonnes matières premières pour la savonnerie.

IV-1-1-8-Teneur en insaponifiables

Les insaponifiables sont généralement constitués de plusieurs familles de composés telles que les paraffines, les tocophérols, les stérols, les pigments caroténoïdes et les vitamines liposolubles. Les résultats montrent que les différents beurres de mangues contiennent entre 1 et 2,83% d'insaponifiables alors que celle de l'huile de Kent est de 0,94%. Ces valeurs, à l'exception de celle de l'huile de Kent, sont supérieures à celles des huiles végétales en général ($\leq 1\%$) [150].

IV-1-2- Composition chimique des insaponifiables

Les insaponifiables sont analysés en Chromatographie phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse GC/SM. La figure 19 nous montre le chromatogramme GC de la fraction insaponifiable.

Les molécules ont été identifiées sur la base de l'analyse des fragments de leurs spectres de masse (Tableau 16) comparés avec la banque de spectres de masses NIST (National Institute of Standards and Technology ; *version 2.0 du 26 Avril 2005*).

L'analyse spectrale révèle que les insaponifiables de l'huile d'amande de mangue sont constitués de stérols dont les majoritaires sont : l'Ergostérol (A), le Campesterol (B), le Stigmastérol (C), le Sitostérol (D) et la 3-hydroxy-prégn-5-én-20-one (E). Le composé le plus abondant est le Sitostérol.

L'observation des spectres de masses de ces molécules fait apparaître la présence de fragments caractéristiques :

- Les stérols présentent des masses moléculaires $[M]^+$;
- Les pics $[M-15]^+$, correspondant à la perte d'un groupement méthyle ;
- Les pics $[M-18]^+$, correspondant à la perte d'une molécule d'eau ;
- Le pic à $m/z = 255$ confirme la nature stérolique du noyau avec une insaturation ;
- La perte de la chaîne latérale $[M-CL]^+$ est observée.

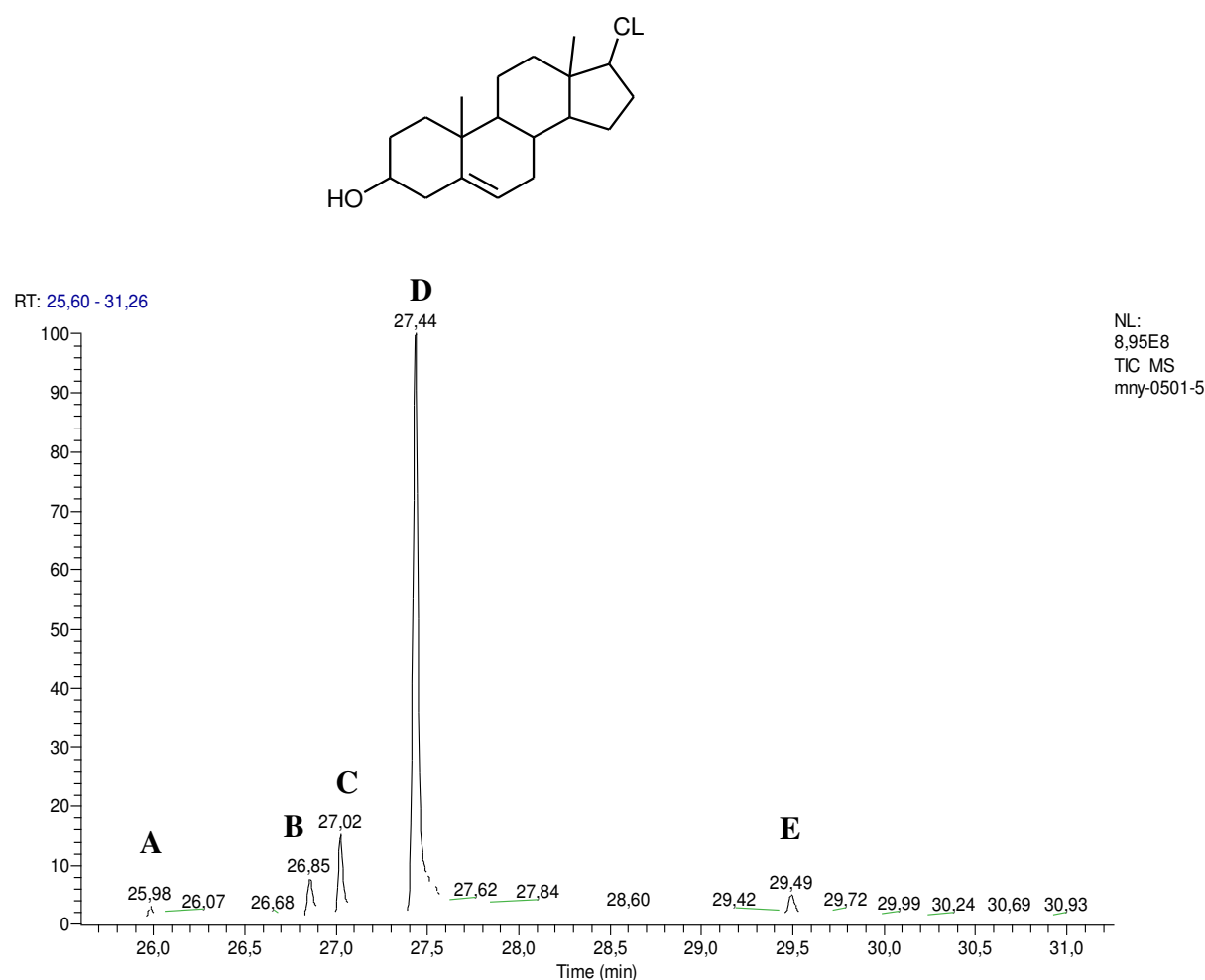
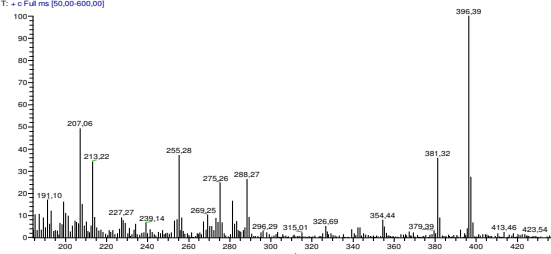
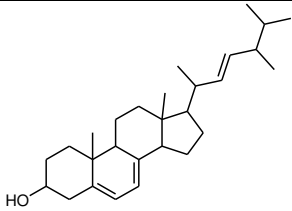
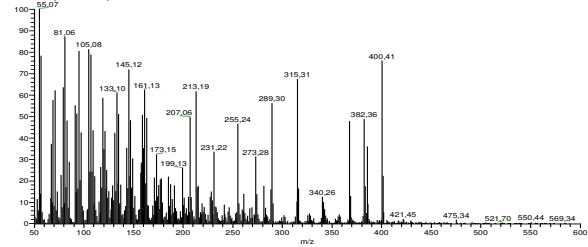
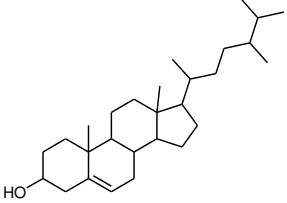
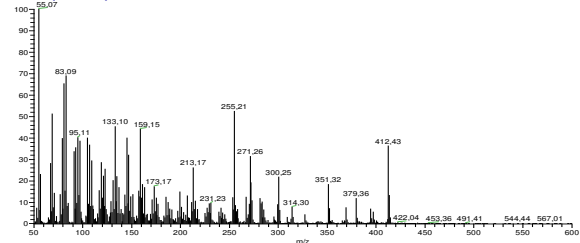
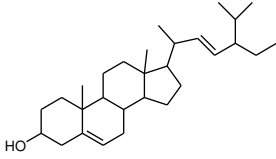
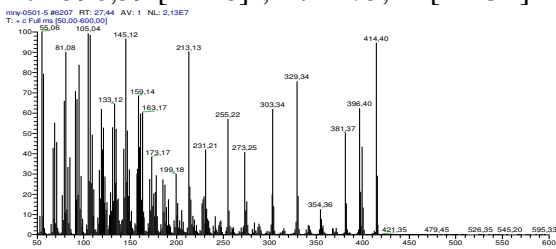
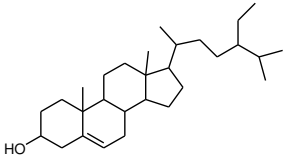
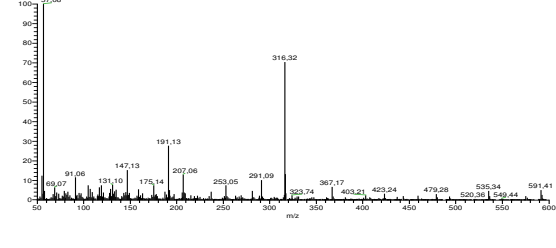
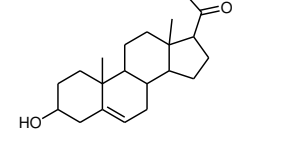


Figure 19: Chromatogramme GC des insaponifiables de l'amande de *Mangifera indica*

Tableau 16:Composition en insaponifiables majeurs des beurres et huiles d'amandes de mangues

Rt (min)	Masses	Structures, Noms et Teneurs (%)
25,98	m/z 396,39 [M]⁺, m/z 381,32 [M-15]⁺, m/z 378,41 [M-18]⁺, m/z 273,23 [M-CL]⁺ 	 (A) Ergostérol (1,94 %)
26,85	m/z 400,39 [M]⁺, m/z 385,37 [M-15]⁺, m/z 382,38 [M-18]⁺, m/z 273,28 [M-CL]⁺ 	 (B) Campesterol (5,33 %)
27,02	m/z 412,43 [M]⁺, m/z 397,39 [M-15]⁺, m/z 394,38 [M-18]⁺, m/z 273,33 [M-CL]⁺ 	 (C) Stigmastérol (10,67 %)

27,44	m/z 414,40 [M]⁺, m/z 399,37 [M-15]⁺, m/z 396,39 [M-18]⁺, m/z 273,22 [M-CL]⁺ 	 (D) Sitostérol (78,65 %)
29,49	m/z 316,66 [M]⁺ 	 (E) 3-hydroxy pregn-5-en-20-one (3,39 %)

IV-1-3-Composition en acides gras

L'analyse des acides gras est réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à la masse GC/MS avec détection à ionisation de flamme (FID).

L'analyse du chromatogramme de la figure 20 couplé à la masse (tableau 17) montre que les beurres et huiles d'amandes de noyaux de mangues contiennent quatre (4) acides gras majoritaires: les acides palmitique (C16:0), oléique (C18:1), stéarique (C18:0) et l'acide arachidique (C20:0).

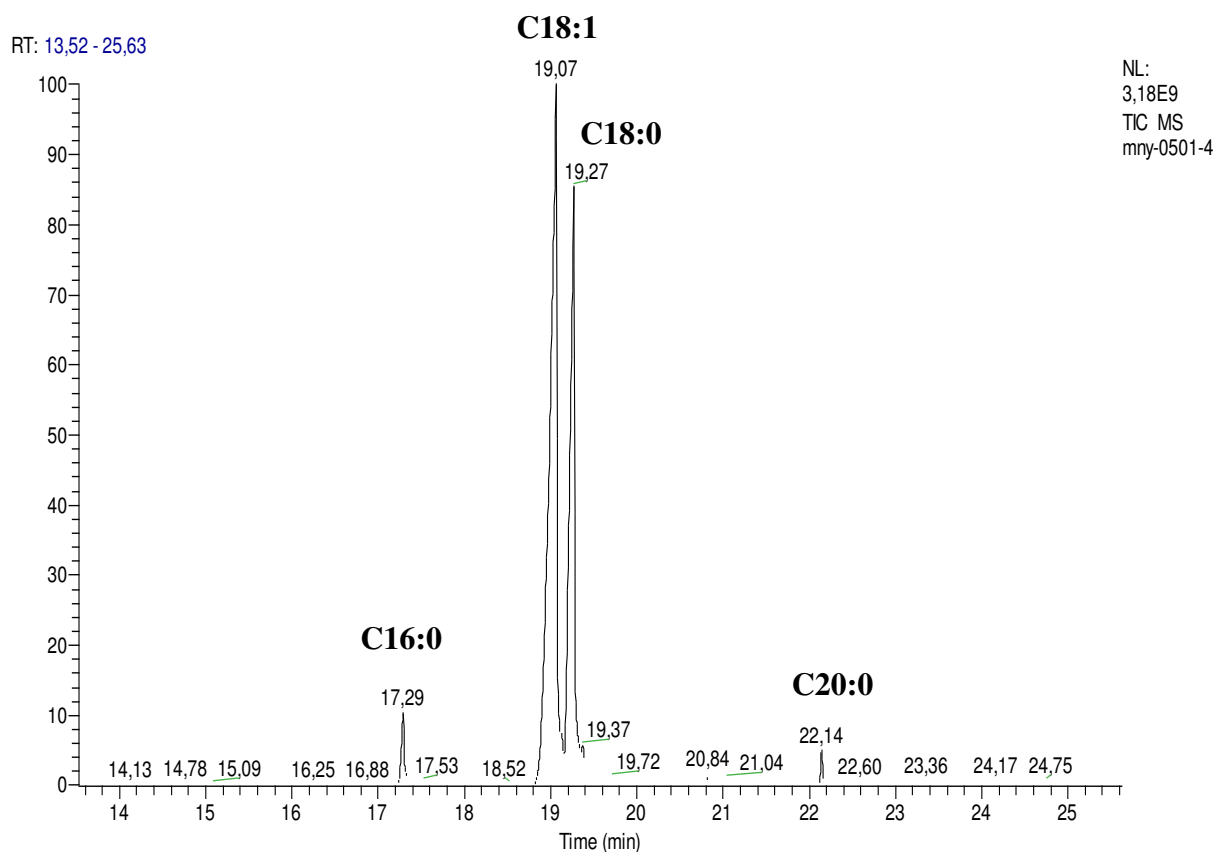


Figure 20: Chromatogramme GC des acides gras de l'amande de *Mangifera indica*

Tableau 17: Composition en acides gras majeurs des beurres et huiles de l'amande de mangues

Rt (min)	Masses	Structures et Noms
----------	--------	--------------------

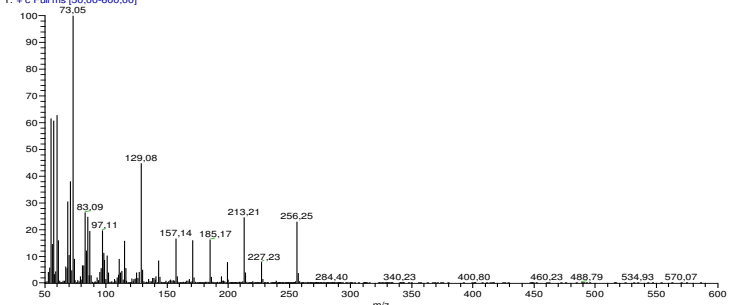
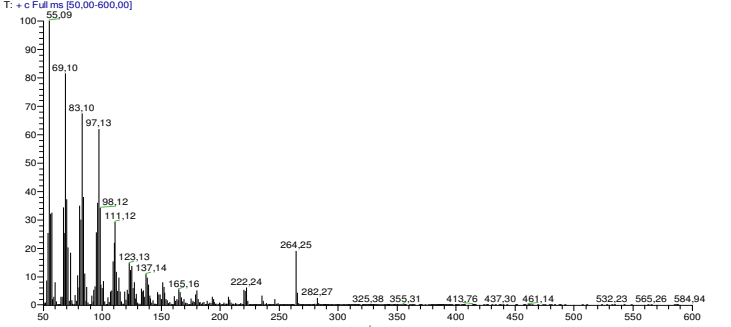
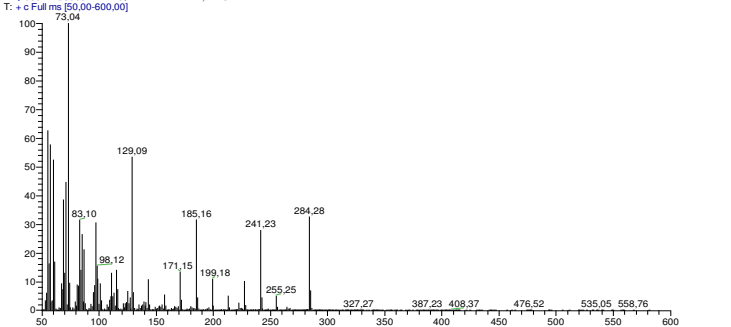
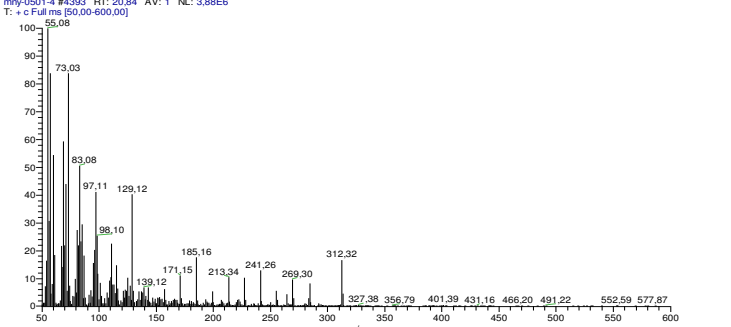
17,29	256,25 mnv-0501-4 #3409 RT: 17.29 AV: 1 NL: 3.63E7 T: + c Full ms [50.00-600.00] 	C16 :0 Acide palmitique
19,07	282,27 mnv-0501-4 #3902 RT: 19.07 AV: 1 NL: 2.55E8 T: + c Full ms [50.00-600.00] 	C18 :1 Acide oléique
19,27	284,28 mnv-0501-4 #3958 RT: 19.27 AV: 1 NL: 2.47E8 T: + c Full ms [50.00-600.00] 	C18 :0 Acide stéarique
20,84	312,32 mnv-0501-4 #4393 RT: 20.84 AV: 1 NL: 3.88E6 T: + c Full ms [50.00-600.00] 	C20 :0 Acide arachidique

Tableau 18: Teneurs en acides gras des beurres et huiles d'amande de huit variétés de mangues comparées à celles de grande consommation en Côte d'Ivoire

	Teneurs (%)										
Acides gras	Assabonie	Rubis	Key	Retard	Kent	Smith Tête de chat	Smith normal	Gouverneur	Karité	Makoré	Cacao
Acide palmitique (C16:0)	6,77	12,80	10,56	8,33	9,70	8,33	9,09	8,84	5,30	4,72	23-26
Acide stéarique (C18:0)	45,76	38,20	39,83	41,66	31,06	45,00	36,36	37,16	41,30	36,50	37-39
Acide oléique (C18:1)	46,60	48,00	47,96	49,16	58,24	45,82	53,63	53,08	44,30	55,66	34,11
Acide linoléique (C18:2)	0	0	0	0	0	0	0	0	7,20	1,12	3,10
Acide arachidique (C20:0)	0,87	1,00	1,65	0,85	1,00	0,85	0,90	0,92	0	0	0
Acides gras saturés	53,40	52,00	52,04	50,84	41,76	54,18	46,37	46,92	46,60	41,22	60-65
Acides gras insaturés	46,60	48,00	47,96	49,16	58,24	45,82	53,63	53,08	51,78	56,78	37,22
Acides gras insaturés / saturés	0,87	0,92	0,92	0,96	1,39	0,84	1,15	1,13	1,11	1,39	0,5-0,6

Bien que ces quatre acides soient majoritaires, leurs teneurs diffèrent d'une variété à l'autre. Le tableau 18 donne les teneurs en acides gras des beurres et huiles de l'amande du noyau de huit (8) variétés de mangues.

Les beurres et huiles de mangues sont majoritairement riches en acide oléique (45,82-58,24%) et acide stéarique (31,06-45,76%). Ils peuvent donc être classés dans la catégorie oléique-stéarique.

Ils sont généralement plus riches en acide palmitique (C16:0) (6,77 à 12,80 %) que les beurres de Makoré (4,72) et de Karité (5,30) mais plus pauvres que le beurre de Cacao (23,00-26,00).

Ils sont généralement plus riches en acide stéarique (C18:0) (31,06-45,76%) que les beurres de Makoré et de Cacao mais plus pauvres que le beurre de Karité.

L'acide oléique (C18:1) des beurres et huiles de mangues (45,82-58,24%) est généralement plus abondant que celui des beurres de Karité et de Cacao mais moins abondant que celui du beurre de Makoré.

L'acide arachidique (C20:0) est présent dans les beurres et huiles de mangues alors qu'il est totalement absent dans les trois autres beurres. Par contre, l'acide linoléique, absent dans les beurres et huile de mangues, est présent dans les beurres de Karité, de Makoré et de Cacao.

Le tableau 18 montre que les beurres des variétés Assabonie, Rubis, Key, Smith tête de chat sont plus riches en acides gras saturés. Le beurre de la variété Retard est légèrement plus riche en acides gras saturés. Par contre, les beurres et huiles de Kent, de Smith Normal et de Gouverneur sont plus riches en acides gras insaturés. Sachant que l'aspect (huile ou beurre) de la matière grasse est influencé par sa teneur en acides gras insaturés ou saturés, il ressort que les aspects obtenus sont en accord avec la composition des huiles et beurres sauf pour les variétés Smith normal et Gouverneur qui sont sous forme de beurres alors qu'ils sont majoritairement composés d'acides gras insaturés.

IV-2-Etude de l'extrait à l'acétate d'éthyle

IV-2-1-Purification de l'extrait à l'acétate d'éthyle de l'amande

Afin d'obtenir des informations préliminaires sur les composés présents dans l'extrait à l'acétate d'éthyle (AcOEt), une analyse LC/DAD-UV a été entreprise. Sur le chromatogramme LC/UV (figure 21) à 280nm de cet extrait, nous observons deux (2) composés majoritaires **2** et **3** et plusieurs composés minoritaires dont le composé **1**.

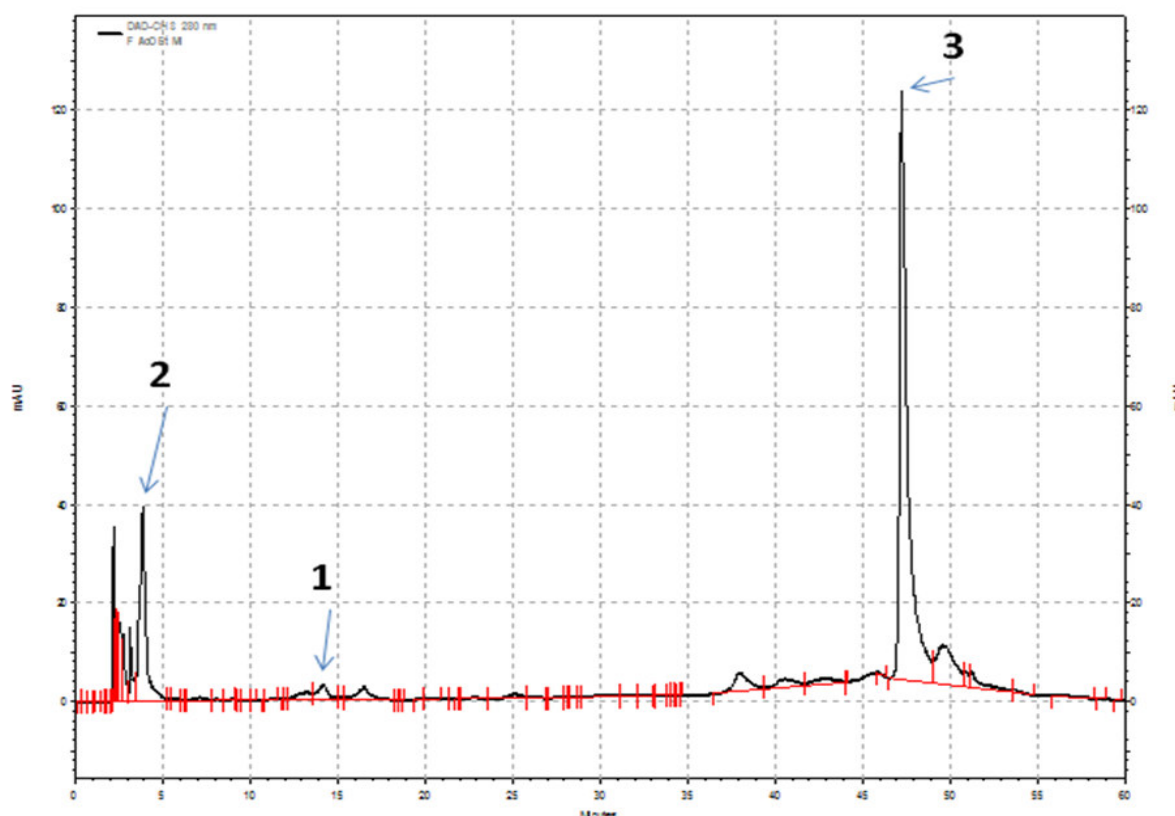
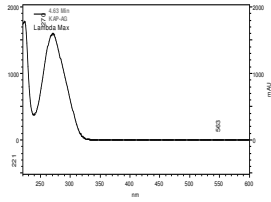
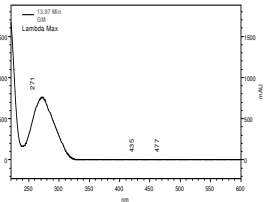
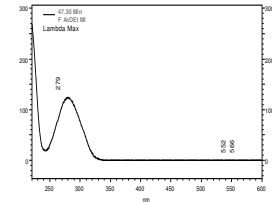


Figure 21 : Chromatogramme HPLC de l'extrait à l'AcOEt de l'amande de *M.indica* à 280 nm

L'analyse des spectres UV/visible (Tableau 19) correspondants indique notamment la présence de composés phénoliques [152].

Les composés **1**, **2** et **3** montrent des bandes d'absorption respectivement de 271 nm, 270 nm et 279 nm caractéristiques des acides phénoliques.

Tableau 19: Caractéristiques HPLC et UV/vis de la fraction AcOEt de l'amande de mangue

Composés	Composé 2	Composé 1	Composé 3
Spectres UV/visible			
Rt (min)	3,91	14,30	47,30
λ_{max} (nm)	270	271	279

Une partie (6,54 g) de la fraction AcOEt de *M. indica* a été fractionnée sur une colonne de gel de silice 60 Å éluee par le dichlorométhane avec addition progressive d'acétate d'éthyle et ensuite par l'acétate d'éthyle avec addition progressive de méthanol donnant cinq (5) fractions (F₁-F₅). Le schéma de ce fractionnement est donné à la figure 22. Les fractions F₂ et F₄, présentant les meilleurs profils en CCM, ont été purifiées.

Le composé **1** (457mg) a été isolé et purifié à partir de la fraction F₂ sur colonne de gel de silice 60Å, éluee par le mélange dichlorométhane / méthanol (10/1).

Les composés **2** (261mg) et **3** (986mg) ont été isolés et purifiés à partir de la fraction F₄ sur colonne de gel de silice 60Å, éluee par le mélange dichlorométhane / méthanol (10/2).

Le suivi par CCM (figure 23) du fractionnement, avec comme solvants d'élution CH₂Cl₂/MeOH (9/1) et AcOEt/MeOH/H₂O (100/12/8), révélé à l'UV 254 nm, nous a permis de vérifier un premier niveau de pureté des composés isolés **1**, **2** et **3**.

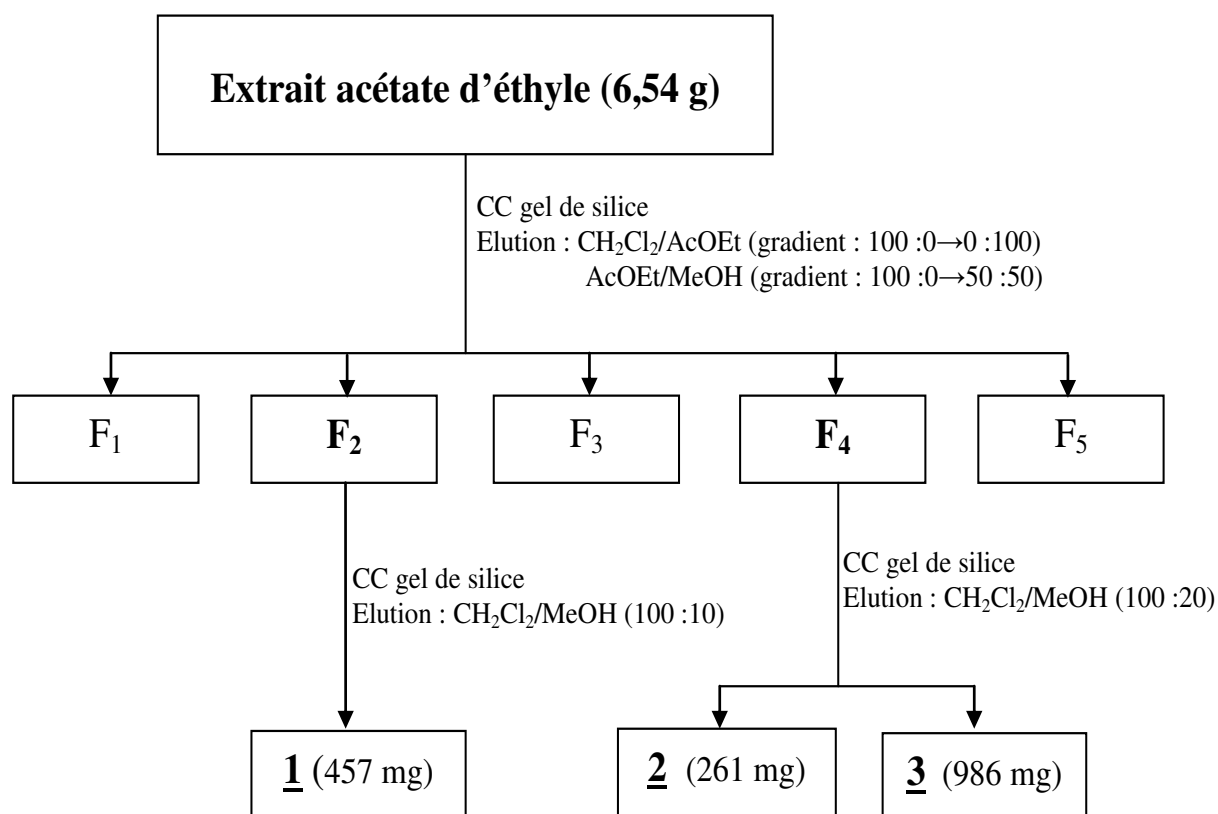


Figure 22: Schéma de purification de l'extrait à l'AcOEt de l'amande *M. indica*

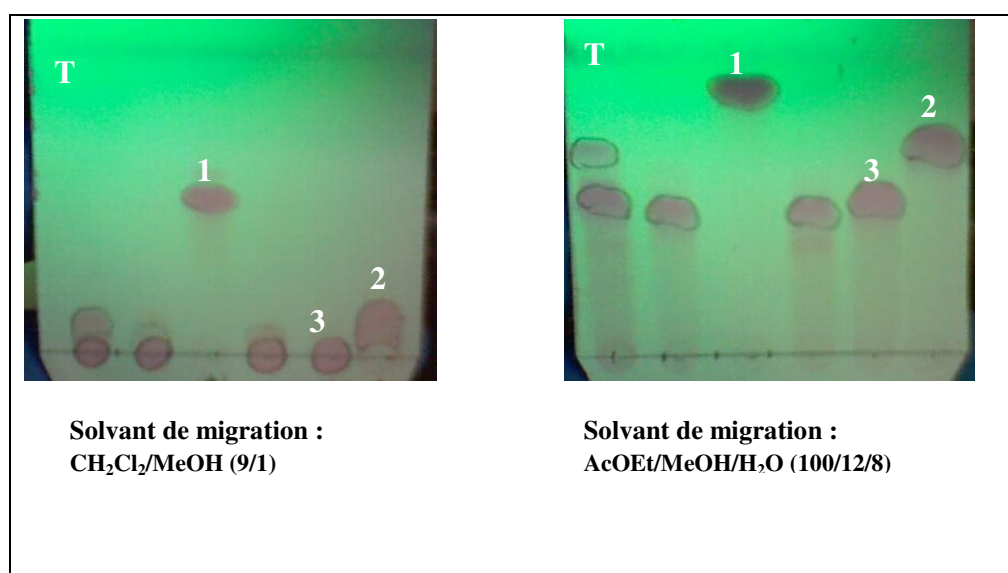


Figure 23: CCM du suivi de fractionnement de l'extrait à l'AcOEt de l'amande de *M. indica* sur gel de silice (par fluorescence sous UV à 254 nm)

IV-2-2-Détermination des structures des composés 1, 2 et 3

L'identification des composés a été possible grâce aux analyses spectrales : spectroscopie Ultra Violette (UV), Spectroscopie de Masse (SM) et spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).

IV-2-2-1-Détermination de la structure du composé 1

Le composé 1 se présente sous forme de poudre jaune-blanc soluble dans le méthanol. Le spectre d'absorption UV montre un maxima à 271nm caractéristique d'un carbonyle aromatique [152].

Le spectre de masse à haute résolution nous montre un ion moléculaire à $m/z = 207,0271$ $[M+Na]^+$ suggérant une masse de 184,0271 correspondant à la formule brute $C_8H_8O_5$.

Les caractéristiques en RMN ^{13}C , 1H , et DEPT 135 du composé 1, obtenues à partir des spectres en annexe 1 sont données dans le tableau 20.

Le spectre RMN ^{13}C du composé 1 présente six (6) signaux. Nous distinguons :

- un groupement méthoxyle à $\delta_C = 52,36$ ppm ;
- deux(2) carbones (CH) aromatiques équivalents (C-2/C-4) à $\delta_C = 110,31$ ppm ;
- un(1) groupement carbonyle à $\delta_C = 169,28$ ppm ;
- quatre (4) carbones quaternaires aromatiques à $\delta_C = 121,49$ ppm (C-1), 139,79 (C-4), 146,66 ppm (C-3/C-5).

Le spectre RMN 1H du composé 1 présente deux (2) signaux distincts. Ce sont :

- un signal de deux (2) protons à $\delta_H = 6,94$ ppm caractéristique des protons aromatiques équivalents (H-2/H-6) ;
- un signal à $\delta_H = 3,71$ ppm caractéristique de trois (3) protons équivalents indiquant les protons du groupement méthoxyle.

En comparant ces données spectrales avec celles de la littérature, nous pouvons identifier le composé 1 correspond au gallate de méthyle [153].

Ce composé a déjà été identifié dans les écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis* (Simaroubaceae) [154] et dans les feuilles de *Cedrela sinensis* (Meliaceae) [155].

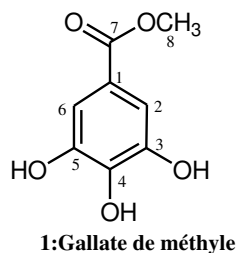


Tableau 20: Caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé **1** dans le méthanol- d_4

Position	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT 135
1	-	121,49	C
2	6,94(d; J=1,7Hz)	110,31	CH
3	-	146,66	C
4	-	139,79	C
5	-	146,66	C
6	6,94(d; J=1,7Hz)	110,31	CH
7	-	169,28	C=O
8	3,71(s)	52,36	CH ₃

IV-2-2-2-Détermination de la structure du composé **2**

Le composé **2** se présente sous forme de poudre jaune-blanc et soluble dans le méthanol. Le spectre d'absorption UV montre un maxima à 270nm caractéristique d'un carbonyle aromatique [152].

Le spectre de masse à haute résolution nous montre un ion moléculaire à m/z 193,0142 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ suggérant une masse de 170,0142 correspondant à la formule brute **C₇H₆O₅**.

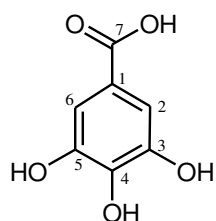
Les caractéristiques en RMN ^{13}C , ^1H , et DEPT 135 du composé **2**, obtenues à partir des spectres en annexe 2 sont données dans le tableau 21.

Le spectre RMN ^{13}C du composé **2** présente cinq (5) signaux. Nous distinguons :

- deux (2) carbones (CH) aromatiques équivalents (C-2/C-6) à $\delta_{\text{C}} = 110,33$ ppm ;
- un (1) groupement carbonyle à $\delta_{\text{C}} = 170,41$ ppm ;
- quatre (4) carbones quaternaires aromatiques à $\delta_{\text{C}} = 121,98$ ppm (C-1), 146,41 (C-3/C-5), 139,60 ppm (C-4).

Le spectre RMN ^1H du composé **2** présente un signal de deux (2) protons à $\delta_{\text{H}} = 6,96$ ppm caractéristiques des protons aromatiques équivalents.

En comparant ces données spectrales avec celles de la littérature [156, 157], le composé **2** correspond à l'acide gallique.



2: Acide gallique

Tableau 21: Caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé **2** dans le méthanol- d_4

Position	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT 135
1	-	121,98	C
2	6,96 (s)	110,33	CH
3	-	146,41	C
4	-	139,60	C
5	-	146,41	C
6	6,96 (s)	110,33	CH

7	-	170,41	C=O
---	---	--------	-----

IV-2-2-3-Détermination de la structure du composé **3**

Le composé **3** se présente sous forme de poudre jaune-blanc et soluble dans le méthanol. Le spectre de masse donne un ion moléculaire à $m/z = 963,1079$ $[M+Na]^+$ suggérant une masse de 940,1079 correspondant à la formule brute $C_{41}H_{32}O_{26}$.

Les caractéristiques en RMN ^{13}C , 1H , et DEPT 135 du composé **3**, obtenues à partir des spectres en annexe 3 sont données dans le tableau 22.

Le spectre RMN 1H nous montre des signaux caractéristiques de :

- cinq (5) signaux à $\delta_H = 6,82; 6,88; 6,90; 6,97; 7,02$ ppm, sous forme de singulet caractéristiques de dix (10) protons aromatiques (H-2/H-6);
- six (6) signaux à $\delta_H = 6,15$ ppm (d ; $J=9,0$ Hz ; H-1'), 5,82 ppm (t ; $J=9,0$ Hz ; H-3'), 5,54 ppm (t ; $J=9,0$ Hz ; H-4'), 5,51 ppm (m, H-2') et 4,35 ppm (m, H-5') et 4,31/4,42 ppm (dd, $J=10,2$ Hz/4,5Hz, H-6b'/H-6a') caractéristiques des protons du glucose.

Le spectre RMN ^{13}C et la DEPT 135 permettent en outre de mettre en évidence les éléments caractéristiques de cinq (5) acides galliques et d'un glucose. Ce sont :

- cinq (5) signaux caractéristiques des fonctions carbonyles de l'acide gallique à δ_{C} 167,98 ; 167,34 ; 167,06 ; 166,96 ; 166,27 ppm ;
- cinq (5) signaux caractéristiques des carbones aromatiques (C-2 et C-6) de l'acide gallique à δ_{C} 110,39 ; 110,42 ; 110,45 ; 110,67 ; 110,89 ppm ;
- cinq (5) signaux à δ_{C} = 121,07 ; 120,38 ; 120,26 ; 120,22 ; 119,74 ppm, caractéristiques des carbones quaternaires aromatiques C-1 de l'acide gallique ;
- cinq (5) signaux à δ_{C} = 146,57 ; 146,49 ; 146,46 ; 146,40 ; 146,30 ppm, caractéristiques des carbones quaternaires aromatiques C-3 et C-5 de l'acide gallique ;
- cinq (5) signaux à δ_{C} = 140,80 ; 140,57 ; 140,46 ; 140,34 ; 140,05 ppm, caractéristiques des carbones quaternaires aromatiques C-4 de l'acide gallique ;
- cinq (5) signaux à δ_{C} 93,92 ; 74,54 ; 74,20 ; 72,29 ; 69,89 ; 63,23 ppm, caractéristiques des 6 carbones du glucose.

Le spectre COSY (figure 24) met en évidence le couplage entre les protons du glucose. Ainsi, sont couplés les protons :

- H-1' (6,15ppm) avec H-2' (5,51ppm) ;
- H-2' (5,51ppm) avec H-3' (5,82ppm) ;
- H-3' (5,82ppm) avec H-4' (5,54ppm) ;
- H-4' (5,54ppm) avec H-5' (4,35ppm) ;
- H-5' (4,35ppm) avec Ha-6' (4,31ppm) et Hb-6' (4,42ppm) ;
- Ha-6' (4,31ppm) avec Hb-6' (4,42ppm).

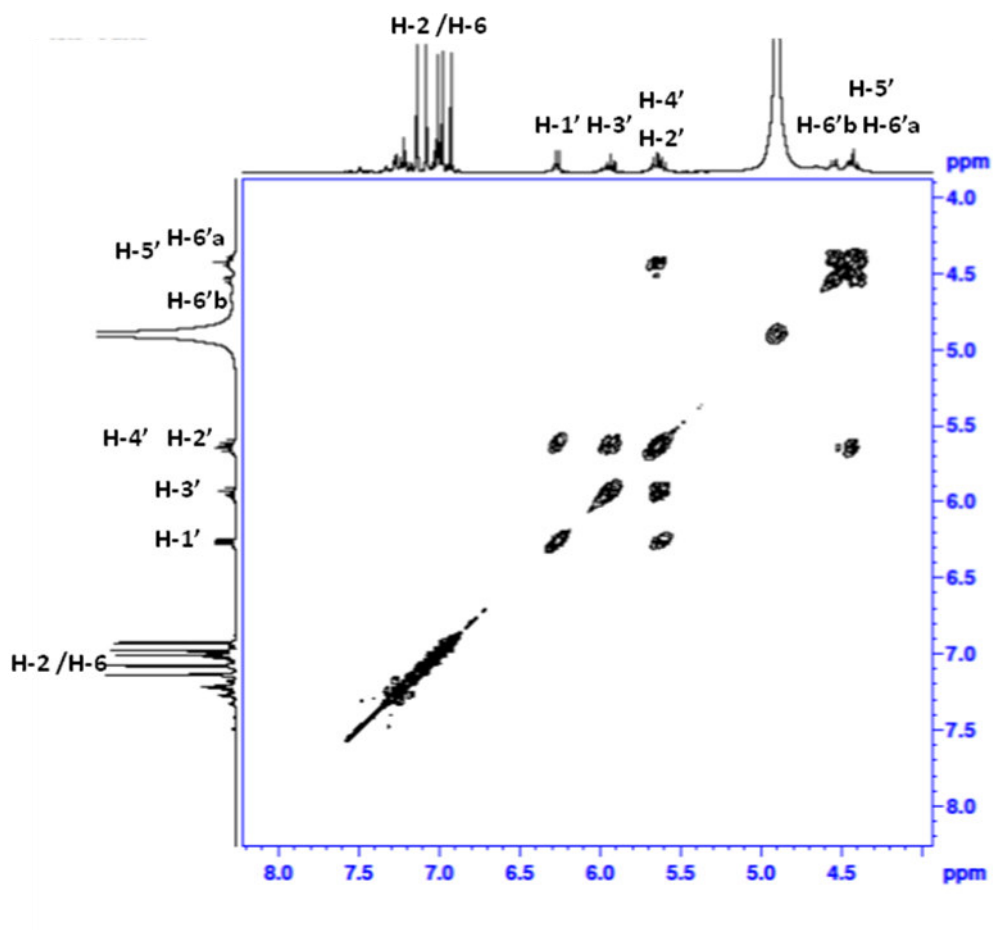
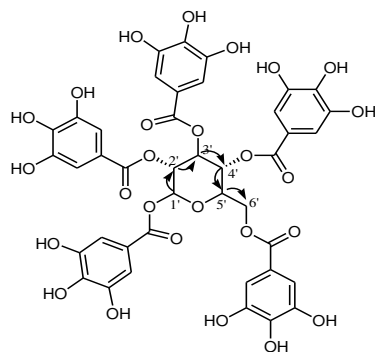


Figure 24 : Spectre COSY du composé **3** dans le méthanol-d₄



Le spectre HSQC (figure 25) met en évidence le couplage entre les carbones et protons du glucose. Ainsi, sont couplés les carbones :

- C-1' (93,92ppm) avec H-1' (6,15ppm) ;
- C-2' (72,29ppm) avec H-2' (5,51ppm) ;
- C-3' (74,20ppm) avec H-3' (5,82ppm) ;
- C-4' (69,89ppm) avec H-4' (5,54ppm) ;
- C-5' (74,54ppm) avec H-5' (4,35ppm) ;
- C-6' (63,23ppm) avec Ha-6' (4,31ppm) et Hb-6' (4,42ppm) ;

- C-2/C-6 (110,39 ; 110,42 ; 110,45 ; 110,67 ; 110,89 ppm) avec H-2/H-6 (6,82; 6,88; 6,90; 6,97; 7,02 ppm).

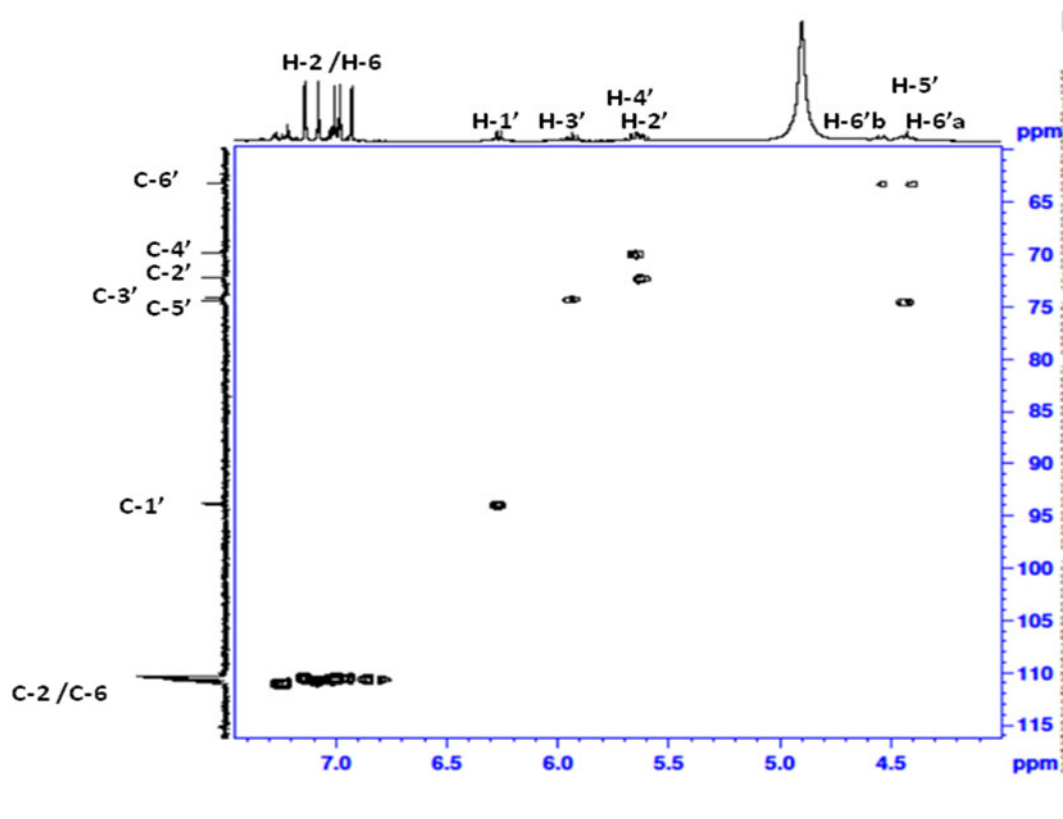
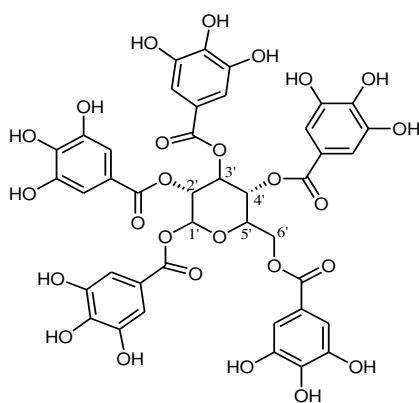


Figure 25: Spectre HSQC du composé **3** dans le méthanol-d₄

En comparant ces données spectrales avec celles de la littérature, le composé **3** correspond au 1,2,3,4,6-Penta-*O*-galloyl glucose. Ce composé a déjà été isolé et identifié dans les tiges de *Rhus trichocarpa* (Anacardiaceae) [117].



3: Penta-*O*-galloyl-glucose

Tableau 22: Caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé **3** dans le méthanol- d_4

Position	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT 135
Gal			
1	-	121,07 ; 120,38 ; 120,26 ; 120,22 ; 119,74	C
2	6,82(s);6,88(s);6,90(s);6,97(s);7,02(s)	110,89 ; 110,67 ; 110,45 ; 110,42 ; 110,39	CH
3	-	146,57 ; 146,49 ; 146,46 ; 146,40 ; 146,30	C
4	-	140,80 ; 140,57 ; 140,46 ; 140,34 ; 140,05	C
5	-	146,57 ; 146,49 ; 146,46 ; 146,40 ; 146,30	C
6	6,82(s);6,88(s);6,90(s);6,97(s);7,02(s)	110,89 ; 110,67 ; 110,45 ; 110,42 ; 110,39	CH
7	-	167,98 ; 167,34 ; 167,06 ; 166,96 ; 166,27	C=O
Gluc			
1'	6,15(d) J=9,0Hz	93,92	C1-gluc
2'	5,51(m)	72,29	C2-gluc
3'	5,82 (d) J=9,0Hz	74,20	C3-gluc
4'	5,54(t) J=9,0Hz	69,89	C4-gluc
5'	4,35(m)	74,54	C5-gluc
6'a	4,31 (dd) J=10,2Hz/4,5Hz	63,23	C6-gluc
6'b	4,42 (dd) J=10,2Hz/4,5Hz		

V-ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE *Santaloïdes afzelii*

V-1-Etude de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles

V-1-1-Fractionnement et purification

Une analyse LC/DAD-UV (figure 26) à 280 nm entreprise sur l'extrait à l'acétate d'éthyle (AcOEt) des feuilles de *Santaloïdes afzelii* nous a permis d'observer 3 composés majoritaires **2**, **4** et **5**.

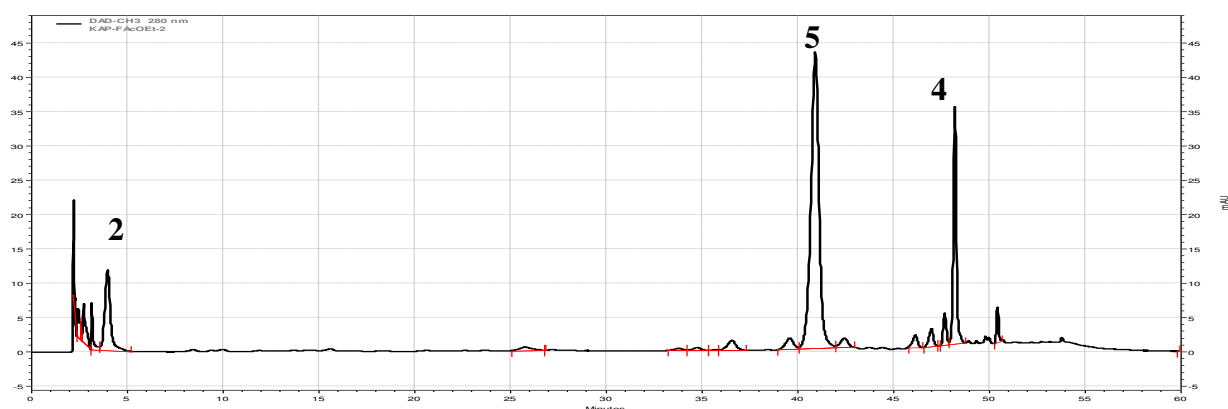
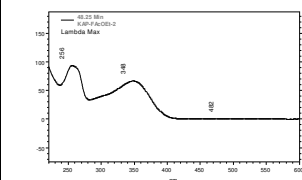
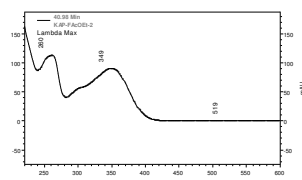
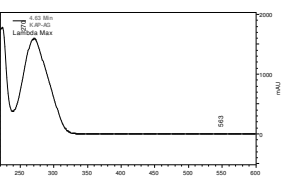


Figure 26: Chromatogramme HPLC de l'extrait à l'AcOEt des feuilles de *S. afzelii* à 280 nm

L'analyse des spectres UV/visible (tableau 23) correspondants indique notamment la présence de l'acide gallique (composé 2) et de flavonoïdes (composés 4 et 5).

Les composés 4 et 5 montrent des bandes d'absorption respectivement de 256/348 nm et 260/349 nm caractéristiques des flavonoïdes [158].

Tableau 23: Caractéristiques HPLC et UV/vis de l'extrait à l'AcOEt des feuilles de *S. afzelii*

Composés	Composé <u>4</u>	Composé <u>5</u>	Composé <u>2</u>
Spectres UV/visible			
Rt (min)	48,63	42,70	4,52
λ_{max} (nm)	256/348	260/349	270

L'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de *S. afzelii* (5g) a subi un premier fractionnement sur une colonne de gel de silice 60Å (figure 27). Les éluants utilisés sont constitués de mélange de CH₂Cl₂/AcOEt et AcOEt/MeOH dans des proportions variables pour donner 7 fractions (F₁ à F₇).

Les fractions F₂ et F₅ ont subi une purification sur une colonne de gel de silice 60 avec comme éluant un mélange de CH₂Cl₂/MeOH (10/1), pour donner successivement les composés 4 (F_B) 342 mg et 5 (F_{H2}) 219 mg.

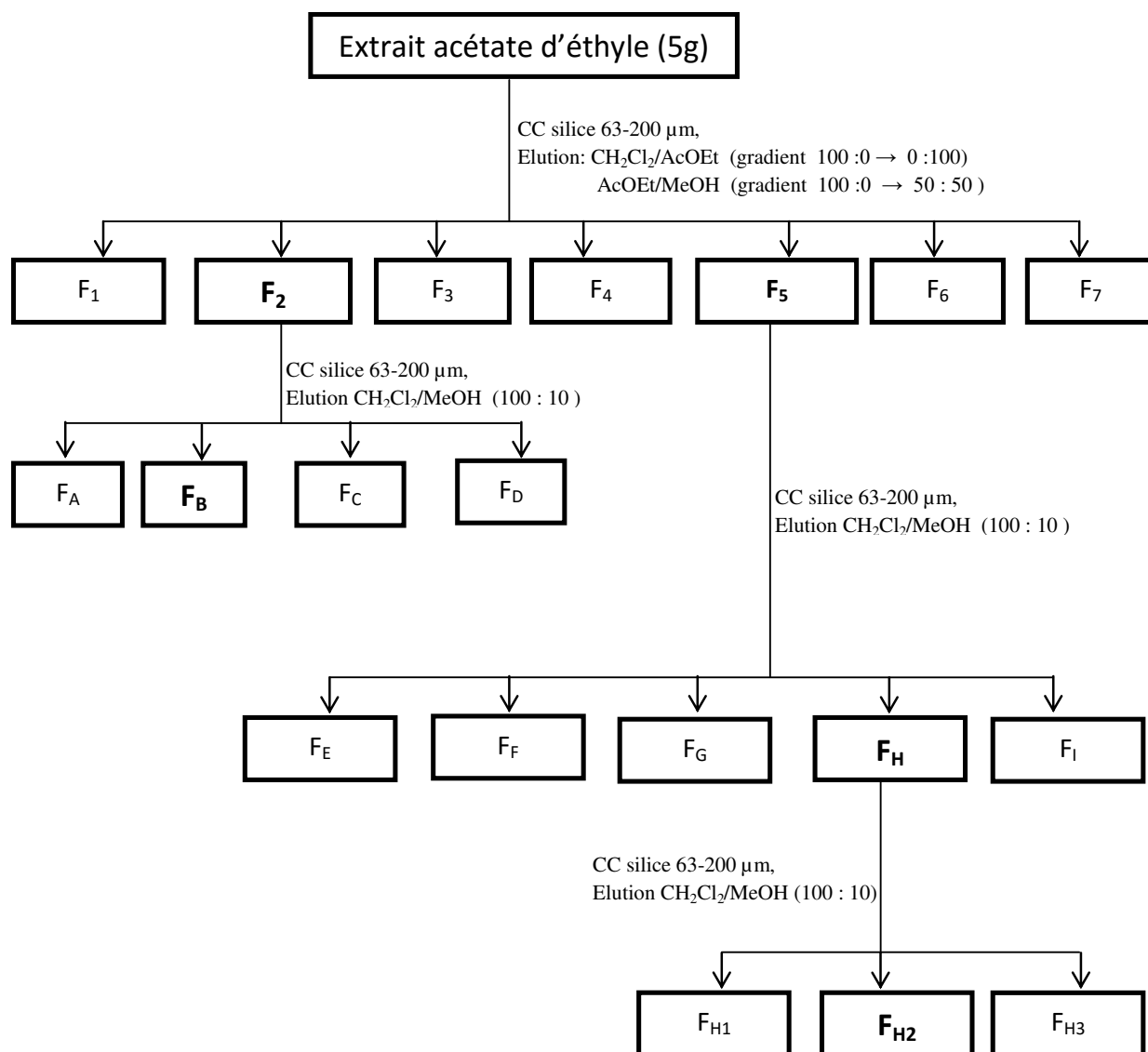


Figure 27: Schéma de purification de l'extrait à l'AcOEt des feuilles de *S. afzelii*

La figure 28 présente le suivi du fractionnement de la fraction par HPLC.

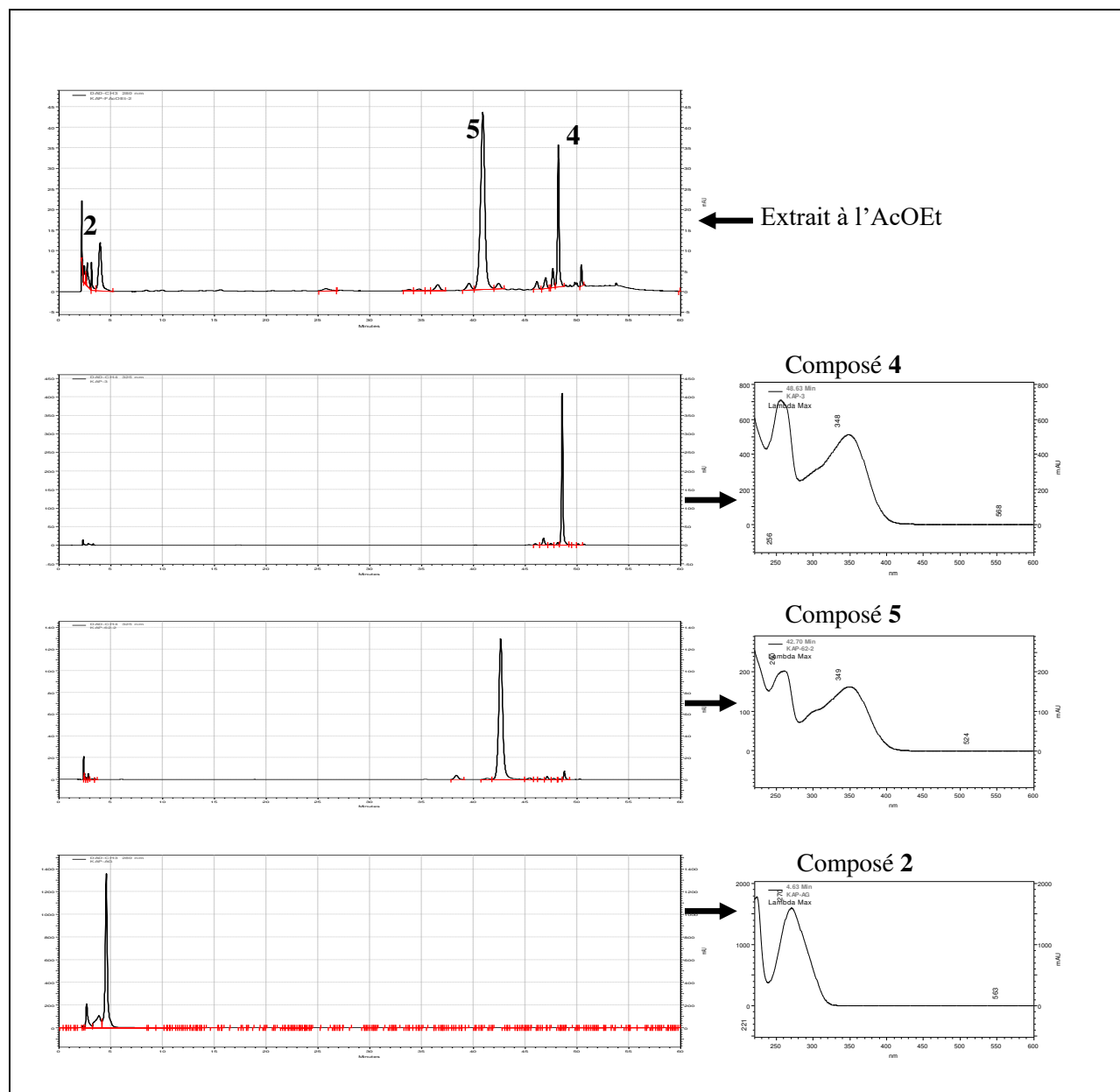


Figure 28: Analyse HPLC / UV du fractionnement de l'extract à l'AcOEt de *S. afzelii*

V-1-2-Détermination de la structure des composés 4 et 5

V-1-2-1- Détermination de la structure des composés 4

Le composé 4 se présente sous forme de poudre jaune soluble dans le méthanol. Le spectre d'absorption UV montre deux maxima à 256 nm et 348 nm caractéristiques des flavonoïdes [158].

Le spectre de masse à haute résolution du composé 4 indique un ion moléculaire à $m/z = 471,0905$ $[M+Na]^+$ suggérant une masse de 448,0905 correspondant à la formule brute $C_{21}H_{20}O_{11}$.

Les caractéristiques en RMN ^{13}C , ^1H , et DEPT 135 du composé **4**, obtenues à partir des spectres en annexe 4 sont données dans le tableau 24.

Le spectre RMN ^1H montre des caractéristiques d'un squelette de type flavonoïde [89] que l'on peut identifier par :

- un signal à $\delta_{\text{H}}=7,34\text{ppm}$ sous forme de doublet ($J=2\text{Hz}$) attribuable au proton H-2' ;
- un signal à $\delta_{\text{H}}=7,32\text{ppm}$ sous forme de doublet de doublets ($J=8,3\text{Hz}/2\text{Hz}$) attribuable au proton H-6' ;
- un signal à $\delta_{\text{H}}=6,93\text{ppm}$ sous forme de doublet ($J=8,3\text{Hz}$) attribuable au proton H-5'.

Ces trois signaux présentent un système de couplage ABX caractéristique du cycle B d'un flavonoïde.

Sur le même spectre, on observe :

- un signal à $\delta_{\text{H}}=6,39\text{ppm}$ sous forme de doublet ($J=2\text{Hz}$) attribuable au proton H-8 ;
- un signal à $\delta_{\text{H}}=6,22\text{ppm}$ sous forme de doublet ($J=2\text{Hz}$) attribuable au proton H-6.

Ces deux signaux présentent un système de couplage AB caractéristique du cycle A d'un flavonoïde.

Le signal à $\delta_{\text{H}}=12\text{ ppm}$ dans le DMSO- d_6 , montre la présence d'un groupement hydroxyle (-OH) sur le carbone C-5.

Le spectre RMN ^{13}C du composé **4** montre 21 signaux dont quinze (15) sont caractéristiques d'un flavonoïde. Parmi ceux-ci, on distingue :

- un (1) groupement carbonyle à $\delta_{\text{C}}=179,67\text{ ppm}$;
- cinq (5) CH aromatiques à δ_{C} 116,38ppm (CH-5'), 116,94ppm (CH-2'), 122,99ppm (CH-6'), 99,84ppm (CH-6) et 94,73ppm (CH-8);
- Six (6) signaux caractéristiques des 6 carbones du rhamnose à δ_{C} 103,56 ppm(C-1''), 71,92 ppm (C-2''), 72,12 ppm (C-3''), 72,05 ppm (C-4''), 73,27 ppm (C-5'') et 17,67 ppm (C-6'').

La position du rhamnose est confirmée en HMBC (figure 29) par la corrélation proton-carbone entre le proton à $\delta_H=5,25$ ppm (H-1'') et le carbone $\delta_C=136,25$ ppm (C-3).

Le spectre UV des flavones et flavonols présente deux bandes d'absorption majeures à 250-285 nm et 320-385 nm caractéristiques respectivement des deux cycles A et B. L'absence du groupement fonctionnel (OH) sur le carbone C-3, par O-méthylation ou O-glycosylation, diminue l'absorbance (effet hypsochrome) du cycle B de 20 à 30 nm [159]. Le spectre UV du composé **4** montre des valeurs faibles par rapport à la quercétine. Ce qui confirme encore la position du rhamnose sur le C-3.

Le signal du proton anomérique du rhamnose à $\delta_H=5,25$ ppm montre un doublet de faible constante de couplage $J=1,2$ Hz, indiquant une configuration α .

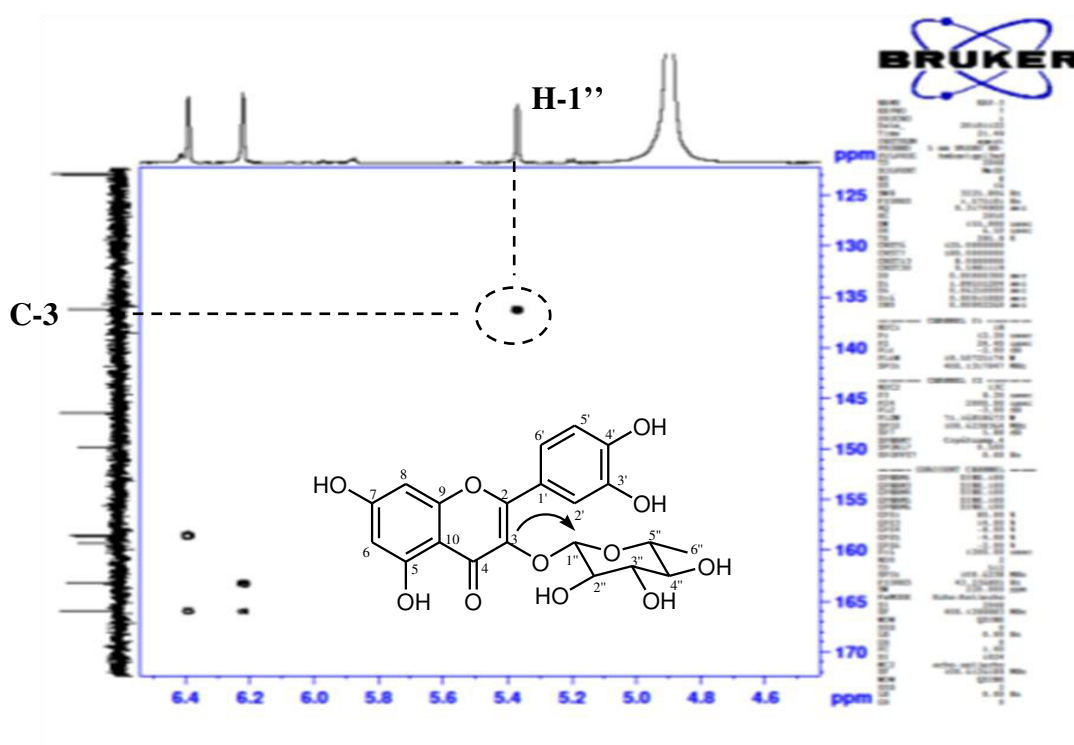
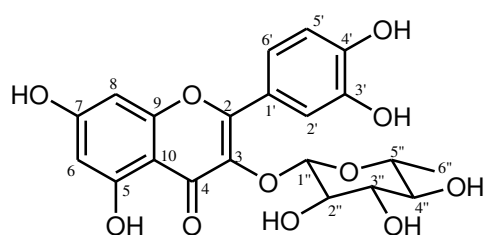


Figure 29: Spectre HMBC du composé **4** dans le MeOH-d4

L'attribution complète des signaux a été réalisée par l'analyse des spectres de corrélations homonucléaires COSY et hétéronucléaires HSQC et HMBC et par comparaison avec des données de la littérature. Le composé **4** est donc identifié comme étant la quercétine-3-O-α-rhamnose.

Ce composé est rapporté pour la première fois dans le genre Santaloïdes. Il a déjà été isolé des feuilles de *Myrsine seguinii* (Myrsinaceae) [160], de *Argania spinosa* (Sapotaceae) [161], et de *Ampelopsis grossedentata* [162].



4 : Quercétine-3-O- α -rhamnose

Tableau 24: Caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé **4** dans le DMSO- d_6

Position	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT 135
2	-	159,32	C
3	-	136,25	C
4	-	179,67	C=O
5	12,00(s)	163,24	C
6	6,22(d) J=2Hz	99,84	CH
7	-	165,98	C
8	6,39(d) J=2Hz	94,73	CH
9	-	158,55	C
10	-	105,89	C
1'	-	122,87	C
2'	7,34(d) J=2Hz	116,94	CH
3'	-	146,44	C
4'	-	149,83	C
5'	6,93(d) J=8,3Hz	116,38	CH
6'	7,32(d) J=8,3Hz/2Hz	122,99	CH
1''	5,25(d) J=1,2Hz	103,56	C1-Rha
2''	4,24 (dd) J=3,2Hz/1,7Hz	71,92	C2-Rha
3''	3,78 (dd) J=9,3Hz/3,3Hz	72,12	C3-Rha
4''	3,40(m)	72,05	C4-Rha
5''	3,17(m)	73,27	C5-Rha
6''	0,82(d) J=6,1Hz	17,67	C6-Rha

V-1-2-2-Détermination de la structure du composé **5**

Le composé **5** se présente sous forme de poudre jaune soluble dans le méthanol. Le spectre d'absorption UV montre deux maxima à 260 nm et 349 nm caractéristiques des flavonoïdes [158].

Le spectre de masse à haute résolution du composé **5** indique un ion moléculaire à $m/z = 487,0851$ $[M+Na]^+$ suggérant une masse de 464,0851 correspondant à la formule brute $C_{21}H_{20}O_{12}$.

Les caractéristiques en RMN ^{13}C , 1H , et DEPT 135 du composé **5**, obtenues à partir des spectres en annexe 5 sont données dans le tableau 25.

Le spectre RMN 1H présente des caractéristiques d'un squelette de type flavonoïde [89] que l'on peut identifier par :

- un signal à $\delta_H = 6,90$ ppm sous forme de doublet ($J = 2$ Hz) attribuable aux protons H-2' et H-6', caractéristique du cycle B du flavonoïde ;
- un signal à $\delta_H = 6,38$ ppm sous forme de doublet ($J = 2$ Hz) attribuable au proton H-8 ;
- un signal à $\delta_H = 6,20$ ppm sous forme de doublet ($J = 2$ Hz) attribuable au proton H-6.

Ces deux derniers signaux présentent un système de couplage en méta sur un cycle aromatique caractéristique du cycle A du flavonoïde.

Le signal à $\delta_H = 12,68$ ppm dans le DMSO- d_6 , montre la présence d'un groupement hydroxyle (-OH) sur le carbone C-5.

Le spectre RMN ^{13}C du composé **5** montre vingt et un (21) signaux dont quinze (15) signaux sont caractéristiques d'un flavonoïde. Parmi ceux-ci, on distingue :

- un (1) groupement carbonyle à $\delta_C = 179,70$ ppm ;
- quatre (4) CH aromatiques à $\delta_C = 107,84$ ppm (CH-2'/CH-6'), 93,53 ppm (CH-6), 98,68 ppm (CH-8) ;
- cinq (5) signaux CH et un (1) signal CH_3 caractéristiques des 6 carbones C-1'', C-2'', C-3'', C-4'', C-5'' et C-6'' du rhamnose respectivement à $\delta(\text{ppm}) = 101,86$; 70,42 ; 70,73 ; 71,72 ; 70,91 et 17,88.

La position du rhamnose est aussi confirmée en HMBC (figure 30) par la corrélation proton-carbone entre le proton anomérique $\delta_H = 5,20$ ppm (H-1'') du rhamnose et le carbone $\delta_C = 134,20$ ppm (C-3) de la génine myricétine. De même, le spectre UV du composé **5** montre des valeurs faibles par rapport à la myricétine. Ce qui confirme une substitution du groupement (OH) de la génine par le rhamnose sur le C-3.

Le signal du proton anomérique du rhamnose à $\delta_H=5,20$ ppm montre un doublet de faible constante de couplage $J=1,8\text{Hz}$, indiquant une configuration α .

KAP-62H

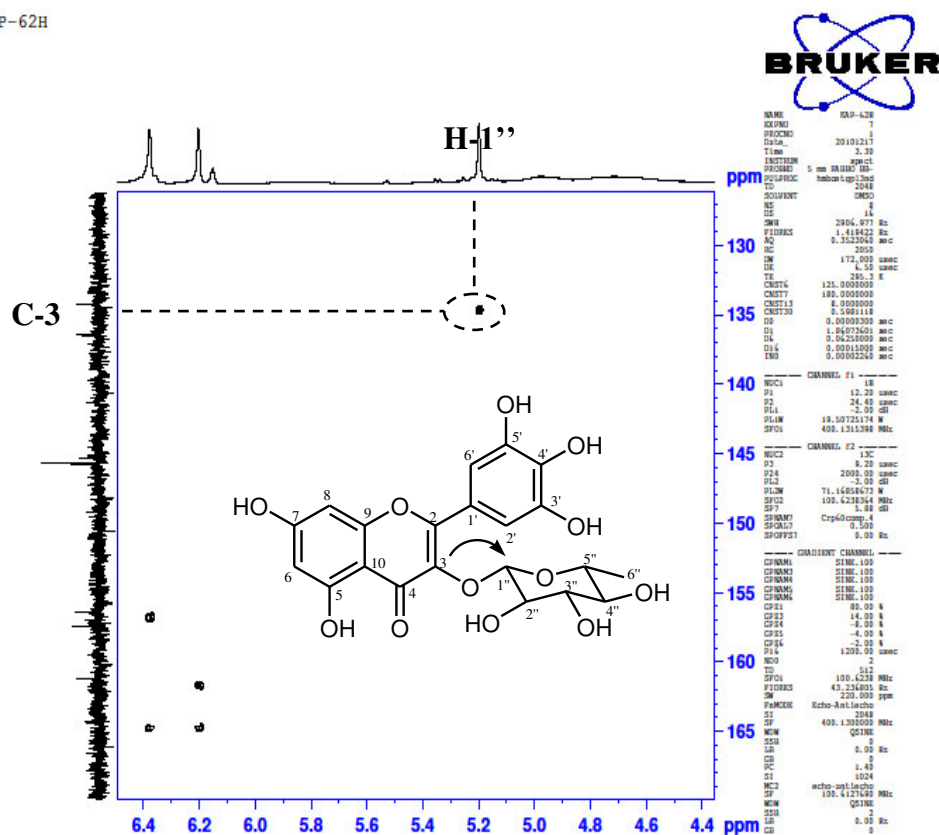
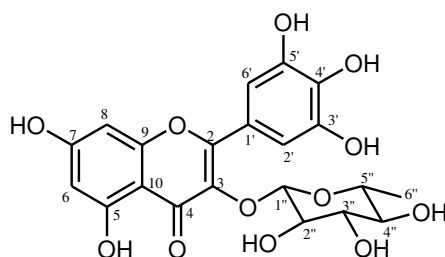


Figure 30: Spectre HMBC du composé **5** dans le DMSO-d₆

L'ensemble des données spectrales en comparaison avec les données de la littérature, nous ont permis d'établir la structure du composé **5** comme étant la Myricétine-3-O-α-rhamnose. Ce composé est rapporté pour la première fois dans le genre santaloïdes. Il a déjà été isolé des feuilles *Myrsine seguinii* (Myrsinaceae) [160], d'*Argania spinosa* (Sapotaceae) [161], d'*Ampelopsis grossedentata* [162] et de *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae) [163]



5 : Myricétine-3-O-α-rhamnose

Tableau 25: Caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé **5** dans le DMSO- d_6

Position	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT 135
2	-	156,38	C
3	-	134,20	C
4	-	179,70	C=O
5	12,68(s)	161,23	C
6	6,38(d) J=2Hz	93,53	CH
7	-	164,00	C
8	6,20(d) J=2Hz	98,68	CH
9	-	157,42	C
10	-	103,91	C
1'	-	119,52	C
2'	6,90(d) J=2Hz	107,84	CH
3'	-	145,71	C
4'	-	136,46	C
5'	-	145,71	C
6'	6,90(d) J=8,3Hz	107,84	CH
1''	5,20(d) J=1,8Hz	101,86	C1-Rha
2''	3,89 (dd) J=3,2Hz/1,7Hz	70,42	C2-Rha
3''	3,55 (d) J=10,6Hz	70,73	C3-Rha
4''	3,17(m)	71,72	C4-Rha
5''	3,34(m)	70,91	C5-Rha
6''	0,84(d) J=6,1Hz	17,88	C6-Rha

Les isomères *Myricétine 4'-O- α -L-rhamnopyranoside* et *Quercétine 3'-O- α -L-rhamnopyranoside* ont déjà été isolés des extraits de la partie aérienne (feuilles et tiges) de *Oenothera speciosa* Nutt. (Onagraceae) [89].

V-2-Etude de l'extrait à l'acétate d'éthyle des graines

V-2-1-Fractionnement et purification

Une analyse LC/DAD-UV (figure 31) à 280 nm, entreprise sur l'extrait à l'acétate d'éthyle (AcOEt) des graines de *S. afzelii* nous a permis d'observer deux (2) composés majoritaires **2** et **6**.

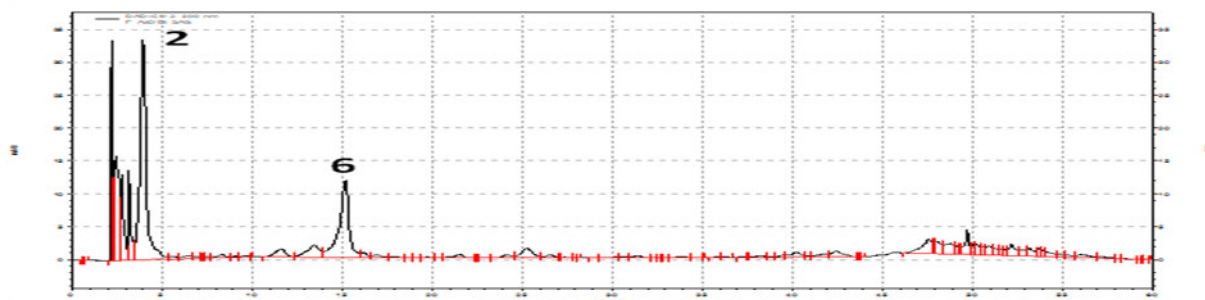
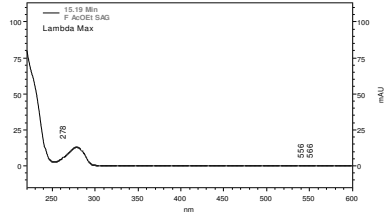
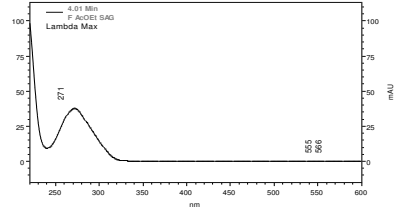


Figure 31: Chromatogramme HPLC de l'extrait à l'AcOEt des graines de *S. afzelii* à 280 nm

L'analyse des spectres UV/visible (Tableau 26) correspondants indique la présence de l'acide gallique (composé 2) et d'un flavan-3-ol (composé 6). Le composé 6 montre une bande d'absorption 278 nm caractéristique des flavan-3-ols.

Tableau 26: Caractéristiques HPLC et UV/vis de l'extrait AcOEt des graines de *S. afzelii*

Composés	Composé 6	Composé 2
Spectres UV/visible		
Rt (min)	15,19	4,01
λ_{max} (nm)	278	271

Une partie (0,8g) de l'extrait à l'AcOEt des graines de *S. afzelii* a subi un fractionnement sur colonne de gel de silice 60Å (figure 32). Les éluants utilisés sont constitués de mélange de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ et AcOEt/MeOH dans des proportions variables pour donner 8 fractions (G_1 à G_8). La fraction G_3 a subi une purification sur colonne de gel de silice 60Å avec comme éluant le mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10/1) pour aboutir au composé 6 (G_{3B}).

Une autre partie (0,52g) de l'extrait à l'AcOEt des graines de *S. afzelii* a subi un fractionnement par chromatographie d'exclusion sur gel de Sephadex (Figure 33) avec le MeOH (100%) comme éluant pour donner 5 fractions (G'_1 à G'_5). Le composé 2 (G'_{1B}) a été obtenu par la purification sur colonne de gel de silice de la fraction G'_1 .

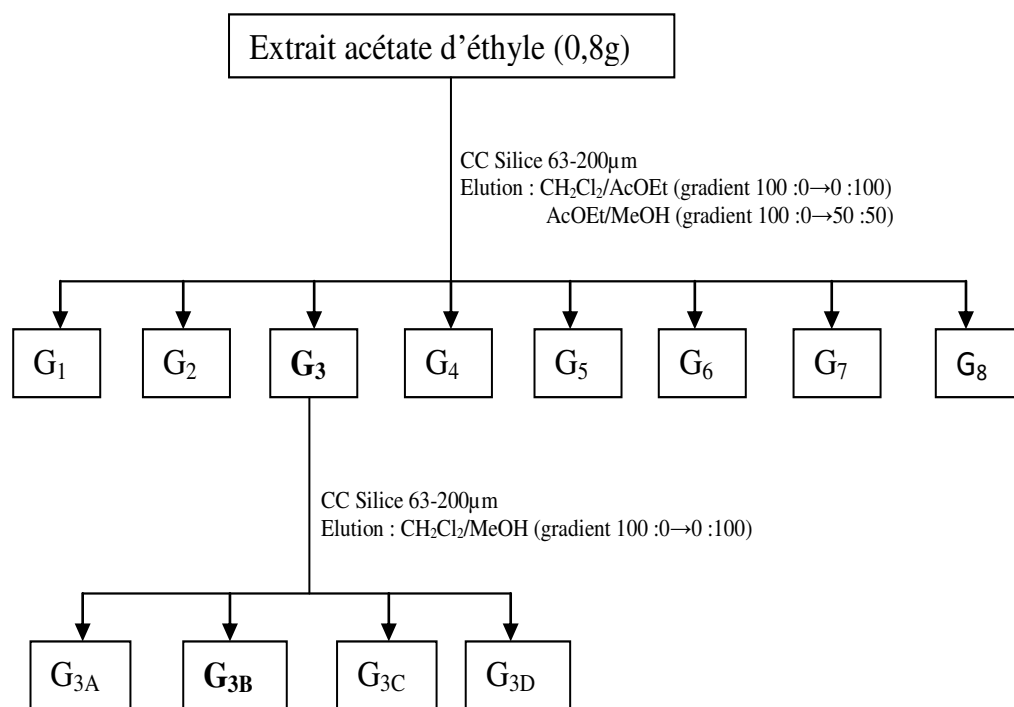


Figure 32: Schéma de purification sur gel de silice de l'extrait à l'AcOEt des graines de *S. afzelii*

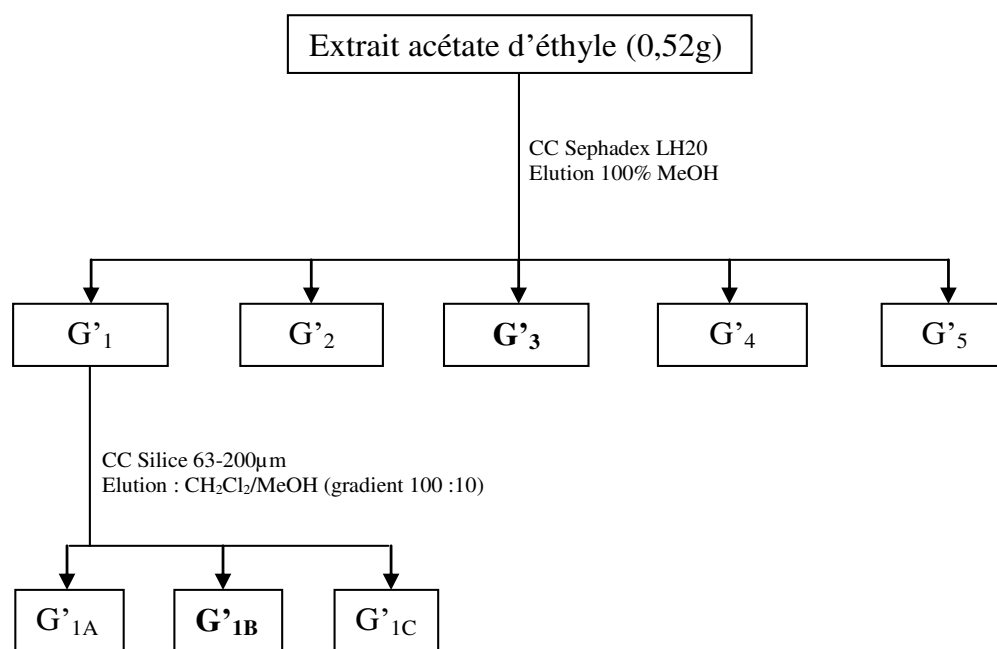


Figure 33: Schéma de purification sur séphadex de l'extrait à l'AcOEt des graines de *S. afzelii*

V-2-2- Détermination de la structure du composé 6

Le composé 6 se présente sous forme d'une poudre blanche soluble dans le méthanol. Le spectre UV présente un maxima à 278 nm. L'analyse du spectre de masse en mode positif

montre un ion moléculaire à m/z 313,0803 $[M+Na]^+$, suggérant une masse molaire de 290,0803 correspondant à la formule brute $C_{15}H_{14}O_6$.

Les caractéristiques en RMN ^{13}C , 1H , et DEPT 135 du composé **6** dans le DMSO- d_6 , obtenues à partir des spectres en annexe 6, sont consignées dans le tableau 27.

Le spectre RMN 1H du composé **6** présente cinq (5) protons aromatiques similaires à ceux du composé **4**. Nous retrouvons les signaux du cycle A (deux signaux présentant un système de couplage AB en meta) que l'on peut identifier par :

- un signal à $\delta_H=5,69$ ppm sous forme de doublet ($J=2,30Hz$) attribuable à H-8 ;
- un signal à $\delta_H=5,89$ ppm sous forme de doublet ($J=2,20Hz$) attribuable à H-6.

Le cycle B (trois signaux présentant un système de couplage ABX) est identifié par :

- un signal à $\delta_H=6,60$ ppm sous forme de doublet ($J=2,00Hz$) attribuable à H-2' ;
- un signal à $\delta_H=6,69$ ppm sous forme de doublet de doublets ($J=8,16Hz/2,00Hz$) attribuable à H-6' ;
- un signal à $\delta_H=6,72$ ppm sous forme de doublet ($J=8,16Hz$) attribuable à H-5'.

Sur le même spectre, nous observons :

- les signaux à $\delta_H=2,65$ ppm sous forme de doublet de doublet ($J=16,08Hz/5,4Hz$) et à $\delta_H=2,35$ ppm sous forme de doublet de doublet ($J=16,04Hz/8,4Hz$) caractéristiques des deux protons en position 4 de l'hétérocycle ;
- deux signaux à $\delta_H=3,82$ ppm sous forme de multiplet et $\delta_H=4,48$ ppm sous forme de doublet ($J=7,68Hz$) caractéristiques respectivement des protons H-3 et H-2.

Les protons hydroxyles OH des deux (2) noyaux aromatiques sont observés entre $\delta_H=8,83$ ppm et $\delta_H=9,19$ ppm. Le proton hydroxyle OH en position 3 est observable à $\delta_H=4,87$ ppm.

Sur le spectre de la DEPT 135, on observe les signaux caractéristiques des carbones de l'hétérocycle. Ce sont :

- le signal à $\delta_C=27,82$ ppm attribué au carbone C-4 ;
- le signal à $\delta_C=80,95$ ppm attribué au carbone C-2 ;

-
- le signal à $\delta_C = 66,25$ ppm attribué au carbone C-3.

Sur les spectres RMN ^{13}C et DEPT 135 nous observons quinze (15) signaux dont sept (7) carbones quaternaires aromatiques, cinq (5) carbone CH aromatiques caractéristiques des carbones des deux cycles A et B. Ainsi, nous avons :

- les carbones aromatiques du cycle A (C-8 et C-6) observables respectivement à $\delta_C = 93,78$ ppm et $\delta_C = 95,04$ ppm ;
- les signaux caractéristiques des carbones aromatiques CH du cycle B (C-2', C-5' et C-6') observables respectivement à $\delta_C = 118,36$ ppm, $\delta_C = 114,46$ ppm et $\delta_C = 115,01$ ppm ;
- le signal à $\delta_C = 99,0$ ppm attribué au carbone C-10 ;
- le signal à $\delta_C = 130,53$ ppm attribué au carbone C-1' ;
- le signal à $\delta_C = 144,79$ ppm attribué aux carbones C-3' et C-4' ;
- les signaux à $\delta_C = 155,31$ ppm, $\delta_C = 156,12$ ppm et $\delta_C = 156,40$ ppm sont attribués respectivement aux carbones C-5, C-7 et C-9.

L'examen du spectre COSY (^1H - ^1H) (figure 34) du composé **6** montre une corrélation entre :

- les protons H-4a (2,35ppm) et H-4b (2,65ppm) ;
- les protons H-4a / H-4b et H-3 (3,82ppm) ;
- les protons H-3 (3,82ppm) et H-2 (4,48ppm) ;
- le proton H-3 (3,82ppm) et le proton de l'hydroxyle OH-3 (4,87ppm).

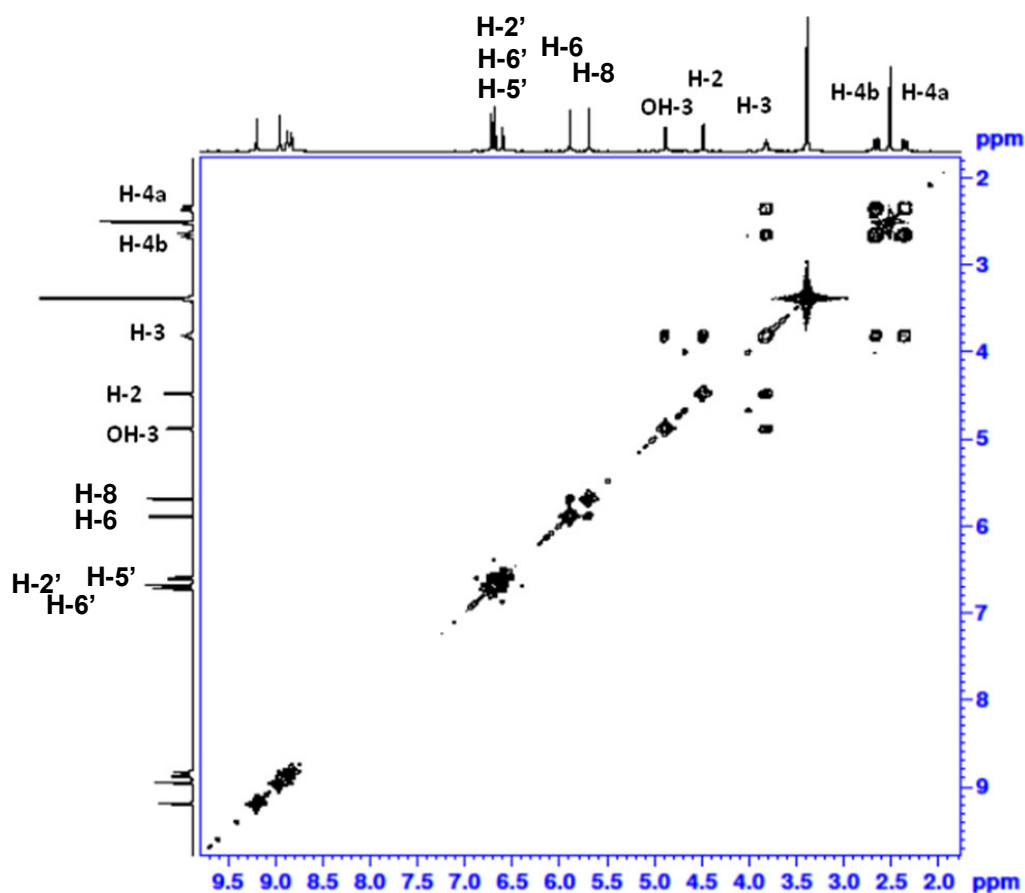


Figure 34: Spectre COSY du composé **6** dans le DMSO-d₆

L'analyse du spectre de l'expérience HSQC (figure 35) permet l'attribution des protons aux atomes de carbones correspondants. Ainsi :

- les protons H-4a / H-4b à $\delta_H=2,35$ et $2,65\text{ppm}$ permettent l'attribution du signal à $\delta_C = 27,82\text{ ppm}$ à l'atome de carbone C-4 ;
- le proton H-2 à $\delta_H=4,48\text{ppm}$ permet l'attribution du signal à $\delta_C=80,95\text{ppm}$ à l'atome de carbone C-2 ;
- le proton H-6 à $\delta_H=5,89\text{ppm}$ permet l'attribution du signal à $\delta_C=95,04\text{ppm}$ à l'atome de carbone C-6.
- le proton H-8 à $\delta_H=5,69\text{ppm}$ permet l'attribution du signal à $\delta_C=93,78\text{ppm}$ à l'atome de carbone C-8.
- le proton H-3 à $\delta_H=3,82\text{ppm}$ permet l'attribution du signal à $\delta_C=66,25\text{ ppm}$ à l'atome de carbone C-3.
- le proton H-5' à $\delta_H=6,72\text{ppm}$ permet l'attribution du signal à $\delta_C=114,46\text{ppm}$ à l'atome de carbone C-5'.

- le proton H-6' à $\delta_H=6,69\text{ppm}$ permet l'attribution du signal à $\delta_C = 115,01 \text{ ppm}$ à l'atome de carbone C-6'.
- le proton H-2' à $\delta_H=6,60\text{ppm}$ permet l'attribution du signal à $\delta_C = 118,36 \text{ ppm}$ à l'atome de carbone C-2'.

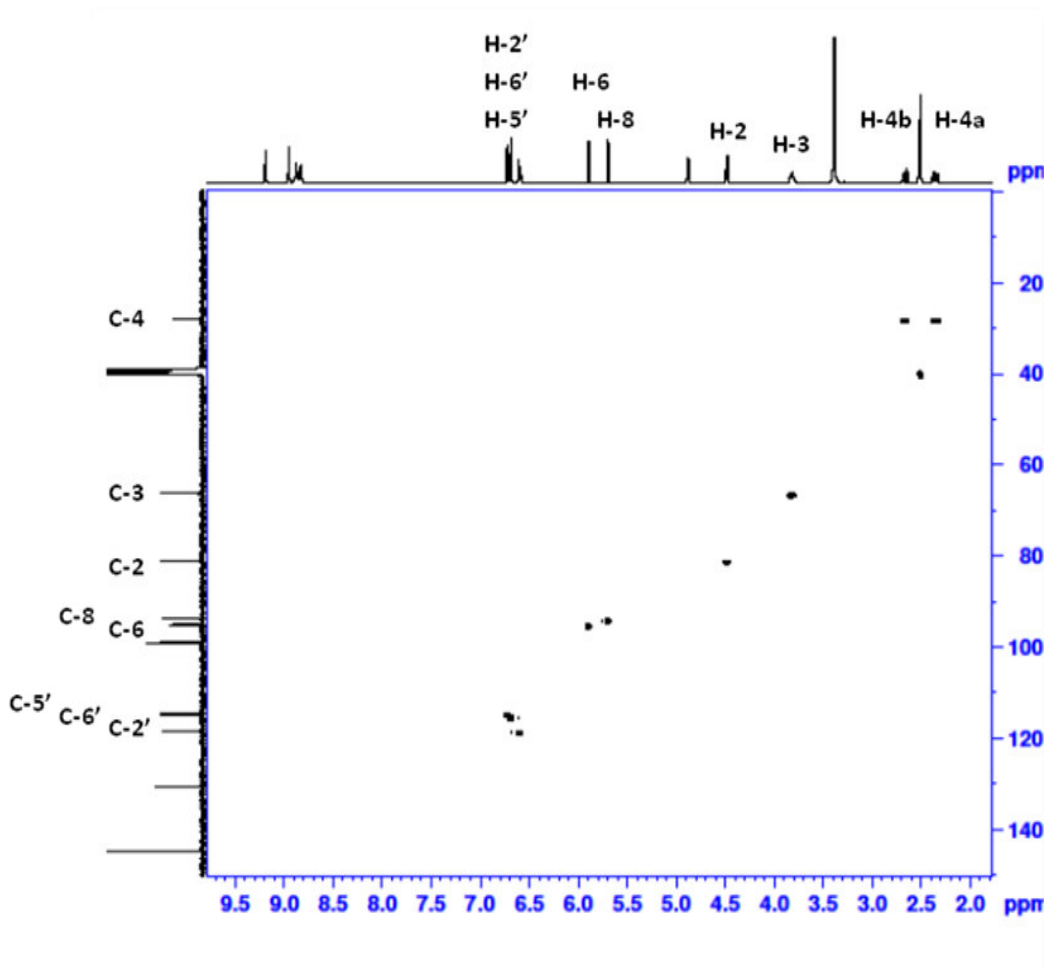


Figure 35: Spectre HSQC du composé **6** dans le DMSO-d₆

L'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC (figure 36) met en évidence les corrélations proton-carbone à longue distance. Nous observons :

- une corrélation entre le carbone C-4 et les protons H-2 et OH-3 ;
- une corrélation entre le carbone C-3 et les protons H-2, OH-3, H-4 α et H-4 β ;
- une corrélation entre le carbone C-2 et les protons H-2', H-5', H-6', OH-3, H-4 α et H-4 β .

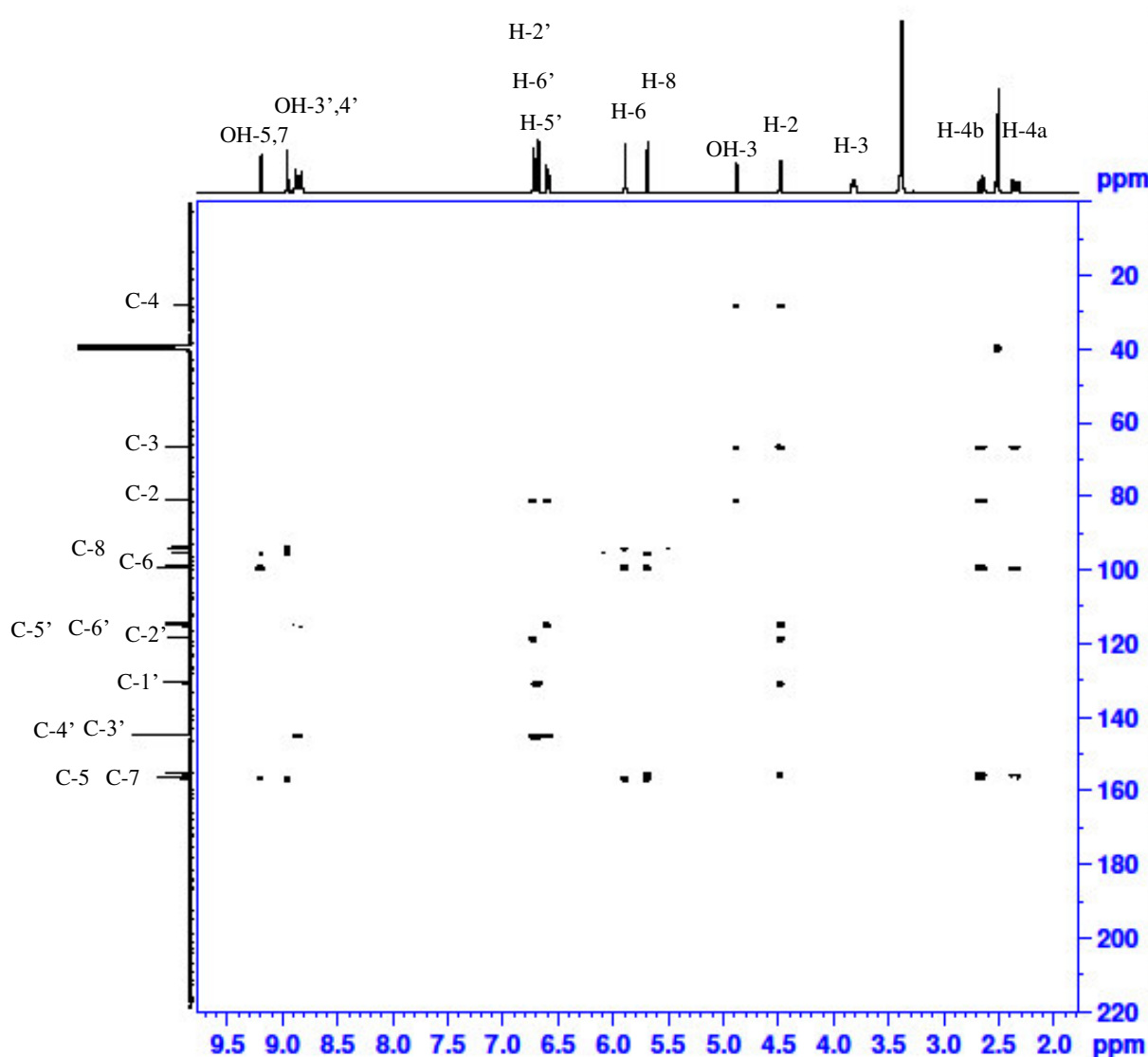
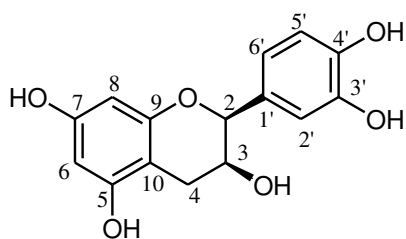


Figure 36: Spectre HMBC du composé **6** dans le DMSO-d₆

Ces données spectrales peuvent être comparées à celles de la littérature [164-168]. Le composé **6** est très probablement une catéchine. La constante de couplage entre le proton H-2 et le proton H-3 ($J=7,68\text{Hz}$) montre une configuration 2,3-*cis* [166], donnant ainsi le nom d'épi-catéchine à la structure. Ce composé est rapporté pour la première fois dans le genre *santaloïdes*.



6: Epi-catéchine

Tableau 27: Caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé **6** dans le DMSO- d_6

Position	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT 135
2	4,48(d) J=7,68Hz	80,95	CH
3	3,82(m)	66,25	CH
4	2,35(dd)J=16,04Hz/8,4Hz 2,65(dd)J=16,04Hz/5,4Hz	27,82	CH ₂
5	-	155,31	C
6	5,89 (d) J=2,20Hz	95,04	CH
7	-	156,12	C
8	5,69 (d) J=2,30Hz	93,78	CH
9	-	156,40	C
10	-	99,00	C
1'	-	130,53	C
2'	6,60 (d) J=2,00Hz	118,36	CH
3'	-	144,79	C
4'	-	144,79	C
5'	6,72 (dd) J=8,16Hz	114,46	CH
6'	6,69(d) J=8,16Hz /2,00Hz	115,01	CH

V-3-Etude de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces

V-3-1- Fractionnement et purification

Une analyse LC/DAD-UV (figure 37) à 280 nm, entreprise sur la fraction AcOEt des écorces de *S. afzelii*, nous a permis d'observer 4 composés majoritaires **2**, **6**, **7_{B1}** et **7_{B2}**.

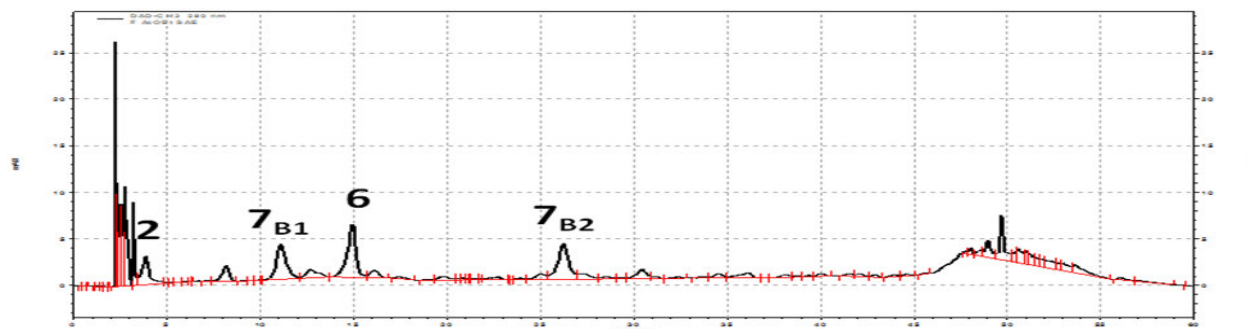
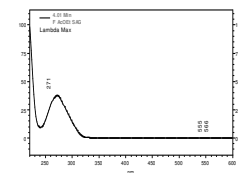
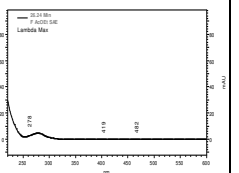
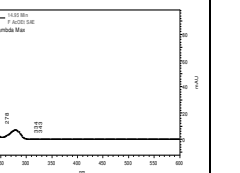
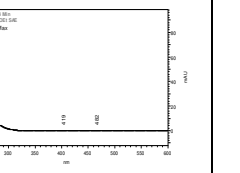


Figure 37 : Chromatogramme HPLC de l'extrait à l'AcOEt des écorces de *S. afzelii* à 280 nm

L'analyse des spectres UV/visible (tableau 28) correspondants indique la présence de l'acide gallique (composé **2**), de l'épi-catéchine (composé **6**) et de deux composés phénoliques (**7_{B1}** et **7_{B2}**) présentant une bande d'absorption de 280 nm.

Tableau 28: Caractéristiques HPLC et UV/vis de l'extrait AcOEt des écorces de *S. afzelii*

Noms des composés	Composé 2	Composé 7_{B1}	Composé 6	Composé 7_{B2}
Spectres UV/visible				
Rt (min)	3,85	11,05	14,95	26,80
λ_{max}	271 nm	280 nm	278 nm	280 nm

La fraction acétate d'éthyle (3g) des écorces de *S. afzelii* a subi un premier fractionnement par chromatographie sur gel de silice 60 (figure 38). Les éluants utilisés sont constitués de mélange de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ et AcOEt/MeOH dans des proportions variables pour donner 7 fractions (E_1 à E_7). Les fractions E_2 (340 mg) et E_6 (343 mg) ont subi chacune une purification par chromatographie sur gel de silice 60Å avec comme éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ dans des proportions variables pour donner successivement les composés **6** (E_{22}) et **7** (E_{64}).

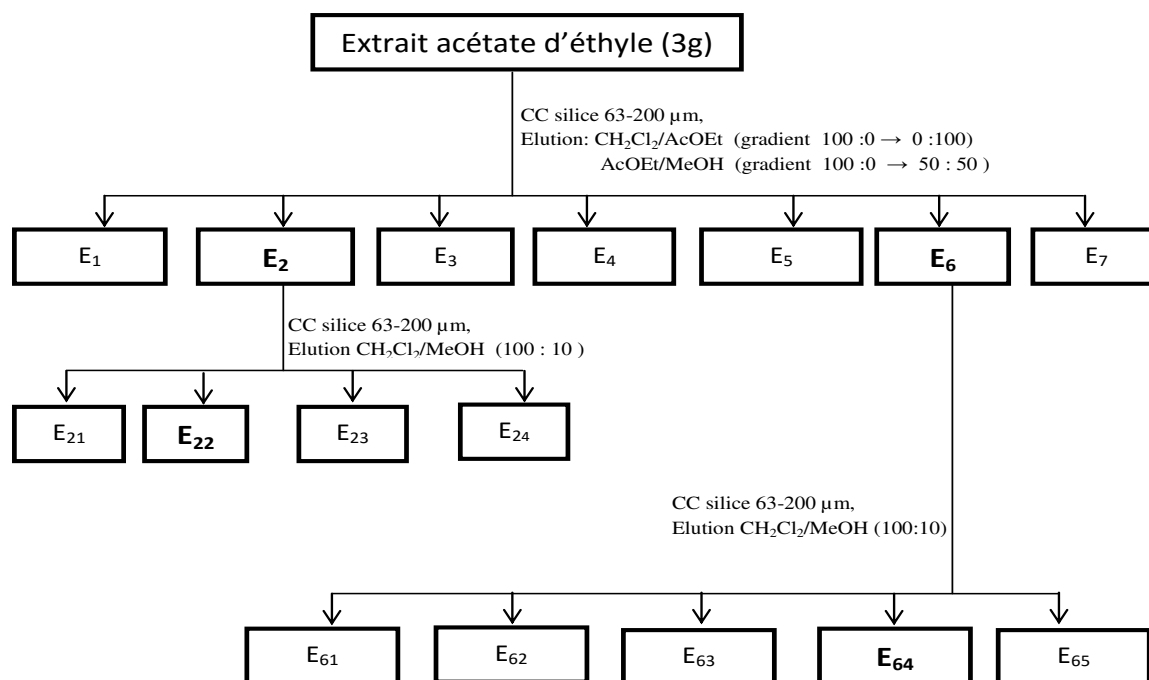


Figure 38: Schéma de purification de l'extrait à l'AcOEt des écorces de *S. afzelii*

La figure 39 présente le suivi du fractionnement de l'extrait à l'AcOEt des écorces par HPLC.

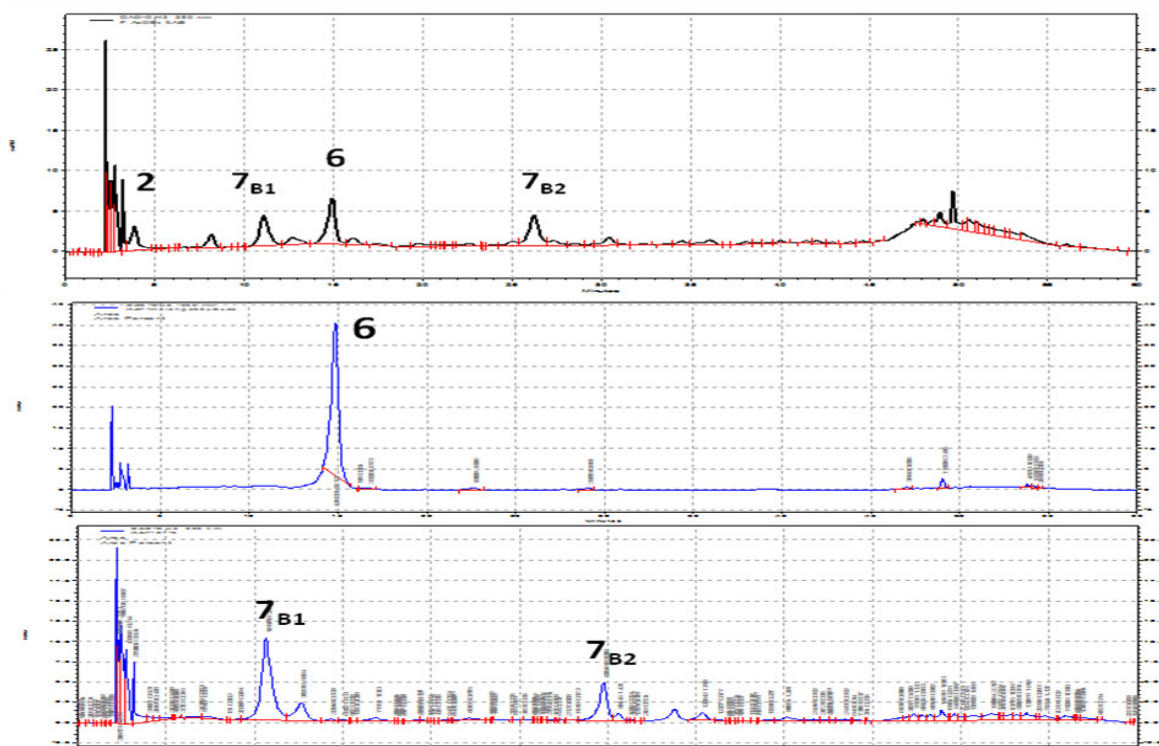


Figure 39: Suivi du fractionnement par HPLC de l'extrait à l'AcOEt des écorces de *S. afzelii*

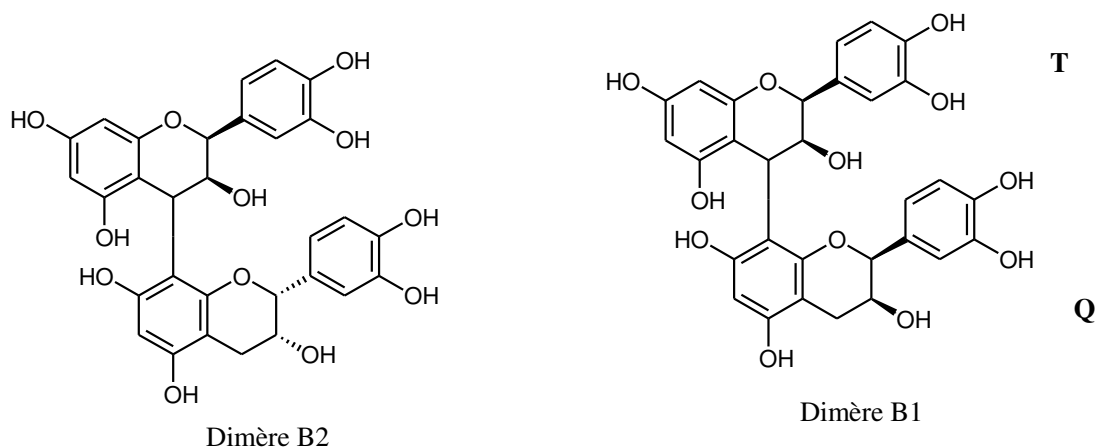
V-3-2- Détermination de la structure des composés **7_{B1}** et **7_{B2}**

Le composé **6** est présent dans les graines et écorces de *S. afzelii*. Ce composé est l'unité de base de tanins catéchiques, donc nous pouvons suggérer la présence de tanins catéchiques ou tanins condensés dans les écorces car les tanins condensés sont naturellement présents dans l'écorce des plantes [169, 170].

Le spectre de masse à haute résolution du composé **7** indique un ion moléculaire à $m/z = 601,1323$ $[M+Na]^+$ suggérant une masse de 578,1323 correspondant à la formule brute $C_{30}H_{26}O_{12}$. De ce fait, cette masse indique exactement que ce composé **7** est un dimère procyanidine [171].

Les spectres d'absorption UV du composé **7** présente une similitude avec celle des flavan-3-ols (composé **6**). Lorsqu'un groupe hydroxyle en position 5 est substitué ou lorsqu'un groupe hydroxyle à la position 3 du squelette de flavan-3-ol est estérifié par le gallate, la limite d'absorption décale vers une longueur d'onde plus courte (≈ 6 nm). La polymérisation entre flavan-3-ols ne cause pas de changement des spectres d'absorption UV [172]. Le composé **7** pourrait être donc un dimère de flavan-3-ol.

Le spectre HPLC (figure 39) du composé **7** indique deux (2) pics, qui pourraient être la présence des dimères B2 et B1. Pour faciliter la compréhension des attributions futures en RMN, nous désignons un des monomères par **T** et l'autre par **Q**.



Le spectre RMN 1H (figure 40) du composé **7** présente des signaux semblables à celui du composé **6**. Ces signaux, sont sous forme de multiplets, indiquent la possible présence de dimères procyanidines.

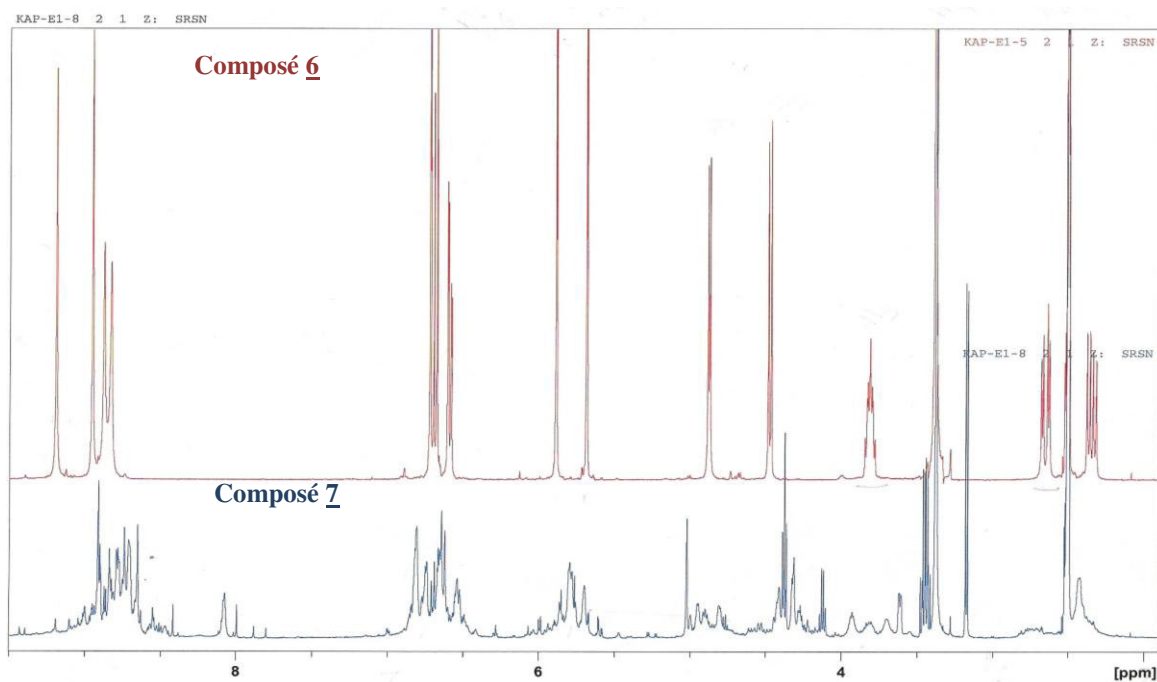


Figure 40: Spectres RMN ^1H des composés **6** et **7** dans le DMSO- d_6

Les caractéristiques en RMN ^{13}C , RMN ^1H et DEPT 135 obtenues à partir des spectres en annexe 7 sont données dans le tableau 29.

A partir des expériences RMN 1D (RMN ^1H , ^{13}C , DEPT 135) (Annexe 7) et 2D (COSY et HSQC) (Figures 41 et 42), nous avons pu faire l'attribution complète des protons et carbones des dimères.

L'examen du spectre COSY (^1H - ^1H) (figure 41) du composé **7** montre une corrélation entre :

- le proton H-4aQ (2,60ppm) et H-4bQ (2,80ppm) ;
- les protons H-4aQ / H-4bQ et H-3Q (4,02ppm) ;
- le proton H-3Q (4,02ppm) et H-2Q (4,60ppm) ;
- le proton H-2T (4,80ppm) et H-3T (4,02ppm) ;
- le proton H-3T (4,02ppm) et H-4T (4,60ppm).

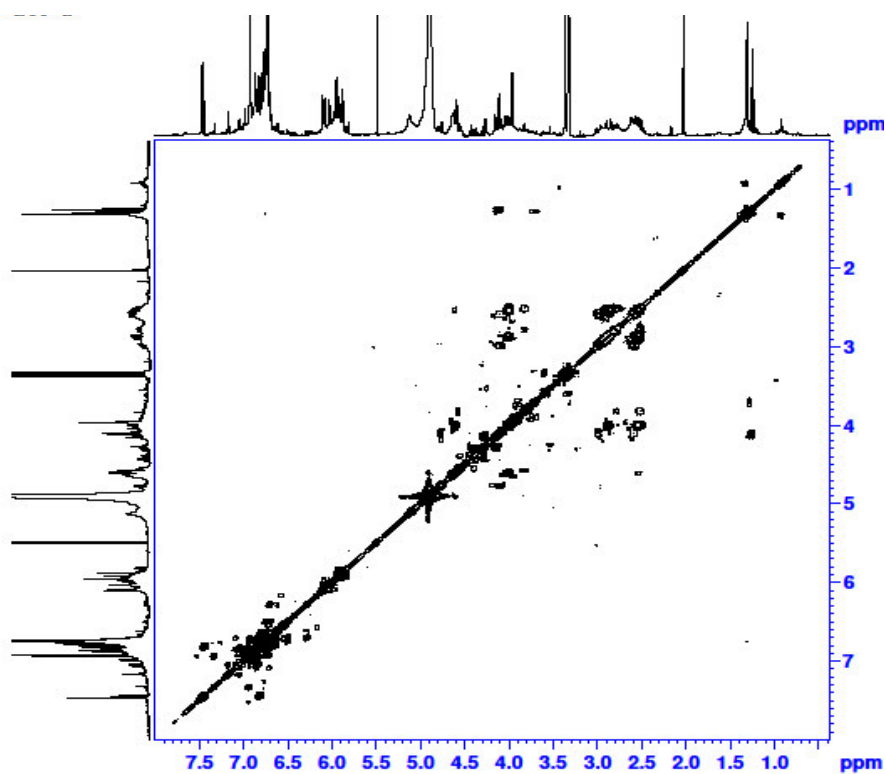


Figure 41: Spectre COSY du composé 7 dans le MeOH-d4

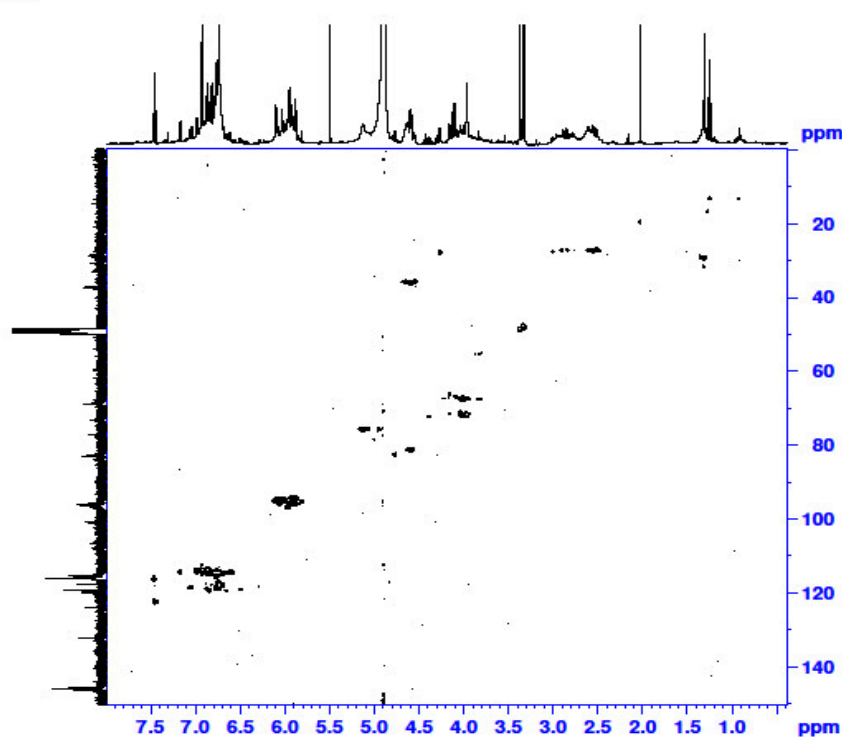


Figure 42: Spectre HSQC du composé 7 dans le MeOH-d4

Ainsi, sur le spectre RMN ^1H (Figure 40), nous observons des signaux caractéristiques des procyanidines dimères. Ce sont :

- les signaux en 2,60 / 2,80 et 4,60 ppm correspondants aux protons H-4aQ / H-4bQ et H-4T ;
- les signaux entre 4,00-4,10 ppm correspondants aux protons H-3T et H-3Q ;
- les signaux en 4,80 et 4,60 ppm correspondants aux protons H-2T et H-2Q ;
- les signaux entre 5,50 - 6,00 ppm attribuables aux protons aromatiques (H-6 et H-8) du cycle A de la partie T et (H-6) du cycle A de la partie Q ;
- les signaux entre 6,50 – 7,00 ppm attribuables aux protons aromatiques (H-2', H-5' et H-6') des deux cycles B ;
- les signaux entre 8,80 – 9,00 ppm attribuables aux groupements hydroxyles (OH) des 4 cycles aromatiques.

Sur le spectre RMN ^{13}C et la DEPT 135 (Annexe 7) nous observons quatre signaux à δ_{C} =68,84 ; 73,32 ; 77,12 ; 82,86 ppm correspondant respectivement aux carbones C-3Q, C-3T, C-2Q et C-2T. Nous observons aussi des signaux caractéristiques des carbones C-4Q et C-4T respectivement à δ_{C} = 28,53 et 37,20 ppm.

Les signaux des carbones CH aromatiques [173] apparaissent respectivement à :

- 119,90/119,42 ppm ; 116,13/115,75 ppm et 116,13/117,76 ppm pour C-2'T/C-2'Q, C-5'T/C-5'Q et C-6'T/C-6'Q ;
- 95,56 ppm et 96,87/96,32 ppm pour C-8T et C-6T/C-6Q.

Les signaux des carbones C aromatiques :

- 157,80/156,99 ppm et 157,80/155,68 ppm pour C-7T/C-7Q et C-9T/C-9Q ;
- 132,24 ppm pour C-1'T/C-1'Q ;
- 106,61 ppm pour C-8Q ;
- 100,85/101,22 ppm pour C-10T/C-10Q ;
- 145,55/145,86 ppm et 145,92/145,25 pour C-3'T/C-3'Q et C-4'T/C-4'Q.

La comparaison des données RMN avec celles de la littérature [174, 175] nous a permis d'identifier le composé **7** comme un dimère procyanidine de type B. Ce composé est rapporté pour la première fois dans le genre santaloïdes.

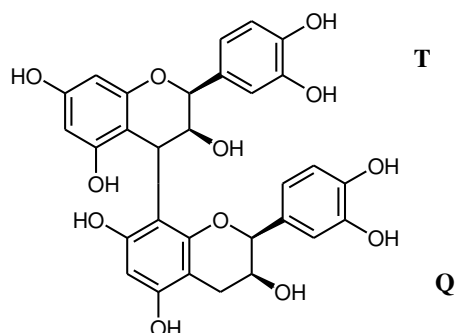


Tableau 29: Déplacements chimiques du composé **7** dans le MeOH-d₄

Position	RMN ¹ H (δ _H ppm)	RMN ¹³ C (δ _C ppm)	DEPT
C2T/C2Q	4,80(d)/4,60(d)	77,12/82,86	CH/CH
C3T/C3Q	4,00-4,10 (m)	73,32/68,84	CH/CH
C4T/C4Q	4,46(d) / 2,6/2,8(m)	37,20/28,53	CH/CH ₂
C5T/C5Q	-	157,80/156,99	C/C
C6T/C6Q	5,85(s)/5,78(s)	95,87/96,32	CH/CH
C7T/C7Q	-	157,80/156,99	C/C
C8T/C8Q	5,70(s)/-	95,54/106,61	CH/C
C9T/C9Q	-	157,8/155,68	C/C
C10T/C10Q	-	100,85/101,22	C/C
C1'T/C1'Q	-	132,24/132,24	C/C
C2'T/C2'Q	6,52-6,82 (m)	119,90/119,42	CH/CH
C3'T/C3'Q	-	145,55/145,86	C/C
C4'T/C4'Q	-	145,92/145,25	C/C
C5'T/C5'Q	6,52-6,82 (m)	116,13/115,75	CH/CH
C6'T/C6'Q	6,52-6,82 (m)	116,13/117,76	CH/CH

V-4-Etude de l'extrait éthanolique des feuilles

V-4-1-Fractionnement et purification

Une partie (5g) de l'extrait EtOH des feuilles de *S. afzelii* a subi un fractionnement sur colonne de gel de silice 60 (figure 43). L'éluant utilisé est un mélange de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ dans des proportions variables. Quatre (4) grandes fractions T1 à T4 ont été obtenues. La fraction T4 (1,24 g) est ensuite purifiée sur colonne de gel de silice, avec le même éluant pour donner le composé **8** (T₄₂) 250 mg.

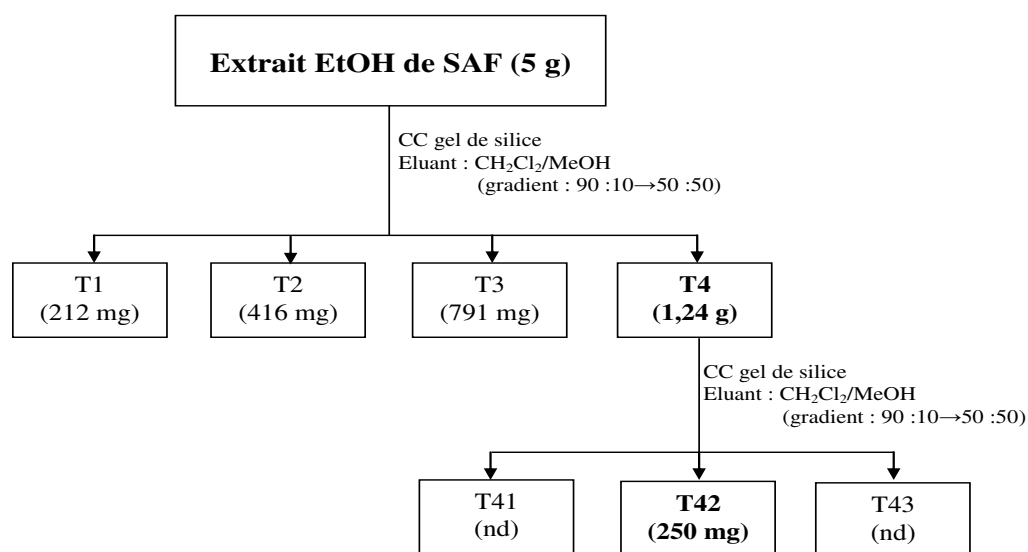


Figure 43: Schéma de purification de l'extrait EtOH de *S. afzelii*

La figure 44 présente le suivi du fractionnement de l'extrait EtOH par CCM.

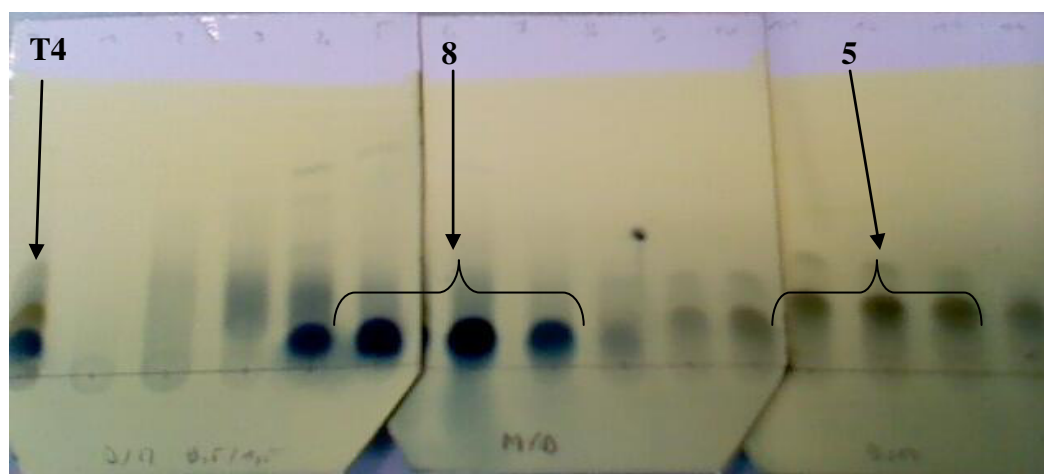
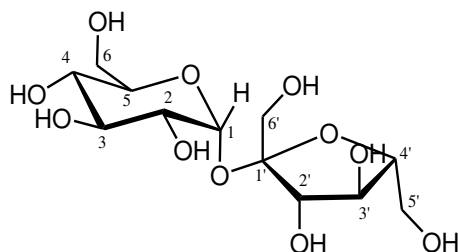


Figure 44: Suivi du fractionnement de l'extrait EtOH de *S. afzelii* par CCM

V-4-2-Détermination de la structure du composé **8**



Le sucrose, un disaccharide formé d'un glucose lié à un fructose [176], avec une liaison glycoside entre le proton anomérique du glucose et le proton anomérique du fructose. Cette molécule a été isolée de l'extrait EtOH des feuilles de *S. afzelii*.

Le produit **8** est un solide blanc soluble dans le MeOH. Le $R_f = 0,12$ (MeOH/CH₂Cl₂ : 9/1). Il n'est pas visible par fluorescence sous UV à 254 nm mais donne une coloration bleue avec l'acide molybdique caractéristique des sucres.

Les caractéristiques en RMN ¹³C, ¹H et DEPT 135 du composé **8** dans le MeOH-d₄, obtenues à partir des spectres en annexe 8, sont regroupées dans le tableau 30.

Le spectre RMN ¹H (Annexe 8) présente les caractéristiques du sucrose [177, 178]. Nous notons :

- un signal à $\delta_H=5,15$ ppm sous forme de doublet ($J=3,7$ Hz), caractéristique du proton H-1 α du glucose ;
- un signal à $\delta_H=4,51$ ppm sous forme de doublet ($J=7,8$ Hz), caractéristique du proton H-1 β du glucose ;
- un massif entre 3 ppm et 4 ppm caractéristique des autres protons du sucrose.

Les spectres RMN ¹³C et DEPT 135 (Annexe 8) du composé **8** montrent:

- deux signaux à $\delta_C=103,17$ ppm et 99,24 ppm respectivement caractéristique des carbones C-1 β' et C-1 α' du fructose ;
- deux signaux à $\delta_C=98,20$ ppm et 93,96 ppm respectivement caractéristique des carbones C-1 β et C-1 α du glucose ;
- un signal à $\delta_C=83,26$ ppm caractéristique du carbone C-4' du fructose ;

- un massif entre $\delta_C=78,08$ ppm et 71,25 ppm caractéristique des carbones C-3', C-2' du fructose et des carbones C-5, C-3 et C-2 du glucose ;
- un signal à $\delta_C=62,86$ ppm caractéristique du carbone C-6 du glucose ;
- un signal à $\delta_C=64,57$ ppm caractéristique du carbone C-6' du fructose ;
- un signal à $\delta_C=65,89$ ppm caractéristique du carbone C-5' du fructose ;
- un signal à $\delta_C=69,39$ ppm caractéristique du carbone C-4 du glucose.

Les signaux du spectre RMN ^{13}C présentent des similitudes avec celles du sucrose décrites dans la littérature [177, 179, 180].

Les spectres RMN COSY (figure 45) et HSQC (figure 46) ont permis de confirmer les attribution des protons et carbones [181].

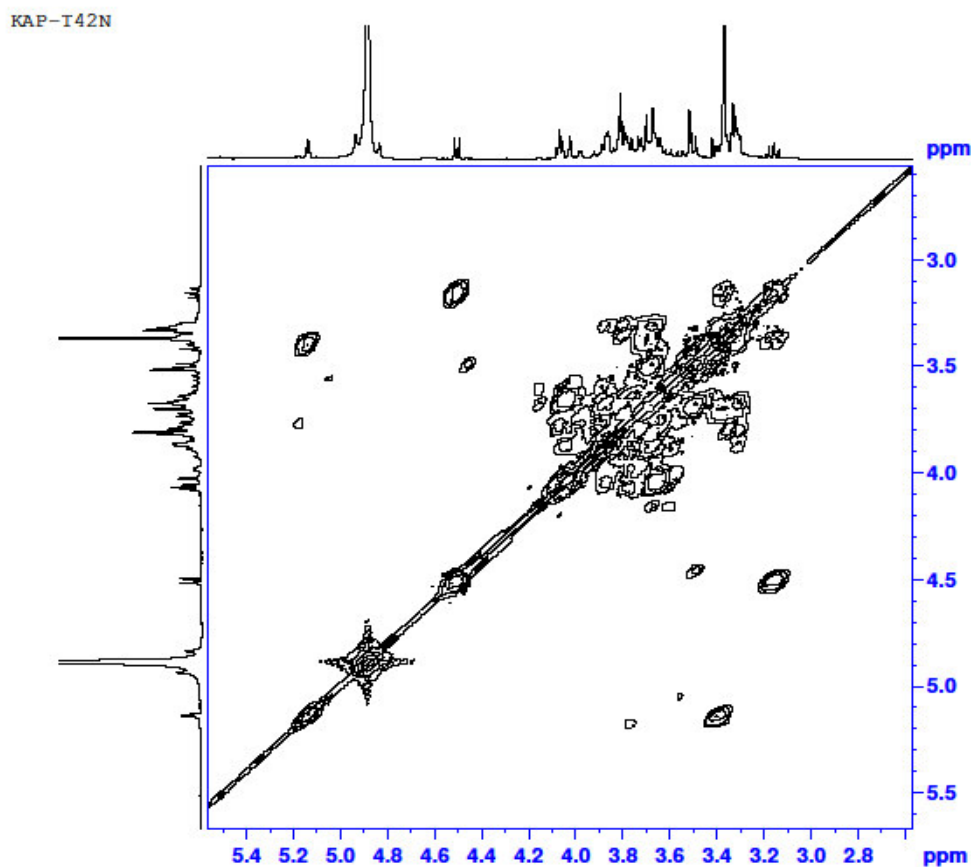


Figure 45: Spectre COSY du composé **8** dans le MeOH-d4

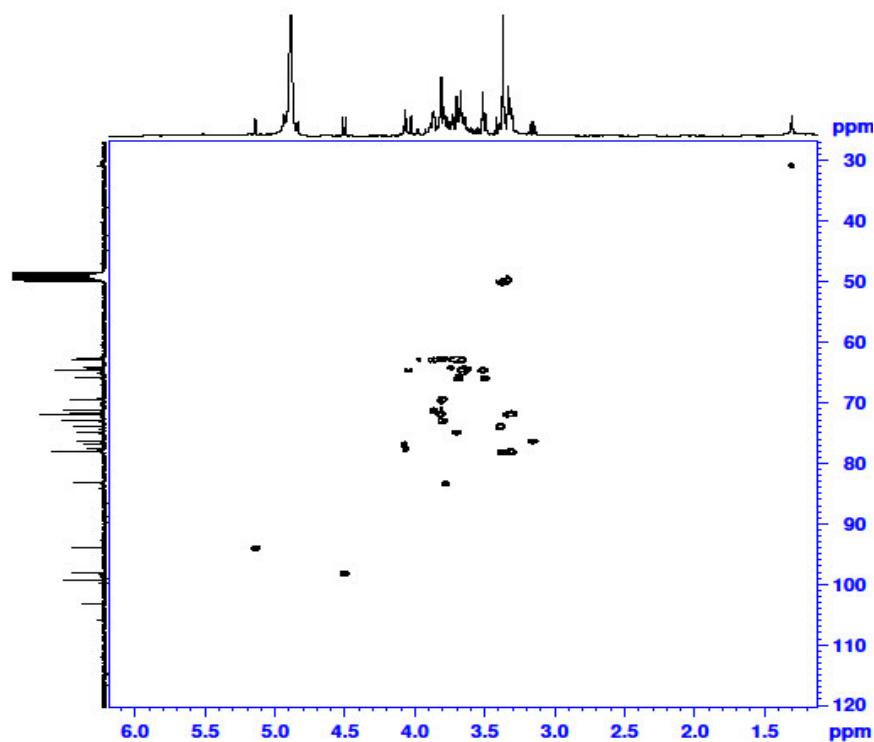


Figure 46: Spectre HSQC du composé **8** dans le MeOH-d₄

Tableau 30: Caractéristiques en RMN ¹H, ¹³C et DEPT 135 du composé **8** dans du MeOH-d₄

Position	RMN ¹ H (δ _H ppm)	RMN ¹³ C (δ _C ppm)	DEPT
C-1α/C-1β	4,50/5,15	98,20/93,96	CH/CH
C-2α /C-2β	3,33/3,81	71,25	CH
C-3	3,13	76,36	CH
C-4	3,81	69,39	CH
C-5	3,33	78,08	CH
C-6α /C-6β	3,7/3,81	62,86	CH
C-1α'/C-1β'	-	103,17/99,24	C/C
C-2α' /C-2β'	4,08	77,53	CH
C-3'	3,70	74,87	CH
C-4'	3,79	83,26	CH
C-5 α' / C-5β	3,49/3,70	65,89	CH
C-6α' /C-6β'	3,51/3,67	64,57	CH

V-5-Etude de l'extrait au dichlorométhane des feuilles

V-5-1- Fractionnement et purification

Une partie de l'extrait au CH_2Cl_2 (1,82g) a subi un fractionnement (Figure 47) sur colonne gel de silice 60Å avec comme éluant un mélange Ether de pétrole / CH_2Cl_2 / AcOEt dans des proportions variables pour donner 12 fractions (F1 à F12).

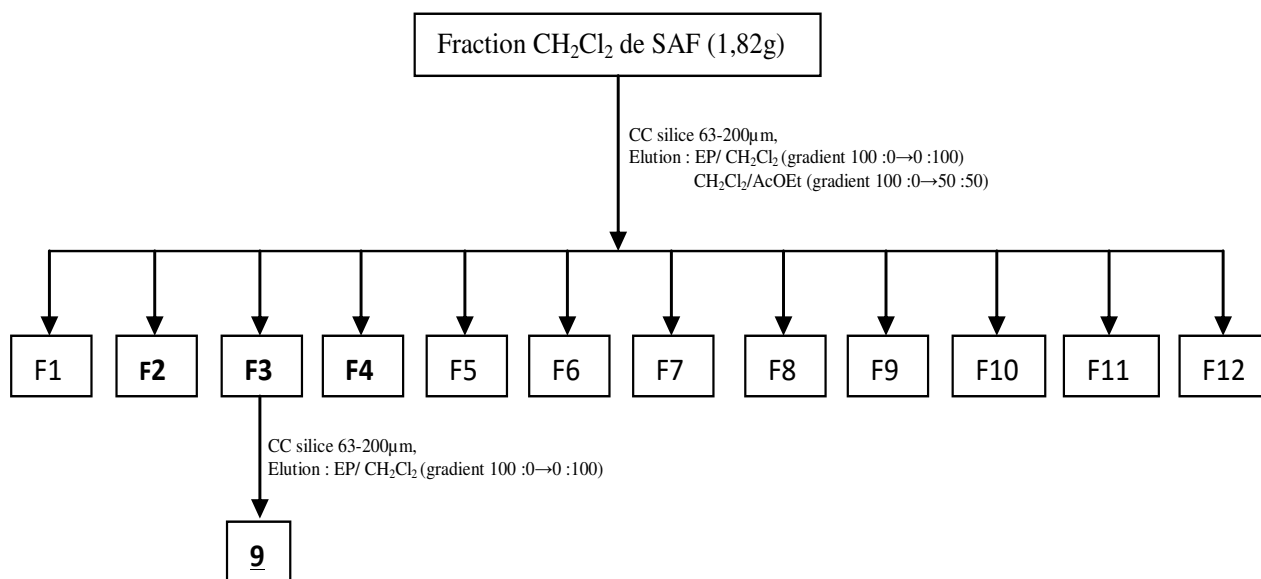


Figure 47: Schéma de purification de l'extrait au CH_2Cl_2 des feuilles de *S. afzelii*

La fraction F3, qui présentait une pureté acceptable par rapport aux autres, a été purifiée à nouveau sur colonne de gel de silice 60Å élue par un mélange d'éther de pétrole / CH_2Cl_2 dans des proportions variables pour donner le composé majoritaire **9** sous forme de beurre blanc soluble dans le dichlorométhane.

Les fractions F2 et F4 ont été analysées en chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

V-5-2-Détermination de la structure du composé **9**

Le spectre RMN ^1H du composé **9** (figure 48) indique une série de pics très dense dans l'intervalle $\delta_{\text{H}}=0,61$ à $2,24$ ppm, ce qui suppose la présence d'un nombre élevé de groupements CH , CH_2 et CH_3 . Le multiplet à $\delta_{\text{H}}=3,45$ ppm (1 proton) correspond au déplacement chimique d'un proton en position α d'un groupement hydroxyle et le signal à $\delta_{\text{H}} = 5,28$ ppm (1 proton) correspond au déplacement chimique de protons d'un carbone sp^2 .

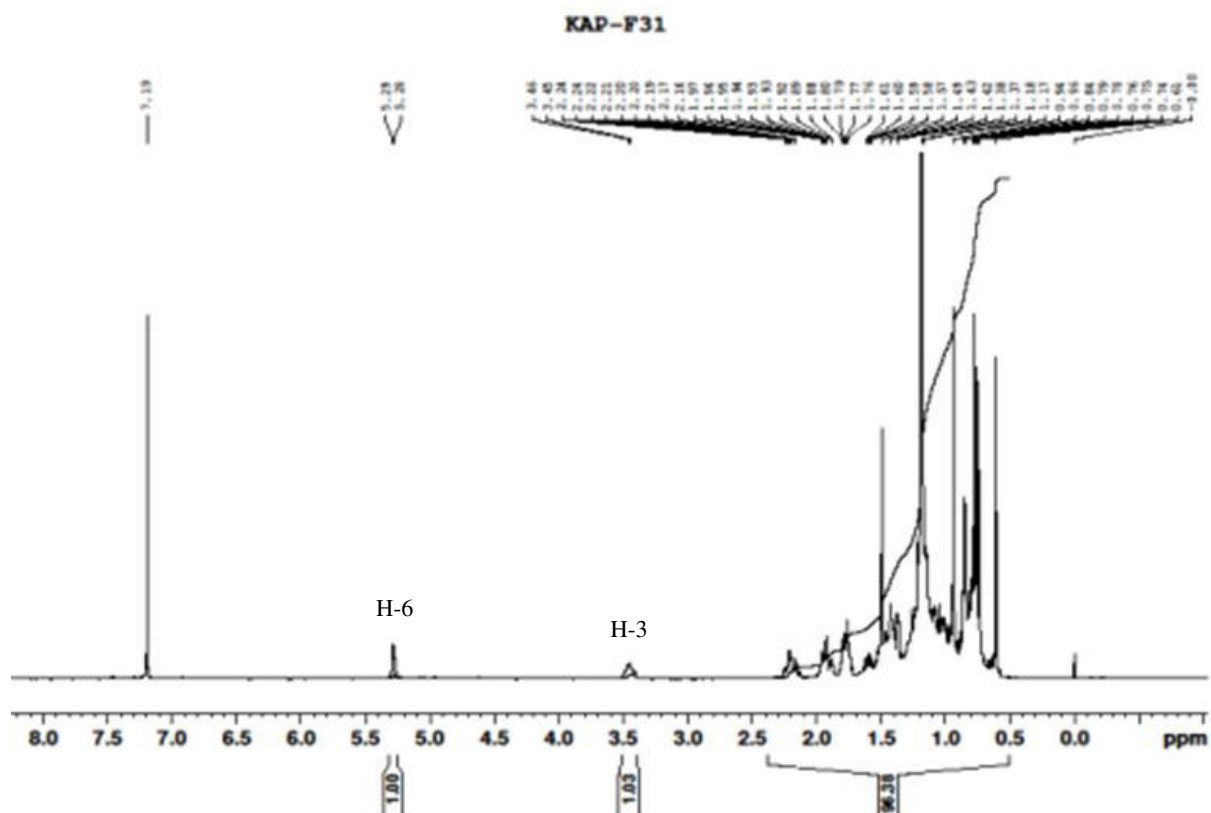


Figure 48: Spectre RMN ^1H du composé **2** dans le CDCl_3

L'étude des spectres RMN ^{13}C (figure 49) et les séquences DEPT135 (figure 50) du composé **2** montre la présence de deux atomes de carbones éthyléniques. Le premier correspondant à un CH à $\delta_c = 121,73$ ppm et le second à un atome de carbone quaternaire à $\delta_c = 140,76$ ppm. Le pic à $\delta_c = 71,80$ ppm correspond au déplacement chimique d'un carbone CH porteur de groupement OH. Les valeurs de ces déplacements chimiques sont caractéristiques respectivement des positions C-5, C-6 et C-3 d'un stérol.

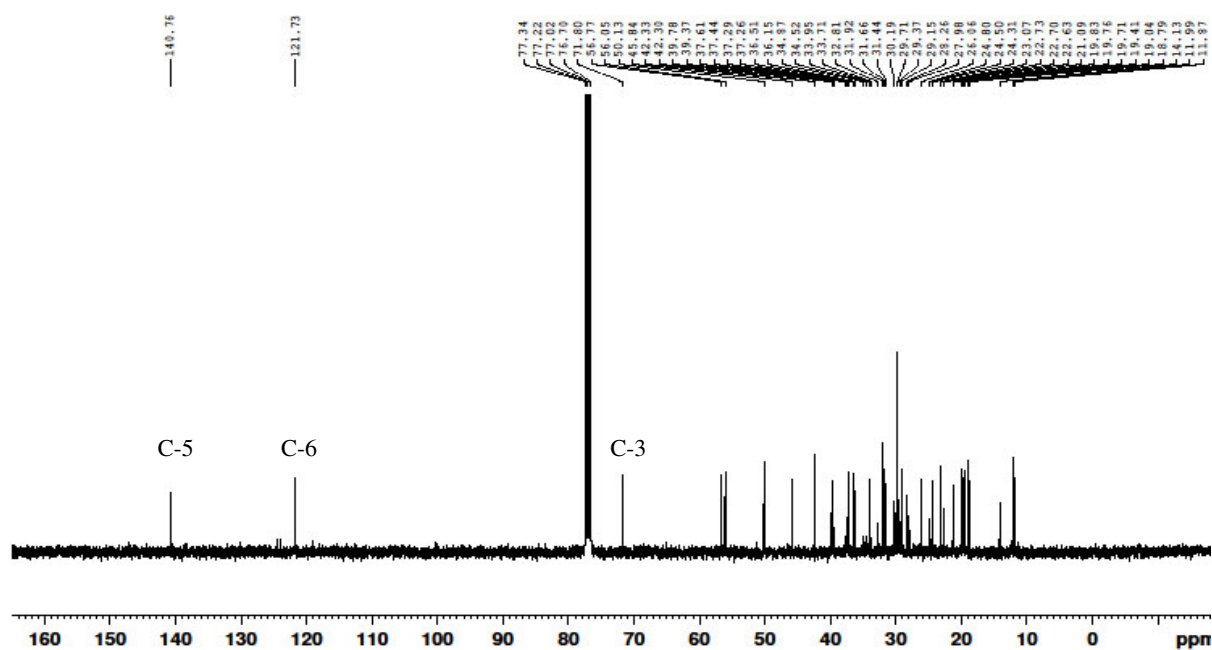


Figure 49: Spectre RMN ^{13}C du composé **2** dans le CDCl_3

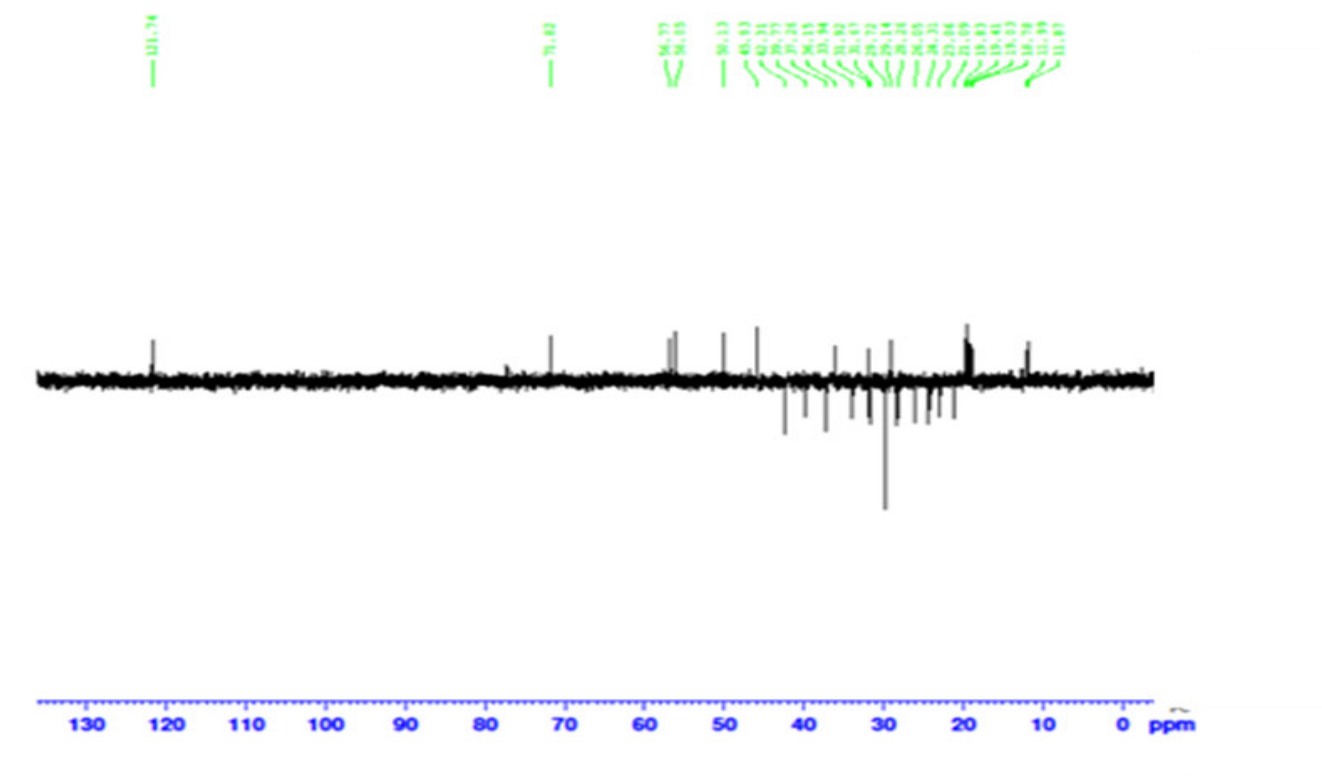
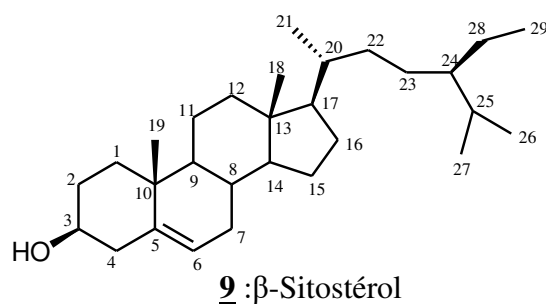


Figure 50: Spectre DEPT 135 du composé **2** dans le CDCl_3

Par ailleurs le spectre DEPT 135 (Figure 50) montre la présence de 29 carbones dont 11 carbones CH₂ caractéristiques d'un stérol.

Les caractéristiques en RMN ¹³C et DEPT 135 sont résumées dans le tableau 31.

La comparaison des déplacements chimiques du composé **9** avec les valeurs de la littérature [182, 183], montre que le composé **9** est le β-sitostérol, un composé peu polaire. Cette molécule a déjà été isolée des feuilles de *Hygrophila spinosa* (Acanthaceae) et d'*Ageratum conyzoides* (Asteraceae).



Les spectres ont été enregistrés dans le CDCl₃ et les déplacements chimiques (δ) sont donnés en ppm (Tableau 31),

Tableau 31: Déplacements chimiques du composé **9** dans le CDCl₃

N° Carbone	δ _C (ppm)	Groupements	N° Carbone	δ _C (ppm)	Groupements
1	37,26	CH ₂	16	28,26	CH ₂
2	31,67	CH ₂	17	56,05	CH
3	71,82	CH-OH	18	11,87	CH ₃
4	42,31	CH ₂	19	19,41	CH ₃
5	140,76	C=	20	36,15	CH
6	121,74	CH=	21	18,78	CH ₃
7	31,92	CH ₂	22	33,94	CH ₂
8	31,92	CH	23	26,05	CH ₂
9	50,13	CH	24	45,83	CH
10	36,15	C	25	29,14	CH
11	21,09	CH ₂	26	19,03	CH ₃
12	39,77	CH ₂	27	19,81	CH ₃
13	42,21	C	28	23,06	CH ₂
14	56,77	CH	29	11,99	CH ₃
15	24,31	CH ₂			

V-5-3-Détermination de la structure des composés 10 à 21

Les fractions F2 et F4 ont été analysées en GC/SM. Les chromatogrammes GC de ces fractions sont présentés respectivement sur les figures 51 et 52. Douze (12) composés ont été identifiés sur la base de l'analyse des fragments de leurs spectres de masse comparés avec la banque de spectres de masses NIST (National Institute of Standards and Technology ; *version 2.0 du 26 Avril 2005*). Les fractions F2 et F4 contiennent, en plus du bêta-sistostérol, des énones, des énols, des acides gras et leurs esters, des acides phénoliques, des furanes et benzofuranes.

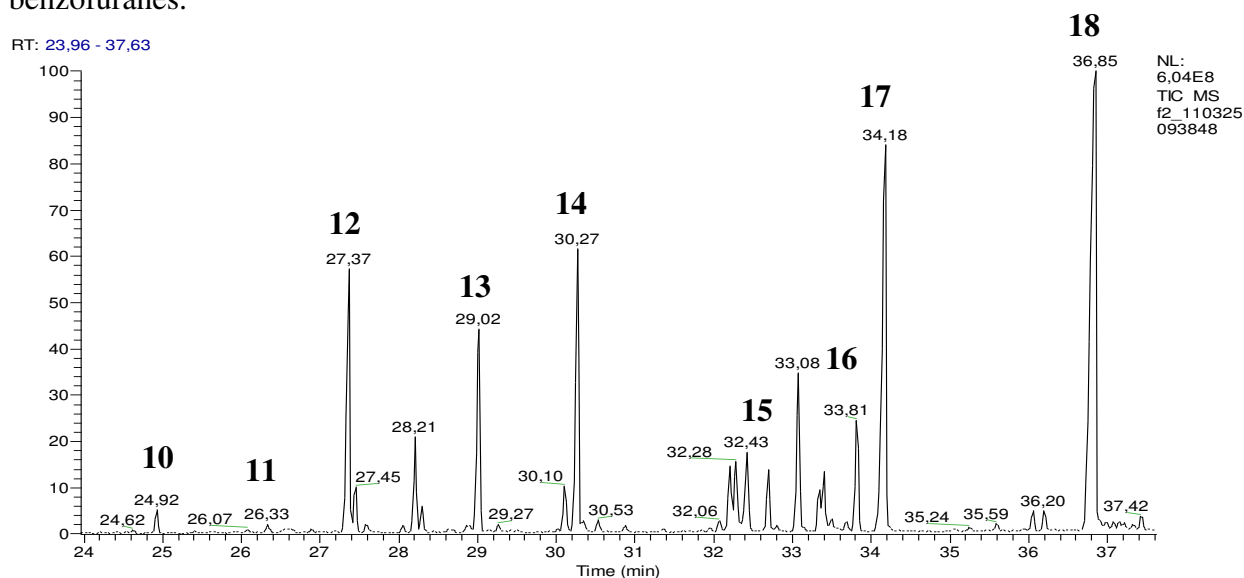


Figure 51: Chromatogramme GC de la fraction F2 des feuilles de *S. afzelii*

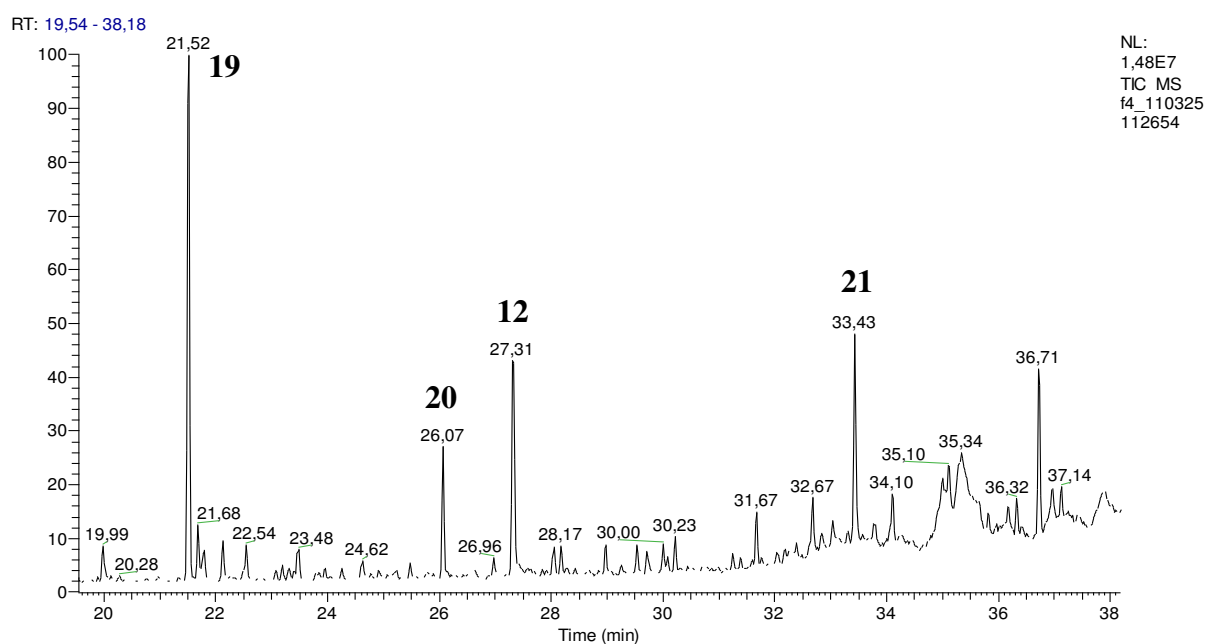


Figure 52: Chromatogramme GC de la fraction F4 des feuilles de *S. afzelii*

Composé **12**

RT 27,37 min ; M=268,27 (C₁₈H₃₆O)

GC/MS m/z : 268,15(5) ; 253,16(5) ; 250,17(5) ; 235,19(5) ; 225,15(5) ; 210,15(5)

71,06(36) ; 58,06(100).

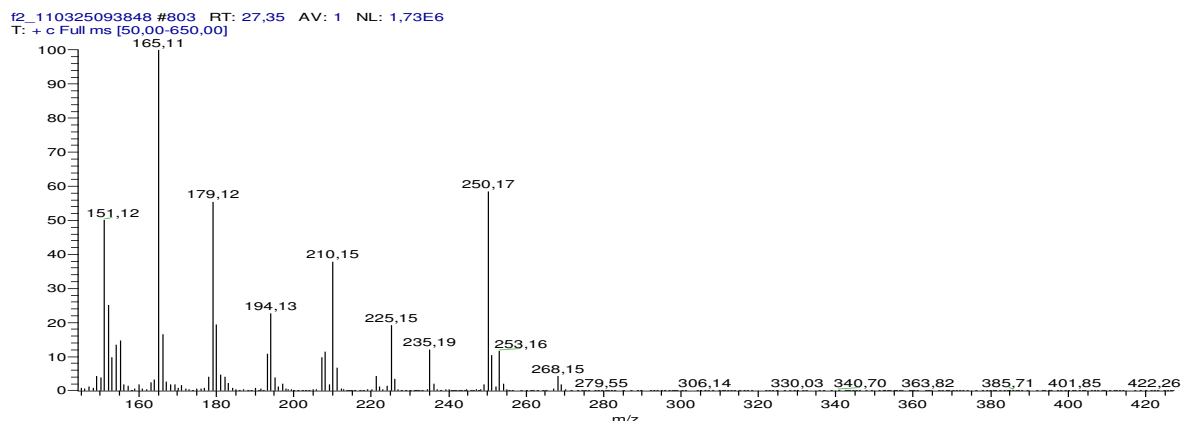
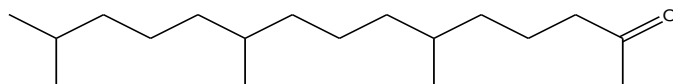
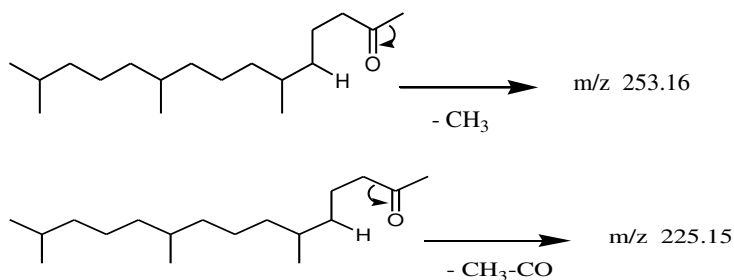
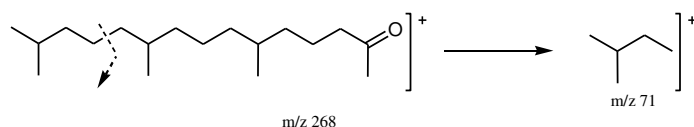
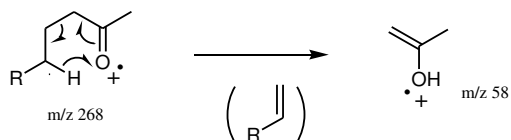
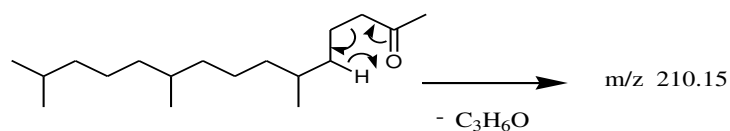


Figure 53: Spectre de masse du composé **12**

Le composé **12** a un temps de rétention de 27,37 min. Son spectre de masse (figure 53) présente un fragment à m/z 268,15 défini comme le pic moléculaire [M]⁺ correspondant à la formule brute C₁₈H₃₆O. Le fragment à m/z 250,17 [M-18]⁺ correspond à la perte d'une molécule d'eau (H₂O). Le fragment à m/z 253,16 [M-15]⁺ correspond à la perte d'un groupement méthyle (CH₃). La perte du groupement CH₃CO s'observe par le fragment à m/z 225,15 [M-43]. Par un réarrangement, on observe le fragment à m/z 210,15 [M-58]⁺ correspondant à la perte du groupement C₃H₅O.

Le spectre montre que les signaux les plus intenses se situent dans la région correspondant aux fragments de 4 à 7 atomes de Carbones, c'est-à-dire m/z=58 et 71. La structure la plus probable du composé **12** est celle du Hexahydrofarnesyl acétone.





Composé 17

RT 34,18 min M=296,45 ($\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$)

GC/MS m/z : 296,45(5); 278,19(5); 263,18(5); 123,08(60); 95,06(49); 81,07(80); 71,05 (35); 68,05(63); 57,06 (100); 55,05(99)

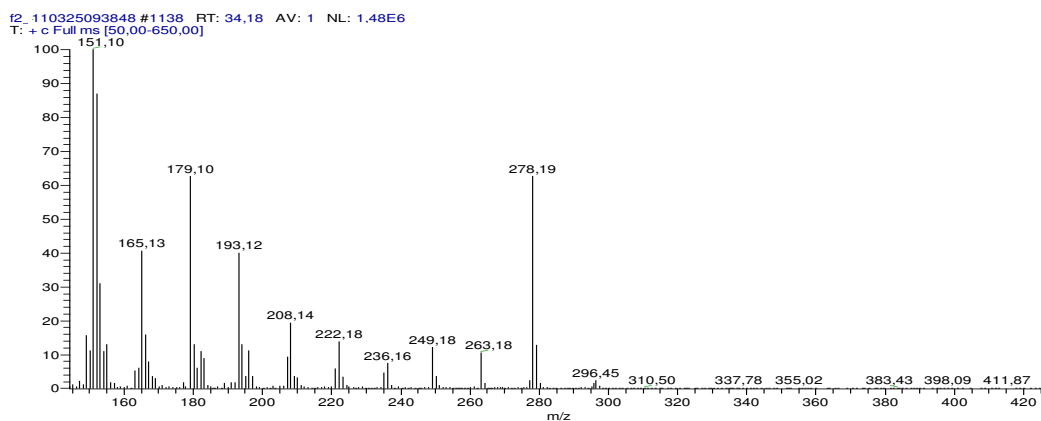
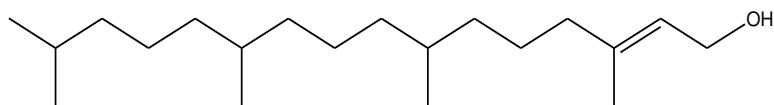
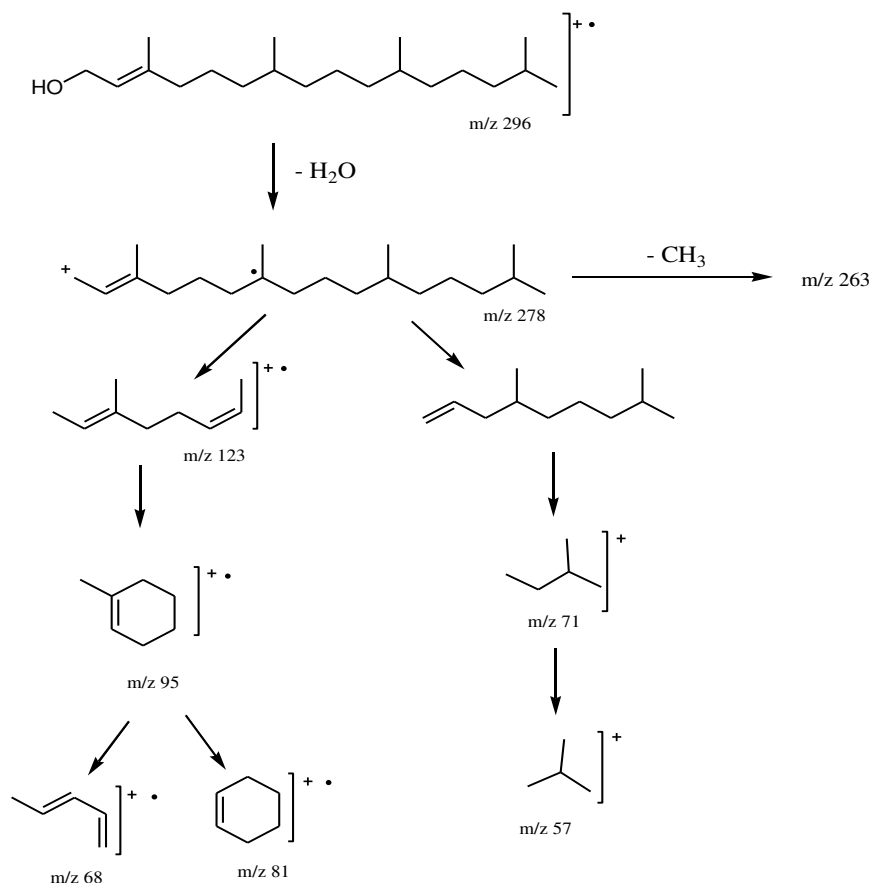


Figure 54: Spectre de masse du composé 17

Le composé 17 a un temps de rétention de 34,18 min. Son spectre de masse (figure 54) présente un fragment à m/z 296,45 défini comme le pic moléculaire $[\text{M}]^+$ correspondant à la formule brute $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$. Le fragment à m/z 278,19 $[\text{M}-18]^+$ correspond à la perte d'une molécule d'eau (H_2O). Les fragments à m/z 263,16 $[\text{M}-33]^+$ correspondent à la perte consécutive de deux groupements (CH_3 et H_2O).

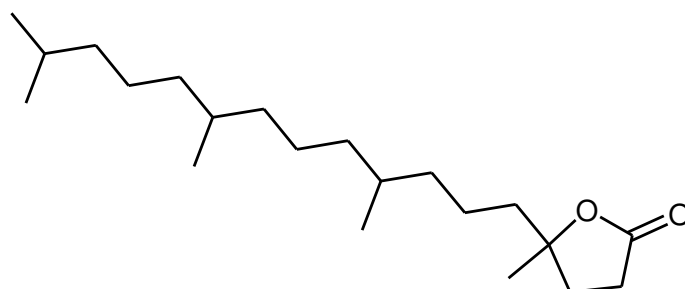
Le spectre montre que les signaux les plus intenses se situent dans la région correspondant aux fragments de 4 à 7 atomes de carbones, c'est-à-dire $m/z=57$; 65 ; 71 ; 81 et 95 . La structure la plus probable du composé **17** est celle du phytol.



Composé **18**

RT 36,85 min ; $M=324,19$ ($C_{21}H_{40}O_2$)

GC/MS m/z : $324,19[M]^+$; $306,18[M-H_2O]^+$; $269,19(5) [M-C_4H_7]^+$; $254,12(5) [M-C_5H_{10}]^+$; $114,03 (15)$; $99,01(100)$; $83,08 (21)$; $56,07(30)$; $55,04(60)$



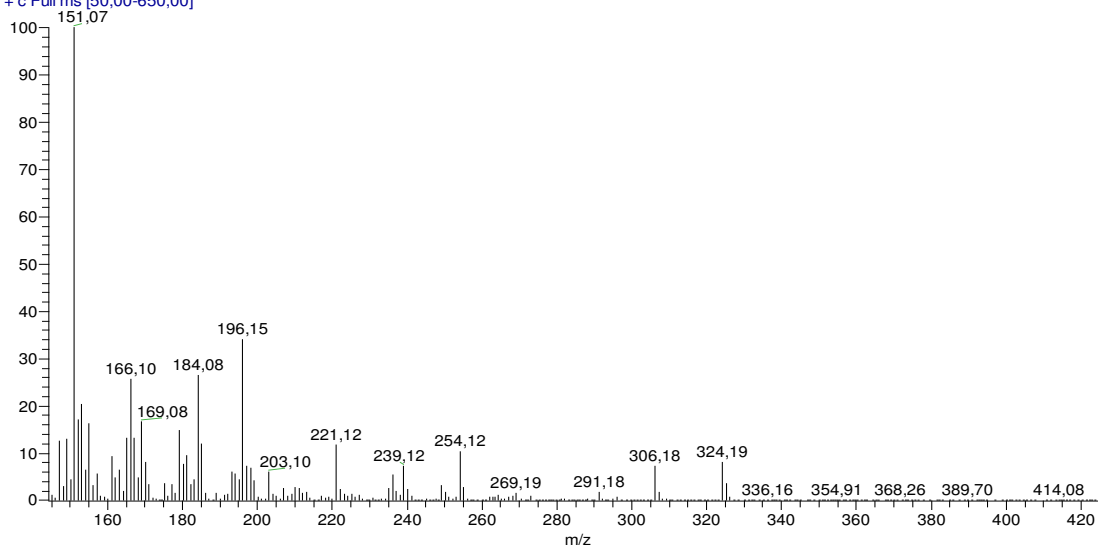
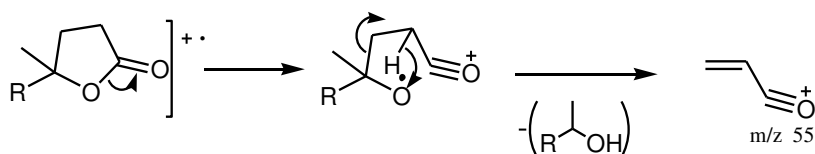
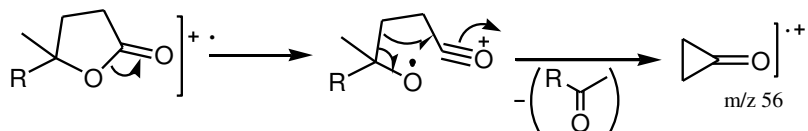
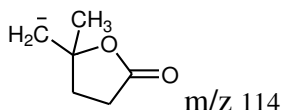
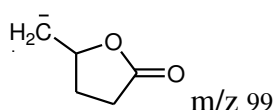


Figure 55: Spectre de masse du composé **18**

Le composé **18** a un temps de rétention de 36,85 min. Son spectre de masse (figure 55) présente un fragment à m/z 324,19 défini comme le pic moléculaire $[M]^+$ correspondant à la formule brute $C_{21}H_{40}O_2$. Le fragment à m/z 306,18 $[M-18]^+$ correspond à la perte d'une molécule d'eau (H_2O). Le fragment à m/z 269,19 $[M-55]^+$ correspond à la perte du groupement C_4H_7 . Le spectre montre que les signaux les plus intenses se situent dans la région correspondant aux fragments de 4 à 7 atomes de carbones, c'est-à-dire $m/z=55$; 56 ; 99 et 114. Les fragments à m/z 99 et m/z 114 confirment le noyau hétérocyclique du dérivé furanone. La structure la plus probable du composé **18** est celle du 5-Méthyl-5-(4,8,12-triméthyltridécyldihydro-2(3H)-furanone.

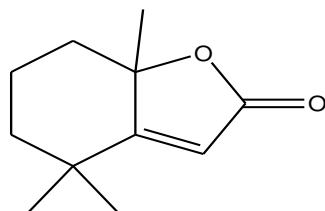


Composé 19

RT 21,52 min M=180,04 (C₁₁H₁₆O₂)

GC/MS m/z : 180,04(14) [M]⁺ ; 152,08(12) [M-CO]⁺ ; 137,07(44) [M-CH₃CO]⁺ ;

111,02(100) [M-C₅H₉]⁺ ; 124,01(11) [M-C₃H₄O]⁺.



f4_110325112654 #517 RT: 21,52 AV: 1 NL: 2,73E6
T: + c Full ms [50,00-650,00]

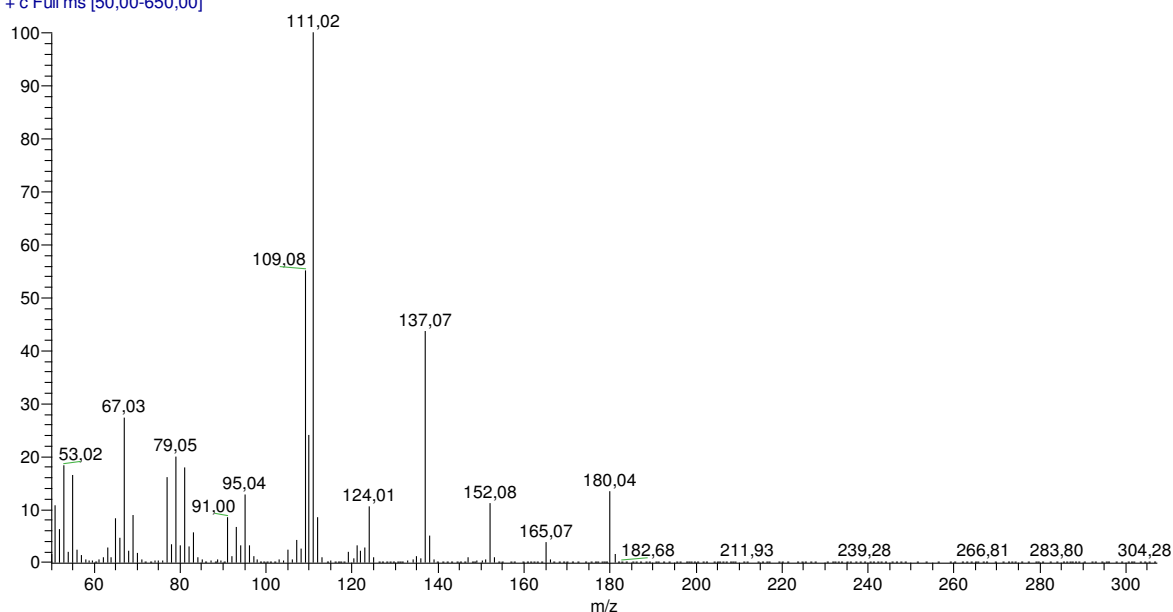


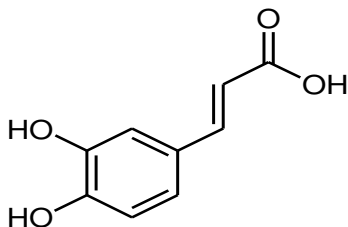
Figure 56: Spectre de masse du composé 19

Le composé 19 a un temps de rétention de 27,52 min. Son spectre de masse (figure 56) présente un fragment à m/z 180,04 défini comme le pic moléculaire [M]⁺ correspondant à la formule brute C₁₁H₁₆O₂. Le fragment à m/z 152,08 [M-28]⁺ correspond à la perte d'un groupement CO. Le fragment à m/z 124,01 [M-56]⁺ correspond à la perte d'un groupement C₃H₄O. La perte du groupement CH₃CO s'observe par le fragment à m/z 137,07 [M-43]. On observe également le fragment à m/z 111,02 [M-69]⁺ correspondant à la perte de groupement C₅H₉. La structure la plus probable du composé 19 est celle du 5,6,7,7a-Tétrahydro-4,4,7a-triméthyl, 2(4H)-benzofurane.

Composé 20

RT 26,07 min M= 180,04 (C₉H₈O₄)

GC/MS m/z : 180,03(100) [M]⁺ ; 163,00(42) [M-OH]⁺; 134,04(55) [M-H₂O-CO]⁺



f4_110325112654 #739 RT: 26,05 AV: 1 NL: 1,94E5
T: + c Full ms [50,00-650,00]

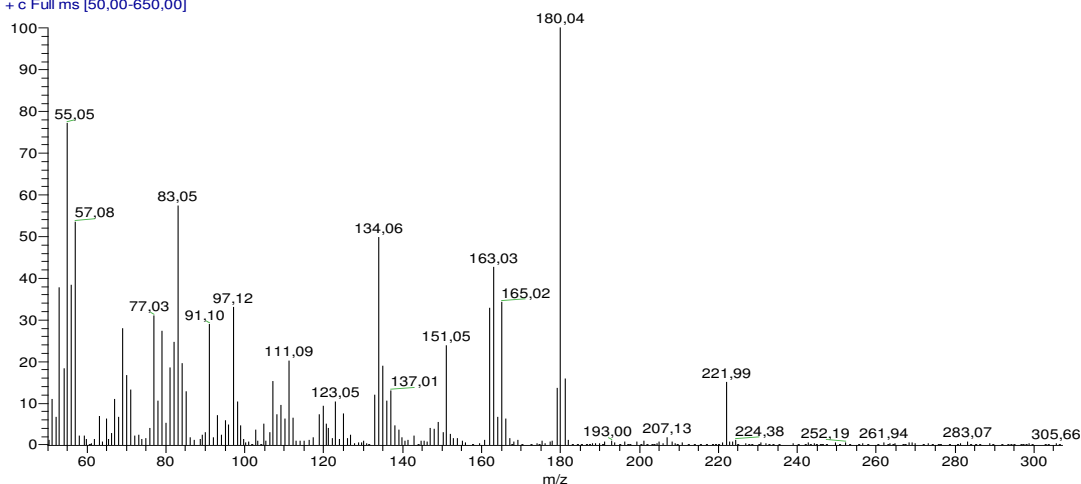


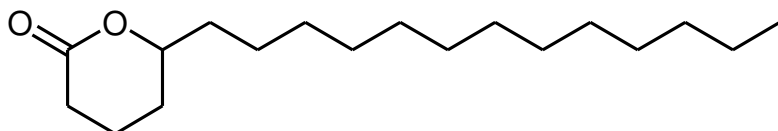
Figure 57: Spectre de masse du composé 20

Le pic à 26,07 min présente un fragment à m/z 180,04 défini comme le pic moléculaire [M]⁺ correspondant à la formule brute C₉H₈O₄. Le fragment à m/z 163,00[M-17]⁺ correspond à la perte d'un hydroxyle. Les fragments à m/z 134,04 [M-46]⁺ et 253,88 [M-28]⁺ correspondent à la perte consécutive de groupements H₂O et CO. La structure la plus probable du composé 20 est celle de l'Acide caféique.

Composé 21

RT 33,43 min M=281,81 (C₁₈H₃₂O₂)

GC/MS m/z : 281,81 [M]⁺ ; 280,81 [M-H]⁺ ; 267,04 [M-CH₃]⁺ ; 253,88 [M-CO]⁺ ; 236,12 [M-H₂O-CO]⁺; 114,08(15) ; 99,03(85); 70,06(33) ; 55,04(100).



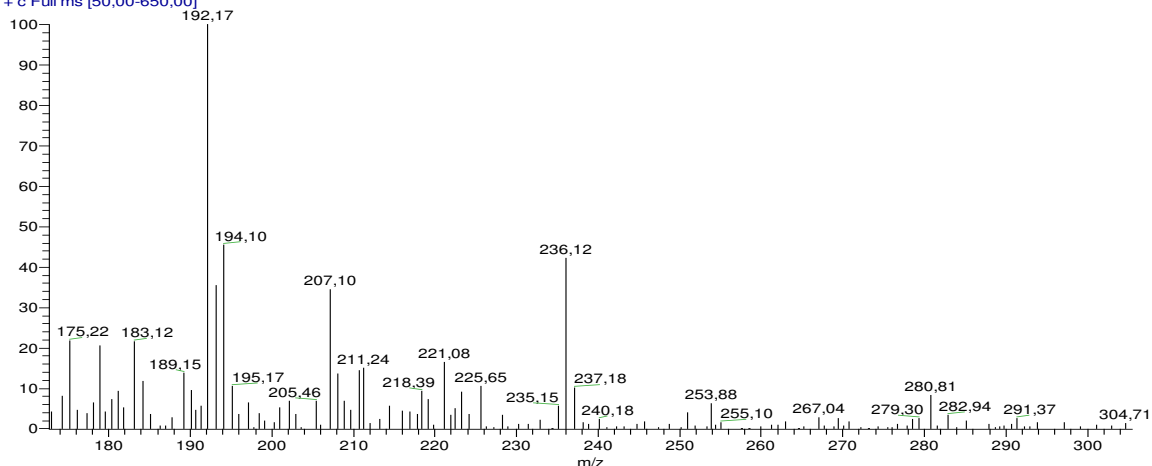
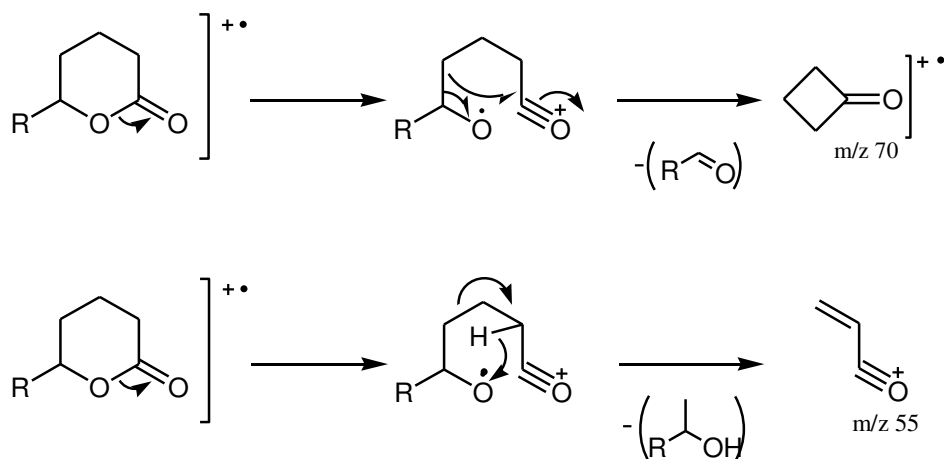


Figure 58: Spectre de masse du composé **21**

Le pic à 33,43 min présente un fragment à m/z 281,81 défini comme le pic moléculaire $[M]^+$ correspondant à la formule brute $C_{18}H_{32}O_2$. Le fragment à m/z 280,81 $[M-H]^+$ correspond à la perte d'un hydrogène. Les fragments à m/z 267,04 $[M-15]^+$ et 253,88 $[M-28]^+$ correspondent respectivement à la perte CH_3 et CO . Le fragment à m/z 236,12 $[M-46]^+$ correspond à la perte de groupements C_2H_6O ou $(H_2O + CO)$. Les signaux les plus intenses sont à $m/z=55$; 70 ; 99 et 114. La structure la plus probable du composé **21** est celle du Tétrahydro-6-tridecyl, 2H-pyran-2-one.



Les résultats de l'analyse des spectres de masses de chaque pic des fractions F2 et F4 sont consignés respectivement dans les tableaux 32 et 33.

Tableau 32: Résultat de l'analyse GC/SM de la fraction F2 des feuilles de *Santaloïdes afzelii*

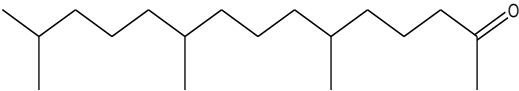
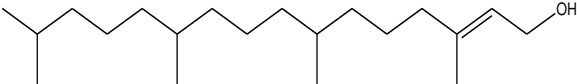
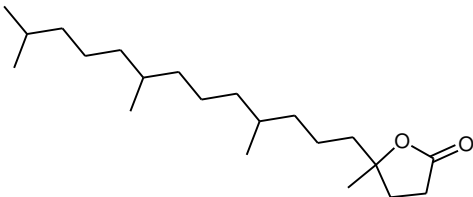
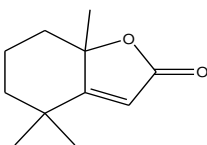
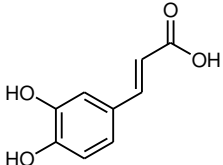
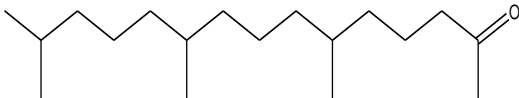
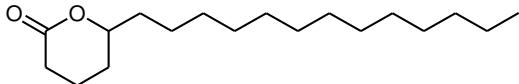
Rt (min)	Composés	Masse	Structure et noms
24,92	<u>10</u>	242,22	C ₁₅ H ₃₀ O ₂ C14 :0-Me Methyl myristique
26,33	<u>11</u>	256,42	C ₁₆ H ₃₂ O ₂ C14 :0-Et Ethyl myristique
27,37	<u>12</u>	268,47	C ₁₈ H ₃₆ O Hexahydrofarnesyl acetone 
29,02	<u>13</u>	270,25	C ₁₇ H ₃₄ O ₂ C16 :0-Me Methyl palmitique
30,27	<u>14</u>	284,27	C ₁₈ H ₃₆ O ₂ C16 :0-Et Ethyl palmitique
32,68	<u>15</u>	298,28	C ₁₉ H ₃₈ O ₂ C18 :0-Me Methyl stéarique
33,81	<u>16</u>	312,30	C ₂₀ H ₄₀ O ₂ C18 :0-Et Ethyl stéarique
34,18	<u>17</u>	296,45	C ₂₀ H ₄₀ O Phytol 
36,85	<u>18</u>	324,54	C ₂₁ H ₄₀ O ₂ 5-Methyl-5-(4,8,12-trimethyltridecyl)dihydro-2(3H)-furanone 

Tableau 33: Résultat de l'analyse GC/SM de la fraction F4 des feuilles de *Santaloïdes afzelii*

Rt (min)	Composés	Masse	Structures et noms
21,52	<u>19</u>	180,04	$C_{11}H_{16}O_2$ 5,6,7,7a-Tetrahydro-4,4,7a-trimethyl,2(4H)-benzofuranone 
26,07	<u>20</u>	180,04	$C_9H_8O_4$ Acide caféique 
27,31	<u>12</u>	268,27	$C_{18}H_{36}O$ Hexahydrofarnesyl acetone 
33,43	<u>21</u>	280,81	$C_{18}H_{32}O_2$ Tetrahydro-6-tridecyl, 2H-pyran-2-one 

V-6-Etude de l'extrait au dichlorométhane des écorces

V-6-1-Fractionnement et purification

L'extrait au CH_2Cl_2 des écorces de *S. afzelii* a subi un premier fractionnement par chromatographie sur colonne de silice 60. Les éluants utilisés sont constitués de mélanges d'éther de pétrole/ CH_2Cl_2 et $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ dans des proportions variables pour donner 6 fractions (G1-G6) (figure 59).

La fraction G3 a subi une nouvelle purification sur colonne de gel de silice 60 avec comme éluant un mélange d'éther de pétrole/ CH_2Cl_2 dans des proportions variables pour aboutir au composé **22** (G_3F_2).

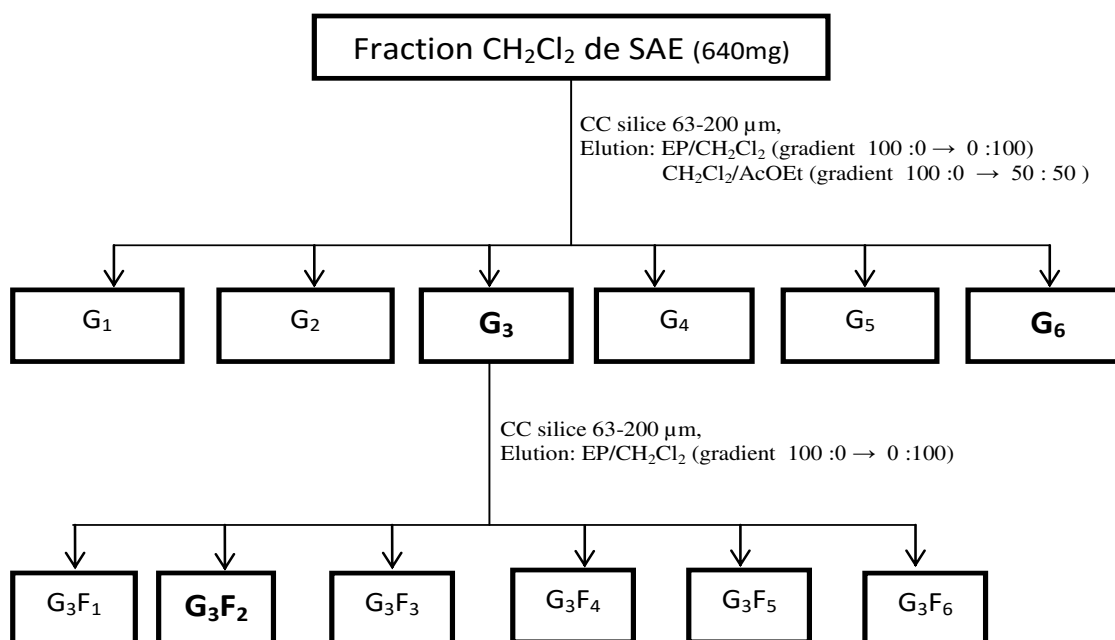


Figure 59: Schéma de purification de l'extrait au CH_2Cl_2 des écorces de *S. afzelii*

V-6-2-Détermination de la structure du composé **22**

Le composé **22** isolé des écorces de *S. afzelii* est une poudre blanche soluble dans le dichlorométhane.

Le spectre RMN ^1H (Figure 60) montre des signaux caractéristiques d'un noyau aromatique avec un système de couplage ABX. Ce sont :

- un signal à $\delta_{\text{H}}=6,97$ ppm sous forme de doublet ($J=1,8\text{Hz}$) attribuable au proton H-2 ;

-
- un signal à $\delta_H=6,85$ ppm sous forme de doublet ($J=8,2\text{Hz}$) attribuable au proton H-5 ;
 - un signal à $\delta_H=7,01$ ppm sous forme de doublet de doublets ($J=1,8\text{Hz}/8,2\text{Hz}$) attribuable au proton H-6 ;
 - des signaux à $\delta_H=6,22$ ppm et à $\delta_H=7,54\text{ppm}$ sous forme de doublets ($J=15,9\text{Hz}$), caractéristiques de deux (2) protons éthyléniques de type *trans*, attribuable aux protons H-7 et H-8 ;
 - des signaux à $\delta_H=3,86$ ppm sous forme de singulet et à $\delta_H=4,12$ ppm sous forme de triplet, caractéristiques respectivement des protons du groupement méthoxyle (O-CH_3) et du proton H-1' ;
 - un signal à $\delta_H=0,81\text{ppm}$ sous forme de triplet, caractéristique des 3 protons du groupement méthyle terminal ;
 - des signaux sous forme de multiplet entre δ_H 1,2 et 1,8 ppm caractéristiques des protons CH_2 .

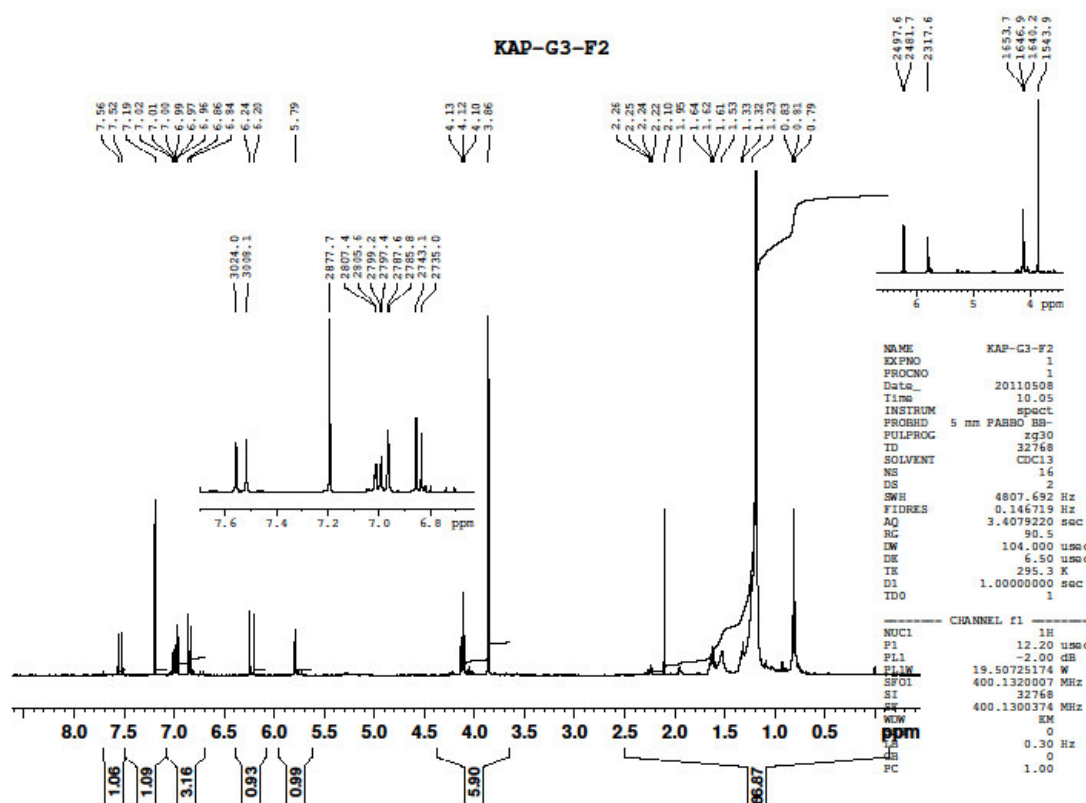


Figure 60: Spectre RMN ^1H du composé **22** dans le CDCl_3

Les spectres RMN ^{13}C (Figure 61) et DEPT 135 (Figure 62) révèlent la présence de 22 carbones, dont :

- quatre (4) carbones quaternaires avec un carbonyle à $\delta_{\text{C}}=167,40$ ppm ;
- trois (3) carbones CH aromatiques à $\delta_{\text{C}}=109,26$ ppm, $\delta_{\text{C}}=115,69$ ppm, $\delta_{\text{C}}=123,06$ ppm, et 2 carbones CH éthyléniques à $\delta_{\text{C}}=114,63$ ppm, $\delta_{\text{C}}=144,63$ ppm caractéristiques d'un acide phénolique de type $\text{C}_6\text{-C}_3$;
- un CH_2 à $\delta_{\text{C}}=64,63$ ppm et un CH_3 du groupement méthoxyle (O-CH_3) à $\delta_{\text{C}}=55,94$ ppm ;
- dix(10) CH_2 d'une chaîne carbonée saturée entre δ_{C} 22 et 32 ppm et un CH_3 à $\delta_{\text{C}}=14,13$ ppm.

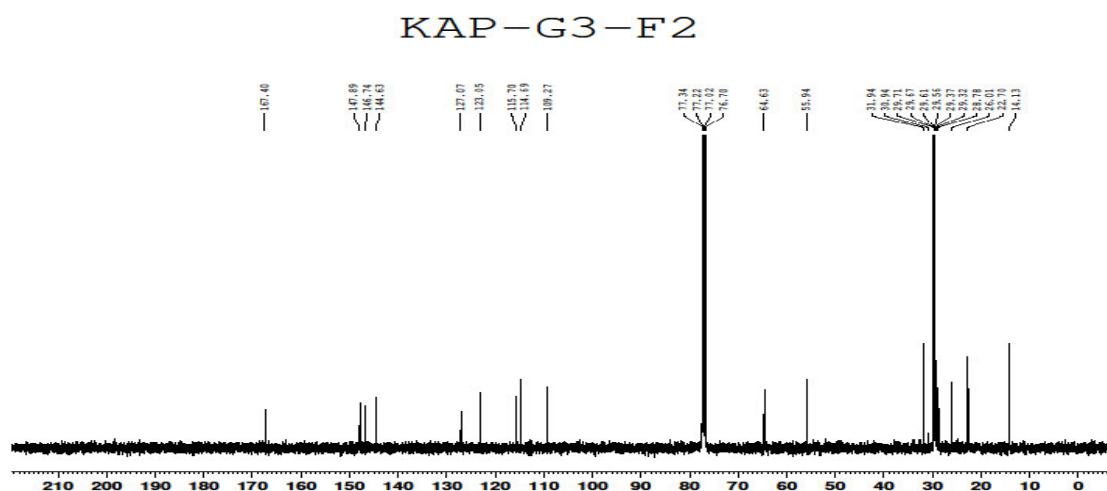


Figure 61: Spectre RMN ^{13}C du composé **22** dans le CDCl_3

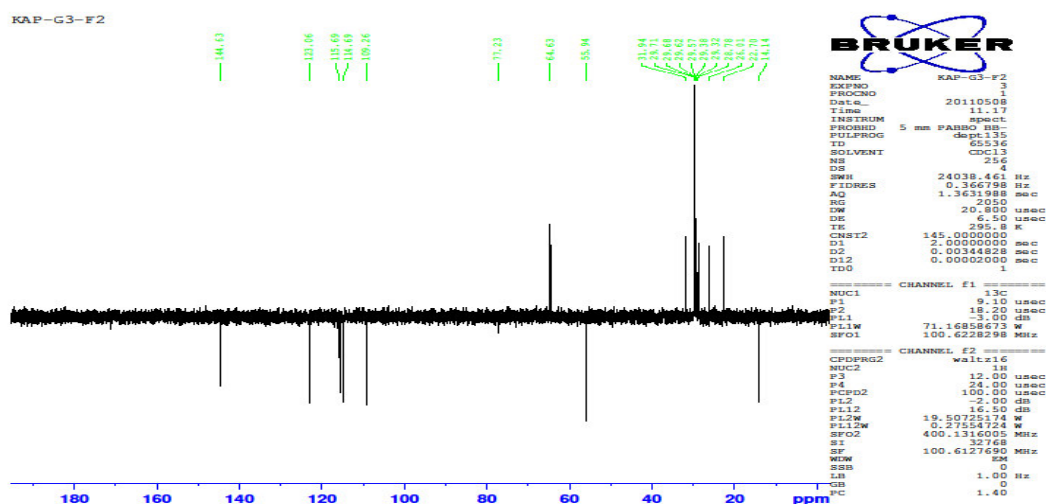


Figure 62: Spectre RMN DEPT 135 du composé **22** dans le CDCl_3

Le spectre HMBC (Figure 63) montre les corrélations caractéristiques entre :

- le carbone du groupement carbonyle à $\delta_{\text{C}}=167,40\text{ppm}$ et les protons du CH_2 en position 1' à $\delta_{\text{C}}=4,12\text{ppm}$;
- le carbone du groupement carbonyle à $\delta_{\text{C}}=167,40\text{ppm}$ et les protons éthyléniques en position 7 et 8 à $\delta_{\text{C}}= 6,22 / 7,54 \text{ ppm}$;
- Les protons du groupement méthoxyle $\delta_{\text{C}}=3,86\text{ppm}$ et le carbone quaternaire aromatique C-3 à $\delta_{\text{C}}=146,74\text{ppm}$;

- le proton OH et les carbones C-3, C-4, C-5 respectivement à $\delta_C = 146,74 / 147,89/115,69$ ppm.

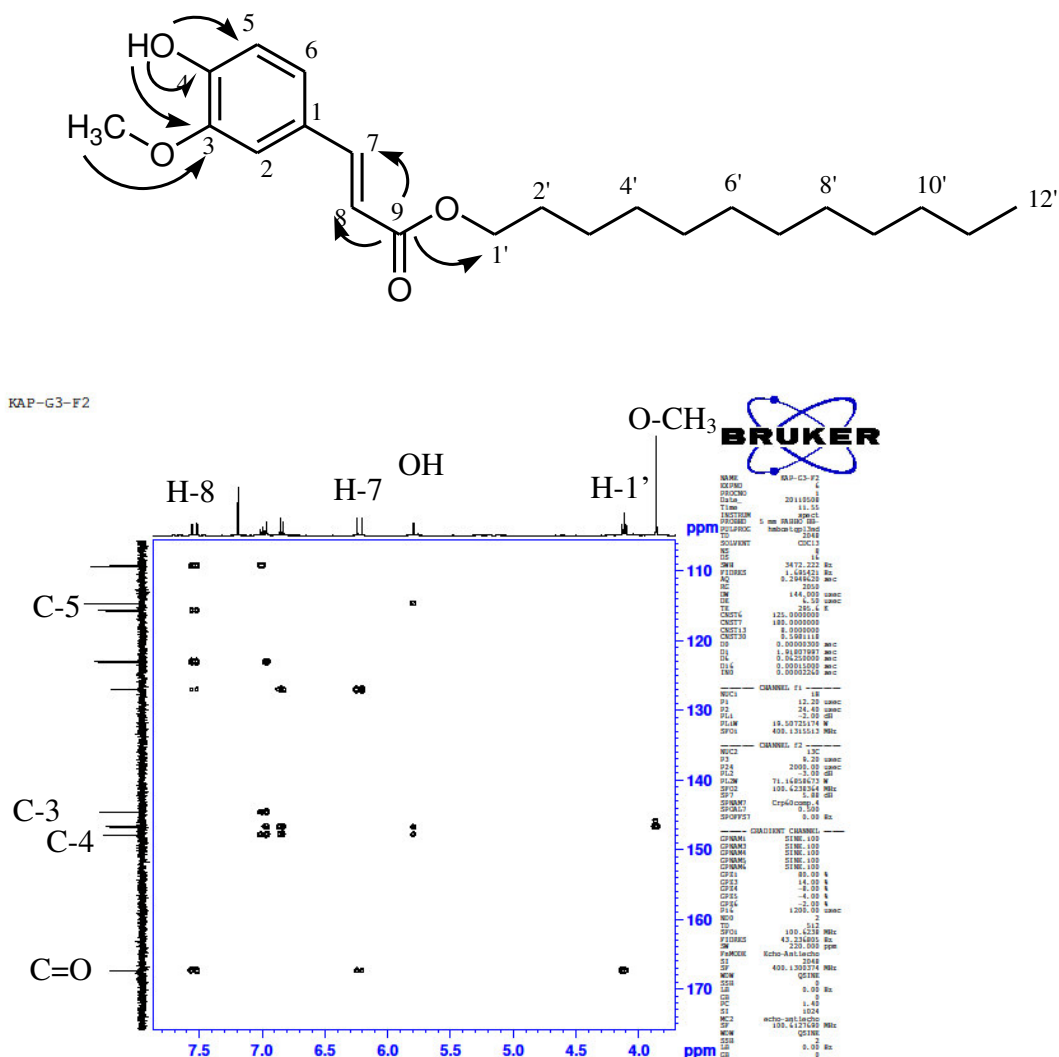


Figure 63: Spectre HMBC du composé **22** dans le CDCl_3

Les corrélations en HSQC (Figure 64) et COSY (Figure 65) nous ont permis de terminer les attributions des carbones et protons (Tableau 34).

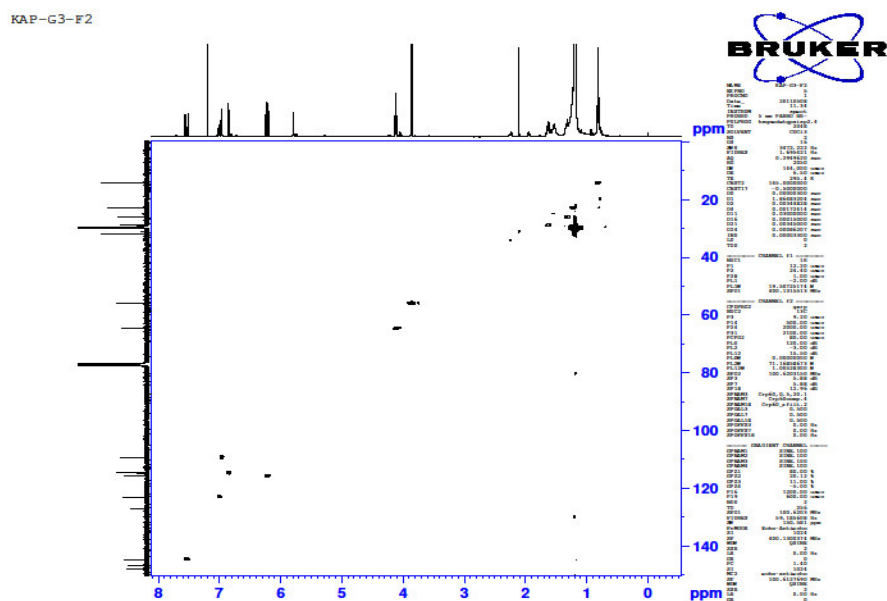


Figure 64: Spectre HSQC du composé 22 dans le CDCl_3

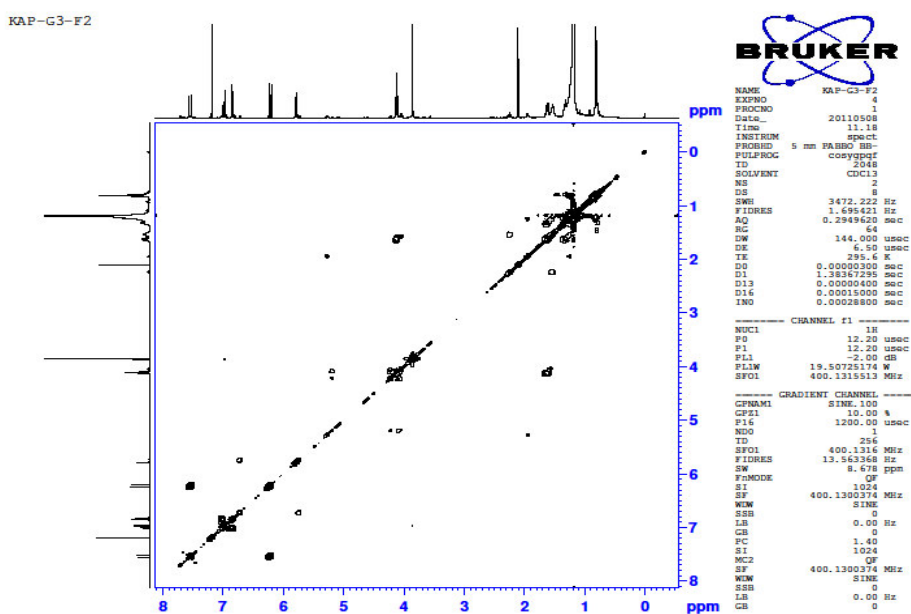
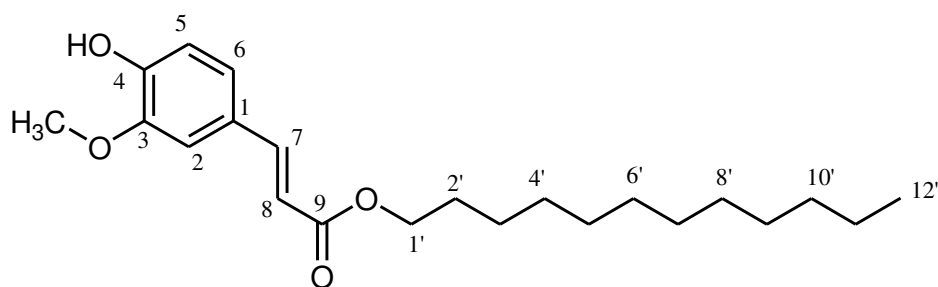


Figure 65: Spectre COSY du composé 22 dans le CDCl_3

L'ensemble des caractéristiques en RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 du composé 22 est donné dans le tableau 34



22 : dodecyl, 4-hydroxyl 3-méthoxyl cinnamique

Tableau 34: Déplacements chimiques du composé **22** dans le CDCl₃

Position	RMN ¹³ C δ(ppm)	RMN ¹ H δ(ppm)	DEPT 135
1	127,07	-	C
2	109,26	6,97 d (J=1,8Hz)	CH
3	146,74	-	C
4	147,89	-	C
5	115,69	6,85 d (J=8,2Hz)	CH
6	123,06	7,01 dd (J=1,8Hz/8,2Hz)	CH
7	114,69	6,22 d (J=15,9 Hz)	CH
8	144,63	7,54 d (J=15,9 Hz)	CH
9	167,40	-	C
1'	64,63	4,12 (t)	CH ₂
2'	28,78	1,62 (m)	CH ₂
3'	26,01	1,23 (m)	CH ₂
4'	29,67	1,23 (m)	CH ₂
5'	29,61	1,23 (m)	CH ₂
6'	29,56	1,23 (m)	CH ₂
7'	29,37	1,23 (m)	CH ₂
8'	29,32	1,23 (m)	CH ₂
9'	29,71	1,23 (m)	CH ₂
10'	31,94	1,23 (m)	CH ₂
11'	22,70	1,32 (m)	CH ₂
12'	14,13	0,81 (t)	CH ₃
O-CH ₃	55,94	3,86 (s)	O-CH ₃
O-H	-	5,79 (s)	-

La comparaison des données RMN avec celles de la littérature [184, 185] nous a permis d'identifier le composé **22** comme étant le dodecyl, 4-hydroxyl 3-méthoxyl cinnamique, un dérivé de l'acide férulique. Ce composé est rapporté pour la première fois dans le genre Santaloïdes.

V-7-Etude de l'extrait au dichlorométhane des graines

V-7-1-Fractionnement et purification

L'extrait au CH_2Cl_2 des graines de *S. afzelii* a subi un fractionnement par chromatographie sur colonne de gel de silice 60. Les éluants utilisés sont constitués de mélange d'éther de pétrole/ CH_2Cl_2 et CH_2Cl_2 /AcOEt dans des proportions variables pour donner 7 fractions (G1-G7) (figure 66).

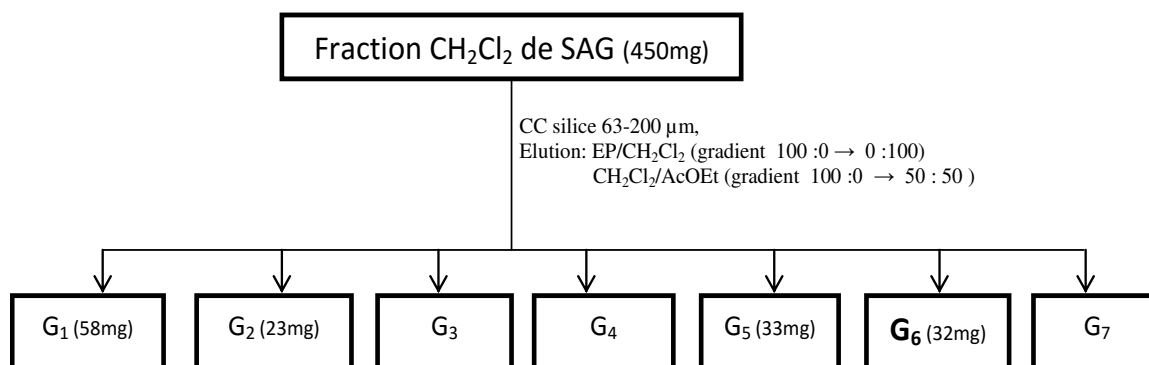


Figure 66: Schéma de purification de l'extrait au CH_2Cl_2 des graines de *S. afzelii*

V-7-2-Détermination de la structure des composés 23 à 26

La fraction G6 présentant une pureté acceptable a été analysée en chromatographie phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse. La figure 67 nous présente le chromatogramme de la GC. Le résultat de l'analyse des spectres de masse de chaque pic est consigné dans le tableau 35.

L'analyse des spectres de masse révèle la présence d'acide gras (palmitique, stearique, oléique, arachidique) et de stérol (Stigmastérol). Les acides gras stéariques et oléiques sont majoritaires.

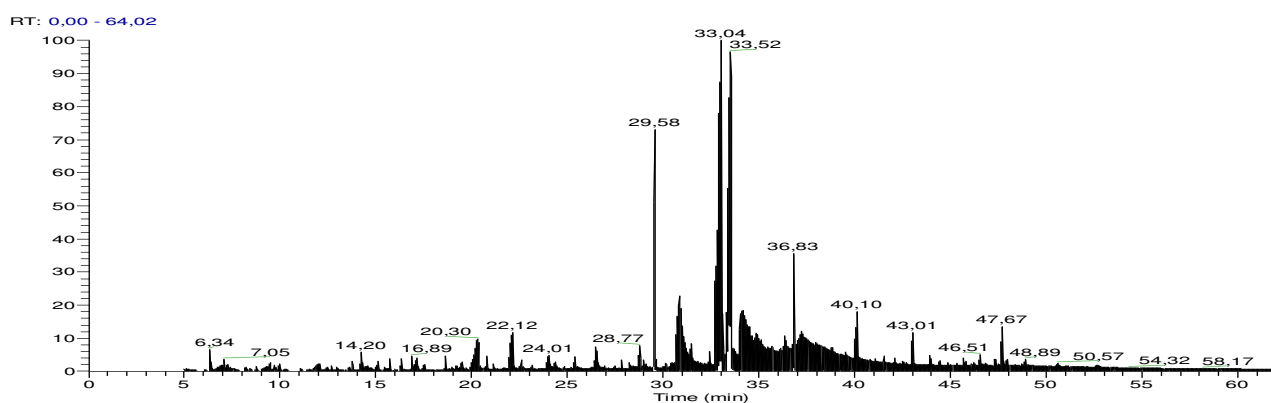


Figure 67: Chromatogramme GC de la fraction G6 de l'extrait au CH_2Cl_2 des graines de *S. afzelii*

Tableau 35: Résultats de l'analyse GC/SM de la fraction G6 de l'extrait au CH₂Cl₂ des graines de *S. afzelii*

Rt (min)	Masses	Structures / Noms
29,58	270,24 G6-SAG #2159 RT: 29.58 AV: 1 NL: 7.85E8 T: + e Full ms [50.00-650.00] 	C16 :0-Me Méthyl palmitique
33,04	296,24 G6-SAG #2439 RT: 33.04 AV: 1 NL: 2.28E8 T: + e Full ms [50.00-650.00] 	C18 :1-Me Méthyl oleique
33,52	298,26 G6-SAG #2477 RT: 33.52 AV: 1 NL: 7.35E8 T: + e Full ms [50.00-650.00] 	C18 :0-Me Méthyl stéarique
36,83	326,32 G6-SAG #2751 RT: 36.83 AV: 1 NL: 2.71E8 T: + e Full ms [50.00-650.00] 	C20 :0-Me Méthyl arachidique
43,01	382,39 G6-SAG #3283 RT: 43.01 AV: 1 NL: 6.49E7 T: + e Full ms [50.00-650.00] 	C24 :0-Me Méthyl lignocerate
47,67	394,38 G6-SAG #4687 RT: 47.67 AV: 1 NL: 2.16E7 T: + e Full ms [50.00-650.00] 	Stérol Stigmastérol

CHAPITRE II : ACTIVITES BIOLOGIQUES

I-ACTIVITES ANTIBACTERIENNES

I-1-Test d'efficacité des substances

Le test d'efficacité est un test de détection de l'existence d'une activité antibactérienne d'une substance. La bactérie et la substance à tester sont mises en contact. On observe alors la présence ou non d'une zone d'inhibition (zone où il n'y a aucune croissance bactérienne).

Le support microbien utilisé pour les tests biologiques, composé de trois (3) souches de *Staphylococcus aureus* et de trois (3) souches de *Pseudomonas aeruginosa*, a été fourni par l'unité d'Antibiotique, Substances naturelles et Surveillance de la Résistance des Microorganismes aux anti-Infectieuses (ASSURMI) du département de Bactériologie de l'Institut pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI).

Il s'agit de souches isolées sur des malades avec les caractéristiques suivantes :

- une souche de *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline (**Sa S**) ;
- une souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline (**Sa R**) ;
- une souche de *Staphylococcus aureus* de référence ATCC 25923 (**Sa AT**) ;
- une souche de *Pseudomonas aeruginosa* sensible à la ceftazidime et à l'imipénème (**Pa S**) ;
- une souche de *Pseudomonas aeruginosa* résistante à la ceftazidime et à l'imipénème (**Pa R**) ;
- une souche de *Pseudomonas aeruginosa* de référence ATCC 27853 (**Pa AT**).

Le diamètre des disques utilisés pour les tests est de 6 mm et la concentration des extraits 200 mg/mL. Le tableau 36 présente les résultats des tests d'efficacité obtenus.

Les résultats des tests d'efficacité des extraits totaux montrent que :

- les extraits d'amande de *M. indica* sont actifs sur tous les germes de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* ;
- les extraits de *S. afzelii* sont actifs uniquement que sur les germes de *Staphylococcus aureus*.

Tableau 36: Résultat des tests d'efficacité des extraits totaux

Extraits	Souches bactériennes (diamètres de disques)					
	<i>Sa S</i>	<i>Sa R</i>	<i>Sa AT</i>	<i>Pa S</i>	<i>Pa R</i>	<i>Pa AT</i>
Extrait EtOH de l'amande de <i>M. indica</i>	19	14	16	13	13	ND
Extrait AcOEt de l'amande de <i>M. indica</i>	15	10	ND	10	11	ND
Extrait EtOH des feuilles de <i>S. afzelii</i>	12	12	18	0	0	0
Extrait EtOH des écorces de <i>S. afzelii</i>	12	11	12	0	0	0
Extrait EtOH des graines de <i>S. afzelii</i>	12	12	12	0	0	0

I-2-Détermination de la CMI et CMB de quelques métabolites secondaires isolés

Les activités antibactériennes de quelques métabolites secondaires isolés ont été évaluées par la méthode de détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) en milieu liquide sur les bactéries : *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* [186].

Les composés qui ont fait l'objet d'étude antibactérienne sont :

- le Gallate de méthyle **1** et le Penta-*O*-galloyle-glucoside **3** isolés de *M. indica* ;
- la Quercétine 3-*O*- α -rhamnoside **4** isolé de *S. afzelii*.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 37.

Tableau 37: Résultats de la CMI, CMB et du rapport CMB/CMI des composés **1**, **3** et **4**

Souches bactériennes	Gallate de méthyle 1			Penta- <i>O</i> -galloyle-glucoside 3			Quercétine 3- <i>O</i> - α -rhamnoside 4		
	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB / CMI	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB / CMI	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB / CMI
<i>Sa S</i>	1,6963	1,6963	1	0,0488	0,3906	8	3,000	6,000	2
<i>Sa R</i>	1,6963	1,6963	1	0,0488	0,3906	8	3,000	6,000	2

<i>Sa AT</i>	1,6963	1,6963	1	0,0488	0,7812	16	3,000	6,000	2
<i>Pa S</i>	0,8481	1,6963	2	0,0976	0,7812	8	>6	>6	ND
<i>Pa R</i>	1,6963	1,6963	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Pa AT</i>	1,6963	3,3927	2	0,0976	1,5625	16	>6	>6	ND

Les valeurs des CMI indiquent une activité inhibitrice moyenne pour le composé **4** et une forte activité inhibitrice pour les composés **1** et **3**.

A partir de CMI et CMB, nous avons déterminé le rapport CMB/CMI. Ce rapport CMB/CMI permet de déterminer le mode d'action d'une substance antibactérienne. Ainsi :

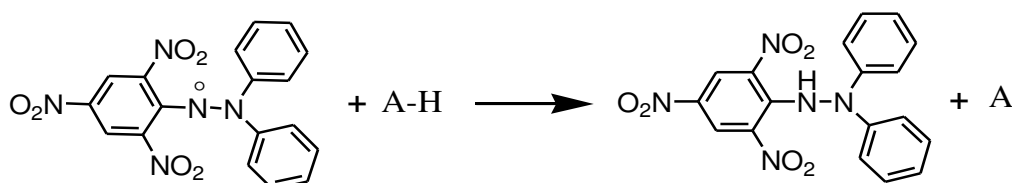
- une substance est dite bactéricide lorsque ce rapport est inférieur à 4 (CMB/CMI < 4) ;
- une substance est dite bactériostatique lorsque ce rapport est supérieur à 4 (CMB/CMI > 4).

L'analyse des résultats du rapport CMB/CMI révèle que le composé **3** est bactériostatique alors que les composés **1** et **4** sont bactéricides sur les germes testés.

II-ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Le radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle) est un radical stable présentant une absorption spécifique à 527 nm qui lui confère une couleur violette mais cette couleur disparaît lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux (antioxydant).

Il s'agit d'une réaction de transfert d'atome d'hydrogène: $\text{DPPH} + \text{AH} \rightarrow \text{DPPH-H} + \text{A}^\bullet$



Plus un composé a la facilité de céder son atome d'hydrogène et plus celui-ci est jugé efficace en tant qu'antioxydant.

Le chromatogramme CCM des fractions polaires des amandes de *Mangifera indica* (figure 68) et extraits polaires de *Santaloïdes afzelii* (figure 69), révélés par une solution de DPPH à 2mg/ml dans le méthanol, présentent des taches jaunes sur un fond violet.

Ces taches jaunes montrent que ces fractions et extraits contiennent des composés capables de réduire le radical DPPH. Ce résultat donne des indications intéressantes pour une

activité anti-oxydante des extraits des amandes de *Mangifera indica* et des feuilles, écorces et graines de *Santaloides afzelii*.

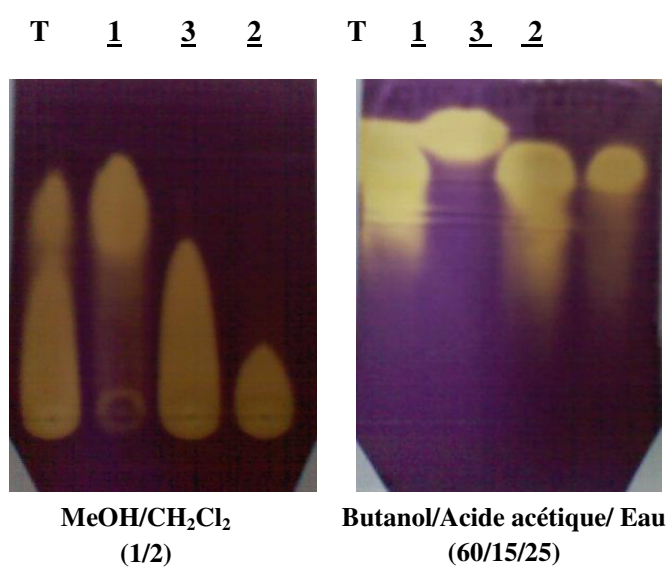
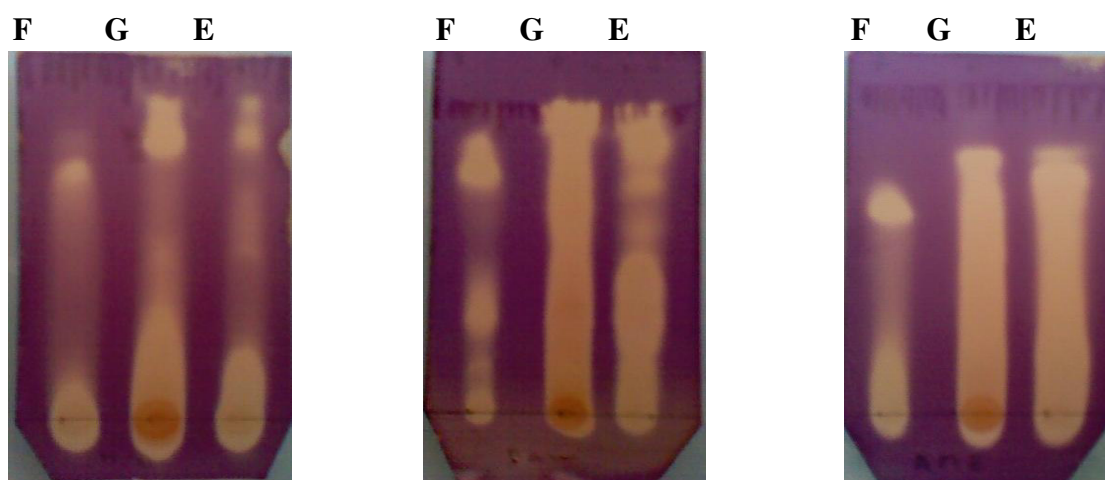


Figure 68: Le chromatogramme CCM des fractions polaires des amandes de *Mangifera indica* présentant une activité antioxydante avec le DPPH.



MeOH/CH₂Cl₂
(1/2)

Acétate d'éthyle/Methanol/ Eau
(100/12/8)

Butanol/Acide acétique/ Eau
(60/15/25)

Figure 69: Les chromatogrammes CCM des extraits de feuilles, écorces et graines de *Santaloïdes afzelii* présentant une activité antioxydante avec le DPPH.

CONCLUSION

Nous avons entrepris l'étude phytochimique des extraits de *Santaloïdes afzelii* (Connaraceae) et d'amande du noyau de *Mangifera indica* (Anacardiaceae) afin de contribuer à la valorisation de la biodiversité végétale.

L'objectif de cette étude était l'isolement et l'identification des molécules de ces plantes, indispensables à leurs valorisations et celles de leurs sous-produits.

L'étude bibliographique préalable sur *Santaloïdes afzelii* a révélé que cette espèce n'a jamais fait l'objet d'études phytochimiques véritables. *Mangifera indica* par contre a fait l'objet de plusieurs études phytochimiques mais les amandes des espèces ivoiriennes n'ont jamais fait l'objet d'étude.

Au cours de nos travaux, nous avons isolé et purifié les constituants des différents extraits et/ou fractions des plantes étudiées par des techniques chromatographiques et par recristallisation. Les composés purs obtenus ont été identifiés à partir de leurs analyses spectrales (RMN homonucléaire et hétéronucléaire, la spectrométrie de masse en technique ESI, HRMS). D'autres méthodes telles que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse (GC /SM) ont été utilisées.

L'étude de l'amande du noyau de dix variétés de mangues a permis de mettre en évidence la présence d'environ 10% de matière grasse dont les caractéristiques physico-chimiques montrent quelques similitudes avec les beurres de Karité, de Makoré et de Cacao ainsi que les huiles de Coton et de Palme. L'étude de sa composition lipidique a révélé une présence significative d'acides gras oléique et stéarique, d'où sa potentielle utilisation en diététique, en pharmacologie et en alimentation. Les beurres et huiles des amandes du noyau de mangues peuvent également être utilisées en savonnerie, vu leurs indices de saponification élevés.

Cinq (5) composés ont été caractérisés dans la fraction insaponifiable de *M. indica*. Ce sont l'Ergostérol, le Sitostérol, le Stigmastérol, le Campesterol et la 3-hydroxy-prégn-5-èn-20-one. Trois (3) composés ont été isolés et identifiés de la fraction AcOEt de l'amande de *M. indica*. Le gallate de méthyle **1**, L'acide gallique **2** et le Penta-*O*-galloyle-glucoside **3**.

Neuf (9) composés que sont l'acide gallique **2**, la Quercétine-3-*O*- α -rhamnoside **4**, la Miricétine-3-*O*- α -rhamnoside **5**, l'épi-catéchine **6**, deux dimères procyanidines **7_{B1}** et **7_{B2}**, un sucrose **8**, le β -sitostérol **9** et l'acide férulique **10** ont été isolés et identifiés des feuilles, graines et écorces de *S. afzelii*. Des dérivés d'acides gras (myristique, palmitique, stéarique,

oléique et arachidique), des dérivés d'acide phénolique, des dérivés de pyranone, furanone et benzofuranone, le phytol et des dérivés d'hexahydro farnesyl ont été identifiés dans la fraction CH₂Cl₂ des graines, écorces et feuilles de *S. afzelii*.

Les fractions polaires de *S. afzelii* et *M. indica* sont riches en polyphénols, composés connus pour leurs propriétés antioxydante, anticancéreuse, anti-inflammatoire et antibactérienne.

La présence de métabolites primaires (acides gras stéarique, oléique, palmitique, arachidique) trouvent des applications dans les domaines cosmétique et alimentaire. Les fractions apolaires sont riches en stérols et terpènes, connus pour des applications dans le domaine alimentaire, médical voire cosmétique.

Ce travail entrepris sur deux (2) plantes a donc abouti à l'identification de plusieurs composés, parmi lesquels, on trouve les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques, les acides gras, les stéroïdes et terpénoïdes, les dérivés hétérocycliques et des dérivés glycosylés.

Les tests biologiques de trois (3) composés isolés **1**, **3** et **4** ont révélé une bonne activité sur des souches de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa*.

A l'issue de ce travail, plusieurs perspectives peuvent être envisagées : la modification structurale des composés isolés afin d'augmenter leur activités biologiques, l'isolement et la caractérisation des composés minoritaires, l'approfondissement des tests biologiques (in vitro et in vivo) et évaluer les tests de toxicité des extraits ou molécules bioactives.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

-
1. Rapport du groupe de travail sur la recherche au service du développement durable installé par Claudie Haigueré, ministre déléguée à la Recherche et aux Nouvelles Technologies, et Tokia Saïfi, secrétaire d'Etat au Développement durable, **2003**.
 2. Baumer M., Arbres, arbustes et arbrisseaux nourriciers en Afrique occidentale. ENDA Editions, Dakar, **1995**, p.260-266.
 3. OMS, Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle, **2000**, p.87.
 4. Maria L. S. de Mello, Pushkar S. B., Narendra N. Fatty and amino acids composition of melon (*Cucumis melo* var-saccharinus) seeds. *J. Food Composition and Analysis*, **2001**, vol.14, p.69-74.
 5. Sinsin B. Et Sinadouwirou T. A. Valorisation socio-économique et pérennité du *Pentadesma Butyracea* Sabine en galeries forestières au Bénin. *Cahiers d'études et de recherches francophones / Agriculture*, **2003**, vol.12, p.75-79.
 6. Roos Y. H., Phase transition in Foods. Academic Press. London, UK, **1995**.
 7. Solís-Fuentes J. A. et Durán-de-Bazua. Recorvery Fats and oils from agroindustrial Wastes and by-products for use in industrial applications. *J. Applied Sci.*, **2005**, vol.5, p.983-987.
 8. Yango Keita, Oumar Koné, Abdoul Karim, Vesa Häkkinen; Etude chimique et activité antibactérienne des distillats de quelques variétés de mangue de Guinée, *C.R. Chimie* 7, **2004**, p.1095-1100.
 9. Pham Xuan Sinh; Pham Ghia Khoi, The extraction and determination of the flavonoid mangiferin in the bark and the leaves of mangifera indica. *Tap chi Duoc Hoc*, **1991**, vol.5, n°8, p.19.
 10. Anjaneyulu, V.; Prasad, K. H.; Rao, G. S., Triterpenoids of roots-bark of *Mangifera indica*. *Indian J Pharm Sci*, **1982**, Vol.44, n°4, p.85- 87.
 11. Riberio S., Barbosa L., Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango. *Food chemistry*, **2008**, vol.110 , p.620-626.
 12. Patrícia V. de Oliveira, Rosangela P. L. Lemos, Lucia M.Conserva ; Chemical constituents of *Rourea doniana* ; *Revista Brasileira de Farmacognosia ,Brazilian Journal of Pharmacognosy*, Mar./Apr. **2012**, vol.22, n°2, p.451-454.
 13. Milena Kalegari, Marilis Dallarmi Miguel, Josiane de Fátima Gaspari Dias, Ana Luísa Lacava Lordello, Cristina Peitz de Lima, Cristina Mayumi Sasaki Miyazaki, Sandra Maria Warumby Zanin, Maria Christina dos Santos Verdam, Obdulio Gomes Miguel ; Phytochemical constituents and preliminary toxicity evaluation of leaves from *Rourea*

-
- induta* Planch. (Connaraceae) ; *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, jul./sep. **2011**, vol.47, n°3.
14. Ambé G. A., Les fruits sauvages comestibles en savanes guinéennes de Côte d'Ivoire : état de la connaissance par une population locale, les malinkés. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, **2001**, vol.5, p.43-48.
15. OMS, Relevé épidémiologique hebdomadaire, 25 Avril **2008**, vol.17, n°83, p.145-146.
16. Michel Arbonnier; Trees, shrubs and lianas of west African dry zones; F-78026 Versailles cedex, Edition ISBN-Quae-978-2-7592-0313-0, *service of the scientific publication*, **2009**, p.279.
17. Arthur Cronquist, *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, **1981**.
18. Christophe Wiart; Medicinal plants of the aisa-pacific, drugs for the future; University of Malaya, Malaysia, ISBN 981-256-341-5, *world scientific publishing*, **2006**, p.240-246.
19. A. Bouquet, M. Debray ; Plantes médicinales de la Côte d'Ivoire ; *Travaux et document de l'O.R.S.T.O.M.* n°32 ; **1974** ; ISBN 2-7099-0341-5.
20. Kerarho, J.; Adam, J.G., La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Paris, Vigot frères Ed., **1974**, p.138.
21. Michel A., Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest., CIRAD, 2^{ème} Edition, **2002**.
22. Von Maydell H.J., Arbustes et arbres du Sahel, leurs caractéristiques et leurs utilisations, **1983**.
- 23 François de Laroussilhe, Le manguier, technique agricole et production tropicale, **1980**, p.11-44.
24. N.M. Anigbogu, P. Bienstman, B. Van Damme, C.D. Ezeokoli, Incorporation of Dry *Mangifera indica* Kernel in the Concentrate Ration of Growing Lambs; *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, **2006**, vol.59, p.39-42.
25. Loeillet D., *La Côte d'Ivoire réforme sa filière mangue - Dossier du Mois* ; Montpellier : CIRAD, **1996**.
26. Tona, L; Kambu, K; Ngimbi, N; Mesia, K; Penge, O; Lusakibanza, M; Cimanga, K; De Bruyne, T; Apers, S; Totte, J; Pieters, L; Vlietinck, A.J. Antiamoebic and spasmolytic activities of extracts from some antidiarrhoeal traditional preparations used in Kinshasa, Congo; *Phytother. Res.*, **2000**, vol.7, p.31-38.
27. Schmeda-hirschmann, G. and A. Rojas De Arias. A screening method for natural products on triatomine bugs. *Phytother Res.*, **1992**, vol.6, n°2, p.68-73.

-
28. George, M. and K. M. Pandalai. Investigations on plant antibiotics. Part IV. Further search for antibiotic substances in indian medicinal plants. *Indian J Med Res.*, **1949**, vol.37, p.169-181.
29. Malcolm, S.A. and E. A. Sofowora. Antimicrobial activity of selected Nigerian folk remedies and their constituent plants. *Lioydia*, **1969**, vol.32, p.512-517.
30. Lutete, T., K. Kambu, D. Ntondele, K. Cimanga and N. Luki. Antimicrobial activity of tannins. *Fitoterapia*, **1994**, vol.65, n°3, p.276-278.
31. Gabino Garrido, Deyarina Gonzalez, Carla Delporte, Nadine Backhouse, Gypsy Quintero, Alberto J. Nùnez-Sellés et Miguel A. Morales. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract (Vimang). *Phytother. Res*, **2001**, vol.15, p.18-21.
32. Gabino Garrido, Deyarina Gonzalez, Cheyla Romay, Alberto J. Nùnez-Sellés, René Delgado; Scavenger effect of a mango (*Mangifera indica* L.) food supplement's active ingredient on free radicals produced by human polymorphonuclear cells and hypoxanthine–xanthine oxidase chemiluminescence systems , *Food Chemistry* ; **2008**, vol.107, p.1008–1014.
33. Susan, P., Stephen, T., Sherry, C., & Anne, M., Neoplastic Transformation of BALB/3T3 Cells and Cell Cycle of HL-60 Cells are Inhibited by Mango (*Mangifera indica* L.) Juice and Mango Juice Extracts. *journal of Nutrition* , **2006**, vol.136 , p.1300-1304.
34. Hana, K., Jeong, Y., Hyeonji, K., & Dong, S., Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh an peel. *Food chemistry*, **2010**, vol.121, p.429-436.
35. Gorinstein S, Zemser M, et al. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. *J Nutr Biochem*; **1999**, vol.10, n°6, p.367-371.
36. Mahattanatawee K, Manthey JA, et al. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. *J Agric Food Chem*; **2006**, vol.54, n°19, p.7355-7363.
37. Ahmed, A., Saeid, D., & Eman, A., Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. *food chemistry*, **2007**, vol.103 , p.1141-1152.
38. K. S., S. H., Ashok K., T. S., & Jai G., Evaluation of anti-diarrhoeal activity in seed extracts of *Mangifera indica*. *Journal of ethnopharmacology*, **2003**, vol.84 , p.11-15.
39. Thoshihide K., Hadjime N., Megumi A., & Shigeko U. Characterization of novel antimicrobial compounds from mango (*Mangifera indica* L.) kernel seeds . *Food chemistry*, **2000**, vol.71, p.61-66.

-
40. Sunday S. Arogba ; Mango (*Mangifera indica*) Kernel: Chromatographic Analysis of the Tannin, and Stability Study of the Associated Polyphenol Oxidase Activity ; *Journal of food composition and analysis*, **2000**, vol.13, p.149-156.
 41. Yean-Yean Soong, Philip J. Barlow; Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lour. seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity; *Food Chemistry*, **2006**, vol.97, p.524–530.
 42. Jacqueline C. Barreto, Maria T. S. Trevisan, William E. Hull, Gerhard Erben, Edy S. De Brito, Beate Pfundstein, Gerd Würtele, Bertold Spiegelhalder, and Robert W. Owen; characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*mangifera indica* l.); *j. agric. food chem.* **2008**, vol.56, p.5599–5610.
 43. Das, P. C., A. Das, S. Mandal, C.N. Islam, M. K. Dutta, B. B. Patra, S. Sikdar and P.K. Chakrabartty. Antiinflammatory and antimicrobial activities of the seed kernel of *Mangifera indica*. *Fitoterapia*, **1989**, vol.60, n°3, p.235-240.
 44. Didier Normand, Atlas des bois de la Côte d'Ivoire, *Centre technique forestier tropical*, Tome I ; 45 bis, avenue de la Belle-Gabrielle ; **1950**, p96.
 45. Guy Roberty, Notes sur la flore de l'ouest-africain, *Institut français d'Afrique noire*, Tome XVI, N°2, Avril **1954**, série A, p.321-369.
 46. Adjanohoun, Aké Assi; The useful plants of west tropical Africa; *jstor plant science*, **1972**, http://plants.jstor.org/upwta/1_1067.
 47. K. Boakye-Yiadom, G. H. Konning; incidence of antibacterial activity in the connaraceae; *planta med*, **1975**, vol.28, n°8, p.397-400.
 48. Declume, C., Assamoi, A., Akre, T.B. activite anticonvulsivante de cnestis feruginea dc., connaracees, *Annales pharmaceutiques francaises*, **1984**, vol.42, n°1, p.35-41.
 49. Ishola, I.O., Ashorobi, R.B.; Anti-stress potential of aqueous root extract of *Cnestis ferruginea*, *International Journal of Pharmacology*, **2007**, vol.3, n°3, p.295-298.
 50. Garon D., Chosson E., Rioult J.P., Eldin de Pecoulas, Brasseur P., Verite, P. ; Poisoning by *Cnestis ferruginea* in Casamance (Senegal): An etiological approach; *Toxicon*, **2007**, vol.50, n°2, p.189-195.
 51. Murakoshi, Isamu; Sekine, Toshikazu; Maeshima, Kiyomi; Ikegami, Fumio; Yoshinaga, Koichiro; Fujii, Yuichi; Okonogi, Siriporn; Absolute configuration of L-methionine sulfoximine as a toxic principle in *Cnestis palala* (Lour.) Merr ; *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **1993**, vol.41, n°2, p.388-390.

-
52. Victor Louis R. Jeannoda, Edmond-Ekué Creppy, Guy Dirheimer; Isolation and partial characterization of glabrin, a neurotoxin from *Cnestis glabra* (Connaraceae) root barks. *Biochimie* , **1984**, Vol.66, n° 7-8, p.557-562.
53. B. j. kaban, M. adiko, D. p. abrogoua, evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *kalanchoe crenata* et de *manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en côte d'ivoire, *phytothérapie*, **2008**, vol.6, p.282–288.
54. Hamid A.A., Aiyelaagbe O.O. ; The screening of phytoconstituents, antibacterial and antifungal activities of *Brysocarpus coccineus* schum and Thonn. stem (Connaraceae); *Advances in Environmental Biology*, September **2010**, Vol.4, n°3, p.485-489.
55. Amos S., Binda L., Kunle O.F., Wambebe C., Gamaniel K.; Uterotonic properties of the ethanol extract of *Brysocarpus coccineus*; *Pharmaceutical Biology*, **2002**, vol.40, n°1, p.33-38.
56. Akindele A.J., Adeyemi O.O.; Antipyretic activity of *Byrsocarpus coccieus* Schum and Thonn. (Connaraceae) ; *International Journal of Pharmacology*, **2007**, vol.3, n°4, p.357-361.
57. Akindele A.J., Adeyemi O.O.; Evaluation of the antidiarrhoeal activity of *Byrsocarpus coccineus*, *Journal of Ethnopharmacology*, **2006**, vol.108, n°1, p.20-25.
58. Akindele A.J., Adeyemi O.O.; Antiinflammatory activity of the aqueous leaf extract of *Byrsocarpus coccineus*, *Fitoterapia*, **2007**, vol.78, n°1, p.25-28.
59. C.P. Khare (Ed), Indian Medicinal Plant, An Illustrated Dictionary; ISBN: 978-0-387-70637-5 Springer-Verlag Berlin/Heidelberg, **2007**, p.558.
60. Ishola, I.O., Akindele, A.J., Adeyemi, O.O.; Analgesic and anti-inflammatory activities of *Cnestis ferruginea* Vahl ex DC (Connaraceae) methanolic root extract; *Journal of Ethnopharmacology*, **2011**, vol.135, p.55-62.
61. Akindele, A.J., Adeyemi, O.O.; Anxiolytic and sedative effects of *Byrsocarpus coccineus* Schum. And Thonn. (connaraceae); *International journal of Applied Research in Natural Products*, **2010**, vol.3, n°1, p.28-36.
62. Akindele Abidemi J; Ezenwanebe Kenneth O; Anunobi Chidozie C; Adeyemi Olufunmilayo O.; Hepatoprotective and in vivo antioxidant effects of *Byrsocarpus coccineus* Schum. And Thonn. (Connaraceae) ; *Journal of ethnopharmacology*, **2010**, vol.129, n°1, p.46-52.
63. R. A. Adisa, A. Abass Khan, I. Oladosu, A.Ajaz, M.I. Choudhary, O.O. Olorunsogo et Ur Rahman; Purification and characterization of phenolic compounds from the leaves of

-
- Cnestis ferruginea* (De Candolle): Investigation of antioxidant property; *Research Journal of Phytochemistry*, **2011**, vol.5, n°4, p.177-189.
64. Mohammed Parvez et Abdur Rahman; A novel antimicrobial isoflavone galactoside from *Cnestis ferruginea* (Connaraceae); *Journal Chem. Soc. Pak.* ; **1992**, vol.14, n°3, p.221-223.
65. Ahmadu, A.A., Hassan, H.S. , Abubakar, M.U., Akpulu, I.N.; Flavonoid glycosides from *Byrsocarpus coccineus* leaves Schum and Thonn (connaraceae); *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*; **2007**, vol.4, n°3, p.257-260.
66. Zhen-Dan, Cui-Ying, Ghee Teng, Kongmany Sydara, Palela Tamez, Rourinoside and rouremin, antimalarial constituents from *Rourea minor*, *phytochem*, **2006**.
67. Gayland F. Spencer, Robert Kleiman; palmitoleic acid in *Roureopsis obliquifoliata* seed oil; *Journal of American oil chemists society*; **1978**, vol.55, n°10, p.689.
68. Jean Bruneton; Pharmacognosie: Phytochimie et plantes médicinales, 2ème édition, **1993**.
69. A. Montagnac, M. Litaudon, M.Pais; Quinine and quinicine derived alkaloids from *Guettarda noumeana*; *Phytochemistry*; **1997**, vol.46, n°5, p.973-975.
70. Philomène Akoua Kouassi, Etude phytochimique de 5 plantes de Côte d'Ivoire: *Zanthoxylum atchoum*, *Zanthoxylum psammophilum*, *Zanthoxylum mezoneurispinosum*, *Baphia bancoensis*, *Rhaphiostylis beninensis* ; Thèse Doctorat: Université de Reims, **2007**.
71. Liangliang Zhang , Jiahong Chen, Yongmei Wang, Dongmei Wu and Man Xu; Phenolic Extracts from *Acacia mangium* bark and their antioxidant activities, *Molecules*, **2010**, vol.15, p.3567-3577.
72. Jin Dai, Russell J. Mumper; Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties; *Molecules*, **2010**, vol.15, p.7313-7352.
73. Nöthlings U, Murphy SP, Wilkens LR, Henderson BE, Kolonel LN, « Flavonols and pancreatic cancer risk: the multiethnic cohort study », *Am. J. Epidemiol.*, octobre **2007**, vol.166, n°8, p.924–931.
74. En-Qin Xia, Gui-Fang Deng, Ya-Jun Guo, Hua-Bin Li, « Biological Activities of Polyphenols from Grapes», *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, vol.11, n°2, p.622-646.
75. Merideth Bonierbale, Gabriela Burgos Zapata, Thomas zum Felde, Paola Sosa; Composition nutritionnelle des pommes de terre ; *Cahiers de nutrition et diététique*, **2010**, vol.45, p.28-36

-
76. S. Derbel, K. Ghedira ; Les phytonutriments et leur impact sur la santé ; *phytothérapie*, **2005**, vol.1, p.28-34.
77. M.-J. Amiot, C. Riollot, J.-F. Landrier ; Polyphenols et syndrome métabolique ; *Médecine des maladies Métaboliques* - Novembre **2009**, Vol.3, n°5.
78. F. Davrieux, R. Boulanger, S. Assemat, E. Portillo, E. Cros; détermination du niveau de fermentation et des teneurs en flavan-3-ols du cacao marchand par spectrométrie proche infrarouge. Présentations orales 12ème session: chimie, technologie et qualité ; **2007**.
79. Organisation Internationale du Cacao Rapport Annuel **2004/2005**, Commonwealth House, 1-19 New Oxford Street ; Londres WC1A 1NU, Royaume-Uni.
80. Kueny-Stotz, M. ; *Contribution à la chimie des flavonoïdes : élaboration de squelettes flavylum sophistiqués, nouvelle voie d'accès aux flavan-3-ols et aux proanthocyanidines*. Université Louis Pasteur, Thèses de doctorat, **2008**.
81. Heller W. & Forkmann G.; Biosynthesis of flavonoids in the flavonoids. *Advances in Research since 1986* (ed. J. B. HARBORNE), Chapman & Hall, London, **1993**, p.499-535.
82. De Rijke, E., P. Out, W. Niessen, M.A., F. Ariese, C. Gooijer, and U. Brinkman, A. Th. , Analytical separation and detection and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, **2006**, vol.1112, n°1-2, p.31-63.
83. Jean Bruneton; Pharmacognosie, Phytochimie des plantes médicinales; Ed° TEC& DOC , 3ème édition, Paris, **1999**, p.347-351.
84. Santos A. S., Caetano L. C., Sant'Ana A. E. G. ; A 12a-hydroxyrotenoid from roots of *Boerhaavia coccinea*. *Phytochemistry* , **1998**, vol.49, n°1, p.255-258.
85. YI-Fen W., JI-Jun C., Yan Y., Yong-Tang Z., Shao-Zong T., SHI-DE L.; New rotenoids from roots of *Mirabilis jalapa*. *Helvetica Chimica Acta*, **2002**, vol.85, p.2342-2348.
86. Shawl A. S., Mengi N., Misra L. N., Vishwa Paul.; Irispurinol, a 12a hydroxyrotenoids from *Iris spuria*. *Phytochemistry* , **1988**, vol.27, n°10, p.3331-3332.
87. Sultana S., Ilyas M. Chemical investigation of *Macaranga indica* Wight. *Indian Journal of Chemistry* , **1987**, vol.26 B (8), p.801-802.
88. Wangenstein H., Alamgir M., Rajia S., Samuelsen A. B., Malterud K. E. Rotenoids and Isoflavones from *Sarcolobus globosus*. *Planta Medica* , **2005**, vol.71, n°8, p.754-758.

-
89. Mohamed S. Marzouk, Fatma A. Moharram, Rabab A. El Dib, Siham M. El-Shenawy, Ahmed F. Tawfike; Polyphenolic Profile and Bioactivity Study of *Oenothera speciosa* Nutt. Aerial Parts; *Molecules*, **2009**, vol.14, p.1456-1467.
 90. M. A. Aderogba, A.O. Ogundaini, J.N. Eloff, isolation of two flavonoids from *bauhinia monandra* (kurz) leaves and their antioxidative effects, *Afr. J. Trad. CAM*, **2006**, vol.3, n° 4, p.59-65.
 91. Kazuhiro Nara, Ken-ichi Nihei, Yasuo Ogasawara, Hidenori Koga, Yoji Kato; Novel isoflavone diglycoside in groundnut (*Apios americana* Medik); *Food Chemistry*, **2011**, vol.124, p.703–710.
 92. F.N. Ngounou, A.L. Meli, D. Lontsi, B.L. Sondengam, Atta-Ur-Rahman, M. Iqbal Choudhary, Shahid Malik, Farzana Akhtar; New isoflavones from *Ceiba pentandra*; *Phytochemistry*, **2000**, vol.54, p.107-110.
 93. Cristina Alcalde-Eon, Gloria Saavedra, Sonia de Pascual-Teresa, Julian C. Rivas-Gonzalo; Identification of anthocyanins of pinta boca (*Solanum stenotomum*) tubers; *Food Chemistry*, **2004**, vol.86, p.441–448.
 94. Yuki Mikanagi, Norio Saito, Masato Yokoi, Fumi Tatsuzawa; Anthocyanins in flowers of genus *Rosa*, sections *Cinnamomeae* (*Rosa*), *Chinenses*, *Gallicanae* and some modern garden roses; *Biochemical Systematics and Ecology*, **2000**, vol.28, p.887-902.
 95. Emmanuel Gonzalez, André Fougerousse, Raymond Brouillard; Two diacylated malvidin glycosides from *Petunia hybrida* flowers; *Phytochemistry*, **2001**, 58, p.1257–1262.
 96. Abdul Abduz Zahir, Abdul Abdul Rahuman, Asokan Bagavan, Kannappan Geetha, Chinnaperumal Kamaraj, Gandhi Elango; Evaluation of medicinal plant extracts and isolated compound epicatechin from *Ricinus communis* against *Paramphistomum cervi*; *Parasitol Res* (DOI 10.1007/s00436-011-2589-8). Springer-Verlag, **2011**.
 97. Abbas Delazar, Samira Lasheni, Fatemeh Fathi-Azad, Lutfun Nahar, Solmaz A., Mahdi M., Satyajit D.; Free-radical Scavenging flavonol 3-O-glycosides from the leaves of *Ribes biebersteinii* Berl; *Rec. Nat. Prod.*, **2010**, vol.4, n°2, p.96-100.
 98. Zhi-Zhi Du, Xian-Wen Yang, Hao Han, Xiang-Hai Cai, Xiao-Dong Luo; A new flavone C-glycoside from *Clematis rehderiana*; *Molecules*, **2010**, vol.15, p.672-679.

99. Xin Zhou, Jinyong Peng, Guorong Fan, Yutian Wu ; Isolation and purification of flavonoid from *Trollius ledebouri* using high-speed counter-current chromatography by stepwise increasing the flow-rate of the mobile phase ; *Journal of Chromatography A* ; , **2005**, vol.1092, p.216-221.
100. Yinrong Lu, L. Yeap Foo ; Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis* ; *Phytochemistry*, **2000**, vol.55, p.263-267.
101. Marcia N. Lopes, André C. de Oliveira, Maria Clàudia M. Young, Vanderlan da S. Bolzani ; Flavonoids from *chiococca braquira* (Rubiaceae); *J. Braz. Chem. Soc.*, **2004**, vol.15, n°4, p.468-471.
102. J.B. Harbone; *Phytochemical Methods, A guide to modern techniques of plant analysis*;; New York, ISBN: 0-412-57260-5, edition **1998**.
103. Hiroe Kikuzaki, Yoshiko Miyajima, Nobuji Nakatani; Phenolic glycosides from Berries of *Pimenta dioica*; *J.Nat. Prod.* **2008**; vol.71; p.861-865.
104. L.C. dos Santos, S. Pizza, R. Toro, P.T. Sano, W. Vilegas ; 6-methoxyquercetin-3-O-(6''-E-feruloyl)- β -D- glucopyranoside from *Paepalanthus polyanthus* (Eriocaulaceae); *Biochemical Systematics and Ecology*, **2002**, vol.30, p.451-456.
105. Andre C.M., Oufi M., Guignard C., Hoffmann L., Hausman J.F., Evers D., Larondelle Y; Antioxidant profile of native Andean potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) reveals cultivars with high levels of β -Carotene, α -Tocopherol, chlorogenic acid, and petanin. *J Agri Food Chem*, **2007**; vol.55, p.10839-10849.
106. C.M. Ajila, L.Jaganmohan Rao, U.J.S. Prasada Rao; Characterization of bioactive compounds from raw and ripe *Mangifera indica* L. peel extract; *Food and Chemical Toxicology*, **2010**, vol.48, p.3406-3411.
107. Maria A. Ponce, Maria J. Bompadre, José M. Scervino, Juan A. Ocampo, Enrique J. Chaneton, Alicia M. Godeas, Flavonoids, benzoic acids and cinnamic acids isolated from shoots and roots of Italian rye grass (*Lolium multiflorum* Lam.) with and without endophyte association and arbuscular mycorrhizal fungus, *Biochemical Systematics and Ecology*, **2009**, vol.37 ,p.245–253.
108. Atta Rahman, Muhammad Shabbir, S. Ziauddin Sultani, Abdul Jabbar; Cinnamates and coumarins from the leaves of *Murraya paniculata*, *Phytochemistry*, **1997**, vol.44, n°4, p.683-685.

-
109. George R. Pettit and Gordon M. Cragg; Biosynthetic Products for Cancer Chemotherapy; Plenum publishing corporation; ISBN 0-306-37688-1; vol.2; édition **1978**.
110. Billy Joel Cabanillas, Anne-Cécile Le Lamer, Denis Castillo, Jorge Arevalo, Rosario Rojas, Guillaume Odonne ; Caffeic Acid Esters and Lignans from *Piper sanguineispicum*; *J. Nat. Prod* ; **2010**
111. Biaye Mamadou, actions pharacologiques des tanins, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, departement de pharmacie, **2002**.
112. Ying Pei, Zhen-Ping Chen, Huai-Qiang Ju, Masaaki Komatsu, Yu-hua Ji, Ge Liu, Chao-wan Guo, Ying-Jun Zhang, Chong-Ren Yang, Yi-Fei Wang, Kaio Kitazato; Autophagy is involved in anti-viral activity of pentagalloylglucose (PGG) against Herpes simplex virus type 1 infection in vitro; *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2011**, vol.405, p.186–191.
113. Ying Pei, Yang-Fei Xiang, Jia-Nan Chen, Chun-Hua Lu, Jing Hao, Qian Du, Chi-choi lai, Chang Qu, Shen Li, Huai-Qiang Ju, Zhe Ren, Qiu-Ying Liu, Sheng Xiong, Chui-Wen Qian, Fan-Li Zeng, Pei-Zhuo Zhang, Chong-Ren Yang, Ying-Jun Zhang, Jun Xu, Kaio Kitazato, Yi-Fei Wang; Pentagalloylglucose downregulates cofilin1 and inhibits HSV-1 infection; *Antiviral Research*, **2011**, vol.89, p.98–108.
114. Yunsheng Li, Jaekyung Kim, Jing Li, Fang Liu, Xueqing Liu, Klaus Himmeldirk, Yulin Ren, Thomas E. Wagner, Xiaozhuo Chen; Natural anti-diabetic compound 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-D-glucopyranose binds to insulin receptor and activates insulin-mediated glucose transport signaling pathway; *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2005**, vol.336, p.430–437.
115. Ruth Niemetz, Georg G. Gross; Oxidation of pentagalloylglucose to the ellagitannin, tellimagrandin II, by a phenol oxidase from *Tellima grandiflora* leaves; *Phytochemistry*, **2003**, 62, p.301–306.
- 116 Xiao-Hong Yan and Yue-Wei Guo ; Two new ellagic acid glycosides from leaves of *diplopanax stachyanthus*; *Journal of Asian Natural Products Research*, December **2004**, Vol.6, n°4, p.271–276.
- 117 Jun-Young Cho, Mi-Jin Sohn, Joongku Lee, Won-Gon Kim, Isolation and identification of pentagalloylglucose with broad-spectrum antibacterial activity from *Rhus trichocarpa* Miquel, *Food Chemistry*, **2010**, vol.123, p.501-506.

-
- 118 Afef Abdelwahed, Ines Bouhlel, Ines Skandrani, Kita Valenti, Malika Kadri, Pascal Guiraud, Régine Steiman, Anne-Marie Mariotte, Kamel Ghedira, François Laporte, Marie-Geneviève Dijoux-Franca, Leila Chekir-Ghedira; Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus* Confirmation by microarray expression profiling; *Chemico-Biological Interactions*, **2007**, vol.165, p.1–13.
119. Olga Silva, Elsa T. Gomes, Jean-Luc Wolfender, Andrew Marston et Kurt Hostettmann; Application of high performance liquid chromatography coupled with ultraviolet spectroscopy and electrospray mass spectrometry to the characterisation of ellagitannins from *terminalia macroptera* roots; *Pharmaceutical Research*, , **2000**, Vol.17, n°11.
120. Turibio Kuiate Tabopda, Joseph NGoupayo, Jiawei Liu, Muhammad Shaiq Ali, Shamsun Nahar Khan, Bonaventure Tchaleu NGadjui et Bang Luu; α -Glucosidase Inhibitors Ellagic Acid Derivatives with Immunoinhibitory Properties from *Terminalia superba*; *Chem. Pharm. Bull.* **2008**, vol.56, n°6, p.847—850.
121. P. Sarni-Manchado, V. Cheynier, *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, **2006**.
122. Jan Muselík, María García-Alonso, María P. Martín-López, Milan Žemlička and Julián C. Rivas-Gonzalo; Measurement of Antioxidant Activity of Wine Catechins, Procyanidins, Anthocyanins and Pyranoanthocyanins, *Int. J. Mol. Sci.* **2007**, vol.8, p.797-809.
123. Santos-Buelga, C. & Scalbert, A., « Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health », dans *J. Sci. Food Agric.*, **2000**, vol.80, p.1094-1117.
124. John F. Hammerstone, Sheryl A. Lazarus, Alyson E. Mitchell, Robert Rucker, and Harold H. Schmitz, Identification of Procyanidins in Cocoa (*Theobroma cacao*) and Chocolate Using High-Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry, *J. Agric. Food Chem.* **1999**, vol.47, p.490-496.
125. Michael Kofink, Menelaos Papagiannopoulos and Rudolf Galensa; (-)-Catechin in Cocoa and chocolate: Occurrence and Anaysis of an Atypical Flavan-3-ol Enantiomer; *Molecules*, **2007**, vol.12, p.1274-1288.
126. Sandy Fabre, De la synthèse de procyanidines à leur quantification dans les baies de raisins et le vin, Université de Bordeaux I, Décembre **2009**.

-
127. Porter, L. J., Hirtstich, L. N., and Chang, B. G. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidins and delphinidins. *Phytochemistry*, **1986**, vol.25, n°1, p.223-230.
128. Hemingway, R. W. and McGraw, G. W. Kinetics of acid-catalysed cleavage of procyanidins *Journal of Wood Chemistry and Technology*, **1983**, vol.3, n°4, p.421-435.
129. Ricardo-da-Silva, J. M., Rigaud, J., Cheynier, V., Cheminat, A., and Moutounet, M. Procyanidin dimers and trimers from grape seeds. *Phytochemistry*, **1991**, vol.30, n°4, p.1259-1264.
130. Camille Perret, Université de Neuchâtel-Faculté des Sciences, Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea* Pers ; Décembre **2001**.
131. Norihiro Banno, Toshihiro Akihisa, Ken Yasukawa, Harukuni Tokuda, Keiichi Tabata, Yuji Nakamura, Reiko Nishimura, Yumiko Kimura, Takashi Suzuki ; Anti-inflammatory activities of the triterpene acids from the resin of *Boswellia carteri* ; *Journal of Ethnopharmacology*, **2006**, vol.107, p.249–253.
132. Félicité Noudjou, Habiba Kouninki, Thierry Hance, Eric Haubruge, Léonard ST. Ngamo, Pierre M. Maponmestsem, Martin Ngassoum, François Malaisse, Michel Marlier, Georges Lognay ; Composition of *Xylopi aethiopica* (Dunal) A. Rich essential oils from Cameroon and identification of a minor diterpene: *ent*-13-*epi* manoyl oxide; *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **2007**, vol.11, n°3, p.193–199.
133. Seghiri Ramdane, Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires du Genre *Centaurea*, *C. africana*, *C. nicaensis*: A flavonoid with cytotoxic activity and other constituents from *Centaurea africana*, *Phytochemistry Letters*, **2009**, vol.2, p.114-118.
134. Villasenor I.M., Canlas A.P., Faustino K.M.; Evaluation of the bioactivity of triterpene mixture isolated from *Carmona retusa* (Vahl) Masam leaves; *Ethnopharmacology*, **2004**, vol.92, n°1, p.53-56.
135. Yvon Gervaise; Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits ; polyphenols-Euroforum, Paris-12 octobre **2004**.
136. Tatiane C. Carvalho, Marília R. Simão, Sérgio R. Ambrósio, Nígea A. J. C. Furtado, Rodrigo C. S. Veneziani ; Antimicrobial Activity of Diterpenes from *Viguiera arenaria* against Endodontic Bacteria; *Molecules* **2011**, vol.16, p.543-551.

-
137. Venkata Sai Prakash Chaturvedula and Indra Prakash; A New Diterpene Glycoside from *Stevia rebaudiana*; *Molecules* **2011**, vol.16, p.2937-2943.
138. Yi-Feng Han, Xiao-Jing Gao and Hai Huang, A New Sesquiterpene with a Novel 1 β , 8 β -Oxygen Bridge from *Heteropappus altaicus* (willd.) Novopokr.; *Molecules*, **2011**, vol.16, p.518-522.
139. T. Rabe, D. Mullholland, J. van Staden; Isolation and identification of antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves; *Journal of Ethnopharmacology*, **2002**, vol.80, p.91-94.
140. Chi-Rei Wu, You-Cheng Hseu, Jin-Cherng Lien, Li-Wei Lin, Yung-Ta Lin and Hui Ching; Triterpenoid Contents and Anti-Inflammatory Properties of the methanol extracts of *Ligustrum* Species Leaves; *Molecules* **2011**, vol.16, p.1-15.
141. M. Amzad Hossain, Zhari Ismail; Isolation and characterization of triterpenes from the leaves of *Orthosiphon stamineus*; *Arabian Journal of Chemistry*, **2010**.
142. Wood, J.E., Senthilmohan, S.T., Peskin, A.V., Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chem.* **2002**, vol.77, p.155–161.
143. Marinova D., Ribavara F., Antanassova M., Total phenolics in bulgarian fruits and vegetables, *Journal of the university of Chemical Technology and metallurgy*, **2005**, vol.40, n°3, p.255-260.
144. AFNOR, Corps gras d'origine animale et végétale. Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité : Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés. Tome 1 : Corps gras et produits dérivés. AFNOR, Paris, **1999**, p.313-325
145. AFNOR, Corps gras d'origine animale et végétale. Détermination de la teneur en matières insaponifiables: Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés. Tome 1 : Corps gras et produits dérivés. AFNOR, Paris, **1988**, p.219-223.
146. Alonso-Salces, R., M., A. Barranco, E. Corta, L. Berrueta, A., G. Blanca, and F. Vicente, A validated solid-liquid extraction method for the HPLC determination of polyphenols in apple tissues: Comparison with pressured liquid extraction. *Talanta*, **2005**. Vol.65, n°3, p.654-662.
147. Sawadogo K. et Bezard J. Etude de la structure glycéridique du beurre de Karité. *Oléagineux*, **1982**, vol.37, n°2, p.69-74.

-
148. Gossé K. B., Gbongué A., Adima A. A., Yoichiro I. Chemical Analysis of the seed of the ripe fruit of *Tieghemella heckelii*. *J. Liquid Chromatography and related technologies*, **2002**, vol.25, n°18, p.2873-2882.
149. Recueil de normes françaises, corps gras, graines oléagineuses et produits dérivés. AFNOR, **1981**.
150. Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires, commission Codex Alimentarius, juillet **2001**.
151. Djenontin S. T., Dangou J., Wotto D. V., Sohounlhoue K. C. D., Losano P. et Pioch D. Composition en Acides Gras, Stérols et Tocophérols de l'huile végétale non conventionnelle extraite des graines de *Jatropha Curcas* (Euphorbiaceae) du Benin. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*, **2006**, vol.22, p.59-67.
152. Ernö Pretsch, Philippe Bühlmann, Martin Badertscher, Structure determination of organic compounds, Tables of spectral data, 4th revised and enlarged edition, ISBN 978-3-540-93809-5, *Springer*, **2009**, p.408.
153. M.Taufik Ekaprasada, Hazll Nurdin, Sanusi Ibrahim, Dachriyanus ; Antioxydant activity of methyl gallate isolated from the leaves of *Toona sureni* ; *Indo.J.chem* ; **2009** ; vol.9, n°3, p.457-460.
- 154 A. Ekouya, B.G. Itoua, A. Ouabonzi, J. M. Ouamba, Isolement du gallate de methyle et evaluation de l'activité antibacterienne et antitumorale de quelques extraits de *Klainedoxa gabonensis*. *Phytothérapie*, **2006**, vol.3, p.117-120.
- 155 Seon Wood Hwand, Jun Lee, Hyun Sook Kwon, Kyung Dong Lee , comparison of Tyrosinase Inhibitory Effect of the natural Antioxidants from *Cedrela sinensis*, *Agric. Chem. Biotechnol.* **2005**, vol.48, n°3, p.144-147.
156. Yean-Yean Soong, Philip J. Barlow; Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity; *Food Chemistry*; **2006**, vol.97, p.524–530.
157. L.M. Korul'kina, E.E.Shul's, «Biologically active compounds from *Limonium Gmelinii* and *L. Popovii*», *Chemistry of natural compounds*, **2004**, vol.40, n°5, p.465-471.
158. Catherine A. Rice-Evans, Nicholas J. Miller, and George P.; Structure-antioxydant activity relationships of flavonoids and phenolic acids; *Free Radical Biology & Medicine*, **1996**, vol.20, n°7, p.933-956.
159. Giuseppe Gattuso, Davide B., Claudia G., Ugo L. and Corrado C.; Flavonoid composition of Citrus Juices; *Molecules* **2007**, vol.12, p.1641-1673

-
160. Xi-Ning Zhong, Hideaki Otsuka, Toshinori Ide, Eiji Hirata, Anki Takushi and Yoshio Takeda; three flavonol glycosides from leaves of *Myrsine seguinii*; *phytochemistry*, **1997**, vol.46, n°5, p.943-946.
 - 161 Adil EL Kabouss, Zoubida Charrouf, Hicham Oumzil, Mohamed Faïd, Driss Lamnaouer, Yoko Miyata, Kazumoto Miyahara; characterization of the flavonoïdes from the leaves of argan (*argania spinosa* (L.) skeels, sapotaceae) and study of their antimicrobial activity; *Actes Inst. Agron.Vet.*, **2001**, vol.21, n°3, p.157-162.
 - 162 Qizhen Du, Ping Chen, Gerold Jerz, Peter Winterhalter ; Preparative separation of flavonoid glycosides in leaves extract of *Ampelopsis grossedenta* using high-speed counter-current chromatography; *Journal of chromatography A.*, **2004**, vol.1040, p.147-149.
 163. Suzimone de J. Correia, Jorge M. David, Eliezer P. da Silva, Juceni P. David, Lucia M. X. Lopes, Maria Lenise S. Guedes; Flavonoids, Norisoprenoids and other terpenes from leaves of *Tapirira guianensis*; *Quim Nova*, **2008**, vol.31, n°8, p.2056-2059.
 164. Chien-Chang S., Yuan-Shiun C., Li-Kang Ho, Nuclear magnetic resonance studies of 5,7-dihydroxyflavonoids, *Phytochemistry*, **1993**, vol.34, n°3, p.843-845.
 165. Bidie Alain Phillip, Ndjoko karine, Bio-guided isolation of antioxydant compounds from *chrysophyllum perpulchrum* a plant used in the Ivory Coast pharmacopeia. *Molecules* **2010**, vol.15, p.6386-6398.
 166. John Lokvam, Phyllis D.Coley, Thomas A.Kursar; 2003; Cinnamoyl glucosides of catechin and dimeric procyanidins from young leaves of *Inga umbellifera* (Fabaceae) *Phytochemistry*, **2004**, vol.65, p.351–358.
 - 167 Lauro M. de Souza, Thales R. Cipriani, Marcello Iacomini, Philip A.J. Gorin, Guilherme L. Sassaki; HPLC/ESI-MS and NMR analysis of flavonoids and tannins in bioactive extract from leaves of *Maytenus ilicifolia*, **2007**
 - 168 Yi-Pei Lin, Tai-Yuan Chen, Hsiang-Wen Tseng, Mei-Hsien Lee, Shui-Tein Chen; 2009; Neural cell protective compounds isolated from *Phoenix hanceana* var. formosana, *Phytochemistry* , **2009**, vol.70, p.1173–1181.
 - 169 Shang-Ju Zhang, Yi-Ming Lin, Hai-Chao Zhou, Shu-Dong Wei, Guang-Hui Lin and Gong-Fu Ye; Antioxidant tannins from stem bark and fine root of *Casuarina equisetifolia*; *Molecules* **2010**, vol.15, p.5658-5670.

-
170. Shu-Dong Wei, Hai-Chao Zhou, Yi-Ming Lin, Meng-Meng Liao and Wei-Ming Chai; MALDI-TOF MS Analysis of Condensed Tannins with Potent Antioxidant Activity from the Leaf, Stem Bark and Root Bark of *Acacia confusa*; *Molecules* **2010**, vol.15, n°6, p.4369-4381.
171. Ulla Svedström, Heikki Vuorela, Risto Kostianen, Jari Tuominen, Juha Kokkonen, Jussi-Pekka Rauha, Into Laakso, Raimo Hiltunen; Isolation and identification of oligomeric procyanidins from *Crataegus* leaves and flowers; *Phytochemistry*, **2002**, vol.60, p.821–825.
172. Jianping Sun, Feng Liang, Yan Bin, Ping Li and Changqing Duan, Screening Non-colored Phenolics in Red Wines using Liquid Chromatography/Ultraviolet and Mass Spectrometry/Mass Spectrometry Libraries, *Molecules*, **2007**, vol.12, p.679-693.
173. Isabelle Tarascou ; synthèse et caractérisation de procyanidines oligomères pour l'identification de tanins du raisin et du vin ; universite bordeaux 1 ; Décembre **2005** ; p60-70
- 174 L. Yeap Foo, Yinrong Lu; Isolation and identification of procyanidins in apple pomace; *food chemistry*, **1999**, vol.64, p.511-518.
175. Timo Stark, Sabine Bareuther, and Thomas Hofmann; Sensory-Guided Decomposition of Roasted Cocoa Nibs (*Theobroma cacao*) and Structure Determination of Taste-Active Polyphenols; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, vol.53, p.5407-5418.
176. Julia Wind, Sjeff Smeeckens, Johannes Hanson, Sucrose: Metabolite and signaling molecule, *Phytochemistry*, **2010**, vol.71, p.1610–1614.
177. Ahlem Boussetla, Amar Zellagui , Kamel Derouiche, Salah Rhouati; Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity; *Arabian Journal of Chemistry*, **2011**.
178. Valérie Molinier, Bernard Fenet, Juliette Fitremann, Alain Bouchu et Yves Queneau; Concentration measurements of sucrose and sugar surfactants solutions by using the H NMR ERETIC method; *Carbohydrate Research*, **2006**, vol.341, p.1890–1895.
179. Juliette Gagnaire, Gülsen Toraman, Gérard Descotes, Alain Bouchu et Yves Queneau; Synthesis in water of amphiphilic sucrose hydroxyalkyl ethers; *Tetrahedron Letters*, **1999**, vol.40, p.2757-2760.

-
180. Donald G. Cornell, Robert L. Dudley, Remon F. Joubran et Nicholas Parris; NMR relaxation measurements of sucrose in aqueous ethanol solutions; *Food Hydrocolloids*, **1994**, vol.8, n°1 p.19-26.
 181. M. Heidenreich, W. Köckenberger, R. Kimmich, N. Chandrakumar et R. Bowtell ; Investigation of Carbohydrate Mechanism and Transport in Castor Bean Seedlings by Cyclic *J* Cross Polarization Imaging and Spectroscopy; *Journal of Nuclear magnetic resonance* **1998**, vol.132, p.109-124.
 182. Anjoo Kamboj, Ajay Kumar Saluja; isolation of stigmasterol and β sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *ageratum conyzoides* (asteraceae); *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*; **2011**, vol.3, n°1.
 183. Arjun Patra, S. Jha, P.N. Murthy, Manik, A. Sharone; Isolation and characterization of stigmast-5-en-3 β -ol (β -sitosterol) from the leaves of *Hygrophila spinosa* T. Anders; *International Journal of Pharma Sciences and Research*; **2010**, vol.1, n°2, p.95-100.
 184. Cecilia A., Francesca B., Marisanna C., Elena G., Nicola G., Daniela V., Gianni V. ; Interaction of ferulic acid derivatives with human erythrocytes monitored by pulse field gradient NMR diffusion and NMR relaxation studies. *Chemistry and physics of lipids* **2005**; vol.134, p.109-117.
 185. Cecilia A., Marisanna C., Paola G., Alessandro S., Anna B., Andrea B., Roberto M. F. ; Antioxidant activity of ferrulic acid alkyl esters in a heterophasic system: A mechanistic insight; *Agricultural and food chemistry*; **2004**; vol.52, p.6425-6432.
 186. Golly Koffi Julien, Siaka Sorho, Guessennnd Nathalie, Soro Yaya, Djama Allico Joseph, Dosso Mireille; Phytochemical assessment and antimicrobial activity of leaves extract of *Vernonia colorata* (Wild.) Drake on Resistant Germs of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*; *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **2012**, vol.4, n°5, p.2490-2494.
 187. Coffi Kanko, Gérard Koukoua, Yao Thomas N'Guessan, Josette Fournier, Jean-Paul Pradère, Loïc Toupet ; Contribution à l'étude phytochimique de *Lippia multiflora* (Verbenaceae) ; *C.R.Chimie* 7 ; **2004**, 1029-1032.
 188. FAO, *Tropical fruits projections to 2005*. Rome: FAO. **2002**.

ANNEXES

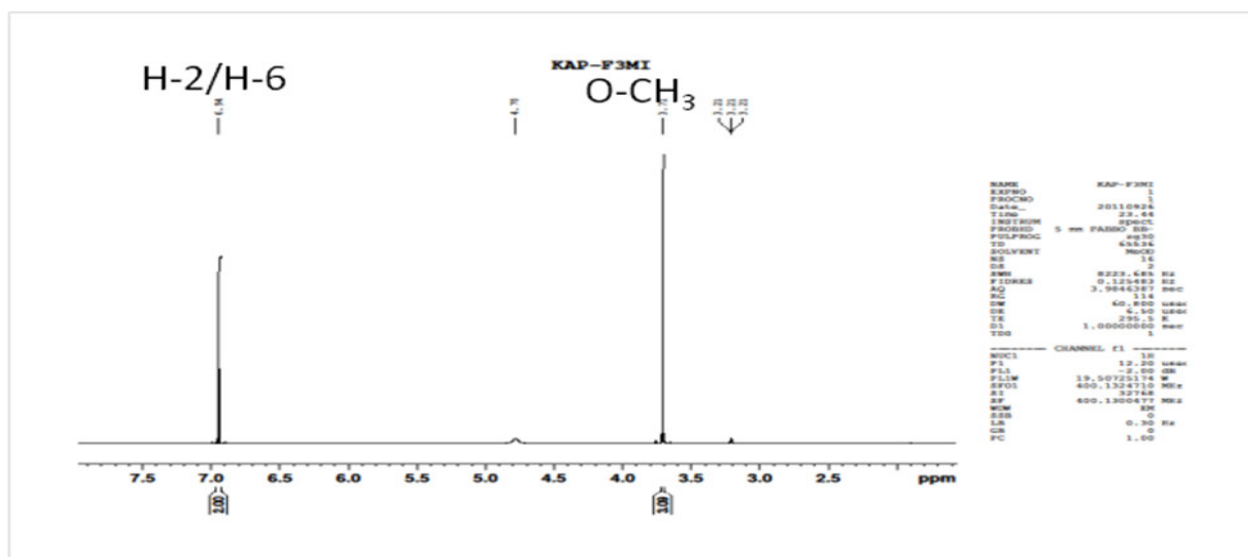


Figure 71: Spectre RMN ^1H du composé **1** dans du méthanol- d_4

COMPOSE 2

Cristaux Jaune blanc

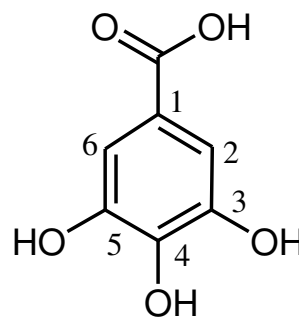
Rt (min) : 3.91

UV/visible : 270 nm

m/z 193.0142 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Masse : 170.0142

Formule : $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$



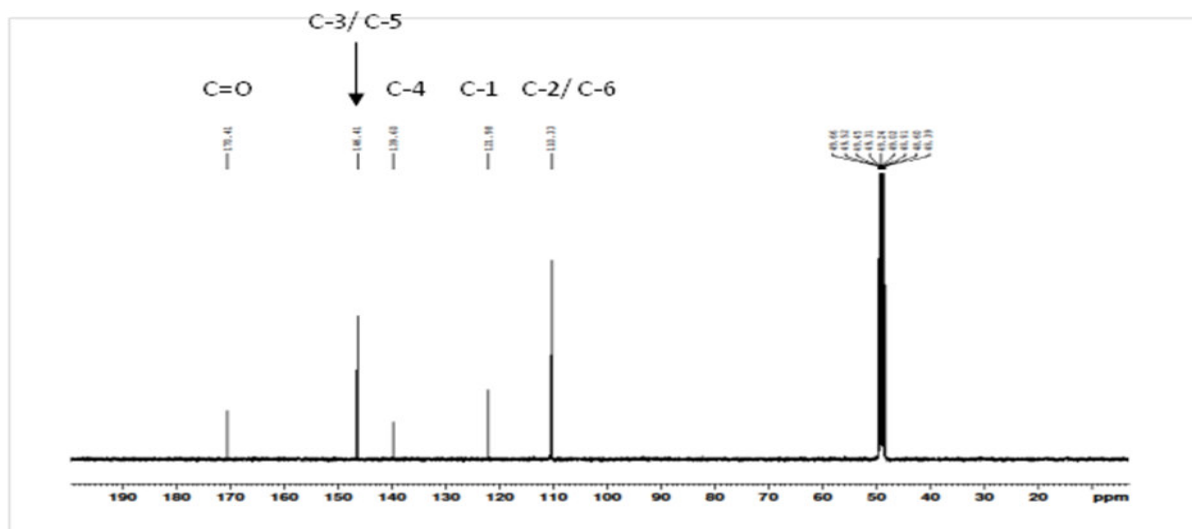


Figure 72: Spectre RMN ^{13}C du composé **2** dans le méthanol- d_4

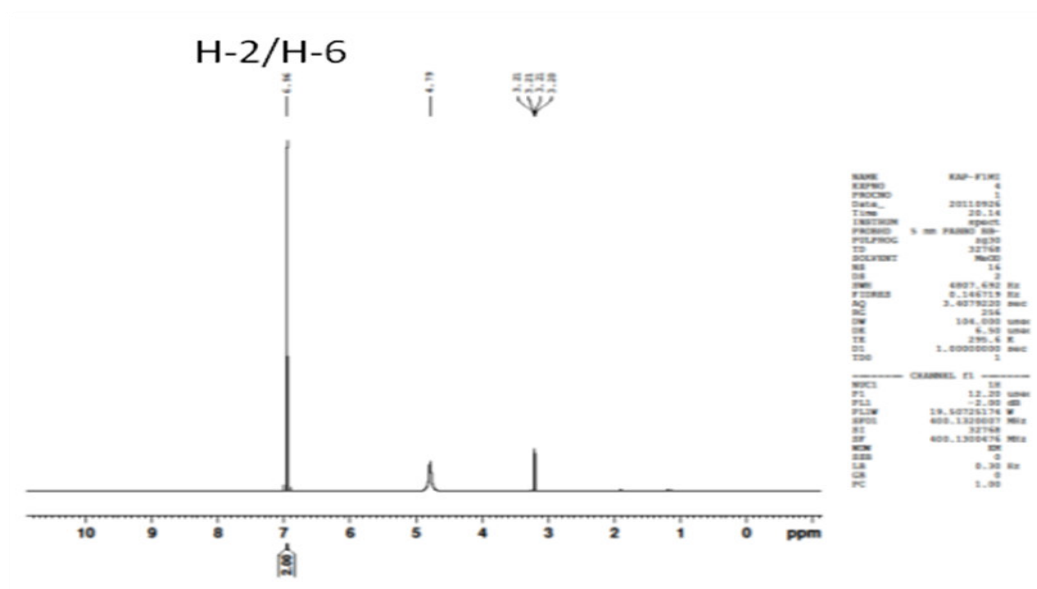


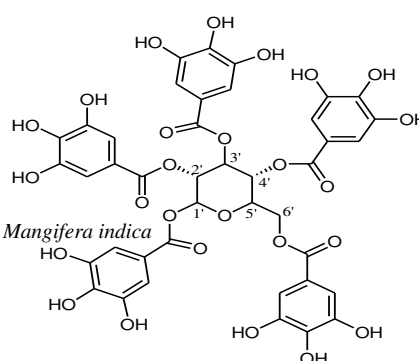
Figure 73 : Spectre RMN ^1H du composé **2** dans le méthanol- d_4

COMPOSE 3

Poudre jaune blanche

Rt (min) : 47.30

Contribution à l'étude phytochimique de *Santaloïdes afzelii* et des amandes de *Mangifera indica*



UV/visible : 279 nm
 m/z 963.1079 [M+Na]⁺
 Masse : 940.1079
 Formule : C₄₁H₃₂O₂₆

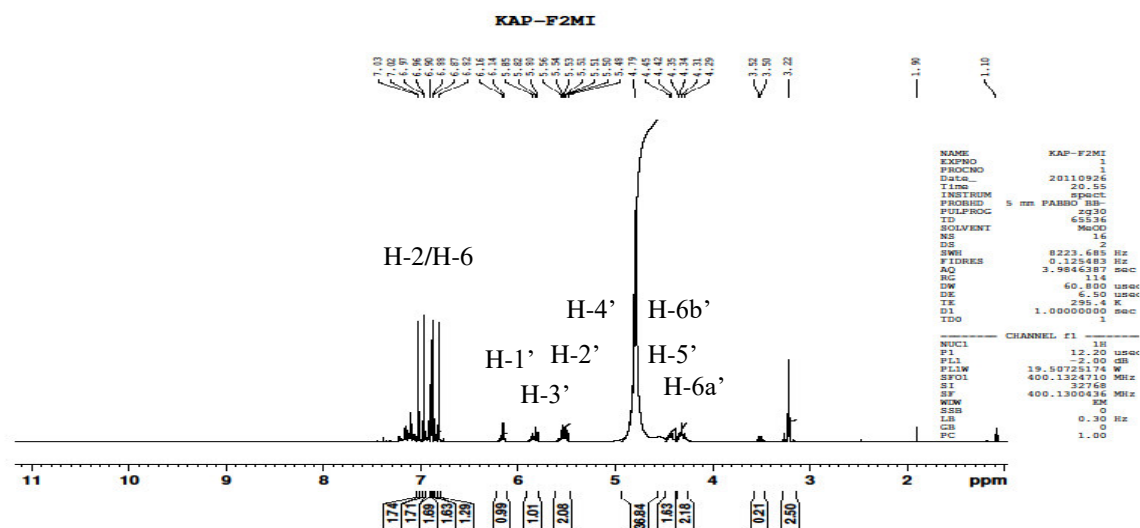


Figure 74: Spectre RMN ¹H du composé **3** dans le méthanol-d₄

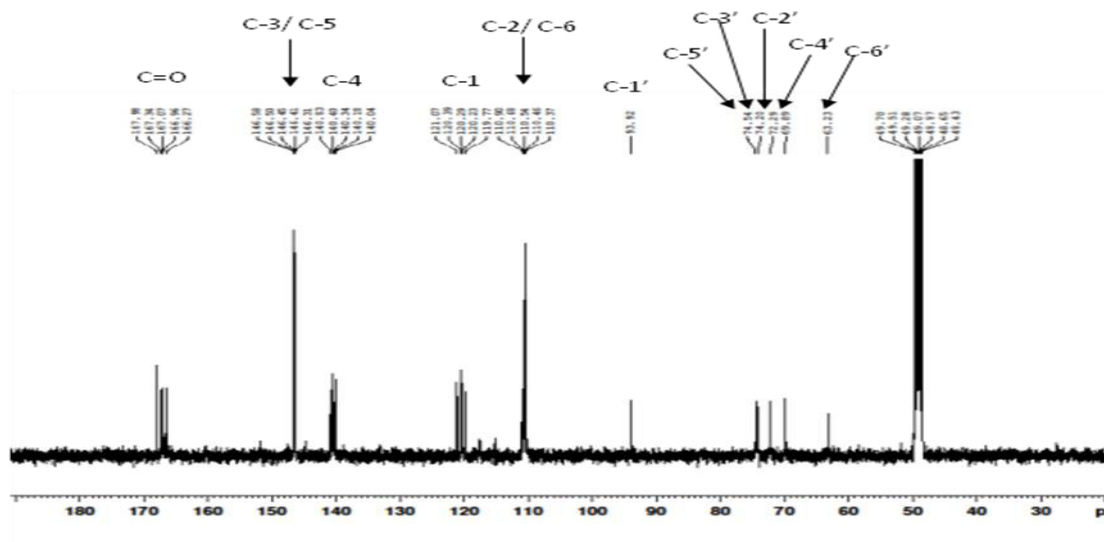


Figure 75: Spectre RMN ¹³C du composé **3** dans le méthanol-d₄

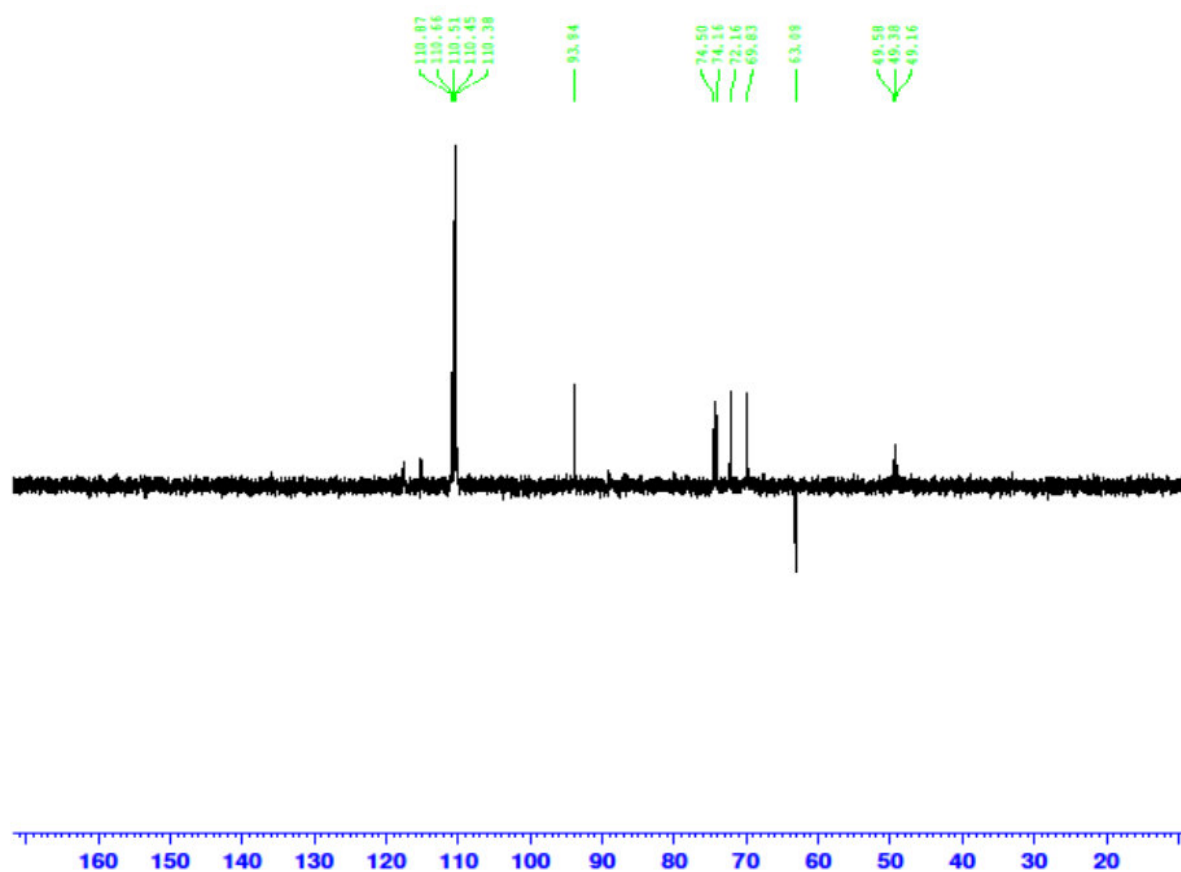


Figure 76 : Spectre DEPT 135 du composé 3 dans le méthanol-d4

COMPOSE 4

Poudre jaune

Rt (min) : 48,63 min

Spectres UV/visible : 256/348 nm

m/z 471.0905 [M+Na]⁺

Masse : 448.0905

Formule brute : C₂₁H₂₀O₁₁

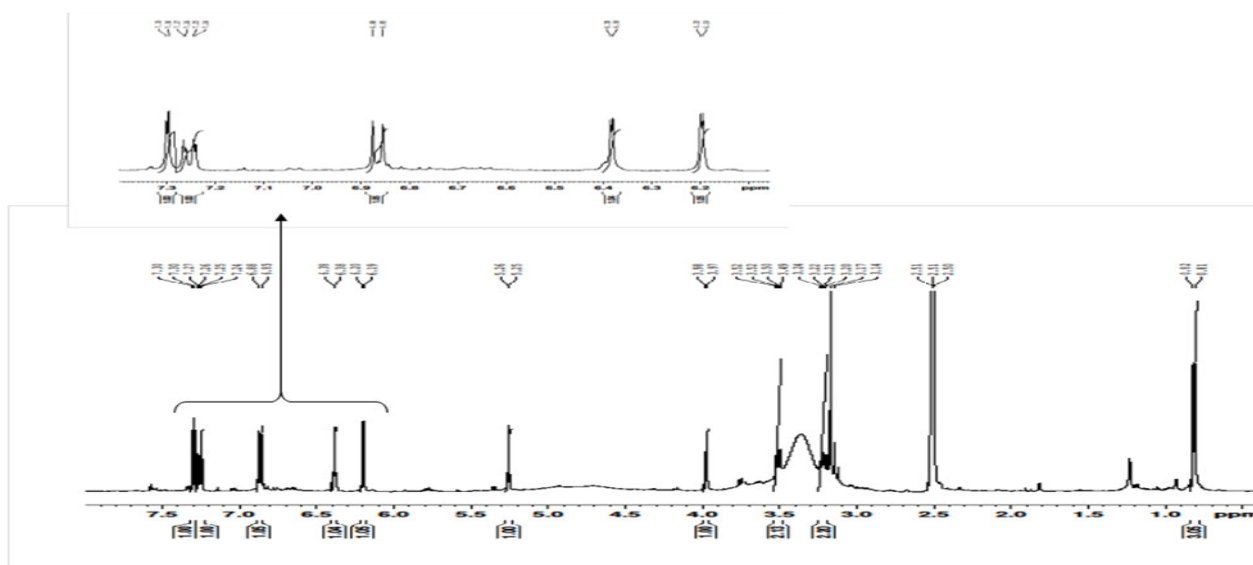
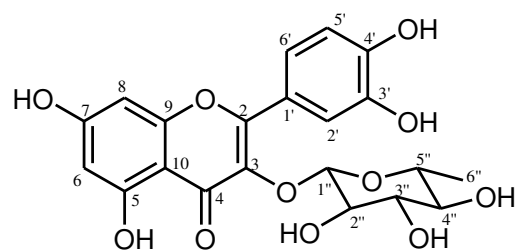


Figure 77: Spectre RMN ¹H du composé **4** dans le DMSO-d₆

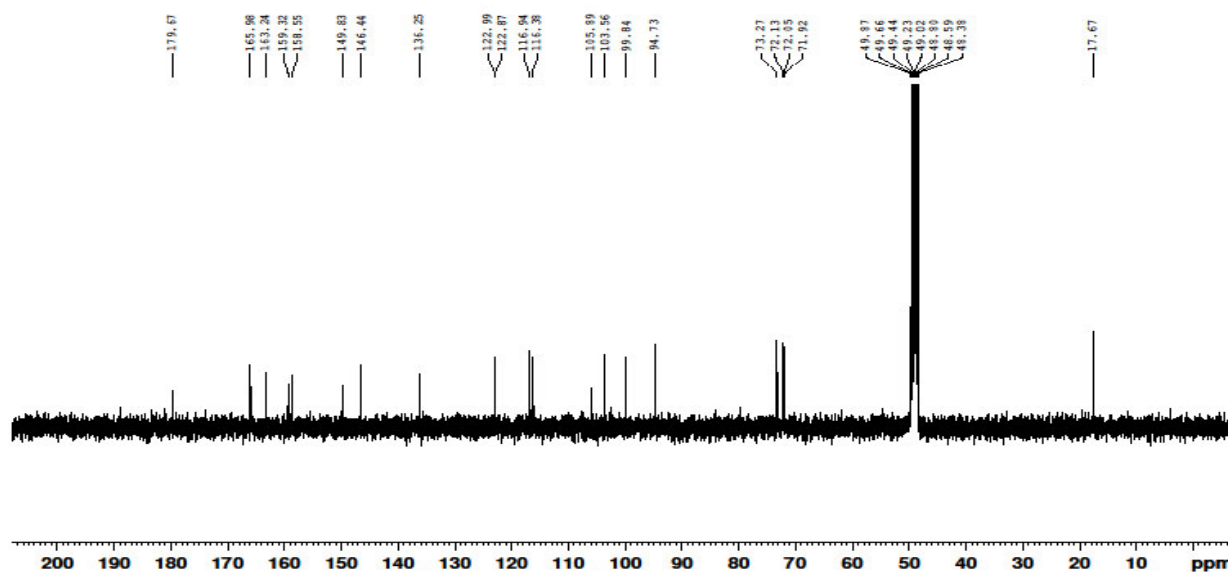


Figure 78: Spectre RMN ^{13}C du composé **4** dans le MeOH- d_4

COMPOSE 5

Poudre jaune

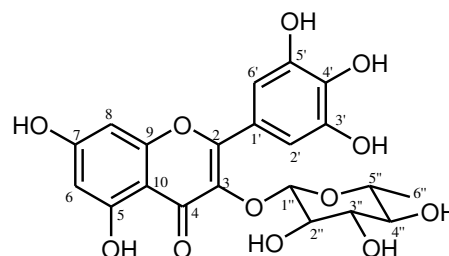
Rt (min) : 42,70 min

Spectres UV/visible : 260/349 nm

m/z 487.0851 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Masse : 464.0851

Formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$.



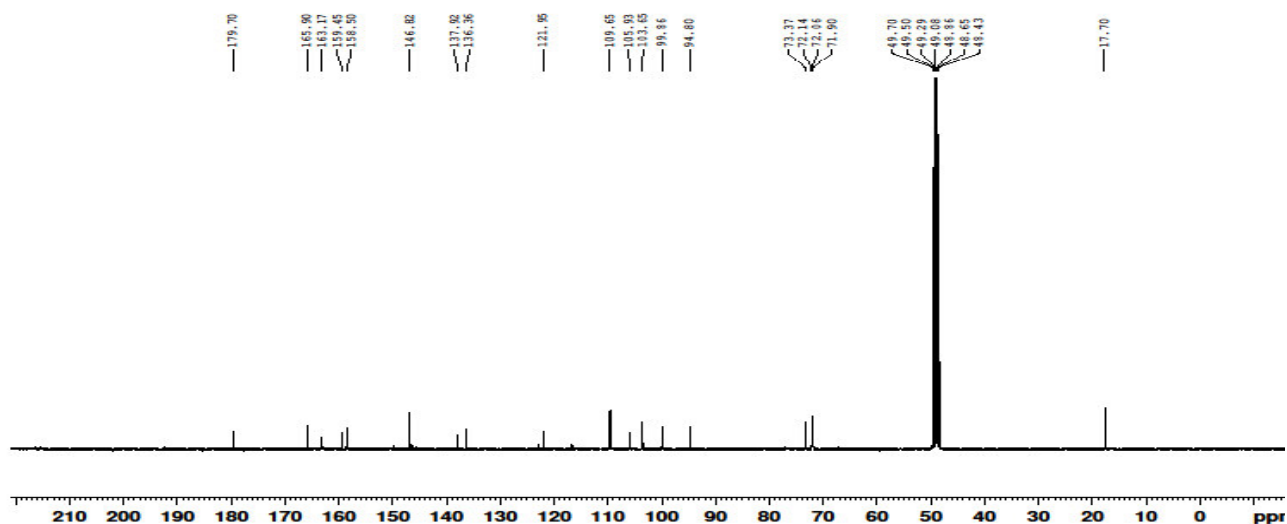


Figure 80: Spectre RMN ^{13}C du composé 5 dans le MeOH-d4

COMPOSE 6

Poudre blanche

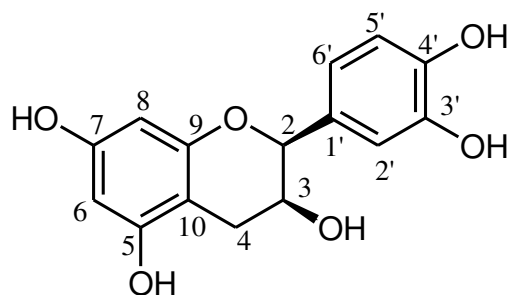
Rt (min) : 15,19

Spectres UV/visible : 278 nm

m/z 313.0803 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Masse : 290.0803

Formule brute : $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$



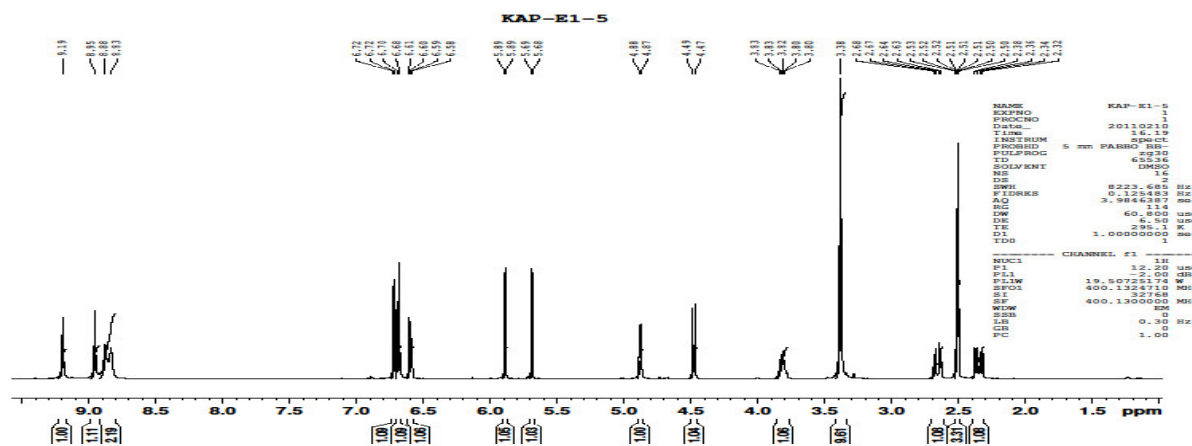


Figure 81: Spectre RMN ^1H du composé **6** dans le DMSO- d_6

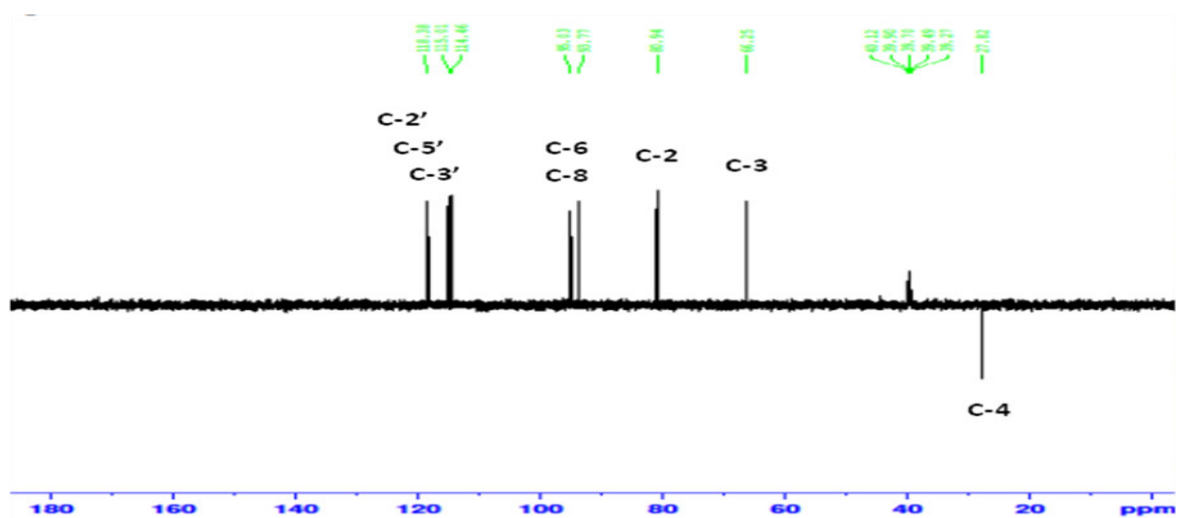


Figure 82: Spectre DEPT 135 du composé **6** dans le DMSO- d_6

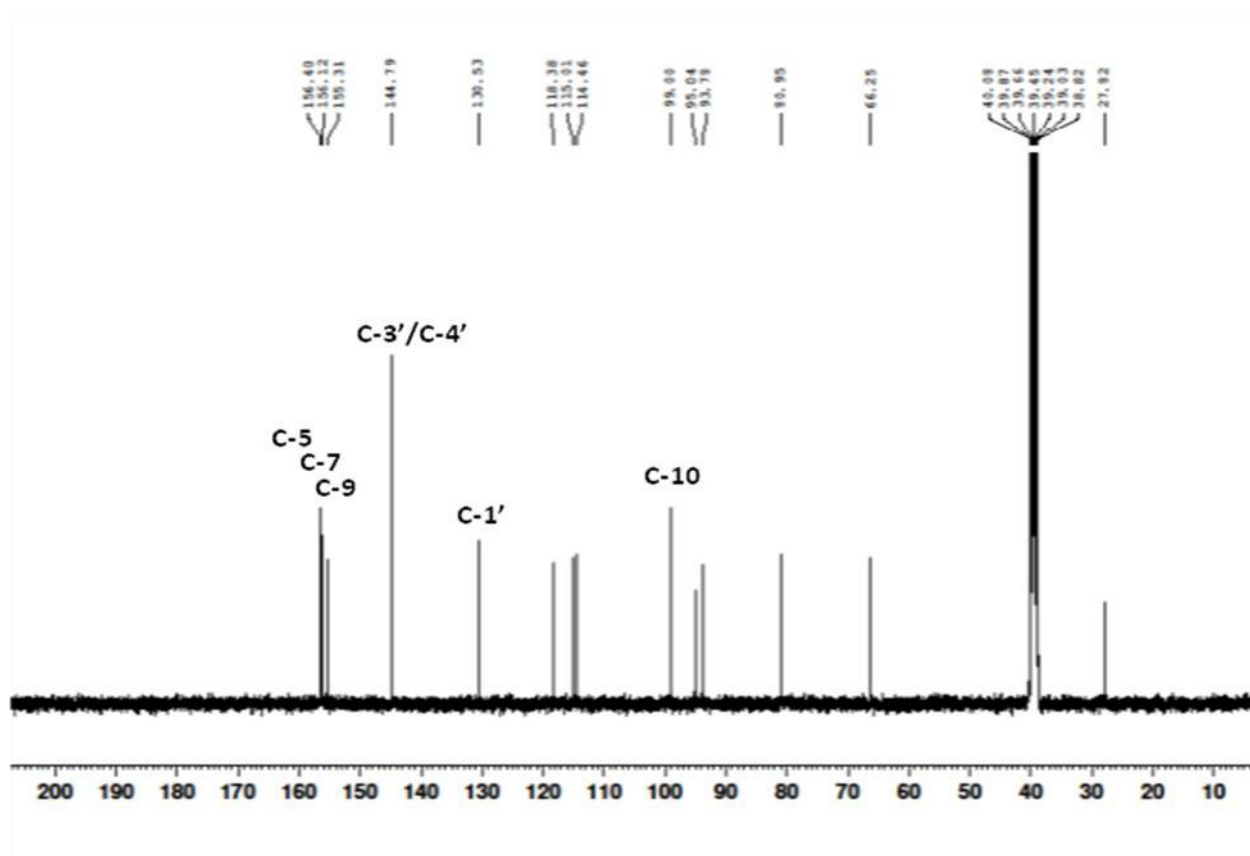


Figure 83: Spectre RMN ^{13}C du composé 6 dans le DMSO- d_6

COMPOSE 7

Rt (min) : 11.05 / 26.80

Spectres UV/visible : 280 nm

m/z 601.1323 [M+Na]⁺

Masse : 578.1323

Formule brute : C₃₀H₂₆O₁₂

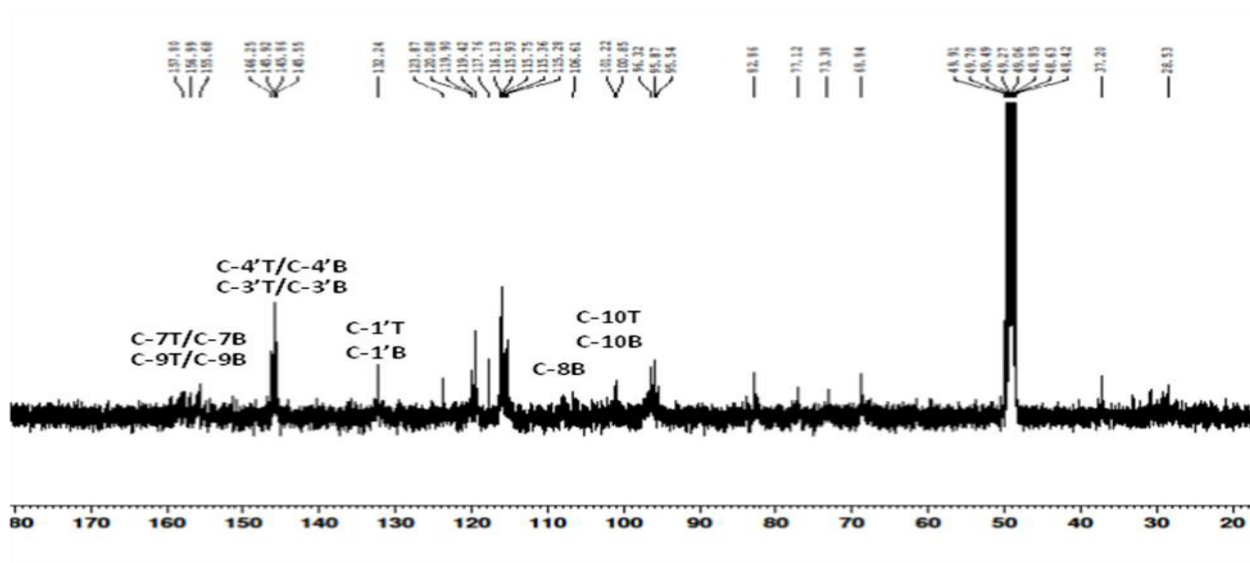
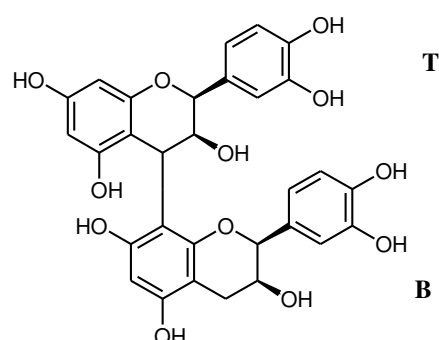


Figure 84: Spectre RMN ¹³C du composé 7 dans le MeOH-d₄

KAP-T42N

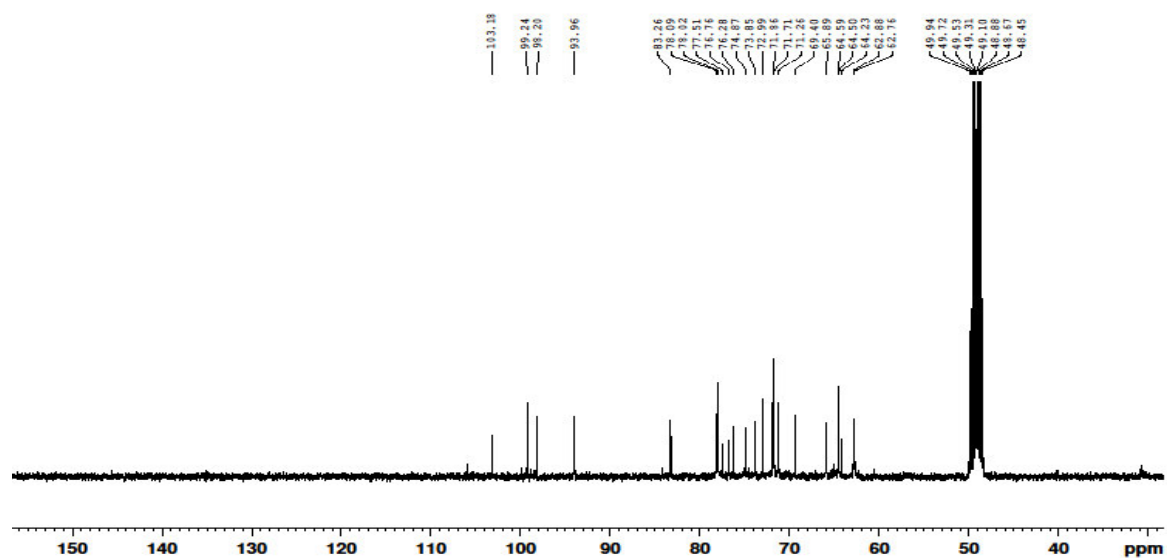


Figure 87: Le spectre RMN ^{13}C du composé **8** dans le MeOH-d4

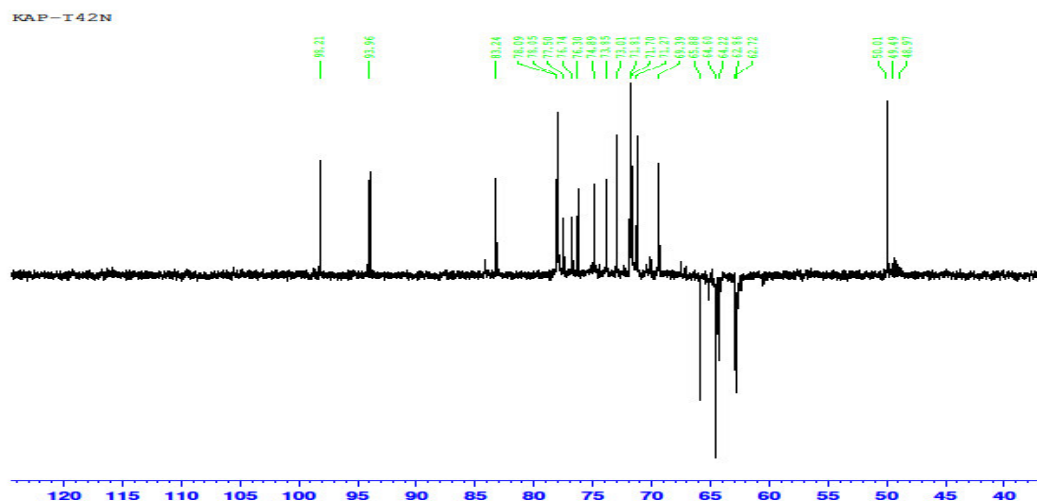
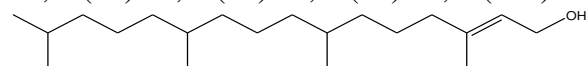


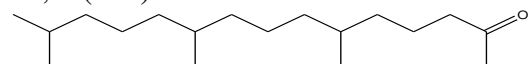
Figure 88: Spectre RMN DEPT 135 du composé **8** dans le MeOH-d4

RT 34,18 min M=296,45

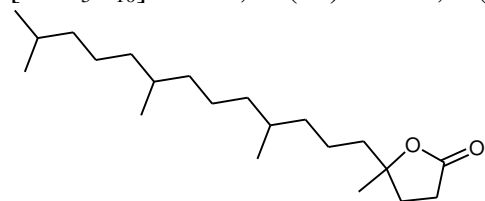
GC/MS m/z : 296,45(5) 278,19(5) 263,18(5) 123,08(60) 95,06(49) 83,09(49) 82,09(70) 81,07(80) 71,05(35) 68,05(63) 57,06(100) 56,08(32) 55,05(99)

**RT 27,31 min M=268,15**

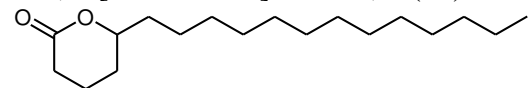
GC/MS m/z : 268,15(5) 253,16(5) 250,17(5) 235,19(5) 225,15(5) 210,15(5) 71,06(36) 58,06(100)

**RT 36,85 min M=324,19**

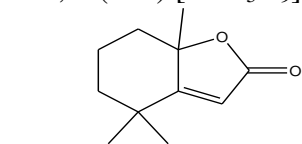
GC/MS m/z : 324,19[M]⁺ 306,18[M-H₂O]⁺ 269,19(5) [M-C₄H₇]⁺ 254,12(5) [M-C₅H₁₀]⁺ 114,03 (15) 99,01(100) 83,08 (21) 56,07(30) 55,04(60)

**RT 33,43 min M=281,81**

GC/MS m/z : 281,81 [M]⁺ 280,81 [M-H]⁺ 267,04 [M-CH₃]⁺ 253,88 [M-CO]⁺ 236,12[M-H₂O-CO]⁺ 114,08(15) 99,03(85) 83,08(36) 70,06(33) 55,04(100)

**RT 21,52 min M=180,04**

GC/MS m/z : 180,04(14) [M]⁺ 152,08(12) [M-CO]⁺ 137,07(44) [M-CH₃CO]⁺ 111,02(100) [M-C₅H₉]⁺ 124,01(11) [M-C₃H₄O]⁺

**RT 26,07 min M= 180,04**

GC/MS m/z : 180,03(100) [M]⁺ 163,00(42) [M-OH]⁺ 134,04(55) [M-H₂O-CO]⁺

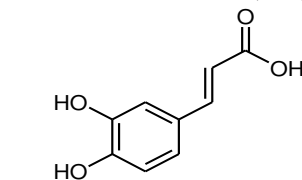




Figure 89: Photographie de la UV / Visible



Figure 90: Photographie de la LC / MS



Figure 91: Photographie de la HPLC



Figure 92: Photographie de la GC / MS



Figure 93: Photographie de la RMN

LISTE DES PUBLICATIONS

Publication

Pr Soro Yaya, **Kassi Amian Brise Benjamin**, Dr Fanté Bamba, Pr Soro Siaka, Pr Toure Seikou Amadou et Pr Jean Marie Coustard ; Flavonoids and gallic acid from leaves of *Santaloïdes afzelii* (Connaraceae) ; *RASAYAN J. Chem.* July-September 2012; 5(3); 332-337.

Communications orales

Kassi Amian Brise Benjamin, Pr Soro Yaya, Pr Soro Siaka et Pr Toure Seikou Amadou; Etude chimique et biochimique de l'amande de *Mangifera indica* (Anacardiaceae) ; journées scientifiques de LAPISEN, tenue du 3 au 4 Juin 2010 à l'INP-HB de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire) sur le thème "*Recherche scientifique et développement durable, quelle contribution des chercheurs de l'INP-HB de Yamoussoukro*".

Kassi Amian Brise Benjamin, Pr Soro Yaya, Pr Soro Siaka, Pr Toure Seikou Amadou et Pr Jean Marie Coustard ; Etude des composés polyphenolique de *Santaloïdes afzelii* (Connaraceae) ; journées scientifiques de la Section Régionale Centre-Ouest de la Société Chimique de France, tenue du 8 au 9 Décembre 2011 à l'Université de Tours (France).

Communication par poster

Kassi Amian Brise Benjamin, Pr Soro Yaya, Pr Soro Siaka, Pr Toure Seikou Amadou et Pr Jean Marie Coustard ; Etude des composés polyphenolique de *Santaloïdes afzelii* (Connaraceae) ; journées scientifiques de la Section Régionale Centre-Ouest de la Société Chimique de France, tenue du 8 au 9 Décembre 2011 à l'Université de Tours (France).

FLAVONOIDS AND GALLIC ACID FROM LEAVES OF SANTALOIDES AFZELII (CONNARACEAE)

SORO Yaya^{1*}, KASSI Amian Brise Benjamin^{1,2}, BAMBA Fanté²,
SIKA Sorho¹, TOURE Seikou Amadou² and COUSTARD Jean-Marie³

¹Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies
Nouvelles, Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny,
BP 991 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Chimie Organique Structurale, Université de Cocody,
22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

³Laboratoire "Synthèse et Réactivité des Substances Naturelles", UMR 6514
40, Avenue du Recteur Pineau, F-86022 Poitiers, France

*E-mail: soro_y@yahoo.fr

ABSTRACT

Fractionation of the ethyl acetate fraction of the ethanolic extract of the dried powdered leaves of *Santaloides afzelii* (Connaraceae) on silica gel column chromatography afforded gallic acid and two flavonoids glycosides identified as quercetin-3-*O*-rhamnoside and myricetin-3-*O*-rhamnoside. Their structures were elucidated by ¹H and ¹³C-NMR data and UV data. It is the first time that these compounds are reported in the plant.

Keywords: *Santaloides afzelii*, Connaraceae, Polyphenol, Flavonoids glycosides, Gallic acid

© 2012 RASAYAN. All rights reserved.

INTRODUCTION

Santaloides Afzelii (R.Br. ex Planch) G. Schellenb belongs to the plant family Connaraceae. It is a scandent to lianous shrub or small tree, widely dispersed in tropical Africa and used in ethnomedicine for the treatment of diverse ailments¹. The Connaraceae family consists of about 20 genera and 350 species of tanniferous tropical trees and shrubs². The leaves in this family are alternate, without stipules and pinnate compounds. The plants of this family possess analgesic and anti-inflammatory activities³. The aqueous leaves extract of *Byrsocarpus coccineus* (Connaraceae) contains flavonoids glycosides and may be a potential remedy for the treatment of certain central nervous system disorders in human⁴⁻⁵.

Polyphenols compounds, including anthocyanins, flavonols, and phenolic acids, are among the most bioactive natural molecules found in the plants because of their antioxidant activities⁶. The risk of prostate cancer and pancreatic cancer may decrease at higher dietary flavonoids intakes⁷⁻⁸. Gallic acid can be regarded as a promising candidate for development as a topical anti-HSV-2 agent and inhibited the growth of lung cancer cells⁹⁻¹⁰.

In tropical countries, particularly in Côte d'Ivoire, *Santaloides Afzelii* is often used in traditional medicine by villagers¹¹. On the other hand macerate of the leaves is used as a wash to stabilize household¹².

In the present paper, we report the isolation and identification of major phenolic compounds from leaves of *Santaloides Afzelii*. To our best knowledge, there are no previous reports on the chemical constituents of *Santaloides Afzelii* (Connaraceae) in the literature.

EXPERIMENTAL

General

Using liquid chromatography with UV photodiodearray detection (LC-UV) and post-column derivatization it is possible to get sure data on polyphenols. Further structural information is provided by the combination of HPLC (LC) with mass spectrometry (MS). The structures were established on the basis of one and two-dimensional NMR spectral experiments and ultraviolet (UV) spectrometry.

A Bruker Avance 400 spectrometer was used for ^1H and ^{13}C - NMR spectra recorded at 400 and 100 MHz, respectively. The spectra were recorded at 23°C using an external reference (TMS) in MeOH-d_4 or DMSO-d_6 in a sealed capillary tube placed inside the NMR cell. Chemical shifts are reported relative to Me_4Si for ^1H and ^{13}C . The reproducibility of ^{13}C NMR shift was about ± 0.05 ppm. Chemical assignments were made using either DEPT 135, or HMBC or HSQC techniques or common chemical shift assignments rules. Flash column chromatography was performed on Macherey-Nagel Silica gel 60 (15-40 μm). TLC plates (Macherey-Nagel, ALUGRAM® SILG/UV₂₅₄, 0.2mm silica gel 60Å) were visualized under UV light at 254nm and/or by dipping the TLC plates in a solution of phosphomolibdic acid (3g) in EtOH (100mL) followed by heating with a heat gun. ESI-MS was recorded on a Shimadzu GC MS-QP 2010 with electron-impact ionization (70 eV). HRMS in the positive ion mode was performed using a Q-TOF Ultima Global hybrid quadrupole time-of-flight instrument (Waters-Micromass).

High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Analysis

Analytic HPLC was performed using a RP-18 (5 μm) Lichro CART® 150-4,6mm at 25°C. The binary elution system was composed with acetonitrile (solvent A) and 0.2% TFA/water (solvent B). Separations were performed at room temperature by solvent gradient elution: 10-20% B during 40 min, 20-30% B during 5 min, 30-40% B during 5 min, 40-45% B during 5 min and then return to the initial conditions (10% B) in 5 min to re-equilibrate the column. The flow rate for both analysis and washing cycles was 0.8 mL/min. The concentration of each sample was 0.1 mg/mL in methanol and detection wavelengths were 254, 280, 325 and 530 nm.

Plant material

The leaves of *Santaloides Afzelii* were collected in November 2009 at the beginning of the dry season from Korhogo in north of Côte d'Ivoire. A voucher sample was identified by Prof. Aké-Assi Laurent, Faculty of Science and Technology, Cocody-Abidjan University where a specimen was deposited. The collected plant materials were washed under running and shed dried.

Phytochemical screening

Phytochemical screening was performed to establish the type of secondary metabolites present in the plant. Air-dried leaves of *Santaloides Afzelii* were tested for the presence of flavonoids, anthraquinones, alkaloids, terpenoids and steroids, tannins and saponins using Harborne method¹³. It shows the presence of flavonoids, triterpenes, steroids, tannins and alkaloids.

Extraction procedure

The air-dried powdered sample (450 g) was exhaustively extracted with hexane at room temperature by constant stirring. The residue was extracted with 70% EtOH (3 x 500mL) at room temperature by constant stirring during 24 hours. After filtration on cotton then watmann paper, the extract was concentrated under reduced pressure at 40°C to afford a brown residue. The residue (20g) was suspended in water and partitioned successively with CH_2Cl_2 (3x 200mL) and AcOEt (3x 200mL). The obtained extracts were separately dehydrated with anhydrous sodium sulfate and evaporated under vacuum after filtration to give dichloromethane extract (1.82g) and ethyl acetate extract (5.10g).

Isolation and purification

The ethyl acetate fraction (5g) of *Santaloides Afzelii* leaves was subjected to column chromatography on silica gel 60 with solvents gradients CH_2Cl_2 -AcOEt and AcOEt-MeOH to give 12 fractions (F_1 - F_{12}). Fractions F_5 and F_8 were purified by flash column chromatography on silica gel 60, eluting with CH_2Cl_2 -MeOH (10-1) to afford compound **1** (342mg) and compound **2** (219mg) respectively. The different fractions were checked by TLC and HPLC. Another aliquot of each compound was dissolved in CD_3OD or DMSO and analyzed by NMR for chemical structure determination.

Compound 1: Quercetin-3-*O*-rhamnoside ; Yellow powder; HPLC R_t 48.63 min ; UV vis $\lambda_{\max}$ 256.348 nm (methanol) ; HREI-MS (m/z) 448.0905; $C_{21}H_{20}O_{11}$ (calcd 448.0903). 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 12.00 (1H, s, OH-5); 7.34 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-2'); 7.32 (1H, dd, $J = 8.3$ Hz/2Hz, H-6'); 6.93 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5'); 6.22 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-6); 6.39 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-8); 5.25 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-1''); 4.24 (1H, dd, $J = 3.3$ Hz/1.2Hz, H-2''); 3.78 (1H, dd, $J = 9.3$ Hz/3.3Hz, H-3''); 3.40 (1H, m, H-4''); 3.17 (1H, m, H-5''); 0.82 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, H-6''). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): 179.7 (C-4); 166.0 (C-7); 163.2 (C-5); 159.3 (C-2), 158.6 (C-9); 149.8 (C-4'); 146.4 (C-3'); 136.3 (C-3); 123.0 (C-6'); 122.9 (C-1'); 116.9 (C-2''); 116.4 (C-5''); 105.9 (C-10); 103.6 (C-1''); 99.8 (C-6); 94.7 (C-8). 73.3 (C-5''); 72.1 (C-3'' and C-4''); 71.9 (C-2''); 17.7 (C-6'').

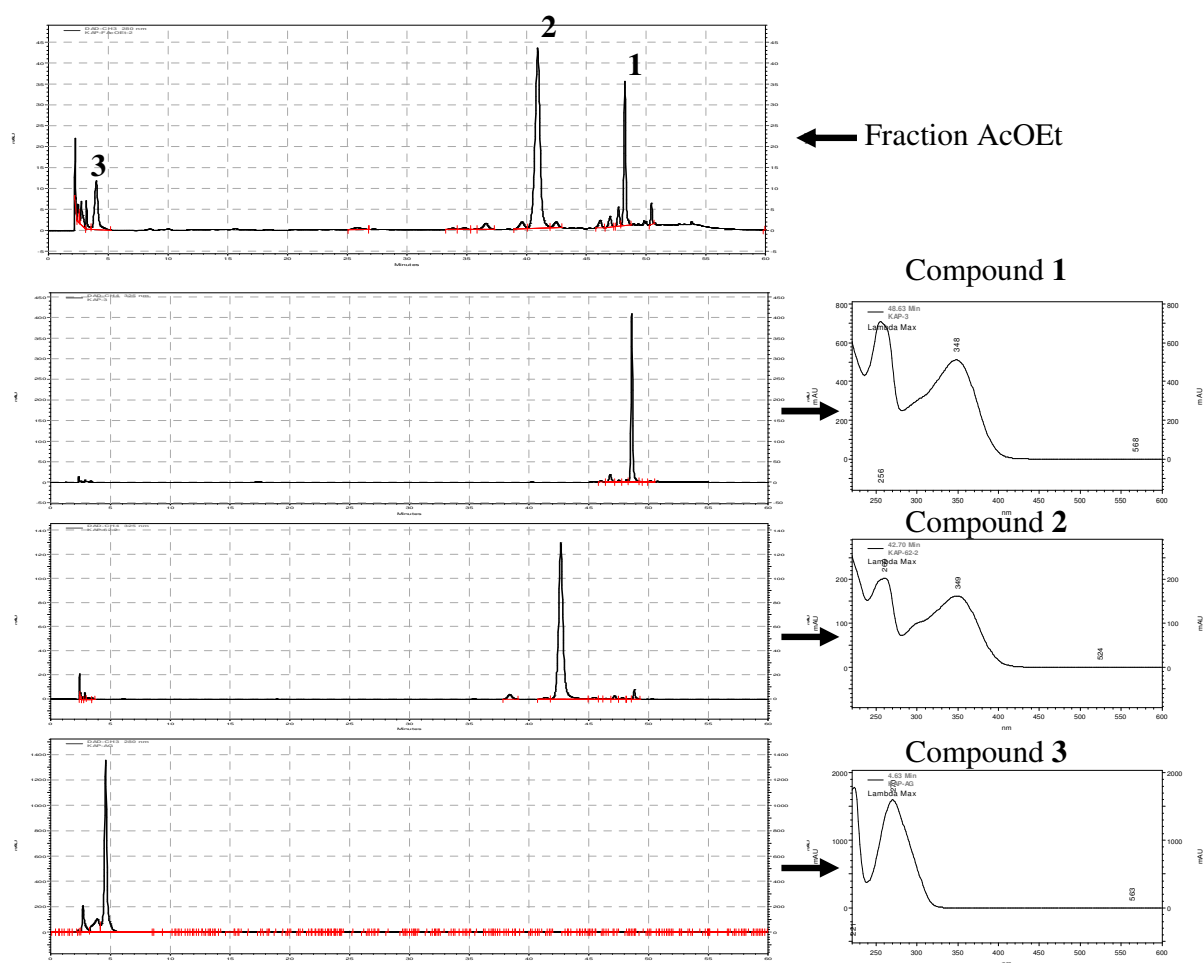


Fig.-1: HPLC and UV analysis of sample. HPLC column: Lichro CART® RP-18 (5 μ m)150x4.6mm; gradient elution: acetonitrile (solvent A) and 0.2% TFA/water (solvent B), detection wavelength: 280 nm. Flow-rate: 0.8mL/min. The ethyl acetate fraction of *Santaloides Afzelii* leaves was purified by flash chromatography on silica to afford 1 and 2 as crystalline compounds.

Compound 2: Myricetin-3-*O*-rhamnoside; Yellow powder; HPLC R_t 42.70 min ; UV vis $\lambda_{\max}$ 260.349 nm (methanol) ; The HREI-MS (m/z) 464.0851, $C_{21}H_{20}O_{12}$ (calcd 464.0853). 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 12.68 (1H, s, OH-5); 6.38 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-6); 6.20 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-8); 6.90 (2H, d, $J = 2$ Hz, H-2'/H-6'); 5.20 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-1''); 3.89 (1H, dd, $J = 3.2$ Hz/1.8Hz, H-2''); 3.55 (1H, dd, $J = 10.6$ Hz/3.2Hz, H-3''); 3.17 (1H, m, H-4''); 3.34 (1H, m, H-5''); 0.84 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, H-6''). ^{13}C NMR

(100 MHz, DMSO-d₆): 177.7 (C-4); 164.0 (C-7); 161.2 (C-5); 157.4 (C-9); 156.4 (C-2); 145.7 (C-5' and C-3'); 136.4 (C-4'); 134.2 (C-3); 119.5 (C-1'); 107.8 (C-2'); 107.8 (C-6'); 103.9 (C-10); 101.9 (C-1''); 98.7 (C-8); 93.5 (CH-6); 71.7 (C-4''); 70.9 (C-5''); 70.7 (C-3''); 70.4 (C-2''); 17.9 (C-6'').

Compound 3: Gallic acid; HPLC R_t 4.52 min; UV vis λ_{max} 270 nm (methanol); The ESI-MS *m/z* 169 [M - H].

RESULTS AND DISCUSSION

The HPLC analysis (Figure 1) of the ethyl acetate fraction of the ethanolic extract of the dried powdered leaves of *Santaloides afzelii* indicated the presence of three (3) majors compounds **1**, **2** and **3**. A preliminary study of the UV spectra (Figure 1) of compounds **1**, **2** and **3** showed absorbance bands at 256/260, 348/349 271 nm respectively, characteristics of phenolic compounds¹⁴.

Compound 1

The HREI-MS spectrum of compound **1** revealed a molecular ion peaks M⁺ at *m/z* 448.0905 corresponding to the molecular formula C₂₁H₂₀O₁₁ (calcd 448.09033).

The ¹H-NMR spectrum of compound **1** showed an ABX spin coupling system at δ_{ppm} 7.34 (d, J = 2Hz), 7.32 (dd, J = 8.3Hz/2Hz) and 6.93 (d, J = 8Hz) assigned to H-2', H-6' and H-5'. It also showed an AB spin coupling system of two protons at δ_{ppm} 6.39 (d, J = 2Hz) and 6.22 (d, J = 2Hz) assigned to H-8 and H-6'¹⁴. The signal at δ 12.00 showed the presence of the proton of OH group only on carbon C-5. The signal of the anomeric proton of rhamnose at δ_{ppm} 5.25 showed a doublet with coupling constant J = 1.2 Hz, indicating α configuration. The ¹³C NMR spectrum of compound **1** showed 21 resonances. The DEPT NMR experiment revealed 10 quaternary carbons and 11 primary or tertiary carbons. It showed six carbon signals of a sugar moiety at δ_{ppm} 103.56, 71.92, 72.12, 72.05, 73.27 and 17.67 assigned to C-1'', C-2'', C-3'', C-4'', C-5'' and C-6'' respectively. The position of rhamnose was also confirmed in HMBC spectrum by observation of a peak between δ_H 5.25 (H-1'') and δ_C 136.25 (C-3).

Compound 2

The HREI-MS spectrum of compound **2** revealed a molecular ion peaks M⁺ at *m/z* 464.0851 corresponding to the molecular formula C₂₁H₂₀O₁₂ (calcd 464.08525).

The ¹H-NMR spectrum of compound **2** showed a system of two proton at δ_{ppm} 6.90 (d, J = 2Hz) corresponding to H-2' and H-6'. It also showed an AB spin coupling system of two protons at δ_{ppm} 6.38 (d, J = 2Hz) and 6.20 (d, J = 2Hz) attributed to H-8 and H-6. The signal at δ 12.68 showed the presence of the proton of OH group only on carbon C-5. The signal of the anomeric proton of rhamnose at δ_{ppm} 5.20 showed a doublet with coupling constant J = 1.8Hz, indicating α configuration. The ¹³C NMR spectrum of compounds **2** showed 21 resonances. The DEPT NMR experiment revealed 11 quaternary carbons and 10 primary or tertiary carbons. It also showed six carbon signals of a sugar moiety which appeared at δ_{ppm} 101.86, 70.42, 70.73, 71.72, 70.91 and 17.88 assigned to C-1'', C-2'', C-3'', C-4'', C-5'' and C-6'' respectively. The position of rhamnose was also confirmed in HMBC spectrum by observation of a peak between δ_H 5.20 (H-1'') and δ_C 134.20 (C-3).

The flavones and flavonols present two major absorption bands in the UV analysis in the ranges of 320-385 nm (Band I) and 250-285 nm (Band II)¹⁵. The substitution of the proton of hydroxyl (in position 3) of a flavonol leads to a hypsochrom effect on band I which shifted to 345 and 365 nm¹⁶. The UV spectra of compounds **1** and **2** showed low absorption bands which confirmed the position of rhamnose.

The comparison of the UV, H-NMR and EI-MS spectra data with reported values leads to the identification of compound **1** and **2** as quercetin 3-O-α-rhamnoside and myricetin 3-O-α-rhamnoside respectively¹⁷⁻²⁰.

Compound 3

The HPLC-MS-ESI analytical technique showed UV vis λ_{max} absorbance band at 270 nm (methanol) (Figure 1) and ESI-MS (negative mode) *m/z* 169 [M - H]. Compound **3** was identified as gallic acid by comparing its retention time, ESI-MS and UV data with standard or reported literature values²¹⁻²².

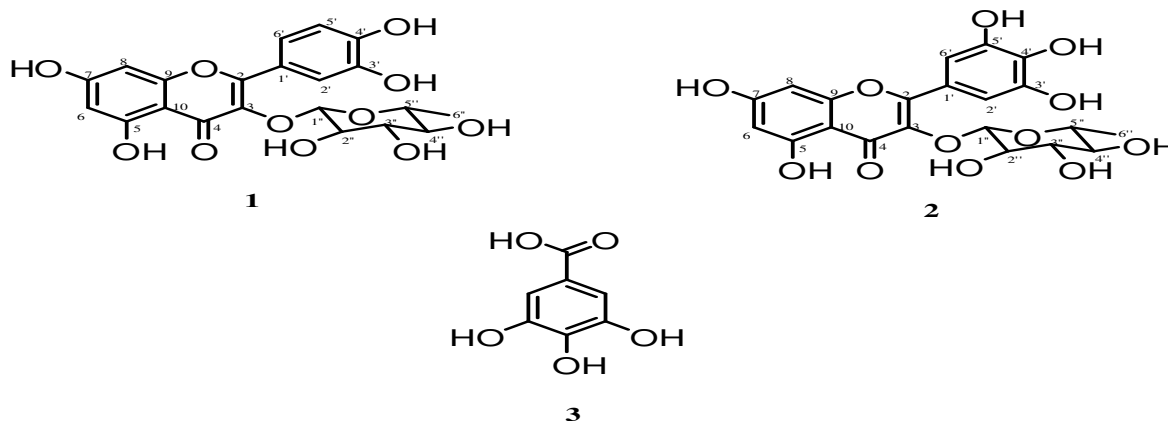


Fig.-2: Structure of compounds 1, 2 and 3 isolated from *Santaloides Afzelii* leaves

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are very grateful to the "Laboratoire "Synthèse et Réactivité des Substances Naturelles", UMR 6514" of the University of Poitiers (France), the "Programme d'Appui Stratégique à la Recherche Scientifique (PASRES)" for material supports and to the Embassy of Côte d'Ivoire in France for financial support.

REFERENCES

1. M. Arbonnier, *Trees, Shrubs and Lianas of West African Dry Zones*, CIRAD, 279 (2009).
2. C. Wiart, *Medicinal Plants of Asia and the Pacific*, CRC Press, Taylor and Francis Group, 240-246 (2006).
3. I.O. Ishola, A.J. Akindele and O.O. Adeyemi, *Journal of Ethnopharmacology*, **135**, 55 (2011).
4. A.A. Ahmadu, H.S. Hassan, M.U. Abubakar and I.N. Akpulu, *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, **4** (3), 257 (2007).
5. A.J. Akindele and O.O. Adeyemi, *International Journal of Applied Research in Natural Products*, **3** (1), 28 (2010).
6. F. A. ADJE, Y. F. Lozano, P. Lozano, A. A. Adima and F. Chemat, *Industrial Crops and Products*, **32**, 439 (2010).
7. P. Knekt, J. Kumpulainen, R. Järvinen, H. Rissanen, M. Heliövaara, A. Reunanen, T. Hakulinen and A. Aromaa, *Am. J. Clin. Nutr.*, **76** (3), 560 (2002).
8. U. Nöthlings, S.P. Murphy, L.R. Wilkens, B.E. Henderson and L.N. Kolonel, *Am. J. Epidemiol.*, **166** (8), 924 (2007).
9. J.M. Kratz, C.R. Andrighetti-Fröhner, P.C. Leal, R.J. Nunes, R.A. Yunes, E. Trybala, T. Bergström, C.R. Barardi and C.M. Simões, *Biol Pharm Bull*, **31** (5), 903 (2008).
10. B. R. You and H. P. Woo, *Toxicology in Vitro*, **24**, 1356 (2010).
11. G.-A. Ambé, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **5** (1), 43 (2001).
12. E. J. Adjanohoun, L. Aké Assi, *Jstor plant science*, **4**, 240 (1972).
13. J.B. Harborne, *Phytochemical Methods: a guide to modern techniques of plant analysis*, 3rd Edition, Chapman and Hall, London, 60-66 (1998).
14. C. A. Rice-Evans, N. J. Miller and G. Paganga, *Free Radical Biology & Medicine*, **20** (7), 933 (1996).
15. M. S. Marzouk, F. A. Moharram, R. A. EL Dib, S. M. El-Shenawy and A. F. Tawfike, *Molecules*, **14**, 1456 (2009).
16. G. Giuseppe, B. Davide, G. Claudia, L. Ugo and C. Corrado, *Molecules*, **12**, 1641 (2007).
17. D. Qizhen, C. Ping, J. Gerold and W. Peter, *Journal of Chromatography A*, **1040**, 147 (2004).
18. X.-N. Zhong, H. Otshuka and T. Ide, *Phytochemistry*, **46** (5), 943 (1997).
19. S.de J. Correia, J. M. David, E. P. Da Silva, J. P. David and L.M. X. Lopes, *Quim Nova*, **31** (8), 2056 (2008).

20. El K. Adil, C. Zoubida, O. Hicham, F. Mohamed, L. Driss, M. Yoko and M. Kazumoto, *Actes Inst. Agron. Vet.*, **21** (3), 157 (2001).
21. A. Mahajan and N. Pai, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **2** (5), 97 (2010).
22. Y.-Y. Soong and P. J. Barlow, *Food Chemistry*, **97**, 524 (2006).

[RJC-965/2012]

International Journal of
Chemical, Environmental and Pharmaceutical Research

www.ijcepr.com

ISSN: 2229-3892(Print); ISSN: 2229-5283(Online)

[Abstracted in : Chemical Abstracts Service , American Chemical Society, USA and CAB(I) , UK]

ijCEPr widely covers all fields of **Chemical, Environmental and Pharmaceutical Research.**

Manuscript Categories: Full-length paper, Review Articles, Short/Rapid Communications.

Manuscripts should be addressed to:

E-mail: ijcepr@gmail.com

Water: Research & Development
[Water R&D]

www.waterrnd.com

ISSN: 2249-2003

[Abstracted in : Chemical Abstracts Service, USA and CAB(I) , UK]

WaterR&D is an international Research Journal, dedicated to 'Water'. It is a truly interdisciplinary journal on water science and technology. It'll showcase the latest research related to Water in the field of chemistry, physics, biology, agricultural, food, pharmaceutical science, and environmental, oceanographic, and atmospheric science. It includes publication of reviews, regular research papers, case studies, communications and short notes.

Manuscript Categories: Full-length paper, Review Articles, Short/Rapid Communications.

Manuscripts should be addressed to:

E-mail: waterrd@gmail.com

Adopt GREEN CHEMISTRY

Save Our Planet.

We publish papers of Green Chemistry on priority.

Manuscripts should be addressed to:

Prof. (Dr.) Sanjay K. Sharma, Editor-in-Chief

23, 'Anukampa', Janakpuri, Opp. Heerapura Power Station,
Ajmer Road, Jaipur-302024 (India)

E-mail: rasayanjournal@gmail.com

Phone: 0141-2810628(O), 09414202678(M)

If you think that you may be a potential reviewer in field of your interest, write us at **rasayanjournal@gmail.com** with your detailed resume and recent color photograph.

Etude des composés polyphénoliques de *Santaloïdes afzelii* (*Connaraceae*)

^{a,b,c}**KASSI Amian Brise Benjamin***, ^a**Soro Yaya**, ^a**Soro Siaka**, ^b**Toure Seikou A.**,
^c**Jean-Marie COUSTARD**

^a Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Laboratoire de Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN) - Unité Chimie de l'Eau et des Substances Naturelles, BP 1313 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

^b Université d'Abidjan-Cocody, Laboratoire de Chimie Organique Structurale, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

^c Université de Poitiers, Laboratoire Synthèse et Réactivités des Substances Naturelles, CNRS-UMR 6514, 40 Avenue du Recteur Pineau, Poitiers, France.

Les polyphénols (anthocyanes, flavonols, flavanols, acides phénoliques,...) constituent une famille importante de métabolites secondaires du règne végétal. Au cours des vingt dernières années, l'intervention des composés phénoliques dans la physiologie des plantes, mais également dans de nombreuses interactions plantes-environnement, a été démontrée. Les propriétés biologiques et physico-chimiques de ces composés ont déjà été largement étudiées : antioxydant ^[1], anticancéreux ^[2], anti-inflammatoire et antibactérienne ^[3].

Le *Santaloïdes afzelii* (*Connaraceae*) est utilisée en médecine traditionnelle en Côte d'Ivoire. Ce travail est la toute première étude phytochimique réalisée sur cette plante.

L'utilisation de techniques chromatographiques (CCM, HPLC, CC) et spectrales (RMN, SM, UV) a conduit à l'isolement et à l'identification de composés polyphénoliques ^[4,5,6] dont le détail sera présenté au cours de l'exposé.

Références

1. Félix Anoh ADJE, Yves F. Lozano, Paul Lozano, Augustin Adima, Farid Chemat «Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from *Delonix regia* tree flowers using ultrasound-assisted water extraction», *Industrial Crops and Products*, **2010**, 32 (3) , 439–444.
2. Nöthlings U, Murphy SP, Wilkens LR, Henderson BE, Kolonel LN, « Flavonols and pancreatic cancer risk: the multiethnic cohort study », *Am. J. Epidemiol.*, **2007**, 166 (8), 924–931
3. En-Qin Xia, Gui-Fang Deng, Ya-Jun Guo, Hua-Bin Li, « Biological Activities of Polyphenols from Grapes », *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, 11 (2), 622-646.
4. Anchana Chanwitheesuk, Aphiwat Teerawutgulrag, Jeremy D. Kilburn, Nuansri Rakariyatham «Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. » *Food Chemistry*, **2007**, 100 (3), 1044–1048
5. Xi-Ning Zhong, Hideaki Otshuka, Toshinori Ide, «Three flavonol glycosides from leaves of *Myrsine seguinii*», *Phytochemistry*, **1997**, 46 (5), 943-946.
6. Qianqian Xie, Yun Wei, «Separation of flavonol glycosides from *Flaveria bidentis*(L.) Kuntze by high-speed counter-current chromatography», *Separation and Purification Technology*, **2010**, 72 (2), 229-233.

Etude chimique et biochimique de l'amande de *Mangifera indica* (Anacardiaceae)

^{a,b}Kassi Amian Brise Benjamin, ^a Soro Yaya, ^bToure Seikou Amadou

^aLaboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse et de l'Environnement(LAPISEN), Institut National Polytechnique Felix Houphouët Boigny (INP-HB) B.P.1313 Yamoussoukro (Côte d'Ivoire),

^bLaboratoire de Chimie Organique Structurale, UFR-SSMT, Université de Cocody 22B.P. 582 Abidjan 22 (Côte d'Ivoire)

Résumé: Le projet vise à l'exploitation de nouvelles pistes de valorisation de l'amande du fruit de *Mangifera indica*. Afin de mettre en évidence les particularités de cette matière première, l'objectif de ce travail a consisté en la caractérisation approfondie de sa composition chimique et biochimique. La caractérisation biochimique se consacrera à l'étude des lipides, protéines, glucides, le profil vitaminique et minéral. Nos résultats montrent des teneurs en cendres entre 1,78-2,33%, en protéines entre 0,47-1,11%, en eau entre 7,1-8,3%. La teneur en vitamine C entre 3,32-16,62 mg/100g de matières sèches, les sucres réducteurs entre 7,12-13,82 mg/100g de matières sèches, sucres totaux entre 10,46-14,01 mg/100g de matières sèches, et en matières grasses (7,04-10,61%). La caractéristique physicochimique des matières grasses révèle que I_A est compris entre 2,50-27,06 mg de KOH/g, I_S entre 164,17-199,21 mg de KOH/g, I_I entre 36,38-54,46 g d'iode pour 100 g de matières grasses et I_R entre 1,458-1,480. La teneur en eau et matières volatiles entre 1,08-12,30%. Le pourcentage de l'insaponifiable est compris entre 0,94-2,83% et les acides gras majeurs sont l'acide palmitique (6,77-12,80%), l'acide stéarique (36,36-45,76%), l'acide oléique (43,20-52,42%) et l'acide éicosanoïque (0,85-1,65%). Le screening phytochimique a montré la présence de tanins, alcaloïdes, stéroïdes, leucoanthocyanes, triterpénoïdes et anthraquinones.

Mots clés : amande, matières grasses, acide gras, *Mangifera indica*.

Bibliographie

1. Harbone J. B, (1998); Phytochemical methods, A guide to modern technic of plant analysis, page 1-36.
2. Siaka S, Soro Y., Adiman A.A., Lemee L. (2006); wild tropical forest soil characteristics and composition of directly extractable soil lipid fraction.
3. Siaka S, Soro Y., Adiman A.A., Lemee L. (2006); Fatty acids and unsaponifiable composition of Cucumis amaris seeds oil.
4. Belkacem D. (2003); Extraction et caractérisation biochimique de l'huile d'argan, mémoire de fin de cycle ingénieur d' Etat en sciences agronomiques.
5. AFNOR (1999); Corps gras d'origine animale et végétale. Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité : corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés. Tome 1 : Corps gras et produits dérivés. AFNOR, Paris, pages 313-325.

Etude des composés polyphénoliques de *Santaloides Afzelii* (Connaraceae)



^{a,b,c} Amian Brise Benjamin KASSI *, ^a Yaya SORO, ^a Siaka SORO, ^b Seikou Amadou TOURE et ^c Jean-Marie COUSTARD

^a Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Laboratoire de Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Unité Chimie de l'Eau et des Substances Naturelles, BP 1313 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

^b Université d'Abidjan-Cocody, UFR Sciences des Structures de la Matière et de Technologie, Laboratoire Chimie Organique Structurale, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

^c Université de Poitiers, Laboratoire Synthèse et Réactivités des Substances Naturelles, CNRS-UMR 6514, 40 Avenue du Recteur Pineau, Poitiers, France.

Introduction

Les polyphénols (anthocyanes, flavonols, flavanols, acides phénoliques, ...) constituent une famille importante de métabolites secondaires du règne végétal. Au cours des vingt dernières années, l'intervention des composés phénoliques dans la physiologie des plantes, mais également dans de nombreuses interactions plantes-environnement, a été démontrée et acceptée. Les propriétés biologiques et physico-chimiques de ces composés ont déjà été largement étudiées : antioxydante [1], anticancéreuse [2], anti-inflammatoire et antibactérienne [3].

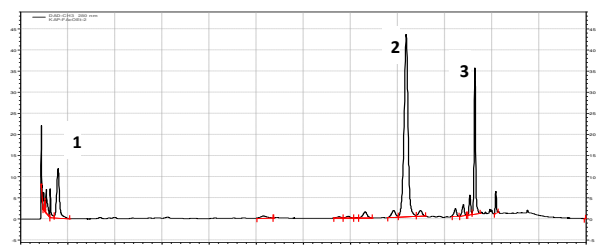
La présente étude porte sur l'isolement et l'identification, par des techniques chromatographiques (CCM, HPLC, CC) et spectrales (RMN, SM, UV), des composés phénoliques dans les feuilles de *Santaloides Afzelii* (Connaraceae), une plante médicinale de la Côte d'Ivoire. C'est la première étude phytochimique présentée sur cette plante.

Matériel végétal

Santaloides Afzelii (R.Br. Planch ex) G. Schellenb (Connaraceae) est un arbuste largement dispersé en Afrique tropicale [4]. Les feuilles de *Santaloides Afzelii* (Connaraceae) sont récoltées à Korhogo (Région de savane) dans le nord de la Côte d'Ivoire, en Novembre 2009, début de la saison sèche. La plante a été identifiée par le Professeur Aké Assi du centre national floristique de l'Université Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire).

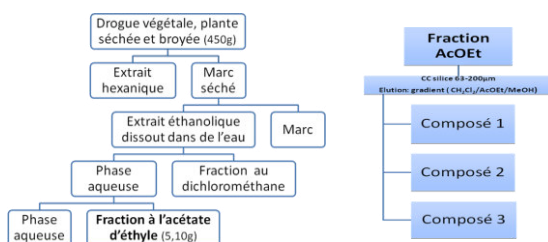


Résultats et Discussion



Le spectre HPLC de la fraction AcOEt montre 3 composés majoritaires (1, 2 et 3). Après fractionnement, l'analyse des spectres UV-vis, RMN et SM a permis l'identification de trois composés.

Extractions et Séparations



Composés	spectres UV-vis	Structures	[M - H] ⁻
1 Acide gallique ^[5]			169,00
2 myricétine -3-O-rhamnoside ^[6]			463,20
2 quercétine-3-O-rhamnoside ^[7]			447,23

Conditions Chromatographiques HPLC

Colonne : Lichro CART® RP-18 (5µm) 150 x 4,6mm
Débit : 0,8 mL/min
Concentration : 0,1 mg/mL
Détection : 254, 280, 325 et 530 nm
Eluent : Acétonitrile (solvant A) ; 0,2% TFA/Eau (solvant B)
10-20% B 40 min
20-30% B 5min
30-40% B 5min
40-45% B 5min
Initialisation (10% B) 5min

Conclusion

Dans le but d'identifier les composés phénoliques des feuilles de *Santaloides Afzelii*, nous avons entrepris la purification de la fraction à l'Acétate d'éthyle (présentant une forte activité antioxydante et antimicrobienne) de l'extrait hydro-alcoolique par chromatographie sur gel de silice.

Deux flavonoïdes (quercétine-3-O-rhamnoside et myricétine-3-O-rhamnoside) et un acide phénolique (acide gallique) ont été isolés et identifiés.

Références

- [1] Félix Anoh ADJE, Yves F. Lozano, Paul Lozano, Augustin Adima, Farid Chemat «Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from Delonix regia tree flowers using ultrasound-assisted water extractions», *Industrial Crops and Products*, 2010, 32 (3), p439-444
- [2] Nöthlings U, Murphy SP, Wilkens LR, Henderson BE, Kolonel LN, «Flavonols and pancreatic cancer risk: the multiethnic cohort study», *Am. J. Epidemiol.*, octobre 2007, 166 (8), p24-31
- [3] En-Qin Xia, Gui-Fang Deng, Yi-Jun Guo, Hua-Bin Li, «Biological Activities of Polyphenols from Grapes», *Int. J. Mol. Sci.* 2010, 11 (2), p622-646
- [4] Michel Arbonnier, «Trees, shrubs and lianas of west African dry zones», 2009, ISBN-Quae-978-2-7592-0313-0, p279.
- [5] Anchara Chamviheesuk, Aphinut Teerawattulrag, Jeremy D. Kilburn, Nuansri Rakariyatham «Antimicrobial gallic acid from Caesalpinia minosoides Lamk.», *Food Chemistry*, 2007, 100 (3), p1044-1048
- [6] Xi-Ning Zhong, Hidenori Oshaka, Toshinori Ide, «Three flavonol glycosides from leaves of Myrsine seguinii», *phytochemistry*, 1997, 46 (5), p943-946.
- [7] Qianqian Xie, Yan Wei, «Separation of flavonol glycosides from flaveria bidentis(L.) Kuntze by high-speed counter-current chromatography», *Separation and purification Technology*, 2010, 72 (2), p229-233.

Remerciements

Les auteurs souhaitent remercier le Laboratoire SRSN de l'Université de Poitiers pour son soutien matériel et financier, l'Ambassade de Côte d'Ivoire en France pour la bourse doctorale et le Programme d'Appui Stratégique à la Recherche Scientifique (PASRES) pour son soutien matériel.

Résumé : Ce travail porte sur l'étude phytochimique des extraits d'amande de *Mangifera indica* (Anacardiaceae) et des feuilles, écorces et graines de *Santaloides afzelii* (Connaraceae).

Au cours de nos travaux, nous avons isolé et purifié les constituants des différents extraits des plantes étudiées par des techniques CC, CCM, HPLC et de recristallisation. Leurs analyses spectrales reposent principalement sur les données de la RMN, la MS-ESI, la HRMS. D'autres méthodes telles que la GC /SM ont été utilisées.

L'étude des amandes de noyaux de dix variétés de mangues (*Mangifera indica*) a permis de mettre en évidence la présence d'environ 10% de matière grasse dont les caractéristiques physico-chimiques montrent quelques similitudes avec les beurres de Karité, de Makoré et de Cacao ainsi que les huiles de Coton et de Palme. L'étude de la composition lipidique de cette matière grasse a montré une présence significative d'acides gras (oléique, stéarique, palmitique et arachidique) et d'insaponifiables (Ergostérol, Sitostérol, Stigmastérol, Campesterol et 3-hydroxy-pregn-5-en-20-one). Trois (3) composés (le gallate de méthyle **1**, l'acide gallique **2** et le Penta-*O*-galloyle-glucoside **3**) ont été isolés et identifiés de l'extrait à l'AcOEt de l'amande de *Mangifera indica*

Six (6) composés : L'acide gallique **2**, Quercétine-3-*O*- α -rhamnoside **4**, Miricétine-3-*O*- α -rhamnoside **5**, épi-catéchine **6**, deux dimères procyanidines **7_{B1}** et **7_{B2}**, ont été isolés et identifiés des extraits à l'AcOEt des feuilles, graines et écorces de *Santaloides afzelii*. Le sucrose **8** a été isolé et identifié de l'extrait à l'EtOH des feuilles de *Santaloides afzelii*. Des dérivés d'acides gras (myristique, palmitique, stéarique, oléique et arachidique), des dérivés d'acide phénolique, des dérivés pyranone, furanone et benzofuranone, le phytol, des dérivés d'hexahydro farnesyl, le β -sitostérol **9** et l'acide ferulique **10** ont été identifiés des extraits au CH₂Cl₂ des graines, écorces et feuilles de *Santaloides afzelii*.

Les tests biologiques des extraits totaux et de trois (3) composés isolés (**1**, **3** et **4**) ont révélés une bonne activité antibactérienne et antioxydante.

Mots clés : Phytochimie, *Mangifera indica*, *Santaloides afzelii*, Anacardiaceae, Connaraceae, Flavonoïdes, Polyphénol, Acides gras.

Abstract: This work relates the phytochemical study of the seeds kernel of *Mangifera indica* (Anacardiaceae) and the leaves, barks and seeds of *Santaloides afzelii* (Connaraceae).

During our work, we isolated and purified the compounds of the various extracts of the plants studied by CC, CCM, HPLC and recrystallization techniques. Their spectral analyses depend on NMR, MS-ESI, and HRMS data. Others methods such as the GC/SM were used.

The study of ten varieties of the seeds kernel of mangos has shown the presence of fat of 10% approximately, whose physicochemical characteristics showed some similarities with butters of Shea, Makoré and Cocoa like this Palm and cotton seed oils. The studies of lipidic composition show a significant presence of fatty acids (oleic, stearic, palmitic and arachidic) and of insaponifiables (Ergosterol, Sitosterol, Stigmasterol, Campesterol and 3-hydroxy-pregn-5-in-20-one). Three compounds were isolated and identified of AcOEt extract of seeds of *Mangifera indica* the methyl gallate **1**, the gallic acid **2** and Penta-*O*-galloyle-glucoside **3**.

Six compounds: The gallic acid **2**, Quercetin-3-*O*- α -rhamnoside **4**, Miricetin-3-*O*- α -rhamnoside **5**, epi-catechine **6** and two dimers procyanidines **7_{B1}** and **7_{B2}** were isolated and identified of AcOEt extracts of the leaves, seeds and barks of *Santaloides afzelii*. The sucrose **8** was isolated and identified of EtOH extract of the leaves of de *Santaloides afzelii*. Fatty acids derivatives (myristic, palmitic, stearic, oleic and arachidic), phenolic acid derivatives, pyranone, furanone and benzofuranone derivatives, the phytol, hexahydro farnesyl derivatives, the β -sitosterol **9** and the acid ferulic **10** were identified of CH₂Cl₂ extracts of seeds, barks and leaves of *Santaloides afzelii*

The biological tests of the total extracts and three (3) compounds (**1**, **3** and **4**) showed a good anti-bacterial and antioxydant activity.

Key words: Phytochemistry, *Mangifera indica* *Santaloides afzelii* Anacardiaceae, Connaraceae, Flavonoids, Polyphenol, fatty Acid