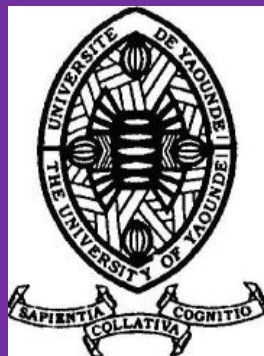


REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

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



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POST GRADUATE SCHOOL FOR
SCIENCE, TECHNOLOGY AND
GEOSCIENCE

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
CHIMIE ET APPLICATION

DEPARTEMENT DE CHIMIE
ORGANIQUE

DOCTORATE RESEARCH AND
TRAINING UNIT FOR CHEMISTRY
AND APPLICATION

DEPARTEMENT OF ORGANIC
CHEMISTRY

ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION DES ACTIVITES ANTIBACTERIENNES DES FEUILLES DE *Garcinia epunctata* Stapf (Clusiaceae)

THESE

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

par

EMADE KWENE Carine

Matricule: 04X065

Master en Chimie Organique

Co direction de

TIH EWOLA Anastasie
Maitre de Conférences

et

GHOGOMU TIH Raphaël
Professeur

Année académique 2022-2023



REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

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

UNITE DE RECHERCHE ET
DE FORMATION
DOCTORALE EN CHIMIE ET
APPLICATION



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF
YAOUNDE I

POST GRADUATE SCHOOL
FOR SCIENCE,
TECHNOLOGY AND
GEOSCIENCE

DOCTORATE RESEARCH AND
TRAINING UNIT FOR
CHEMISTRY AND
APPLICATION

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION DES
ACTIVITES ANTIBACTERIENNES DES FEUILLES DE
Garcinia epunctata Stapf (Clusiaceae)**

THESE

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

Par

EMADE KWENE Carine

Matricule : 04X065

Master en Chimie Organique

Co direction de

TIH EWOLA Anastasie
Maitre de Conférences

et

GHOGOMU TIH Raphaël
Professeur

Année académique 2022-2023

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix-Travail-Patrie
UNIVERSITE DE YAOUNDE I
B.P. 337 Yaoundé, Tel/Fax : (237) 22 22 13 20
FACULTE DES SCIENCES
B.P. 812 Yaoundé
Département de Chimie Organique
Tel/Fax: (237) 22 23 53 86



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace-Work-Fatherland
UNIVERSITY OF YAOUNDE I
P.O BOX. 337 Yaoundé, Tel/Fax : (237) 22 22 13 20
FACULTY OF SCIENCE
P.O. Box 812 Yaounde
Department of Organic Chemistry
Tel/Fax: (237) 22 23 53 86

**ATTESTATION DE CORRECTION DU MEMOIRE DE THESE DE
DOCTORAT/Ph.D DE Mme EMADE KWENE Carine (Matricule 04X065).**

**TITRE DE LA THESE: ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION DES
ACTIVITES ANTIBACTERIENNES DES FEUILLES DE
Garcinia epunctata Stapf (Clusiaceae)**

Nous soussignés, enseignants ci-dessous nommés, membre du jury de soutenance de thèse de Doctorat/Ph.D de Mme **EMADE KWENE Carine**, matricule **04X065** attestons que cette candidate a bel et bien pris en compte dans la mouture finale de sa thèse, toutes les corrections et recommandations qui lui ont été faites au cours de sa soutenance en date du **18 Décembre 2023**.

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

Fait à Yaoundé le **18 4 JUL 2024**

Président

WANDJI Jean,
Professeur

Rapporteurs

GHOGOMU TIH Ralph,
Professeur

TIH EWOLA Anastasie,
Maître de Conférences

Examineur

ATCHADE Alex DE Théodore,
Professeur

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

ANNÉE ACADEMIQUE 2023/2024
 (Par Département et par Grade)
DATE D'ACTUALISATION 04 Juin 2024

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Professeur*

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

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

VICE-DOYEN / DRC : NOUNDJEU Pierre, *Maître de Conférences*

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

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

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (43)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
	KANSCI Germain	Professeur	En poste
	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
	NGUEFACK Julienne	Professeur	En poste
	NJAYOU Frédéric Nico	Professeur	En poste
	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
	ATOGHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
	DAKOLE DABOY Charles	Maître de Conférences	En poste
	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Maître de Conférences	En poste
	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître de Conférences	En poste
	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>

	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
	LUNGA Paul KEILAH	Maître de Conférences	En poste
	MANANGA Marlyse Joséphine	Maître de Conférences	En poste
	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître de Conférences	En poste
	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Doyen FS / UDs</i>
	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
	Palmer MASUMBE NETONGO	Maître de Conférences	En poste
	PECHANGOU NSANGO Sylvain	Maître de Conférences	En poste
	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
	BEBOY EDJENGUELE Sara N.	Chargé de Cours	En poste
	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours	En poste
	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
	MBOUCHE FANMOE Marceline J.	Chargé de Cours	En poste
	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours	En poste

	BAKWO BASSOGOG Christian Bernard	Assistant	En Poste
	ELLA Fils Armand	Assistant	En Poste
	EYENGA Eliane Flore	Assistant	En Poste
	MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée	Assistant	En Poste
	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Assistant	En Poste
	WOGUIA Alice Louise	Assistant	En Poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (49)

	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	DAARS/FS
	DIMO Théophile	Professeur	En Poste

	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>CD et Vice Doyen/FMSB/UYI</i>
	KEKEUNOU Sévior	Professeur	<i>Chef de Département(a.i)</i>
	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
	NOLA Moïse	Professeur	En poste
	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service / Coord.Progr./MINSANTE</i>
	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i>
	ATSAMO Albert Donatien	Maître de Conférences	En poste
	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épouse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
	KANDEDA KAVAYE Antoine	Maître de Conférences	En poste
	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
	MAHOB Raymond Joseph	Maître de Conférences	En poste
	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître de Conférences	En poste
	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître de Conférences	En poste
	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Maître de Conférences	En poste
	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste
	TAMSA ARFAO Antoine	Maître de Conférences	En poste

	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
--	-----------------	-----------------------	----------

	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Chargé de Cours	En poste
	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
	FEUGANG YOUNSSI François	Chargé de Cours	En poste
	FOKAM Alvine Christelle Epse KENGNE	Chargé de Cours	En poste
	GONWOUE NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
	MAPON NSANGOU Indou	Chargé de Cours	En poste
	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOU MO	Chargé de Cours	En poste
	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En poste
	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
	YEDE	Chargé de Cours	En poste
	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste

	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En poste
	NDENGUE Jean De Matha	Assistant	En poste
	ZEMO GAMO Franklin	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (32)

	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
	MBOLO Marie	Professeur	En poste
	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
	NDONGO BEKOLO	Professeur	En poste
	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Maître de Conférences	En poste
	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>DAAC /UDla</i>

	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En poste
	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste

	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
	GONMADGE CHRISTELLE	Chargé de Cours	En poste
.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
.	MANGA NDJAGA JUDE	Chargé de Cours	En poste
.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
	NSOM ZAMBO EPSE PIAL ANNIE CLAUDE	Chargé de Cours	<i>En détachement/UNESCO MALI</i>
.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
.	KABELONG BANAHO Louis-Paul-Roger	Chargé de Cours	En poste
.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
	DIDA LONTSI Sylvere Landry	Assistant	En poste
	METSEBING Blondo-Pascal	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (27)

	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Mission PR</i>
	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En poste
	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
	NENWA Justin	Professeur	En poste
	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
	NJOMOU C. épse DJANGANG	Professeur	En poste
	NJOYA Dayirou	Professeur	En poste

	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
	KAMGANG YOUNBI Georges	Maître de	En poste

		Conférences	
	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En poste
	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En poste

	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
	NCHIMI NONO KATIA	Chargée de Cours	En poste
	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste
	BOYOM TATCHEMO Franck W.	Assistant	En Poste

6- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)

	Alex de Théodore ATCHADE	Professeur	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UIYI</i>
	NGOUELA Silvere Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Recteur UBertoua/ Chef de Département</i>
	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste
	MKOUNGA Pierre	Professeur	En poste
	TCHOUANKEU Jean-Claude	Professeur	<i>Doyen /FS/ UYI</i>

	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste

	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>Dir ENS/Uté Bertoua</i>
	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Maître de Conférences	En poste
	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
	MUNVERA MFIFEN Aristide	Chargé de Cours	En poste
	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En poste
	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En poste
	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En poste
	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste
	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En poste

--	--	--	--

7- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)

	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division des SI/ MINESUP</i>
--	--------------------	------------	---

	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général Académique/ MINESUP</i>
--	--------------------------------	------------	---

	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste

	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Chef de Cellule MINFOPRA</i>
	AMINO HALIDOU	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En poste
	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Chargé de Cours	En poste
	OLLE OLLE Daniel Claude Georges Delort	Chargé de Cours	<i>Directeur Adjoint ENSET Ebolowa</i>
	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
.	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	<i>Directeur CUTI</i>
	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)

	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<i>Chef de Département</i>
--	-----------------------	------------	----------------------------

	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	<i>Chef de Division/ENSPY</i>
	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	<i>Chef de Département de modélisation et applications industrielles/ENSPY</i>
	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>VDRC/FS/UYI</i>

	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
	BOGSO ANTOINE Marie	Chargé de Cours	En poste
	BITYE MVONDO Esther	Chargé de Cours	En poste
	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En poste
	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En poste
	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En poste
	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Chargé de Cours	En poste
	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En poste

	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En poste
	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En poste
	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistant	En poste

9- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)

	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
	SADO KAMDEM Sylvain	Professeur	En poste

	Leroy		
--	-------	--	--

	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
	KOUITCHEU MABEKE Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En poste
	TCHIKOUA Roger	Maître de Conférences	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>

	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
	MEYIN A EBONG Solange	Chargé de Cours	En poste
	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargé de Cours	En poste
	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
	NKOUÉ TONG Abraham	Chargé de Cours	En poste
	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargé de Cours	En poste
	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Chargé de Cours	En poste
	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste

	EZO'O MENGO Fabrice Téléfor	Assistant	En poste
	EHETH Jean Samuel	Assistant	En poste
	MAYI Marie Paule Audrey	Assistant	En poste
	NGOUE NAM Romial Joël	Assistant	En poste
	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Assistant	En poste

10. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE(PHY) (42)

	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
	BIYA MOTTO Frédéric	Professeur	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
	EYEBE FOU DA Jean sire	Professeur	En poste

	HONA Jacques	Professeur	En poste
	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
	SIMO Elie	Professeur	En poste
	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
	WOAFO Paul	Professeur	En poste
	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Maître de Conférences	<i>Chef de Division de la formation continue et à distance/ENSPY</i>
	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
	FOUEJIO David	Maître de Conférences	<i>Chef Cell/ MINADER</i>
	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
	MELI'I Joelle Larissa	Maître de Conférences	En poste
	MVOGO ALAIN	Maître de Conférences	En poste
	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UYI</i>
	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférences	<i>En stage depuis février 2023</i>
	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
	DJOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En poste

	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En poste
	NGA ONGODO Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	<i>Directeur Unité de production des réactifs/IMPM</i>
	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En poste
	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En poste
	SOUFFO TAGUEU Merimé	Assistant	En poste

11- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA /Uds</i>
	EKOMANE Emile	Professeur	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>
	GANNO Sylvestre	Professeur	En poste
	NDAM NGOUPAYOU Jules- Remy	Professeur	En poste
	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
	NGOS III Simon	Professeur	En poste
	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/Uté. Eb.</i>
	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>
	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En poste
	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef Serv./Uté Maroua</i>
	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
	NGO'O ZE ARNAUD	Chargé de Cours	En poste
	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste

	KOAH NA LEBOGO Serge P.	Assistant	En poste
	NGO'O ZE ARNAUD	Assistant	En poste
	TENE DJOUKAM Joëlle Flore, épouse KOUANKAP NONO	Assistante	En poste

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

NOMBRE D'ENSEIGNANTS

DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	20 (12)	9 (04)	6 (05)	43 (22)
BPA	11 (01)	19 (09)	16 (05)	3 (02)	49 (17)
BPV	6 (01)	10 (02)	14 (08)	2 (00)	32 (11)
CI	7 (01)	14 (04)	5 (01)	1 (00)	27 (06)
CO	7 (01)	15 (05)	11 (05)	1 (00)	34 (11)
ER	1 (00)		/	/	1 (0)
IN	2 (00)	2 (00)	14 (01)	4 (00)	22 (01)
MAT	1 (00)	8 (00)	19 (02)	5 (01)	33 (03)
MIB	3 (01)	7 (03)	9 (05)	5 (02)	24 (11)
PHY	18 (01)	12 (04)	11 (01)	1 (00)	42 (06)
ST	10 (00)	17 (03)	13 (03)	3 (01)	43 (07)
Total	74 (07)	124 (42)	121 (35)	31 (11)	350 (95)

Soit un total de

350 (95) dont :

- Professeurs **74 (07)**
- Maîtres de Conférences **124 (42)**
- Chargés de Cours **121 (35)**
- Assistants **31 (11)**

() = Nombre de Femmes

95

DEDICACE

A

ma fille, Mponge Eva Marione

REMERCIEMENTS

Ce travail a pris naissance au laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, de l'Université de Yaoundé I, sous la supervision de Monsieur GHOGOMU TIH Raphael (Professeur), que je tiens à remercier vivement, pour m'avoir initié à la recherche. Ses nombreux conseils et suggestions m'ont permis de le mener à bien.

Je remercie Madame TIH EWOLA Anastasie (Maitre de Conférences), qui a accepté de diriger ce travail. En effet, son assistance tant physique que matérielle, sa disponibilité, sa dévotion et son engagement, ont été d'une importance capitale dans mes études.

Je remercie le Chef du Département de Chimie Organique, Professeur D.E. PEGNYEMB pour ses conseils.

Mes remerciements vont aussi à tous les enseignants du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I et de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé, pour avoir contribué efficacement à ma formation.

J'exprime ma profonde gratitude et mes vifs remerciements aux personnes suivantes, dont la collaboration a été essentielle dans la réalisation de ce travail:

- Monsieur NANA Victor de l'Herbier National du Cameroun, pour l'identification de la plante;
- Monsieur BODO Bernard (Professeur) du Laboratoire de Chimie du Muséum National d'Histoire Naturelle à Paris, pour l'analyse de mes composés;
- A toute l'équipe du laboratoire de microbiologie de l'Université de Yaoundé I, pour l'évaluation des tests biologiques.

Je n'oublie pas:

- Ma chère et tendre maman qui m'a transmis le gène dominant de la persévérance, de la volonté inébranlable et qui n'a jamais cessé de prier pour moi. Maman, tu es ma force et ma boule d'énergie;
- Mes frères (KWENE EBOULEH Jean-Mari et EMADIONE Vitalis Elume) et sœurs (ESUNG KWENE Céline et MEJANE KWENE Stella), pour leurs soutiens, leurs encouragements et leurs prières;

- Ma fille, MPONGUE Eva Marione pour les efforts consentis pendant mes nombreuses absences;
- Mon époux, KANG ELLAH Bodwin, pour ses multiples conseils, et encouragement;
- Ma marraine, Madame NDIKUM Priscilia et la famille FORBA, retrouvez ici le fruit conjugué, de vos efforts, votre amour et votre soutien;
- Tous mes collègues chercheurs du Département de Chimie Organique qui m'ont entouré amicalement;
- Mes aînés, mes promotionnaires et mes cadets du laboratoire de chimie des substances naturelles pour leurs soutiens et leurs collaborations multiformes;
- Monsieur BINYAM Alexandre et son épouse, pour l'accueil très chaleureux qu'ils ont réservé à ma modeste personne pendant la récolte.

Merci également à tous mes amis et connaissances, particulièrement à NGANSOP Suzanne et KAMENI Gaël, pour leurs encouragements. Trouvez ici l'aboutissement heureux de tous vos sacrifices conjugués.

TABLE DES MATIERES

DEDICACE	i
REMERCIEMENTS	ii
TABLE DES MATIERES	iv
LISTE DES ABREVIATIONS	vii
LISTE DES FIGURES	x
LISTE DES SCHEMAS	xiii
LISTE DES TABLEAUX	xiv
RESUME	xviii
ABSTRACT	xx
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE	5
I APERÇU BOTANIQUE DES CLUSIACEAE	6
I.1. Généralités sur la famille des Clusiaceae	6
I.1.1. Présentation des plantes du genre <i>Garcinia</i>	6
I.1.2. Diversité des plantes du genre <i>Garcinia</i> au Cameroun	7
I.1.3. Aperçu botanique de <i>Garcinia epunctata</i>	8
I.2. Usages ethnobotaniques des plantes du genre <i>Garcinia</i>	10
II TRAVAUX PHYTOCHIMIQUES ET BIOLOGIQUES ANTERIEURS	12
II.1. Différentes classes de métabolites secondaires isolés des <i>Garcinia</i>	12
II.1.1. Les triterpènes isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	12
II.1.2. Les depsidones et cinnamates isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	17
II.1.3. Les phloroglucinols isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	19
II.1.4. Les benzophénones isolées des plantes du genre <i>Garcinia</i>	23
II.1.5. Les xanthones isolées des plantes de la famille Clusiaceae.	24
II.1.5.1. Les xanthones oxygénées simples	25
II.1.5.2. Les xanthones glycosilées	27
II.1.5.3. Les xanthones prénylées	27
II.1.5.4. Les xanthonolignoides	29
II.1.5.5. Les furanoxanthones	30
II.1.5.6. Les bixanthones	31
II.1.6. Les flavonoïdes et les biflavonoïdes	32

II.1.6.1.	Les flavonoïdes	32
II.1.6.2.	Les flavonoïdes isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	33
II.1.6.3.	Les biflavonoïdes isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	34
II.1.7.	Les glycérols benzoyle glucuronosyles	38
II.2	BIOSYNTHESE DES TRITERPENES ET DES FLAVONOIDES	39
II.2.1.	Biosynthèse des triterpènes	39
II.2.2.	Biosynthèse des flavonoides	41
II.3.	TRAVAUX BIOLOGIQUES ANTERIEURS SUR LES PLANTES DU GENRE <i>Garcinia</i>	48
II.3.1.	Introduction	48
II.3.2.	Activités biologiques de quelques extraits	48
II.3.2.1.	Activités antibactériennes	48
II.3.2.2.	Activité anti-VIH	49
II.3.3.	Autres activités biologiques des métabolites secondaires isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	49
CHAPITRE II:	RESULTATS ET DISCUSSIONS	55
I	EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES	56
I.1.	Extraction et fractionnement	56
I.2.	Isolement et purification	57
II	IDENTIFICATION DES COMPOSES ISOLEES	60
II.1.	Identification de GEP.x	60
II.2.	Identification de la structure de GEP.1	62
II.3.	Identification de la structure de GEP.2	64
II.4.	Identification de GEP.3	66
II.5.	Identification de GEP.4	68
II.6.	Elucidation de la structure de GEP.5	70
II.7.	Elucidation de la structure de GEP.6	78
II.8.	Identification de GEP.7	86
II.9.	Identification de GEP.8	89
II.10.	Identification de GEP.9	96
II.11.	Identification de GEP.10	103
II.12.	Identification de GEP.11	109
II.13.	Identification de GEP.12	113

II.14.	Identification de GEP.13	116
II.15.	Identification de GEP.14	121
III.	EVALUATION DES PROPRIETES ANTIBACTERIENNES DE QUELQUES COMPOSES ISOLES	125
III.1.	Les tests qualitatifs	125
III.2.	Les tests quantitatifs	126
III.3.	Tests anti bactériens	127
III.3.1.	Tests de sensibilité: Méthode des disques	127
III.3.2.	Tests de microdilution	127
IV.	DISCUSSION	129
V	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	130
	CHAPITRE III: MATERIELS ET METHODES	131
I.	Matériel végétal	132
II.	EXTRACTION, FRACTIONNEMENT ET PURIFICATION	132
III.	TESTS ANTI BACTERIENS	133
III.1.	Tests de sensibilité	134
III.2.	Micro-dilution	135
IV.	APPAREILLAGE	136
IV.1.	Spectrométrie de masse	136
IV.2.	Spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	136
V.	TECHNIQUE CHROMATOGRAPHIQUES	136
VI.	TESTS PHYTOCHIMIQUES	137
VI.1.	Test de Liebermann-Buchard	137
VI.2.	Test de Molisch	137
VI.3.	Test de Shinoda	137
VI.4.	Test au chlorure ferrique	137
VII.	PROPRIETES PHYSIQUES ET SPECTROSCOPIQUES DES COMPOSES ISOLES	138
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	146

LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

AcOEt	Acétate d'éthyle
AD	Adamaoua
CCMP	Chromatographie sur Couche Mince Préparative
(CD₃)₂CO	Acétone deutérée
CE	Centre
CE₅₀	Concentration efficace médiane
CH₂Cl₂	Chlorure de méthylène ou dichlorométhane
CHCl₃	Chloroform ou trichlorométhane
CI₅₀	Concentration inhibitrice médiane
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inibitrice
CoA	Coenzyme A
COSY	<i>CORrelation SpectroscopY</i>
°C	Dégré Celcius
¹³C	Carbone 13
d	Doublet
dd	Doublet dédoublé
DEPTQ	<i>Distortion Enhancement by Polarisation Transfer</i>
DMSO-_{d6}	Diméthyle sulfoxyde deutéré
ESI	<i>Electro Spray Ionisation</i>

ESI-TOF	<i>Electro Spray Ionisation Time Of Fly</i>
FeCl₃	Chlorure ferrique
g/mol	Gramme par mole
HepG-2	Cellule cancéreuse du foie humain
HMBC	<i>HeteroNuclear Multiple Bond Correlation</i>
HRESI-MS	<i>High Resolution ElectroSpray Ionisation Mass Spectra</i>
HSQC	<i>HeteroNuclear MultiQuantum Coherence</i>
Hz	Hertz
IC	Ionisation Chimique
KB	Cellule cancéreuse de la cavité buccale
kg	kilogramme
L	Litre
LT	Littoral
m/z	Rapport masse sur charge d'un ion
MeOH	Méthanol
MFC-7	Cellule prolifératrice du cancer du sein
Mg	Magnésium
mg	milligramme
MHz	Mégahertz
mL	Millilitre
mm	Millimètre
µg	Microgramme
µM	Micromolaire

MST	Maladies Sexuellement Transmissibles
NaCl	Chlorure de Sodium
NCI-H187	Cellule du cancer de l'intestin humain
nm	nanomètre
NO	Nord Ouest
NOE	<i>Nuclear Overhauser Effect</i>
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
ORL	Otorhinolaryngologie
OUA	Organisation de l'Union Africaine
ppm	partie par million
RMN 1D	Résonance Magnétique Nucléaire à une dimension
RMN 2D	Résonance Magnétique Nucléaire à deux dimensions
s	singulet
SM-IC	Spectre de Masse Ionisation Chimique
SO	Sud Ouest
SU	Sud
t	triplet
UFC	Unité Formant Colonie
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
δ	Déplacement chimique en ppm

LISTE DES FIGURES

Figure 1:	Tronc et feuilles de <i>Garcinia epunctata</i> (Stapf)	9
Figure 2:	Spectre RMN- ¹ H (600 MHz; CDCl ₃) de GEP.x	60
Figure 3:	Spectre RMN- ¹³ C (150 MHz; CDCl ₃) de GEP.x	60
Figure 4:	Spectre RMN- ¹ H (600 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.1	62
Figure 5:	Spectre RMN- ¹³ C (150 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.1	62
Figure 6:	Spectre RMN- ¹ H (600 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.2	64
Figure 7:	Spectre RMN- ¹³ C (150 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.2	64
Figure 8:	Spectre RMN- ¹ H (600 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.3	66
Figure 9:	Spectre RMN- ¹³ C (150 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.3	66
Figure 10:	Spectre RMN- ¹ H (600 MHz; CDCl ₃) de GEP.4	68
Figure 11:	Spectre RMN- ¹³ C (150 MHz; CDCl ₃) de GEP.4	68
Figure 12:	Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.5	70
Figure 13:	Spectre RMN- ¹ H (500 MHz; (CD ₃) ₂ CO) de GEP.5	71
Figure 14:	Spectre COSY ¹ H- ¹ H de GEP.5	72
Figure 15:	Spectre RMN- ¹³ C (125 MHz; (CD ₃) ₂ CO) de GEP.5	73
Figure 16:	Spectre HSQC de GEP.5	74
Figure 17:	Spectre HMBC de GEP.5 dans (CD ₃) ₂ CO	75
Figure 18:	Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.6	78
Figure 19:	Comparaison des spectres RMN- ¹ H (500 MHz; (CD ₃) ₂ CO) de GEP.5 et RMN- ¹ H (500 MHz; Acétone- <i>d</i> ₆) de GEP.6	79

Figure 20:	Spectre COSY ^1H - ^1H de GEP.6	80
Figure 21:	Spectre RMN- ^{13}C (125 MHz; $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de GEP.6	81
Figure 22:	Spectre HSQC de GEP.6	82
Figure 23:	Spectre HMBC de GEP.6	83
Figure 24:	Spectre RMN- ^1H (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.7	86
Figure 25:	Spectre RMN- ^{13}C (150 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.7	87
Figure 26:	Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.8	89
Figure 27:	Spectre RMN- ^1H (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.8	89
Figure 28:	Spectre RMN- ^1H élargi (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.8 (région entre 6,0 et 8,5 ppm)	90
Figure 29:	Spectre RMN COSY ^1H - ^1H de GEP.8	91
Figure 30:	Spectre RMN- ^{13}C (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.8	93
Figure 31:	Spectre HMBC de GEP.8	94
Figure 32:	Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.9	96
Figure 33:	Spectre RMN- ^1H (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.9	97
Figure 34:	Spectre COSY ^1H - ^1H élargi de GEP.9 (région de 5,80 à 8,5 ppm)	97
Figure 35:	Spectre RMN- ^{13}C (150 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.9	99
Figure 36:	Spectre HMBC de GEP.9	100
Figure 37:	Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.10	103
Figure 38:	Comparaison des spectres RMN- ^1H (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.9 et RMN- ^1H (600MHz; $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.10	104
Figure 39:	Comparaison des Spectre RMN- ^{13}C (150 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.9 et	

	de GEP.10	105
Figure 40:	Spectre NOESY de GEP.10	106
Figure 41:	Spectre HMBC (150 MHz; DMSO- d_6) de GEP.10	107
Figure 42:	Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.11	109
Figure 43:	Spectre RMN- ^1H (500 MHz; $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de GEP.11	109
Figure 44:	Spectre COSY ^1H - ^1H de GEP.11	110
Figure 45:	Spectre RMN- ^{13}C (125 MHz; $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de GEP.11	111
Figure 46:	Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.12	113
Figure 47:	Spectre RMN- ^1H (400 MHz; DMSO- d_6) de GEP.12	113
Figure 48:	Spectre RMN- ^{13}C (100 MHz; DMSO- d_6) de GEP.12	114
Figure 49:	Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.13	116
Figure 50:	Comparaison des spectres RMN- ^1H (600 MHz; DMSO- d_6) de GEP.8 et RMN- ^1H (400 MHz; DMSO- d_6) de GEP.13	117
Figure 51:	Comparaison des spectres RMN- ^{13}C (100 MHz; DMSO- d_6) de GEP.13 et RMN- ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6) de GEP.8	118
Figure 52:	Spectre HMBC (100 MHz; DMSO- d_6) de GEP.13	119
Figure 53:	Spectre RMN- ^1H (500 MHz; DMSO- d_6) de GEP.14	121
Figure 54:	Spectre RMN- ^{13}C (125 MHz; DMSO- d_6) de GEP.14	121

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1:	Du diphosphate de diméthyl allyl au squalène	40
Schéma 2:	Biosynthèse du lanostérol	41
Schéma 3:	Première étape dans la biosynthèse des flavonoïdes: formation du squelette Chalcone	42
Schéma 4:	Formation des différentes sous-classes de flavonoïdes simple	43
Schéma 5:	Radicaux proposés comme précurseurs de biflavonoïdes	44
Schéma 6:	Protocole d'extraction et de fractionnement des feuilles de <i>G. epunctata</i>	58
Schéma 7:	Protocole de purification de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de <i>G. epunctata</i>	59
Schéma 8:	Corrélations HMBC de GEP.5	76
Schéma 9:	Quelques corrélations HMBC de GEP.6	83

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I:	Espèces des plantes du genre <i>Garcinia</i> recensées au Cameroun	8
Tableau II:	Usages traditionnels des espèces du genre <i>Garcinia</i> repertoriés au Cameroun	11
Tableau III:	Exemples de triterpènes Tétracycliques des plantes du genre <i>Garcinia</i>	14
Tableau IV:	triterpènes pentacycliques des plantes du genre <i>Garcinia</i>	15
Tableau V:	triterpènes pentacycliques et cyclopropaniques des plantes du genre <i>Garcinia</i> .	16
Tableau VI:	Exemple de depsidones isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	18
Tableau VII:	Exemple de cinnamates isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	19
Tableau VIII:	Quelques phloroglucinols isolés du bois de <i>G. subelliptica</i>	20
Tableau IX:	Autres phloroglucinols isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	22
Tableau X:	Exemples de benzophénones isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	24
Tableau XI:	Exemples de xanthones oxygénées isolées du genre <i>Garcinia</i>	26
Tableau XII:	Exemples de xanthones prénylées isolées des plantes du genre <i>Garcinia</i>	28
Tableau XIII:	Xanthones isolées des plantes du genre <i>Garcinia</i> et ayant un noyau chromane ou un noyau chromène	29
Tableau XIV:	Exemples de furanoxathones isolées des plantes du genre <i>Garcinia</i>	30
Tableau XV:	Exemples de bixanthones isolées des plantes du genre <i>Garcinia</i>	31
Tableau XVI:	Exemples de flavonoides isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	33
Tableau XVII:	Exemples de glycosides de biflavonoides isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	34

Tableau XVIII	Exemples d'éther biflavonyles isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	35
Tableau XIX:	Exemples de biflavonoïdes isolés des <i>Garcinia</i> et ayant une jonction C ₃ -C ₈ "	36
Tableau XX:	Exemples de biflavonoïdes isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i> et ayant une jonction C ₃ '-C ₈ " de type Amentoflavone (Dimers flavone-flavone)	37
Tableau XXI:	Exemples de composés isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i> et issus du couplage entre une molécule de flavonoïde et une molécule de chromone	38
Tableau XXII:	Exemples de glycérols benzoyls glucuronosyles isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	39
Tableau XXIII:	Exemples d'homobiflavonoïdes à jonction Carbone-Carbone	45
Tableau XXIV:	Exemples d'hétérobiflavonoïdes à jonction Carbone-Carbone	46
Tableau XXV:	Exemples d'éther biflavonyl	47
Tableau XXVI:	Quelques métabolites secondaires à activité hypoglycémiant isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	50
Tableau XXVII:	Quelques métabolites secondaires à activité anticancéreuse isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	51
Tableau XXVIII:	Quelques métabolites secondaires à activité anti-inflammatoire isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	52
Tableau XXIX:	Quelques métabolites secondaires à activité antimalariale isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	53
Tableau XXX:	Quelques métabolites secondaires à activité antioxydante isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	54
Tableau XXXI:	Quelques métabolites secondaires à activité antibactérienne isolés des plantes du genre <i>Garcinia</i>	55
Tableau XXXII:	Comparaison des données des spectres RMN- ¹ H (600 MHz; CDCl ₃),	

	RMN- ¹³ C (150 MHz; CDCl ₃) de GEP.x et RMN- ¹ H (400 MHz; CDCl ₃), RMN- ¹³ C (100 MHz; CDCl ₃) de lupéol	61
Tableau XXXIII:	Comparaison des données des spectres RMN- ¹ H (600 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (150 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.1 et RMN- ¹ H (400 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (100 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de β -sitostérol	63
Tableau XXXIV:	Comparaison du spectre RMN- ¹ H (600 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (150 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.2 et RMN- ¹ H (400 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (100 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de stigmastérol	65
Tableau XXXV:	Comparaison des données des spectres RMN- ¹ H (600 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (150 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.3 et RMN- ¹ H (400 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (100 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de β -sitosterol-3-O- β -D- glucopyranoside	67
Tableau XXXVI:	Comparaison des spectres RMN- ¹ H (600 MHz; CDCl ₃), RMN- ¹³ C (150 MHz; CDCl ₃) de GEP.4 et RMN- ¹ H (400 MHz; Pyridine- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (100 MHz; Pyridine- <i>d</i> ₆) de l'acide betulinique	69
Tableau XXXVII:	Valeurs du spectre NOE de GEP.5	76
Tableau XXXVIII:	Spectre RMN- ¹ H (500 MHz) et RMN- ¹³ C (125MHz) de GEP.5 dans l'acétone- <i>d</i> ₆ et corrélation HMBC	77
Tableau XXXIX:	Valeurs du spectre NOE de GEP.6	84
Tableau XL:	Spectre RMN- ¹ H (500 MHz) et RMN- ¹³ C (125MHz) de GEP.6 dans l'acétone- <i>d</i> ₆ et corrélation HMBC	85
Tableau XLI:	Comparaison des spectres RMN- ¹ H (600 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (150 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.7 et RMN- ¹ H (400 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (100 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de Stigmastérol-3-O- β -D- glucopyranoside	88
Tableau XLII:	Comparaison des spectres RMN- ¹ H (600 MHz), RMN- ¹³ C (150 MHz) de GEP.8 et RMN- ¹ H (500 MHz), RMN- ¹³ C (125 MHz) de amentoflavone	95

Tableau XLIII:	Comparaison des spectres RMN- ¹ H (400 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) et RMN- ¹³ C (100 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.9 et de robustaflavone	102
Tableau XLIV:	Comparaison des spectres RMN- ¹ H (600 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (150 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.10 et RMN- ¹ H (400 MHz; acétone- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (100 MHz; acétone- <i>d</i> ₆) de 4'-O-méthylrobustaflavone	108
Tableau XLV:	Comparaison des spectres RMN- ¹ H (500 MHz), RMN- ¹³ C (125 MHz) de GEP.11 et RMN- ¹ H (300 MHz), RMN- ¹³ C (75 MHz) de lancéoloside A dans l'acétone- <i>d</i> ₆	112
Tableau XLVI:	Comparaison des spectres RMN- ¹ H (400 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C 100 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.12 et RMN- ¹ H (400 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C 100 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de quercétine-7-O-β-D-glucopyranoside	115
Tableau XLVII:	Spectre RMN- ¹ H de GEP.13, comparaison du spectre RMN- ¹³ C de GEP.13 et RMN- ¹³ C d'amentoflavone	120
Tableau XLVIII:	Comparaison des spectres RMN- ¹ H (500 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆), RMN- ¹³ C (100MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) de GEP.14 et lutéoline-7-O-β-D-glucopyranoside	123
Tableau XLIX:	Récapitulatif des composés isolés des feuilles de <i>Garcinia epunctata</i>	124
Tableau L:	Activités anti-bactériennes par la méthode des disques	127
Tableau LI:	Détermination de la CMI et de la CMB	128

RESUME

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet, les plantes médicinales constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit pour le bien-être des populations.

Ce travail vient s'ajouter à une longue série d'études menées sur les plantes médicinales et les substances naturelles extraites. Il a pour objectif de révéler de nouvelles molécules et de mettre en évidence leurs activités antibactériennes. Pour ce faire, nous avons porté notre choix sur la plante médicinale *Garcinia epunctata*, en raison de son potentiel antibactérien (Tih et al., 2000).

L'investigation phytochimique de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Garcinia epunctata* a abouti à l'isolement de quinze métabolites secondaires. Il s'agit de: deux glycosides phénoliques (épunctoside A et épunctoside B) décrits pour la première fois, un glycoside phénolique connu (lancéoloside A), un acide triterpénique (l'acide bétulinique), un triterpène (lupéol) quatre dérivés de stéroïdes (stigmastérol, β -sitostérol, stigmastérol 3-O- β -D-glucopyranoside et β -sitostérol 3-O- β -D-glucopyranoside), deux flavonoïdes (lutéoline-7-O-glucoside et quercétine-7-O-glucoside) et quatre biflavonoïdes (amentoflavone, robustaflavone, 4'-O-méthylamentoflavone et 4'-O-méthylrobustaflavone). Les structures ont été élucidées sur la base de l'analyse des spectres de RMN-1D et RMN-2D (COSY, HSQC, HMBC, NOE), couplée à la spectrométrie de masse (ESI), et en comparant les données spectroscopiques obtenues avec celles de la littérature.

Les activités antibactériennes de l'extrait à l'acétate d'éthyle, et de quatre des composés purs isolés (β -sitostérol, stigmastérol, épunctoside A et épunctoside B) ont été évaluées sur cinq souches de bactéries (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* et *Eschérichia coli*), responsables des infections des voies urinaires et respiratoires, des infections cutanées, des intoxications alimentaires et des troubles gastro-entériques. Selon la méthode des disques, l'extrait s'est montré très actif sur toutes les souches bactériennes testées, avec les diamètres d'inhibition compris entre 15 et 18 mm. Les composés purs quant à eux, ont montré une activité modérée avec des diamètres d'inhibition allant de 8 à 10 mm. Les paramètres antibactériens (CMI et CMB) ont été déterminés par la méthode de micro-dilution. Les CMI obtenues pour l'extrait sont comprises entre 0,125 et 1 mg/mL, tandis que pour les composés purs, ces valeurs varient

entre 0,125 et 0,500 mg/mL. Pour l'extrait, les valeurs de la CMB sont assez proches de celles de la CMI. L'extrait a alors un effet bactéricide sur toutes les souches bactériennes testées, sauf sur *P. aeruginosa* sur lequel l'action de l'extrait est bactériostatique. La CMB de chacun des composés purs est très élevée, de sorte que les rapports CMB/CMI sont supérieurs à 4. Ces résultats montrent que, les composés purs testés ont un effet bactériostatique. Ils justifient aussi l'usage de *G. epunctata* dans la médecine traditionnelle pour le traitement des infections causés par les bactéries ci-dessus. Toutefois, des études plus approfondies sont nécessaires.

Mots clés: *Garcinia epunctata*, Glycoside phénolique, Activité antibactérienne, Epunctosides A et B

ABSTRACT

Natural substances occupy a more and more important place in therapeutic. In fact, medicinal plants constitute real chemical factories from which maximum profit must be made for the well-being of the population.

This work comes to add to a long series of studies on medicinal plants and natural extracted substances. Its objective is to reveal new molecules and to highlight their antibacterial activities. To do this, we have chosen the medicinal plant *Garcinia epunctata*, because of its antibacterial potential (**Tih et al., 2000**).

The phytochemical investigation of the ethyl acetate extract of the leaves of *G. epunctata*, led to the isolation of fifteen secondary metabolites. They are: two new phenolic glycosides (Epunctoside A and B), one known phenolic glycoside (Lanceoloside A), one triterpenic acid (butelinic acid), one triterpen (lupeol), four steroid derivatives (stigmasterol, β -sitosterol, stigmasterol 3-O- β -D-glucopyranoside and β -sitostérol 3-O- β -D-glucopyranoside), two flavonoid derivatives (lutéoline-7-O-glucoside and quercétine-7-O-glucoside) and four biflavonoids (Amentoflavone, robustaflavone, 4'-O-méthylamentoflavone and 4'-O-méthylrobustaflavone). Their chemical structures were established using spectroscopic methods (MS, UV, IR, 1D and 2D $^1\text{H-NMR}$, 1D and 2D $^{13}\text{C-NMR}$) and also by comparing some spectra with previous data.

The ethyl acetate extract as well as four pure compounds (β -sitosterol, stigmasterol, epunctoside A and B) were subjected to antibacterial screening, by disc diffusion and microdilution method, against five bacteria strains (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*). These bacteria are responsible for urinary infections, breathing infections, skin infections and gastroenteritis disorder. The ethyl acetate extract recorded diameters of zone of inhibition ranging from 15 to 18 mm, corresponding to high activity. All the four pure compounds recorded moderate activity with diameter of zone of inhibition ranging from 8 to 10 mm. The extract recorded low MIC values ranging from 0.125 to 1 mg/mL meanwhile, the MIC of pure compounds are between 0.125 and 0.5 mg/mL. The MBC values for the extract are closer to the MIC values. Suggesting that the extract has a bactericidal effect on all the bacteria strains, except *P. aeruginosa* on which the effect of the extract is bacteriostatic. The pure compounds recorded high MBC values of which the ratios MBC/MIC are greater than 4. This result shows that the pure compounds have a bacteriostatic effect on each of the bacteria strain. The

results also justify the use of the leaves of *G. epunctata* in folk medicine to treat gastroenteritis infections and urinary infections. However, more indepth studies are necessary.

Key words: *Garcinia epunctata*, phenolic glycoside, antibacterial activity, Epunctosides A and B.

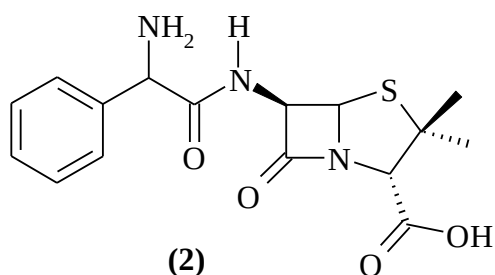
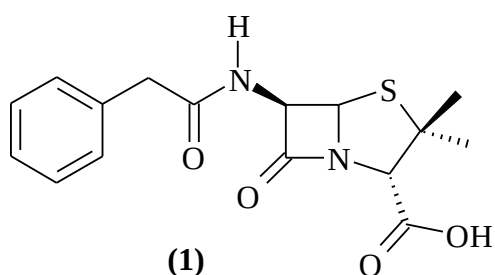
.

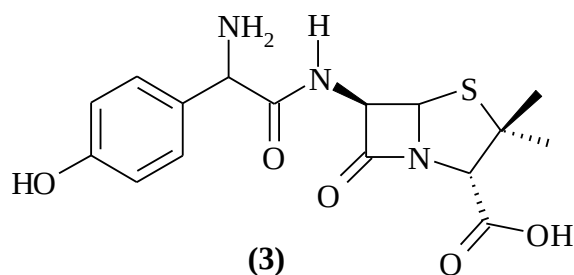
INTRODUCTION GENERALE

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base comme l'abris, la nutrition, le vêtement et également la santé. Ainsi l'utilisation des plantes médicinales (elles sont riches en substance naturelle) comme source de médicament pour se soigner ou prévenir des maladies est une pratique très ancienne, qui est largement employée à travers le monde entier et appréciée pour un certain nombre de raison. Les substances naturelles jouent ainsi un très grand rôle dans le maintien de notre bien-être.

Le développement de la médecine conventionnelle trouve ses racines dans la médecine traditionnelle. A titre d'exemple, la pénicilline **(1)**, qui est le premier antibiotique, est une substance naturelle produite par une levure du genre *Penicillium* (**Williams., 1948**). Dans l'antiquité, d'anciennes préparations de pâtes moisies destinées à soigner des plaies infectées étaient connues en Chine et en Grèce (**Weyrich et al., 2017**). Le bactériologiste écossais Alexander Fleming en 1928, observe qu'une colonie cotonneuse de moisissure d'un blanc verdâtre s'est développée dans une culture de staphylocoques dont elle a bloqué la croissance (**Roussel et al., 1981**). Mais il n'arrive pas à extraire la substance responsable de cet effet, car elle est trop instable. Néanmoins, il lui donne le nom de pénicilline **(1)** (**Roussel et al., 1981**). Ce n'est qu'en 1939 qu'une équipe de chercheur britannique qui a saisi l'intérêt de la découverte de Fleming, réussit à stabiliser la pénicilline **(1)** par lyophilisation, et à l'isoler (**Roussel et al., 1981**). A cette époque, elle a été baptisée *The life saving drug*, car elle a été essentielle pendant la deuxième guerre mondiale pour soigner les milliers de soldats blessés.

Plus tard, les antibiotiques de synthèse ont été développés dans le but d'accroître les propriétés des antibiotiques naturels, ceci en modifiant leurs structures. Exemple de l'ampicilline **(2)** (qui en plus de s'attaquer aux bactéries à Gram + comme la pénicilline **(1)**, est aussi active contre certaines bactéries à Gram -), et l'amoxicilline **(3)** (qui est mieux absorbé que les précédentes). C'est ainsi que la chimie organique de synthèse a rendu disponible un très grand nombre de molécules thérapeutiques (**Depovere, 2008**).





Malgré les progrès réalisés en médecine au cours des dernières décennies, de nombreux traitements médicamenteux en général et antibactériens en particulier restent insuffisants face aux fléaux tels que les infections gastro-entérite, les infections urino-génitales, le cholera et la typhoïde, qui représentent un problème de santé majeur dans le monde, surtout dans les pays en développement où l'accès à l'eau potable est très limitée. A ceci, s'ajoute la résistance de certaines bactéries pathogènes aux traitements existants (**Breurec et al., 2016**). Le développement de nouveaux agents thérapeutiques (antibiotiques) s'avère indispensable. Mais comment peut-on développer de nouveaux antibiotiques face auxquels les micro-organismes (bactéries) ne seraient pas résistants ? Pour répondre à cette question, les scientifiques ont remis en scène les produits naturels issus des plantes médicinales.

L'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances « *lead compounds* », sachant que chacune de ces plantes peut contenir des centaines, voir des milliers de métabolites secondaires (**Hostettmann et Marston, 2002**).

En effet, la plante médicinale Camerounaise *Garcinia epunctata* est utilisée en pharmacopée traditionnelle pour le traitement des infections urino-génitales, de la toux et des infections gastro-enterite (**Guedje et al., 2000**). Les travaux biologiques effectués sur les différentes parties de cette plante ont montré que les feuilles de *G. epunctata* présentent un potentiel antibactérien très élevé (**Tih et al., 2000**). Cependant les métabolites secondaires qui seraient responsables de ces activités n'ont pas, à notre connaissance, encore été identifiés: d'où l'intérêt de ce projet.

L'objectif principal de ce travail est donc d'identifier et de caractériser les métabolites secondaires présents dans les feuilles de *Garcinia epunctata* (Stapf) et d'évaluer leurs activités antibactériennes, afin de trouver des molécules qui pourraient être de potentiel antibiotiques. Ceci implique comme objectifs spécifiques:

- d'extraire et de purifier les métabolites secondaires des feuilles de *Garcinia epunctata* (Stapf);

- de déterminer les structures chimiques des composés isolés en se servant des méthodes spectroscopiques;
- de tester les composés isolés afin d'identifier lesquels seraient responsables des activités recherchées.

Dans cette thèse, nous présenteront au chapitre I une revue de la littérature sur les plantes de la famille des Clusiaceae en générale et le genre *Garcinia* en particulier. Au chapitre II, nous allons nous appesantir sur les résultats obtenus au cours des travaux phytochimiques des feuilles de *Garcinia epunctata* (Stapf); et enfin, les méthodes et le matériel utilisé lors de ces travaux feront l'objet du troisième et dernier chapitre.

CHAPITRE I

REVUE DE LA LITTERATURE

I. APERCU BOTANIQUE DES CLUSIACEAE

I.1. Généralités sur les plantes de la famille des Clusiaceae

La famille des Clusiaceae longtemps connue sous le nom de Guttifereae appartient à l'ordre de *Malpighiales*. Elle est représentée par environ 1350 espèces réparties entre 47 genres (**Piccinelli et al., 2005**). Les genres les plus représentés en Afrique sont: *Allanblackia*, *Calophyllum*, *Garcinia*, *Pentadesma*, *Symphonia* et *Mammea* (**Gustafsson et al., 2002**). Les Clusiaceae sont des plantes constituées des arbres ayant des tailles variables. Ils comportent des petits arbres (*Garcinia conrauwana*), des arbustes (*Pentadesma butyracea* et *Allanblackia floribunda*) et des grands arbres (*Symphonia globulifera*, *Garcinia kola*, *Mammea africana*) aux bois dur, ferme et sombre (**Poncy et al., 2006**). On les reconnaît par leurs troncs verticaux, et un latex résineux qui coule lorsque l'écorce ou la tige est blessée (**Bamps, 1970**).

Ces plantes ont des feuilles simples, dures avec une disposition opposée. Les feuilles possèdent des nervures très proches, fines et parallèles (**Letouzey, 1982**). Les fleurs sont grandes de taille et peuvent être individuelles ou groupées. Généralement, elles sont soit mâles, soit femelles, et rarement bisexuelles. Les fruits sont le plus souvent très gros (**Vivien et Faure, 1967**).

La plus part des plantes de la famille des Clusiaceae pousse dans les forêts secondaires, les forêts denses et humides, ou marécageuses et parfois aux bords des rivières et au sommet des altitudes humides (**Check et Quentin, 2016**).

I.1.1. Présentation des plantes du genre *Garcinia*

Le genre *Garcinia* est le plus représenté de la famille des Clusiaceae avec une distribution très vaste, car on le retrouve dans les cinq continents. On connaît environ 400 espèces recensées en Asie tropicale, en Nouvelle Calédonie et en Polynésie. En Afrique, on trouve les *Garcinia* dans la zone intertropicale allant du Sénégal à la Tanzanie en passant par le Cameroun puis vers la République Démocratique du Congo (**Codjia et al., 2018**).

Les *Garcinia* sont en majorité des arbustes riches en latex jaune et possèdent des feuilles plus ou moins allongées et pointues qui sont coriaces et brillantes présentant une disposition opposée. Les écorces sont de couleur marron foncé et lisses à maturité. Les fleurs sont de petites tailles et ont une couleur variante du rouge au jaune. Elles peuvent être regroupées en cyme de tailles différentes. Certains *Garcinia* sont hermaphrodites mais d'autres ont les fleurs mâles et femelles sur deux plantes distinctes. Les fruits sont généralement larges et charnus et contiennent plusieurs grains ou pépins dispersés dans une pulpe (**Lemee, 1931 et Heitz, 1940**).

I.1.2. Diversité des plantes du genre *Garcinia* au Cameroun

A notre connaissance, 21 espèces de *Garcinia* ont été recensées au Cameroun (**Guedje., 2002**). Ceci représente environ 11% des 200 espèces recensées sous les tropiques. Ces espèces Camerounaises sont essentiellement des petits arbres et arbustes marquant une préférence pour des habitats très humides et en altitude. Le tableau I présente la liste des espèces signalées au Cameroun.

Tableau I: Espèces des plantes du genre *Garcinia* recensées au Cameroun (Guedje, 2002).

Espèce	Aspect	Habitat (Région)
<i>G. afzelii</i>	Arbuste ou petit arbre	Galerie forestière, forêt claire sur terrain humide ou sol rocailleux (EN et CE)
<i>G. barteri</i>	Arbuste	Galeries forestières, colline chaotique (AD)
<i>G. brevipedicellata</i>	Petit arbre	Forêt dense humide mûre, forêt de basse altitude (CE, SO, LT)
<i>G. chomocarpa</i>	Arbuste	Collines rocheuses (SO)
<i>G. conrauana</i>	Petit arbre	Versant rocheux des forêts à <i>Santiria trimera</i> (CE, OU)
<i>G. cf. elliotii</i>	Petit arbre	Lisière et sous-bois forestiers (SO)
<i>G. epunctata</i>	Petit arbre	Forêt semi-caducifoliée, galeries forestières, forêt marécageuses (AD, SO, LT, SU)
<i>G. gnetoides</i>	Petit arbre	Galeries forestières, forêt semi-décidue, sous-bois ombragé à <i>Guibourtia sp.</i> (NO, CE)
<i>G. kola</i>	Grand arbre	Zone forestière, espèce cultivée (EST, SO)
<i>G. letestii</i>	Petit arbre	Distribution peu connue (LT)
<i>G. lucida</i>	Petit arbre	Sous-bois humide, forêts bialfréennes à Caesalpiniaceae, espèce cultivée (CE, SO, LT, SU)
<i>G. mangostana</i>	Petit arbre	Espèce introduite, plantation et arboretum (OU)
<i>G. mannii</i>	Petit arbre	Forêt bialfréenne, forêt ombrophile, forêt périodiquement inondée, jachères post-culturelles (AD, CE, LT)
<i>G. nobilis</i>	Arbre	Versants abrupts des forêts denses de l'étage Submontagnard (SO, SU)
<i>G. ovalifolia</i>	Arbuste	Forêt claire, lisière forestière, forêt périodiquement inondée (EST, AD, NO, LT)
<i>G. polyantha</i>	Petit arbre	Sous-bois, forêt submontagnarde sur schistes et micaschistes, avec cuirasse ferrugineuse plus ou moins morcelée (EST, CE, NO, SO)
<i>G. preussii</i>	Petit arbre	Marécages forestiers (EST, CE, SO)
<i>G. punctata</i>	Arbuste	Forêt à Césalpiniacées, rives boisées (EST, CE, SO, LT, SU)
<i>G. smeathmannii</i>	Petit arbre	Galeries forestières (CE, OU, NO)
<i>G. staudtii</i>	Petit arbre	Forêt dense humide (LT)

I.1.3. Aperçu botanique de *Garcinia epunctata*

Garcinia epunctata est un arbre qui pousse dans les inselbergs des forêts tropicales humides allant du Sénégal, dans l'Afrique de l'Ouest, jusqu'à l'Angola en passant par la

République Démocratique du Congo (**Parmentier, 2003**). *G. epunctata* atteint 8 à 10 mètres de hauteur, son tronc peut avoir environ 25 centimètres de diamètre. Dans certaines localités on a pu constater quelques cas d'exception où le pied atteint 20 mètres de hauteur. En dehors de la taille, le houppier est parfois dense et l'écorce légèrement fissurée. Cette dernière est généralement épaisse, de couleur brun-rouge à brun verdâtre et présente une entaille blanc-jaunâtre. Les feuilles sont simples avec un limbe composé de très nombreuses nervures secondaires très marquées et parallèles. Les fleurs sont unisexuées, tétramères et verdâtres. Les fruits sont des baies de forme, de taille et de couleur variées. On en trouve des baies réniformes ou sphériques un peu aplaties et de couleur jaune-orangées qui contiennent 1 à 3 graines (**Guedje, 2002**).

Au Cameroun, cette plante a une distribution large dans la moitié sud du pays (**Guedje, 2002**). Elle a été recensée à Banyo (Région d'Adamaoua), à Lolodorf (Région du Sud), à Akwaya et Kumba (Région du Sud Ouest) et à Zingui chez les pygmées bagilli (Région de l'Est) où elle est connue sous le nom *cholé*. La même plante est appelée « *Nguiech* » chez les Bamoun. L'échantillon qui a fait l'objet de ces travaux a été récolté dans le village Malandeh situé à 3km de ESEKA, région du centre et y est appelé « *Nsomba'a* ».



(Photos: Carine EMADE 2012)

Figure 1: Tronc et feuilles de *Garcinia epunctata* (Stapf)

I.2. Usages ethnobotaniques des plantes du genre *Garcinia*

Les plantes du genre *Garcinia* ont un bois assez lourd et dur ce qui justifie leurs emplois en menuiserie, et aussi pour la fabrication du petit équipement. C'est ainsi que le bois de *G. kola* est utilisé comme traverse (construction des ponts), et le tronc dénudé de son écorce est utilisé pour fabriquer les piliers (**Guedje et al., 2000**). L'écorce du tronc de *G. livingstonei* est traditionnellement employée en cosmétique, comme un agent éclaircissant de la peau (**Draeos, 2007**).

Les graines de *G. kola*, *G. lucida* et *G. polyantha* sont consommées crues comme noix de kola (**Guedje et al., 2000**). Les fruits de *G. brevipedicellata* et de *G. cambogia* accompagnés du curry sont utilisés en Inde comme aromatisants et dans la conservation du poisson. Les fruits murs de *G. cambogia* contiennent de l'acide hydroxycitrique qui diminue l'appétit, et de ce fait sont consommés pour perdre du poids (**Ruchi et al., 2015**).

En Asie du Sud-Est, les populations utilisent les différentes parties de *G. mangoustana*, encore appelé «reine des fruits», comme remède traditionnel pour le traitement des douleurs abdominales, de la diarrhée, de la dysenterie, des infections cutanées et des ulcères chroniques (**José et al., 2008**).

Les jeunes feuilles de *G. parvifolia* ainsi que celles de *G. fusca* servent de légume et peuvent être consommées crues ou accompagnées de curry (**Xu et al., 2001**).

Au Congo, l'écorce de la racine de *G. epunctata* est utilisée comme ferment du vin de palme et de rafia (**Toirambe, 2007**).

En pharmacopée traditionnelle, on utilise les *Garcinia* soit individuellement ou en association avec d'autres plantes. Les fruits de *G. gummi-gutta* servent de traitement contre la hernie, la dysenterie, les tumeurs et les douleurs cardiaques. On emploie la décoction de ses fruits pour soulager les douleurs de rhumatisme et aussi en médecine vétérinaire. L'extrait sec permet de nettoyer les objets en or et en argent. Ils peuvent aussi être utilisés comme substitut de l'acide acétique et de l'acide formique dans la coagulation du latex. La résine jaune obtenue de ses fruits est soluble dans le turpentine et ce mélange constitue une peinture (**Vergheze, 2000**).

Les différentes parties de *G. mangostana* en association avec *G. cambogia* et *G. kola* sont utilisées en Asie pour la préparation des potions destinées à soigner les troubles des infections urino-génitales (**Awaad et al., 2013**). Ces préparations sont aussi très efficaces dans l'élimination des radicaux libres.

En Thaïlande, les feuilles et les graines de *G. dulcis* sont utilisées pour préparer des potions qui servent dans le traitement des parotides et du goitre (Deachatai et al., 2006). Au sud du Nigéria, les populations utilisent les graines de *G. kola* pour soigner le mal dentaire et prévenir les caries dentaires (Ajayi et al., 2014).

Les usages ethnobotaniques de quelques espèces de *Garcinia* au Cameroun sont donnés dans le tableau II.

Tableau II: Usages traditionnels des espèces du genre *Garcinia* repertoriées au Cameroun (Guedje, 2000)

Usage	Type d'utilisation	Partie utilisée	Espèce
Alimentation	Fruits comestible	Pulpe du fruit	<i>G. kola</i> , <i>G. afzelii</i> , <i>G. epunctata</i> , <i>G. mannii</i> , <i>G. polyantha</i>
	Noix à croquer	Graine	<i>G. kola</i> , <i>G. lucida</i> , <i>G. mannii</i>
	Ferments ou adjuvants des sèves de palmier à huile ou raphia	Ecorce, Graine, Ecorce de racine, pivot	<i>G. lucida</i> , <i>G. kola</i> , <i>G. mannii</i> <i>G. lucida</i> , <i>G. kola</i>
Médecine traditionnelle	Affections ORL.	Graine, écorce.	<i>G. kola</i> , <i>G. mannii</i> .
	Affections buccales, Affections gastroentérites	Rameaux, Ecorces, graines, feuilles.	<i>G. kola</i> , <i>G. afzelii</i> <i>G. lucida</i> , <i>G. kola</i> , <i>G. mannii</i> , <i>G. epunctata</i> .
	Affections gynécologiques et MST	Ecorce	<i>G. lucida</i> , <i>G. kola</i> , <i>G. epunctata</i> .
	Affections oculaires	Ecorce	<i>G. mannii</i>
Excitant	Stimulant, Aphrodisiaque.	Graine, Ecorce, racine pivot.	<i>G. kola</i> , <i>G. lucida</i> , <i>G. mannii</i> <i>G. kola</i> , <i>G. mannii</i> , <i>G. staudtii</i>
Antidote	Contre poison et venin	Graine, écorce.	<i>G. lucida</i>
Astringent		Graine	<i>G. kola</i>
Equipement	Pilon, Couvercle de marmite, Appât chasse, Levier piège,	Racine, pivot. Feuilles, Graines, Tige.	<i>G. kola</i> <i>G. lucida</i> <i>G. lucida</i> <i>G. mannii</i> , <i>G. staudtii</i>
Ouvrage	Matériel de construction	Fût	<i>G. kola</i>
Autres	Contre les mauvais Esprits, Insectifuge.	Feuilles	<i>G. lucida</i>

II. TRAVAUX PHYTOCHIMIQUES ET BIOLOGIQUES ANTERIEURS

II.1. Différentes classes de métabolites secondaires isolés des plantes du genre *Garcinia*

Les plantes produisent de nombreux et divers composés organiques qui ont chacun une fonction dans le processus de développement, de maintien et de la reproduction de la plante: ce sont les métabolites primaires. Mais pendant le déroulement de ces réactions essentielles, il se forme d'autres produits organiques qui n'interviennent pas directement dans la survie de ces plantes dans les conditions naturelles, ils sont donc stockés dans les tissus de réserve. Ce sont les métabolites secondaires qui sont utiles quand la plante se trouve dans des conditions d'agression. A ce moment, ils sont utilisés ou convertis en composés qui interviennent dans la défense de la plante (**Wink, 2010**).

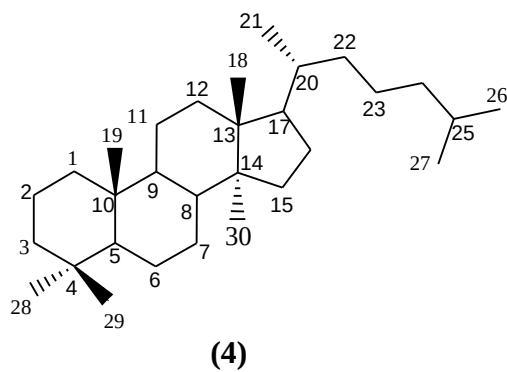
Les chimistes se sont intéressés à la nature chimique des métabolites secondaires des plantes afin de trouver leurs usages dans les différents aspects de la vie et ont fait ressortir qu'ils appartiennent à des classes chimiques très variées comme: les stérols, les alcaloïdes, les triterpènes, les composés phénoliques, les flavonoïdes etc...

Dans le cas des plantes du genre *Garcinia* les travaux ont montré qu'elles sont très riches en métabolites secondaires appartenant à plusieurs classes de composés chimiques.

II.1.1. Les triterpènes isolés des plantes du genre *Garcinia*

Les triterpènes forment une vaste classe de métabolite secondaire polycyclique dont le squelette carboné, comporte 30 atomes de carbones, élaborés avec six unités d'isoprène (composé organique ayant cinq atomes de carbone). Selon le nombre de cycles et la position des groupements méthyles portés sur le squelette de base considéré, les triterpènes sont répartis en plus de 40 sous-classes différentes (**Connolly et Hill, 2002**). On distingue les sous-classes de frideane, oleanane, lupane, dammarane, cycloartane. Ces composés existent dans les plantes soit sous formes libres (sapogénines), soit liées à une ou plusieurs molécules de sucres (saponines) (**Bruneton, 1993**). On distingue deux grands groupes de ces métabolites:

- Ceux qui possèdent le squelette carboné stéroïdique (stéroïdes et stérols): Ils ont dans leurs structures de base quatre cycles;
- Ceux qui possèdent le squelette carboné des triterpènes et qui ont pour la plus grande majorité, des structures à cinq cycles. On note quand même quelques cas rares appartenant à la sous-classe de lanostane (**4**) qui possèdent quatre cycles.



La plupart des triterpènes caractérisés dans le genre *Garcinia* et selon la nature de leurs squelettes, appartiennent à cinq sous-classes: fridelane, lupane, lanostane, cycloartane, et oléane. Quelques exemples sont consignés dans les tableaux III, IV et V.

Tableau III: Exemples de triterpènes tétracycliques des plantes du genre *Garcinia*

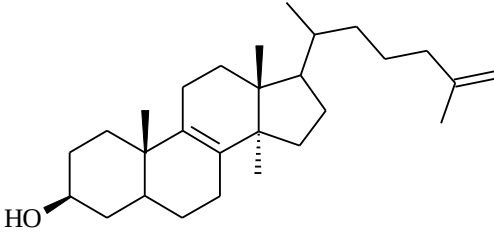
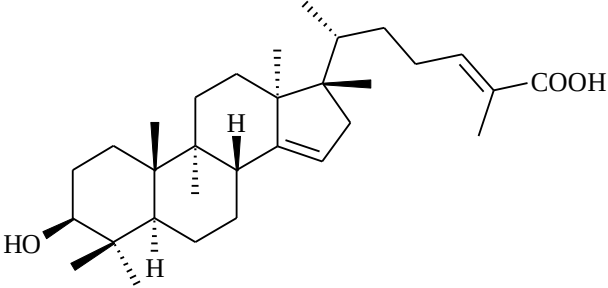
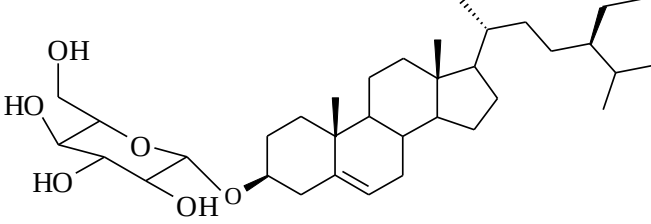
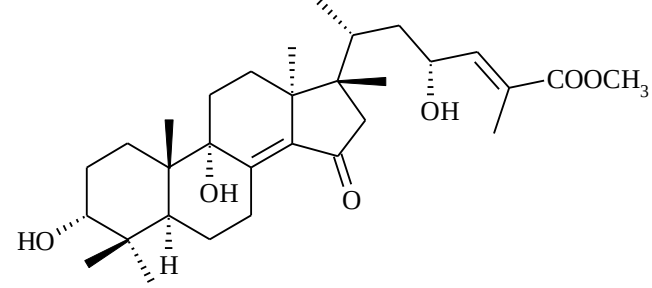
Sous-classe	Structure, nom, source et référence		Sous-classe	Structure, nom, source et référence
stérol	 Stigmastérol (5) <i>G. rigida</i> (feuilles), (Berna et al., 2011)		lanostane	 Garcihombronane K (7) <i>G. hombroniana</i> (tiges), (Saranyoo et al., 2013)
	 Daucostérol (6) <i>G. cowa</i> (fruits), (Shen et Yang., 2006)			 Garcihombronane L (8) <i>G. hombroniana</i> (tiges), (Saranyoo et al., 2013)

Tableau IV: Exemple de triterpènes pentacycliques des plantes du genre *Garcinia*

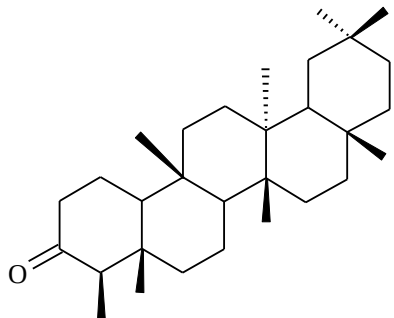
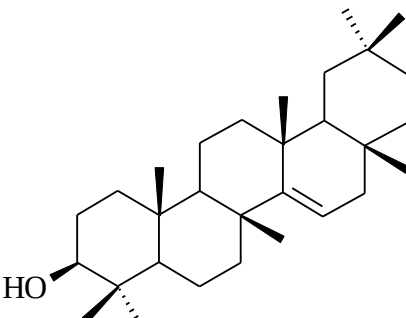
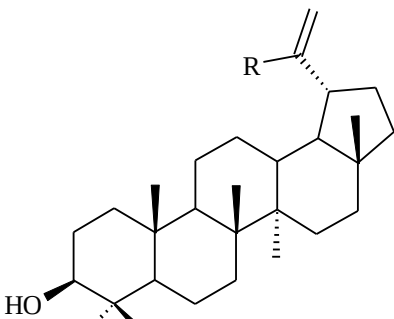
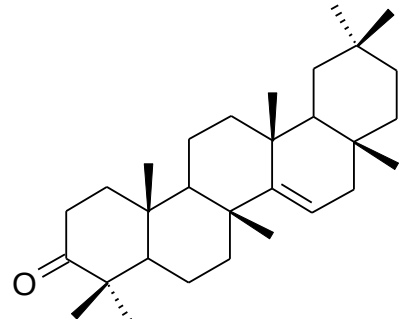
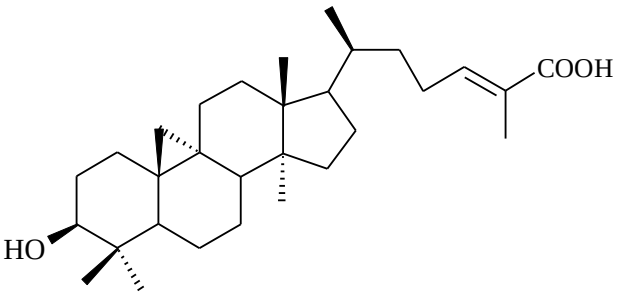
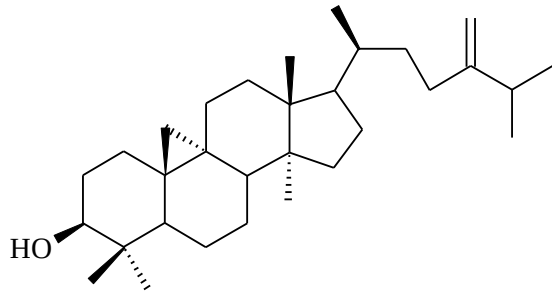
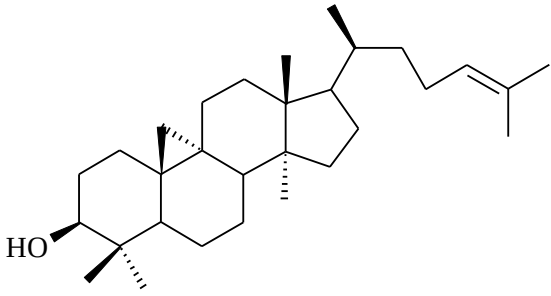
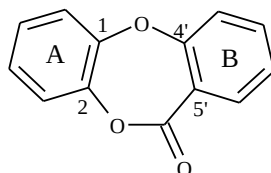
Sous-classe	Structure, nom, source et référence	Sous-classe	Structure, nom, source et référence
fridélane	 Fridéline (9) <i>G. rigida</i> (feuilles), (Berna et al., 2011)		 Téraxérol (13) <i>G. prainiana</i> (tiges et feuilles), (Shukranul et al., 2012)
lupane	 R=CH₃: Lupéol (10) R=CHO: 3-β-hydroxy-20(29)-en-lupan-30-al (11) R=CH₂OH : 3β-hydroxy-20(29)-en-lupan-30-ol (12) <i>G. rigida</i> (feuilles), (Berna et al., 2011)	oléanane	 Téraxérone (14) <i>G. prainiana</i> (tiges et des feuilles), (Shukranul et al., 2012)

Tableau V: Exemple de triterpènes pentacycliques et cyclopropaniques des plantes du genre *Garcinia*

Sous-classe	Structure, nom, source et référence	Sous-classe	Structure, nom, source et référence
cycloartane	 Acide magniférolique (15) <i>G. eugenifolia</i> (racines), (Jong et al., 2013)	cycloartane	 24-méthylènegycloartanol (17) <i>G. kola</i> (graines), (Ajati et al., 2014)
	 Cycloarténol (16) <i>G. kola</i> (graines), (Ajati et al., 2014)		

II.1.2. Les depsidones et cinnamates isolés des plantes du genre *Garcinia*

Les depsidones sont des molécules organiques dont le squelette de base est composé de deux noyaux benzéniques A et B, liés par deux liaisons hétérotopiques: l'une étant une liaison éther en position 1-4' et l'autre, une liaison ester en position 2-5' (**18**).

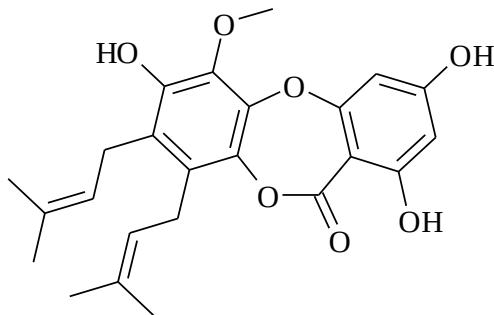
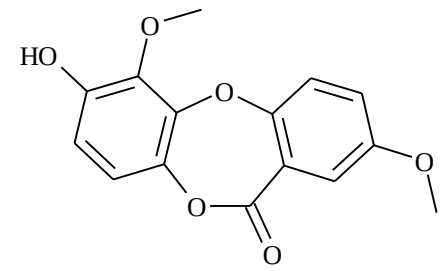
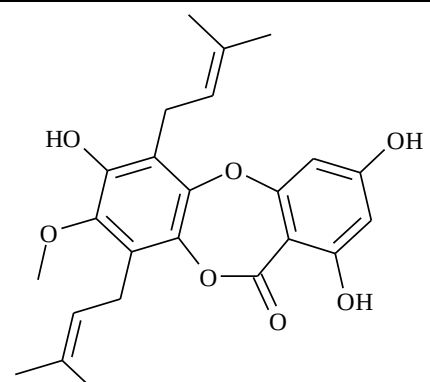
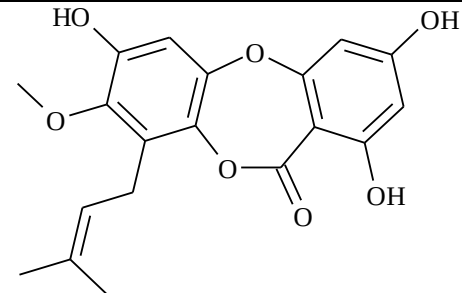
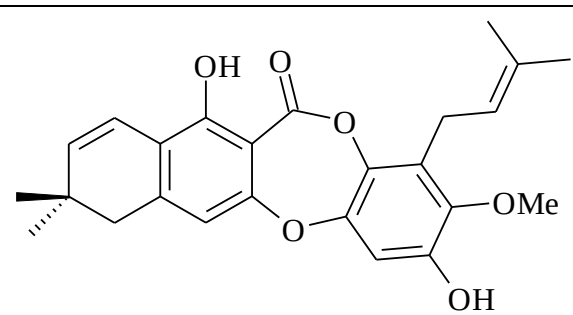
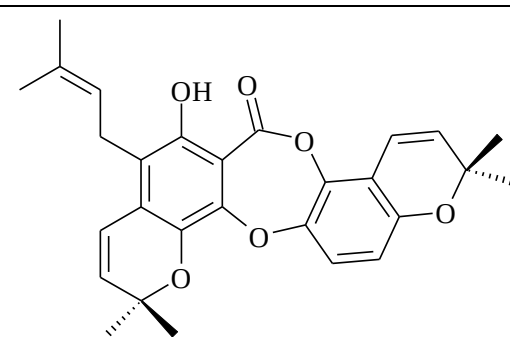
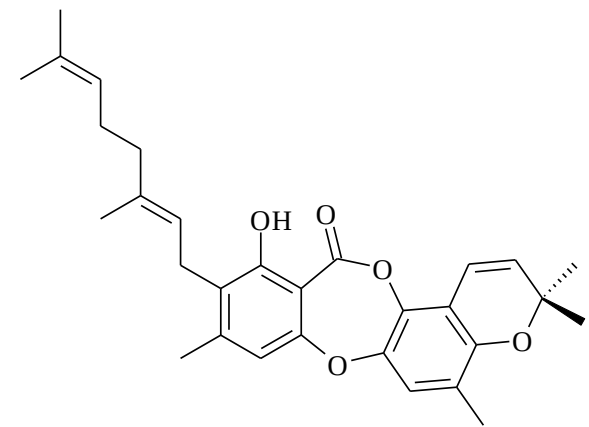


(18)

Cette classe de composés constitue un groupe peu répandu chez les *Garcinia*. On peut citer atrovirisdone A (**19**) et atrovirisdone B (**20**) obtenus des racines de *G. atroviridis* (**Dharma et al., 2005**), brevipsidone (**21**) isolé de *G. brevipedicellata* (**Ngoupayou et al., 2007**), et Cowadepsidone (**22**) isolé pour la première fois des tiges de *G. cowa* (**Cheenpracha et al., 2011**).

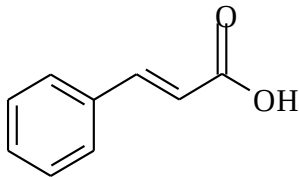
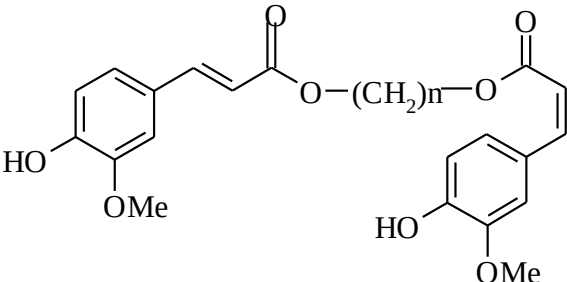
On observe parfois une cyclisation du groupement prenyl avec un groupement hydroxyle, ceci pour donner un depsidone tétra ou penta-cyclique comme le montre les garcinisidone B (**23**) et garcinisidone C (**24**), isolés de *G. neglecta* (**Ito et al., 2001**) ou le parvifolidone B (**25**) isolé de *G. parvifolia* (**Ruckachaisirikul et al., 2006**).

Tableau VI: Exemple de depsidones isolés des plantes du genre *Garcinia*

Structure et nom	Structure et nom
 Atrovirisidone A: (19)	 brevipsidone (21)
 Atrovirisidone B: (20)	 Cowadepsidone: (22)
 Garcinisidone B: (23)	 Garcinisidone C: (24)
 Parvifolidone B (25)	

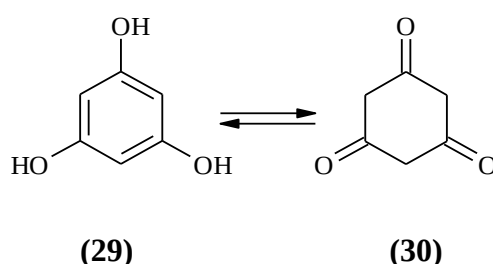
Les cinnamates sont les dérivés (soient les sels, soient les esters avec des alcools différents) de l'acide cinnamique (26). L'étude phytochimique des écorces du tronc de *Garcinia multiflora* a permis d'isoler et de caractériser, un mélange de deux dérivés des cinnamates: (1*E*, 22*Z*) - 1, 22 - diferuloyloxyteracosane (27) et (1*E*, 22*Z*) - 1, 24 - diferuloyloxyteracosane (28) (Chiang et al., 2003).

Tableau VII: Exemple de cinnamates isolés des plantes du genre *Garcinia*

Structure et nom	Structure et nom
 Acide cinnamique (26)	 n= 22: (1<i>E</i>, 22<i>Z</i>) - 1, 22- diferuloyloxyteracosane (27) n=24: (1<i>E</i>, 22<i>Z</i>) - 1, 24 -diferuloyloxyteracosane (28)

II.1.3. Les phloroglucinols isolés des plantes du genre *Garcinia*

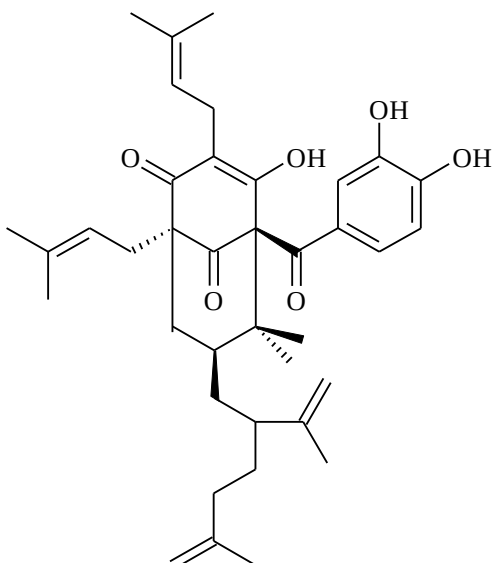
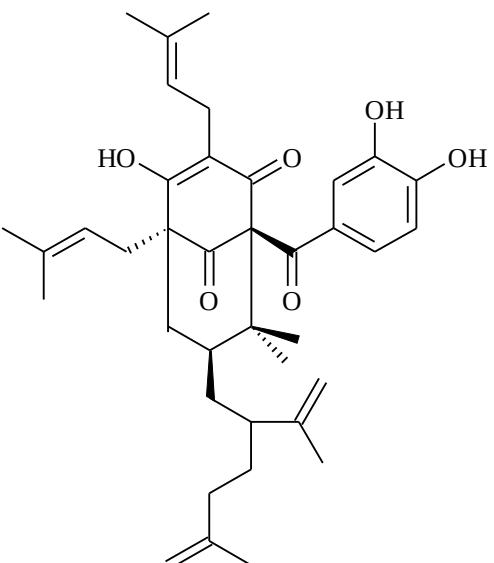
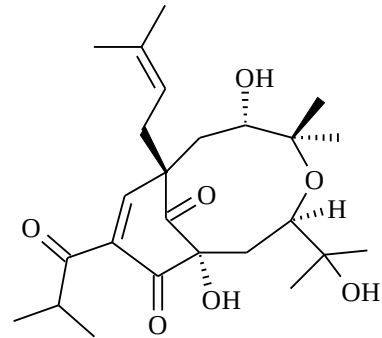
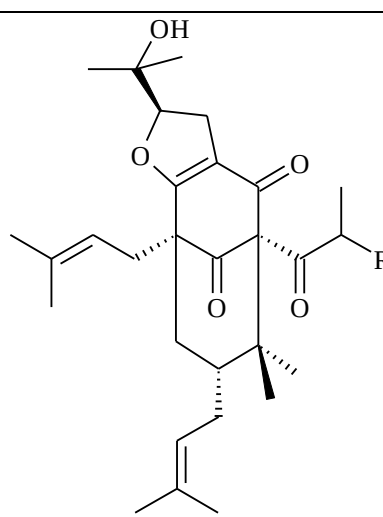
Le phloroglucinol aussi connu sous le nom 1,3,5-trihydroxybenzène (29) est un composé organique qui existe sous deux formes tautomériques. En plus de la structure (29) qui présente des fonctions phénoliques, il y a le 1,3,5-cyclohexanetrione (phloroglucine) (30) qui possède des fonctions cétones.



Ces deux tautomères sont en équilibres, avec une proportion plus importante de la forme 1,3,5-trihydroxybenzène (29) car, elle est stabilisée par l'aromaticité du noyau benzénique. Aux squelettes primitifs (29) et (30), peuvent se substituer des chaînes carbonées et / ou des cycles. Cinq phloroglucinols ont été caractérisés du tronc du bois de *Garcinia subelliptica* dont une paire de tautomère: les garcinielliptones FC (31a et 31b), un

phloroglucinol à chaîne macrocyclique: garcinielliptone HF (32), et deux autres phloroglucinols ayant un cycle furannique: garsubellins D (33) et garsubellins E (34) (Chien-Chang et al., 2008).

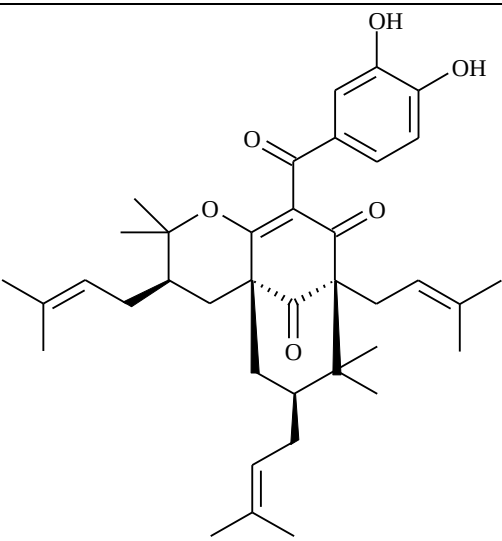
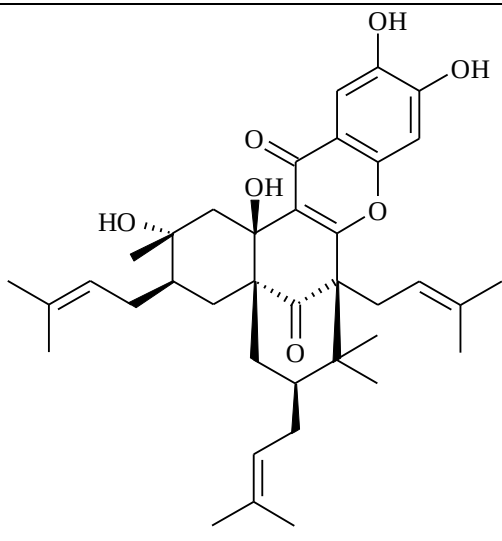
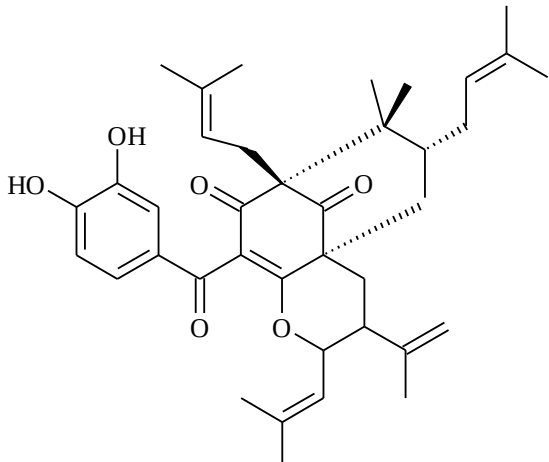
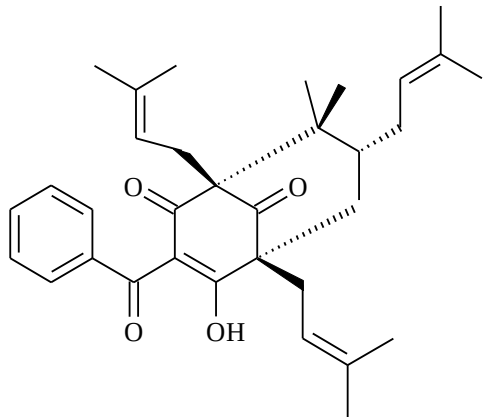
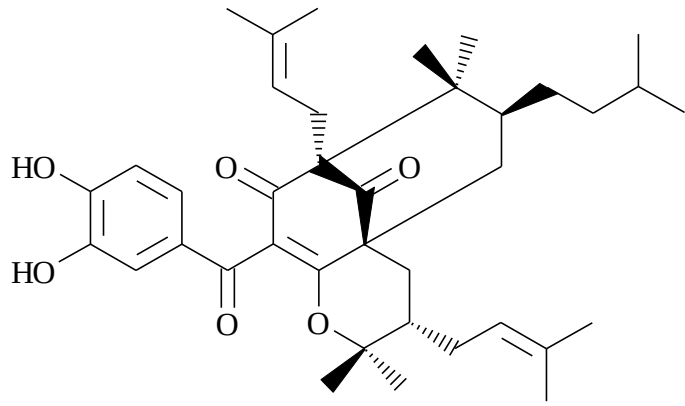
Tableau VIII : Quelques phloroglucinols isolés du bois de *G. subelliptica* (Chien-Chang et al., 2008)

Structure et nom	Structure et nom
 Garcinielliptones FC (31a)	 Garcinielliptones FC (31b)
 Garcinielliptone HF (32)	 R= CH₃: Garsubellins D (33) R=CH₂CH₃: Garsubellins E (34)

Parmis les phloroglucinols isolés des *Garcinia*, on connaît l'isoxanthocimol (**35**) et la garcinialone (**36**) isolés des racines de *G. multiflora* (Shih-Chang et al., 2008). Les structures des deux composés (**35**) et (**36**) se ressemblent, car elles comportent chacune un noyau aromatique disubstitué par deux groupements hydroxyles, et trois groupement prényles, mais diffèrent par la présence d'un cycle pyrone dans le composé (**36**), qui est absent dans le composé (**35**).

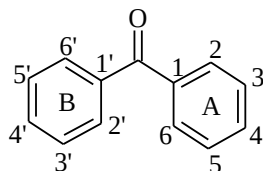
Bien que le garcinialiptone B (**37**) et le 7-*epi*-clusianone (**38**) isolés de *G. preussii*, ainsi que l'épunctanone (**39**) isolés de l'écorce de *G. epunctata* présentent le même squelette que certains des phloroglucinols ci-dessus cités, leurs auteurs les ont décrit comme étant des benzophenones (Bilola et al., 2014; Fotso et al., 2014).

Tableau IX: Autres phloroglucinols isolés des plantes du genre *Garcinia*

Structure et nom	Structure et nom
 Isoxanthocimol (35)	 Garcinialone (36)
 Garcinialiptone B (37)	 7-<i>epi</i>-clusianone (38)
 Epunctanone (39)	

II.1.4. Les benzophénones isolés des plantes du genre *Garcinia*

Les benzophénones forment une classe de métabolite secondaire dont le squelette de base est le diarylméthanone **(40)**.



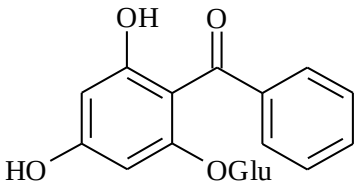
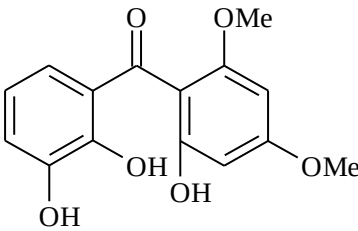
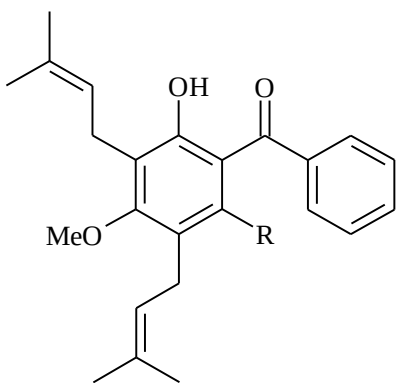
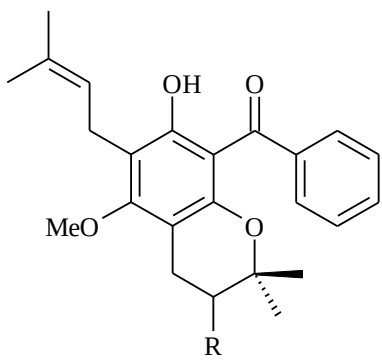
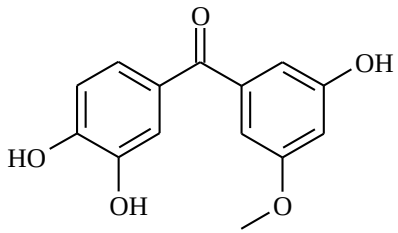
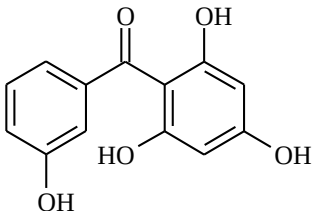
(40)

La structure de base **(40)** peut porter de nombreux substituants divers tels que les groupements hydroxyle, méthoxyle et prényle. En plus, les cyclisations donnent à cette famille une grande diversité structurale.

En effet, les travaux phytochimiques effectués sur les différentes espèces de *Garcinia* ont permis de caractériser des benzophénones ayant des structures variées. C'est le cas de garcinomangosone-D **(41)** décrite de *G. mangostana* (Huang et al., 2001) et de la 2',3',6-trihydroxy-2,4-diméthoxybenzophénone **(42)** isolé de *G. subelliptica* (Minami et al., 1998). Plus loin, les composés ci après: vismiaphénone-C **(43)**, muctiaphénone-A **(44)**, myrtiaphénone-B **(45)** et pseudoguttiaphénone-A **(46)**, sont quatre benzophénones précédemment décrits de *G. pseudoguttifera* (Ali et al., 2000).

Deux benzophénones la (3',4'-dihydroxyphényl)(3-hydroxy-5-méthoxyphényl) méthanone **(47)**, et la (3'-hydroxyphényl)(2,4,6-trihydroxyphényl) méthanone **(48)** ont été isolées des racines de *G. eugenifolia* (Jong et al., 2012).

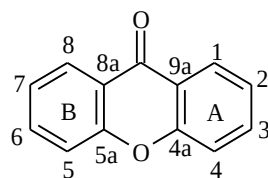
Tableau X: Exemples de benzophénones isolés des plantes du genre *Garcinia*

Structure et nom		Source et référence
 Garcinomangosone-D (41)	 2',3',6-trihydroxy-2,4-diméthoxybenzophénone (42)	<i>G. mangostana</i> (Huang et al., 2001)
 R=H: Vismiaphénone-C (43) R=OCH₃: Muctiaphénone-A (44)	 R=H: Myrtiaphénone-B (45) R=OH: Pseudoguttiaphénone-A (46)	<i>G. pseudoguttifera</i> (Ali et al., 2000).
 (3',4'-dihydroxyphényl)(3-hydroxy-5-métoxyphényl) méthanone (47)	 (3'-hydroxyphényl)(2,4,6-trihydroxyphényl) méthanone (48)	<i>G. eugenifolia</i> (Jong et al., 2012).

II.1.5. Les xanthones isolées des plantes de la famille Clusiaceae.

Les xanthones sont des composés phénoliques qui présentent dans leurs structures chimique, le motif dibenzo- γ -pyrone ou xanthene-9-one (49). Ce squelette de base est

symétrique et les deux noyaux aromatiques associés sont désignés A et B. La numérotation des atomes de carbone dans ce squelette se fait par convention. Ainsi, les numéros 1 à 4 sont attribués aux atomes de carbone du noyau A qui dérive bio synthétiquement des unités acétates tandis que les numéros 5 à 8 sont attribués aux atomes de carbones du noyau B qui dérive de l'unité shikimate.



(49)

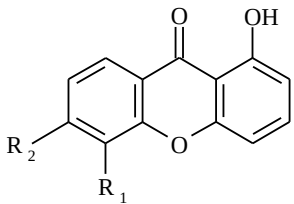
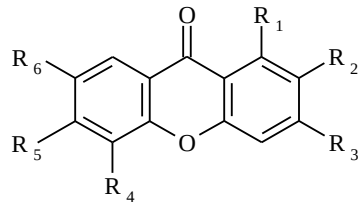
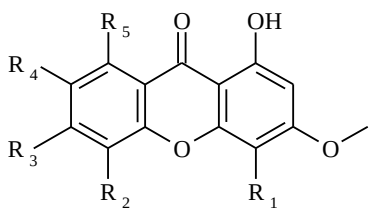
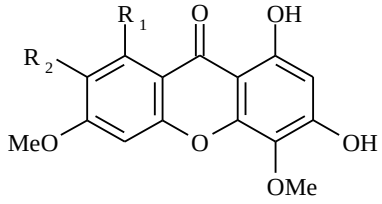
Les xanthones sont de couleur jaune et sont très connus comme phytonutriments ayant un potentiel santé très bénéfique. Les xanthones naturelles sont abondantes dans les familles Polygalaceae, Moraceae, et Clusiaceae (**Peres et al., 2000**).

Les xanthones décrites dans la famille Clusiaceae montrent une grande diversité structurale. D'une façon générale, on classe ces xanthones en six sous-classes principales en fonction des substituants qui se trouvent sur le squelette de base: On distingue les xanthones oxygénées, les xanthones glycosylées, les xanthones prénylées, les bixanthones, les xanthonolignoides et les furanoxanthones (**Peres et Naguem, 1997**).

II.1.5.1 Les xanthones oxygénées simples

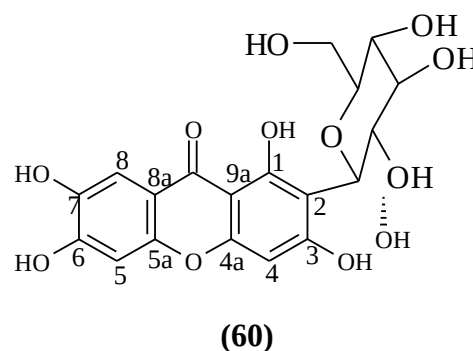
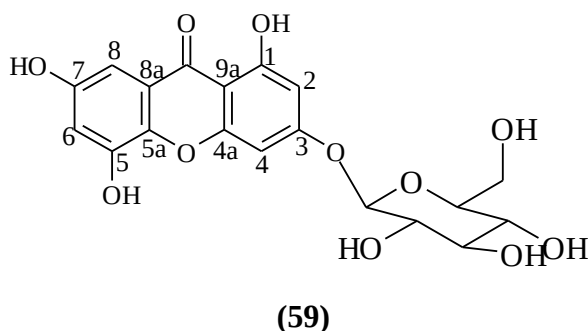
Les xanthones de cette sous-classe portent sur leurs squelettes de base des groupements hydroxyles et/ou méthoxy. Selon le nombre de ces substituants oxygénés, on distingue: les xanthones mono-oxygénées (possèdent un seul groupement hydroxyle), les xanthones di-oxygénées (possèdent deux groupements hydroxyle et/ou méthoxyle), les xanthones tri-oxygénées (possèdent trois groupements hydroxyle et/ou méthoxyle), les xanthones tétra-oxygénées (possèdent quatre groupements hydroxyle et/ou méthoxyle), les xanthones penta-oxygénées (possèdent cinq groupements hydroxyle et/ou méthoxyle) et les xanthones hexa-oxygénées (possèdent six groupements hydroxyle et/ou méthoxyle) (**Peres et Naguem, 1997**). Des exemples de xanthones oxygénées isolées du genre *Garcinia* sont consignés dans le tableau XI.

Tableau XI: Exemples de xanthones oxygénées isolées du genre *Garcinia*

Sous classes	Structures et noms	Sources et références
Xanthones di-oxygénées	 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}$; 1,5-Dihydroxyxanthone (50) $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}$; 1,6-Dihydroxyxanthone (51)	<i>G. afzelii</i> Engl (Graines) (Méli et al., 2010) <i>G. cowa</i> (tiges) (Panthong et al., 2009)
Xanthones tri-oxygénées	 $R_1 = R_6 = \text{OMe}, R_2 = \text{OH}, R_3 = R_4 = R_5 = \text{H}$; 2-Hydroxy-1,7-diméthoxyxanthone (52) $R_1 = R_5 = \text{OH}, R_2 = R_3 = R_6 = \text{H}, R_4 = \text{OMe}$; 1,6-Dihydroxy-5-méthoxyxanthone (53) $R_1 = R_3 = R_4 = \text{OH}, R_2 = R_5 = R_6 = \text{H}$; 1,3,5-Trihydroxyxanthone (54)	<i>G. afzelii</i> Engl (Graines) (Méli et al., 2010)
Xanthones tétra-oxygénées	 $R_1 = R_2 = \text{H}, R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{OMe}, R_5 = \text{Prényl}$; Garcicowanone A (55) $R_1 = \text{Géranyl}, R_2 = R_5 = \text{OH}, R_3 = R_4 = \text{H}$; 3-Méthoxycheffouxanthone (56)	<i>G. cowa</i>, (fruits immatures) Auranwiwat et al., 2014) <i>G. afzelii</i> (grains) (Méli et al., 2010)
Xanthones penta-oxygénées	 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}$; Garcihombronone C (57) $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}$; Garcihombronone D (58)	<i>G. hombroniana</i> (tige) (Saranyoo et al., 2013)

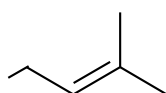
II.1.5.2. Les xanthones glycosilées

Les fonctions phénoliques dans les xanthones peuvent être liées à une ou plusieurs molécules de sucres et ils se forment les glycosides. Ces derniers composés définissent la sous classe des xanthones glycosilées. On distingue les O-glycosides (ils sont hydrolysables) dans lesquels l'aglycone est lié au sucre par un atome d'oxygène et les C-glycosides (ils ne sont pas hydrolysables) dans lesquels, entre l'aglycone et le sucre il y a une liaison carbone - carbone. Pour le moment, très peu de membres de cette sous classe sont connus et il n'y a pas de représentant parmi les composés isolés du genre *Garcinia*. Comme exemples des xanthones O-glycosilées, on a la 3-O-D-glucopyranosyl-1,5,7-trihydroxyxanthone (**59**), de nom trivial Patuloside A, isolé de *Hypericum patulum* (Clusiaceae). Parmi les xanthones C-glycosilées, on connaît la 2-C-D-glucopyranosyl-1,3,6,7-tétrahydroxyxanthone (**60**), de nom trivial mangiférin, aussi isolé de *Hypericum patulum* (Hostetmann et Wagner, 1977).

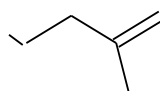


II.1.5.3. Les xanthones prénylées

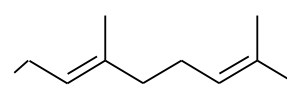
Les structures des xanthones isolées de la famille Clusiaceae portent souvent un ou plusieurs groupements prenyles simples [(prényl **(61a)** ou isoprenyl **(61b)**, ou leurs dimers geranyl **(62)**]. Les études sur les plantes de plusieurs genres de la famille des Clusiaceae, montrent que le genre *Garcinia* est très riche en xanthones prénylées (Bennett et Lee., 1989). Par exemple, *Garcinia cowa*(Roxb) contient la 3-O-méthylcowaxanthone (**63**), la 7-O-méthylgarcinone (**64**), la Cowaxanthone (**65**), le α -mangostine (**66**), et le cowanin (**67**) (Mahabusarakam et al., 2005; Zhi et al., 2013).



Groupe ment prenyl (**61a**)

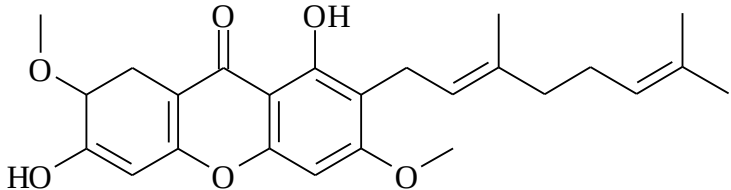
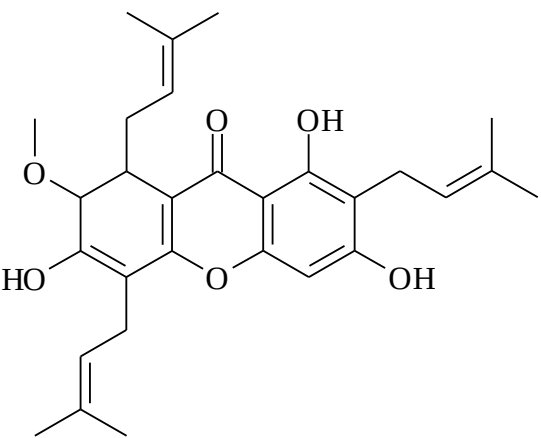
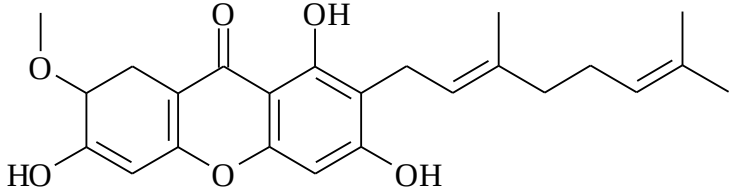
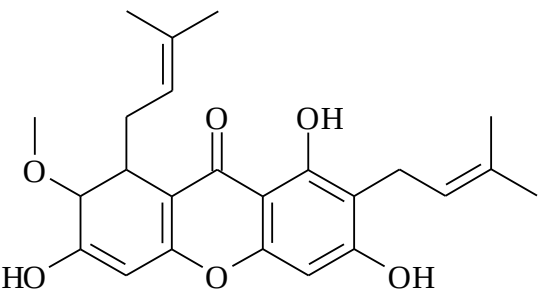
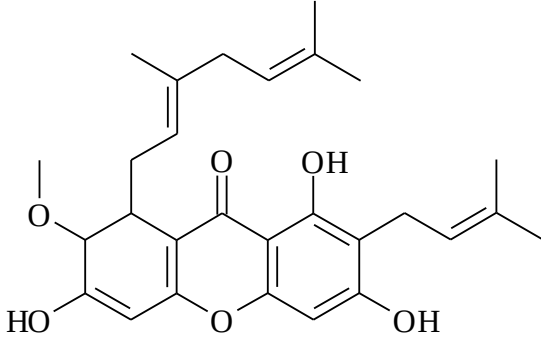


Groupe ment isoprenyl (**61b**)



Groupe ment geranyl (**62**)

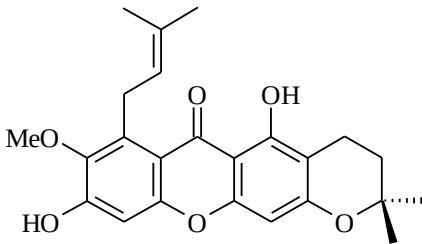
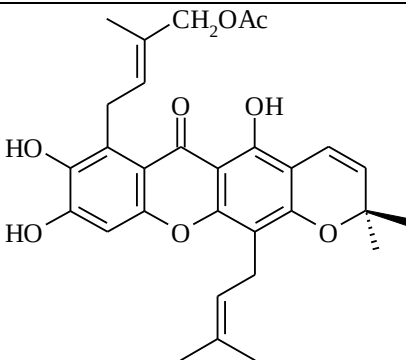
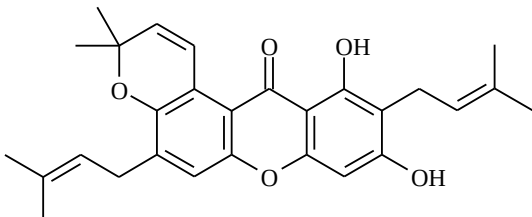
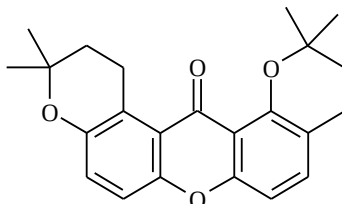
Tableau XII: Exemples de xanthones prénylées isolées des plantes du genre *Garcinia*

Structure et nom	Structure et nom
 3-O-méthylcowaxanthone (63)	 7-O- méthylgarcinone (64)
 la Cowaxanthone (65)	 α-mangostine (66)
 le cowanin (67)	

Dans les structures de certains composés de cette sous-classe, on a constaté que le substituant prényle, isoprényle ou géranyle peut subir une cyclisation oxydative avec une fonction phénol adjacente en position *ortho* formant ainsi un noyau chromane à six atomes qui, par la suite, peut subir une déshydrogénation enzymatique pour donner un noyau chromène. Ce sont ces structures qui enrichissent d'avantage la diversité de cette sous-classe. On connaît le 3-isomangostine (68), isolé des fruits de *G. mangostana*. C'est le produit de la

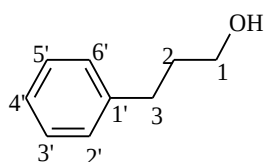
cyclisation entre le groupement prényl en position 2 de l' α -mangostine (**66**) et son groupement hydroxyle en position 3. (Walker 2007). D'autres exemples sont le bannaxanthone I (**69**), le dulcisxanthone A (**70**) et l'isonormangostine (**71**), tous isolés de *G. xipshuanbannaensis* (Zhi et al., 2010).

Tableau XIII: Xanthones isolées des plantes du genre *garcinia* et ayant un noyau chromane ou un noyau chromène

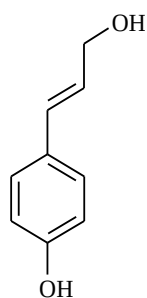
Structure et nom	Structure et nom
 3-isomangostine (68)	 Bannaxanthone I (69)
 Dulcisxanthone A (70)	 Isonormangostine (71)

II.1.5.4. Les xanthonolignoides

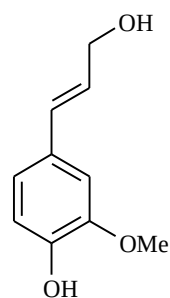
Les xanthonolignoides résultent du couplage entre une xanthone et un monolignol. Les monolignols sont des dérivés de 3-phénylpropan-1-ol (**72**) (Haworth et al., 1936). Le couplage naturel entre une xanthone et une unité monolignol (phénylpropanol) telle que l'alcool *p*-coumarylique (**73**), l'alcool coniférylique (**74**) ou l'alcool sinapylique (**75**) conduit à un xanthonolignoïde. (Lainé et al., 2007). Actuellement très peu de xanthonolignoides naturels sont décrits et aucun ne provient d'une espèce du genre *Garcinia*. On connaît la kielcorine (**76**) isolé de *Hypericum canariensis*, une plante de la famille des Clusiaceae (Cardona et al., 1986).



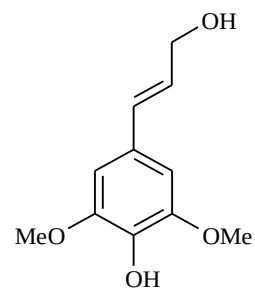
(72)



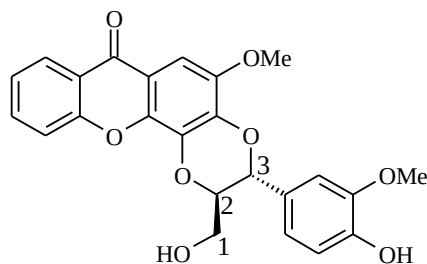
(73)



(74)



(75)

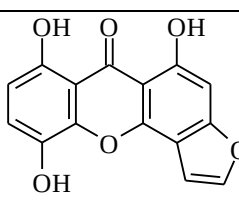
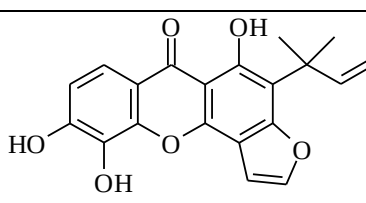


(76)

II.1.5.5. Les furanoxanthones

Dans certaines xanthones, la cyclisation d'un groupement prényl conduit à la formation d'un hétérocycle penta atomique, qui par la suite perd un groupement isopropyl, puis subit une déshydrogénation pour se transformer en noyau furane. Les furanoxanthones possèdent donc un noyau furane accolé au squelette de base de la xanthone. Garcihombronone A (77) et penangianaxanthone (78) sont des furanoxanthones, isolées des tiges de *G.hombroniana* et des feuilles de *G. penangiana* respectivement. (Jabita et al., 2007; Saranyoo et al., 2013).

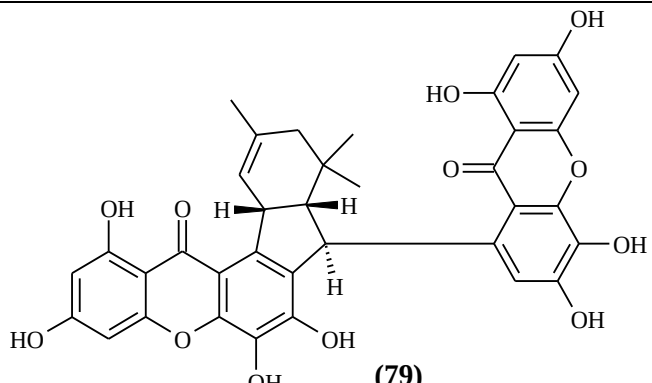
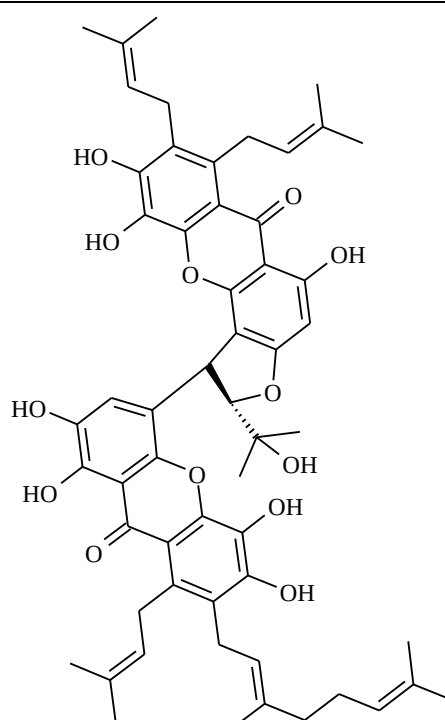
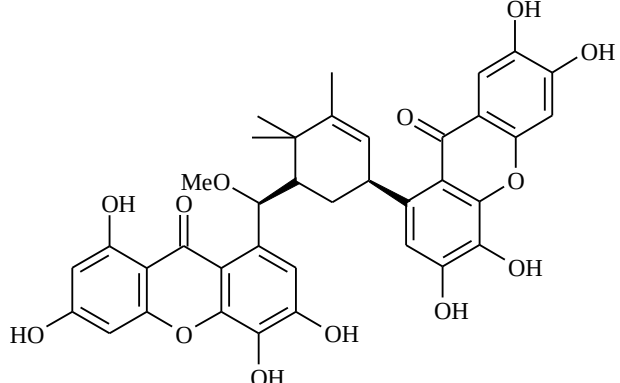
Tableau XIV: Exemples de furanoxathones isolées des plantes du genre *Garcinia*

Structure, nom, source et référence	Structure, nom, source et référence
 Garcihombronone A (77) tiges de <i>G.hombroniana</i> (Jabita et al., 2007)	 Penangianaxanthone (78) feuilles de <i>G. penangiana</i> (Saranyoo et al., 2013)

II.1.5.6. Les bixanthonnes

Comme le nom l'indique, ce sont des dimers des xanthonnes. On constate que la liaison entre les deux unités xanthonnes peut se faire avec un atome de carbone du noyau aromatique de l'une des unités xanthonnes et l'un des atomes de carbone du groupement prényl (qui s'est cyclisé) de l'autre unité xanthone, comme dans le cas de la griffipavixanthone (**79**) constituant de *G. griffithii* et de la bigarcinenone A (**80**) isolé de *G. pavifolia* (Yuan et al., 1998; Fang et al., 2008). Dans la structure de certaines bixanthonnes, la liaison inter xanthonique est formée par la cyclisation des substituants prényls des deux unités xanthonnes. C'est le cas avec la structure de la garciobioxanthone (**81**), composé isolé des écorces de *G. oblongifolia* (Shixiu et al., 2014).

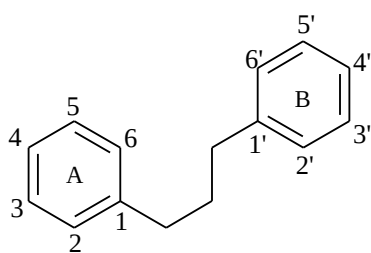
Tableau XV: Exemples de bixanthonnes isolées des plantes du genre *Garcinia* (Shixiu et al., 2014).

Structure, nom et source	Structure, nom et source
 (79) Griffipavixanthone (79) <i>G. griffithii</i>	 (80) Bigarcinenone A (80) <i>G. pavifolia</i>
 (81) Garciobioxanthone (81) écorces de <i>G. oblongifolia</i>	

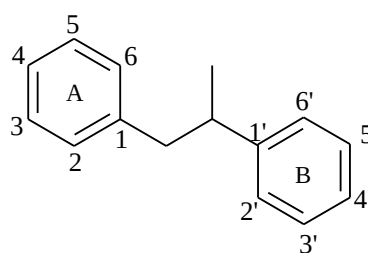
II.1.6. Les flavonoïdes et les biflavonoïdes

II.1.6.1. Les flavonoïdes

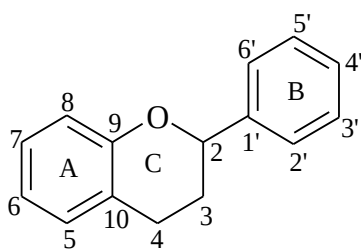
Les flavonoïdes sont un groupe de composé polyphénolique qui est responsable de la coloration de plusieurs tissus dans les plantes. Actuellement plus de 10000 flavonoïdes et dérivés sont connus et un grand nombre présente les propriétés biologiques. (**Farkas et al., 2004**). Ils possèdent un squelette carboné de base à quinze atomes de carbones, composé de deux noyaux aromatiques A et B portés par une courte chaîne de trois atomes de carbones, soit en positions 1,3 (flavonoïdes réguliers **82a**) soit en positions 1,2 (isoflavonoïdes, **82b**). Tous les atomes de carbone de ce squelette peuvent avoir plusieurs substituants oxygénés, ce qui permet la formation d'un troisième cycle (noyau C), d'où l'obtention du noyau benzopyrane (**83a** et **83b**) observé dans la plus part des structures et ceci explique la grande diversité structurale présentée par ce groupe de composés.



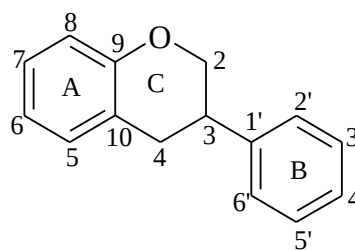
(82a)



(82b)



(83a)



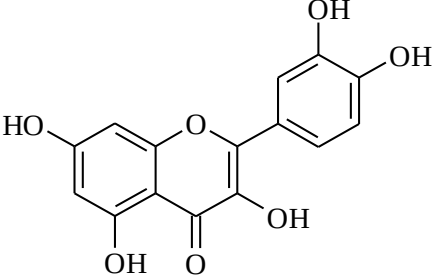
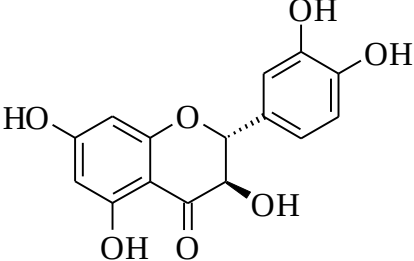
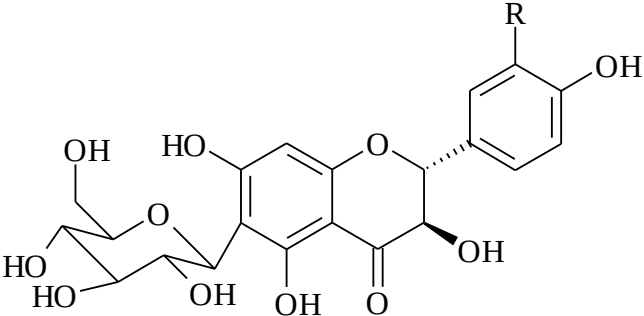
(83b)

Comme les squelettes de ces composés portent souvent plusieurs substituants oxygénés ou carbonylés, leurs positions sont précisées en considérant les atomes du noyau A comme ceux qui proviennent de la condensation de l'unité acétate et ceux du noyau B comme provenant de la phénylalanine via l'acide cinnamique (**Paris et Moyse, 1965**). Les atomes de carbone dans le noyau C sont numérotés d'abord avec l'atome d'oxygène hétérotopique portant toujours le numéro 1 comme dans les deux exemples (**83a** et **83b**).

II.1.6.2. Les flavonoïdes isolés des plantes du genre *Garcinia*

Les études phytochimiques des plantes du genre *Garcinia* ont permis de caractériser plusieurs flavonoïdes comme la quercétine (**84**) et (2*R*,3*R*)-taxifoline (**85**) isolés respectivement des écorces de *G. cowa* (Shen et al., 2007) et des écorces de *G. buchananii*. (Timo et al., 2012). On connaît aussi les glucosides de flavonoïdes tel que le (2*R*,3*R*)-taxifoline-6-*C*-*D*-glucopyranoside (**86**) et (2*R*,3*R*)-aromadendrin-6- β -*D*-glucopyranoside (**87**) caractérisés respectivement des écorces de *G. epunctata* (Tanyi et Tanee, 1989) et des écorces de *G. buchananii* (Timo et al., 2012).

Tableau XVI: Exemples de flavonoïdes isolés des plantes du genre *Garcinia*

 Quercétine (84) écorces de <i>G. cowa</i> (Shen et al., 2007)	 (2<i>R</i>,3<i>R</i>)-taxifoline (85) écorces de <i>G. buchananii</i>. (Timo et al., 2012)
 R = OH: (2<i>R</i>,3<i>R</i>)-taxifoline-6-<i>C</i>-<i>D</i>-glucopyranoside (86) <i>G. epunctata</i> (Tanyi et Tanee, 1989) R = H: (2<i>R</i>,3<i>R</i>)-aromadendrin-6-β-<i>D</i>-glucopyranoside (87) <i>G. buchananii</i> (Timo et al., 2012).	

II.1.6.3. Les biflavonoïdes isolés des plantes du genre *Garcinia*

Les biflavonoïdes caractérisés dans les plantes du genre *Garcinia* sont de deux catégories. Ceux dont la liaison interflavonnyle est une liaison carbone- carbone et ceux dont la liaison interflavonnyle est une liaison éther (les éthers biflavonyls). Dans les deux cas, les deux unités flavonoïdes qui entrent dans la structure de chaque biflavonoïde peuvent appartenir à la même sous-classe des flavonoïdes (par exemple flavone-flavone) ou bien à deux sous-classes différentes (flavanone-flavanonol). A notre connaissance, les biflavonoïdes caractérisés des plantes du genre *Garcinia* sont soit des dimers de flavones, des dimers de flavanones, ou des dimers mixtes flavanone-flavone. Ceux qui n'ont pas une double liaison dans le cycle C possèdent au moins un centre chiral (**Geiger et Quinn, 1982**). Certains de ces dimers peuvent être liés à une ou plusieurs molécules de sucre, et cet ensemble constitue la sous-classe des glycosides de biflavonoïde. C'est le cas de morelloflavone-7-*O*- β -D-glucoside (**88**) et de morelloflavone-4'''-*O*- β -D-glucoside (**89**) isolés de *G. brasiliensis* (**Vanessa et al., 2012**).

Tableau XVII: Exemples de glycosides de biflavonoides isolés des plantes du genre *Garcinia*

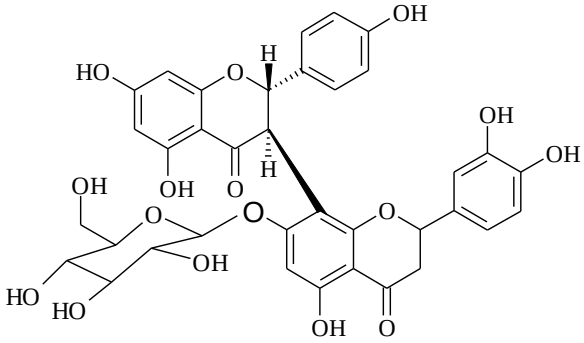
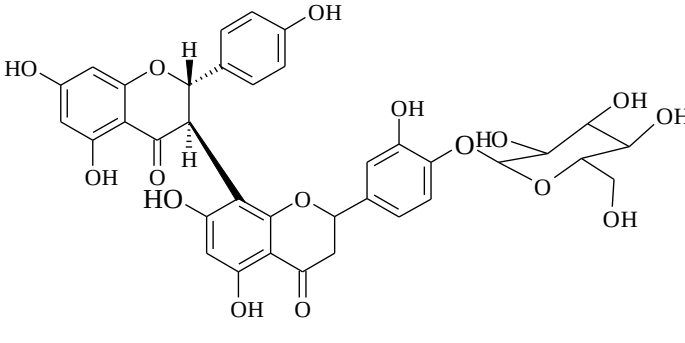
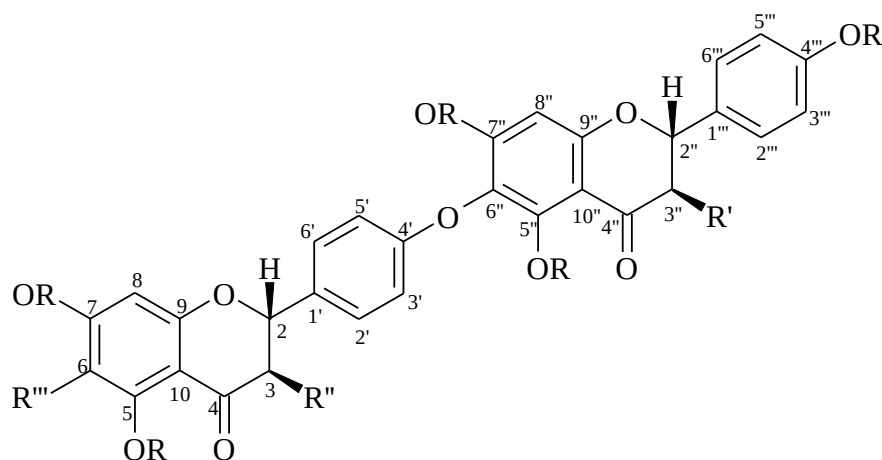
 Morelloflavone-7-<i>O</i>-β-D-glucoside (88) <i>G. brasiliensis</i> (Vanessa et al., 2012).	 Morelloflavone-4'''-<i>O</i>-β-D-glucoside (89) <i>G. brasiliensis</i> (Vanessa et al., 2012).
---	---

Tableau XVIII: Exemples d'éther biflavonyles isolés des plantes du genre *Garcinia*



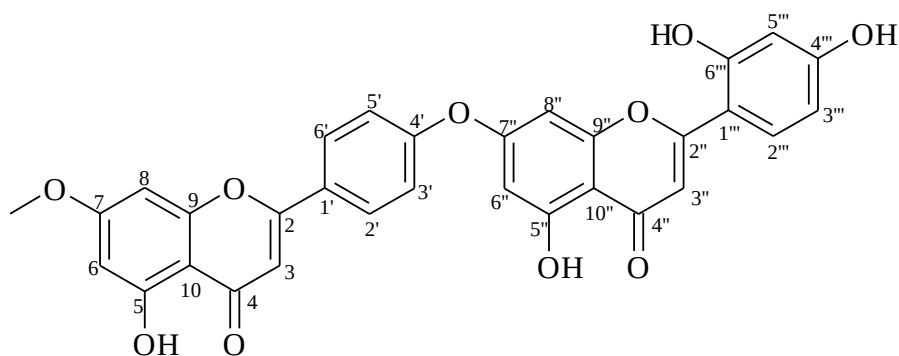
$R = R'' = R''' = H, R' = OH$ Brevipedicilone A (**90**)

$R = R''' = H, R' = R'' = OH$ Brevipedicilone B (**91**)

$R = H, R' = R'' = R''' = OH$ Brevipedicilone C (**92**)

G. brevipedicellata

(Abderamane et al., 2016)



Brevipedicilone E (**93**)

G. brevipedicellata

(Akongwi et al., 2018)

En considérant la nature complexe de ces composés isolés du genre *Garcinia*, et pour mieux décrire et comparer leurs structures, on les classe souvent en tenant compte des positions des atomes de carbone engagés dans la liaison qui relie les deux unités flavonoïdes comme consignés dans les tableaux XIX et XX.

Tableau 1IX: Exemples de biflavonoïdes isolés des *Garcinia* et ayant une jonction C₃-C₈''

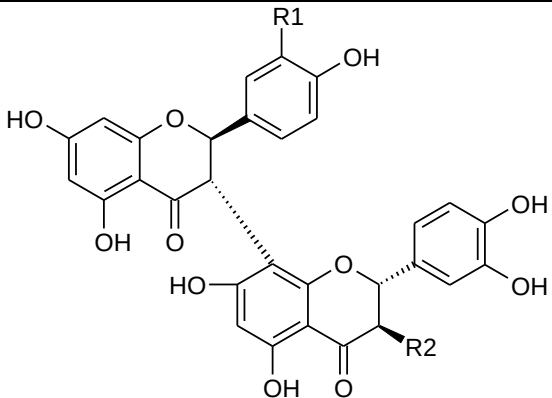
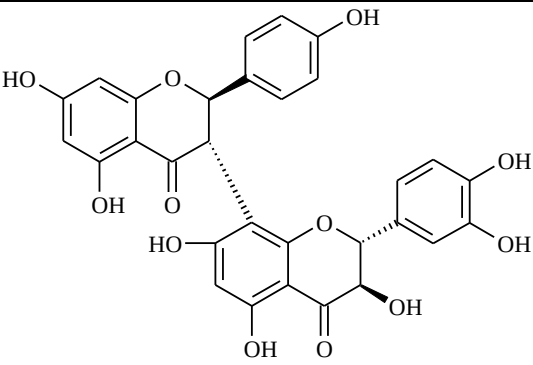
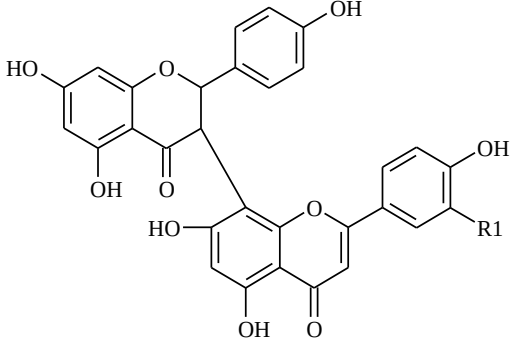
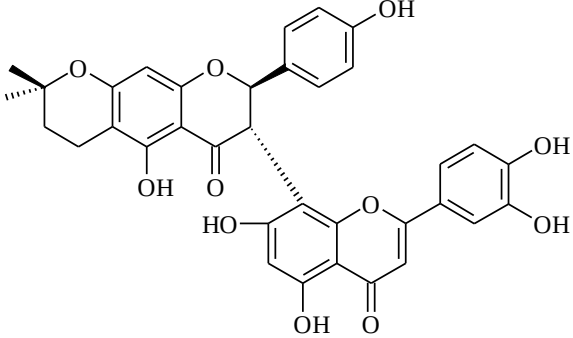
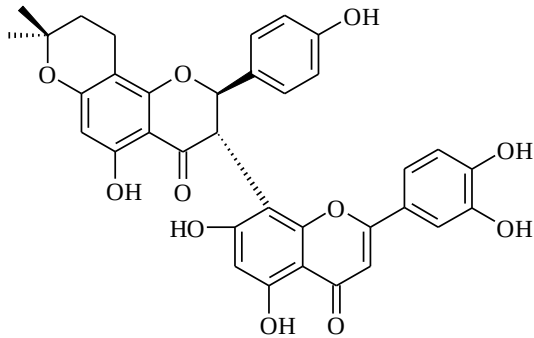
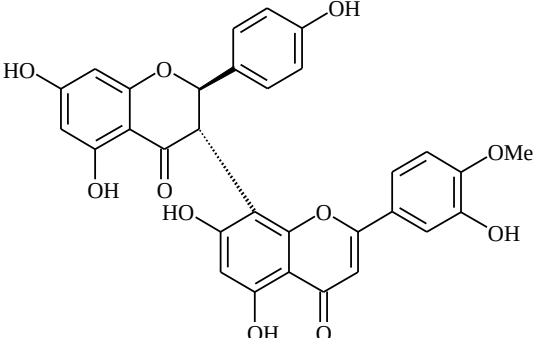
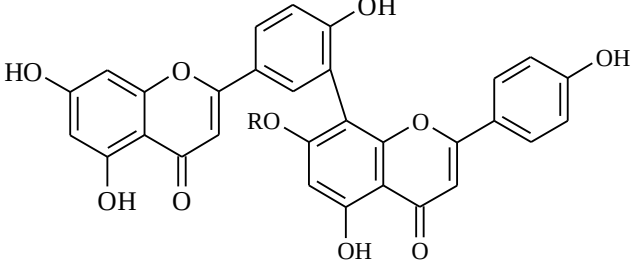
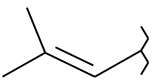
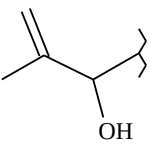
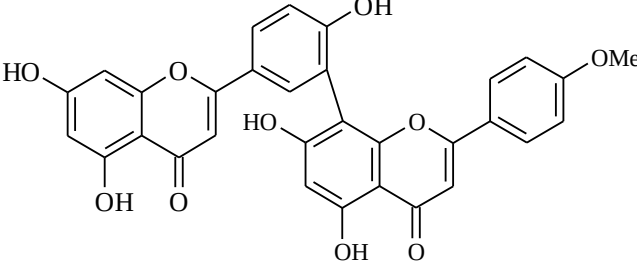
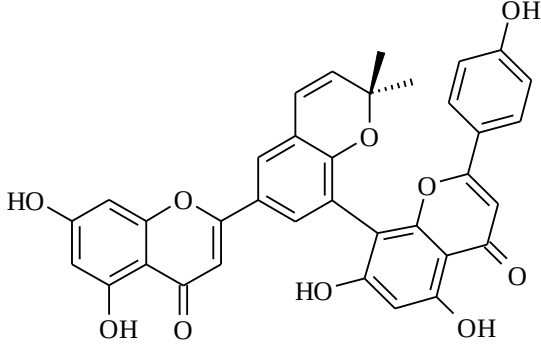
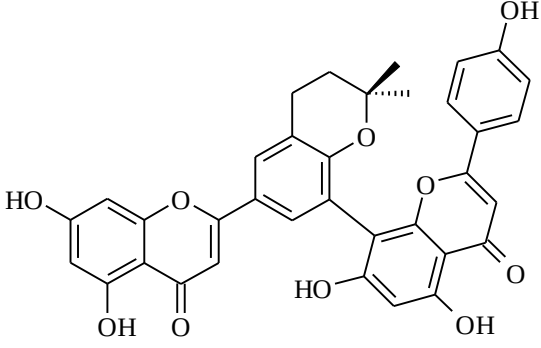
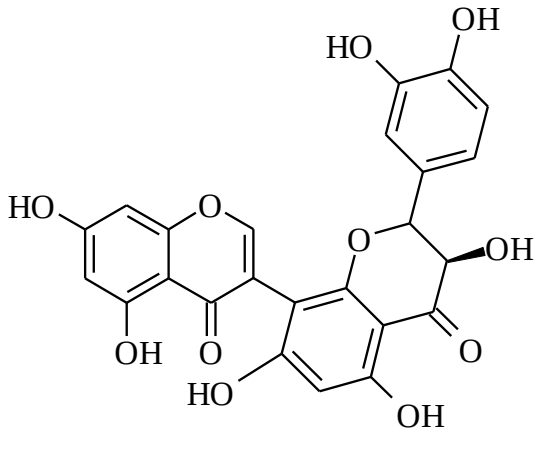
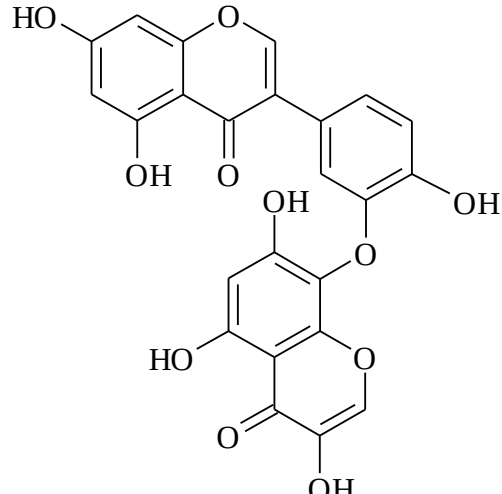
Dimers flavanone-flavanone	Dimers flavanone-flavanone
 $R_1 = R_2 = \text{OH}$ (2<i>R</i>,3<i>S</i>,2''<i>R</i>,3''<i>R</i>)-manniflavanone (94) $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{H}$ (2<i>R</i>,3<i>S</i>,2''<i>S</i>)-Buchananiflavone (95) (Ecorce de <i>G. buchananii</i>) (Timo et al., 2012)	 GB.2 (96) (Feuilles de <i>G. preussii</i>) (Biloa et al., 2012)
Dimers flavanone-flavone	Dimers flavanone-flavone
 $R_1 = \text{H}$ Volkensiflavone (97) $R_2 = \text{OH}$ Morelloflavone (98) (Bois de <i>G. volkensii</i>) (Jackson et al., 1970)	 Garciniaflavone E (99) (Feuilles de <i>G. subelliptica</i>) (Tetsuro et al., 2013)
 Garciniaflavone F (100) (Feuilles de <i>G. subelliptica</i>) (Tetsuro et al., 2013)	 4'''-O-méthylmorelloflavone (101) (Feuilles de <i>G. subelliptica</i>) (Tetsuro et al., 2013)

Tableau XX: Exemples de biflavonoïdes isolés des plantes du genre *Garcinia* et ayant une jonction C_{3'}-C_{8''} de type Amentoflavone (Dimers flavone-flavone) (Tetsuro et *al.*, 2013)

 R =  Garciniaflavone A (102) R =  Garciniaflavone B (103)	 Podocarpusflavone A (104)
 Garciniaflavone C (105)	 Garciniaflavone D (106)

Parmi les constituants des plantes du genre *Garcinia*, on note la présence des structures issues du couplage entre une molécule de flavonoïde et une molécule de chromone comme la preussianone (107) isolé des feuilles de *G. preussii* (Biloa et *al* 2012) et la brevipedicilone D (108), isolée des feuilles de *G. brevipedicellata* (Akongwi et *al.*, 2018).

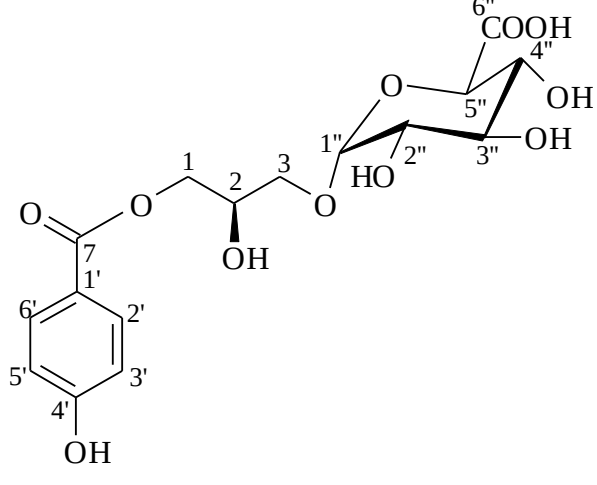
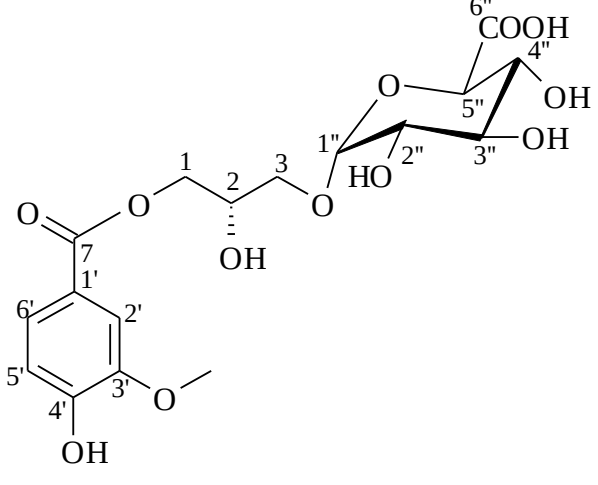
Tableau XXI: Exemples de composés isolés des plantes du genre *Garcinia* et issus du couplage entre une molécule de flavonoïde et une molécule de chromone

 preussianone (107) <i>G. preussii</i> (Bilola et al 2012)	 Brevipedicilone D (108) <i>G. brevipedicellata</i> (Akongwi et al., 2018).
--	--

II.1.7. Les glycérols benzoyle glucuronosyles

C'est une classe de composé organique qui résulte de la condensation entre le glycérol, l'acide gluconique et un dérivé de l'acide benzoïque. Deux glycérols benzoyle glucuronosyles ont été isolés des feuilles de *G. buchananii*. Il s'agit de : (2R)-1-O-4-hydroxybenzoyl-3-O- α -D-glucuronosyl glycérol (**109**) et de (2S)-1-O-4-hydroxy-3-méthoxybenzoyl-3-O- α -D-glucuronosyl glycérol (**110**) (Timo et al., 2017).

Tableau XXII: Exemples de glycérols benzoyls glucuronosyles isolés des plantes du genre *Garcinia*

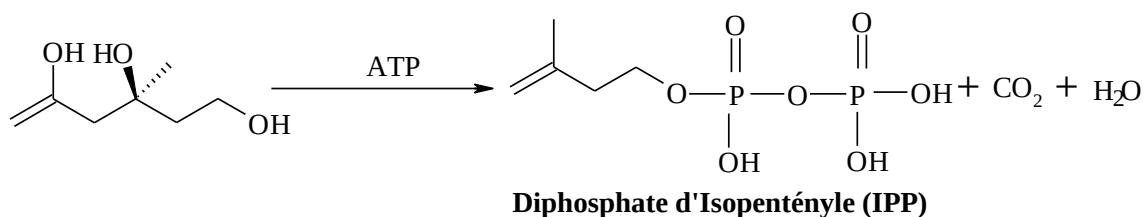
 (2R)-1-O-4-hydroxybenzoyl-3-O-α-D-glucuronosyl glycérol (109) <i>G. buchananii</i> (Timo et al., 2017).	 (2S)-1-O-4-hydroxy-3-méthoxybenzoyl-3-O-α-D-glucuronosyl glycérol (110) <i>G. buchananii</i> (Timo et al., 2017).
---	--

II.2. BIOSYNTHESE DES TRITERPENES ET DES FLAVONOIDES

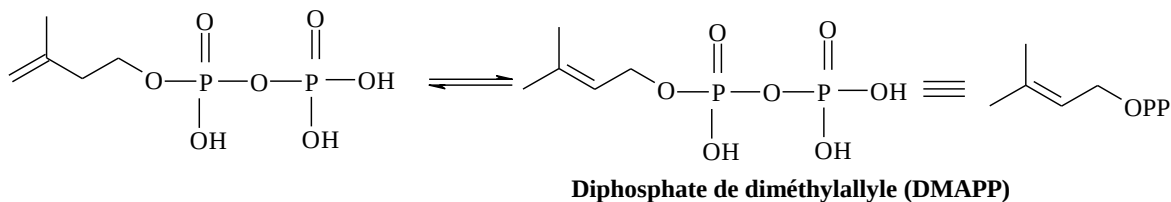
II.2.1. Biosynthèse des triterpènes

Les triterpenes forment une vaste classe de métabolite secondaire polycyclique dont le squelette carboné comporte 30 atomes de carbones, élaborés en six unités d'isoprène. La plupart des triterpènes ont des structure polycycliques qui diffèrent les unes des autres non seulement par les groupements fonctionnels, mais aussi par la structure basique de leur squelette hydrocarboné.

La biosynthèse des triterpènes suit la voie de l'acide mévalonique. A partir de l'acide mévalonique, on passe à une unité isoprène par phosphorylation des deux fonctions alcool de cet acide grâce à l'Adénosine Triphosphate ATP. Puis par élimination d'une molécule d'eau avec formation d'une double liaison C=C et décarboxylation (-CO₂), l'ensemble conduit au 3-méthylbut-3-énylpyrophosphate appelé aussi diphosphate d'isopentényle (IPP).



Il y a ensuite isomérisation de l'IPP grâce à l'isopentényl diphosphate isomérase qui conduit au diphosphate de diméthylallyl (DMAPP).



Puis s'en suit une succession de réaction conduisant aux monoterpènes et aux triterpènes en passant par le squalène, comme le montre le schéma 1 ci-dessous.

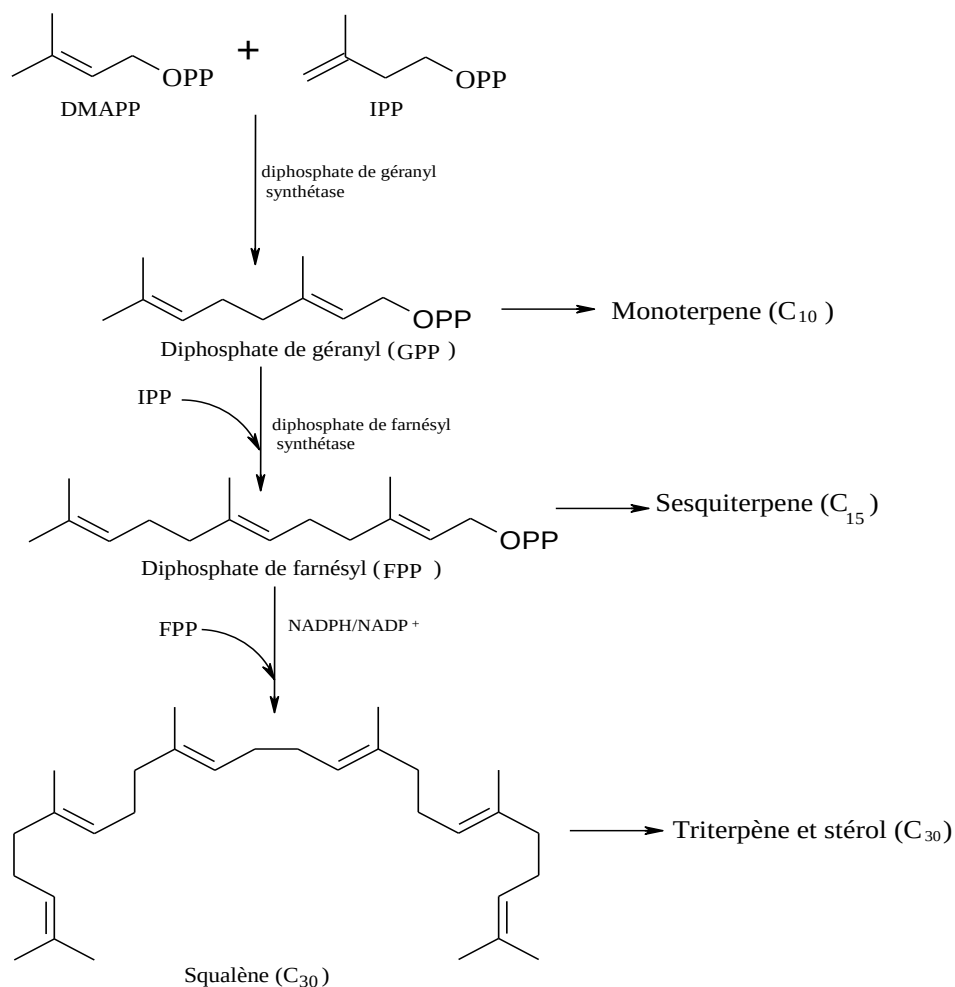


Schéma 1: Du diphosphate de diméthyl allyl au squalène (Thimmappa et *al.*, 2014)

Le squalène ainsi synthétisé est le point de départ de la biosynthèse du lanostérol, qui est un triterpène tétracyclique duquel tous les stéroïdes sont dérivés.

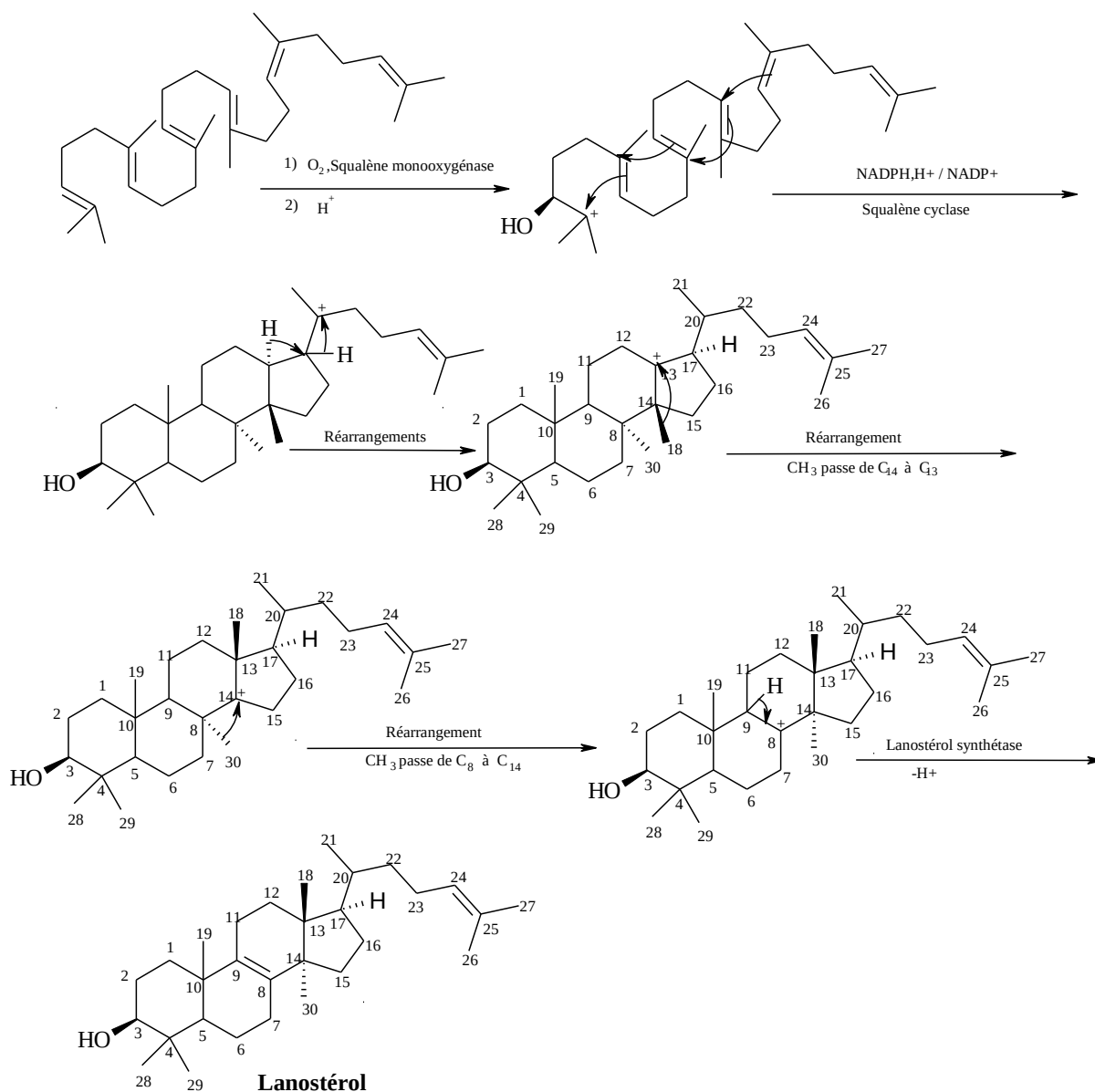


Schéma 2: Biosynthèse du lanostérol (Thimmappa et *al.*, 2014)

II.2.2. Biosynthèse des flavonoïdes

Les squelettes de base des flavonoïdes se retrouvent dans plusieurs structures dont on distingue les flavonoïdes simples et les polyflavonoïdes.

- **Les flavonoïdes simples**

Ces composés sont tous formés avec l'un des squelettes de base de quinze atomes de carbone représentés par **(82a)**, **(82b)**, **(83a)** et **(83b)**. Selon le degré d'oxydation des atomes de carbone dans le noyau pyranique, les flavonoïdes simples présentent plusieurs sous-classes. On distingue: les chalcones, les dihydrochalcone, les aurones, les flavones, les flavanones, les flavanols, les flavanonols, les isoflavones, les isoflavanones, les anthocyanines, les 3,4-dihydroflavane diol et les pterocarpines. Ces différentes sous classes proviennent d'un même cycle biosynthétique (**Forkman, 1992**).

Les premiers flavonoïdes biosynthétisés par les plantes sont les chalcones qui, issus d'une voie mixte impliquent l'acide cinnamique et l'acide acétique sous leurs formes activés, comme l'indique le schéma 3 (**Forkman, 1992**).

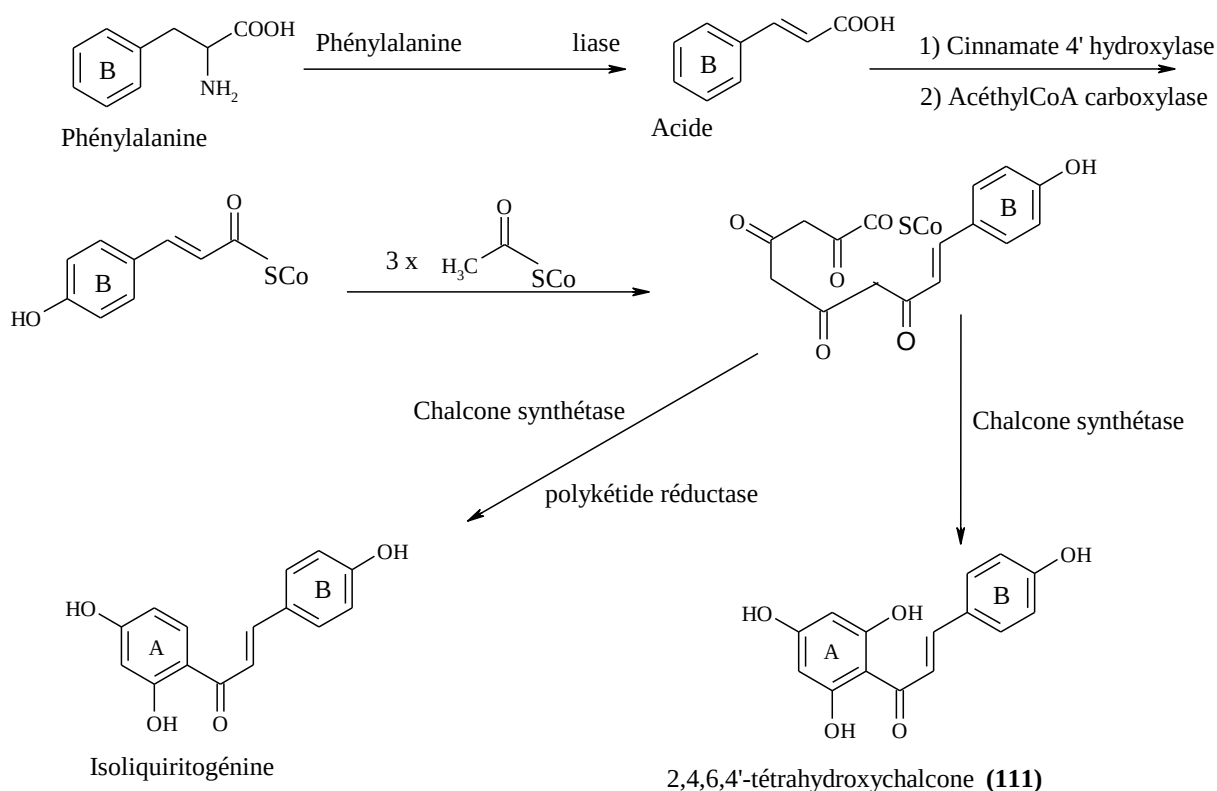


Schéma 3: Première étape dans la biosynthèse des flavonoïdes: formation du squelette Chalcone (Forkman, 1992)

Ensuite le chalcone formé se cyclise pour former le noyau benzopyrane et conduit à la formation du squelette flavanone. Sous l'action des diverses enzymes, la flavanone subit des transformations diverses telles que l'oxydation, la réduction, la transposition, la cyclisation pour donner les autres sous-classes des flavonoïdes (Schéma 4) (**Harborne, 1988**).

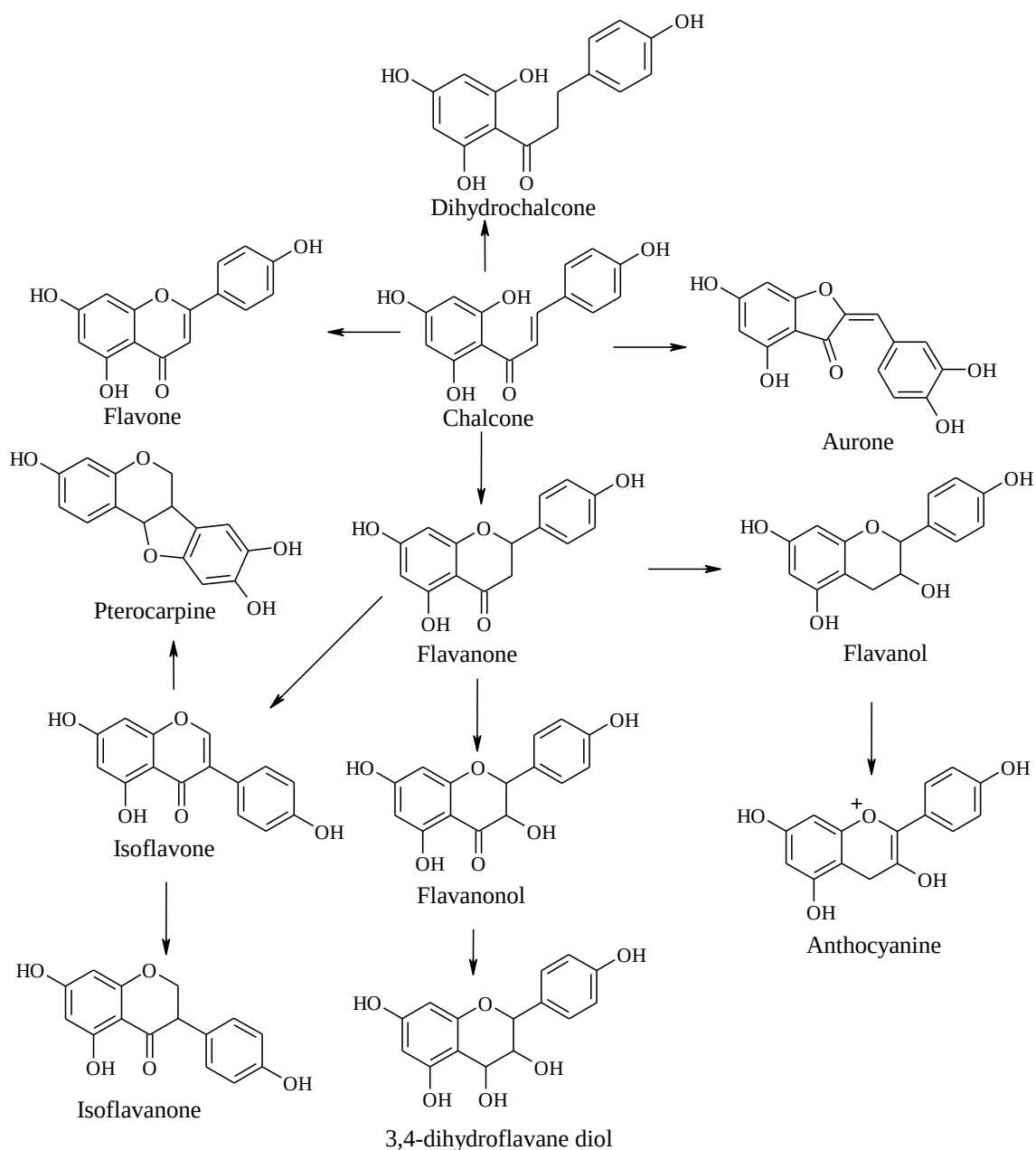


Schéma 4: Formation des différentes sous-classes de flavonoïdes simple (Harborne, 1988)

• Les Polyflavonoïdes

Ce sont les polymères de flavonoïdes. Les plus simples sont les biflavonoïdes qui engendrent deux unités de flavonoïdes simples conduisant ainsi à un squelette de base ayant trente atomes de carbones. La présence dans les plantes de ces polymères est expliquée par des réactions de condensation radicalaire. En effet, après plusieurs expériences au laboratoire, l'origine biosynthétique des biflavonoïdes a été attribuée au couplage oxydatif de deux unités radicalaires issues de la 2,4,6,4'-tétrahydroxychalcone (**111**) (Jackson *et al.*, 1971).

Cette théorie permet d'obtenir la totalité des radicaux précurseurs de tous les biflavonoïdes naturels. Ces radicaux, désignés R_α , R_β , $R_{\delta 1}$, $R_{\delta 2}$, et R_γ , sont obtenus par perte d'un atome d'hydrogène d'une fonction phénol sur le flavonoïde (Schéma 6).

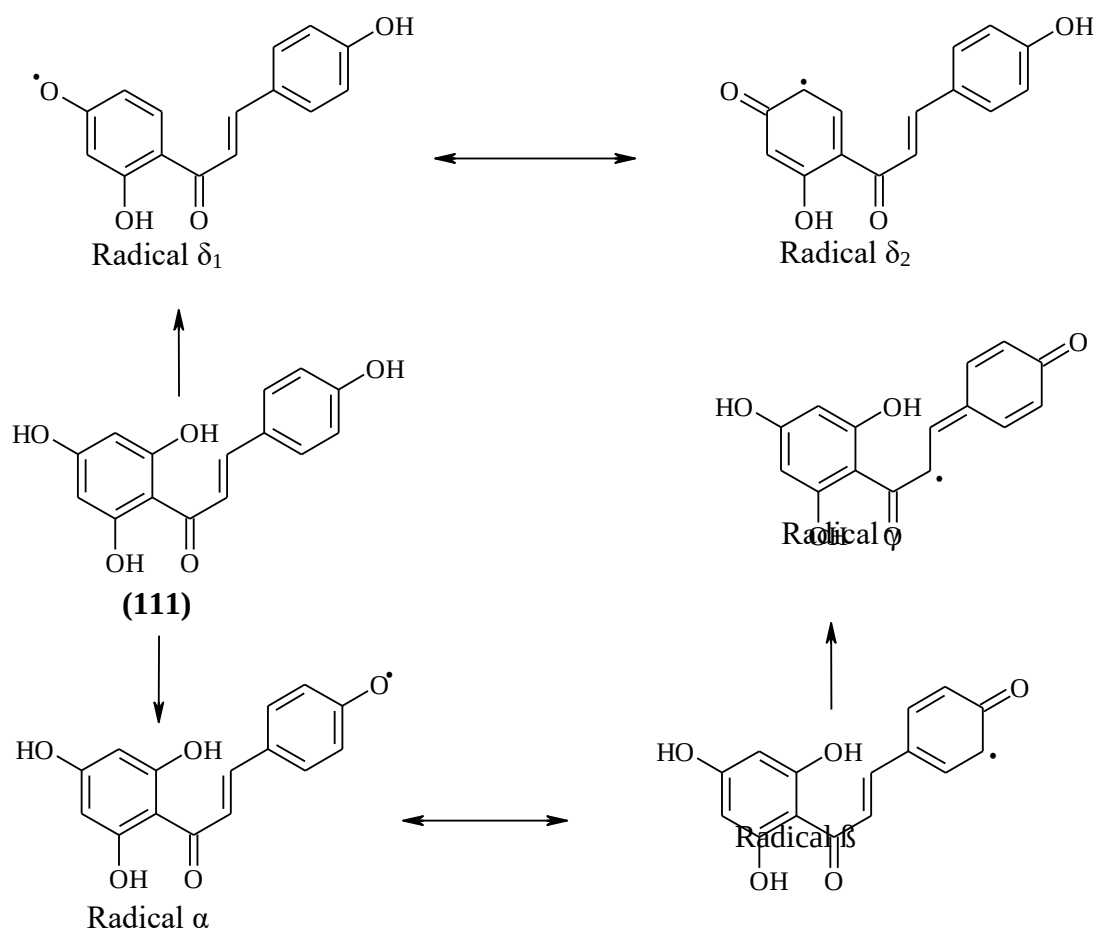


Schéma 5: Radicaux proposés comme précurseurs de biflavonoïdes (Jackson et al., 1971)

On peut classer ces biflavonoïdes en fonction du type de jonction établit entre les deux unités flavonoïdes. En effet, le radical précurseur peut être soit un atome de carbone (R_β , $R_{\delta 2}$, R_γ) soit un atome d'oxygène (R_α , $R_{\delta 1}$). La condensation de deux radicaux libres carbonés conduit à une jonction carbone-carbone et on obtient la sous-classe de C-C biflavonoïdes tandis qu'un radical libre carboné et un radical libre oxygéné donne une liaison éther (C-O-C) conduisant à la sous-classe d'éther biflavonyl. Si les unités flavonoïdes qui entrent dans la structure du biflavonoïde appartiennent à une même sous-classe et ont le même squelette structural, on parle d'homobiflavonoïde. Dans le cas contraire, les deux unités flavonoïdes constitutives n'ont pas le même squelette structural; le biflavonoïde qui en résulte est un hétérobiflavonoïde. Les tableaux XXIII, XXIV et XXV donnent des exemples de biflavonoïdes.

Tableau XXIII: Exemples d'homobiflavonoïdes à jonction Carbone-Carbone

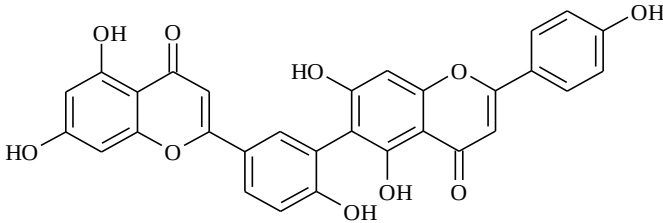
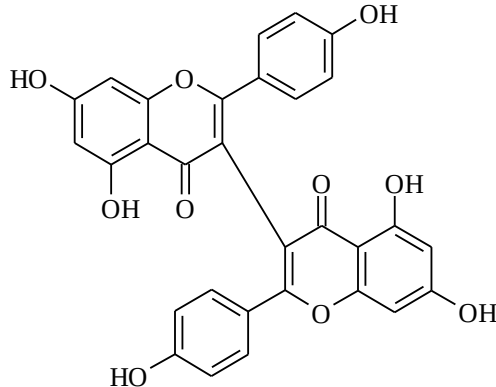
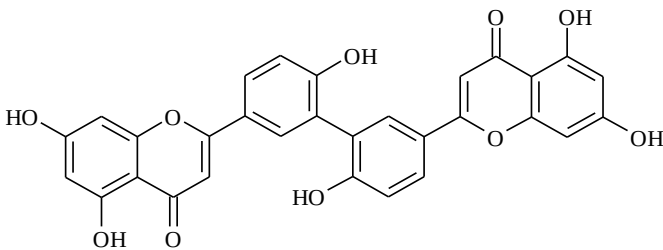
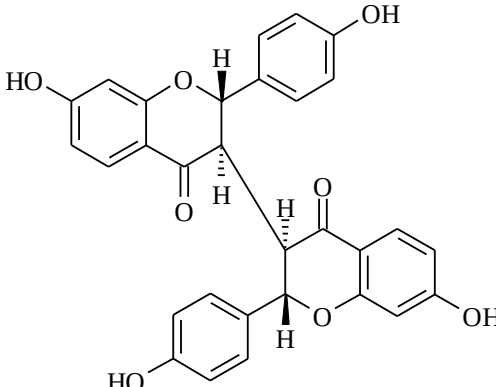
Type de jonction	Structure, nom, et référence	Type de jonction	Structure, nom, et référence
Jonction R ₈ -R ₈₂	 Robustaflavone (112) (Lin et al., 1997)		 3,3-Biapigénine (113) (Seeger et al., 1993)
Jonction R ₈ -R ₈	 Taiwaniaflavone (114) (Kamil et al., 1981)	Jonction R _γ -R _γ	 Campylospermone A (115) (Elo et al., 2009)

Tableau XXIV: Exemples d'hétérobiflavonoïdes à jonction Carbone-Carbone

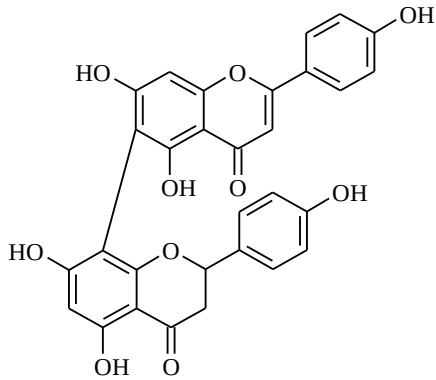
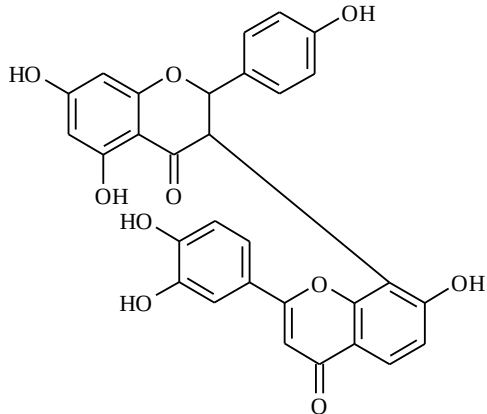
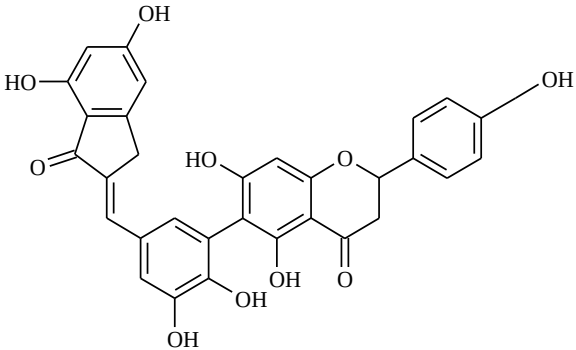
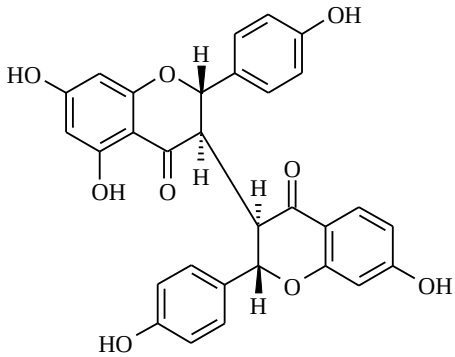
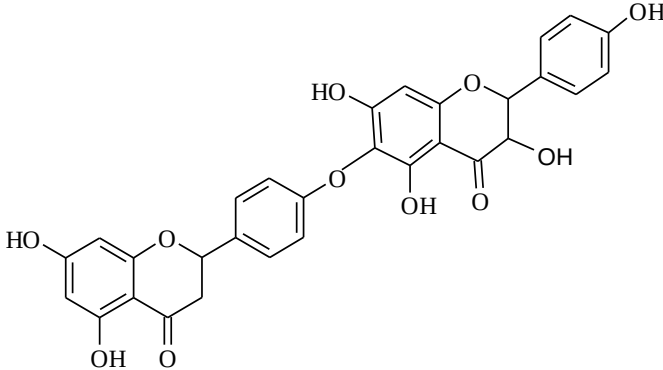
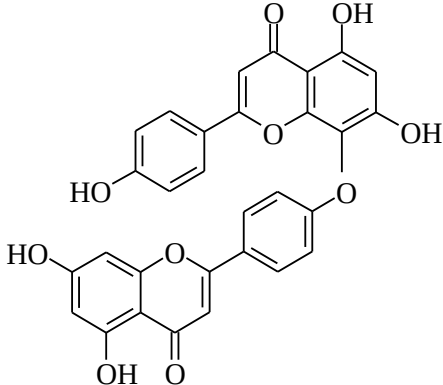
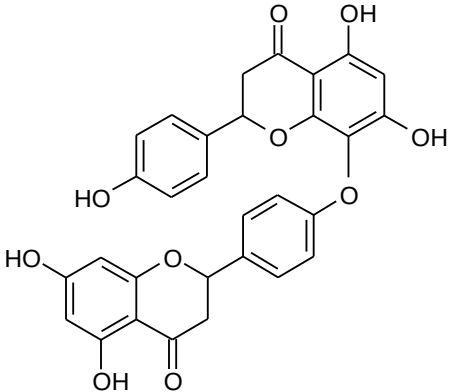
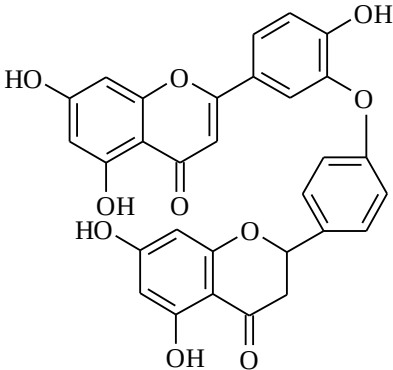
Type de jonction	Structure, nom, et référence	Type de jonction	Structure, nom, et référence
Jonction R _{δ2} -R _{δ2}	 Agathisflavone (116) (Khan <i>et al.</i>, 1972)	Jonction R _γ -R _{δ2}	 Fukugetine (118) (Geiger et Seeger, 2000)
Jonction R _β -R _{δ2}	 Campylopusaurone (117) (Geiger et Markham, 1992)	Jonction R _γ -R _γ	 Campylospermone B (119) (Elo <i>et al.</i>, 2009)

Tableau XXV: Exemples d'éther biflavonyl

Type de jonction	Structure, nom, et référence	Type de jonction	Structure, nom, et référence
Jonction R_α - $R_{\delta 2}$	 Brevipedicilone A (90) (Abderamane et al., 2016)	Jonction R_α - $R_{\delta 2}$	 lanaroflavone (120) (Weniger et al., 2004)
	 hypnogenol (121) (Sirvers et al., 1992)	Jonction R_β - R_α	 ochnaflavone (122) (Okigawa et al., 1976)

II.3. TRAVAUX BIOLOGIQUES ANTERIEURS SUR LES PLANTES DU GENRE *Garcinia*

II.3.1. Introduction

Les *Garcinia* sont des plantes dont les indications thérapeutiques sont nombreuses. Plusieurs investigations phytochimiques et biologiques ont été faites sur les extraits des différentes parties de ces plantes et nous connaissons aujourd'hui la nature de certains des constituants chimiques qui sont responsables de nombreuses activités biologiques.

II.3.2. Activités biologiques de quelques extraits

Les activités biologiques observées pour les extraits des différentes parties de plantes du genre *Garcinia* sont très diverses. Il s'agit entre autre des activités antibactériennes, antifongiques, antituberculeuses, anti HIV, anti-inflammatoires, antivirales et antitumorales.

II.2.2.1. Activités antibactériennes

Les extraits de *Garcinia mangostana* ont montré un effet inhibiteur contre le développement de *Staphylococcus aureus*, microbe pathogène responsable de la toux et de certaines infections pulmonaires (Linuma et al., 1996). Par ailleurs, il a été démontré que les extraits au méthanol, à l'acétone, à l'éthanol, au chloroforme, à l'éther éthylique, à l'éther de pétrole, ainsi que l'extrait aqueux de *G. mangostana* possède une action inhibitrice modérée contre les bactéries pathogènes à Gram⁺ (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogènes* et *Bacillus subtilis*) et à Gram⁻ (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) (Ramesa et sooad, 2013). Les conclusions de cette étude révèlent que, l'extrait à l'éthanol possède la plus grande activité inhibitrice avec un diamètre d'inhibition de (31 ± 0,37 mm) et la plus faible activité revient à l'extrait à l'éther éthylique dont le diamètre d'inhibition est de 12 mm. L'extrait de la coque du fruit de cette même plante s'est montré actif contre *Staphylococcus aureus* (avec une CMI de 200 µg/mL), *Staphylococcus albus* (avec une CMI de 50 µg/mL) et *Staphylococcus lutus* (Vishnu et al., 2010).

Une étude *In vitro* menée sur les graines de *G. kola* a montré que l'extrait aqueux est actif sur les bactéries à Gram⁺, avec une CMI comprise entre 5 mg/mL et 20 mg/mL tandis que l'extrait à l'acétone est actif sur les bactéries à Gram⁻, avec une CMI comprise entre 0,156 mg/mL et 10 mg/mL (Sibanda et Okoh, 2008).

L'extrait au méthanol des écorces du tronc de *G. lucida* a été évalué et apprécié pour son activité contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Samonella typhi*, *Staphylococcus aureus*. Il présente une action inhibitrice importante contre *Candida albicans* avec une CMI de 64 µg/mL (**Momo et al., 2011**). Cette activité a été retrouvée dans l'extrait méthanolique de *G. nobilis* sur *E. coli*. Cet extrait inhibe aussi le cycle de développement de *Mycobactérium tuberculosis* (**Foutsa et al., 2013**). Kuate Tokam et collaborateurs en 2013, ont montré que *G. brevipedicellata* est une excellente source d'antibiotiques d'après les résultats obtenus avec son extrait méthanolique sur une dizaine de souches de bactéries (**Kuate et al., 2013**).

Les résultats de ces travaux de recherche font des espèces du genre *Garcinia*, une importante source naturelle pour la mise en place de nouveaux antibiotiques.

II.2.2.2. Activité anti-VIH

Il a été démontré que les extraits au méthanol des fruits de *G. livingstoneii* et de *G. semseii* possèdent une activité anti VIH-1 importante, avec des EC₅₀ de 2,25 ± 0,5 µg/mL et 0,93 ± 0,67 µg/mL respectivement (**Magadula et Suleimani., 2010**).

II.2.3. Autres activités biologiques des métabolites secondaires isolés des plantes du genre *Garcinia*

Les espèces du genre *Garcinia* sont une importante source de molécules bioactives, qui présentent diverses activités biologiques. On peut citer:

- Hypoglycémiant: 7-prenyljacareubin (123) et garceduxanthone (124) (**Cuicui et al., 2017**);
- anticancéreuse: 7-prenyljacareubin (123), garceduxanthone (124), osajaxanthone (126) (**Cuicui et al., 2017**) et norcowanin (127) (**Pattalung et al., 1994**);
- anti-inflammatoire: Mangostanine (128), Cowanol (129) et Cowaxanthone A (130) (**Panthong et al., 2009**);
- antimicrobienne (antifongique): 1,3,6,7-tétrahydroxyxanthone (125) (**Kuete et al., 2007**) et antibactériennes: α-mangostine (66), épicatechine (131) (**Dwi et al., 2014**), garcinianine (132) (**Ajayi et al., 2014**) et chamuangone (133) (**Ritthiwigrom et al., 2013**);
- antimalariale: 7-O-Méthylgarcinone E (134), α-mangostine (66), Cowaxanthone (65) et isoxanthocumol (36) (**Meli et al., 2008**);

- antioxydante: cheffouxanthone (135), sméathxanthone A (136), smeathxanthone B (137) (Meli et al., 2005).

Tableau 2: Quelques métabolites secondaires à activité hypoglycémiant isolés des plantes du genre *Garcinia*

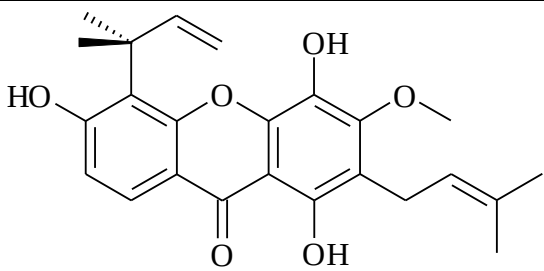
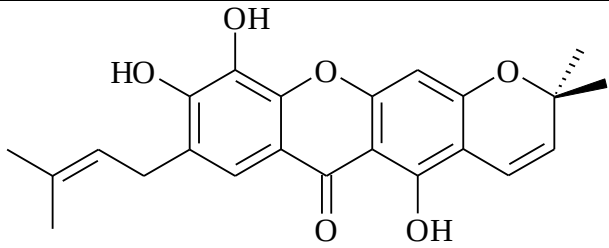
Structure et nom	Effet inhibiteur sur α -glucosidase	Sources et références
 7-Prenyljacareubin (123)	$IC_{50} = 8,90 \pm 3,35 \mu M$	<i>G. paucinervis</i> (Cuicui et al., 2017)
 Garceduxanthone (124)	$IC_{50} = 29,36 \pm 0,81 \mu M$	<i>G. paucinervis</i> (Cuicui et al., 2017)

Tableau XXVII: Quelques métabolites secondaires à activité anticancéreuse isolés des plantes du genre *Garcinia*

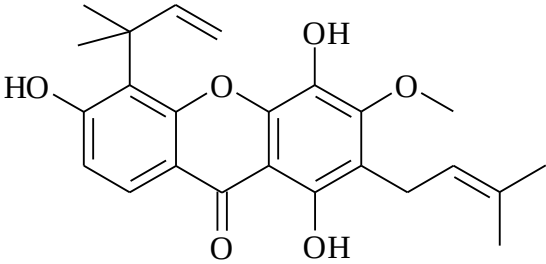
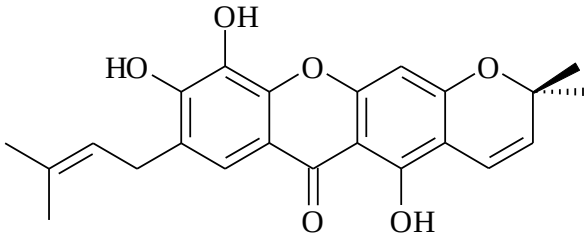
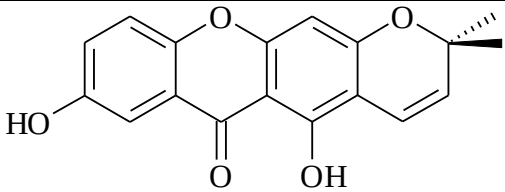
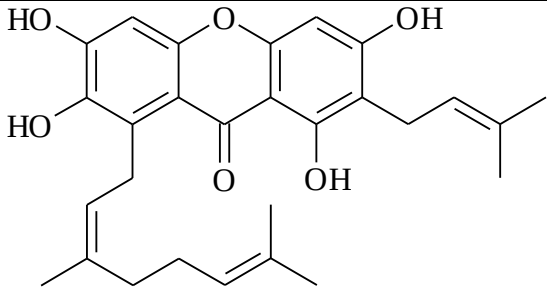
Structure et nom	Lignée cellulaire et valeurs de IC ₅₀	Sources et références
 7-Prenyljacareubin (123)	PC-3 IC₅₀ = 1,20 ± 0,98 µM HepG-2 IC₅₀ = 1,02 ± 0,56 µM	<i>G. paucinervis</i> (Cuicui et al., 2017)
 Garceduxanthone (124)	PC-3 IC₅₀ = 2,52 ± 0,67 µM HepG-2 IC₅₀ = 1,47 ± 0,78 µM	<i>G. paucinervis</i> (Cuicui et al., 2017)
 Osajanthone (126)	PC-3 IC₅₀ = 4,72 ± 1,04 µM HepG-2 IC₅₀ = 4,36 ± 2,09 µM	<i>G. paucinervis</i> (Cuicui et al., 2017)
 Norcowanine (127)	NCI-H187 IC₅₀ = 5,92 µg/mL KB IC₅₀ = 6,43 µg/mL MFC IC₅₀ = 18,85 µg/mL	<i>G. cowa</i> (Pattalung et al., 1994)

Tableau 3: Quelques métabolites secondaires à activité anti-inflammatoire isolés des plantes du genre *Garcinia*

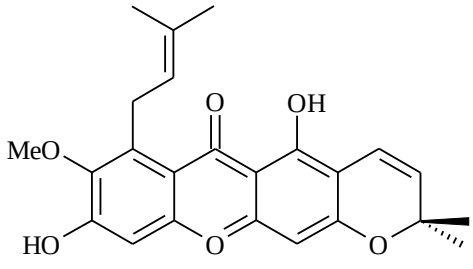
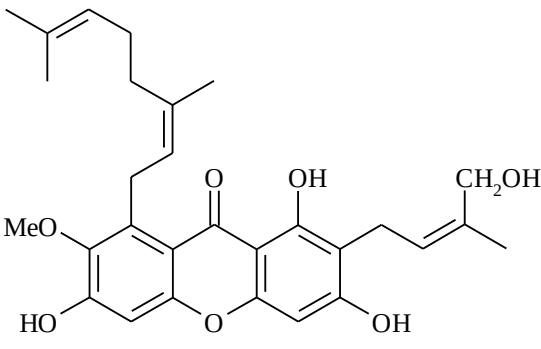
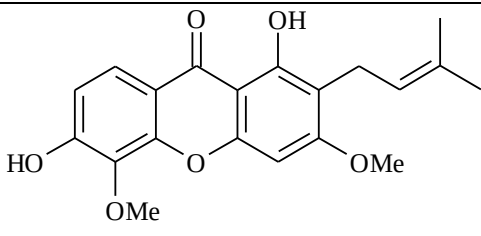
Famille de composé	Structure et nom	Source et Référence
Xanthones	 Mangostine (128)	<i>G. cowa</i> (fruits) (Panthong et al., 2009)
	 Cowanol (129)	<i>G. cowa</i> (fruits) (Panthong et al., 2009)
	 Cowaxanthone (130)	<i>G. cowa</i> (fruits) (Panthong et al., 2009)

Tableau XXIX: Quelques métabolites secondaires à activité antimalariale isolés des plantes du genre *Garcinia*

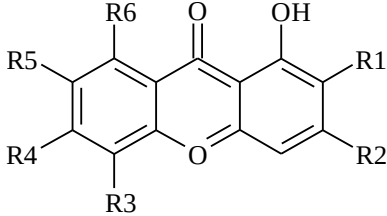
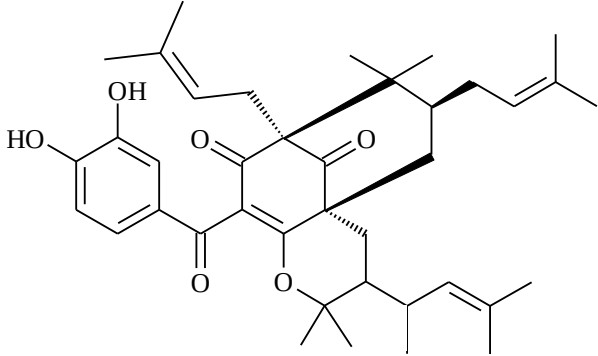
Structure et nom	Micro-organisme et évaluation de IC ₅₀	Source et Référence
 $R_1=R_3=R_6=\text{Prenyl}$, $R_2=R_4=\text{OH}$, $R_5=\text{OCH}_3$; 7-O-méthylgarcinone E (134) $R_1=R_6=\text{Prenyl}$, $R_2=R_4=\text{OH}$, $R_5=\text{OCH}_3$, $R_3=\text{H}$; α-mangostine (66) $R_1=\text{Géranyl}$, $R_2=R_4=\text{OH}$, $R_3=R_6=\text{H}$, $R_5=\text{OCH}_3$; Cowaxanthone (65)	<i>Plasmodium falciparum</i> IC₅₀: 1,5-3,0 $\mu\text{g/mL}$ <i>Plasmodium falciparum</i> IC₅₀: 1,5-3,0 $\mu\text{g/mL}$ <i>Plasmodium falciparum</i> IC₅₀: 1,5-3,0 $\mu\text{g/mL}$	<i>G. cowa</i> (écorce) (Lihitwitaya wuid et al., 1998)
 Isoxanthochymol (35)	<i>Plasmodium falciparum</i> IC₅₀: 2,21 μM	<i>G. polyantha</i> (écorce du tronc) (Alain Meli et al., 2008)

Tableau XXX: Quelques métabolites secondaires à activité antioxydante isolés des plantes du genre *Garcinia*

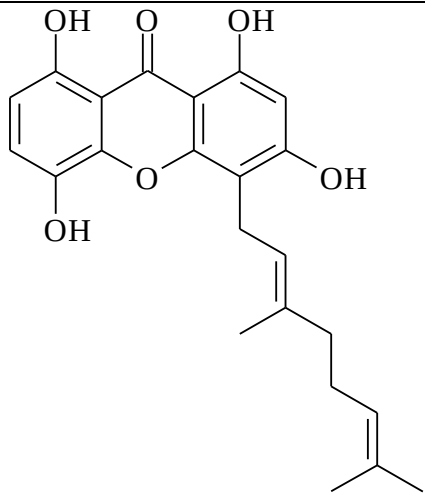
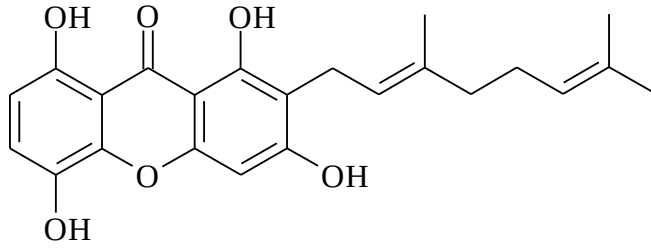
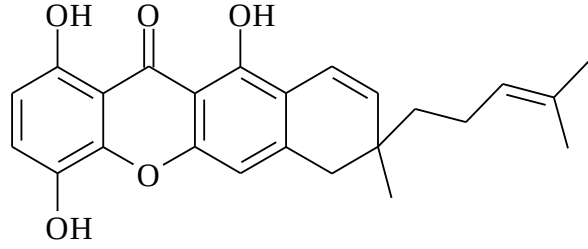
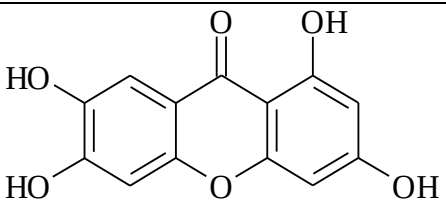
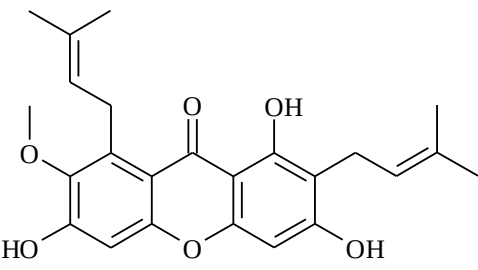
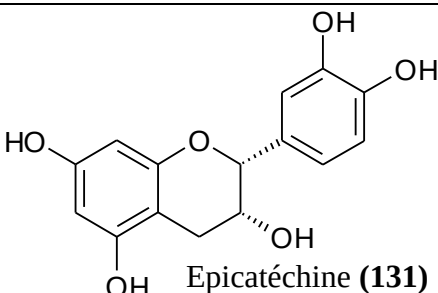
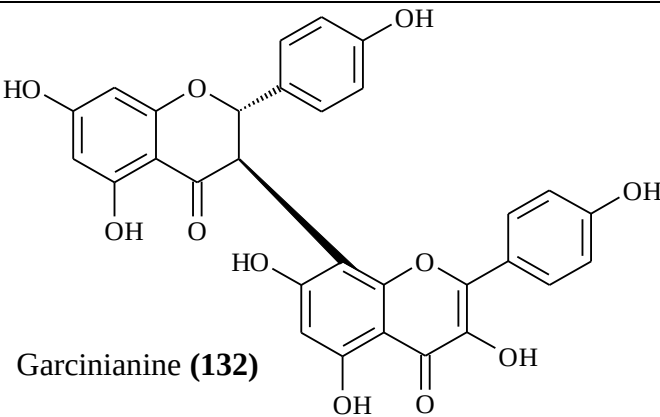
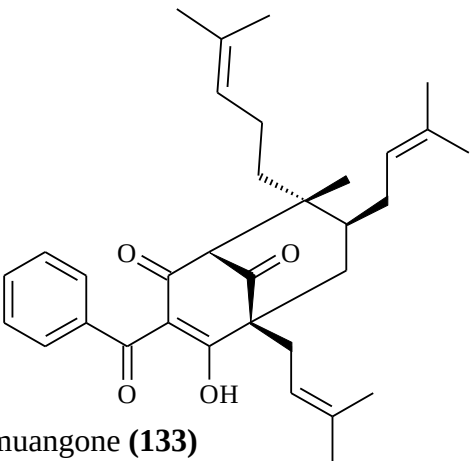
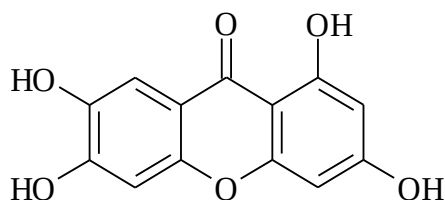
Structure et nom	Evaluation de l'IC ₅₀	Source et référence
 Cheffouxanthone (135)	IC ₅₀ : 47,8 µM	<i>G. smeathmanii</i> (Meli et al., 2005)
 Sméathxanthone A (136)	IC ₅₀ : 47,8 µM	<i>G. smeathmanii</i> (Meli et al., 2005)
 Sméathxanthone B (137)	IC ₅₀ : 87,0 µM	<i>G. smeathmanii</i> (Meli et al., 2005)
 1,3,6,7-Tétrahydroxyxanthone (125)	IC ₅₀ : 8,01 µg/mL	<i>G.benthami</i> (Puteri et al., 2015)

Tableau XXXI: Quelques métabolites secondaires à activité antibactérienne isolés des plantes du genre *Garcinia*

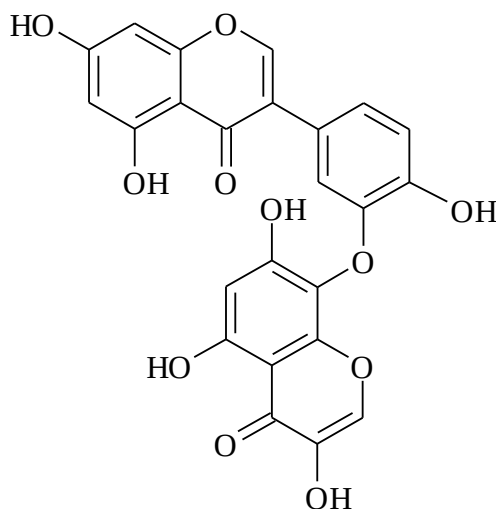
Structure et nom	Micro-organisme et évaluation du diamètre d'inhibition ou de la CMI	Source et Référence
 α -mangostine (66)	<i>Shigella dysenteriae</i> : 47 mm à la concentration de 100 ppm	<i>G. cymosa</i> (écorce) (Dwi et al., 2014)
 Epicatéchine (131)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 47 mm à la concentration de 100 ppm	<i>G. cymosa</i> (écorce) (Dwi et al., 2014)
 Garcinianine (132)	<i>Strepto-coccus mutan</i> MIC: 1,0 mg/mL	<i>G. kola</i> (graines) (Ajayi et al., 2014)
 Chamuangone (133)	<i>Streptococcus pyogènes</i> CMI : 7,8µg/mL <i>Staphylococcus aureus</i> CMI: 31,2 µg/mL <i>Bacillus subtilis</i> CMI: 31,2µg/mL	<i>G. cowa</i> (feuilles) (Ritthiwigrom et al., 2013)

La xanthone 1,3,6,7-tétrahydroxyxanthone (**125**), isolée des écorces de *G. polyantha* s'est montrée active vis-à-vis de trois champignons. Il s'agit de *Candida albicans* (CMI: 39,06 µg/mL), *Candida gabrata* (CMI: 39,06 µg/mL) et de *Microsporium audouinii* (CMI: 39,06 µg/mL).



(125)

La brevipedicelone D (**108**), isolée pour la première fois des feuilles de *G. brevipedicellata*, a montré une inhibition modérée de la mobilité des vers adultes de *Onchocerca ochengi* de 60% à la concentration de 20 µg/mL, ainsi que l'inhibition des vers juvéniles de *Onchocerca ochengi* et *Loa loa* de 90%, à la même concentration (**Akongwi et al., 2018**).



(108)

CHAPITRE II

RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES

I.1. Extraction et fractionnement

Les feuilles de *G. epunctata* ont été sélectionnées, séchées à l'ombre, puis réduites en poudre de 1,5 kg. Cette poudre, répartie dans dix cartouches de 150 g environ chacune, a par la suite été extraite avec du méthanol à l'aide d'un extracteur soxhlet. Un évaporateur rotatif a permis de concentrer la solution obtenue pour donner 262,5 g d'extrait au méthanol, dont un rendement d'extraction de 26,25 %. De cet extrait brut, nous avons obtenu, après trituration, avec trois solvants différents de polarité croissante:

- 67 g d'extrait au cyclohexane-acétate d'éthyle dans les proportions (97:3) (rendement: 25,52 %);
- 58 g d'extrait à l'acétate d'éthyle (rendement: 22,09 %);
- 44 g d'extrait à l'acétone (rendement: 16,76 %).

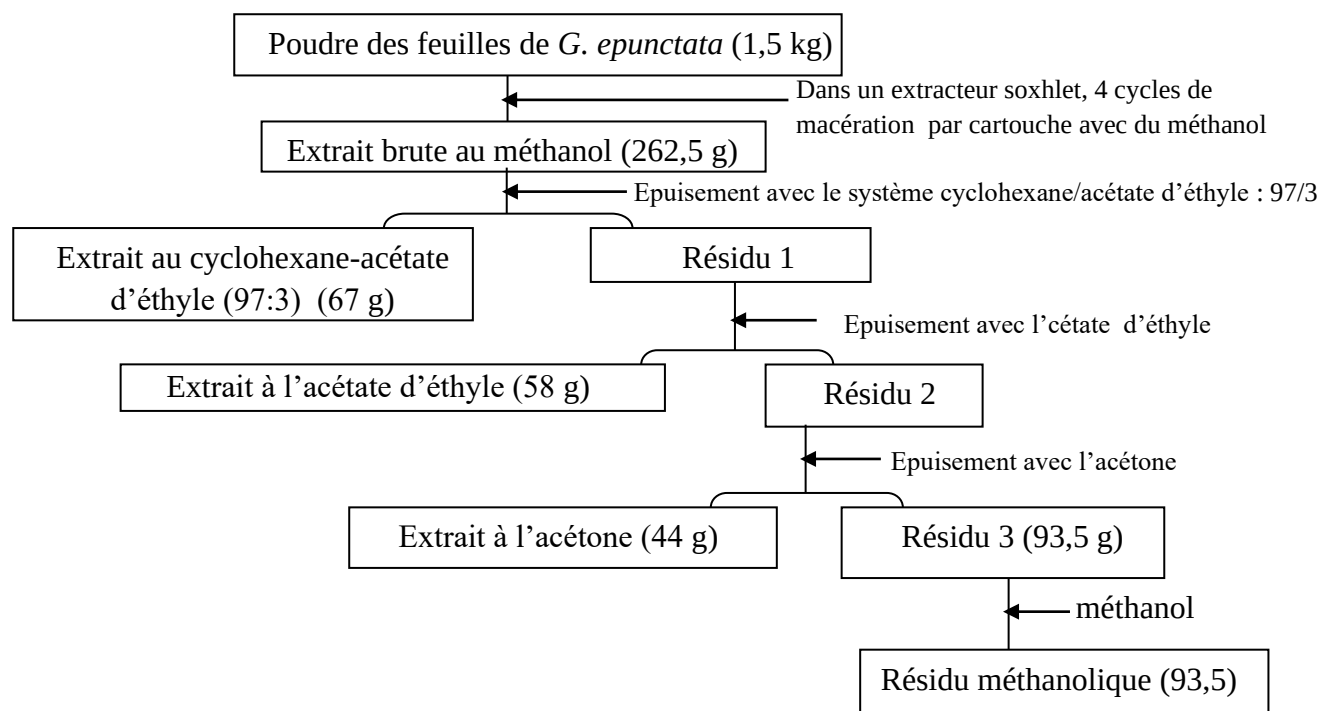


Schéma 6: Protocole d'extraction et de trituration des feuilles de *G. epunctata*

I.2. Isolement et purification

L'extrait à l'acétate d'éthyle a été fractionné par chromatographie sur colonne de séphadex LH20 avec pour éluant le méthanol pur. Ceci a permis d'obtenir trois grandes fractions A, B et C. La purification de chacune de ces fractions, par différentes techniques chromatographiques, a donné quinze composés purs indexés de GEP.x à GEP.14.

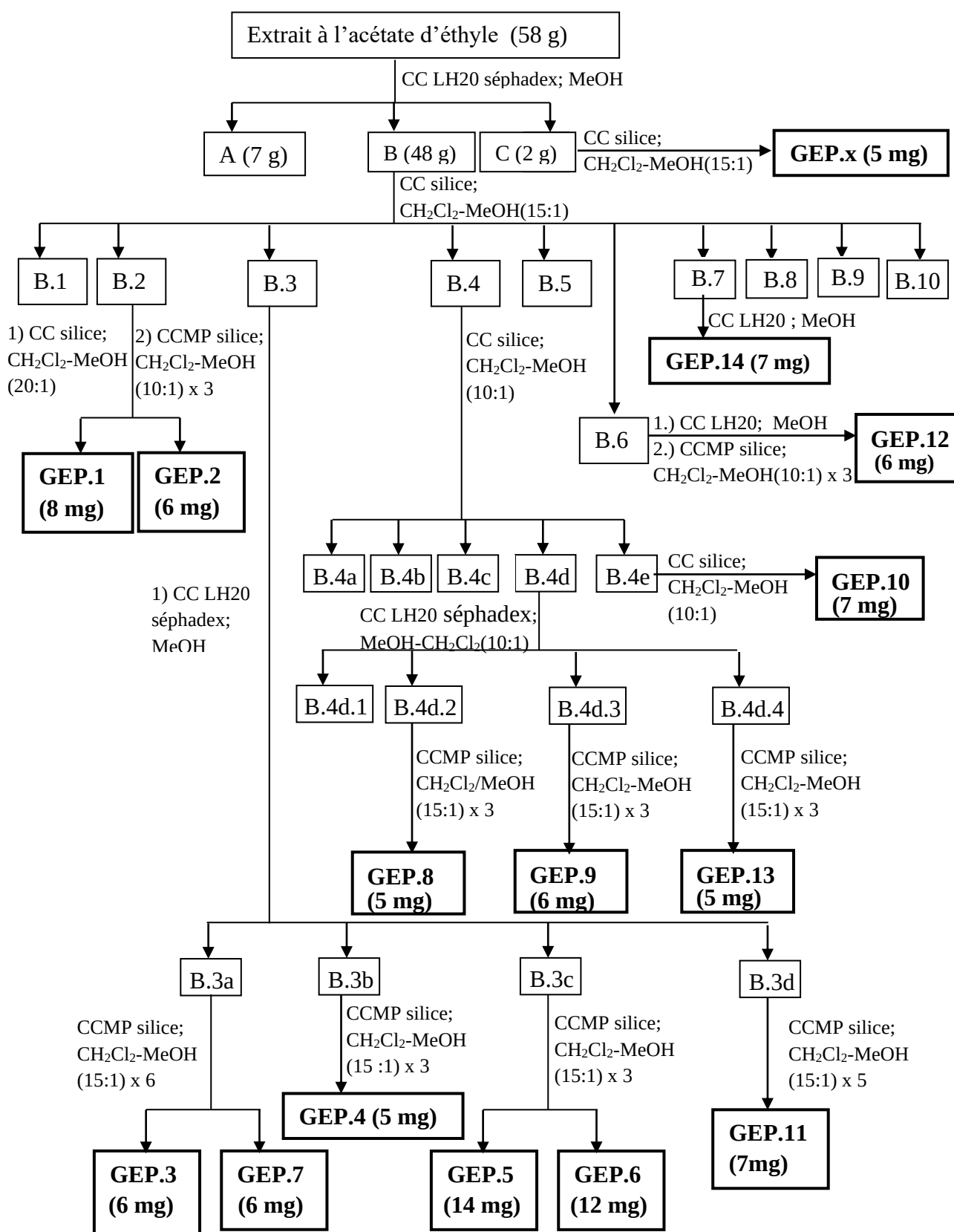


Schéma 7: Protocole de purification de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de *G. epunctata*

II. IDENTIFICATION DES COMPOSES ISOLES

II.1. Identification de GEP.x

GEP.x a été obtenu sous forme de poudre blanche dans le système CH_2Cl_2 -MeOH (15:1)

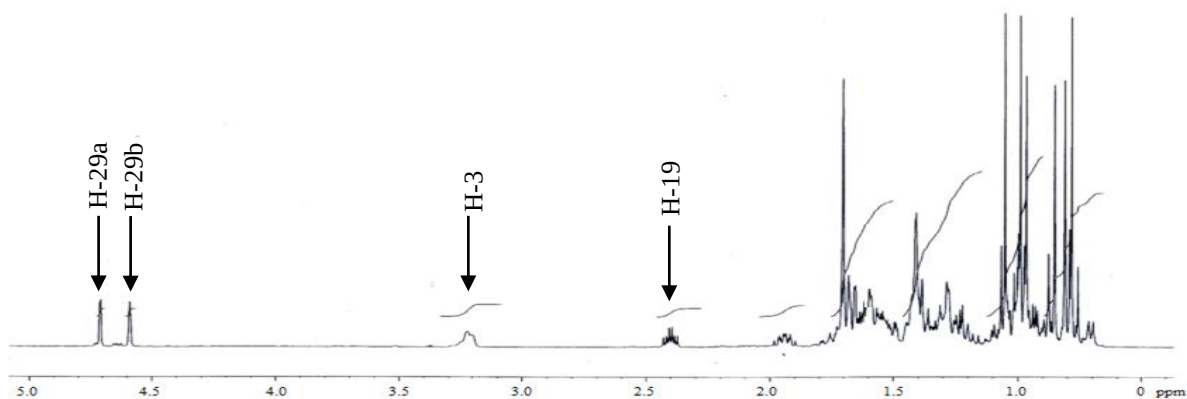


Figure 2: Spectre RMN- ^1H (600 MHz; CDCl_3) de GEP.x

L'examen du spectre RMN- ^1H (figures 2) présente les signaux de sept groupements méthyles, tous singulets entre 0,75 et 1,70 ppm; les signaux de deux protons oléfiniques à δ_{H} 4,72 et δ_{H} 4,58; un proton hydroxyméthine à 3,21 ppm.

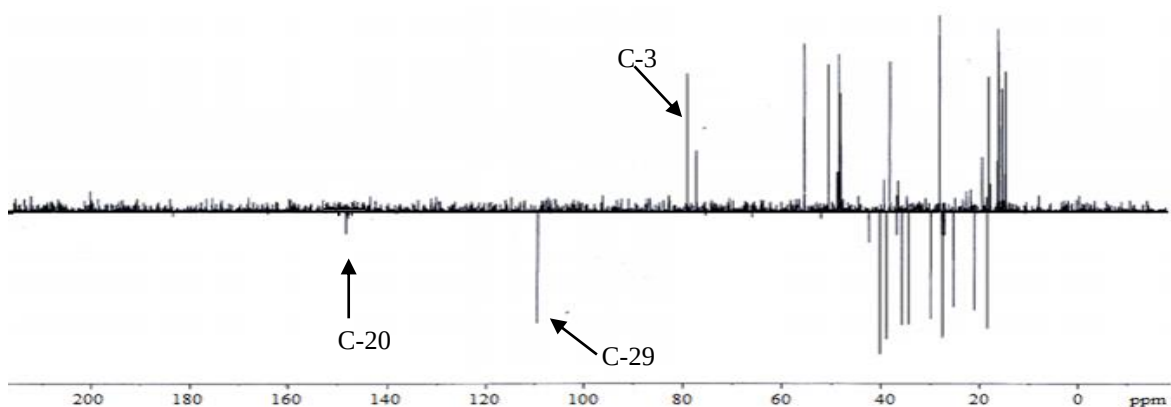


Figure 3: Spectre RMN- ^{13}C (150 MHz; CDCl_3) de GEP.x

Le spectre RMN- ^{13}C de GEP.x (figure 3) montre les signaux de 30 atomes de carbones correspondant au squelette triterpénique de la classe des lupanes, qui est caractérisée par la présence de sept groupements méthyles. L'atome de carbone lié au groupement hydroxyle apparaît à δ_{C} 79,1, tandis que les carbones éthyléniques apparaissent à δ_{C} 151,1 et 109,5. En comparant les données des spectres RMN- ^1H et RMN- ^{13}C de GEP.x à ceux de lupéol (**Htay et al., 2019**) (tableau XXXII), nous trouvons que GEP.x et lupéol sont identiques. D'où l'identification de GEP.x comme étant lupéol (**10**).

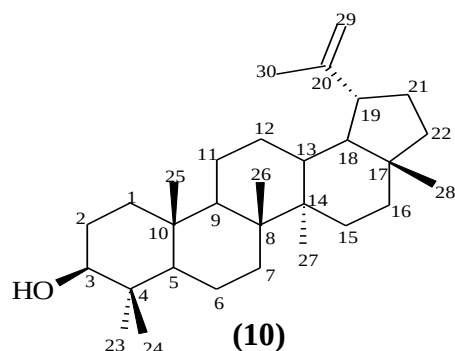


Tableau XXXII: Comparaison des données des spectres RMN-¹H (600 MHz; CDCl₃), RMN-¹³C (150 MHz; CDCl₃) de GEP.x et RMN-¹H (400 MHz; CDCl₃), RMN-¹³C (100 MHz; CDCl₃) de lupéol (Htay et *al.*, 2019).

N°	GEP.x		lupeol	
	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C
1	0,89 et 1,65	38,8	0,90 et 1,65	38,8
2	1,52 et 1,67	27,4	1,52 et 1,67	27,4
3	3,21 (1H)	79,0	3,21 (1H; dd)	78,9
4	-	38,7	-	38,7
5	0,67	55,3	0,67	55,2
6	1,35 et 1,50	18,3	1,37 et 1,52	18,3
7	1,39	34,3	1,39	34,2
8	-	40,8	-	40,8
9	1,26	50,4	1,25	50,4
10	-	37,1	-	37,1
11	1,20 et 1,40	20,9	1,20 et 1,40	20,9
12	1,60 et 1,62	27,1	1,06 et 1,62	25,1
13	1,66	38,0	1,66 (1H; t)	38,0
14	-	42,8	-	42,8
15	1,05 et 1,60	27,4	1,05 et 1,60	27,4
16	1,34 et 1,45	35,6	1,35 et 1,45	35,5
17	-	43,0	-	42,9
18	1,36	48,3	1,36 et 1,37	48,2
19	2,40 (1H; td)	48,0	2,40 (1H; m)	47,9
20	-	151,0	-	150,9
21	1,30 et 1,90	29,8	1,33 et 1,91	29,8
22	1,18 et 1,37	40,0	1,18 et 1,37	39,9
23	0,90 (3H; s)	28,0	0,90 (3H; s)	27,9
24	0,77 (3H; s)	15,3	0,76 (3H; s)	15,3
25	0,84 (3H; s)	16,1	0,83 (3H; s)	16,1
26	1,04 (3H; s)	19,9	1,03 (3H; s)	15,9
27	0,96 (3H; s)	14,5	0,94 (3H; s)	14,6
28	0,79 (3H; s)	18,0	0,79 (3H; s)	17,9
29a	4,72 (1H; s)	109,6	4,69 (1H; s)	109,3
29b	4,58 (1H; s)		4,57 (1H; s)	
30	1,65 (3H; s)	19,3	1,67 (3H; s)	19,2

II.2. Identification de GEP.1

GEP.1 a été obtenu sous forme de poudre blanche, dans le méthanol.

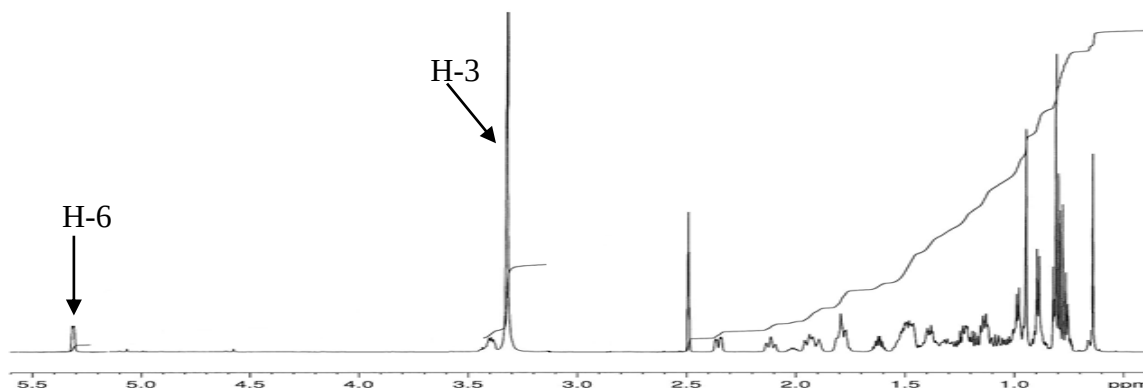


Figure 4: Spectre RMN-¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.1

L'analyse du spectre RMN-¹H de GEP.1 (figure 4) a révélé la présence des signaux de six groupements méthyles répartis comme suit:

- deux méthyles singulets à δ_H 0,68 et 1,01;
- trois méthyles doublets à δ_H 0,81, 0,83 et 0,93;
- en fin, un méthyle triplet à δ_H 0,84.

Sur ce même spectre, apparaît le signal d'un proton oléfinique à δ_H 5,36.

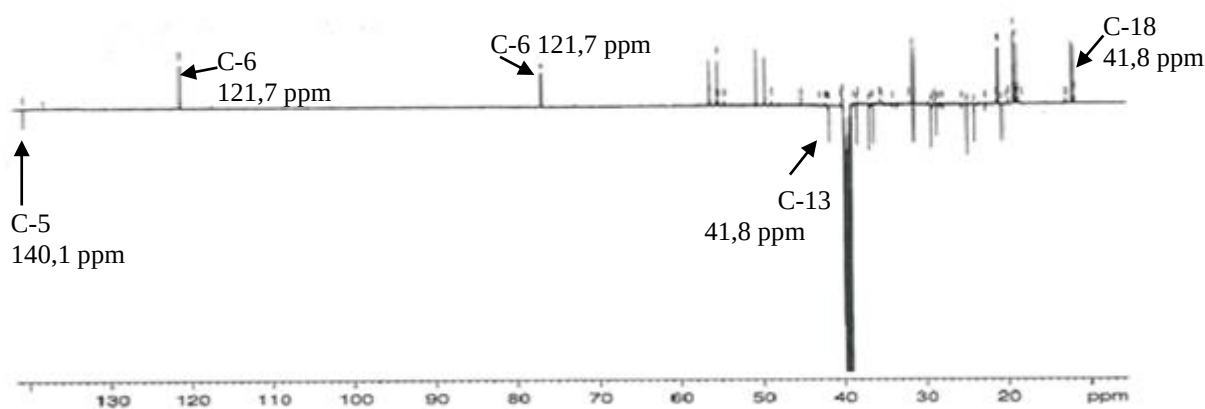


Figure 5: Spectre RMN-¹³C (150 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.1

En comparant les données les données spectrales RMN-¹H et RMN-¹³C de GEP.1 à celles de la littérature, on trouve que GEP.1 est le β -sitostérol (**136**).

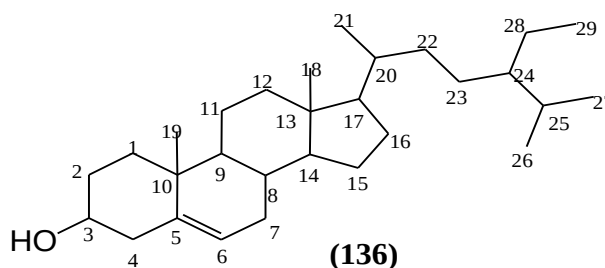


Tableau XXXIII: Comparaison des données des spectres RMN-¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (150 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.1 et RMN-¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (100 MHz; DMSO-*d*₆) de β -sitostérol (Mesfin et al., 2016)

Position	GEP.1		β -sitostérol	
	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C
1	1,45 (2H; m)	38,2	1,46 (2H; m)	37,2
2	1,55 (2H; m)	28,5	1,56 (2H; m)	31,6
3	3,39 (1H; m)	76,1	3,54 (2H; m)	71,8
4	2,35 (2H; m)	36,8	2,32 (2H; m)	42,3
5	-	140,1	-	140,7
6	5,31 (1H d; <i>J</i> = 4,6)	121,7	5,37 (1H; t)	121,7
7	2,04 (2H; m)	31,4	2,04 (2H; m)	31,9
8	1,63 (1H; m)	31,8	1,69 (1H; m)	31,9
9	1,55 (1H; m)	49,6	1,55 (1H; m)	50,1
10	-	36,2	-	36,5
11	1,52 (2H; m)	22,5	1,52 (2H; m)	21,1
12	1,51 (2H; m)	41,7	1,51 (2H; m)	39,8
13	-	41,8	-	42,3
14	1,50 (1H; m)	56,2	1,50 (1H; m)	56,7
15	1,61 (2H; m)	24,8	1,58 (2H; m)	24,3
16	1,81 (2H; m)	29,2	1,85 (2H; m)	28,2
17	1,45 (1H; m)	55,3	1,45 (1H; m)	56,0
18	0,68 (3H; s)	11,8	0,70 (3H; s)	11,8
19	0,95 (3H; s)	18,9	1,03 (3H; s)	19,4
20	1,61 (1H; m)	35,3	1,60 (1H; m)	36,1
21	0,98 (3H; d; <i>J</i> = 4,8)	21,1	0,94 (3H; d)	18,8
22	0,93 (2H; m)	34,2	0,93 (2H; m)	33,9
23	1,15 (2H; m)	26,3	1,15 (2H; m)	26,1
24	1,38 (1H; m)	46,1	1,38 (1H; m)	45,8
25	1,57 (1H; m)	31,3	1,57 (1H; m)	29,1
26	0,83 (3H; d; <i>J</i> = 6,4)	19,1	0,84 (3H; d)	19,8
27	0,79 (3H; d; <i>J</i> = 6,6)	20,9	0,86 (3H; d)	19,0
28	1,10 (2H; m)	23,8	1,10 (2H; m)	23,1
29	0,79 (3H; t)	12,1	0,82 (3H; t)	12,0

II.3. Identification de GEP.2

GEP.2 a été obtenu sous forme de poudre blanche, dans le méthanol.

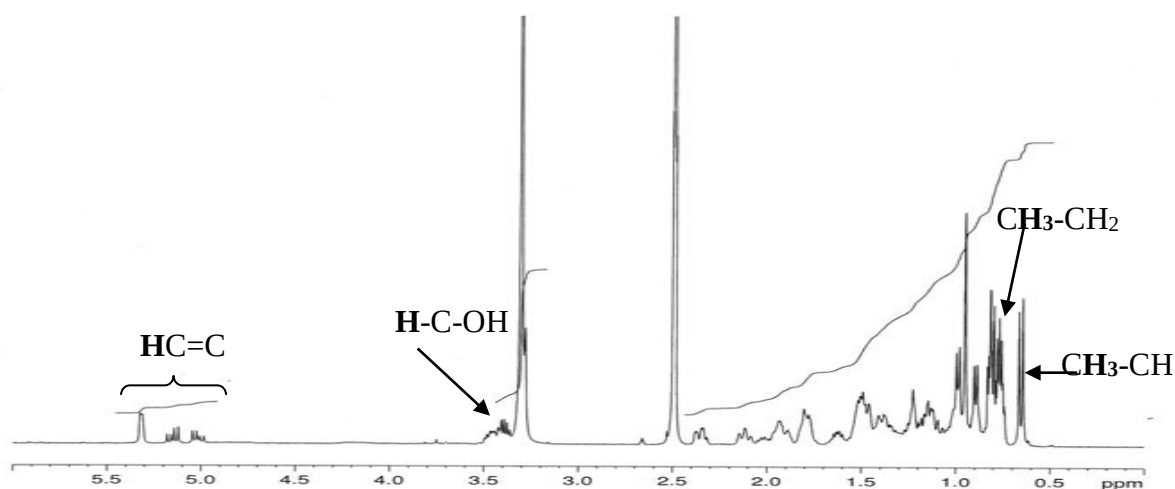


Figure 6: Spectre RMN-¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.2

Le spectre RMN-¹H (figure 6) de GEP.2 montre les signaux de: deux méthyles singulets à δ_H 0,79 et 0,94; trois méthyles doublets à δ_H 0,65; 0,81 et 0,98 ainsi qu'un méthyle triplet à δ_H 0,76. Sur ce même spectre, on observe aussi des protons à δ_H 5,01; 5,15 et 5,31 qui correspondent aux protons oléfiniques, ainsi qu'un proton hydroxyméthine qui résonne en multiplet à δ_H 3,38.

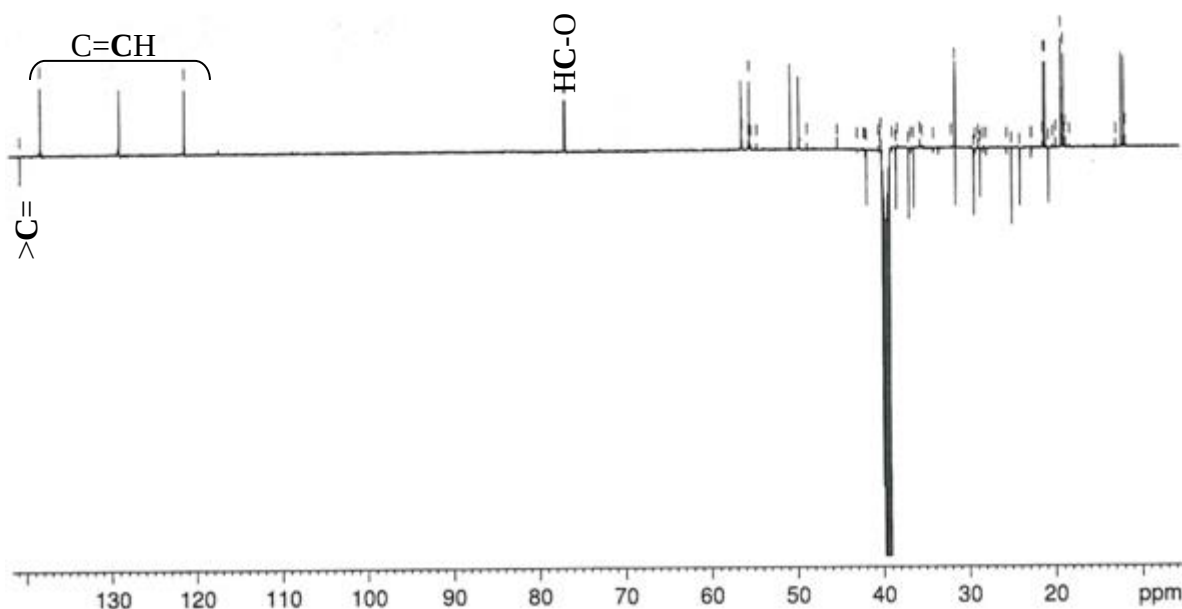


Figure 7: Spectre RMN-¹³C (150 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.2

L'analyse comparée du spectre RMN-¹³C (figure 7) de GEP.2, aux données spectrales de quelques stérols connus nous a permis de conclure que GEP.2 est le stigmastérol (5) (tableaux XXXIV) (Mahbuba et al., 2012).

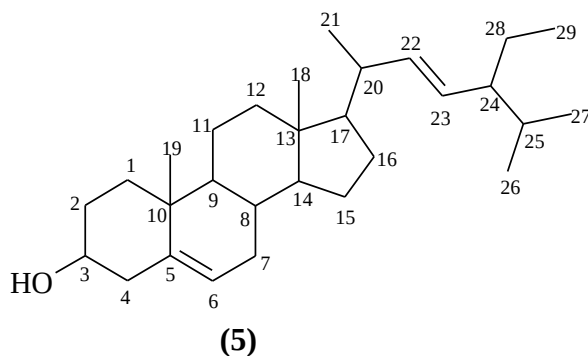


Tableau XXXIV: Comparaison des données des spectres RMN-¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (150 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.2 et RMN-¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (100 MHz; DMSO-*d*₆) de stigmastérol (3) (Mahbuba et *al.*, 2012)

Position	GEP.2		stigmastérol	
	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ _C	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ _C
1	1,16 (2H; m)	38,2	1,15 (2H; m)	37,3
2	1,44 (2H; m)	28,5	1,44 (2H; m)	31,7
3	3,38 (1H; m)	76,2	3,51 (1H; m)	71,8
4	1,96 (2H; m)	36,8	1,98 (2H; m)	42,3
5	-	140,4	-	141,0
6	5,31 (1H; d; 5,0)	121,1	5,34 (1H; s)	121,7
7	1,80 (2H; m)	31,4	1,85 (2H; m)	31,7
8	1,45 (1H; m)	31,8	1,44 (1H; m)	31,7
9	1,45 (1H; m)	49,6	1,44 (1H; m)	50,1
10	-	36,2	-	36,1
11	1,45 (2H; m)	22,5	1,44 (2H; m)	21,1
12	1,45 (2H; m)	41,7	1,44 (2H; m)	40,1
13	-	41,8	-	42,4
14	1,45 (1H; m)	56,1	1,44 (1H; m)	56,1
15	1,54 (2H; m)	24,8	1,53 (2H; m)	23,1
16	1,54 (2H; m)	29,2	1,53 (2H; m)	29,7
17	1,54 (2H; m)	55,3	1,53 (2H; m)	56,1
18	0,79 (3H; s)	11,8	0,69 (3H; s)	12,0
19	0,94 (3H; s)	18,9	1,00 (3H; s)	19,4
20	2,15 (1H; m)	50,5	2,27 (1H; m)	41,1
21	0,98 (3H; d; 8,6)	21,1	0,86 (3H; d)	21,1
22	5,15 (1H; dd; 8,5 / 8,5)	138,0	5,14 (1H; dd; 12 / 8)	138,0
23	5,01 (1H; dd; 8,5 / 8,5)	128,8	5,04 (1H; dd; 12 / 8)	128,9
24	2,32 (1H; m)	31,3	2,22 (1H; m)	30,1
25	1,80 (2H; m)	31,3	1,85 (1H; m)	31,7
26	0,81 (3H; d; 6,4)	19,1	0,84 (3H; d; 6,8)	21,3
27	0,65 (3H; d; 8,0)	20,9	0,82 (3H; d; 6,8)	19,0
28	1,23 (1H; m)	23,8	1,25 (1H; m)	25,3
29	0,77 (3H; t)	12,1	0,82 (3H; t; 6,9)	12,2

II.4. Identification de GEP.3

GEP.3 se présente sous forme de poudre blanche. Il réagit positivement au test de Molisch et de Liebermann-Buchard. Ceci indique que GEP.3 est un glycoside triterpénique.

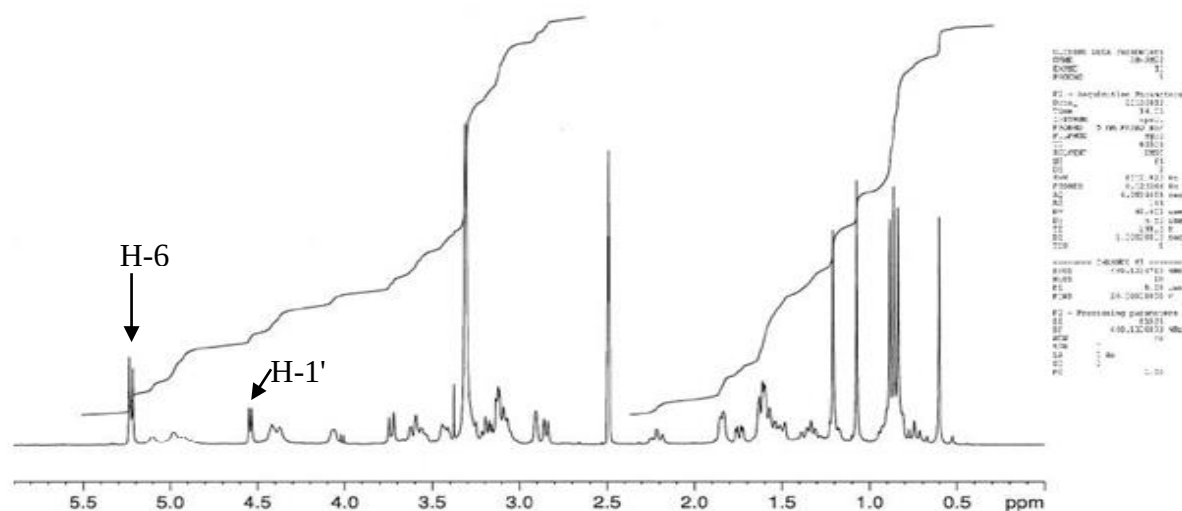


Figure 8: Spectre RMN-¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.3

Le spectre RMN-¹H (figure 8) révèle la présence de: trois signaux de méthyles doublets à δ_H 0,77, 0,81 et 0,98, deux signaux de méthyles singulets qui résonnent à δ_H 0,66 et 0,95, le signal d'un méthyle terminal à δ_H 0,76 qui apparaît comme un triplet, le signal d'un proton à δ_H 3,42 indiquant un atome d'hydrogène porté par un carbone lié à un oxygène, un proton oléfinique à δ_H 5,23 suggérant la présence d'une double liaison, un proton anomérique (H-1') d'une unité glycosidique, qui apparaît comme un doublet à δ_H 4,52.

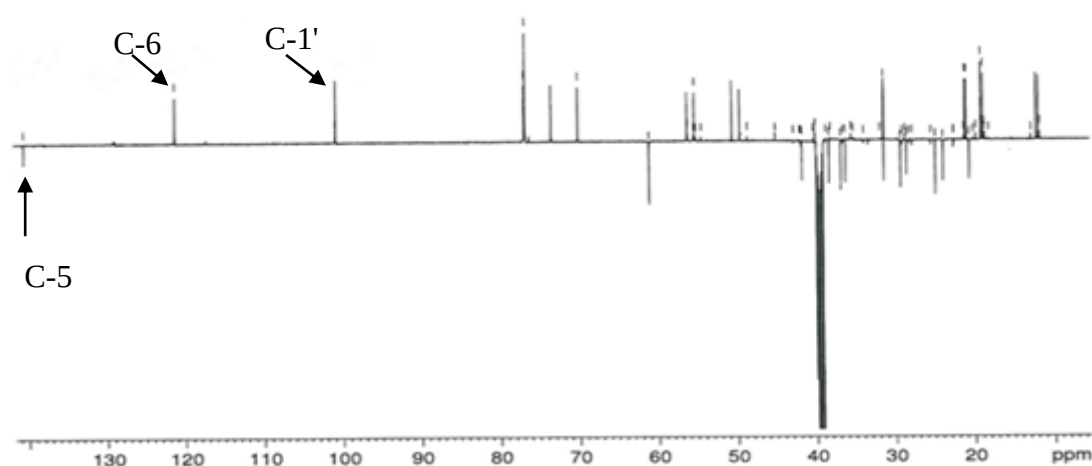


Figure 9: Spectre RMN-¹³C (150 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.3

La comparaison des valeurs de déplacements chimiques des ¹H et ¹³C de GEP.3 avec celles trouvées dans la littérature a permis de l'identifier comme étant β -sitostérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**137**), composé connu et déjà isolé de *Lansea kerstingii* (Njinga et al., 2016).

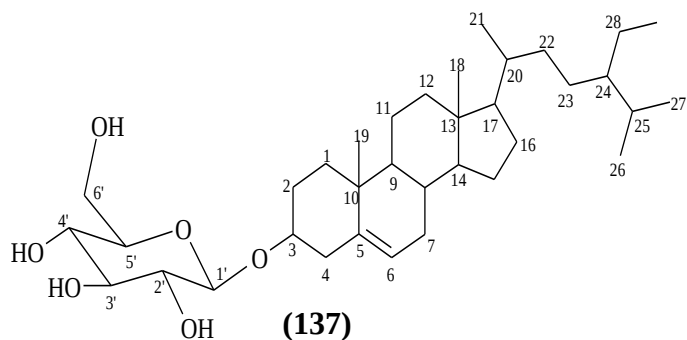


Tableau XXXV: Comparaison des données des spectres RMN-¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (150 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.3 et RMN-¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (100 MHz; DMSO-*d*₆) de β -sitostérol-3-*O*- β -D- glucopyranoside (Njinga et al., 2016).

Position	GEP.3		β -sitostérol-3- <i>O</i> - β -D- glucopyranoside	
	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C
1		38,2		38,7
2		28,5		29,1
3	3,39 (1H; m)	76,8	3,37 (m)	77,4
4		36,8		39,5
5		140,4	-	140,9
6	5,32 (1H; d; <i>J</i> = 4,9)	121,1	5,35 (d; 4,5)	121,8
7		31,4		31,8
8		31,8		31,8
9		49,6		50,0
10		36,2	-	37,2
11		22,5		21,0
12		41,7		39,3
13		41,8	-	42,3
14		56,2		55,9
15		24,8		24,3
16		29,2		28,2
17		55,3		56,6
18	0,66 (3H; s)	11,8	0,65 (3H; s)	12,1
19	0,95 (3H; s)	18,9	0,96 (3H; s)	19,1
20		36,5		36,6
21	0,98 (3H; d; <i>J</i> = 4,6)	21,1	0,90 (3H; d)	20,7
22		34,2		33,7
23		26,3		25,8
24		46,0		45,5
25		31,3		31,8
26	0,81 (3H; d; <i>J</i> = 6,4)	19,1	0,80 (3H)	20,2
27	0,77 (3H; d; <i>J</i> = 6,8)	20,9	0,79 (3H; m)	19,5
28		23,8		23,0
29	0,76 (3H; d)	12,1	0,85 (3H; m)	12,2
1'	4,20 (1H; d; <i>J</i> = 7,8)	100,6	4,24 (1H)	104,4
2'	2,87 (1H; m)	70,0		74,0
3'	3,10 (1H; m)	76,8		77,4
4'	2,99 (1H; m)	73,4		70,5
5'	3,05 (1H; m)	76,7		77,4
6'	3,63 (m) et 3,45 (m)	61,0		61,5

II.5. Identification de GEP.4

GEP.4 a été obtenu sous forme de poudre blanche amorphe, dans le méthanol. C'est aussi un triterpène car il réagit positivement au test de Liebermann-Burchard pour les triterpènes.

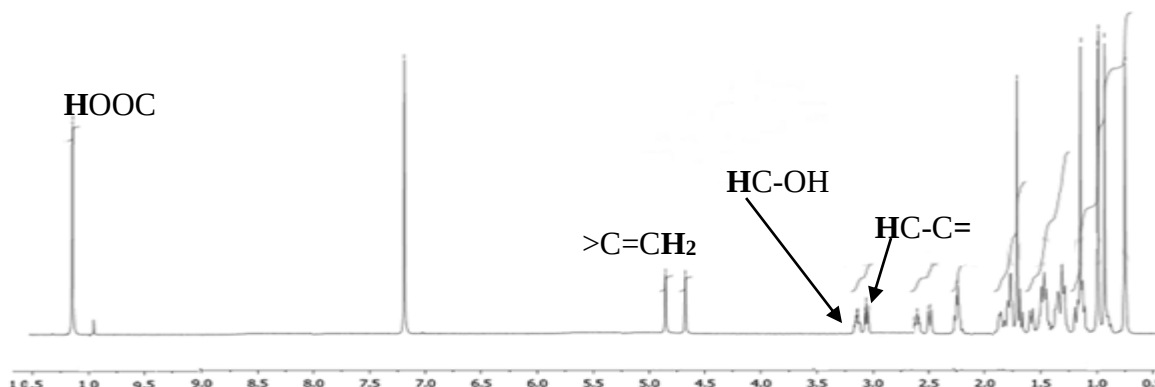


Figure 10: Spectre RMN-¹H (600 MHz; CDCl₃) de GEP.4

L'examen du spectre RMN-¹H (figure 10) fait ressortir les signaux de six groupements méthyles tous singulets: δ_H 1,75 (3H; s; H-30), δ_H 1,16 (3H; s; H-27), δ_H 1,06 (3H; s; H-26), δ_H 1,01 (3H; s; H-23), δ_H 0,92 (3H; s; H-25) et δ_H 0,78 (3H; s; H-24). On remarque aussi les signaux de deux protons éthyléniques d'un méthylène terminal à δ_H 4,73 et à δ_H 4,60 ainsi que la présence de deux multiplets; l'un à δ_H 3,05 et l'autre à δ_H 3,20. Le dernier est caractéristique du proton H-3 des triterpènes ayant le squelette lupane. En fin, le signal d'un proton singulet, à δ_H 10,31 caractéristique de la fonction acide carboxylique.

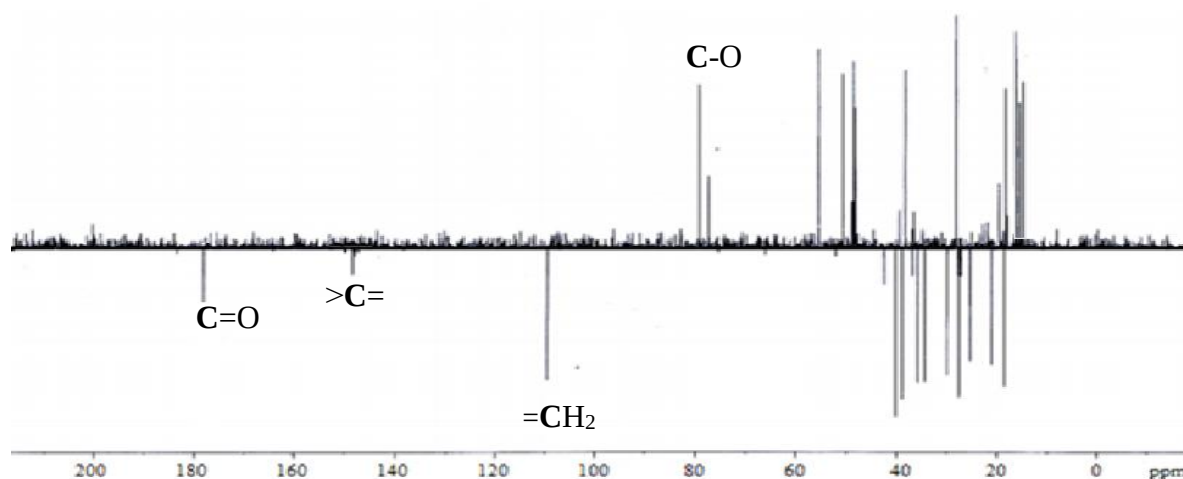


Figure 11: Spectre RMN-¹³C (150 MHz; CDCl₃) de GEP.4

Le spectre RMN-¹³C de GEP.4 (figures 11) est très proche de celui de GEP.x. On remarque néanmoins, le signal d'un carbonyle acide qui apparaît à δ_C 178,9. La comparaison des données spectrale RMN-¹H et RMN-¹³C de GEP.4, avec celle de la littérature (tableau XXXVI) montre que GEP.4 est l'acide betulinique (**138**) (Samy et al., 2014).

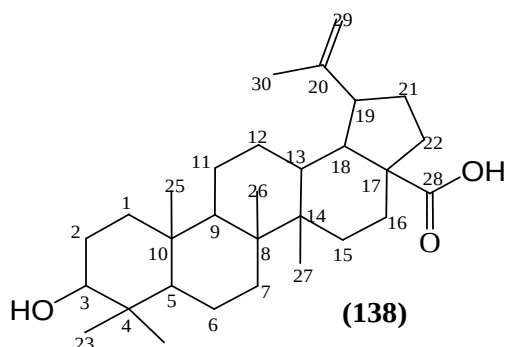


Tableau XXXVI: Comparaison des données des spectres RMN-¹H (600 MHz; CDCl₃), RMN-¹³C (150 MHz; CDCl₃) de GEP.4 et RMN-¹H (400 MHz; Pyridine-*d*₆), RMN-¹³C (100 MHz; Pyridine-*d*₆) de l'acide betulinique

Position	GEP.4		acide betulinique	
	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C
1		38,9		38,8
2		26,8		27,9
3	3,20 (1H)	78,4	3,18 (1H; dd; <i>J</i> = 4,8)	79,0
4	-	38,4	-	38,7
5		55,4		55,5
6		18,2		18,3
7		34,3		34,3
8	-	40,8	-	40,9
9		50,4		50,5
10	-	36,8	-	37,0
11		19,9		20,0
12		26,4		25,2
13		38,2		38,4
14	-	41,8	-	42,4
15		28,8		30,6
16	1,40 (2H; m)	32,1	1,38 (2H; m)	32,1
17	-	56,3	-	56,3
18		47,0		46,8
19	3,05	49,0	3,00 (1H; m)	49,2
20	-	149,7	-	150,4
21	1,38 (2H; m)	30,0	1,37 (2H; m)	29,7
22		38,0		38,0
23	1,01 (3H; s)	28,9	0,93 (3H; s)	29,9
24	0,78 (3H; s)	16,0	0,75 (3H; s)	15,3
25	0,92 (3H; s)	15,9	0,82 (3H; s)	16,0
26	1,04 (3H; s)	15,8	0,97 (3H; s)	16,1
27	1,16 (3H; s)	15,0	0,96 (3H; s)	14,7
28	-	178,9	-	180,3
29a	4,73 (1H; s)	110,0	4,69 (1H; s)	109,6
29b	4,60 (1H; s)		4,57 (1H; s)	
30	1,75 (3H; s)	19,3	1,68 (3H; s)	19,4
OH-28	10,28		10,27	

II.6. Elucidation de la structure de GEP.5

GEP.5 a été obtenu sous forme d'un solide blanc et amorphe, dans le méthanol.

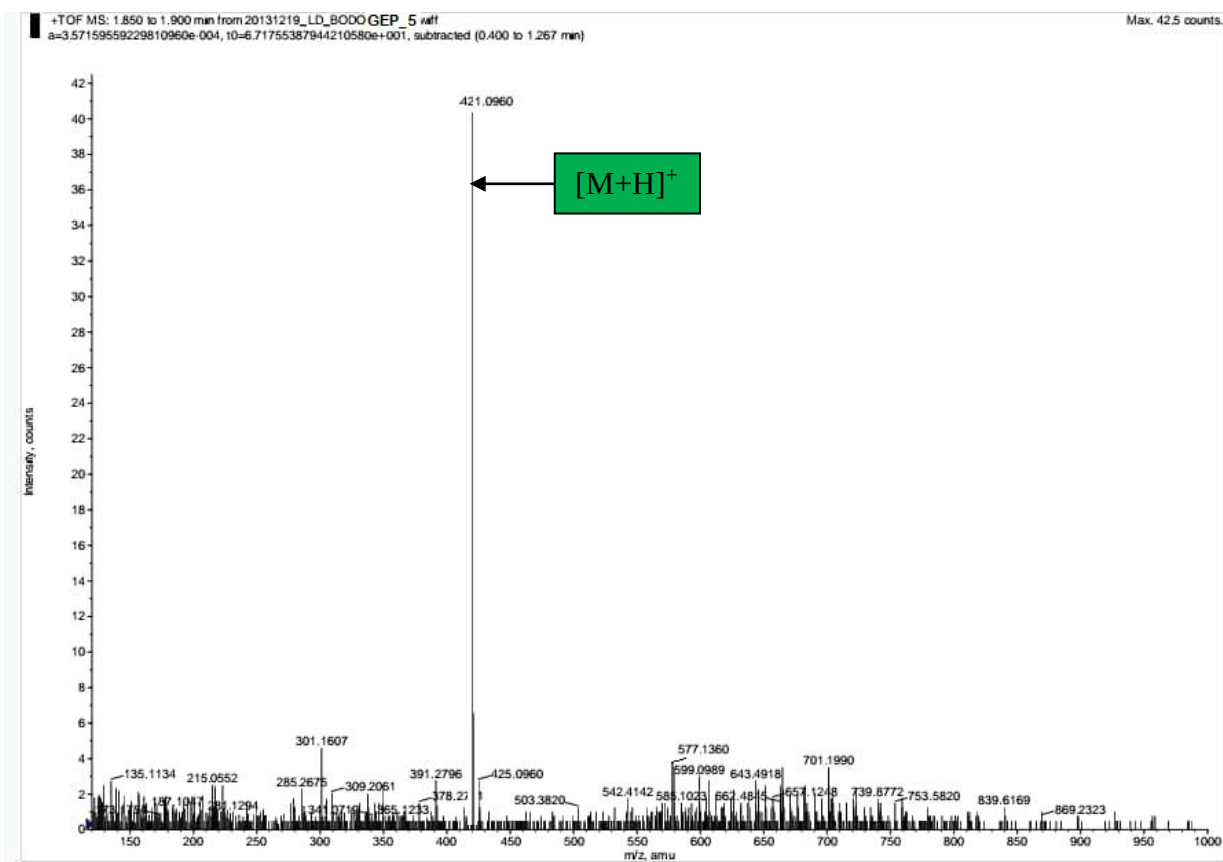


Figure 12: Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.5

Sur son spectre de masse ESI à haute résolution, le pic de l'ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ apparaît à $m/z=421,0960$; compatible avec la formule brute $C_{20}H_{20}O_{10}$.

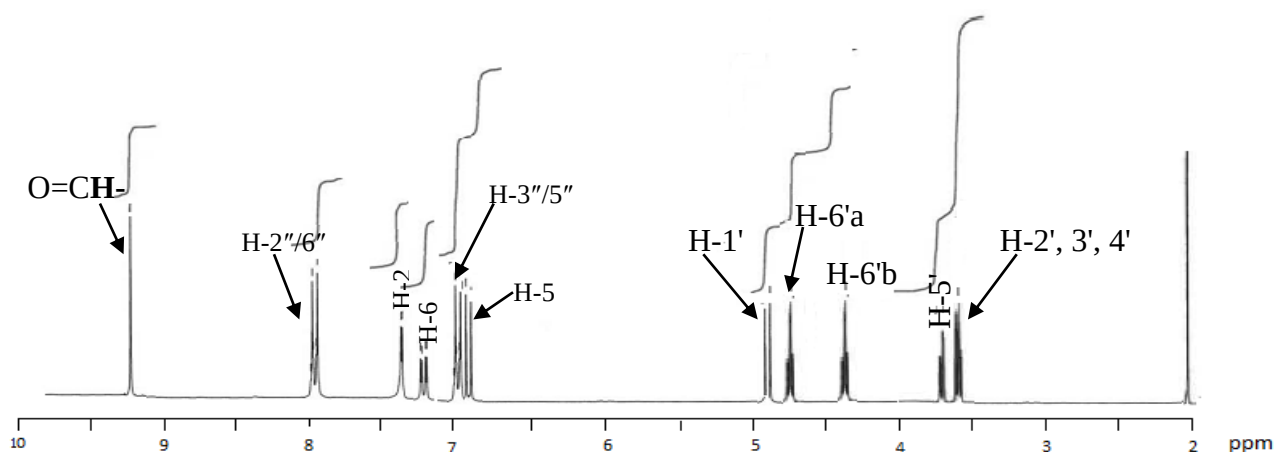
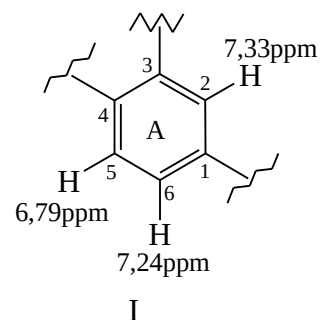


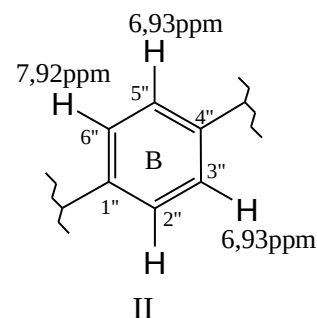
Figure 13: Spectre RMN- ^1H (500 MHz; $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de GEP.5

L'analyse simultanée des spectres RMN- ^1H 1D et 2D de GEP 5 (figures 13 et 14) a conduit à l'identification de quatre groupes de signaux qui sont:

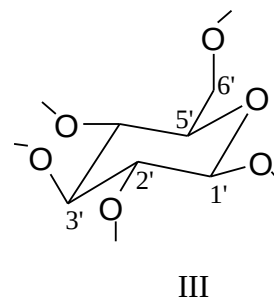
- Les signaux correspondant à un cycle benzénique trisubstitué (système ABX). On note: δ_{H} 6,79 (1H; d; $J = 8,6$ Hz; H-5), δ_{H} 7,33(1H; d; $J = 1,9$ Hz; H-2) et δ_{H} 7,24 (1H; dd; $J = 8,6 / 1,9$ Hz; H-6) (sous-structure I).



- Le deuxième groupe correspond aux protons d'un cycle benzénique dissubstitué dont les protons forment un système AA'BB': δ_{H} 7,92 (1H; d; $J = 8,7$ Hz; H-2''/6'') et δ_{H} 6,93(2H; d; $J = 7$ Hz; H-3''/5''). Il s'agit donc d'un cycle benzénique para dissubstitué (sous-structure II).



- Le troisième groupe est constitué de sept protons à savoir: δ_H 4,86 (1H; d; $J = 7,8$ Hz; H-1'), δ_H 3,51 (1H; dd; $J = 7,7 / 7,7$ Hz; H-4'), δ_H 3,56 (1H; dd; $J = 7,4 / 7,7$ Hz; H-3'), δ_H 3,54 (1H; dd; $J = 7,8 / 7,4$ Hz; H-2'), δ_H 3,77 (1H; ddd; $J = 7,7 / 2,4 / 6,7$ Hz; H-5'), δ_H 4,72 (1H; dd; $J = 11,9 / 2,4$ Hz; H-6'a) et δ_H 4,30 (1H; dd; $J = 11,9 / 6,7$ Hz; H-6'b). Ces signaux correspondent bien à ceux d'un résidu glycosidique (sous-structure III) (Onche et al., 2013).



- Le signal d'un proton singulet δ_H 9,24 (1H; s; H-7) qui correspond au proton aldéhydique (sous-structure IV)

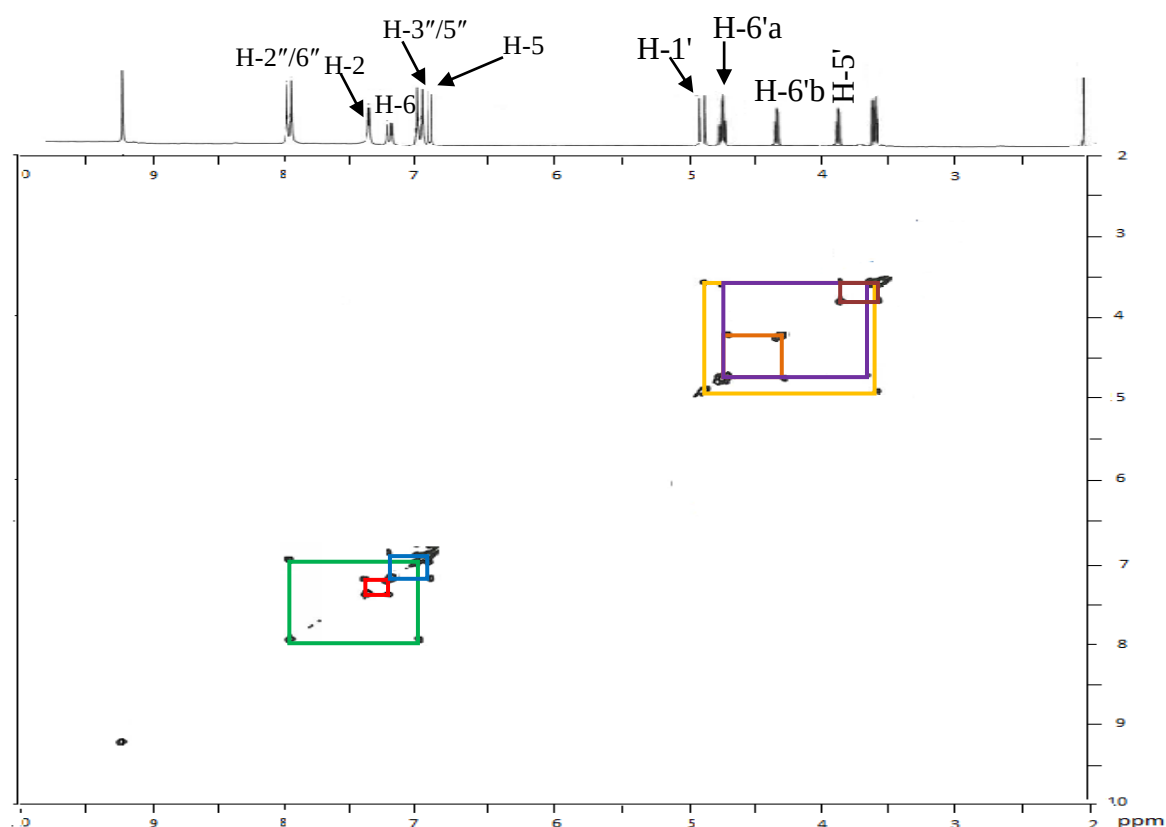
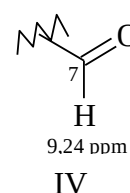


Figure 14: Spectre COSY ^1H - ^1H de GEP.5

Sur le spectre COSY ^1H - ^1H (figure 14), se présentent clairement les corrélations entre les protons du cycle B (H-2''/6'' et H-3''/5'') d'une part et les protons du cycle A (H-2, H-5 et H-6) d'autre part.

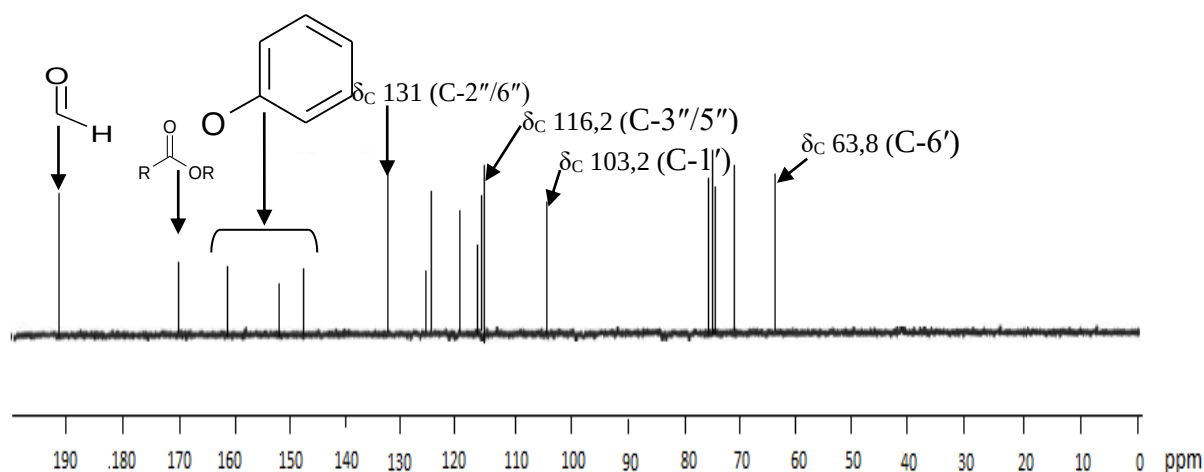
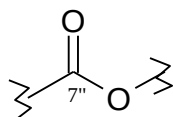


Figure 15: Spectre RMN- ^{13}C (125 MHz; $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de GEP.5

Le spectre RMN- ^{13}C (figure 15) de GEP.5, présente les signaux de tous les vingt atomes de carbones requis par la formule brute. Ils sont répartis comme suit:

- Sept carbones méthines hybridés sp^2 entre δ_{C} 116,2 et 131,9 ppm;
- Cinq carbones quaternaires hybridés sp^2 entre δ_{C} 116,9 et 161,6;
- Six signaux de carbones aliphatiques, entre δ_{C} 63,8 et 103,2, correspondant bien aux signaux des atomes de carbone de la molécule de D-glucose (**Onche et al., 2013**).
- Les signaux de deux groupes carbonyles; l'un à δ_{C} 190,3 et l'autre à δ_{C} 169,9 ont été assignés au carbonyle d'aldéhyde (sous-structure IV) et au carbonyle d'ester (sous-structure V) respectivement.



(V)

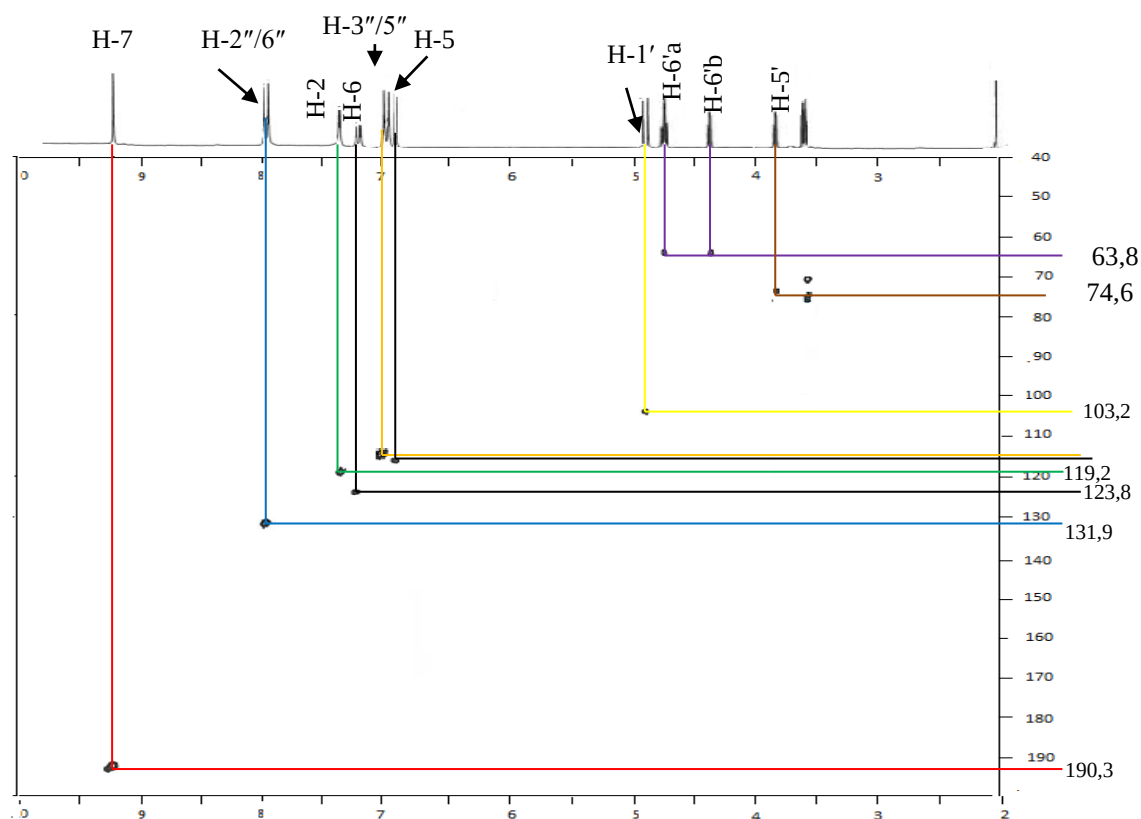


Figure 2: Spectre HSQC de GEP.5

Les déplacements chimiques de tous les atomes de carbones méthines et méthylènes, ont été assignés à partir du spectre HSQC de GEP.5 (figure 16) ainsi qu'il suit :

- Le signal d'un carbonyl d'aldéhyde à δ_C 190,3 (C-7);
- Les signaux des carbones méthines du cycle A: δ_C 116,6 (C-5), δ_C 119,2 (C-2) et δ_C 123,8 (C-6);
- Les signaux des carbones méthines du cycle B: δ_C 131,9 (C-2''/6''), δ_C 116,4 (C-3''/5'');
- Le signal d'un carbone méthylène à δ_C 63,8 (C-6')

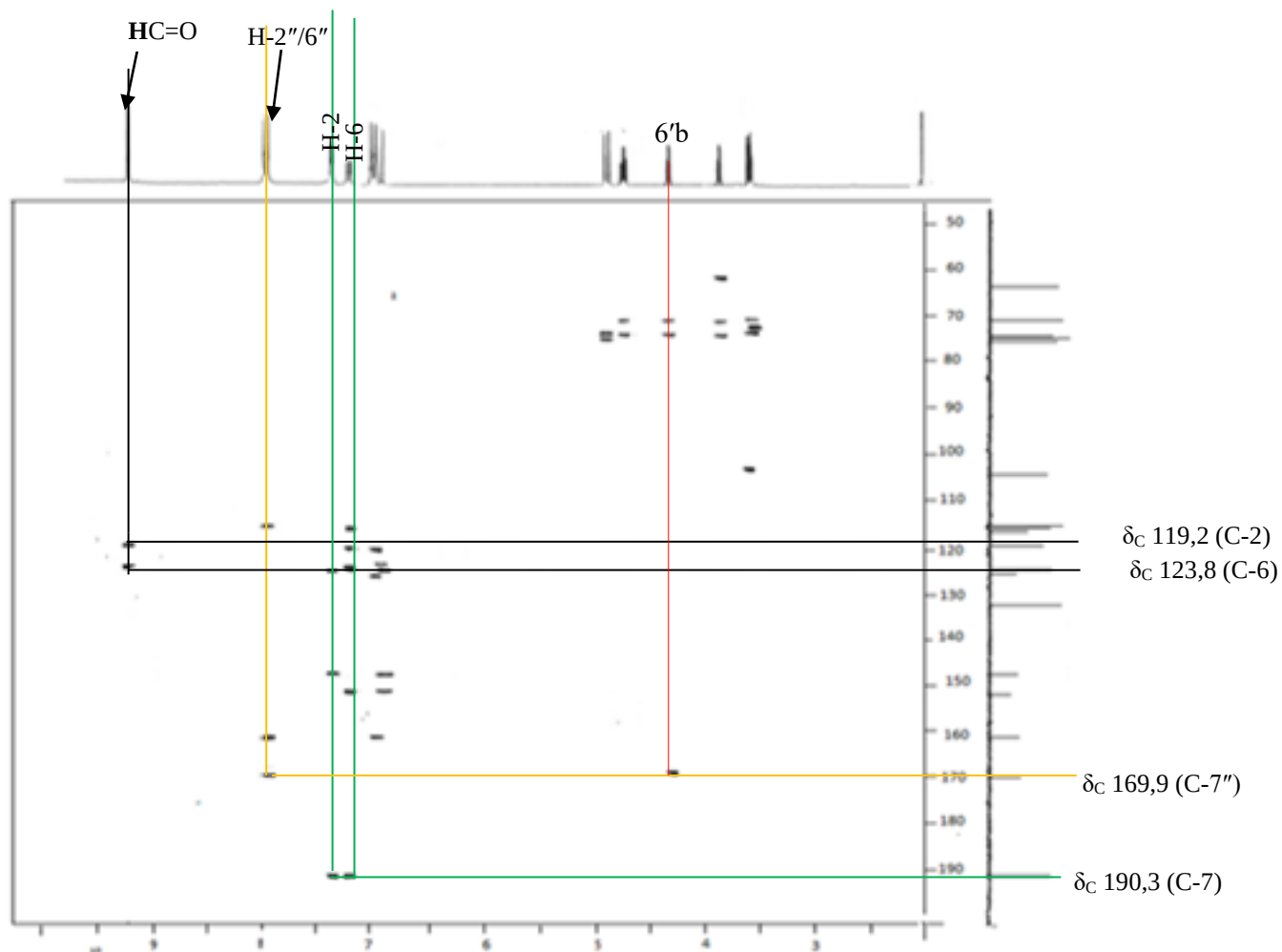


Figure 3: Spectre HMBC de GEP.5

Le spectre HMBC de GEP.5 (figure 17), présente clairement le carbonyle d'aldéhyde (sous-structure IV) à δ_C 190,3 qui corrèle avec les protons H-6 et H-2 à δ_H 7,24 et 7,33 respectivement et vice-versa, tandis que le carbonyle d'ester (sous-structure V) à δ_C 169,9 (C-7'') corrèle avec les protons H-2'' et H-6'' à δ_H 7,92, et avec le proton H-6'b à δ_H 4,30. Ceci permet de déduire que la fonction aldéhyde est portée par le cycle A, plus précisément par le carbone C-1, tandis que le carbonyle d'ester est porté par le cycle B, précisément par le carbone C-1'. Ceci permet de lier les sous-structures I et IV d'une part, puis les sous-structures II et V d'autres parts.

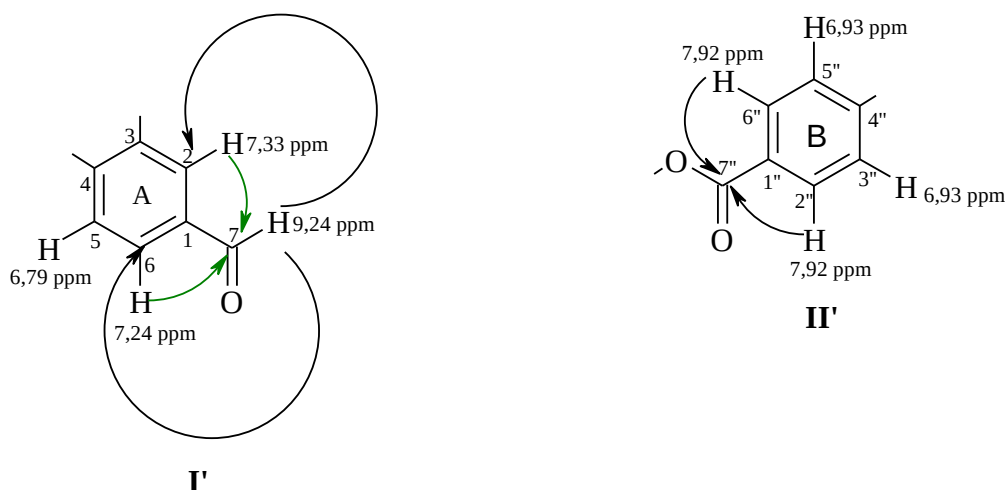


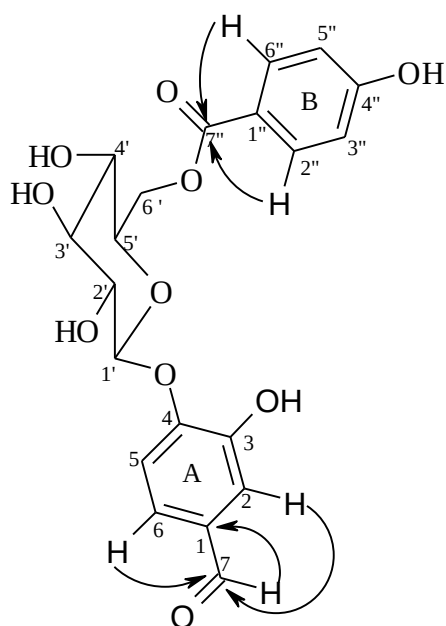
Schéma 8: corrélations HMBC de GEP.5

Les valeurs du spectre NOE de GEP.5, exprimées en pourcentage (voir tableau XXXVII), montrent deux corrélations principales. La première concerne le proton anomérique H-1' du glucose à δ_H 4,86 et le proton aromatique H-5 du cycle A à δ_H 6,79. Ceci permet de dire que la sous-structure (III) est liée à la sous-structure I' (cycle A), par une liaison éther C-O-C entre le carbone C-1' du D-Glucose et le carbone C-4 du cycle A. La deuxième corrélation est établie entre les deux protons méthylénique du glucose (H-6'a à δ_H 4,72 et H-6'b à δ_H 4,30), et les deux protons aromatiques H-2'' et H-6'' du cycle B à δ_H 7,92. Ceci confirme que le cycle B (sous-structure II') est lié au résidu glycosidique (sous-structure III) par la fonction ester.

Tableau XXXVII: Valeurs du spectre NOE de GEP.5

δ_H Proton du sucre	δ_H Proton d'aglycone	NOE
4,86 (H-1')	6,79	22 %
4,72 (H-6a')	7,92	18 %
4,30 (H-6b')	7,92	20 %
Proton des autres possibilités		0 %

Toute cette analyse a permis d'attribuer les déplacements chimiques de tous les protons et atomes de carbones et d'élucider GEP.5 comme un dérivé nouveau de la lancéolosite A, soit le 4-O-[6'-O-(4-hydroxybenzoyl)- β -D-glucopyranosyl]-3-hydroxybenzaldéhyde auquel est donné le nom trivial épunctoside A (**139**).



(139)

Tableau 4XVIII: Spectre RMN-¹H (500 MHz) et RMN-¹³C (125MHz) de GEP.5 dans l'acétone-_d6 et corrélation HMBC

Position	δ _C	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	corrélation HMBC
1	124,6	-	
2	119,2	7,33 (1H; d; 1,9)	123,8; 147,4; 190,3
3	147,4	-	
4	150,8	-	
5	116,6	6,79 (1H; d; 8,6)	119,2; 123,8; 124,6; 147,4; 150,8
6	123,8	7,24 (1H; dd; 8,6 / 1,9)	116,4; 119,2; 124,6; 150,8; 190,3
7	190,3	9,24 (1H; s)	119,2; 123,8; 124,6
1'	103,2	4,86 (1H; d; 7,8)	73,4; 76,6
2'	73,4	3,54 (1H; dd; 7,8 / 7,4)	70,4; 76,4; 74,6; 103,2
3'	76,6	3,56 (1H; dd; 7,4 / 7,7)	70,4; 73,4; 74,6; 103,2
4'	70,4	3,51 (1H; dd; 7,7 / 7,7)	63,8; 73,4; 74,6; 76,7
5'	74,6	3,77 (1H; ddd; 7,7 / 6,7)	63,8; 70,4; 76,6
6'a	63,8	4,72 (1H; dd; 11,9 / 2,4)	70,4; 74,6
6'b	63,8	4,30 (1H; dd; 11,9 / 6,7)	70,4; 74,6; 169,9
1''	116,9	-	
2''/6''	131,9	7,92 (2H; d; 8,7)	116,2; 161,6; 169,9
3''/5''	116,4	6,93 (2H; d ; 8,7)	161,6
4''	161,6	-	
7''	169,9	-	

II.7. Elucidation de la structure de GEP.6

GEP.6 a été obtenu sous forme d'un solide blanc et amorphe dans le méthanol.

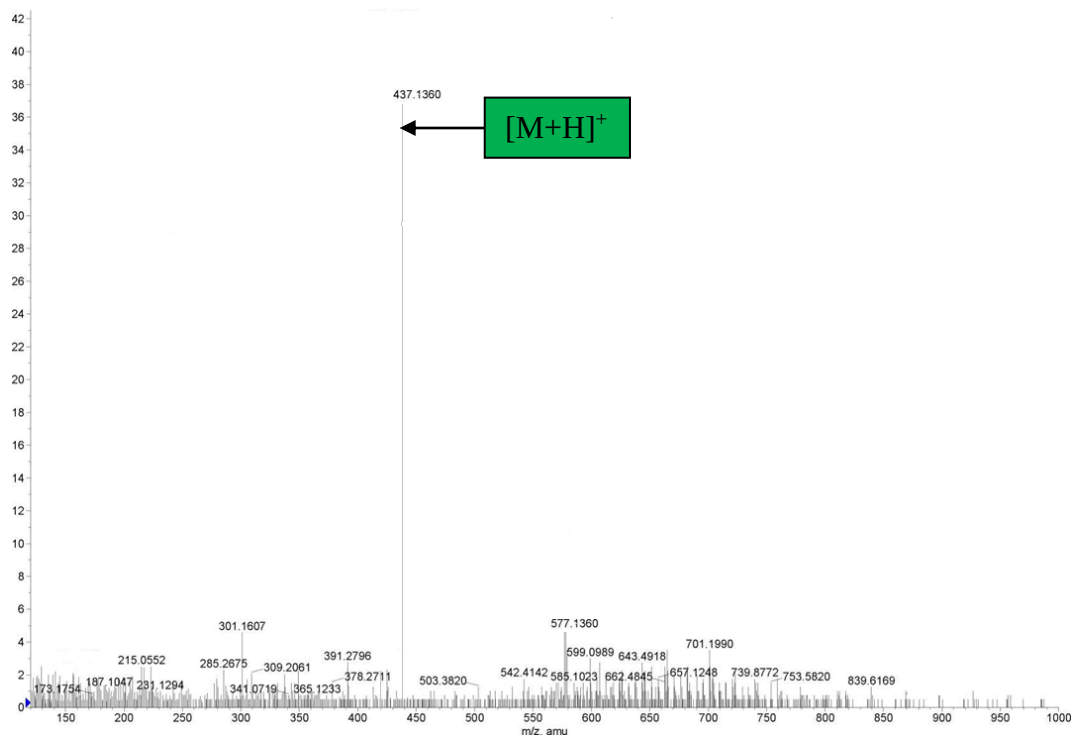


Figure 18: Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.6

Son spectre de masse haute résolution (figure 18) analysé selon la technique ESI, présente le pic de l'ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ à $m/z=437,1360$; compatible avec la formule brute $C_{20}H_{20}O_{11}$, donc une masse moléculaire de 436,3658 g/mol. On constate que, GEP.6 a un atome d'oxygène de plus que GEP.5.

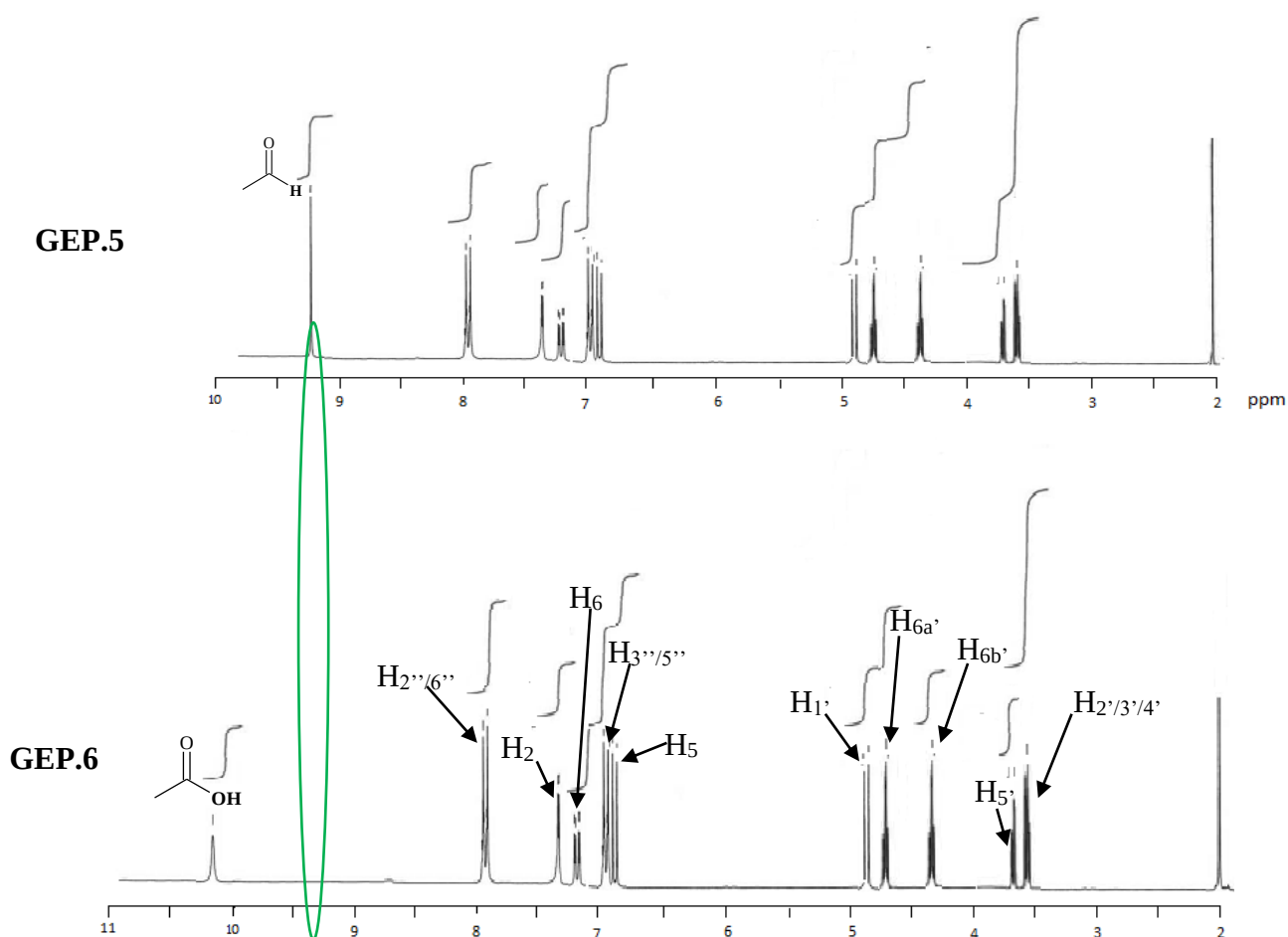
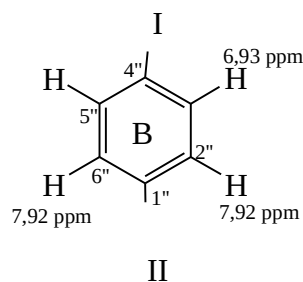
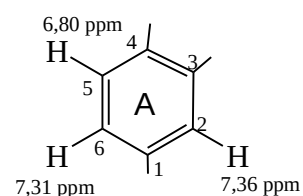


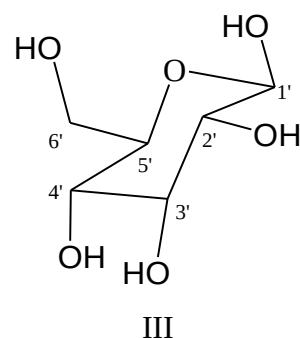
Figure 19: Comparaison des spectres RMN- ^1H (500 MHz; $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de GEP.5 et RMN- ^1H (500 MHz; Acétone- d_6) de GEP.6

Le spectre RMN- ^1H de GEP.6 (figure 19) est aussi très similaire à celui de GEP.5. On y observe:

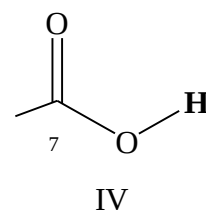
- Les protons d'un cycle benzénique trisubstitué (système ABX) (sous-structure I). Il s'agit de: δ_{H} 7,36 (1H; d; $J = 1,8$ Hz ; H-2), δ_{H} 6,80 (1H; d; $J = 8,8$ Hz ; H-5) et δ_{H} 7,31 (1H; dd; $J = 8,8 / 1,8$ Hz; H-6).
- Les protons d'un cycle benzénique dissubstitué (système AA'BB') (sous-structure II). Il s'agit de: δ_{H} 7,92 (2H; d; $J = 8,8$ Hz; H-2''/H-6'') et δ_{H} 6,93 (2H; d; $J = 8,8$ Hz; H-3''/H-5'').



- Le système de protons d'un résidu glycosidique (sous-structure III): δ_H 4,84 (1H; d; $J = 7,8$ Hz; H-1'), δ_H 3,52 (1H; dd; $J = 7,8 / 7,6$ Hz; H-2'), δ_H 3,57 (1H; dd; $J = 7,6 / 7,4$ Hz; H-3'), δ_H 3,53 (1H; dd; $J = 7,4 / 7,4$ Hz; H-4'), δ_H 3,78 (1H; ddd; $J = 7,4 / 6,4 / 2,2$ Hz; H-5'), δ_H 4,71 (1H; dd; $J = 11,8 / 2,2$ Hz; H-6'a) et δ_H 4,30 (1H; dd; $J = 11,8 / 6,4$ Hz; H-6'b).



- Un proton acide à δ_H 10,34 (sous-structure IV).



En comparant minutieusement le spectre RMN- ^1H de GEP.6 à celui de GEP.5, on constate qu'ils sont identiques, à la seule différence que: GEP.6 ne présente pas le signal du proton aldéhyde, mais plutôt, celui d'un proton acide à δ_H 10,34 (figure 19).

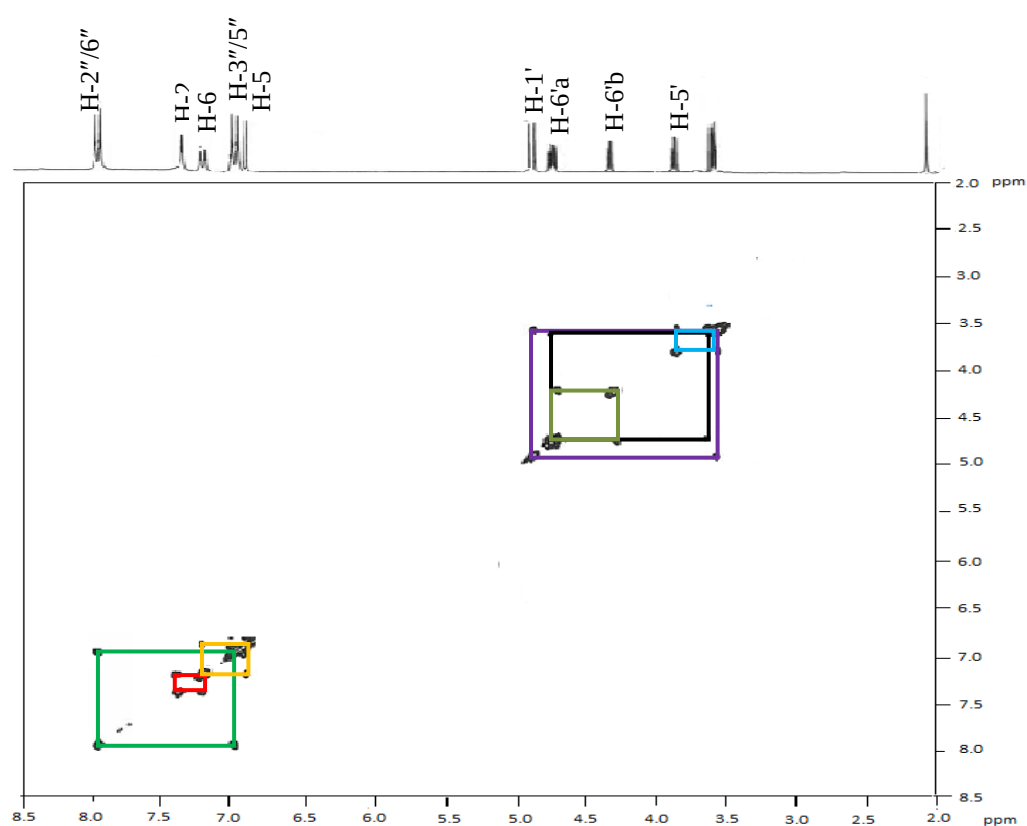


Figure 20: Spectre COSY ^1H - ^1H de GEP.6

Les systèmes de proton ci-dessus définis ont été confirmés par les corrélations observées sur le spectre COSY ^1H - ^1H (figure 20).

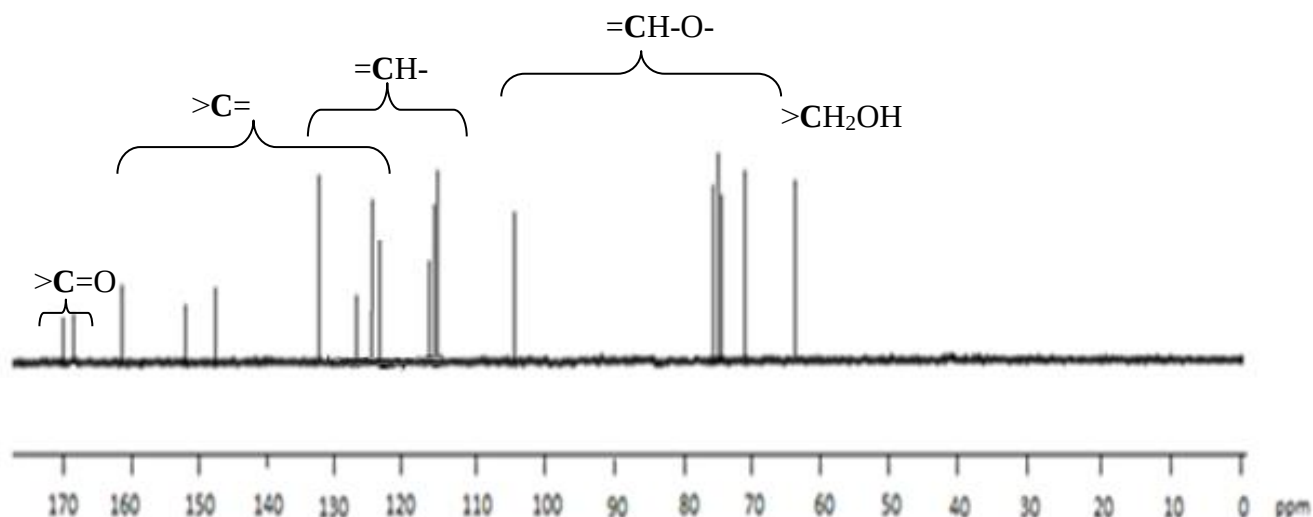
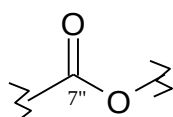


Figure 21: Spectre RMN- ^{13}C (125 MHz; $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de GEP.6

Le spectre RMN- ^{13}C du composé GEP.6 (figure 21) est aussi très semblable à celui de GEP.5, et présente les signaux indiquant la présence de tous les 20 atomes de carbones requis par la formule brute. On distingue ainsi:

- Les signaux de cinq carbones quaternaires hybridés sp^2 entre 124,3 et 161,8 ppm.
- Les signaux de sept carbones méthines hybridés sp^2 entre 115,5 et 132,5 ppm.
- Les signaux de cinq carbones méthines hybridés sp^3 entre 70,4 et 103,4 ppm.
- Le signal d'un carbone méthylénique à 63,4 ppm.
- En fin, les signaux de deux groupements carbonyles, l'un à 169,5 ppm et l'autre à 168,8 ppm ont été assignés au carbonyle du groupement carboxyle (sous-structure IV) et au carbonyle d'ester (sous-structure V) respectivement.



(V)

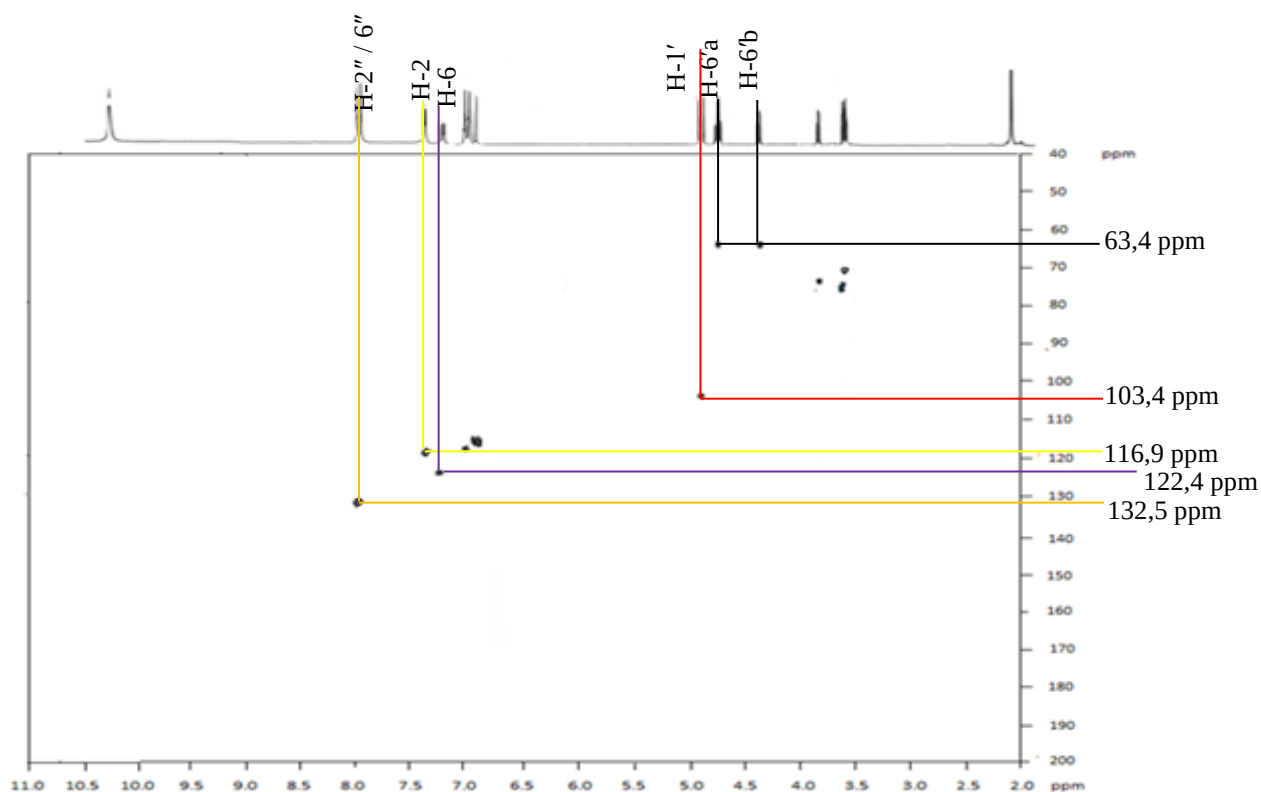


Figure 22: Spectre HSQC de GEP.6

Sur le spectre HSQC (figure 22), le signal du carbone anomérique C-1' résonne à δ_C 103,4, tandis que celui du carbone méthylène C-6' résonne à δ_C 63,4. Les signaux des autres atomes de carbone de ce sucre résonnent à δ_C 72,9 (C-2'), 76,4 (C-3'), 70,4 (C-4') et 74,7 (C-5'). Ces valeurs sont en accord avec celles mentionnées dans la littérature pour le D-Glucose (Onche et al., 2013).

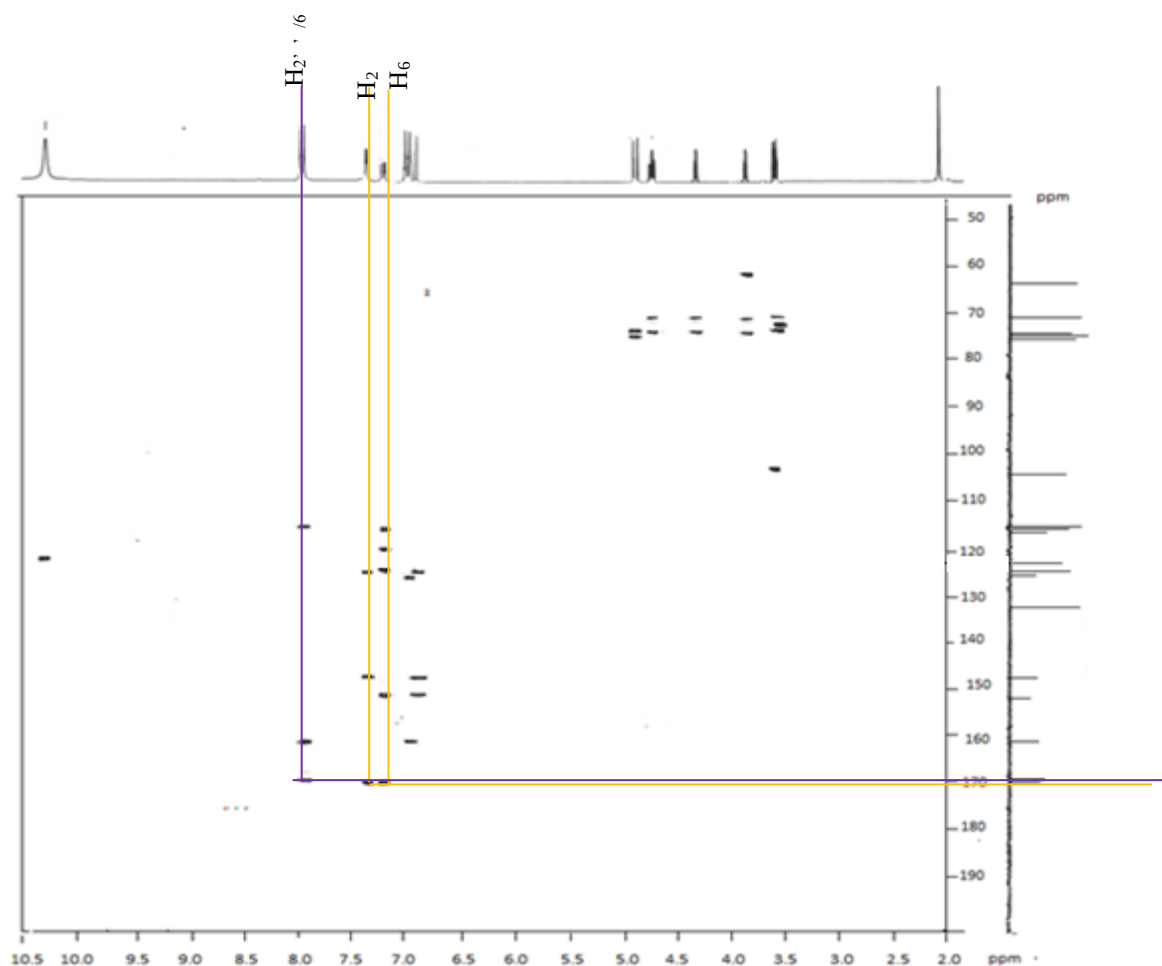


Figure 23: Spectre HMBC de GEP.6

Le spectre HMBC (figure 23) ci-dessus montre que le carbonyle δ_C 168,8 (C-7'') corrèle avec les protons H-2''/6'' à δ_H 168,8 du cycle B; tandis que le carbonyle δ_C 169,5 (C-7) corrèle avec les protons H-2 à δ_H 7,36 et H-6 à 7,31 du cycle A. Ceci permet de déduire que le groupe carboxyle est portée par le cycle A, plus précisément par le carbone C-1, tandis que le carbonyle d'ester est porté par le cycle B, précisément par le carbone C-1'. Ceci permet de lier les sous-structures I et IV d'une part, puis les sous-structures II et V d'autres parts.



Schéma 9: quelques corrélations HMBC de GEP.6

On observe d'autres corrélations comme indiquées ci-dessous.

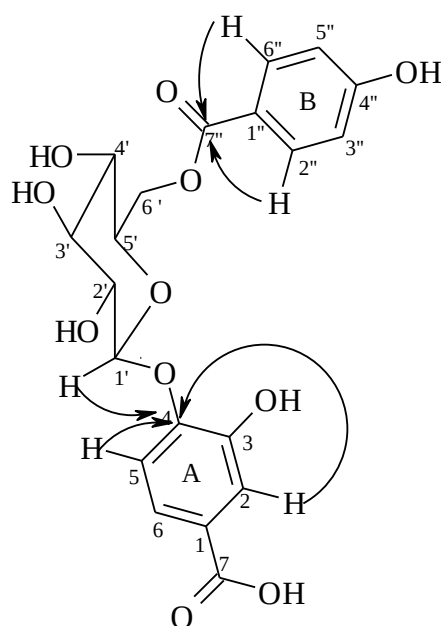
- Entre le proton H-2 et les carbones à δ_C 124,3 (C-1), δ_C 147,2 (C-3) et δ_C 169,5 (C-7);
- Le proton H-5 et les carbones à δ_C 124,3 (C-1), δ_C 147,2 (C-3) et δ_C 152,3 (C-4);
- Le proton H-6 et les carbones à δ_C 124,3 (C-1), δ_C 152,3 (C-4), δ_C 168,8 (C-7), δ_C 115,5 (C-5) et δ_C 116,9 (C-2);
- Le proton H-2''/6'' et les carbones à δ_C 116,2 (C-5''), δ_C 161,8 (C-4'') et δ_C 168,2 (C-7'');
- Le proton H-3''/5'' et les carbones à δ_C 122,6 (C-1'') et δ_C 161,8 (C-4'').

Les valeurs du spectre NOE de GEP.6, exprimées en pourcentage (voir tableau XXXIX), montrent deux corrélations principales. La première entre le proton anomérique du glucose H-1' à δ_H 4,84 et le proton aromatique H-5 du cycle A à δ_H 6,80. Ceci permet de dire que la sous structure (I') est liée à la sous-structure (III) par une liaison éther C-O-C entre le carbone C-1' du D-Glucose et le carbone C-4 du cycle A à δ_H 152,3. La deuxième est établie entre les deux protons méthylénique du glucose [δ_H 4,71 (H-6'a) et δ_H 4,30 (H-6'b)], et les deux protons aromatiques δ_H 7,92 (H-2''/6'') du cycle B. Ceci permet d'affirmer que la sous-structure (II') est liée à la sous-structure (III), par une liaison ester entre le carbone C-6' de l'unité glycosidique, et le carbone C-1'' à 122,6 ppm du cycle B.

Tableau XXXIX: Valeurs du spectre NOE de GEP.6

Proton du sucre (δ_H ppm)	Proton d'aglycone (δ_H ppm)	NOE
4.86 (H-1')	6,79	22 %
4.72 (H-6a')	7,92	18 %
4.30 (H-6b')	7,92	20 %
Protons des autres possibilités		0 %

Toute cette analyse a permis d'attribuer les déplacements chimiques de tous les protons et atomes de carbones et d'identifier GEP.6 comme un dérivé nouveau de la lancéoloside A, soit l'acide 4-O-[6'-O-(4''-hydroxybenzoyl)- β -D-glucopyranosyl]-3-hydroxybenzoïque que nous avons nommé épunctoside B (**140**).



(140)

Tableau XL: Spectre RMN-¹H (500 MHz) et RMN-¹³C (125MHz) de GEP.6 dans l'acétone-*d*₆ et corrélation HMBC

position	δ_C	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	corrélation HMBC
1	124,3	-	
2	116,9	7,36 (1H; d; 1,8)	122,4; 147,2; 169,5
3	147,2	-	-
4	152,3	-	-
5	115,5	6,80 (1H; d; 8,8)	122,4; 147,2; 152,3
6	122,4	7,31 (1H; dd; 8,8 / 1,8)	115,5; 116,9; 124,3; 152,3; 169,5
7	169,5	10,34 (1H; s)	
1'	103,4	4,84 (1H; d; 7,8)	72,9; 76,4
2'	72,9	3,52 (1H; dd; 7,8 / 7,6)	70,4; 76,4; 103,4
3'	76,4	3,57 (1H; dd; 7,6 / 7,4)	70,4; 72,9; 74,7; 103,4
4'	70,4	3,53 (1H; dd; 7,4 / 7,4)	63,4; 72,9; 74,7; 76,4
5'	74,7	3,78 (1H; ddd; 7,4 / 6,4 / 2,2)	63,4; 70,4; 76,4
6'a	63,4	4,71 (1H; dd; 11,8 / 2,2)	70,4; 74,4
6'b	63,4	4,30 (1H; dd; 11,8 / 6,4)	70,4; 74,4
1''	122,6	-	
2''/6''	132,5	7,92 (2H; d; 8,8)	116,2; 161,8; 168,2
3''/5''	116,2	6,93 (2H; d; 8,8)	124,6; 161,8
4''	161,8		
7''	168,8		
OH-7	-	10,34 (1H; s)	116,9

II.8. Identification de GEP.7

GEP.7 a été obtenu sous la forme d'une poudre blanche, dans le méthanol et sa réaction positive au test de Libermann-Burchard et au test de Molish indique qu'il s'agit d'un glycoside triterpénique.

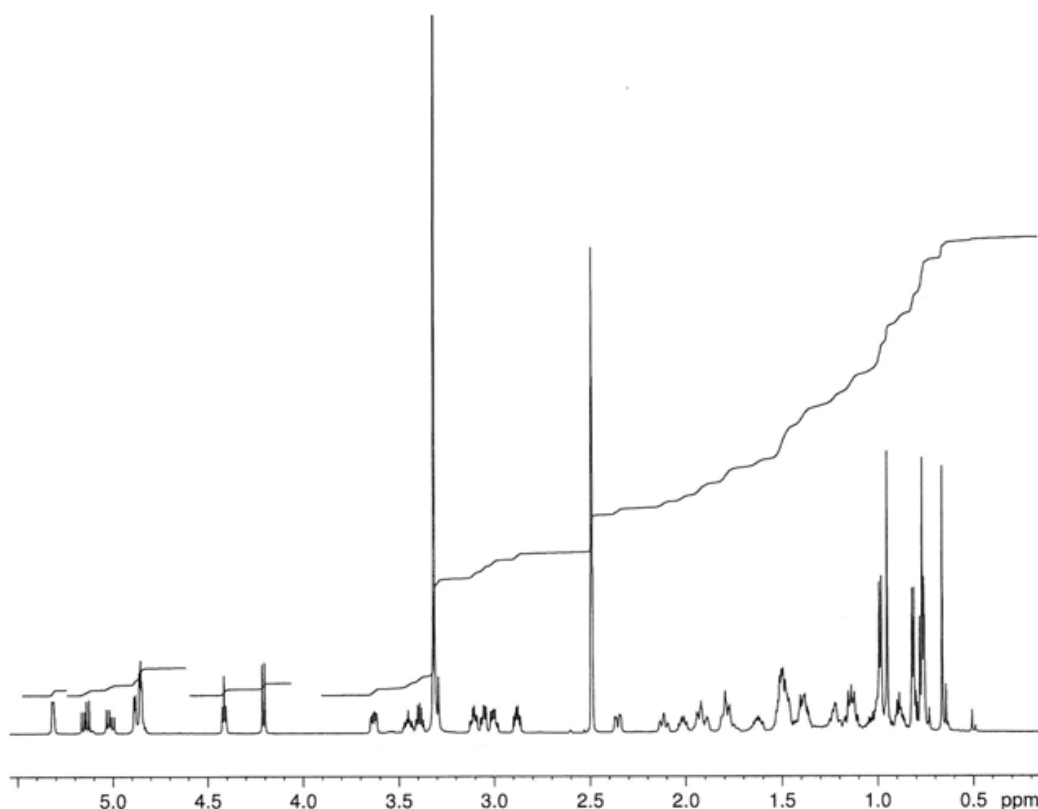


Figure 24: Spectre RMN-¹H (600 MHz; DMSO-d₆) de GEP.7

Le spectre RMN-¹H de GEP.7 (figure 24) révèle la présence de: deux méthyles tertiaires à 0,66 et 0,95 ppm; trois méthyles secondaires à 0,99; 0,81 et 0,77 ppm; un méthyle primaire à 0,76 ppm; trois protons oléfiniques à δ_H 5,31 (1H; d; $J = 4,9$ Hz), δ_H 5,15 (1H; dd; $J = 8,8 / 8,8$ Hz) et δ_H 5,01 (1H; dd; $J = 8,8 / 8,8$ Hz); un proton à δ_H 4,20 (1H; d; $J = 7,8$ Hz): c'est le proton anomérique H-1' de l'unité glycosidique de GEP.7. Les autres protons de cette unité résonnent entre 2,87 et 3,63 ppm.

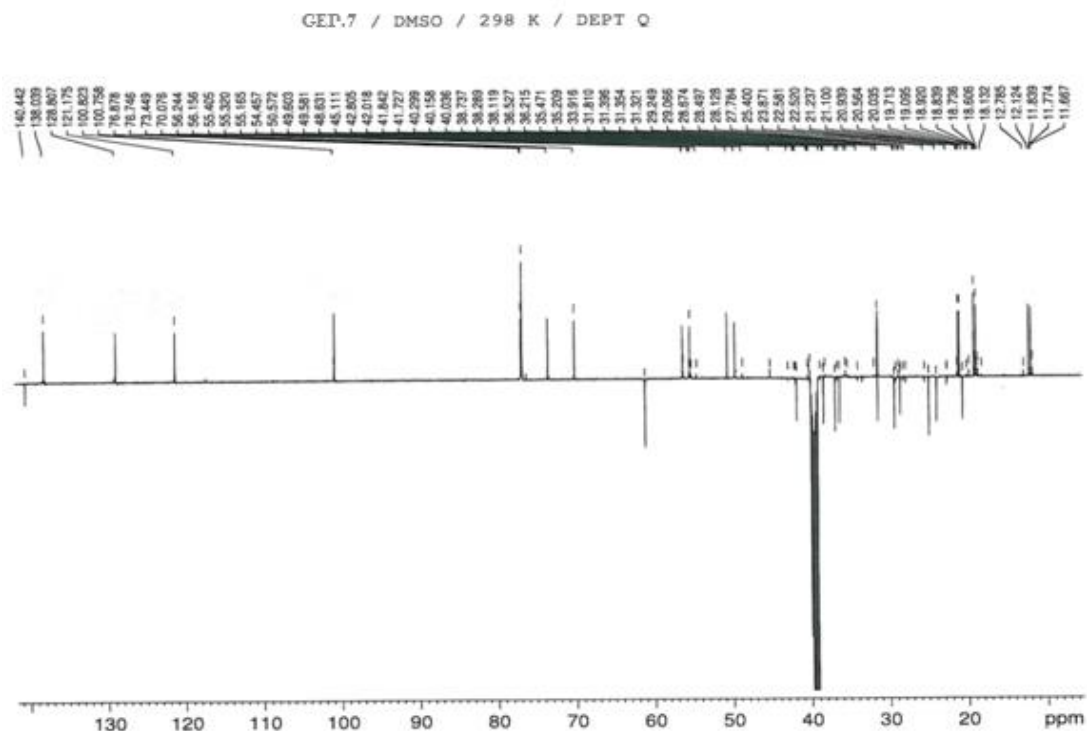


Figure 25: Spectre RMN- ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6) de GEP.7

L'analyse du spectre RMN ^{13}C de GEP.7 figure (25) a permis de dénombrer 35 atomes de carbones dans cette molécule. Nous avons remarqué que les données spectrales de GEP.7 correspondent à celles de GEP.2 (stigmastérol), à l'exception des signaux qui apparaissent entre 61,07 et 100,82 ppm et qui correspondent aux signaux du glucose (**Ahmad et al., 2012**). En comparant les valeurs des specres RMN- ^1H et RMN- ^{13}C de GEP.7 avec celles de quelques glycosides triterpéniques connus, permet de conclure que GEP.7 est le stigmastérol-3-O- β -D-glucopyranoside (**141**) (**Ahmad et al., 2012**).

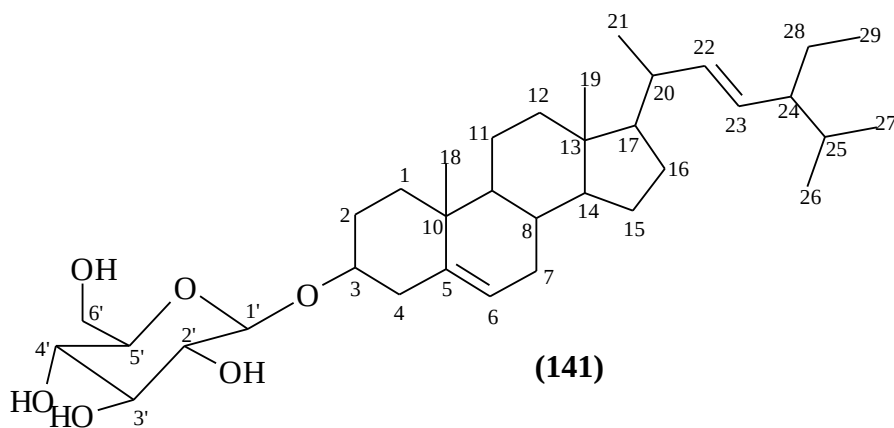


Tableau XLI: Comparaison des données des spectres RMN-¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (150 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.7 et RMN-¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (100 MHz; DMSO-*d*₆) de Stigmastérol-3-*O*- β -D- glucopyranoside (Ahmad et *al.*, 2012)

Position	GEP.7		Stigmastérol-3- <i>O</i> - β -D- glucopyranoside	
	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C
1		38,2	2,36 (m) et 2,13 (m)	38,2
2		28,5	1,30 (m)	33,3
3	3,39 (1H; m)	76,8	3,42 (m)	76,9
4		36,8	1,80 (d; 10,2) et 1,16 (d)	36,7
5		140,4	-	140,4
6	5,31 (1H; d; 4,9)	121,1	5,32 (d; 4,5)	121,0
7	1,45 (2H; m)	31,4	1,46 (m)	31,3
8	1,50 (1H; m)	31,8	1,51 (s)	31,3
9	0,99	49,6	0,99 (1H; s)	49,5
10	-	36,2	-	36,1
11	1,18 (2H; m)	22,5	1,17 (m)	22,5
12	1,93 (1H; m)	41,7	1,94 (m)	41,6
13	-	41,8	-	41,8
14	1,08 (1H; m)	56,2	1,08 (m)	56,2
15	1,13 (2H; m)	24,8	1,12 (m)	24,7
16	1,9 et 1,76	29,2	1,91 (s) et 1,77 (s)	29,2
17	1,01 (m)	55,3	1,01 (m)	56,1
18	0,66 (3H; s)	11,8	0,65 (3H; s)	11,7
19	0,95 (3H; s)	18,9	0,99 (3H; s)	18,9
20	1,33 (m)	50,5	1,34 (m)	35,3
21	0,98 (3H; d; 4,6)	21,1	0,91 (3H; d)	18,7
22	5,15 (1H; dd; 8,8 / 8,8)	138,0	5,18 (dd; 8,4 / 15)	137,8
23	5,01 (1H; dd; 8,8 / 8,8)	128,8	5,04 (dd; 8,4 / 15)	128,7
24	0,98	31,3	0,99 (s)	31,2
25	1,63 (1H; m)	31,3	1,63 (m)	31,2
26	0,81 (3H; d; 6,4)	19,1	0,84 (3H; d; 6,3)	19,2
27	0,77 (3H; d; 6,8)	20,9	0,80 (3H; d; 6,9)	18,8
28	1,01	23,8	1,01 (s)	23,7
29	0,76 (3H; d)	12,1	0,79 (3H; d; 8,1)	11,5
1'	4,20 (1H; d; 7,8)	100,8	4,23 (1H; d; 7,8)	100,7
2'	2,87 (1H; m)	70,0	2,91 (m)	70,1
3'	3,10 (1H; m)	76,8	3,15 (m)	76,7
4'	2,99 (1H; m)	73,4	3,08 (m)	73,4
5'	3,05 (1H; m)	76,7	3,04 (m)	76,6
6'	3,63 (m) et 3,45 (m)	61,0	3,66 (m) et 3,50 (m)	61,1
2'-OH	4,86		4,73	
3'-OH	4,88		4,75	
4'-OH	4,85		4,71	
5'-OH	4,41		4,30	

II.9. Identification de GEP.8

GEP.8 a été obtenu sous forme d'une poudre amorphe de couleur jaune, dans le méthanol. Il répond positivement au test des flavonoïdes (Mg/HCl) et au test de phénol (FeCl₃).

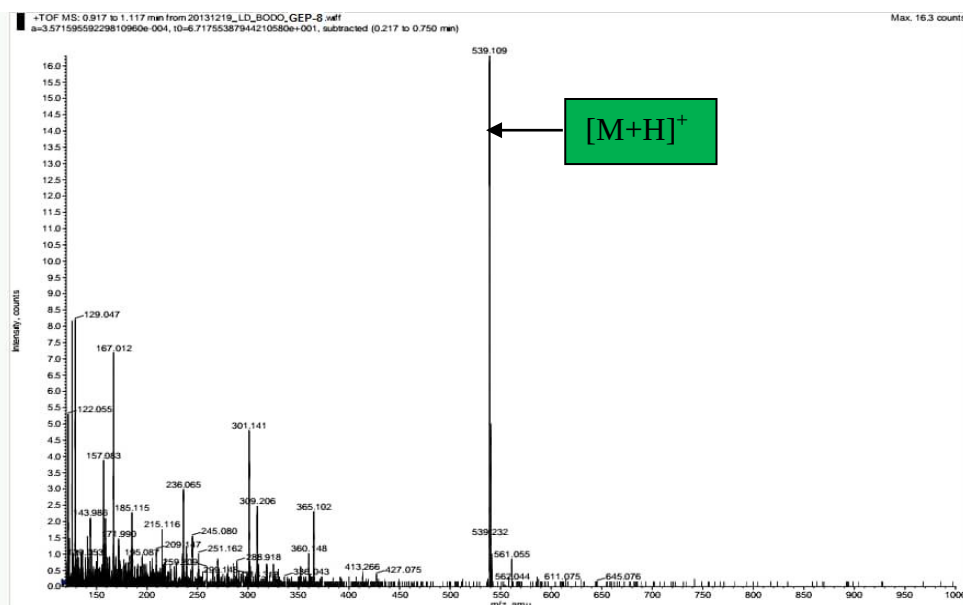


Figure 26: Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.8

Son spectre de masse (figure 26) permet de repérer le pic de l'ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ à m/z 539,109. Ceci implique une masse moléculaire de 538 et la formule brute C₃₀H₁₈O₁₀. En tenant compte du nombre d'atomes de carbone dans la molécule de GEP.8, il s'agirait d'un biflavonoïde, possédant 22 degrés d'insaturation.

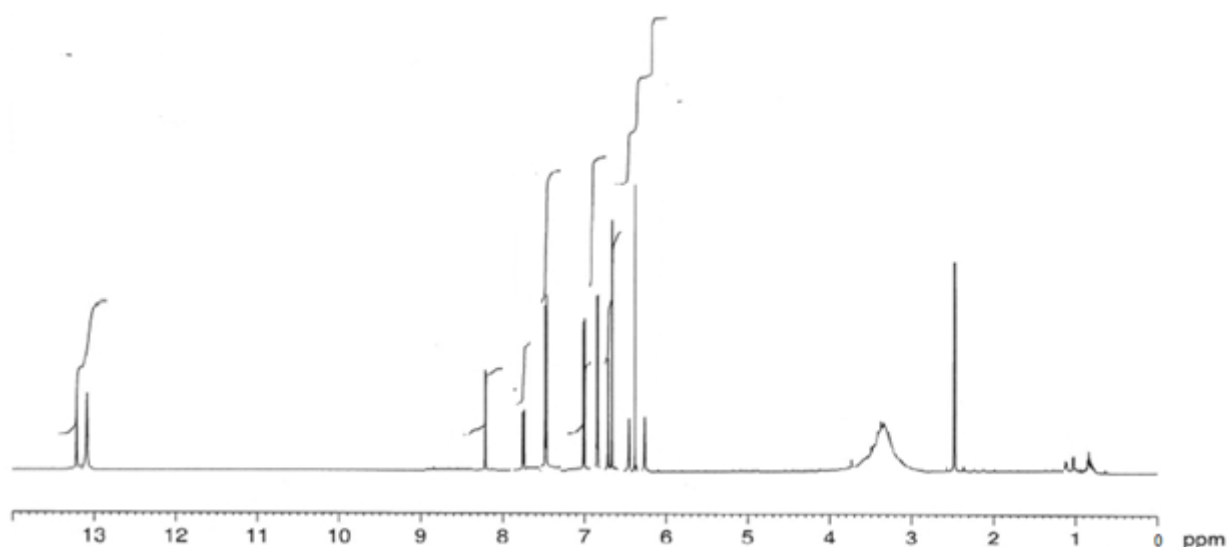


Figure 27: Spectre RMN-¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.8

-
- Chemical shifts (ppm): 4875.64, 4845.69, 4815.08, 4812.62, 4806.44, 4803.98, 4549.68, 4544.94, 4540.86, 4262.37, 4253.79, 4136.69, 4133.87, 4090.47, 4085.09, 4061.97, 4040.48, 4012.15, 4003.45, 3810.79, 3807.97, 3805.68, 3795.24.
- Peak assignments: H-2', H-6', H-2'''/6''', H-5', H-3, H-3'', H-8, H-3'''5''', H-6, H-6''.
- | Acquisition Parameters | |
|----------------------------|----------------|
| NAME | 20140122 |
| TIME | 11:00 |
| INSTRUM | 400QX |
| PROBHD | 5 mm QNP/1H |
| PULPROG | zgpg30 |
| TD | 65536 |
| SOLVENT | CDCl3 |
| NS | 81 |
| DS | 4 |
| SWH | 8730.803 Hz |
| F2 - Processing Parameters | |
| NAME | 6320116 H |
| AD | 3.761164 sec |
| RG | 10 |
| SW | 27.400 MHz |
| DS | 16.00 |
| TD | 288.000 |
| SI | 1.20000000 sec |
| TD | 1 |

L'élargissement de la zone entre 8,5 et 6 ppm de ce spectre (figure 28) montre que les protons suivants sont impliqués dans la structure de GEP.8:

-

- un singlet d'un proton à δ_H 6,32 (H-6''), suggérant la présence d'un noyau benzénique penta-substitué (noyau A')

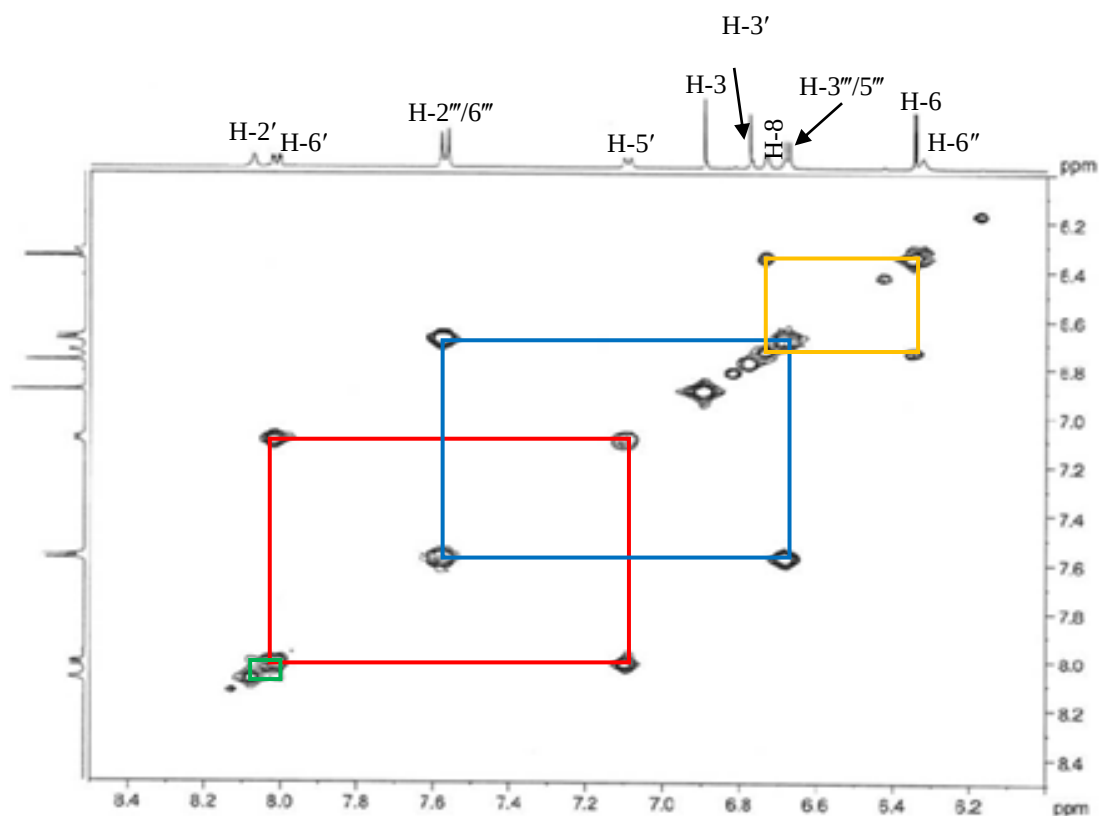
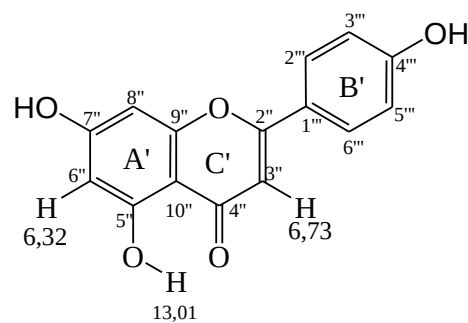
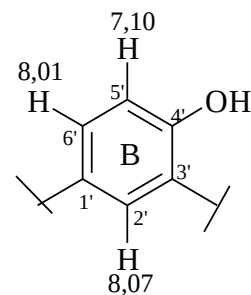


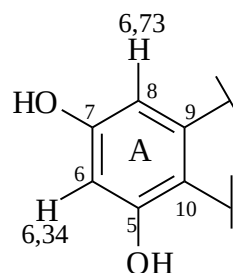
Figure 29: Spectre COSY ^1H - ^1H de GEP.8

Les sous-structures ci-dessus mentionnées renferment les systèmes de protons définis par le spectre COSY ^1H - ^1H (figure 29) de GEP.8. Il s'agit:

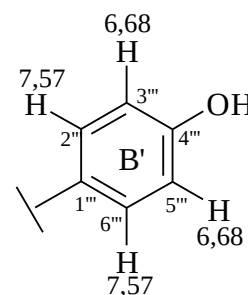
- d'un système de proton ABX d'un cycle benzénique trisubstitué (cycle B): δ_H 8,01 (1H; dd; $J = 8,6 / 2,4$ Hz; H-6'), δ_H 8,07 (1H; d; $J = 2,4$ Hz; H-2') et δ_H 7,10 (1H; d; $J = 8,6$ Hz; H-5')



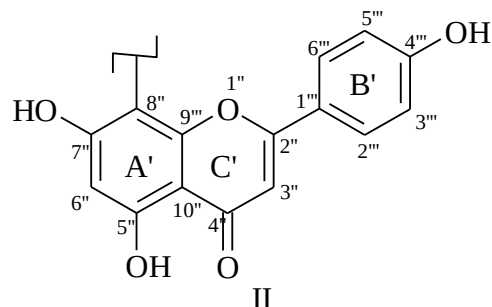
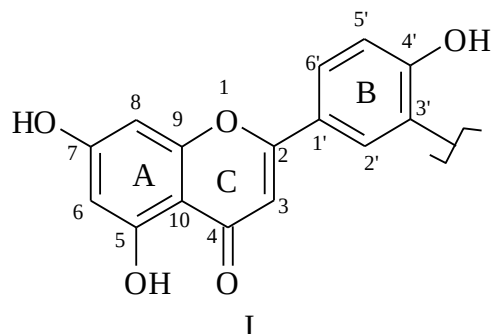
- de deux protons d'un noyau aromatique, qui couplent entre eux avec une constante de couplage méta (cycle A). Leurs signaux apparaissent à: δ_H 6,73 (1H; d; J = 1,9 Hz; H-8) et δ_H 6,34 (1H; d; J = 1,9 Hz; H-6).



- des protons d'un système aromatique AA'BB' (cycle B'). δ_H 7,57 (2H; d; J = 8,7 Hz; H-2'''/6''') et δ_H 6,68 (2H; d; J = 8,7 Hz; H-3'''/5''').



Ces systèmes de protons sont réunis en deux motifs flavonyles qui constituent les sous-structures I et II.



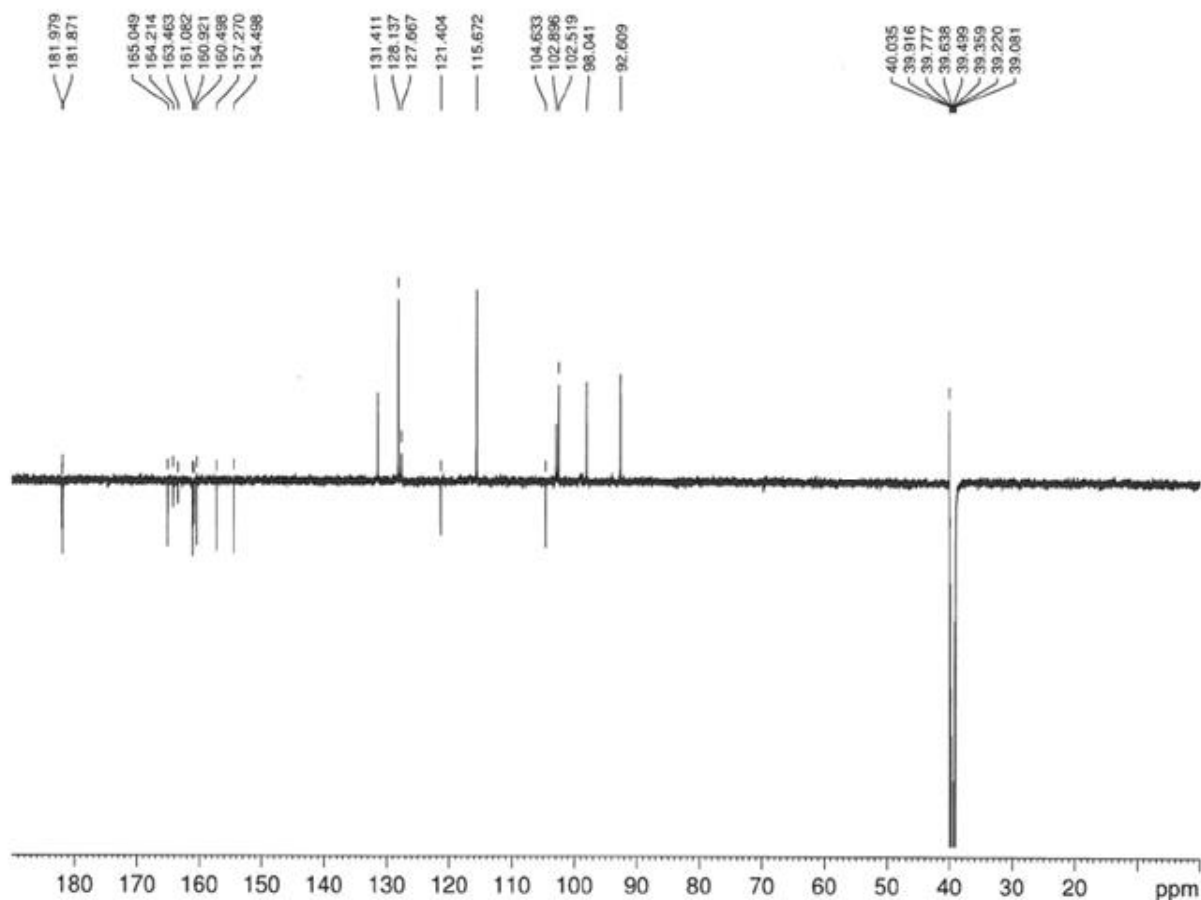


Figure 30: Spectre RMN- ^{13}C (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de GEP.8

Les signaux observés sur le spectre de RMN- ^{13}C (figure 30) montrent que tous les 30 atomes de carbone de la molécule sont d'hybridation sp^2 . On distingue les signaux de deux carbonyles conjugués et chélatés à δ_{C} 181,9 (C-4) et 181,8 (C-4'') et quatre atomes de carbone aromatiques dont deux sont d'intensités doubles à δ_{C} 128,1 et 115, et sont respectivement, ceux des atomes de carbone C-2'''/6''' et C-3'''/5''' du noyau B', *para* di substitué. Il y a aussi huit atomes de carbone des méthines qui donnent des signaux à δ_{C} 102,9 (C-3); 98,0 (C-6); 92,6 (C-8); 131,4 (C-2'); 116,6 (C-5'); 127,6 (C-6'); 102,5 (C-3''); 98,0 (C-6) et seize atomes de carbone quaternaires dont dix portent un atome d'oxygène et présentent les signaux à δ_{C} 164,2 (C-2); 165,0 (C-7); 160,9 (C-4'); 157,2 (C-9); 163,4 (C-2''); 160,4 (C-5''); 161,0 (C-7''); 160,5 (C-4'''); 154,5 (C-9'') et 160,9 (C-4') (Tableau XLII).

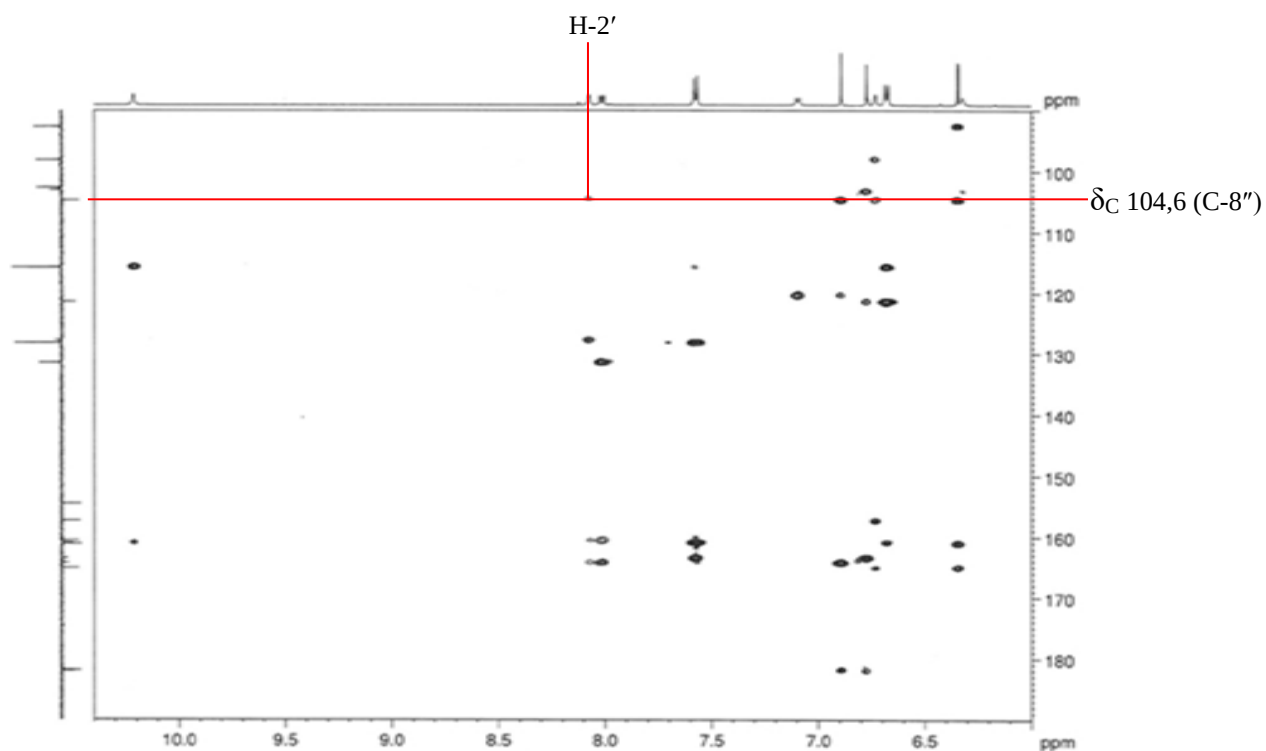


Figure 31: Spectre HMBC de GEP.8

Le spectre HMBC de GEP.8 (figure 31), montre une corrélation entre le proton H-2' à δ_H 8,07 et l'atome de carbone C-8'' à δ_C 104,6. Ce qui permet de dire que GEP.8 a une jonction interflavonoïdique C-3'-C-8''. Après une comparaison minutieuse de ces données à celles décrites dans la littérature (tableau XLII), on conclue que GEP.8 est identique à l'amentoflavone **(142)**, précédemment isolé des feuilles de *Ouratea sulcata*. (Pegnyemb et al., 2005).

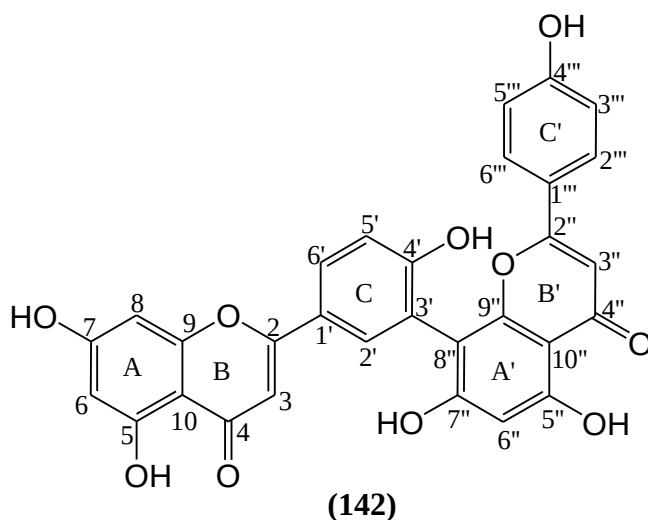


Tableau XLII: Comparaison des données RMN-¹H (600 MHz), RMN-¹³C (150 MHz) de GEP.8 et RMN-¹H (500 MHz), RMN-¹³C (125 MHz) de amentoflavone (Carlos et *al.*, 2007).

Position	GEP.8		Amentoflavone	
	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C
2	-	164,2	-	163,9
3	6,89 (1H; s)	102,8	6,82 (1H; s)	102,9
4	-	181,9	-	181,8
5	-	160,9	-	162,1
6	6,34 (1H; d; 1,9)	98,0	6,18 (1H; d; 2,5)	98,9
7	-	165,0	-	164,2
8	6,73 (1H; d; 1,9)	92,6	6,45 (1H; d; 2,5)	94,1
9	-	157,2	-	157,4
10	-	104,6	-	103,7
1'	-	121,4	-	120,9
2'	8,07 (1H; d; 2,1)	131,4	8,00 (1H; d; 2,5)	131,4
3'	-	121,1	-	120,1
4'	-	160,9	-	159,7
5'	7,10 (1H; d; 8,6)	116,6	7,14 (1H; d; 9,0)	116,2
6'	8,01 (1H; dd; 8,6 / 2,1)	127,6	7,99 (1H; dd; 9,0 / 2,5)	127,8
2''	-	163,4	-	163,7
3''	6,73 (1H; s)	102,5	6,78 (1H; s)	102,6
4''	-	181,8	-	182,2
5''	-	160,5	-	161,1
6''	6,32 (1H; s)	98,0	6,39 (1H; s)	98,7
7''	-	161,0	-	160,6
8''	-	104,6	-	104,1
9''	-	154,5	-	154,5
10''	-	104,6	-	103,6
1'''	-	121,4	-	121,4
2'''/6'''	7,57 (2H; d; 8,7)	128,1	7,56 (1H; d; 9,0)	128,2
3'''/5'''	6,68 (2H; d; 8,7)	115,6	6,70 (1H; d; 9,0)	115,8
4'''	-	160,5	-	161,5
OH-5	13,09	-	13,09	-
OH-5''	12,90	-	12,96	-

II.10. Identification de GEP.9

Le composé GEP.9 se présente comme une poudre amorphe de couleur jaune, dans le méthanol et répond positivement au test des flavonoïdes.

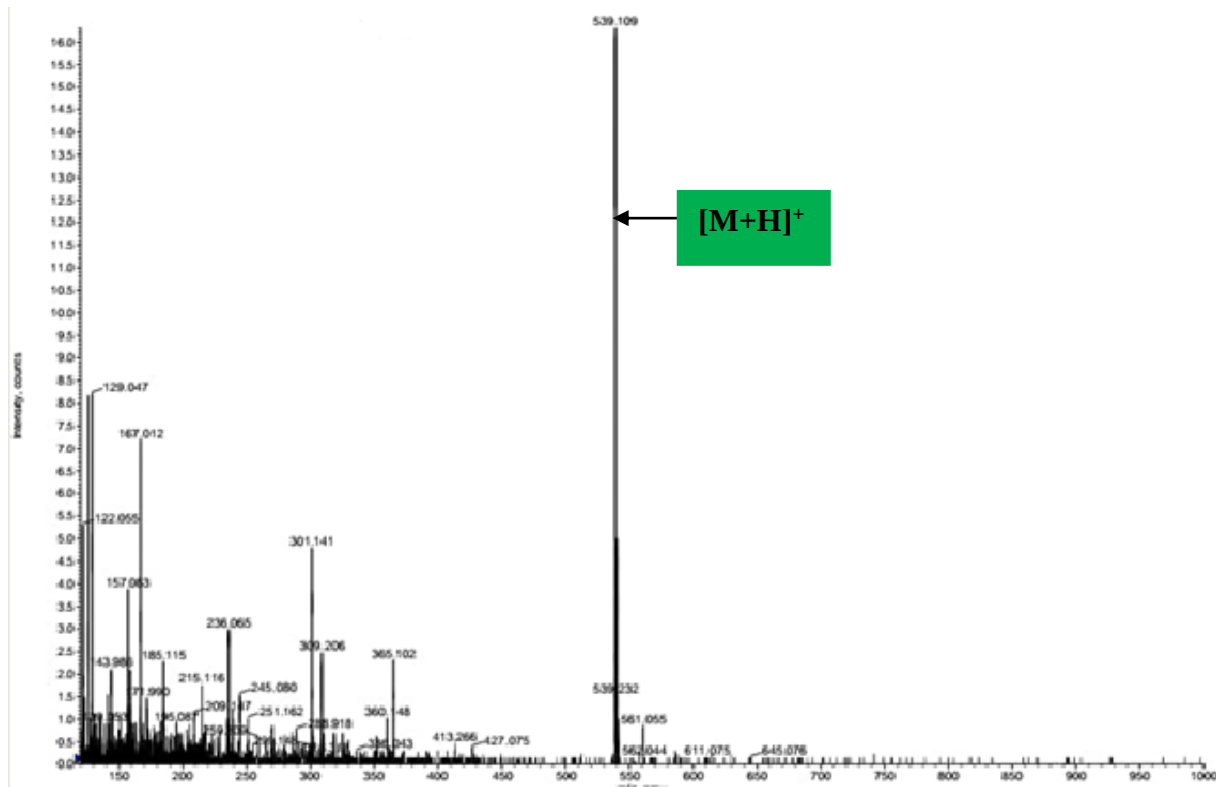


Figure 32: Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.9

Sa formule brute $C_{30}H_{18}O_{10}$, qui renferme 12 insaturations a été déduite de l'analyse de son spectre de masse haute résolution (figure 32), avec l'ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ à $m/z=539,109$.

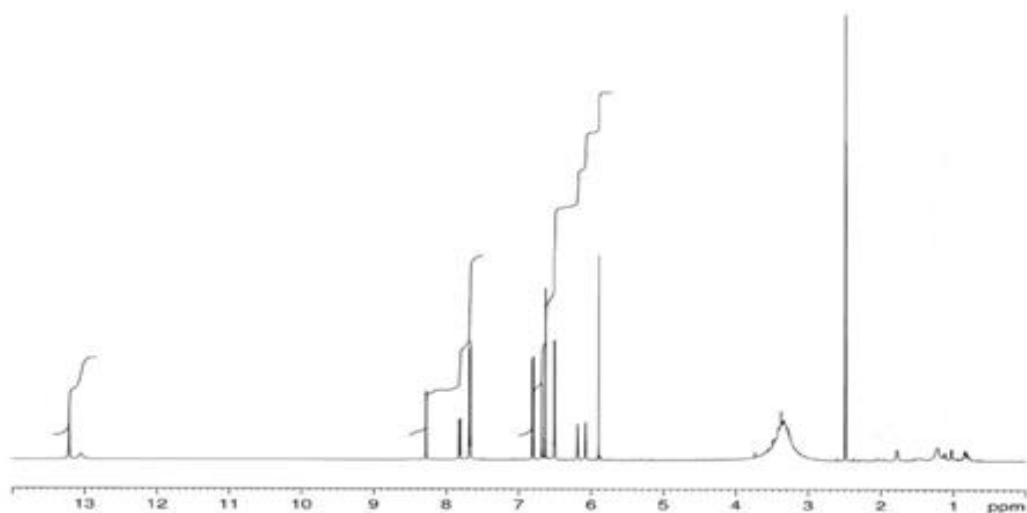


Figure 4: Spectre RMN- ^1H (600 MHz; DMSO-d_6) de GEP.9

Sur le spectre RMN- ^1H 1D de GEP.9 (figure 33), on remarque la présence de deux signaux de deux singulets très déblindés d'un proton chacun à 13,10 et 13,25 ppm. Ces protons sont caractéristiques des protons phénoliques fortement chelatés au carbonyle en *péri*.

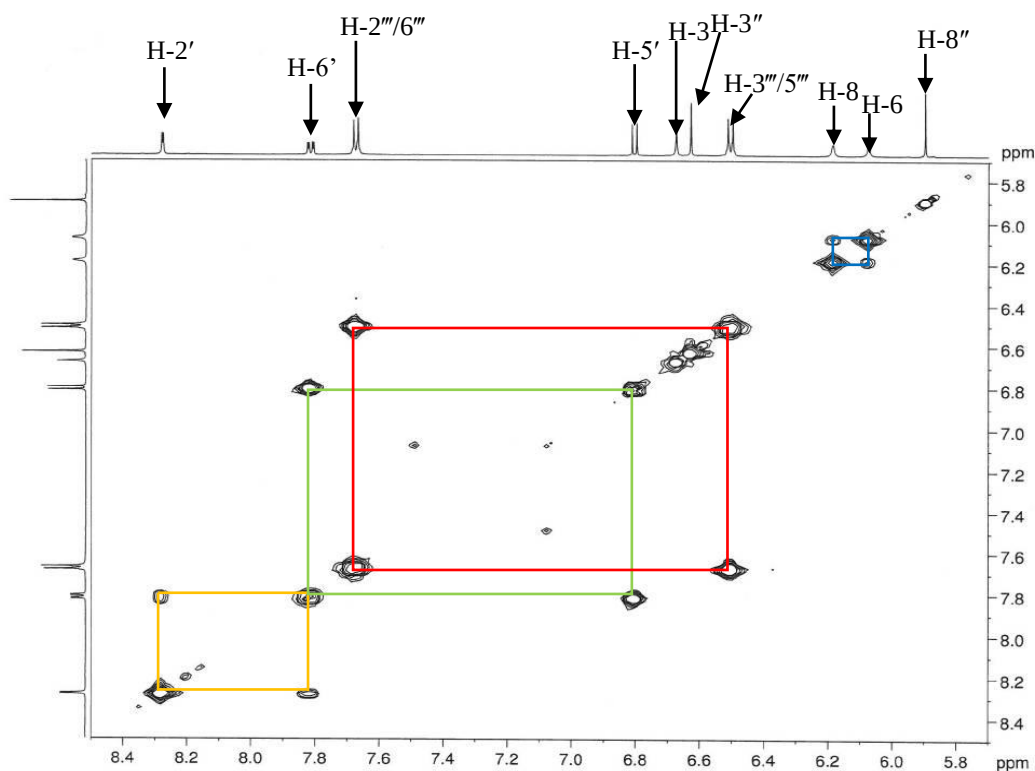
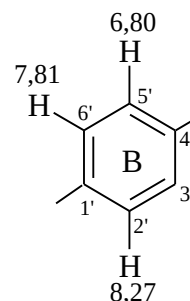


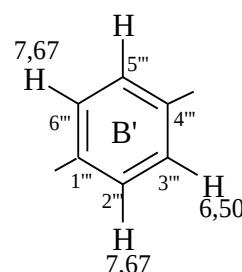
Figure 5: Spectre COSY ^1H - ^1H élargi de GEP.9 (région de 5,80 à 8,5 ppm)

Les spectres RMN- ^1H 1D et COSY ^1H - ^1H de GEP.9 (figures 33 et 34) sont très proches de ceux de GEP.8 (**142**) et montrent des signaux de mêmes systèmes de protons. Il s'agit des signaux de:

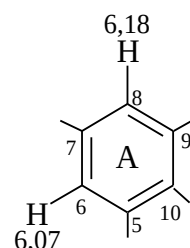
- Trois protons d'un noyau aromatique trisubstitué (noyau B) à δ_{H} 7,81 (1H; dd; $J = 2,1 / 8,8$ Hz ; H-6'), δ_{H} 6,80 (1H; d; $J = 8,8$ Hz; H-5') et δ_{H} 8,27 (1H; d; $J = 2,1$ Hz; H-2');



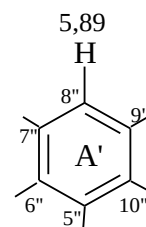
- Quatre protons sur un noyau aromatique para dissubstitué (noyau B'), à δ_{H} 7,67 (2H; d; $J = 9,0$ Hz; H-2'''/6''') et δ_{H} 6,50 (2H; d; $J = 9,0$ Hz; H-3'''/5''');



- Deux protons d'un noyau aromatique tétra-substitué (noyau A) à δ_{H} 6,07 (1H; d; $J = 1,8$ Hz; H-6) et δ_{H} 6,18 (1H d; $J = 1,8$ Hz; H-8);

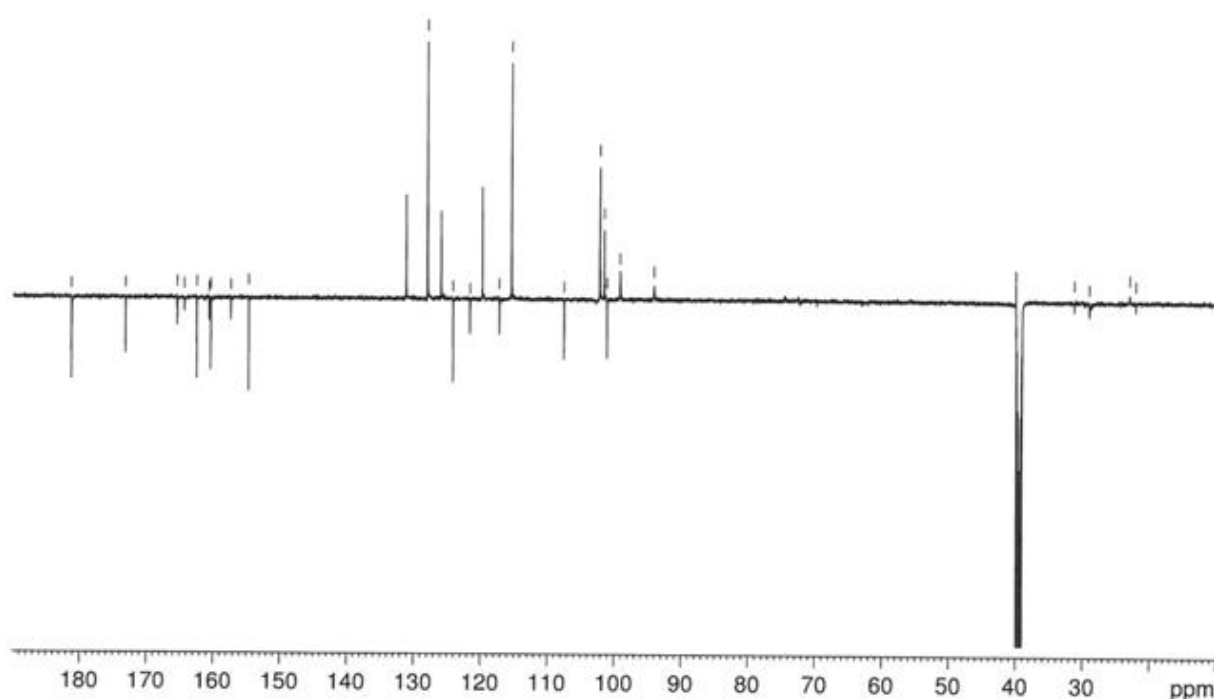


- Un proton isolé sur un noyau aromatique penta substitué (noyau A'), à δ_{H} 5,89 (1H; s; H-8'').



- Deux protons singulets caractéristiques des flavones. L'un à δ_{H} 6,67 (1H; s; H-3) et l'autre à δ_{H} 6,63 (1H; s; H-3'');

-
- The figure displays two chemical structures, labeled A and B, representing isomers of 6,6'-dihydroxy-3,3'-biphenyl-2,2'-dicarboxylic acid. Both structures consist of two benzene rings (A and B) connected by a single bond. Each ring has a hydroxyl group (OH) at position 6 and a carboxylic acid group (COOH) at position 2. The numbering of the atoms is as follows:
- Structure A:** The left ring (A) has atoms numbered 1 through 10. The right ring (B) has atoms numbered 1' through 6'. The carboxylic acid group on ring A is labeled with 13,10 and the hydroxyl group with 6,67.
 - Structure B:** The left ring (A') has atoms numbered 1' through 10'. The right ring (B') has atoms numbered 1'' through 6''. The carboxylic acid group on ring A' is labeled with 13,25 and the hydroxyl group with 6,63.

[illegible]

Page 99

Les signaux observés sur le spectre de RMN- ^{13}C (figure 35) montrent que tous les 30 atomes de carbone de la molécule sont d'hybridation sp^2 . On distingue les signaux de deux atomes de carbone de carbonyles conjugués et chélatés à 181,2 et 173,1 ppm et quatre atomes de carbone aromatiques dont deux sont d'intensités doubles à 127,9 et à 115,4 ppm et sont respectivement, ceux des atomes de carbone C-2'''/6''' et C-3'''/5''' du noyau B' *para* di substitué. Il y a aussi huit atomes de carbone des méthines qui donnent des signaux à δ_{C} 102,2 (C-3''); 99,1 (C-6); 94,1 (C-8); 131,1 (C-2'); 119,7 (C-5'); 125,9 (C-6'); 102,1 (C-8''); 94,1 (C-3) et seize atomes de carbone quaternaires dont dix portent un atome d'oxygène et présentent les signaux à δ_{C} 164,3 (C-2); 160,6 (C-5); 160,4 (C-7); 157,3 (C-9); 165,4 (C-4'); 162,5 (C-2''); 160,6 (C-5''); 160,4 (C-7''); 155,7 (C-9''); et 160,6 (C-4''')

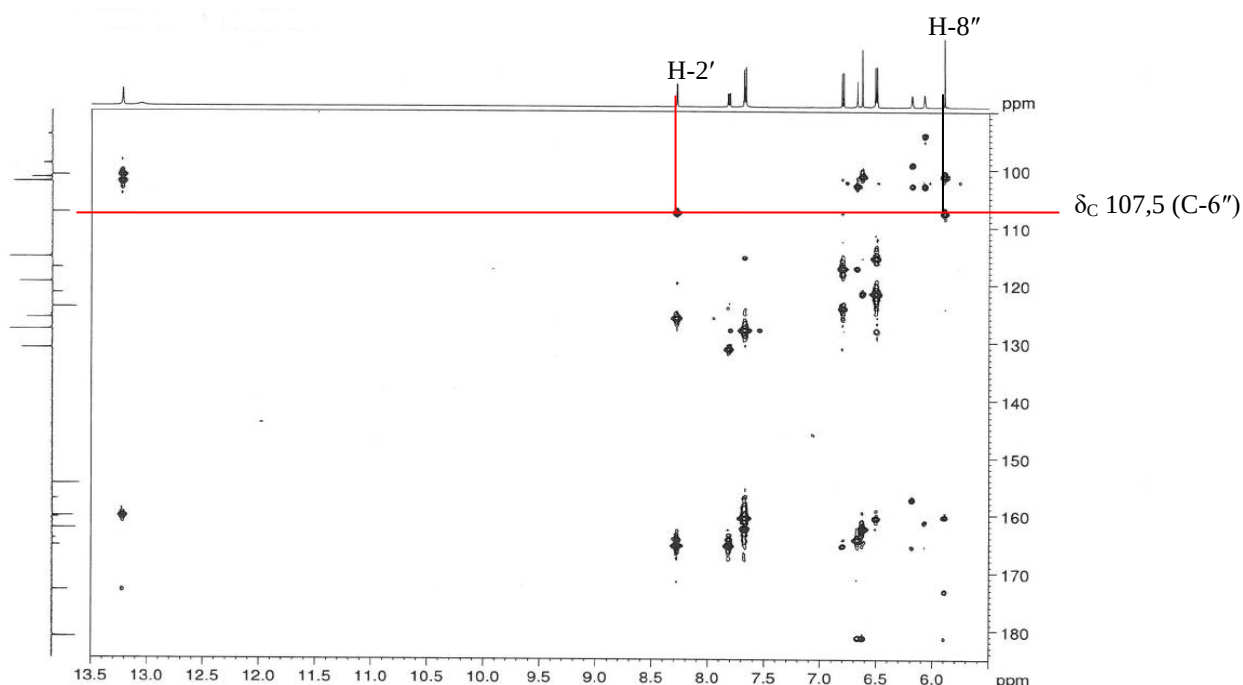
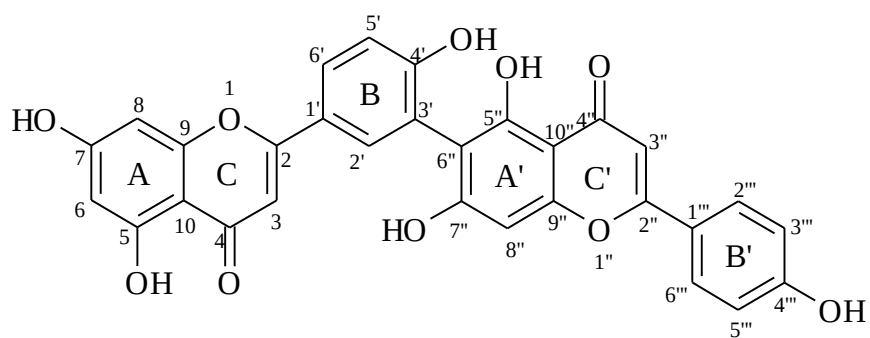


Figure 36: Spectre HMBC de GEP.9

Le spectre HMBC de GEP.9 (figure 36) présente une corrélation importante entre le proton δ_{H} 8,27 (H-2') et l'atome de carbone δ_{C} 107,5 (C-6'') (voir figure 35). Ceci permet de placer la jonction inter-flavonyle entre les atomes de carbone C-3' et C-6''. D'où la structure **(112)**, qui est celle de la robustaflavone, déjà isolé de *Campylospermum flavum* (Ndongo et al., 2010).



(112)

Tableau XLIII: Comparaison des données RMN-¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (100 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.9 et RMN-¹H (500 MHz; CD₃OD), RMN-¹³C (125 MHz; CD₃OD) de robustaflavone (Ndongo et *al.*, 2010).

Position	GEP.9		robustaflavone	
	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ _C	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ _C
2	-	164,3	-	166,3
3	6,67 (1H; s)	102,1	6,68(1H; s)	103,2
4	-	181,2	-	181,8
5	-	160,6	-	161,1
6	6,07 (1H; d; <i>J</i> = 1,8)	99,1	6,19 (1H; d; <i>J</i> = 1,8)	98,6
7	-	160,4	-	163,6
8	6,18 (1H; d; <i>J</i> = 1,8)	94,1	6,52 (1H; d; <i>J</i> = 1,8)	93,1
9	-	157,3	-	157,4
10	-	101,1	-	102,8
1'	-	117,2	-	123,1
2'	8,27 (1H; d; <i>J</i> = 2,1)	131,1	8,11 (1H; d; <i>J</i> = 28,1)	134,5
3'	-	124,1	-	119,8
4'	-	165,4	-	159,8
5'	6,79 (1H; d; <i>J</i> = 8,8)	119,7	7,09 (1H; d; <i>J</i> = 8,8)	119,8
6'	7,81 (1H; dd; <i>J</i> = 2,1 / 8,8)	125,9	7,92 (1H; dd; <i>J</i> = 2,1/ 8,8)	127,5
2''	-	162,5	-	163,9
3''	6,63 (1H; s)	102,2	6,69 (1H; s)	103,3
4''	-	173,1	-	181,6
5''	-	160,6	-	160,9
6''	-	107,5	-	103,7
7''	-	160,4	-	163,8
8''	5,89 (1H; s)	94,1	6,04 (1H; s)	93,4
9''	-	155,7	-	156,2
10''	-	101,1	-	103,3
1'''	-	121,6	-	120,2
2'''/6'''	7,68 (2H; d; <i>J</i> = 9,0)	127,9	7,44 (2H; d; <i>J</i> = 9,0)	128,4
3'''/5'''	6,51 (2H; d; <i>J</i> = 9,0)	115,4	6,68 (2H; d; 9,0)	116,4
4'''	-	160,6	-	159,6
OH-5	13,10	-	13,01	-
OH-5''	13,25	-	13,06	-

II.11. Identification de GEP.10

Le composé GEP.10 a été obtenu sous forme d'une poudre amorphe de couleur jaune, dans le système CH₂Cl₂-MeOH (10:1). Il répond favorablement au test des flavonoïdes.

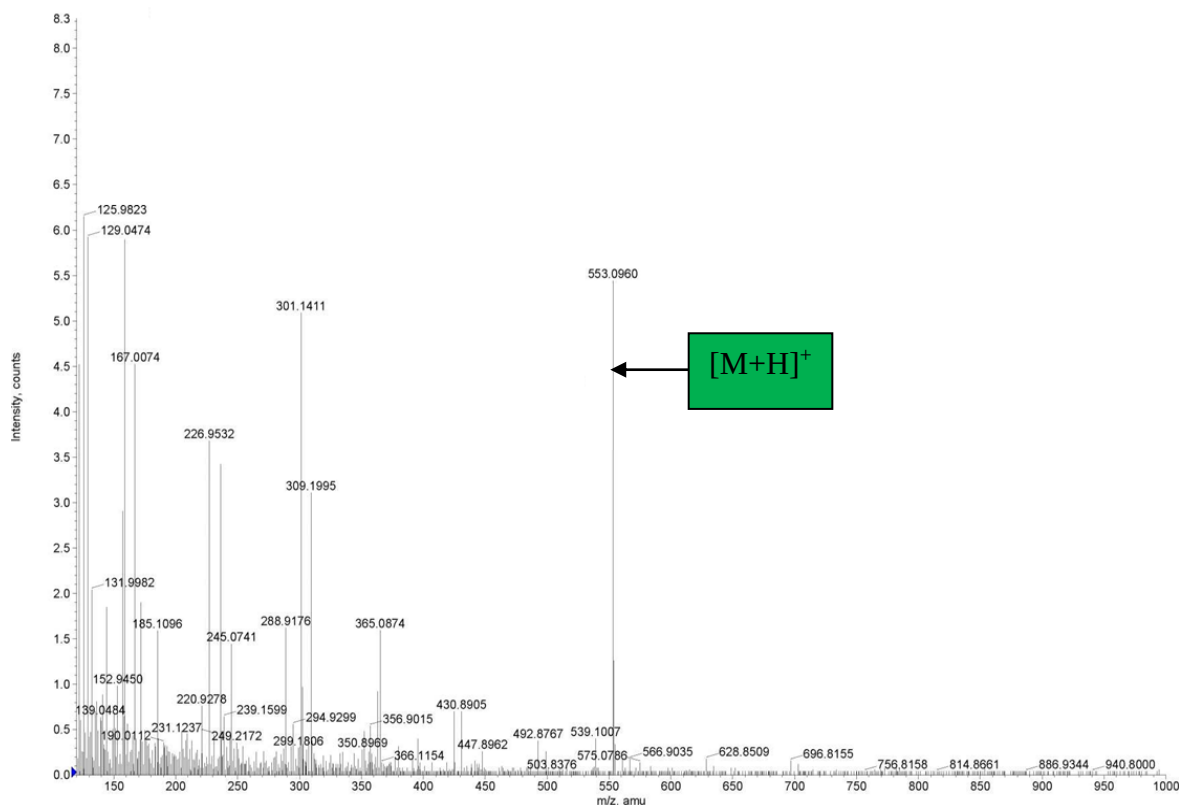


Figure 37: Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.10

Sa formule brute C₃₁H₂₀H₁₀, possédant 16 degrés d'insaturation, a été déduite de son spectre de masse ESI-TOF en mode positif qui montre l'ion moléculaire protoné [M+H]⁺ à m/z 553,0960, indiquant une masse de 552 u (calculée 552,49845).

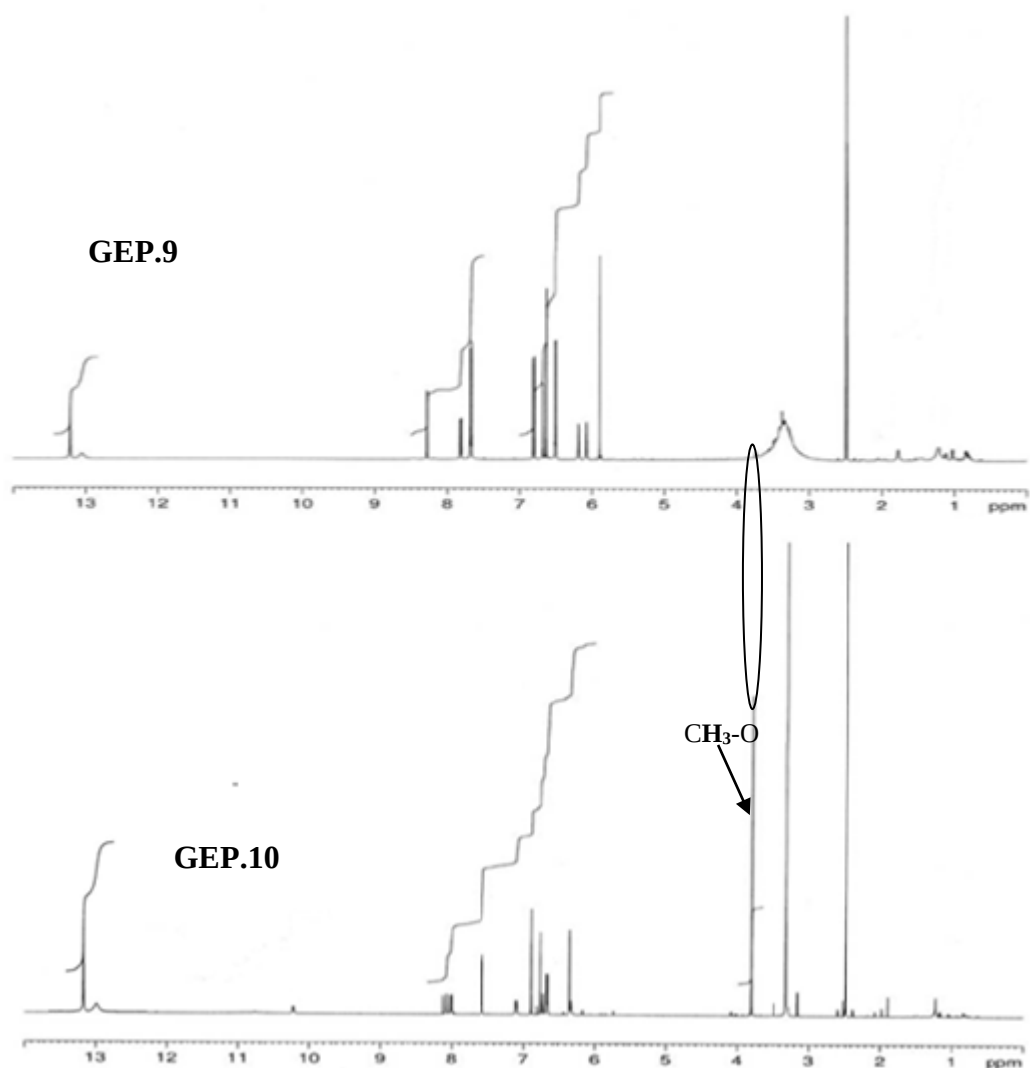


Figure 38 : Comparaison des spectres RMN- ^1H (600 MHz; DMSO- d_6) de GEP.9 et RMN- ^1H (600MHz; DMSO- d_6) de GEP.10

Le spectre RMN- ^1H de GEP.10 est presque identique à celui de GEP.9. L'unique différence entre les deux spectres est la présence d'un groupe méthoxy sur le spectre de GEP.10 qui est absent sur le spectre de GEP.9.

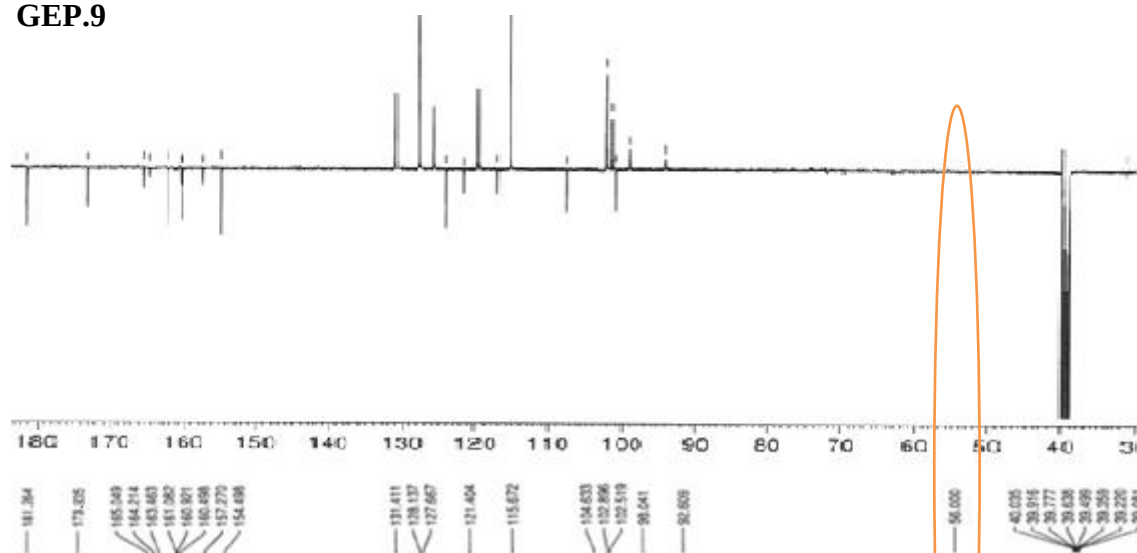
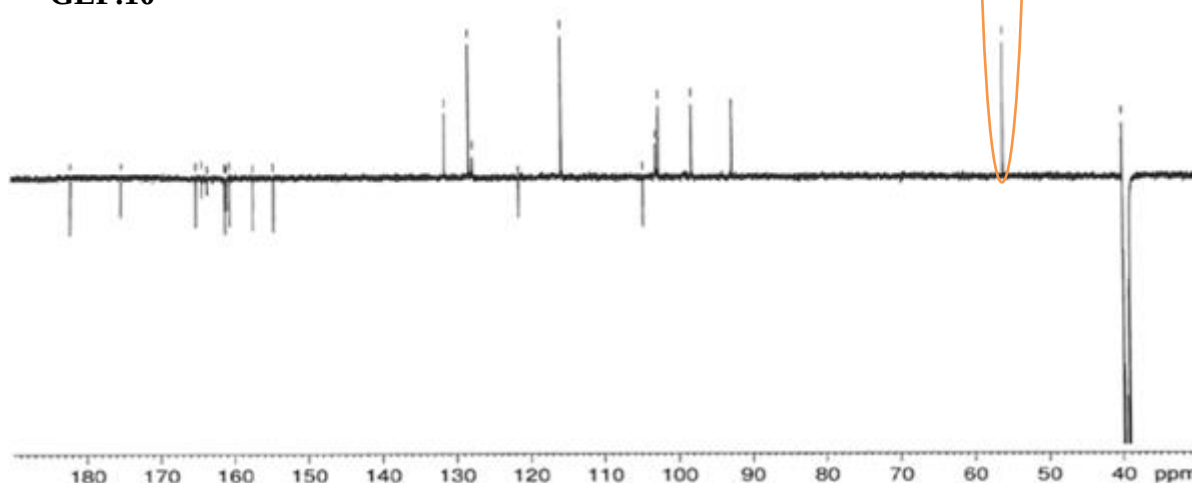
GEP.9**GEP.10**

Figure 39: Comparaison des Spectre RMN- ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6) de GEP.9 et de GEP.10

L'examen du spectre RMN- ^{13}C (DEPTQ) de GEP.10 (figure 39), révèle qu'à l'exception de l'atome de carbone du groupement $\text{CH}_3\text{O}-$, qui est saturé et dont le signal apparait à δ_{C} 56,00 tous les autres 30 atomes de carbone de la molécule sont d'hybridation sp^2 . Il s'agit de douze méthines δ_{C} 102,5 (C-3); 99,0 (C-6); 92,6 (C-8); 131,4 (C-2'); 115,6 (C-5'); 127,6 (C-6'); 108,8 (C-8''); 102,8 (C-3''); 128,1 (C-2'''); 128,1 (C- C-6'''); 115,6 (C-3''') et 115,6 (C-5'''), dix huit atomes de carbone quaternaires δ_{C} 164,2 (C-2); 161,0 (C-5); 160,9 (C-4'); 157,2 (C-9); 104,6 (C-10); 121,4 (C-1'); 121,4 (C-3'); 160,9 (C-7); 163,4 (C-2''); 161,0 (C-5''); 104,6 (C-6''); 160,5 (C-7''); 154,5 (C-9''); 104,6 (C-10''); 121,4 (C-1'') et 161,0 (C-4'') dont deux sont des carbonyles δ_{C} 181,2 (C-4) et 173,9 (C-4'). Les valeurs obtenues sont pratiquement les mêmes que celles décrites pour la robustaflavone.

L'ensemble de ces données confirment que GEP.10 et la robustaflavone ont le même squelette carboné. Leurs structures ne diffèrent que par la présence du substituant méthoxy présent dans la structure de GEP.10 et absent dans la structure de GEP.9 (robustaflavone).

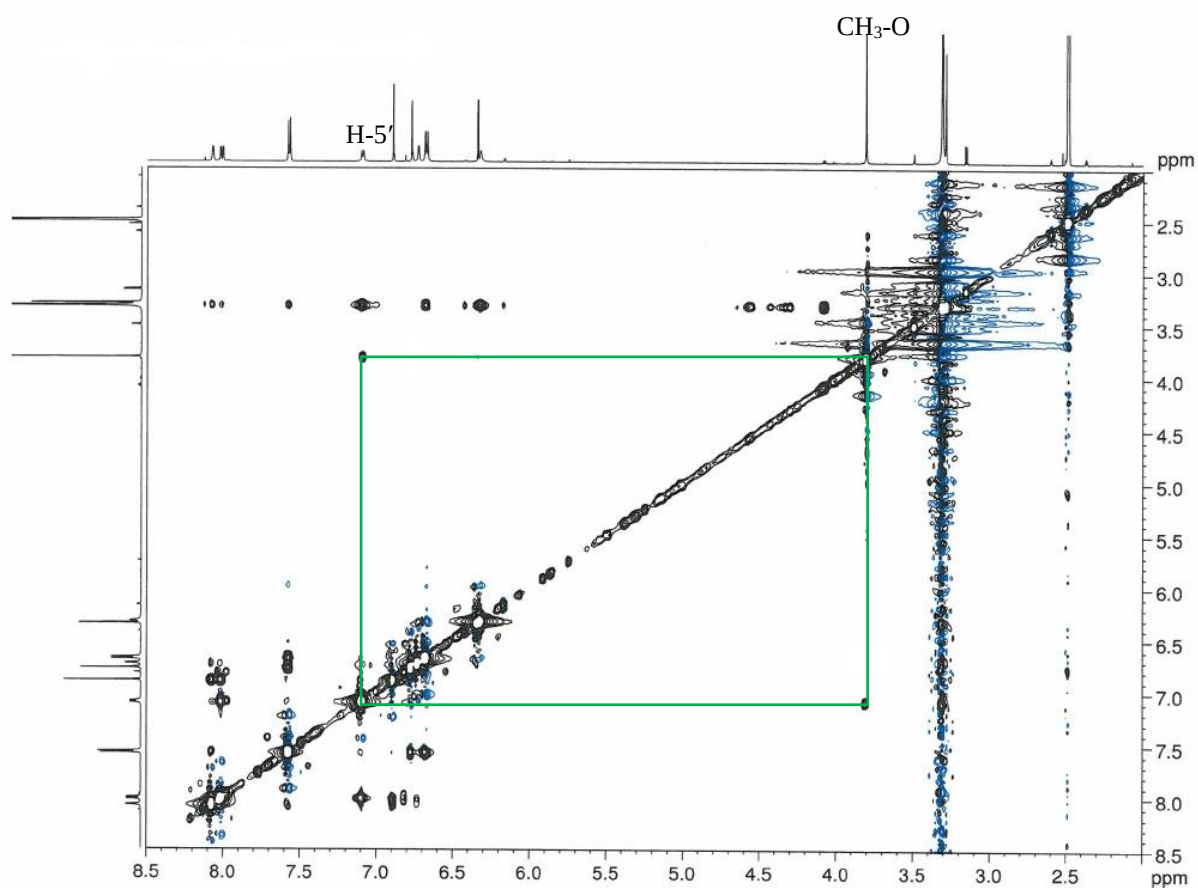


Figure 40: Spectre NOESY de GEP.10

L'information sur la position de ce groupement méthoxy a été obtenue grâce aux expériences de NOESY (figure 40). Ceci a permis de constater que les protons du groupement méthoxy qui apparaissent comme un signal en singulet à 3,81 ppm corrélient avec le proton H-5' à 7,09 ppm sur le noyau B.

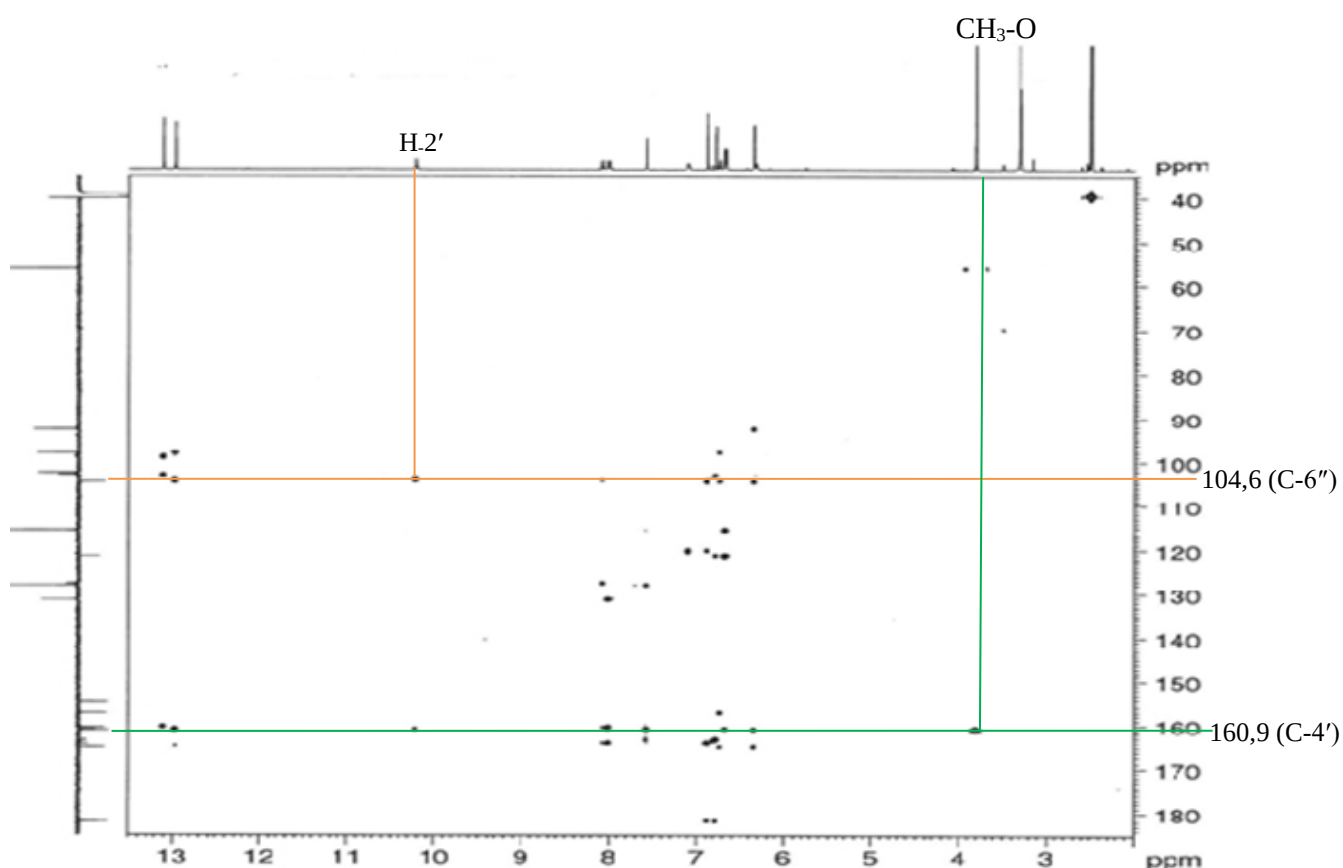


Figure 41: Spectre HMBC) de GEP.10

En plus, son spectre HMBC (figure 41) montre que les protons méthyléniques du groupe méthoxy à 3,81 ppm corrélient avec le carbone C-4' à 160,9 ppm. Ceci confirme que le groupe méthoxy est porté par le carbone C-4'. On remarque sur le même spectre, la corrélation entre le proton H-2' à 8,07 ppm et le carbone C-6'' à 104,6 ppm.

Il ressort de toute cette analyse que GEP.10 est la 4'-O-méthylrobustaflavone (**113**) précédemment isolée de *Selaginella dedicatula* (Lie et al., 2008).

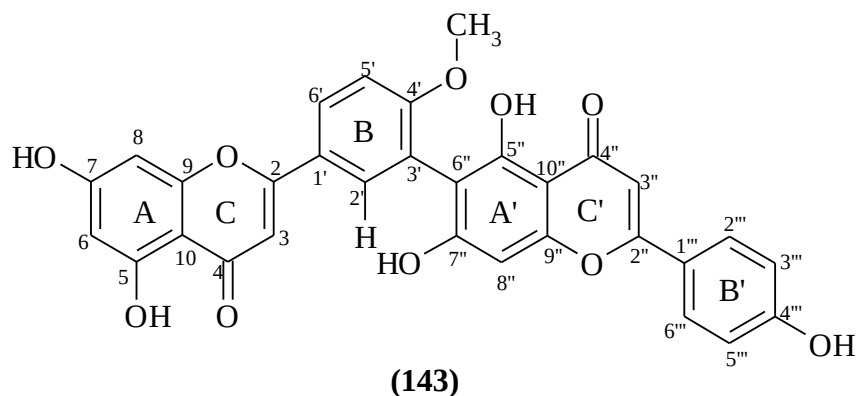


Tableau XLIV: Comparaison des spectres RMN-¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (150 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.10 et RMN-¹H (400 MHz; acétone-*d*₆), RMN-¹³C (100 MHz; acétone-*d*₆) de 4'-O-méthylrobustaflavone (Lie et *al.*, 2008).

Position	GEP.10		4'-O-méthylrobustaflavone	
	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C	δ_H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ_C
2	-	164,2	-	163,4
3	6,89 (1H; s)	102,5	6,87 (1H; s)	103,5
4	-	181,2	-	181,8
5	-	161,0	-	161,1
6	6,34 (1H; d; 2,1)	99,0	6,20 (1H; d; 1,8)	98,8
7	-	160,9	-	164,0
8	6,73 (1H; d; 2,1)	92,6	6,50 (1H; d; 1,8)	94,1
9	-	157,2	-	157,4
10	-	104,6	-	103,8
1'	-	121,4	-	122,4
2'	8,07 (1H; d; 2,4)	131,4	7,82 (1H; d; 28,1)	130,3
3'	-	121,4	-	122,4
4'	-	160,9	-	160,6
5'	7,09 (1H; d; 8,9)	115,6	7,24 (1H; d; 8,8)	111,7
6'	8,01 (1H; dd; 2,4 / 8,9)	127,6	8,08 (1H; dd; 2,1 / 8,8)	127,9
2''	-	163,4	-	163,7
3''	6,77 (1H; s)	102,8	6,82 (1H; s)	102,9
4''	-	173,9	-	177,7
5''	-	161,0	-	158,9
6''	-	104,6	-	108,6
7''	-	160,5	-	161,4
8''	6,32 (1H; s)	108,8	6,64 (1H; s)	93,4
9''	-	154,5	-	156,4
10''	-	104,6	-	103,8
1'''	-	121,4	-	121,2
2'''/6'''	7,57 (2H; d; 8,9)	128,1	7,96 (2H; d; 9,0)	128,5
3'''/5'''	6,68 (2H; d; 8,9)	115,6	6,94 (2H; d; 9,0)	115,9
4'''	-	161,0	-	161,1
CH ₃ -O	3,81 (3H; s)	56,0	3,80 (3H; s)	55,8
OH-5	12,98		12,95	
OH-5''	13,11		13,22	

II.12. Identification de GEP.11

GEP.11 a été obtenu sous forme d'un solide amorphe de couleur jaune pale, dans le système CH_2Cl_2 -MeOH (15:1). Il réagit positivement au test des phénols et donne aussi un résultat positif au test de Molish. GEP.11 est un glycoside phénolique.

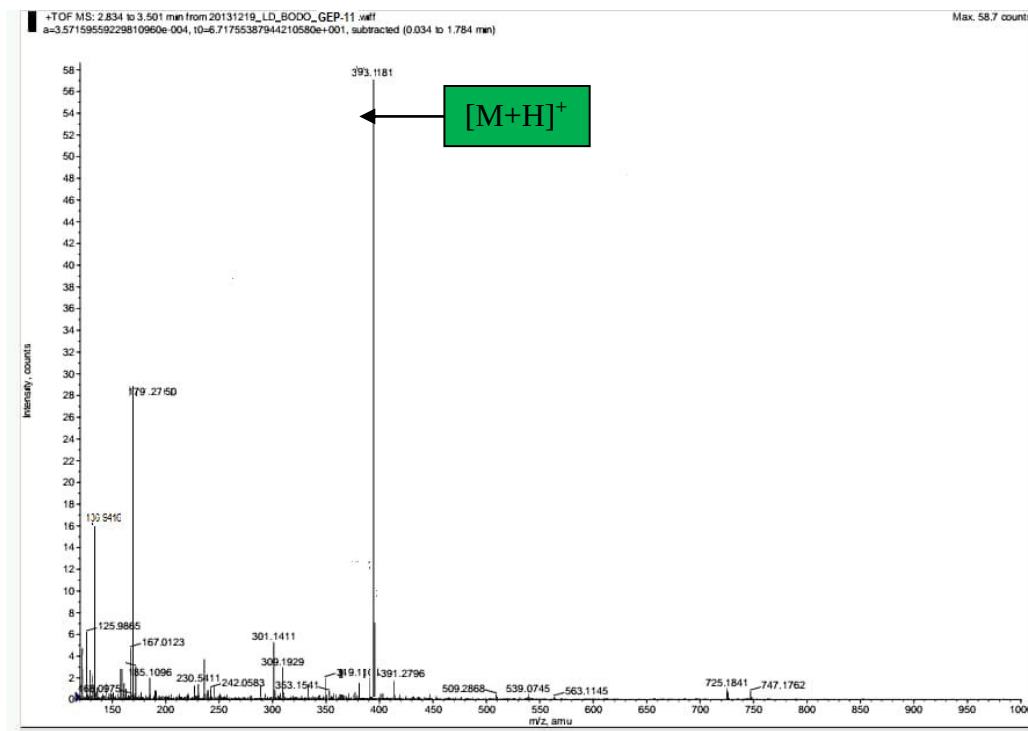


Figure 42: Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.11

Sur son spectre de masse ESI à haute résolution (figure 42), le pic de l'ion moléculaire protoné $[\text{M}+\text{H}]^+$ apparaît à $m/z = 393,1181$. Ceci correspond à une masse moléculaire de 392 g/mol et donc compatible avec la formule moléculaire $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_9$, impliquant dix (10) degrés d'insaturation.

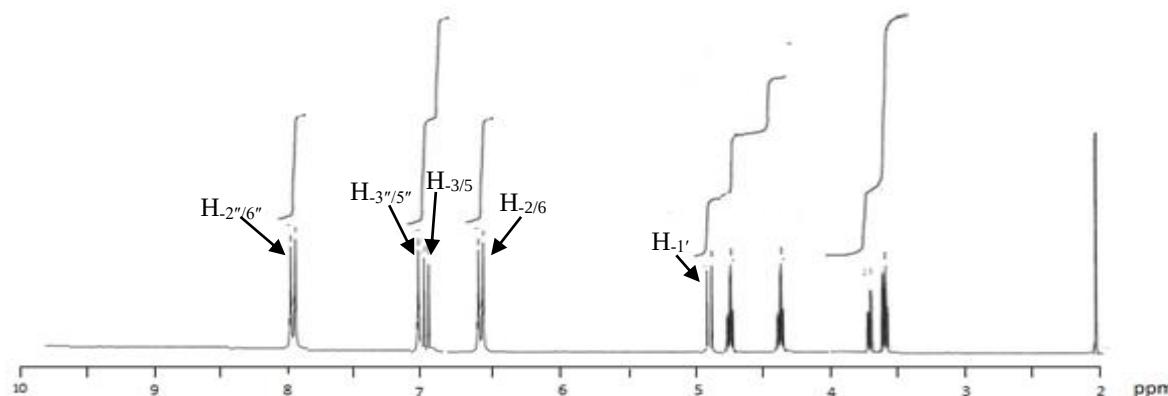


Figure 43: Spectre RMN- ^1H (500 MHz; $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de GEP.11

Le spectre RMN- ^1H de GEP.11 (figure 43) présente deux groupes de signaux. Le premier entre 6,5 et 8 ppm. Il intègre pour huit protons. Ce sont les signaux des protons de noyaux benzéniques. Le second entre 3,5 et 5 ppm, intègre pour sept protons.

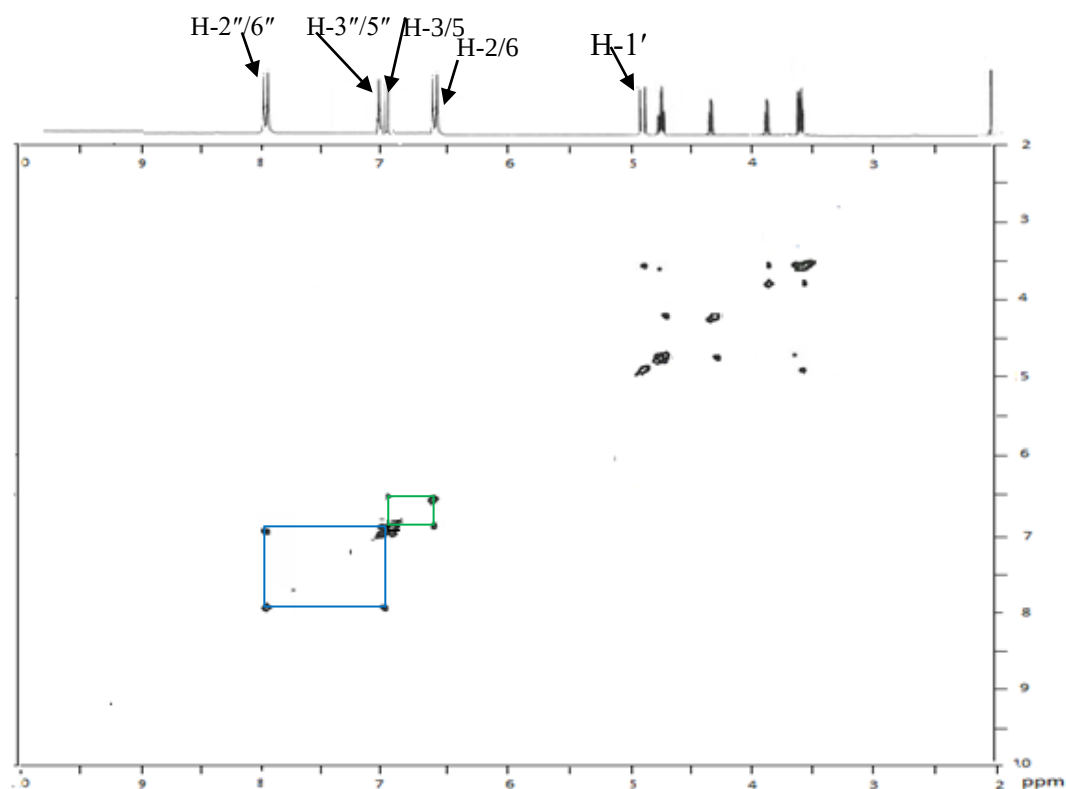


Figure 44: Spectre COSY ^1H - ^1H de GEP.11

Le spectre COSY ^1H - ^1H (figure 44), de GEP.11 a conduit à l'identification de trois familles de signaux:

- Les signaux correspondants à un cycle benzénique dissubstitué, et qui forment un système AA'BB'. Il s'agit de: δ_{H} 6,95 (2H; d; $J = 8,7$ Hz; H-3''/5'') et δ_{H} 7,95 (2H; d; $J = 8,7$ Hz; H-2''/6'').
- Les signaux correspondants à un cycle benzénique dissubstitué, et qui forme un système AA'BB'. Il s'agit de: δ_{H} 6,93 (2H; d; $J = 8,7$ Hz; H-3/5) et δ_{H} 6,65 (2H; d; $J = 8,7$ Hz; H-2/6).
- Le troisième groupe est constitué de sept protons à savoir: δ_{H} 4,85 (1H; d; H-1'), δ_{H} 3,53 (1H; dd; H-4'), δ_{H} 3,56 (1H; dd; H-3'), δ_{H} 3,55 (1H; dd; H-2'), δ_{H} 3,79 (1H; ddd; H-5'), δ_{H} 4,72 (1H; dd; H-6'a) et δ_{H} 4,30 (1H; dd; H-6'b). Ces signaux correspondent bien à ceux d'un résidu glycosidique (Onche et al., 2013).

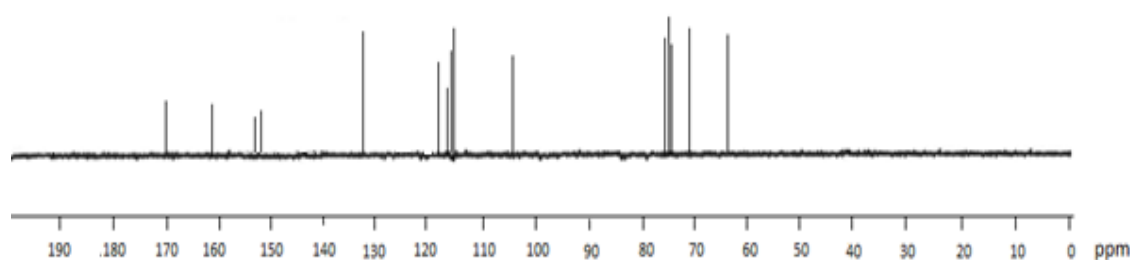
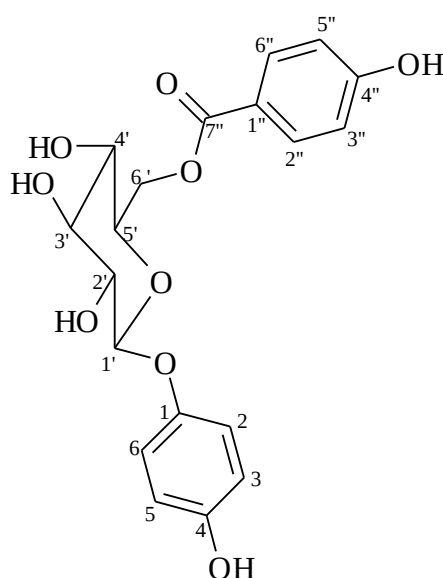


Figure 45: Spectre RMN- ^{13}C (125 MHz; $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de GEP.11

Le spectre RMN ^{13}C de GEP.11 (figure 45), présente les signaux de tous les dix-neuf atomes de carbones requis par la formule brute. Ils sont répartis comme suit:

- Huit carbones méthines hybridés sp^2 entre δ_{C} 116,3 et 131,9;
- Quatre carbones quaternaires hybridés sp^2 entre δ_{C} 117,0 et 161,6;
- Six signaux de carbones aliphatiques, entre δ_{C} 63,8 et 103,2, correspondant bien aux signaux des atomes de carbone de la molécule de D-glucose (**Onche et al., 2013**).
- Le signal d'un groupe carbonyle à δ_{C} 170,0 qui a été assigné au carbonyle d'ester.

La comparaison de toutes ces données spectrales avec celles de quelques glycosides phénoliques connus, montre que GEP.11 est la lanceoloside A (**114**), isolé pour la première fois de *Lophira lanceolata* (**Pegnyemb et al., 1998**).



(144)

Tableau XLV: Comparaison des spectres RMN-¹H (500 MHz), RMN-¹³C (125 MHz) de GEP.11 et RMN-¹H (300 MHz), RMN-¹³C (75 MHz) de lancéoloside A dans l'acétone-*d*₆

Position	GEP.11		Lancéoloside A	
	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ _C	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ _C
1	-	164,2	-	151,9
2/6	6,65 (2H d; 8,7)	102, 9	6,66 (2H; m)	116,3
3/5	6,93 (2H d; 8,7)	181,9	6,95 (2H; m)	118,9
4	-	160,9	-	153,5
1'	4,85 (1H; d; 7,8)	103,2	4,8 (1H; d; 7,3)	103,1
2'	3,55 (1H; dd; 7,8 / 7,4)	73,4	3,56 (1H; m)	74,6
3'	3,56 (1H; dd; 7,4 / 7,7)	76,6	3,60 (1H; m)	77,8
4'	3,53 (1H; dd; 7,7 / 7,7)	70,4	3,58 (1H; m)	71,5
5'	3,79 (1H; ddd; 2,4/ 7,7 / 6,7)	74,6	3,80 (1H; m)	75,0
6'a	4,30 (1H; dd; 11,9 / 2,4)	63,8	4,34 (1H; dd; 2,3 / 9,5)	64,7
6'b	4,72 (1H; dd; 11,9 / 6,7)	63,8	4,70 (1H; dd; 2,3 / 9,5)	64,7
1''	-	117,0	-	116,8
2''/6''	7,95 (2H; d; 8,7)	131,9	7,92 (2H; m)	132,5
3''/5''	6,95 (2H; d; 8,7)	116,4	6,94 (2H; m)	116,0
4''	-	161,6	-	162,8
7''	-	170,0	-	169,4

II.13- Identification de GEP.12

GEP.12 a été obtenu sous forme d'une poudre jaune en solution dans le méthanol.

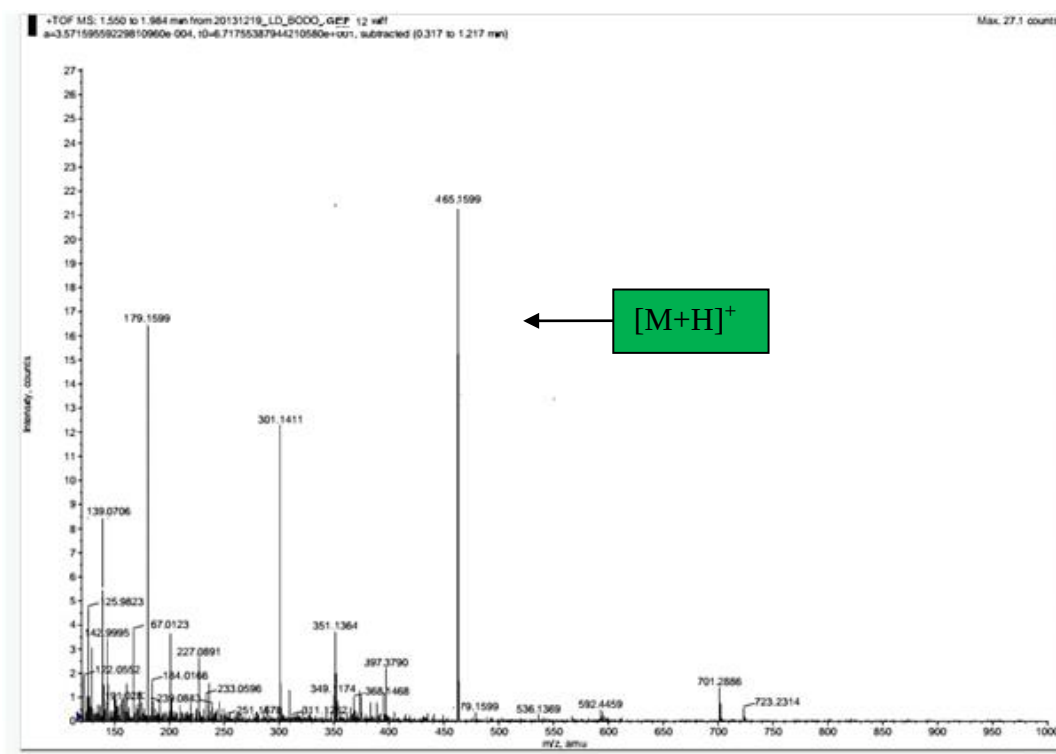


Figure 46: Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.12

Son spectre de masse (figure 46), enregistré selon la technique ESI-TOF en mode positif, permet de repérer le pic de l'ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ à m/z 465,1599, et donc une masse moléculaire de 464 u (calculée 464,38575), pour laquelle la formule brute correspondante est $C_{21}H_{20}O_{12}$.

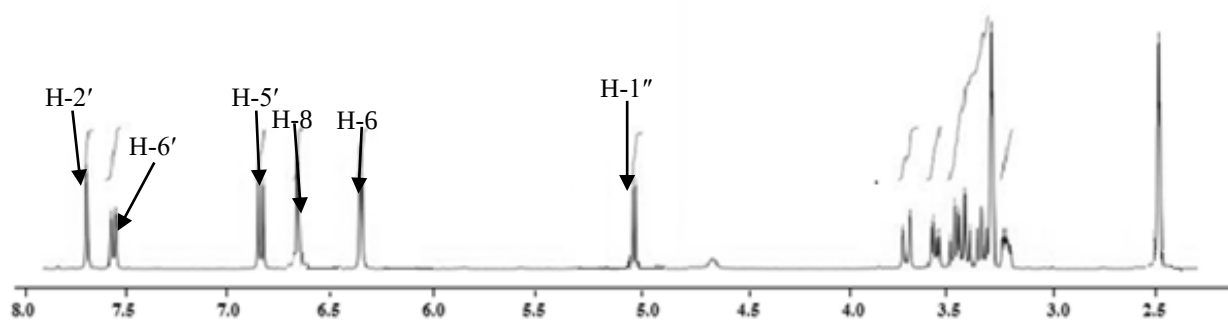


Figure 47: Spectre RMN-¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.12

L'analyse de son spectre RMN- ^1H (figure 47) montre la présence des signaux entre 6 et 8 ppm correspondant à ceux des noyaux aromatiques.

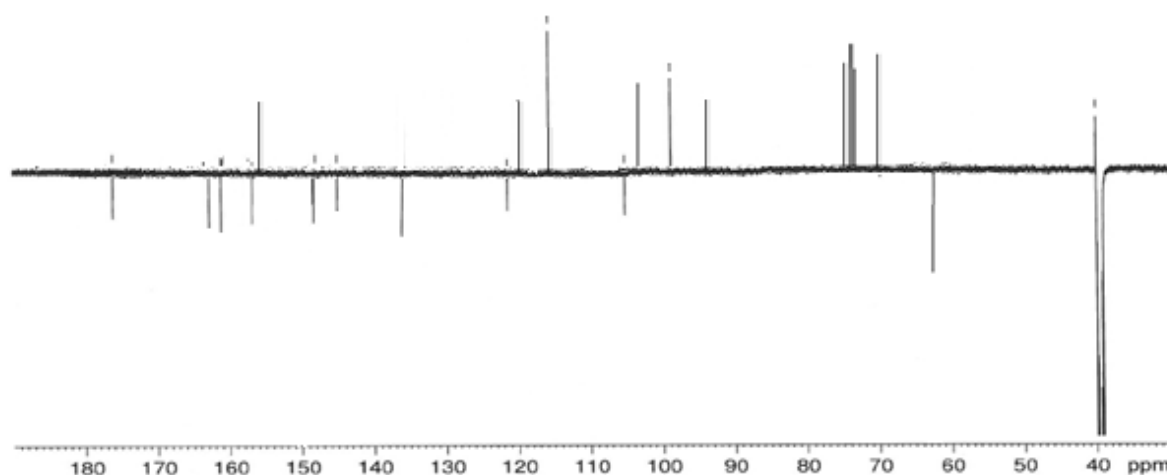


Figure 48: Spectre RMN- ^{13}C (100 MHz; DMSO- d_6) de GEP.12

Le spectre RMN- ^{13}C de GEP.12 (figure 48) présente les signaux dont les valeurs des déplacements chimiques sont très proches de celles de la quercétine-7- O - β -D-glucopyranoside (**115**) (tableau XLVI) isolée des feuilles de *Brasenia schreberi* (Legault et al., 2011).

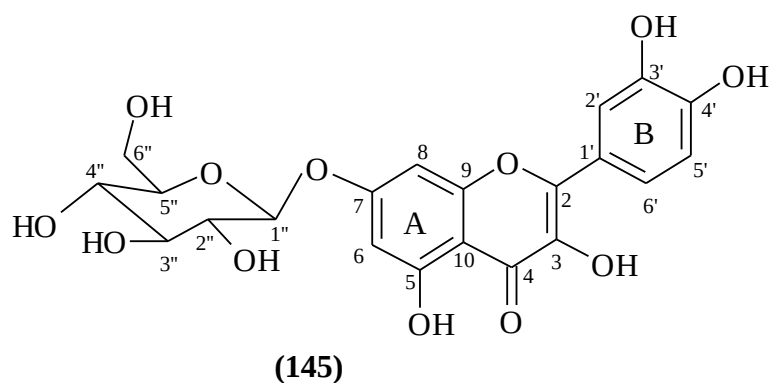


Tableau XLVI: Comparaison des spectres RMN-¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C 100 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.12 et RMN-¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C 100 MHz; DMSO-*d*₆) de quercétine-7-*O*-β-D-glucopyranoside (Legault et *al.*, 2011)

Position	GEP.12		Quercétine-7- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside	
	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ _C	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ _C
2		148,0		148,1
3		136,3		136,5
4		176,6		176,5
5		161,0		160,8
6	6,36 (1H; d; 1,8)	99,1	6,41 (1H; d; 1,8)	99,2
7		163,7		163,7
8	6,69 (1H; d; 1,8)	94,7	6,77 (1H; d; 1,8)	94,7
9		156,3		156,2
10		105,0		105,1
1'		121,5		122,1
2'	7,70 (1H; d; 1,8)	155,5	7,72 (1H; d; 1,8)	115,8
3'		145,5		145,6
4'		148,5		148,5
5'	6,85 (1H; d; 8,2)	116,0	6,89 (1H; d; 8,2)	116,1
6'	7,57 (1H; dd; 8,2 / 1,8)	120,5	7,57 (1H; dd; 8,2 / 1,8)	120,5
1''	5,08 (1H; d; 7,6)	103,2	5,08 (1H; d; 7,6)	100,3
2''	3,37 (1H; dd)	73,4	3,35 (1H; dd)	73,6
3''	4,42 (1H; dd)	76,6	4,40 (1H; dd)	76,8
4''	3,21 (1H; dd)	70,4	3,23 (1H; dd)	70,0
5''	3,49 (1H; dd)	74,6	3,47 (1H; dd)	77,6
6''a	3,73 (1H; dd)	63,8	3,70 (1H; dd)	60,7
6''b	3,72 (1H; dd)	63,8	3,72 (1H; dd)	60,7
OH-5	12,97 (1H; s)		12,89 (1H; s)	

II.14. Identification de GEP.13

GEP.13 est une poudre amorphe de couleur jaune, soluble dans l'acétone. Il répond positivement au test des flavonoïdes.

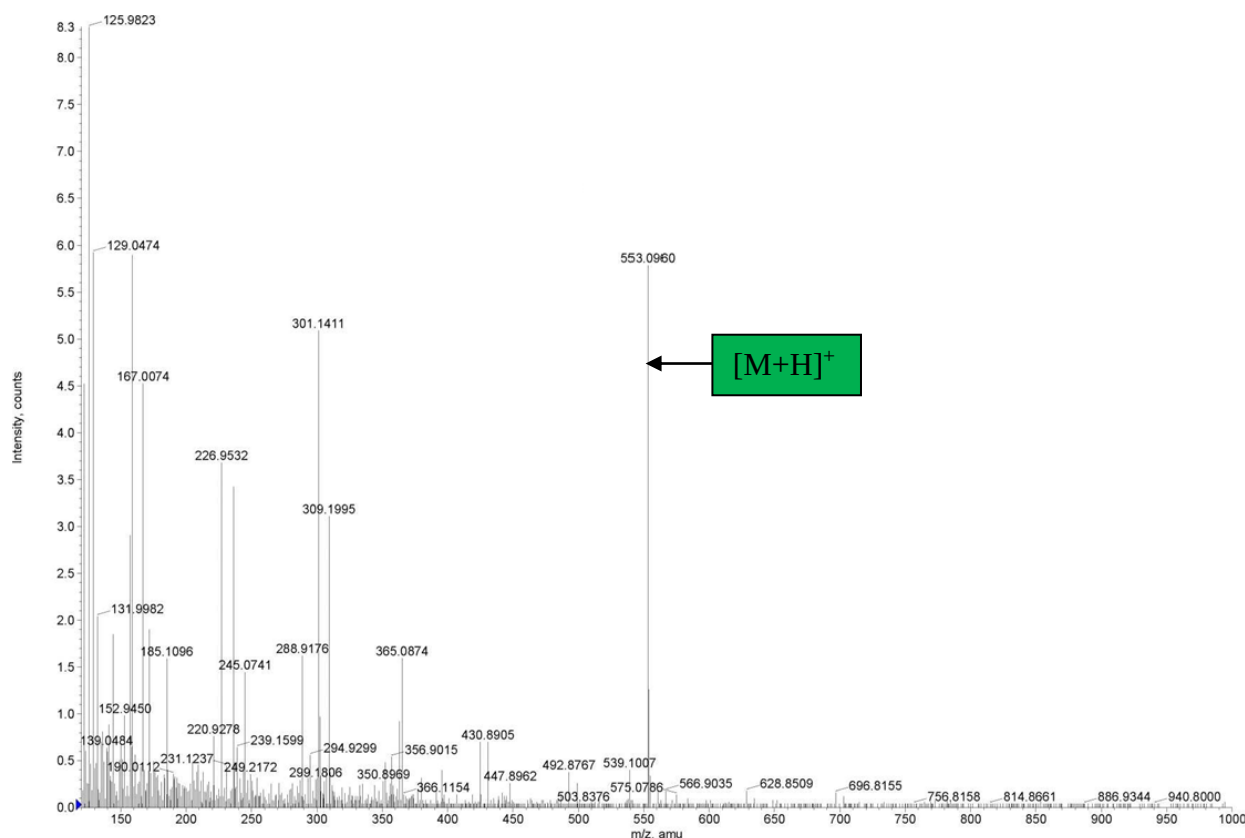


Figure 49: Spectre de masse (HRESI-MS) de GEP.13

Sa formule brute $C_{31}H_{20}O_{10}$ qui renferme 22 insaturations a été déduite de son spectre de masse (figure 49) ESI-TOF en mode positif, qui montre le pic de l'ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ à $m/z = 553,1016$ impliquant une masse moléculaire de 552 u (calculée 552,49845).

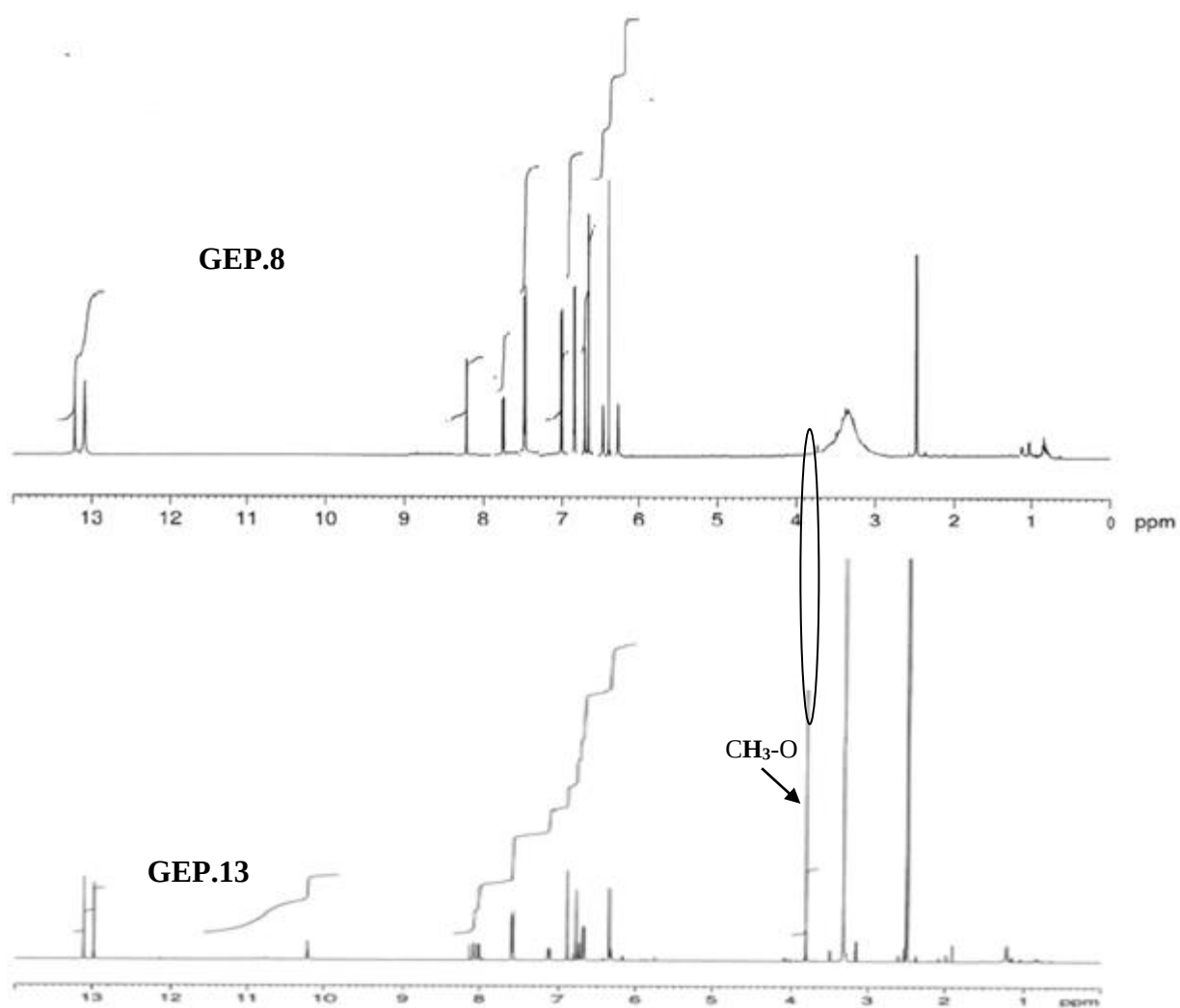


Figure 50: Comparaison des spectres RMN-¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.8 et RMN-¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.13

Le spectre RMN-¹H de GEP.13 est presque identique à celui de GEP.8. L'unique différence entre les deux spectres est la présence d'un groupe méthoxy sur le spectre de GEP.13 qui est absent sur le spectre de GEP.8

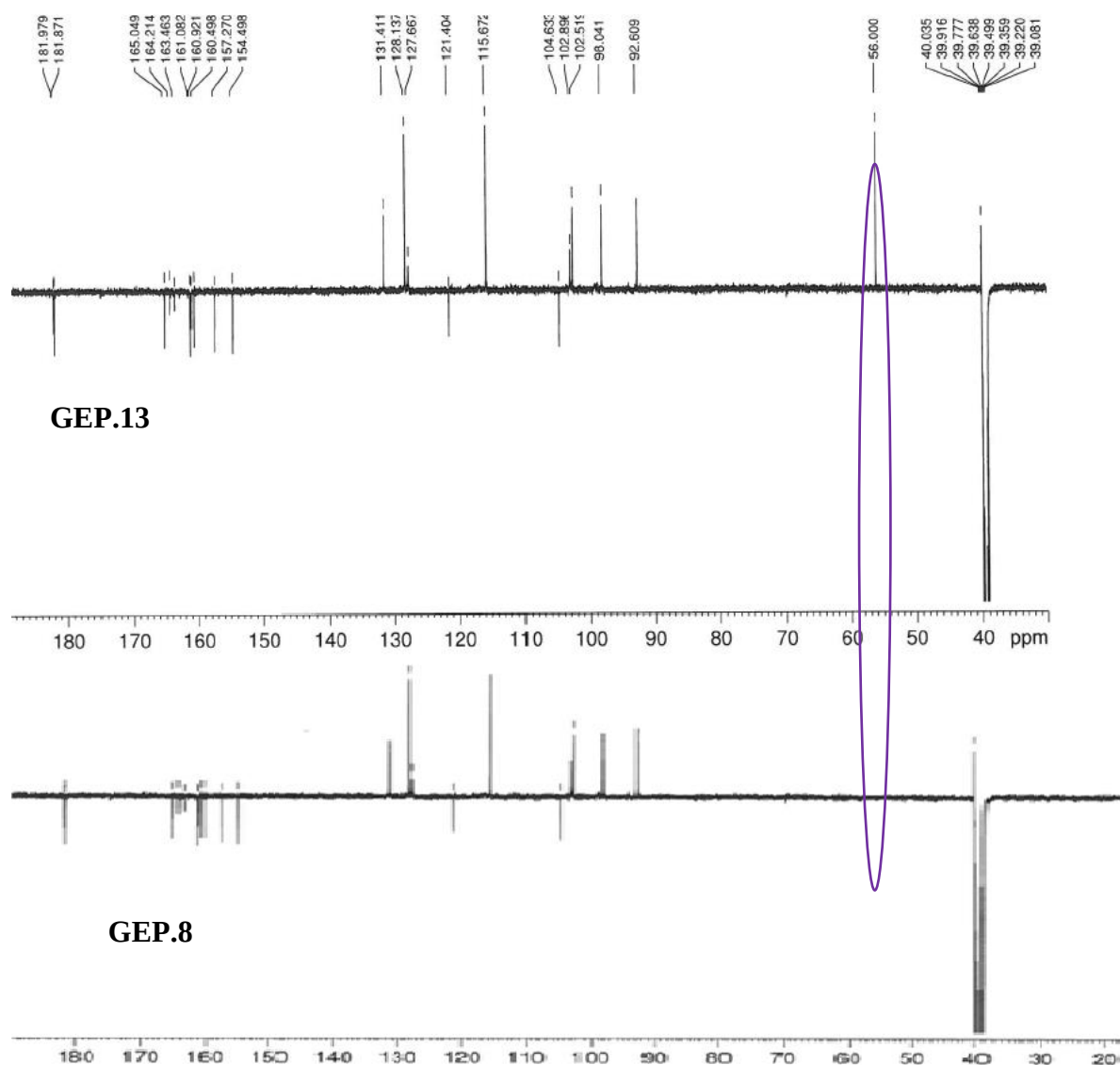


Figure 51: Comparaison des spectres RMN- ^{13}C (100 MHz; DMSO- d_6) de GEP.13 et RMN- ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6) de GEP.8

L'analyse du spectre RMN- ^{13}C (figure 51) de GEP.13, révèle la présence de 31 atomes de carbones. En comparant les valeurs des déplacements chimiques des atomes de carbones de ce spectre à ceux de GEP.8 (tableau XLII), on constate que les déplacements chimiques de 30 de ces atomes de carbones sont très proches de ceux de l'amentoflavone (**142**). Il existe tout de même une différence. Il s'agit du signal du carbone du groupement méthoxy de GEP.13, qui résonne à 56,0 ppm.

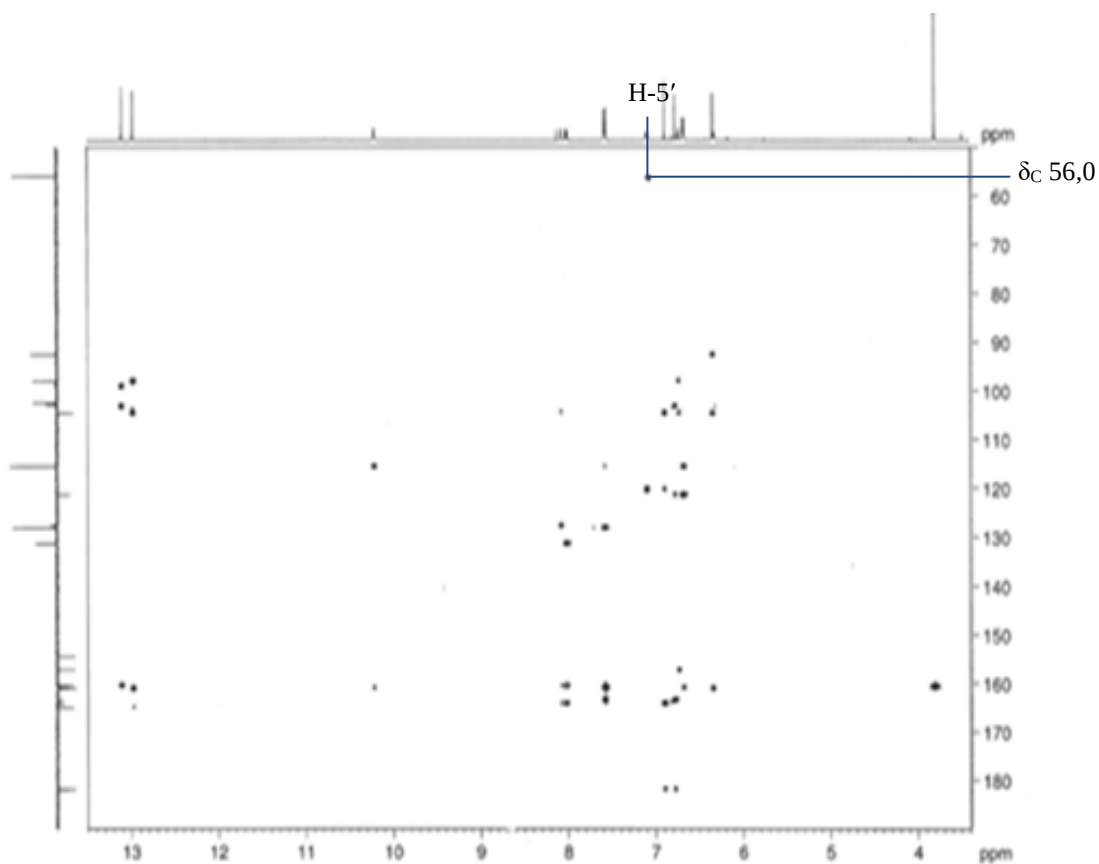
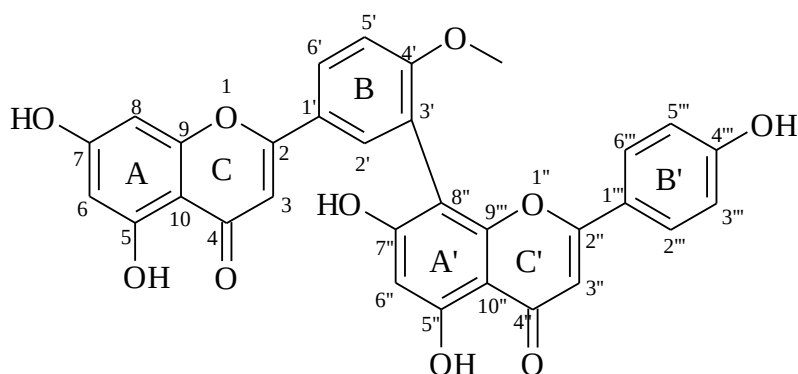


Figure 52: Spectre HMBC de GEP.13

Sur le spectre HMBC de GEP.13 (figure 51), on remarque une tache de corrélation entre le proton H-5' à δ_H 7,09 et le carbone méthyle à δ_C 56,0. Il existe donc une liaison éther entre ce groupe méthyle et le carbone C-4' de l'amentoflavone (**142**). GEP.13 est la 4'-O-méthylamentoflavone (**146**), déjà isolé de *Taxus baccata* (Krauze et al., 2003).



(146)

Tableau XLVII: Spectre RMN-¹H de GEP.13, comparaison des données RMN-¹³C de GEP.13 et RMN-¹³C de 4'-O-méthylamentoflavone (Krauze et *al.*, 2003).

Position	4'-O-méthylamentoflavone	GEP.13	
	δ _C	δ _C	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)
2	163,9	164,2	-
3	102,9	102,9	6,89 (1H; s)
4	181,8	181,8	-
5	162,1	161,0	-
6	98,9	98,0	6,34 (1H; d; 2,8)
7	164,2	165,0	-
8	94,1	92,6	6,73 (1H; d; 2,8)
9	157,4	157,2	-
10	103,7	104,6	-
1'	120,9	120,4	-
2'	131,4	131,4	8,07 (1H; s)
3'	120,1	120,4	-
4'	160,6	160,9	-
5'	116,2	116,6	7,09 (1H; d; 8,6)
6'	127,8	127,6	8,01 (1H; dd; 2,5 / 8,6)
2''	163,7	163,4	-
3''	102,6	102,5	6,77 (1H; s)
4''	182,2	181,9	-
5''	161,1	161,0	-
6''	98,7	98,8	6,32 (1H; s)
7''	160,6	161,0	-
8''	104,1	104,6	-
9''	157,5	154,5	-
10''	103,6	104,6	-
1'''	121,4	121,4	-
2'''/6'''	128,2	128,1	7,57 (2H; d; 8,8)
3'''/5'''	115,8	115,6	6,68 (2H; d; 8,8)
4'''	161,5	160,5	-
O-CH ₃	56,0	56,0	3,81 (3H; s)
OH-5			13,11
OH-5''			12,98

II.15. Identification de GEP.14

GEP.14 se présente sous forme de poudre de couleur jaune, dans le méthanol.

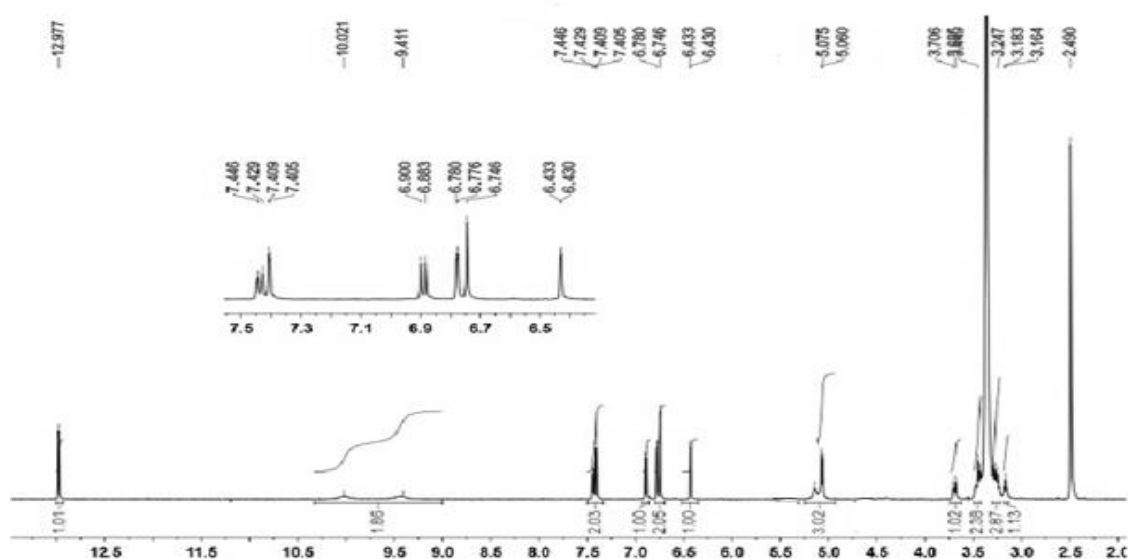


Figure 53: Spectre RMN- ^1H (500 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.14

L'analyse de son spectre RMN- ^1H (figure 53) montre la présence des signaux entre 6 et 8 ppm correspondant à ceux des noyaux aromatiques.

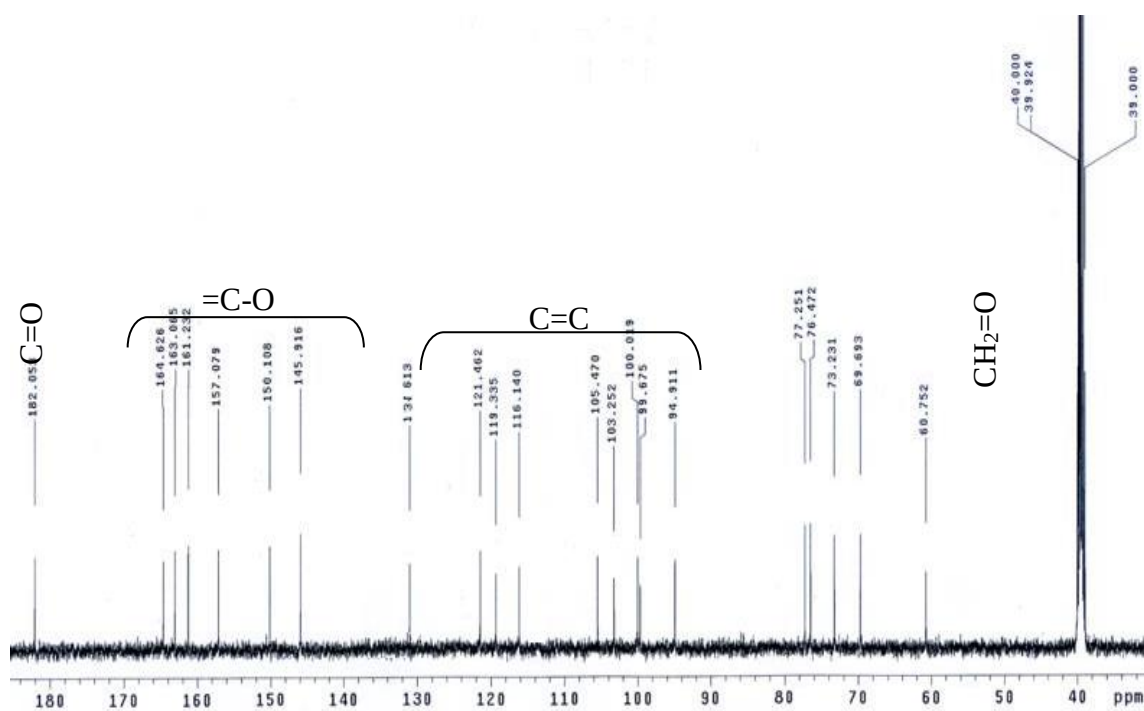


Figure 54: Spectre RMN- ^{13}C (125 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) de GEP.14

L'analyse du spectre RMN- ^{13}C de GEP.14 (figure 54) montre les signaux de 21 atomes de carbones. On peut y remarquer les signaux suivant:

- un carbonyle conjugué à 181,8 ppm;
- six atomes de carbones hybridés sp^2 et portant un atome d'oxyde ($=\text{C}-\text{O}$) entre 164,6 et 145,9 ppm;
- huit atomes de carbone hybridés sp^2 , entre 131,6 et 94,9 ppm;
- carbone anomérique C-1', qui apparait à 99,6 ppm;
- quatre carbone méthine entre 70,0 et 77,2 ppm;
- un atome méthylène à 60,7 ppm.

Ces données en comparaison à celles décrites dans la littérature nous permettent d'identifier GEP.14 comme étant la lutéoline 7-O- β -D-glucopyranoside, **(147)** déjà isolé de *Dendranthema morifolium* (Saxena et al., 2015).

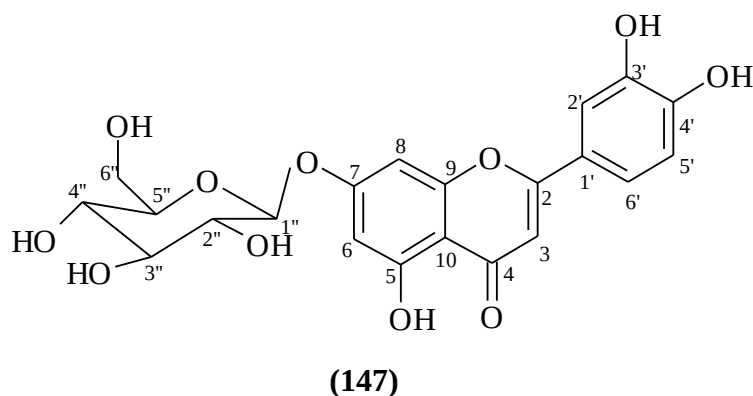


Tableau XLVIII: Comparaison des spectres RMN-¹H (500 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (125MHz; DMSO-*d*₆) de GEP.14 et RMN-¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆), RMN-¹³C (100MHz; DMSO-*d*₆) de lutéoline-7-*O*-β-D-glucopyranoside

Position	GEP.14		lutéoline 7- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside	
	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ _C	δ _H (multiplicité; <i>J</i> en Hz)	δ _C
2		161,2		161,1
3	6,75 (1H; s)	103,2	6,73 (1H; s)	102,9
4		182,0		181,7
5		163,0		163,0
6	6,43 (1H; d; 1,9)	100,0	6,43 (1H; d; 2,0)	100,0
7		164,6		164,5
8	6,78 (1H; d; 1,9)	94,9	6,78 (1H; d; 2,0)	94,8
9		157,0		157,0
10		105,4		105,2
1'		121,4		121,4
2'	7,41 (1H; d; 1,9)	131,6	7,40 (1H; d; 2,0)	131,6
3'		145,9		145,9
4'		150,1		150,9
5'	6,89 (1H; d; 7,5)	116,1	6,89 (1H; d; 8,5)	116,0
6'	7,45 (1H; dd; 1,9 / 7,5)	119,3	7,43 (1H; dd; 2,0 / 8,5)	119,1
1''	5,07 (1H; d)	99,6	5,05 (1H; d; 7,5)	99,7
2''	3,24	73,2		73,2
3''	3,34	77,2		77,2
4''	3,17	69,6		70,0
5''	3,70	76,4		76,4
6''	4,15	60,7		60,7
OH-5	12,98			

Tableau XLIX: Récapitulatif des composés isolés des feuilles de *Garcinia epunctata*

N°	Composés isolés	Caractéristiques physico-chimiques	Masse	Noms
1	GEP.x	Poudre, blanche	5 mg	Lupéol
2	GEP.1	Poudre, blanche	8 mg	β -sitostérol
3	GEP.2	Poudre, blanche	6 mg	Stigmastérol
4	GEP.3	Poudre, blanche	6 mg	β -sitostérol-3-O- β -D-glucopyranoside
5	GEP.4	Poudre amorphe, blanche	5 mg	Acide betulinique
6	GEP.5	Solide amorphe, blanc	14 mg	Epunctoside A (nouveau)
7	GEP.6	Solide amorphe, blanc	12 mg	Epunctoside B (nouveau)
8	GEP.7	Poudre, blanche	6 mg	Stigmastérol-3-O- β -D-glucopyranoside
9	GEP.8	Poudre amorphe, jaune	5 mg	Amentoflavone
10	GEP.9	Poudre amorphe, jaune	6 mg	Robustaflavone
11	GEP.10	Poudre amorphe, jaune	7 mg	4'-O-méthylrobustaflavone
12	GEP.11	Solide amorphe, jaune pâle	7 mg	Lancéoloside A
13	GEP.12	Poudre, jaune	6 mg	Quercétine-7-O- β -D-glucopyranoside
14	GEP.13	Poudre amorphe, jaune	5 mg	4'-O-méthylamentoflavone
15	GEP.14	Poudre, jaune	7 mg	Lutéoline 7-O- β -D-glucopyranoside

III. EVALUATION DES PROPRIETES ANTIBACTERIENNES DE QUELQUES COMPOSES ISOLEES

Introduction

Un antibactérien est une substance chimique naturelle ou synthétique qui tue ou qui inhibe la croissance des bactéries. Son activité dépend de sa concentration dans le substrat et du type de bactérie à combattre. Si un antibiotique est ajouté à une culture bactérienne en croissance exponentielle, elle peut:

- inhiber la croissance des cellules bactériennes sans les tuer : c'est l'effet bactériostatique. Dans ce cas, l'agent bactériostatique inhibe la synthèse des protéines dans l'organisme cible.
- tuer la cellule: c'est l'effet bactéricide. L'antibactérien peut tuer la cellule en provoquant sa lyse, on dira que cet antibactérien est bactériolytique. L'activité bactéricide d'un antibactérien consiste alors à déterminer le nombre de survivant au cours du temps (**Barah et Gonçalves, 2010**).

Mesure de l'activité antibactérienne

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer l'activité antibactérienne d'une substance chimique. Le choix de la méthode dépend non seulement de la nature de la substance à tester, du micro-organisme, mais également des paramètres recherchés. On distingue ainsi les tests qualitatifs et les tests quantitatifs.

III.1. Les tests qualitatifs

Ce sont des tests de sensibilité qui permettent de déterminer la présence ou non des substances à activité antibactérienne. On peut citer l'aromatogramme (ou antibiogramme), la technique de micro atmosphère, la technique par contact direct et la méthode de diffusion en puits ou en cylindre. L'aromatogramme (mesure de l'activité d'une huile essentielle sur une bactérie) ou l'antibiogramme (mesure de l'activité d'une molécule sur une bactérie) est la technique la plus utilisée en bactériologie médicale. Elle est basée sur le principe de diffusion de la substance en milieu gélosé sur un disque. Cette méthode permet de tester l'action de plusieurs antibactériens sur une souche bactérienne et donnera alors l'efficacité *in vitro* de ces antibactériens. Pour réaliser un antibiogramme, la culture bactérienne (inoculum bactérien) est ensemencée (par écouvillonnage ou par étalement) à la surface d'une gélose. Des disques de papiers filtre-Whatman préalablement imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont

déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre d'inhibition (zone sans bactérie) permet une estimation de la CMI et de déduire les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne (Fontany et al., 2015).

Dans certaines situations, une réponse quantitative de l'activité bactériostatique et de l'activité bactéricide des antibiotiques seuls ou associés est nécessaire à une antibiothérapie spécifique.

III.2. Les tests quantitatifs

Ils font référence aux méthodes de détermination des paramètres d'inhibition (CMI et CMB) et au rapport $\frac{CMB}{CMI}$. Il s'agit de la méthode de dilution en milieu liquide ou micro dilution, la méthode de dilution en milieu solide et de la méthode *e-test*. Quelque soit la méthode utilisée, l'activité antibactérienne d'une substance donnée est mesurée en déterminant la concentration la plus faible de la substance nécessaire pour inhiber la croissance d'un micro-organisme donné. Cette valeur est la CMI. Pour mesurer la CMI, une série de culture de micro-organisme, dont on veut inhiber la croissance, est préparée. Chacune avec une concentration différente de la solution antibactérienne dont on veut mesurer l'activité. Par la suite, la présence ou l'absence de croissance microbienne est détectée. La culture avec la plus faible concentration antibactérienne dans laquelle la croissance bactérienne n'a pas été détectée est celle dans laquelle CMI a été utilisée. Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibactérien (Fauchère et Avril, 2002).

Pour évaluer l'effet bactéricide d'un antibiotique, on détermine sa CMB. C'est la plus petite concentration d'antibiotique laissant 0,01% de survivant de l'inoculum bactérien initial après 24 heures d'incubation à 37 °C. Un antibiotique sera dit bactéricide quand sa CMB est égale à sa CMI ou si le rapport $\frac{CMB}{CMI} \leq 4$. Il est dit bactériostatique quand sa CMB est supérieure à sa CMI ou si le rapport $\frac{CMB}{CMI} > 4$. Lorsque ce rapport est égal à 32, la souche est dite tolérante (Cos et al., 2006).

III.3. Tests anti bactériens

➤ Souches bactériennes

Tous les tests ont été effectués sur chacune des souches bactériennes suivantes: *Pseudomonas aeruginosa* (responsable des infections des voies urinaires et des plaies), *Escherichia coli* (responsable des intoxications alimentaires et des troubles gastro-intestinaux), *Staphylococcus aureus* (responsable des infections cutanées, des infections voies respiratoires et des intoxications alimentaires), *Salmonella enteritidis* (responsable des intoxications alimentaires, des diarrhées) et *Salmonella typhimurium* (responsable de la fièvre typhoïde).

III.3.1. Tests de sensibilité: Méthode des disques

Les résultats des activités antibactériennes de l'extrait à l'acétate d'éthyle et des composés purs GEP.1, GEP.5 et GEP.6 sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Tableau L: Activités anti-bactériennes par la méthode des disques

Bactérie testée	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)					
	AcOEt	GEP.1	GEP.2	GEP.5	GEP.6	Gentamicine
EC	17	8	8	10	10	18
PA	12	9	8	10	10	-
SA	18	8	8	9	10	16
ST	18	8	8	10	9	15
SE	16	8	8	10	10	-

AcOEt: Extrait à l'acétate d'éthyle, EC: *Escherichia coli*, PA: *Pseudomonas aeruginosa*, SA: *Staphylococcus aureus*, ST: *Salmonella typhimurium*, SE: *Salmonella enteritidis*

Le diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Garcinia epunctata* est compris entre 12 et 18 mm. Cet extrait s'est montré très actif contre toutes les souches de bactérie testées, et plus actif que la gentomycine (molécule de référence) contre *S.aureus* et *P. aeruginosa*. Par contre, les composés purs GEP.1, GEP.2, GEP.5 et GEP.6 ont montré une activité modérée contre toutes les souches de bactérie, avec un diamètre d'inhibition qui varie entre 8 et 10 mm (Cos et al., 2006).

III.3.2. Tests de microdilution

La détermination des paramètres antibactériens (CMI et CMB) de l'extrait à l'acétate d'éthyle et des composés purs GEP.1, GEP.2, GEP.5 et GEP.6 a été évaluée par la méthode de microdilution et les résultats obtenus sont consignés dans le tableau LI ci-dessous.

Tableau LI: Détermination de la CMI et de la CMB

Bactéries testées	CMI (mg/mL), CMB (mg/mL), Rapport CMB/CMI														
	AcOEt			GEP.1			GEP.2			GEP.5			GEP.6		
EC	0,250	1	4	0,125	ND	ND	0,125	ND	ND	0,250	ND	ND	0,125	ND	ND
PA	1	8	8	0,500	ND	ND	0,500	ND	ND	0,250	ND	ND	0,250	ND	ND
SA	0,250	1	4	0,125	ND	ND	0,125	ND	ND	0,250	ND	ND	0,250	ND	ND
ST	0,125	0,5	4	0,250	ND	ND	0,125	ND	ND	0,500	ND	ND	0,250	ND	ND
SE	0,125	0,5	4	0,250	ND	ND	0,125	ND	ND	0,500	ND	ND	0,250	ND	ND

AcOEt: Extrait à l'acétate d'éthyle, EC: *Escherichia coli*, PA: *Pseudomonas aeruginosa*, SA: *Staphylococcus aureus*, ST: *Salmonella typhimurium*, SE: *Salmonella enteritidis*, ND: non déterminé.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait à l'acétate d'éthyle contre toutes les bactérie testées est comprise entre 0,125 et 1mg/mL, correspondant à une activité élevée (**cos et al., 2006**). Les valeurs de la concentration minimale bactéricide (CMB) de ce même extrait sont assez faibles de sorte que les rapports CMB/CMI valent 4, suggérant que cet extrait a un effet bactéricide contre toutes les souches bactériennes testées sauf *P. aeruginosa* dont le rapport CMB/CMI vaut 8. Contre ce dernier, l'extrait a un effet bactériostatique.

Les composés purs GEP.1, GEP.2, GEP.5 et GEP.6 se sont montrés actifs contre toutes les souches bactériennes testées, avec des valeurs de CMI comprises entre 0,125 et 0,500 mg/mL. Les valeurs de la CMB sont non déterminées. Néanmoins, ces valeurs sont très élevées de sorte que, dans chaque cas, le rapport $\frac{CMB}{CMI}$ est largement supérieur à 4. Ces composés ont donc un effet bactériostatique sur chacune des souches bactériennes ci-dessus testées.

Conclusion

Les travaux menés ont permis de confirmer l'activité antibactérienne des feuilles de *G. epunctata* sur différentes souches de bactérie. Avec la méthode des disques, l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de *G. epunctata* a démontré une activité antibactérienne élevée (**CLSI, 2018**). La plus grande valeur du diamètre d'inhibition est 18 mm pour l'extrait, et 9 mm pour les composés purs. La détermination des CMI et CMB a révélé un effet bactéricide de l'extrait et bactériostatique des composés purs (**Cos et al., 2006**) contre toutes les souches bactériennes testées. Certes les composés purs testés ont une activité modérée, mais elle est non

négligeable. Etant donné que l'action, individuelle, d'aucun de ces composés n'est identique à celle de l'extrait, nous pensons que, c'est la synergie de leurs actions qui confère à l'extrait, l'activité observée.

IV. DISCUSSION

L'étude phytochimique des feuilles de *G. epunctata* a fourni quinze métabolites secondaires à savoir: deux nouveaux glycosides phénoliques (épunctoside A **(139)** et épunctoside B **(140)**), et treize autres métabolites secondaires déjà isolés d'autres sources végétales et décrites dans la littérature. Il s'agit:

- d'un glycoside phénolique: Lancéoloside A **(144)**;
- d'un acide triterpénique: l'acide betulinique **(138)**;
- d'un triterpène: Lupéol **(10)**;
- de quatre dérivés de stéroïdes: (Stigmastérol **(3)**, β -sitostérol **(136)**, Stigmastérol-3O- β -D-glucopyranoside **(141)** et β -sitostérol-3-O- β -D-glucopyranoside **(137)**);
- de deux flavonoïdes: Quercetine-7-O- β -D-glucopyranoside **(145)** et Lutéoline -7-O- β -D-glucopyranoside **(147)**;
- de quatre biflavonoïdes: Amentoflavone **(142)**, 4'-O-méthylamentoflavone **(146)**; Robustaflavone **(112)** et 4'-O-méthylrobustaflavone **(143)**.

Les épunctosides A **(139)** et B **(140)** ont le même squelette carboné que la lancéoloside A **(147)**. La différence entre ces structures se trouve au niveau de l'oxydation du carbone en position *para* par rapport à la liaison éther-glycosidique sur le noyau A. On note que pour lancéoloside A **(144)**, ce carbone porte un groupement hydroxyle -OH. Tandis que pour l'épunctoside A **(139)** et l'épunctoside B **(140)**, ce carbone porte une fonction aldéhyde (-CHO) et le groupement carboxyle (-COOH) respectivement. Il est possible que les feuilles de *G. epunctata* possèdent une enzyme qui s'occupe d'oxyder la fonction hydroxyle du carbone C-4 de lancéoloside A **(144)** en aldéhyde puis en acide carboxylique et ceci de façon régiosélective, puisque le groupement hydroxyle de la partie benzoyle de la molécule (noyau B) aurait aussi pu être oxydé.

De tous les travaux déjà publiés sur les plantes du genre *Garcinia*, aucune mention n'est faite sur l'isolement des composés de la famille des glycosides phénoliques. Alors que les plantes du genre *Garcinia* sont réputées être très riches en xanthones, flavonoïdes et

benzophénones, cette étude nous a permis d'investiguer une nouvelle source de glycoside phénolique, et ceci enrichit les données sur la chimio-taxonomie des *Garcinia*.

L'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Garcinia epunctata*, a été testé contre cinq souches bactériennes à savoir: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* *Salmonella enteritidis* et *Salmonella typhimurium*. Cet extrait s'est montré très actif contre *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* par rapport à la référence choisie (Gentamycine). Mais les composés GEP.1 (β -sitostérol), GEP.2 (stigmasterol), GEP.5 (Epunctoside A) et GEP.6 (Epunctoside B), testés individuellement sont moins actifs que l'extrait duquel ils ont été isolé. Nous pensons que, c'est la synergie de leurs actions qui confère à l'extrait initial, l'activité observée.

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Le principal objectif de ce travail était de caractériser les métabolites secondaires présents dans les feuilles de *Garcinia epunctata* (Stapf) et d'évaluer leurs activités antibactériennes. Pour y arriver, nous avons élaboré un protocole d'extraction des feuilles de *G. epunctata*, purifié les extraits obtenus à l'aide des différentes techniques chromatographiques et enfin déterminé les structures chimiques des composés isolés en se servant des méthodes spectroscopiques. Grâce à ce travail, nous avons pu mettre en évidence une nouvelle classe de métabolites secondaires dans le genre *Garcinia*, les glycosides phénoliques.

Quatre des métabolites secondaires isolés ont été testés pour évaluer leurs activités antibactériennes. Les résultats montrent que ces composés, pris individuellement ont une activité inférieure à celle de l'extrait. On pense que soit ces métabolites agissent en synergie pour conférer à l'extrait son activité antibactérienne remarquable, soit le composé responsable de cette activité n'a pas été testé ou il n'a pas encore été isolé.

Dans la suite de nos travaux, nous comptons:

- évaluer les activités antibactériennes des produits non encore testés;
- procéder à la purification des fractions restantes, et évaluer les activités antibactériennes des composés isolés, ainsi que leurs toxicités.

CHAPITRE III

MATERIELS ET METHODES

I. Matériel végétal

Les feuilles de *G. epunctata* ont été récoltées à Eséka (Cameroun) en Mars 2012 et identifiées par Mr NANA Victor, botaniste à l'herbier national du Cameroun, où un spécimen de cette plante a été déposé et enregistré sous le numéro N°VN 2860.

II. EXTRACTION, FRACTIONNEMENT ET PURIFICATION

Les feuilles séchées et broyées de *G. epunctata* (1,5 kg) ont été réparties dans dix cartouches (cartouches fabriquées à partir du papier filtre) de 150 g environ chacune. Chaque cartouche a été extraite au méthanol à l'aide d'un extracteur soxhlet (quatre cycle par cartouche). Un évaporateur rotatif a permis de concentrer la solution obtenue pour donner une pâte plus ou moins visqueuse, et de couleur marron foncée (262,5 g), qui constitue l'extrait brute au méthanol. Après épuisement de l'extrait brut au méthanol avec quatre solvants différents de polarités croissantes, on a obtenu 67 g d'extrait au cyclohexane-acétate d'éthyle (97:3), 58 g d'extrait à l'acétate d'éthyle et 44 g d'extrait à l'acétone. Le reste a été récupéré dans le méthanol.

L'extrait à l'acétate d'éthyle a été fractionné par chromatographie sur colonne de séphadex LH20 avec pour éluant le méthanol pur. Ceci a permis d'obtenir trois grandes fractions A, B et C. La purification de la fraction C à travers une chromatographie sur colonne de silice a abouti à l'isolement de **GEP.x** (5 mg). La fraction B a été soumise à une chromatographie sur colonne de silice, élue avec le système CH₂Cl₂-MeOH (15 :1; v/v), pour donner dix fractions secondaires indexées: B.1, B.2, B.3, B.4, B.5, B.6, B.7, B.8, B.9 et B.10.

La purification de B.2 par chromatographie sur colonne de silice, élue avec le mélange de chlorure de méthylène et de méthanol (20:1); suivie d'une chromatographie sur couche mince préparative (avec pour phase stationnaire la silice et le système de solvant chlorure de méthylène-méthanol (10:1), comme phase mobile), développée trois fois, a permis d'obtenir **GEP.1** (8 mg) et **GEP.2** (6 mg).

La fraction B.3 a été soumise à une colonne de séphadex LH20 et élue au méthanol pur, pour donner quatre fractions tertiaires indexées B.3a, B.3b, B.3c et B.3d. Chacune de ces fractions tertiaires a fait l'objet d'une chromatographie sur couche mince préparative, développée dans le système chlorure de méthylène-méthanol (15:1). Ainsi, B.3a et B.3d ont été développées six fois et cinq fois respectivement, pour donner trois composés purs indexés **GEP.3** (6 mg), **GEP.7** (6 mg) et **GEP.11** (7 mg). B.3b et B.3c ont été développées chacune

trois fois dans le même système de solvant, ce qui a abouti à l'isolement de **GEP.4** (5 mg), **GEP.5** (14 mg) et **GEP.6** (12 mg).

B.4 a été purifié dans une colonne de silice, éluée au système CH₂Cl₂-MeOH (10:1) pour donner cinq fractions tertiaires: B.4a, B.4b, B.4c, B.4d et B.4e). B.4e a été purifié à l'aide d'une chromatographie sur colonne de silice et a donné **GEP.10** (7 mg). Après deux chromatographies sur colonne de séphadex LH20 successives, nous avons obtenu quatre sous-fractions (B.4d.1, B.4d.2, B.4d.3 et B.4d.4) de la fraction tertiaire B.4d. Les sous-fractions B.4d.2, B.4d.3 et B.4d.4 ont été développées chacune trois fois dans le système de solvant chlorure de méthylène-méthanol (15:1), sur une plaque chromatographique préparative (CCMP), pour conduire à l'isolement de **GEP.8** (5 mg), **GEP.9** (6 mg) et **GEP.13** (5 mg).

Une chromatographie sur colonne de séphadex LH20, suivie d'une chromatographie sur couche mince préparative (CCMP), a permis d'isoler **GEP.12** (6 mg), à partir de la fraction secondaire B.6. A la suite d'une colonne chromatographique de séphadex LH20, la fraction B.7 a conduit à l'isolement de **GEP.14** (7 mg).

III. Tests antibactérien

➤ Souches bactériennes

Tous les tests ont été effectués sur chacune des souches bactériennes suivantes : *Salmonella enteritidis* (responsable des infections alimentaires), *Pseudomonas aeruginosa* (responsable des infections des voies urinaires et des plaies), *Escherichia coli* (responsable des intoxications alimentaires et des troubles gastro-intestinaux), *Staphylococcus aureus* (responsable des infections cutanées, des infections voies respiratoires et des intoxications alimentaires) et *Salmonella typhimurium* (responsable de la typhoïde).

➤ Matériels

La liste du matériel pour la réalisation des tests est: Boîte de pétri; microplaques; révélateur de croissance (INT); milieu de culture Mueller Hinton; milieu de culture Mueller Hinton Agar; inoculum bactériens et les solutions d'antibactériens.

➤ Préparation de l'inoculum bactérien

La préparation de l'inoculum bactérien a été faite par la méthode de spectrophotométrie. Le bouillon nutritif de bactérie conservé à la température de -4 °C a été activé par culture dans des Boîtes de pétri, puis incubé à 37 °C pendant 24 heures environ. Une fois la culture bactérienne activée, il se forme des colonies de bactéries que l'on peut observer sous forme d'aiguillon plus ou moins jaunâtres.

On prélève ensuite 2 à 3 colonies que l'on introduit dans 10 mL d'eau physiologique (eau + NaCl à 0,9%), puis on homogénéise. L'inoculum ainsi préparé présente une densité optique, lue sur un spectrophotomètre avec une longueur d'onde de 600 nm, comprise entre 0,08 et 0,13. La charge bactérienne de cet inoculum est alors de 10^8 UFC/mL.

➤ **Préparation de la solution mère d'antibactérien**

Cette solution est préparée à la concentration de 1mg/mL pour chaque composé pur testé. Le solvant de dissolution est un mélange d'acétone et d'eau distillé à 5% (100 mL de ce solant contient 5 mL d'eau distillée et 95 mL d'acétone).

III.1. Tests de sensibilité

➤ **But:** Déterminer la sensibilité d'une bactérie, à plusieurs antibiotiques, en utilisant un antibiogramme.

➤ **Principe:** Cette méthode est basée sur la diffusion des substances à tester et de concentration connues, imprégnées sur les disques de papier filtre Whatman en contact avec le milieu de culture solide coulé en Boîte de pétri, préalablementensemencées d'un inoculum bactérien.

➤ **Préparation du milieu de culture**

39 g de poudre de milieu de culture Mueller Hinton Agar est introduite dans un bécher de 2 L, auquel on ajoute 1 L d'eau distillée. Le mélange est chauffé en remuant jusqu'à ce qu'il devienne limpide. On arrête le chauffage au tout début de l'ébullition et on stérilise dans un autoclave à 120 °C pendant 1 heure. La gélose de Mueller Hinton ainsi préparée est coulée dans des boîtes de pétries, préalablement séchées à l'étuve pendant 1 heure, de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm.

➤ **Mode opératoire**

Nous avons ensemencé l'inoculum bactérien à la surface de la gélose Mueller Hinton coulée en boîte de pétri, par étalement. Puis nous avons déposé à l'aide d'une pince des disques de papiers imprégnés des différentes solutions d'antibactériens, suivi d'une incubation à 37 °C pendant 24 heures.

III.2. Micro-dilution

➤ **But:** Déterminer les paramètres d'inhibition CMI et CMB de chacun des composés testés sur les différentes souches bactériennes.

➤ **Principe:** Le principe de la micro-dilution repose sur la mise en évidence qualitative et colorimétrique des métabolites acides issus du métabolisme des bactéries au cours de leur croissance. En effet, les bactéries fermentent le sucre, contenu dans le milieu de culture, durant leur croissance. Celle-ci s'accompagne d'une production de métabolite acide dans le milieu, qui favorisent le virage progressif de l'incolore au rouge du révélateur INT utilisé. En absence de croissance, il n'y a pas changement de coloration.

➤ **Préparation du milieu de culture**

Après avoir dissous 39 g de la poudre du milieu de culture Mueller Hinton dans 1 L d'eau distillée, le mélange a été homogénéisé, puis stérilisé dans un autoclave à 120 °C pendant 1 heure environ. On obtient alors un milieu de culture Mueller Hinton liquide.

➤ **Mode opératoire**

La manipulation est faite sur une microplaque divisée en 96 puits ou cupules, pouvant être schématisées sous forme d'un tableau de 8 lignes (de A à H) et 12 colonnes (de 1 à 12), les quadrillages représentant les puits. On introduit 100 µL de milieu de culture Mueller Hinton liquide dans chacune des cupules des lignes A, B, C et D. Ensuite, on ajoute 100 µL de solution mère d'antibactérien dans les cupules A₁, B₁, C₁ et D₁, puis on réalise des dilutions en cascades selon une progression géométrique de raison $\frac{1}{2}$ pour chacune des autres cupules, en prélevant à chaque fois 100 µL du mélange d'une cupule pour ajouter à la cupule suivante. Les dilutions sont faites pour toutes les cupules jusqu'à la 11^{ème} colonne (les cupules de la 12^{ème} colonne ne contiennent pas de solution antibactérienne). Par la suite, on introduit 100 µL d'inoculum bactérien dans tous les puits des lignes A, B et C, sauf les puits de la ligne D. Les puits de la 12^{ème} colonne serviront de témoins positifs tandis que ceux de la ligne D serviront de témoins négatifs. La microplaque est alors recouverte, puis incubée à 37 °C pendant 24 heures. Après ajout de 20 µL de révélateur INT dans chacun des puits des lignes A, B et D sauf la ligne C (la ligne C servira à la détermination de la CMB), la plaque est incubée pendant 30 minutes environ. La CMI correspond alors à la concentration la plus petite du puit où il n'y a pas eu apparition de la coloration rouge.

La CMB a été déterminée par subculture. Nous avons ajouté 150 μL de milieu de culture Mueller Hinton et 50 μL du contenu des puits de concentration supérieure ou égale à CMI, dans les puits de la ligne C. Après incubation pendant 48 heures à 37 °C et révélation avec INT suivie de 30 minutes d'incubation à 37 °C, la CMB est la plus petite concentration où il n'y a pas eu apparition de la coloration rouge.

IV. Appareillage

IV.1. Spectrométrie de masse

Les spectres de masse haute résolution en mode ionisation chimique (HR-ESI), ont été enregistrés sur un spectromètre de masse Finnigan LTQ FT Ultra (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany), en utilisant l'ammoniac (NH_3) comme gaz ionisant.

IV.2. Spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres RMN- ^1H et RMN- ^{13}C ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker WM500 (Rheinstetten, Germany) en utilisant les solutions des composés dissous dans le $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ et le CDCl_3 . Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm avec le TMS comme référence et les constantes de couplage J en Herzt.

V. Technique chromatographiques

Le séphadex LH20 (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden) et la silice Kieselgel 60 (mesh 0,063 D; 0,200mm; Merck, Darmstadt, Germany) ont servi comme phases stationnaires pour la chromatographie sur colonne.

La chromatographie sur couche mince (CCM) analytique a été faite sur les plaques Merck préfabriquées de gel de silice fluorescent 60 F₂₅₄, sur une feuille d'aluminium et développée dans le mélange de solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, (10:1; v/v). Les chromatogrammes CCM ont été visualisés par pulvérisation avec une solution aqueuse de 3% H_2SO_4 , suivie d'un chauffage dans le four à 60 °C pendant 10 minutes.

Les plaques préparatives CCM sur verre ont été préparées avec la silice fluorescente 60 F₂₅₄, et après l'application du mélange à séparer, elles ont été développées dans le même système de solvant que précédemment puis visualisées avec une lampe UV de longueur d'onde 254 nm. Les bandes obtenues après la migration (développement de la plaque), ont été isolées, récupérées et lavées avec le méthanol pour obtenir les composés purs.

VI. TESTS PHYTOCHIMIQUES

VI.1. Test de Liebermann Buchard

But: Identification des triterpènes et des phytostérols

Réactifs: CHCl_3 , anhydride acétique, H_2SO_4 concentré

Mode opératoire: Dans un tube à essai, on dissout 1mg de produit à analyser dans 1 mL de CHCl_3 . A cette solution, on ajoute quelques gouttes d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré.

Résultats et interprétation: La présence des triterpènes se manifeste par l'apparition de la couleur rouge violacée et vert-bleuâtre pour les stérols (Wagner et al., 1984).

VI.2. Test de Molisch

But: Identification des sucres

Réactifs: Ethanol, α -naphtol 1%, H_2SO_4 concentré

Mode opératoire: Dans un tube à essai, 1 mg de produit est dissout dans de l'éthanol et on y ajoute une solution éthanolique de α -naphtol 1%. Après homogénéisation, on fait couler lentement sur la paroi du tube à essai quelques gouttes d'acide sulfurique concentré.

Résultats et interprétation: La présence des sucres se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge violacé à l'interface (Wagner et al., 1984).

VI.3. Test de Shinoda

But: Identification des flavonoides

Réactifs: Méthanol, l'acide chlorhydrique concentré, copeaux de magnésium (Mg)

Mode opératoire: Dans un tube à essai, 1 mg de produit est dissout dans du méthanol et on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique et quelques copeaux de magnésium.

Résultats et interprétation: La présence des flavonoïdes se manifeste par l'apparition d'une couleur rouge (Harbone, 1976).

VI.4. Test au chlorure ferrique

But: Identification des phénols

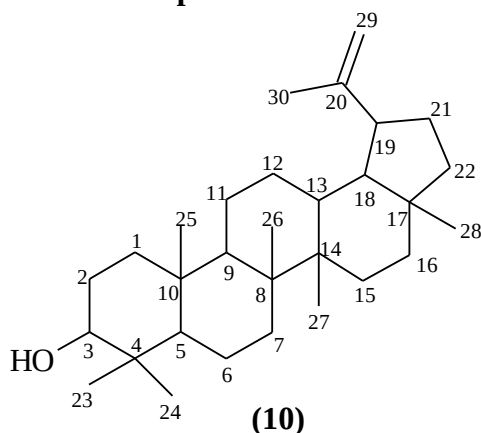
Réactifs: chlorure de fer III (FeCl_3)

Mode opératoire: Dans un tube à essai, 1 mg de produit est dissout dans de l'éthanol et on y ajoute quelques gouttes d'une solution de chlorure de fer III.

Résultats et interprétation: La présence des sucres se manifeste par la formation des complexes de type $[\text{Fe}(\text{OAr})_6]^{3-}$ de couleur bleu violet ou verdâtre (Harbone, 1976).

VII. PROPRIETES PHYSIQUES ET SPECTROSCOPIQUES DES COMPOSES ISOLES

GEP.x: Lupéol



C₃₀H₅₀O

Poudre blanche

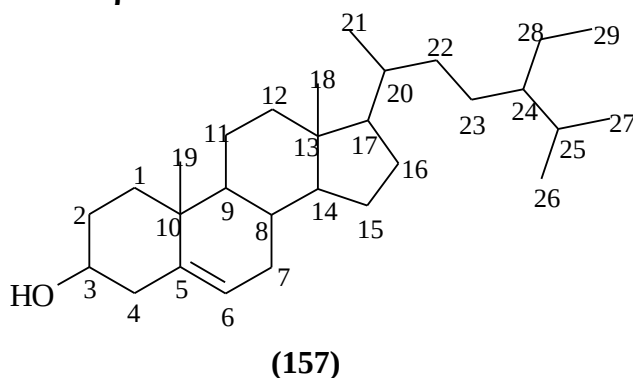
SM-IC: m/z 427,1504 [M+H]⁺ (calculé pour C₃₀H₅₀O; 426,7309)

Test au réactif de Libermann Buchard:
Positif

RMN ¹H (600 MHz; CDCl₃) δ : 3,21 (1H; H-3); 0,90 (3H; s; H-23); 0,77 (3H; s; H-24); 0,84 (3H; s; H-25); 1,04 (3H; s; H-26); 0,96 (3H; s; H-27); 0,79 (3H; s; H-28); 4,72 (1H; s; H-29a); 4,58 (1H; s; H-29b); 1,65 (3H; s; H-30). Voir tableaux XXXII page 61

RMN ¹³C (150 MHz; CDCl₃) δ : 78,9 (C-3); 150,9 (C-20); 27,9 (C-23); 15,3 (C-24); 16,1 (C-25); 15,9 (C-26); 14,6 (C-27); 17,9 (C-28); 109,3 (C-29); 19,2 (C-30). Voir tableaux XXXII page 61

GEP.1: β-sitostérol



C₂₉H₅₀O

Poudre blanche

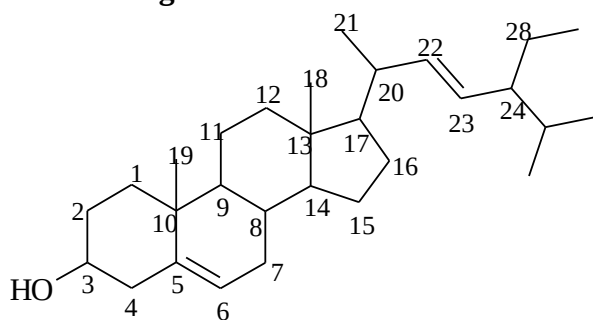
SM-IC: m/z 415,7013 [M+H]⁺ (calculé pour C₂₉H₅₀O; 414,2713)

Test au réactif de Libermann Buchard:
Positif

RMN ¹H (600 MHz; DMSO-d₆) δ : 3,39 (1H; m; H-3); 5,31 (1H; d; J = 4,6 Hz; H-6); 0,68 (3H; s; H-18); 0,95 (3H; s; H-19); 0,98 (3H; d; J = 4,8 Hz; H-21); 0,83 (3H; d; J = 6,4 Hz; H-26); 0,79 (3H; d; J = 6,6 Hz; H-27); 0,79 (3H; t; H-29). Voir tableaux XXXIII page 63

RMN ¹³C (150 MHz; DMSO-d₆) δ : 76,1 (C-3); 140,1 (C-5); 121,7 (C-6); 11,8 (C-18); 18,9 (C-19); 21,1 (C-21); 34,2 (C-22); 26,3 (C-23); 46,1 (C-24); 31,3 (C-25); 19,1 (C-26); 20,9 (C-27); 23,8 (C-28); 12,1 (C-29). Voir tableaux XXXIII page 63

GEP.2 : Stigmastérol

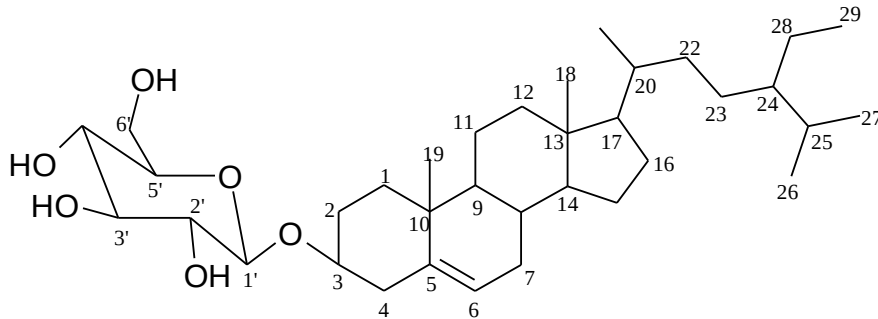


(5)

RMN ^1H (600 MHz; DMSO- d_6) δ : 3,38 (1H; m; H-3); 5,31 (1H; d; $J = 5,0$ Hz; H-6); 0,79 (3H; s; H-18); 0,94 (3H; s; H-19); 0,98 (3H; d; $J = 8,6$ Hz; H-21); 5,15 (1H; dd; $J = 8,5 / 8,5$ Hz; H-22); 5,01 (1H; dd; $J = 8,5 / 8,5$ Hz; H-23); 0,81 (3H; d; $J = 6,4$ Hz; H-26); 0,65 (3H; d; $J = 8,0$ Hz; H-27); 0,77 (3H; t; H-29). Voir tableaux XXXIV page 65

RMN ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6) δ : 76,2 (C-3); 140,4 (C-5); 121,1 (C-6); 11,8 (C-18); 18,9 (C-19); 50,5 (C-20); 21,1 (C-21); 138,0 (C-22); 128,8 (C-23); 31,3 (C-24); 31,3 (C-25); 19,1 (C-26); 20,9 (C-27); 23,8 (C-28); 12,1 (C-29). Voir tableaux XXXIV page 65

GEP.3: β -sitostérol-3-O- β -D-glucopyranoside



(157)

RMN ^1H (600 MHz; DMSO- d_6) δ : 3,39 (1H; m; H-3); 5,32 (1H; d; $J = 4,9$ Hz; H-6); 0,66 (3H; s; H-18); 0,95 (3H; s; H-19); 0,98 (3H; d; $J = 4,6$ Hz; H-21); 0,81 (3H; d; $J = 6,4$ Hz; H-26); 0,77 (3H; d; $J = 6,8$ Hz; H-27); 0,76 (3H; d; H-29); 4,20 (1H; d; $J = 7,8$ Hz; H-1'); 2,87 (1H; m; H-2'); 3,10 (1H; m; H-3'); 2,99 (1H; m; H-4'); 3,05 (1H; m; H-5'); 3,63 et 3,45 (2H; m; H-6'). Voir tableaux XXXV page 67

RMN ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6) δ : 76,8 (C-3); 140,4 (C-5); 121,1 (C-6); 11,8 (C-18); 18,9 (C-19); 21,1 (C-21); 31,3 (C-25); 19,1 (C-26); 20,9 (C-27); 23,8 (C-28); 12,1 (C-29); 100,6 (C-1'); 70,0 (C-2'); 76,8 (C-3'); 73,4 (C-4'); 76,7 (C-5'); 61,0 (C-6'). Voir tableaux XXXV page 67

C₂₉H₄₈O

Poudre blanche

SM-IC: m/z 413,591 [M+H]⁺
(calculé pour C₂₉H₄₈O; 412,68562)

Test de Libermann Buchard: Positif

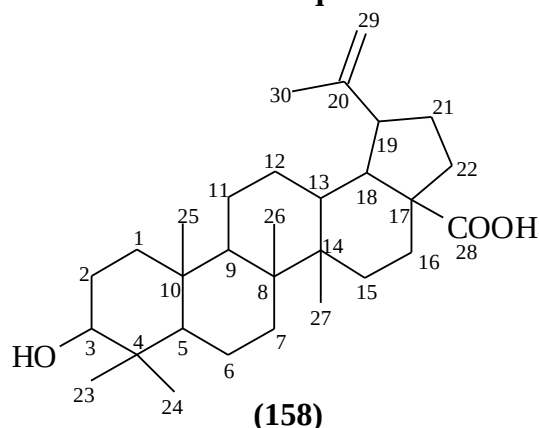
C₃₅H₆₀O₆

Poudre blanche

SM-IC: m/z 599,401
[M+Na]⁺ (calculé pour C₃₅H₆₀O₆; 576,212)

Test au réactif de Molish et de Libermann- Buchard:
Positif

GEP.4: Acide betulinique



C₃₀H₄₈O₃

Poudre blanche

SM-IC: m/z 457,3591 [M+H]⁺ (calculé pour C₃₀H₄₈O₃; 456,71382)

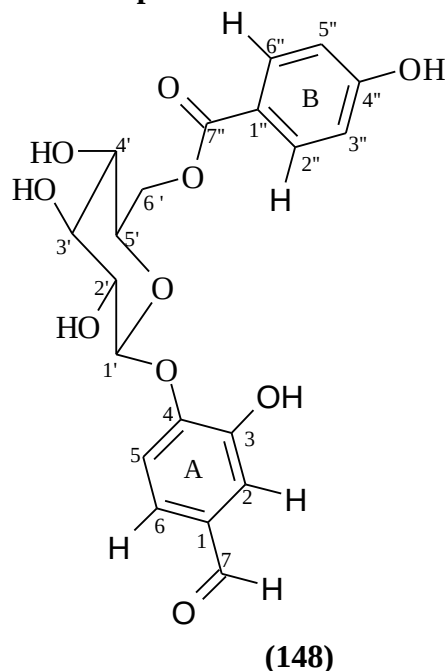
Test au réactif de Libermann Buchard:

Positif

RMN ¹H (600 MHz; CDCl₃) δ : 3,20 (1H; H-3); 3,05 (1H; H-19); 1,01 (3H; s; H-23); 0,78 (3H; s; H-24); 0,92 (3H; s; H-25); 1,04 (3H; s; H-26); 1,16 (3H; s; H-27); 4,73 (1H; s; H-29a); 4,60 (1H; s; H-29b); 1,75 (3H; s; H-30); 10,28 (1H; s; OH-28). Voir tableaux XXXVI page 69

RMN ¹³C (150 MHz; CDCl₃) δ : 78,4 (C-3); 149,7 (C-20); 28,9 (C-23); 16,0 (C-24); 15,9 (C-25); 15,8 (C-26); 15,0 (C-27); 178,9 (C-28); 110,0 (C-29); 19,3 (C-30). Voir tableaux XXXVI page 69

GEP.5: Epunctoside A



C₂₀H₂₀O₁₀

Solide amorphe blanc

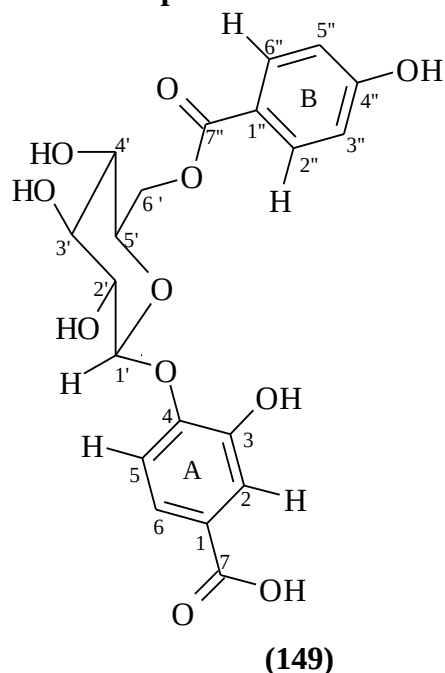
SM-IC: m/z 421,1130 [M+H]⁺ (calculé pour C₂₀H₂₀O₁₀; 420,3608)

Test au réactif de Molish et au chlorure ferrique: Positif

RMN ¹H (500 MHz; acétone-*d*₆) δ : 7,33 (1H; d; *J* = 1,9 Hz; H-2); 6,79 (1H; d; *J* = 8,6 Hz; H-5); 7,24 (1H; dd; *J* = 1,9 / 8,6 Hz; H-6); 9,24 (1H; s; H-7); 4,86 (1H; d; *J* = 7,8 Hz; H-1'); 3,54 (1H; dd; *J* = 7,8 / 7,4 Hz; H-2'); 3,56 (1H; dd; *J* = 7,4 / 7,7 Hz; H-3'); 3,51 (1H; dd; *J* = 7,7 / 7,7 Hz; H-4'); 3,77 (1H; ddd; *J* = 7,7 / 6,7 / 2,4 Hz; H-5'); 4,72 (1H; dd; *J* = 11,9 / 2,4 Hz; H-6a'); 4,30 (1H; dd; *J* = 11,9 / 6,7 Hz; H-6b'); 7,92 (2H; d; *J* = 8,7 Hz; H-2''/6''); 6,93 (2H; d; *J* = 8,7 Hz; H-3''/5'') Voir tableaux XXXVIII page 77

RMN ^{13}C (125 MHz; acétone- d_6) δ : 124,6 (C-1); 119,2 (C-2); 147,4 (C-3); 150,8 (C-4); 116,6 (C-5); 123,8 (C-6); 190,3 (C-7); 103,2 (C-1'); 73,4 (C-2'); 76,6 (C-3'); 70,4 (C-4'); 74,6 (C-5'); 63,8 (C-6'); 116,9 (C-1''); 131,9 (C-2''/6''); 116,4 (C-3''/5''); 161,6 (C-4''); 169,9 (C-7''). Voir tableaux XXXVIII page 77

GEP.6 : Epunctoside B



$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$

Solide amorphe blanc

SM-IC: m/z 437,1081 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculé pour $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$; 436,3598)

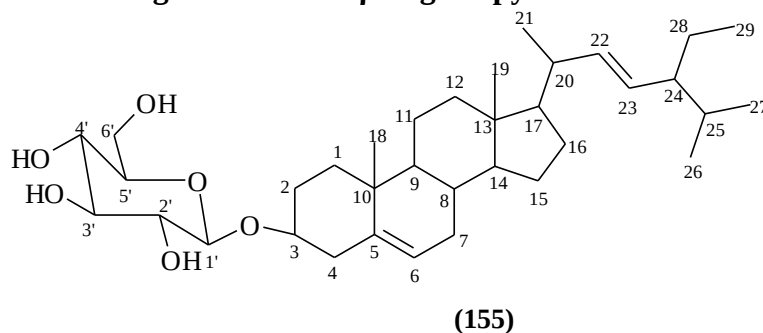
Test au réactif de Molish et au chlorure ferrique: Positif

RMN ^1H (500 MHz; acétone- d_6)

δ : 7,36 (1H; d; $J = 1,8$ Hz; H-2); 6,80 (1H; d; $J = 8,8$ Hz; H-5); 7,31 (1H; dd; $J = 8,8 / 1,8$ Hz; H-6); 10,34 (1H; s; H-7); 4,84 (1H; d; $J = 7,8$ Hz; H-1'); 3,52 (1H; dd; $J = 7,8 / 7,6$ Hz; H-2'); 3,57 (1H; dd; $J = 7,6 / 7,4$ Hz; H-3'); 3,53 (1H; dd; $J = 7,4 / 7,4$ Hz; H-4'); 3,78 (1H; ddd; $J = 7,7 / 6,4 / 2,2$ Hz; H-5'); 4,71 (1H; dd; $J = 11,8 / 2,2$ Hz; H-6a'); 4,30 (1H; dd; $J = 11,8 / 6,4$ Hz; H-6b'); 7,92 (2H; d; $J = 8,8$ Hz; H-2''/6''); 6,93 (2H; d; $J = 8,8$ Hz; H-3''/5''). Voir tableaux XL page 85

RMN ^{13}C (125 MHz; acétone- d_6) δ : 124,3 (C-1); 116,9 (C-2); 147,2 (C-3); 152,3 (C-4); 115,5 (C-5); 122,4 (C-6); 169,5 (C-7); 103,4 (C-1'); 72,9 (C-2'); 76,4 (C-3'); 70,4 (C-4'); 74,7 (C-5'); 63,4 (C-6'); 122,6 (C-1''); 132,5 (C-2''/6''); 116,2 (C-3''/5''); 161,8 (C-4''); 168,8 (C-7''). Voir tableaux XL page 85

GEP.7: Stigmastérol-3-O- β -D-glucopyranoside



$\text{C}_{35}\text{H}_{58}\text{O}_6$

Poudre blanche

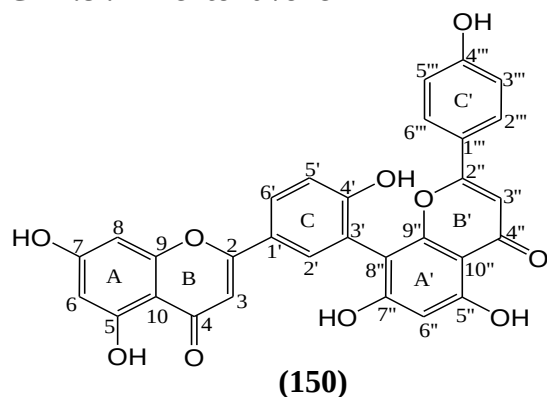
SM-IC: m/z 575,8302 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculé pour $\text{C}_{35}\text{H}_{58}\text{O}_6$; 574,8232)

Test au réactif De Molish de Libermann Buchard: Positif

RMN ^1H (600 MHz; DMSO- d_6) δ : 3,39 (1H; m; H-3); 5,31 (1H; d; $J = 4,9$ Hz; H-6); 0,66 (3H; s; H-18); 0,95 (3H; s; H-19); 0,98 (3H; d; $J = 4,6$ Hz; H-21); 5,15 (1H; dd; $J = 8,8 / 8,8$ Hz; H-22); 5,01 (1H; dd; $J = 8,8 / 8,8$ Hz; H-23); 0,81 (3H; d; $J = 6,4$ Hz; H-26); 0,77 (3H; d; $J = 6,8$ Hz; H-27); 0,76 (3H; d; H-29); 4,20 (1H; d; $J = 7,8$ Hz; H-1'); 2,87 (1H; m; H-2'); 3,10 (1H; m; H-3'); 2,99 (1H; m; H-4'); 3,05 (1H; m; H-5'); 3,63 et 3,45 (2H; m; H-6'); 4,86 (1H; OH-2'); 4,88 (1H; OH-3'); 4,85 (1H; OH-4'); 4,41 (1H; OH-5'). Voir tableaux XLI page 88

RMN ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6) δ : 76,8 (C-3); 140,4 (C-5); 121,1 (C-6); 11,8 (C-18); 18,9 (C-19); 21,1 (C-21); 138,0 (C-22); 128,8 (C-23); 19,1 (C-26); 20,9 (C-27); 12,1 (C-29); 100,8 (C-1'); 70,0 (C-2'); 76,8 (C-3'); 73,4 (C-4'); 76,7 (C-5'); 61,0 (C-6'). Voir tableaux XLI page 88

GEP.8 : Amentoflavone



$\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$

Poudre amorphe jaune

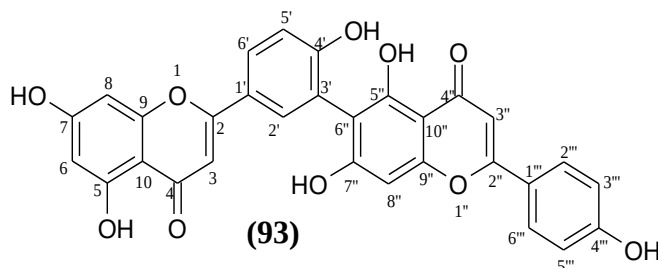
SM-IC: m/z 539,09 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculé pour $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$; 538,05212)

Test au chlorure ferrique et de Shinoda:
Positif

RMN ^1H (600 MHz; DMSO- d_6) δ : 6,89 (1H; s; H-3); 8,07 (1H; d; $J = 2,1$ Hz; H-2'); 7,10 (1H; d; $J = 8,6$ Hz; H-5'); 8,01 (1H; dd; $J = 8,6 / 2,1$ Hz; H-6'); 6,73 (1H; s; H-3''); 6,32 (1H; s; H-6''). Voir tableaux XLII page 95

RMN ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6) δ : 102,8 (C-3); 181,9 (C-4); 160,9 (C-5); 121,4 (C-1'); 131,4 (C-2'); 121,1 (C-3'); 163,4 (C-2''); 102,5 (C-3''); 181,8 (C-4''); 160,5 (C-5''); 98,0 (C-6''); 104,6 (C-8''). Voir tableaux XLII page 95

GEP.9: Robustaflavone



$\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$

Poudre amorphe jaune

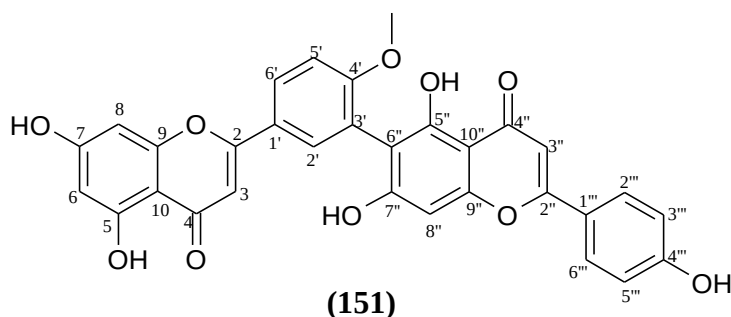
SM-IC: m/z 539,0931 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculé pour $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$; 538,05212)

Test au chlorure ferrique et de Shinoda: Positif

RMN ^1H (600 MHz; DMSO- d_6) δ : 6,67 (1H; s; H-3); 8,27 (1H; d; $J = 2,1$ Hz; H-2' 6,63 (1H; s; H-3''); 5,89 (1H; s; H-8''); 7,68 (2H; d; $J = 9,0$ Hz; H-2'''/6'''); 6,51 (2H; d; $J = 9,0$ Hz; H-3'''/5'''). Voir tableaux XLIII page 102

RMN ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6) δ : 102,1 (C-3); 181,2 (C-4); 131,1 (C-2'); 124,1 (C-3'); 102,2 (C-3''); 107,5 (C-6''); 94,1 (C-8''); 121,6 (C-1'''); 160,6 (C-4'''). Voir tableaux XLII page 95

GEP.10: 4'-O-méthylrobustaflavone



C₃₁H₁₈O₁₀

Poudre amorphe jaune

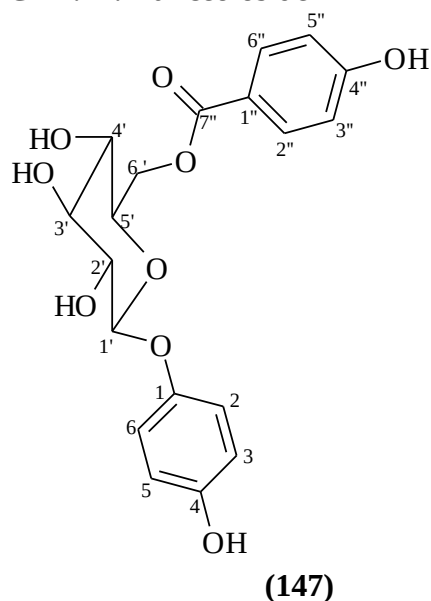
SM-IC: m/z 553,1122 [M+H]⁺
(calculé pour C₃₁H₁₈O₁₀; 552,1042)

Test de Shinoda: Positif

RMN ^1H (600 MHz; DMSO- d_6) δ : 6,89 (1H; s; H-3); 8,07 (1H; d; $J = 2,4$ Hz; H-2'); 6,32 (1H; s; H-8''). Voir tableaux XLIV page 108

RMN ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6) δ : 102,5 (C-3); 181,2 (C-4); 161,0 (C-5); 131,4 (C-2'); 121,4 (C-3'); 108,8 (C-8''); 161,0 (C-4'''); 56,0 (CH₃-O). Voir tableaux XLIV page 108

GEP.11: Lancéoloside A



C₁₉H₂₀O₉

Solide amorphe jaune pale

SM-IC: m/z 393,1181 [M+H]⁺ (calculé pour C₁₉H₂₀O₉; 392,1103)

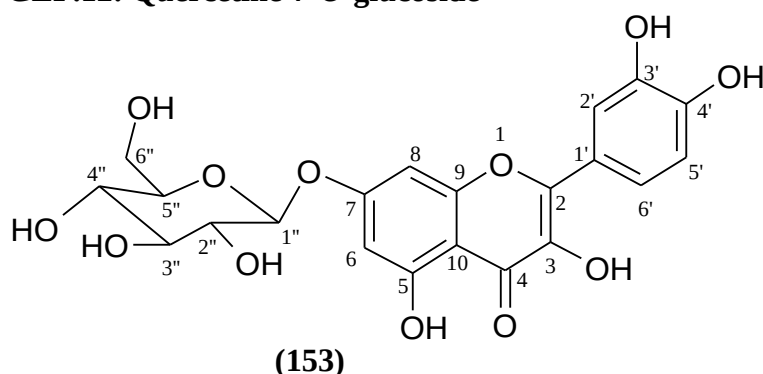
Test au réactif de Molish et au chlorure ferrique: Positif

RMN ^1H (500 MHz; acétone- d_6) δ : 6,65 (2H; d; $J = 8,7$ Hz; H-2/6); 6,93 (2H; d; $J = 8,7$ Hz; H-3/5); 4,85 (1H; d; $J = 7,8$ Hz; H-1'); 4,72 (1H; dd; $J = 11,9 / 2,4$ Hz; H-6a'); 4,30 (1H; dd; $J = 11,9 / 6,7$ Hz; H-6b'); 7,95 (2H; d; $J = 8,7$ Hz; H-2''/6''). Voir tableaux XLV page 112

RMN ^{13}C (125 MHz; acétone- d_6) δ : 164,2 (C-1); 102,9 (C-2/6); 181,9 (C-3/5); 103,2 (C-1'); 73,4 (C-2''); 131,9 (C-2''/6''); 116,4 (C-3''/5''); 170,0 (C-7''). Voir tableaux XLV page 112

RMN ^{13}C (125 MHz; acétone- d_6)

GEP.12: Quercétine-7-O-glucoside



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

Poudre jaune

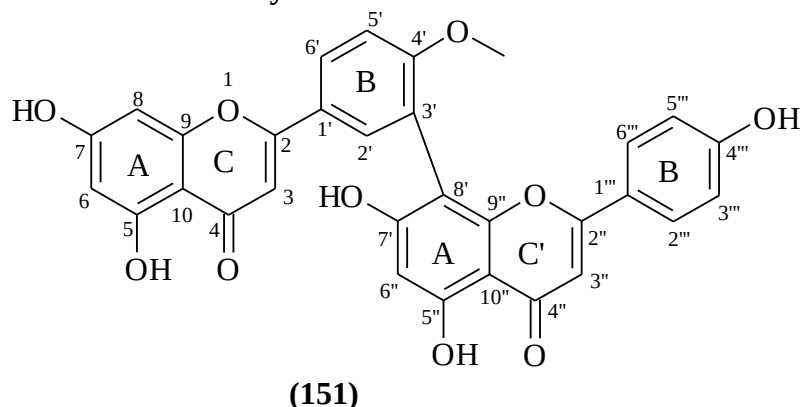
SM-IC: m/z 465,0844 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculé pour $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$; 464,07656)

Test de Shinoda: Positif

RMN ^1H (400 MHz; DMSO- d_6) δ : 6,36 (1H; d; $J = 1,8$ Hz; H-6); 6,69 (1H; d; $J = 1,8$ Hz; H-8); 7,70 (1H; d; $J = 1,8$ Hz; H-2'); 6,85 (1H; d; $J = 8,2$ Hz; H-5'); 7,57 (1H; dd; $J = 8,2 / 1,8$ Hz; H-6'); 5,08 (1H; d; $J = 7,6$ Hz; H-1''); 12,97 (1H; s; OH-5). Voir tableaux XLVI page 115

RMN ^{13}C (100 MHz; DMSO- d_6) δ : 136,3 (C-3); 176,6 (C-4); 161,0 (C-5); 163,7 (C-7); 155,5 (C-2'); 145,5 (C-3'); 148,5 (C-4'); 120,5 (C-6'); 13,2 (C-1''). Voir tableaux XLVI page 115

GEP.13: 4'-O-méthylamentoflavone



$\text{C}_{31}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$

Poudre amorphe jaune

SM-IC: m/z 553,1016 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculé pour $\text{C}_{31}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$; 552,0930)

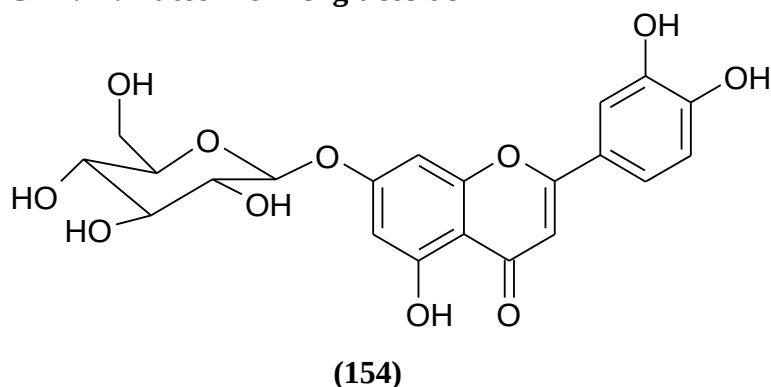
Test au chlorure ferrique et de Shinoda: Positif

UV λ_{max} : 365 nm

RMN ^1H (400 MHz; DMSO- d_6) δ : 6,89 (1H; s; H-3); 8,07 (1H; s; H-2'); 6,77 (1H; s; H-3''); 6,32 (1H; s; H-6''). Voir tableaux XLVII page 120

RMN ^{13}C (100 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) δ : 102,9 (C-3); 181,8 (C-4); 161,0 (C-5); 131,4 (C-2'); 120,4 (C-3'); 102,5 (C-3''); 98,8 (C-6''); 104,6 (C-8''); 115,6 (C-3'''/5'''); 160,5 (C-4'''); 56,0 (O- CH_3). Voir tableaux XLVII page 120

GEP.14: Lutéoline-7-O-glucoside



$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$

Poudre jaune

SM-IC: m/z 449,3936 $[\text{M}+\text{H}]^+$
(calculé pour $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$; 448,3856)

Test de Shinoda: Positif

RMN ^1H (500 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6,75 (1H; s; H-3); 7,41 (1H; d; $J = 1,9$ Hz; H-2'); 6,89 (1H; d; $J = 7,5$ Hz; H-5'); 7,45 (1H; dd; $J = 1,9 / 7,5$ Hz; H-6''); 5,07 (1H; d; H-1''); 12,98 (1H; s; OH-5). Voir tableaux XLVIII page 123

RMN ^{13}C (125 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) δ : 103,2 (C-3); 182,100,0 (C-6); 164,6 (C-7); 121,4 (C-1'); 131,6 (C-2'); 145,9 (C-3'); 150,1 (C-4'); 116,1 (C-5'); 119,3 (C-6'); 99,6 (C-1''). Voir tableaux XLVIII page 123

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abd E. M. A., Schmidt W., Beerhues L. (2001). Cinnamic acid is a precursor of benzoic acids in cell cultures of *Hypericum androsaemum* L. but not in cell culture of *Centaurium erythres*. RAFN. **Planta Medica**. **212**: 288-293

Abderamane b., Tih A. E., Ghogomu R. T., Blond A. B. B. (2016). New flavonoid C-O-C dimmers and other chemical constituents from *Garcinia brevipedicellata* stem heartwood. **Zeitschrift für Naturforschung**. **71**: 233-241

Adjanohoun J. E., Aboubakar N., Dramane K., Ebot M. E., Ekpere J. A., Enow-Orock E. G., Focho D., Gbile Z. O., Kamanyi A., Kamsu Kom J., Keita A., Mbenkum T., Mbi C. N., Mbiele A. L., Mbome I. L., Mubiru N. K., Nancy W. L., Nkongmeneck B., Satabie B., Sofowa A., Tamze V., Wirmum C. K. (1996). Contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon. **CSTR/OUA.CNPMS Porto-Novo**.

Ahmad R., Alfian N., Nunuk H. S., Tjodi H et Ian V. A.(2012). AStigmasterol glycoside from the root wood of *Melochia umbrellata* (Hoult) staff. **Indonesia Journal of Chemistry**. **12**: 100-103

Ajayi T. O., Moody J. O., Fukushi Y., Adeyemi T. A., Fakeye T. O. (2014). Antimicrobial activity of *Garcinia kola* (Heckel) seed extract and isolated constituents against caries-causing microorganisms. **African Journal of Biomedical Research**. **17**: 165-171

Akongwi M., Tih A. E., Nyongbela K.D., Samje M., Ghogomu R. T., Bodo B. B. A. (2018). Brevipedicilones D and E, two C-O-C flavonoid dimmers from the leaves of *Garcinia brevipedicellata* and anti-onchocercal activity. **Natural Products and Bioprospecting**. **9**: 61-68

Ali S., Goundar R., Sotheeswaran S., Reaulieu C., Spino C. (2000). Benzophenones of *Garcinia pseudoguttifera* (clusiaceae). **Phytochemistry**. **53**: 281-284

Auranwiwat C., Trisuwan K., Saiai A., Pyne S. G., Ritthiwigrom T. (2004). Antibacterial tetraoxygenated xanthenes from the immature fruits of *Garcinia cowa*. **Fitoterapia**. **98**: 179-183

- Awaad A. S., El-Meligy R. M., Soliman G. A. (2013). Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. *Journal of Saudi Chemical Society*. **17**: 101-124
- Bamps P. (1970). « Flore du Congo, du Rwanda et du Burundi: Spermatophytes, Guttiferaceae ». *Jardin Botanique National de Bruxelles, Belgique*. 1-61
- Barah F., Gonçalves V. (2010). Antibiotic use and knowledge in the community in Kalamoon, Syrian Arab Republic: a cross sectional study. *East Mediterranean Health Journal*. **16**: 16-21
- Beerhues L., Barillas W., Peters S., Schmidt W. (1999). Biosynthesis of plant xanthones. Bioorganic chemistry. Highlights and New aspect, Diederichsen U, Lindhorst TK, Westermann B, Wessjohann L eds. (Weinheim, Germany: Wiley-VCH): 322-328
- Beerhues L., Liu B. (2009). Biosynthesis of phenyl benzophenones: evolution of benzoic and specific type III polyketide synthesis in plants. *Phytochemistry*. **70**: 1719-1727
- Bennett G. J et Lee H. (1989). Xanthones from *Guttiferae*. *Phytochemistry*. **28**: 967-998
- Berna E., Hong P. H., Soleh K., Muhammad H. et Xiao J. H. (2011). Triterpenoids from *Garcinia rigida*. *Records of Natural Products*. **5**: 56-59.
- Betti J. L. (2004). Ethnobotanical study of médicinal plants among the Baka Pygmies in the Dja biosphere reserve, Cameroon. *African Study Monograph*. **25**: 1-27
- Biloa B. M., Ndjoko I. k., Hertlrin B. A., Meli A. L., Nkengfack A. E., Wolfender J. L., Kurt H. et Gerhard B. (2012). Preussianone, a new flavanone-chromone biflavonoid from *Garcinia preussii* Engl. *Molecules*. **17**: 6114-6125.
- Biloa B. M., Raimana H., Meli A. L., Cressend D., Karl P., Nkengfack A. E., Carrupt P. A., Kurt H. et Cuendet M. (2014). Isolation and biological activity of compounds from *Garcinia preussii*. *Pharmaceutical Biology*. **52**: 706-711
- Breurec S., Vanel N., Bata P., Chartier L., Farra A., Favennec L., Franck T., Giles-V. T., Chrysostome J.G., Liem B., Luong N., Onambélé M., Rafai C., Razakandrainibe R., Tondeur L., Tricou V., Sansonetti P. et Muriel V. (2016). Etiology of Diarrhea in Hospitalized Children from low income country: A Matched case-control study in Central African Republic. *P.L.O.S Neglected Tropical Diseases*.

Bruneton J. (1993) Pharmacognosie, Phytochimie, Plante Médicale. 2^{ème} édition. Technique et documentation. Lavoisier: 229

Cardona M. L., Fernandez M. I., Pedro J. R., Seoane E et Vidal R. (1986). Additional new xanthonones and xanthonolignoids from *Hypéricum canadiensis*. ***Journal of Natural Products***. **49**: 95-100

Carlos A. C., Lidilhone H., Gunatilaka L. A. A., Cavaleiro A., Castro I. G., Dulce H. S. S., Maysa F., Maria C. M. Y., Marcia N. L., Vanderlan S. B. (2007). Bioactive flavone dimers from *Ouratea multiflora* (ochraceae). ***Braslian Journal of Pharmacognosy***. **17**: 319-324

Check M. et Quentin L. (2016). Calophyllum (Clusiaceae - Guttiferae) in Africa. ***Kew Bulletin***. **71**: 20-27

Cheenpracha S., Phakhodee W., Ritthiwigrom T., Prawat U et Laphookhieo S. (2011). A new depsidone from the twigs of *Garcinia cowa*. ***Heterocycles***. **83**: 1139-1144

Chiang Y. M., Kuo Y. H, Oota X., Fukayama. (2003). Xanthonones and benzophénones from the stem of *Garcinia. multiflora*. ***Journal of Natural Products***. **66**: 1070-1073.

Chien-Chang W., Yi-Huang L., Bai-Luh W., Shyh-Chyun Y., Shen-Jen W., Chun-Nan L. (2008). Phloroglucinols with prooxidant activity from *Garcinia subelliptica*. ***Journal of Natural Products***. **71**: 246-250

Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). (2018). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Wayne. 28th edition

Codjia S., Aoudji A., Koura K., Cossi G.J. (2018). Systèmes agroforestiers à *Garcinia kola* Heckel au Sud-Est du Bénin: Distribution géographique, connaissances endogènes et retombées financières. ***European Scientific Journal***. **14**: 188-208

Connolly J. D., Hill R. A. (2002). Triterpenoids. ***Natural Products Report***. **19**: 494-513

Cos P., Vlietinck A.J., Berghe D.V., Maes L. (2006). Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger *in vitro* “proof-of-concept”. ***Journal of Ethnopharmacology***. **106**: 290-302

- Cuicui J., Tong H., Jun xu., Sheng G.L., Ya-Ting S., Dattong L.Z., Lin L. et Hui M.H. (2017). A new biflavonoid and a new triterpene from the leaves of *Garcinia paucinervis* and their biological activities. ***Journal of Natural Medecine*. 71:** 642-649
- Deachatai S., Mahabusarakam., Phongpaichit S., Taylor W.C. (2006). Phenolic coumpounds from the flowers of *Garcinia dulcis*. ***Phytochemistry*. 66:** 464-469
- Depovere P. (2008). La fabuleuse histoire des bâtisseurs de la chimie moderne. De Boeck. 56-67
- Desgrouas C., Taudon N., Sok-Siya B., Baghdikian B., Bory S., Parzy D. et Evelyne O. (2014). Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Stephania rotunda* Lour. ***Journal of Ethnopharmacology*. 154:** 537-563
- Dharma P., Faridah A., Maulidiani., Khorizah S., Johnson S., Abdul M. A et Nordin Hj .L . (2005). Atrovirisdione B, a new prenylated depsidone with cytotoxic property from the roots of *Garcinia atroviridis*. ***Zeitschrift für Naturforschung*. 60:** 523-526
- Doyle F. P., Naylor J. H., Stove E.R. (1961). Some novel acid-stable penicillins. ***Nature*. 191:** 1091-1092
- Draelos Z. D. (2007). Skin lightening preparations and the hydroquinone controversy. ***Dermatologis Therapy*. 20:** 308-313.
- Dwi M. W. E., Yusnelti et Afrida. (2014). Isolation of antibacterial compounds from *Garcinia cymosa*. ***Journal of Natural Sciences Research*. 4:** 23-25
- Edison O., Julián L et Jaume B. (2013). Low-density Lipoprotein (LDL)-Antioxidant biflavonoids from *Garcinia madruno*. ***Molecules*. 18:** 6092-6100
- Elo M. S. S., Tih A. E., Ghogomu R. T., Blond A., Bodo B. (2009). Biflavonoids constituents of *Campylopermum manni*. ***Biochemical Systematics and Ecology*. 37:** 402-404
- Elo M. S. S., Tih A. E., Ghogomu R. T., Blond A., Bodo B. (2016). Chemical constituents of the leaves of *Campylopermum elongatum*. ***Zeitschrift für Naturforschung*. 72:** 71-75
- Fang-Fang Z., Yu Chen et Guang-Zhong Y. (2008). Chemical constituents from the bark of *Garcinia xanthochymus* and their 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DDPH) Radical Scavenging Activities. ***Helvetica chimica acta*. 91:** 1695-1703.

Farkas O., Jakus J., Héberger K. (2004). Antioxydant activity relationship of flavonoids compounds. **Molecules**. **9**: 1079-1088.

Fauchère J. L. et Avril J. L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Edition Ellipses. Paris 1, p368.

Fontanay S., Mougenot M. E. et Duval R. E. (2015). Evaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. **Hegel**. **5**: 109-118

Forkman G. (1992). Structure and biosynthesis of flavonoids. Proceedings, international conference of groups polyphenols. **16**: 19-27

Fotso G. W., Aku N. N., Ngachussi E., Mthandazo D., Renameditswe M., Kapche G. D.W. F., Kerstin A. M., Ngadjui B. T., and Abegaze M. B. (2014). Epunctanone, a New Benzophenone, and Further Secondary Metabolites from *Garcinia epunctata* Stapf (Guttiferae). **Helvetica Chimica Acta**. **97**: 957-964

Fouotsa H., Tsamo A. M., Mbazoa C., Nkengfack A. E., Shaheen F., Choudhary M., Jacobus J., Marion M., Namrita L. et Kuete V. (2013). Antibacterial constituents of three Camerounian medicinal plants: *Garcinia nobilis*, *Oricia suaveolens* and *Balsamocitrus camerunensis*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. **13**: 81-90

Geiger H. et Quinn C. (1982). Biflavonoids in the flavonoids. Harborne J. B, Mabry T. J, edition Chapman et Hall: London, UK. 505-534

Geiger H. et Seeger T. (2000). Triflavone and a biflavone from the moss *Rhizogium distichum*. **Zeitschrift für Naturforschung**. **55**: 870-873

Geiger H., Markham K. R. (1992). Campylopuraurone, an auronoflavanone biflavonoid from the mosses *Campylopus clavatus* and *Campylopus holomotrium*. **Phytochemistry**. **31**: 4325-4328

Guedje N. M.(2002). La gestion des populations d'arbres comme outil pour une exploitation durable des produits forestiers non ligneux : l'exemple de *G. lucida* (Sud Cameroun) . Tropenbos-Cameroun programme, Kribi, Cameroun. 1-29

Guedje N. M., Fankap R., et Nkongmeneck B. A. (2000). Le Genre *Garcinia* (Guttiferae) au Cameroun, diversité et utilisations traditionnelles. XVI^{ième} congrès de l'AETFAT, Résumé **Scripta Botanica**. **20**: 37-38

Gustafsson K. R., Munro M. H. G., Bittrich V. et Stevens P. F. (2002). Phylogeny of Clusiaceae based on rbsL sequences. ***International Journal of Plant and Science***. **163**: 1045-1054

Harbone J. B. (1976). Phytochemical methods a guide to modern technique of plant analysis. 1-150.

Harborne J. B. (1988). In plant pigments, editor T.W. Goodwin, Academic press. London, 299-343

Haworth R. D. (1936). Natural resins. ***Annual Report Program Chemistry***. **33**: 266-279

Heitz H. (1940). La forêt du Gabon. 1^{ère} édition, tome III.

Hostettmann K., Wagner H. (1977). Xanthone glycosides. ***Phytochemistry***. **16**: 821-829.

Hostettmann K., Marston A. (2002). Twenty years of research into medicinal plants: results and perspectives. ***Phytochemistry Review***. **1**: 275-285.

Htay Htay S., Khaing W., Tin Tin M., Aye Aye M., Thida W. (2019). Isolation and structural characterization of Lupeol from the stem bark of *Diospyros ehretioides* Wall. ***International European Extended Enablement in Science, Engineering and Management publication***. **7**: 140-144

Huang Y. L., Chen C. C., Huang R. L., Shieh B. L. (2001). Three xanthenes and a benzophenone from *Garcinia mangostana*. ***Journal of Natural Products***. **64**: 903-906

Idowu A. O., Bhattacharyya S., Oyibo W., George Z., Black C., Igietseme J., Azenabor A.A. (2018). Plasmodium falciparum treated with artemisinin-based combined therapy exhibits enhanced mutation, heightened cortisol and TNF- α induction. ***International Journal of Medical Sciences***. **15**: 1449-1457

Ikan R. (2007). Selected topics in the chemistry of natural products. Chapter 1: The origin and the nature of natural products. ***World Scientific Publishing***. 1-9

Ito C., Itoigawa Ma., Michina Y., Tomiyasu H., Litaudon M., Cosson J. P., Mukainaka T., Tokuda H., Nishino H., Furukawa H. (2001). Cancer chemopreventive agents, new depsidones from *Garcinia neglecta* and *Garcinia puat*. ***Journal of Natural Products***. **64**: 147-150

Iwu M. M et Igboko O. A. (1990). Biflavonoids constituents of *Garcini kola* roots. ***Fitoterapia***. **61**: 178-181

Jabita M. L., Rozida K., Faridah A., Khozirah S., Lim S. H., Johnson S., et Nordin H. L. (2007). Cytotoxic Xanthones from *Garcinia penangiana* Pierre. **Zeitschrift für Naturforschung**. **62**: 786-792.

Jackson B., Locksley H. D., et Scheinmann F. (1970). The biflavonoids of *Garcinia volkensii* (Guttiferae). **Phytochemistry**. **9**: 221-226

Jackson B., Locksley H. D., Scheinmann F., Wolstenholme W .A. (1971). **Journal of the Chemical Society**. 3731-3739.

Jong V. Y. M., Ee G. C. L., Sukaria M. A., Taufiq-Y.Y. H., Khong H. Y et Chan M. K. Y. (2012). Benzophenone constituents from the roots of *Garcinia eugenifolia*. **Research Journal of Chemistry and Environment**. **16**: 36-39

Jong V.Y.M., Ee G.C.L., Sukaria M. A., Taufiq-yap Y.H et Khong H.Y. (2013). Cycloartane triterpenoids acids from *Garcinia eugenifolia*. **Asian Journal of Chemistry**. **25**: 1199-1202

José P. C., Noemi C. R., Marisol O. I. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). **Food and Chemical Toxicology**. **46**: 3227-3239

Joseph G. S., Jayaprakasha G. K., Selvi A. T., Jena B. S et Sakariah K. K. (2005). Antiaflatoxic and antioxydant activities of *Garcinia* extracts. **International Journal of Food Microbiology**. **101**: 153-160

Kamil M., Ilyas M., Rahman W., Hasaka N., Okigawa M., Kawano N. (1981). Taiwaniaflavone and its derivatives: a new series of biflavones from *Taiwania cryptomeroides* Hayata. **Journal of the Chemical Society**. **1**: 553-559

Khan N. U., Ilyas M., Rahman W., Mashima T., Okigawa M., Kawano N. (1972). Biflavones from the leaves of *Araucaria bidwillii* Hooker and *Agathis alba* Foxworthy (Araucariaceae). **Tetrahedron**. **28**: 5689-5695

Krauze-B. M. et Marian w. (2003). Antifungal activity of biflavones from *Taxus baccata* and *Ginkgo biloba*. **Journal of Bioscience**. **6**: 5-9.

Kuate T. C. R., Fotsing K. P . R., Ndelo J., Younang T. K., Kaptué L. (2013). Phytochemical screening, antibacterial and antifungal activity of crude aqueous and methanol extracts of stem bark of *Garcinia brevipedicellata*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Research**. **4**: 221-226

- Kuete V., Meli A., Komguem J., Louh N. G., Tangmouo J. G., Lontsi D., Meyer J.J.M et Lall N. (2007). Antibacterial and antifungal activities of the methanolic extract and compounds from *Garcinia polyantha*. ***Pharmacology on line*. 3: 87-95**
- Lainé E., Hano C., Lamblin F. (2007). Les lignanes phytoestrogènes du lin sont-ils des bienfaiteurs méconnus. ***Phytotherapie*. 5: 121-128**
- Legault J., Tommy P., Vakhtang M., Karl G. L., Stephanie P., Laprise C., Sirois P. et Pichette A. (2011). Antioxydant and anti-inflammatory activities of Quercetin 7-O- β -D-glucopyranoside from the leaves of *Brasenia schreberi*. ***Journal of Medicinal Food*. 14: 1-8**
- Lemée A. (1931). Dictionnaire descriptif et synonymes des genres de plantes phanérogames. 1^{ère} édition, tome III. 196-197
- Letouzey R. (1982). Manuel de botanique forestière, Afrique tropicale. Centre Technique Forestier Tropical. tome 2A. 122-123.
- Lie C. L., Yuh-C. K. et Cheng-J. C. (2008). Cytotoxic biflavonoids from selaginella dedicatula. ***Journal of Natural Product*. 63: 627-630**
- Lie L. C., Pai Y. F., et Tsai T. H. (2015). Isolation of luteolin and luteolin-7-O-glucoside from *Dendranthema morifolium* Ramat Tzvel and their pharmacokinetics in rats. ***Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 63: 7700-7706**
- Lihitwitayawuid K., Phadungcharoen T. et Krungkrai J. (1998). Antimalarial xanthenes from *Garcinia cowa*. ***Planta Medica*. 64: 70-76**
- Lin Y. M., Chen F.C., Lee K. H. (1989). Hinokiflavone, a cytotoxicity of the related biflavonoids. ***Planta Medica*. 55: 166-168**
- Lin Y. M., Zembower D. E., Flavin M. T., Schurer R. M., Anderson H. M., Korba B. E., Chen F. C. (1997). Robustaflavone, a naturally occurring biflavonoid, is a potent non-nucleoside inhibitor of hepatitis B virus replication *in vitro*. ***Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 7: 2325-2328.**
- Linuma M., Tosa H., Tanaka T., Asai F., Kobayashi Y., Shimano R., Miyauchi. (1996). Antibacterial activity of xanthenes from guttiferaceous plants against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. ***Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 48: 861-865**

- Mabry T. J., Markam K. R and Thomas M. B. (1970). The systematic Identification of Flavonoids. **Springer-Verlag, Berlin**. 42-43.
- Magalula J. J et Suleimani H. O. (2010). Cytotoxic and anti-HIV activities of some Tanzanian *Garcinia* species. **Tanzania Journal of Health Research**. **12**: 1-7
- Mahabusarakam W., Chairerk P., Taylor W. C. (2005). Xanthones from *G. cowa* Roxb Latex. **Phytochemistry**. **66**: 1148-1153
- Mahabusarakam W., Wiriyachitra P. and Taylor W. C. (1987) Chemical constituents of *Garcinia mangostana*. **Journal of Natural Products**. **50**: 474-478
- Mahbuba K., Mirajum B. and Abdul Q. (2012). Sterols and sterol glucoside from *phyllanthus* species. **Dhaka University Journal of Science**. **60**: 5-10
- Meli A. L., Komguem J., Ngounou F. N., Tangmouo J. G., Lontsi D., Asma A., Muhammad I. C., Beiban L. S., Atta-ur-R. (2006). Antioxidant benzophenones and xanthones from the root bark of *Garcinia smeathmannii*. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**. **20**: 247-252.
- Meli A. L., Nselapi G. L., Lontsi D., Specht S., Salem R. S., Floörke U., Hidayat H., Achim H., Karsten K. (2008). Antimicrobial compounds from the root bark of *Garcinia polyantha* Oliv. **Journal of Antibiotics**. **61**: 518-523
- Méli A. L., Nselapi G. L., Messi B. B., Komguem J., Djama C. M., Beiban L. S., Lieve N., Pannecouque C., Erick D. C., El Sayed H. El Ashry. (2010). Cytotoxycity of natural compounds isolated from the seeds of *Garcinia afzelii*. **Planta Medica**. **76**: 708-712
- Mesfin M. O., Manash K. C et Ahmed H. D. (2016). Structure elucidation of β -sitostérol with antibacterial activity from the root bark of *Malva parviflora*. **Springer Plus**. **5**: 1210-1216.
- Minami H., Hamaguchi K. , Kubo M., Fukuyama Y.(1998). A benzophenone and a xanthone from *Garcinia subelliptica*. **Phytochemistry**. **49**: 1783-1785.
- Momo J. I., Kuete v., Dufat H., Sylvie M., Wandji J .(2011). Antimicrobial activity of the methanolic extract and compounds from the stern back of *G. lucida vesque* (Clusiaceae). **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. **3**: 215-217

Ndongo T. J., Shaaban M., Ngo M., Bikobo D. N., Atchade. A. T, Laastch H. (2010). Phenolic dimmers and indole alkaloids from *Campylospermum flavum* (Ochnaceae). ***Phytochemistry***. **71**: 1872-1878.

Ngoupayou J., Nounougou D. T., Lenta B. T., Tabopda K. T., Khan S. N., Ngouela S., Ali S. M., Tsamo E. (2007). Brevipsidone, a new depsidone and other α -glucosidase inhibitors from *Garcinia brevipedicellata* (Clusiaceae). ***Natural Products Communications***. **2**: 1141-1144

Njinga N. S., Sule M. I., Pateh U. U., Hassan H. S., Abdullahi S. T., et Ache R. N. (2016). Isolation and antimicrobial activity of β -sitostérol-3-*o*- glucoside from *Lannea kerstingii* Engl. And Krause (Anacardiaceae). ***Nitte University Journal of Health Science***. **6**: 4-8

Odile Poncy et Bérangère Offroy (2006). Une nouvelle espèce de *Tovomita Aubl* (Clusiaceae) de Guyane française. ***Adansonia***. **3**: 113-117.

Okiagawa M., Kawano N., Mohammad A., Wasiur R. (1976). Ochnaflavone and its derivatives: a new series of diflavonyl ethers from *Ochna squarrosa* Linn. ***Journal of the Chemical Society***. **1**: 580-583

Onche E. U., Tukura B. W., Bako S.S. (2013). Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Analysis of D-(+)- Glucose a Guide Spectrometric Structural Elucidation of Sugars. ***Journal of Applied Chemistry***. **5736**: 45-51

Panthong K., Nutadilok T.N., Panthong A. (2009). Cowaxanthone F, a new tetraoxygenated xanthone, and other anti-inflammatory and antioxydant compounds from *Garcinia cowa*. ***Canadian Journal of Chemistry***. **87**: 1636-1640.

Paris R. R. et Moyse H. (1965). Précis de matière médicale. Masson, Paris IV, 94.

Parmentier I. (2003). Study of vegetation composition in tree inselbergs from continental equatorial guinea (west central Africa): effects of site, soil factors and position relative to forest fringe. ***Belgium Journal of Botany***. **136**: 63-72

Pattalung P., Thongtheeraparp W., Wiriyachitra P. et Taylor W. C. (1994). Xanthones of *Garcinia cowa*. ***Planta Medica***. **60**: 365-368.

Pegnyenb D. E., Messanga. B. B., Ghogomu. R. T., Sondegam. B. L, Martin. M. T., and Bodo. B. (1998). A new benzoylglycoside and a new prenylated isoflavone from *Lophira lanceolata*. ***Jounal of Natural Product***. **61**: 801-803.

- Pegnyemb D. E., Ngoh M. J., Atchadé A. T., Ghogomu T. R., Beiban L. S., Blond A and Bodo B. (2005). Antimicrobial biflavonoids from the aerial parts of *Ouratea sulcata*. ***Phytochemistry***. **66**: 1922-1926
- Peres V. et Naguem T. (1997). Naturally occurring penta-oxygenated, hexa-oxygenated and dimeric xanthenes. ***Phytochemistry***. **44**: 191-214
- Peres V., Nagem Tj., et De Oliveira F.F. (2000). Tetra-oxygenated naturally occurring xanthenes. ***Phytochemistry***. **55**: 683-710
- Piccineli Al., Cuesta R. O., Chica M. B et Mahmood N. (2005). Structural revision of clusianone and 7-epiclusianone and anti-HIV activity of polyisoprenylated benzophenones. ***Tetrahedron***. **61**: 8206-8211
- Puteri A., Berna E. et Muhammad H. (2015). Antioxydative activity of xanthone from *Garcinia benthami* Pierre Leaves. ***International Journal of Pharmacologie and Technologie Research***. **7**: 254-257.
- Ramesa S. B. et Sooad Al D. (2013). Antimicrobial activity of *Garcinia mangostana* using different solvents extracts. ***International Journal of Biosciences***. **3**: 267-272
- Ritthiwigrom T., Laphookhieo S. et Pyne S. G. (2013). Chemical constituents and biological activities of *Garcinia cowa* Roxb. ***Maejo International Journal of Science and Technology***. **7**: 212-231
- Roussel C., Vial F., Heymans G., Rulliere R. (1981). Des moisissures à la pénicilline. ***Histoire des sciences médicales***. **15** : 29-38
- Ruchi B., Semwal D., Kumar S., Ilze V. (2015). A comprehensive scientific overview of *Garcinia cambogia*. ***Fitoterapia***. **102**: 134-148
- Rukachaisirikul V., Naklue W., Phongpaichit S., Towatana N. H., Maneenoon K. (2006). Phloroglucinols, depsidones and xanthenes from the twigs of *Garcinia parvifolia*. ***Tetrahedron***. **62**: 8578-8585
- Samy M.N., Sugimoto S., Matsunami K., Otsuka H., Kamel M.S. (2014). Bioactive compounds from the leaves of *Eugenia uniflora*. ***Journal of Natural Products***. **7**: 37-47

- Saranyoo K., Yaowapa S., Vatcharin R., Souwalak P. (2013). Friedolanostanes and xanthenes from the twigs of *Garcinia hombroniana*. ***Phytochemistry***. **85**: 161-166
- Saxena V. K et Aprajita G. (2008). Isolation and study of the flavone glycoside, luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside from the seeds of the *Capparis deciduas* (forsk). ***International Journal of Chemical Science***. **6**: 7-10
- Schmidt W., Beerhues L. (1997). Alternative pathway of xanthone biosynthesis in cell cultures of *Hypericum androsaemum*. ***The Federation of European Biochemical Society letters***. **420**: 143-146
- Seeger T., Geiger H., Zinsmeister H.D., Wolfgang R. (1993). Biflavonoids from the moss *Homalothecium lutescens*. ***Phytochemistry***. **34**: 1341-1349
- Shen J. et Yang J.S. (2006). Chemical constituents from fruits of *Garcinia cowa*. ***Zhongguo Yaoxue Zazhi***. **41**: 660-661
- Shen J., Tian Z., Yang J-S. (2007). The constituents from the stems of *G.cowa* Roxb. And their cytotoxic activities. ***Pharmazie***. **62**: 549-551
- Shih-Chang C., Chiou-Fung C., I-Sheng C., Hsi-Lin C., Yueh-Hsiung K.(2008). A novel polyprenylated phloroglucinol, garcinialone, from the roots of *Garcinia multiflora*. ***Tetrahydron letters***. **49**: 5276-5278
- Shixiu F., Yuyang J., Jiong L., Shengxiang Q. et Tao C. (2014). A new bixanthone derivative from the bark of *Garcinia Oblongifolia*. ***Natural Product Research***. **28**: 81-85
- Shukranul M. et Ikram M.S. (2012). Chemical constituents of *Garcinia prainiana*. ***Sains Malaysiana***. **41**: 585-590
- Sibanda T. et Okoh A.I. (2008). *In vitro* Antibacterial regimes of crude aqueous and acetone extracts of *Garcinia kola* seeds. ***Journal of Biological Sciences***. **8**: 149-154
- Sirvers H., Burkhardt G., Becker H., Zinsmeister H.D. (1992). Hypnogenols and other dihydroflavonols from the moss *Hypnum cupressiforme*. ***Phytochemistry***. **31**: 3233-3237
- Tanyi M.J. et Tanee F.Z. (1989). Isolation and characterization of taxifoline-6-C- β -D-glucopyranoside from *Garcinia epunctata*. ***Journal of Natural Products***. **52**: 417-419

- Tetsuro I., Renpei Y., Tatsuya W., Koki M., Masayoshi O., Hideko N., Hideaki M., Munekazu L. (2013). Isolation of six isoprenylated biflavonoids from the leaves of *Garcinia subelliptica*. ***Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 61:** 551-558
- Tih E. A., Onana J.M., Mezili P., Sondengam B. L., Ghogomu T.R., Kinga J., Nkiming E., Elo Manga S.S., Moundipa P., Dimo T., Bopda A., Etoa F.X., Kutwah G., Wultof E et Meudjo A. (2000). Rapport sur la valorisation de la banque de donnée OUA-Cameroun sur les plantes médicinales. (Projet N° 000043 /CAB/MINREST/AOO)
- Timmappa R., Geisler K., Louveau T., O'maille P., Osbourn A. (2014). Triterpene biosynthesis in plants. ***Annual Review Plant Biology*. 65:** 225-257
- Timo D. S., Sofie L., Onesmo B. B., Thomas H. (2017). Two new benzoyl glucuronosyl glycerols from the leaves of *Garcinia buchabanii* Baker. ***Phytochemistry letters*. 19:** 187-190
- Timo D. S., Toshiaki M., Sofie L., Paul A. B., Onesmo B. B., Sofie P. P., Thomas H. (2012). Isolation and structure elucidation of highly antioxydative 3,8"-linked biflavones and flavanone-C-glycosides from *Garcinia buchabanii* bark. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60:** 2053-2062
- Toirambe B. B. (2007). Analyse de l'état des lieux du secteur des produits forestiers non ligneux et évaluation de leur contribution à la sécurité alimentaire en République Démocratique du Congo. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. 63.
- Vanessa S.A., Thiago C. D.S., Isael A. R., Marisi G. S., Marcelo A. D. S., Wagner V., Claudio V. J., Marcelo H. D. S. (2012). Isolation and evaluation of the antioxydant activity of phenolic constituents of the *Garcinia bresiliensis* epicarp. ***Food Chemistry*. 132:** 1230-1235
- Velisek I., Davidek J., Cejpek K. (2008). Biosynthesis of food constituents. Natural pigments Part 2-a review. ***Czech Journal of Food Science*. 26:** 73-98
- Verghese S. et Thomas J. (2000). *Garcinia tinctoria*: a lesser known, evergreen tree of multiple uses. ***Indian Horticulture*. 45:** 21-25
- Vishnu P. V., Mallika J., Surapaneni K. M., Ssaraswathi P., Chandra S. G. (2010). Antimicrobial activity of pericarp extract of *Grcinia. mangostana* linn. ***International Journal of Pharma Sciences and Research*. 1:** 278-281

Vivien J. et Faure J. J. (1967). Arbre des forets denses d'Afrique centrale. République du Cameroun. 218-220

Wagner H., Bladt S., Zgainski E. M. (1984). Analysis of herbal drug mixtures. ***Plant Drug Analysis***. 296-298

Walker E. B. (2007). HPLC analysis of selected xanthenes in mangosteen fruits. ***Journal of Separation Science***. **30**: 1229-1234

Weniger B., Vonthron-S. C., Arango G. J., Kaiser M., Brun R., Anton R. (2004). A bioactive biflavonoid from *Camptosperma panamense*. ***Fitoterapia***. **75**: 764-767

Weyrich L., Duchene S., Soubrier J. (2017). Neanderthal behavior, diet and disease inferred from ancient DNA in dental calculus. ***Nature***. **544**: 357-361

Williams T. I. (1948). De l'opium à la penicillin, les plantes qui guérissent. Collection Pointes de la science, N° 4, Paris, Eyrolles.

Wink. M. (2000). Biochemistry, Physiology and Ecological function of secondary metabolites. Chapter 1: introduction. ***Annual Plant Reviews***. **40**: 1-9

Xu Y. J., Lai Y. H., Zamrie I., Goh S. H., (2001). Xanthenes from *Garcinia parvifolia*. ***Journal of Natural Products***. **64**: 1191-1195

Yoshiyasu F., Hiroyuki M., Atsuko K. (1998). Garsubellins, polyisoprenylated phloroglucinol derivatives from *Garcinia subelliptica*. ***Phytochemistry***. **49**: 853-857

Yuan J. X., Shu-G. C., Xiao-H. W., Yee-H. L., Tan B. H. K., Pereira J. T., Goh S. H., Ganapathi V., Leslie J. H., Keng-Y. S. (1998). Griffipavixanthone, a novel cytotoxic bixanthone from *Garcinia griffithii* and *Garcini pavifolia*. ***Tetrahedron letters***. **38**: 9103-9106

Zhi N. et You-K. X. (2010). A new prenylated xanthone from *Garcinia xipshuanbannaensis*. ***Natural Product Research***. **24**: 1648-1653

Zhi N., Qishi S. et Huabin H. (2013). A new prenylated xanthone from latex of *Garcinia cowa* Roxb. ***Records of Natural Products***. **7**: 220-224

PUBLICATION

- 1 Emade K. C., Tih E. A., Bintou A. et Ghogomu T. R. (2020). Two new phenolic glycosides from the leaves of *Garcinia epunctata* Stapf. ***Zeitschrift für Naturforschung***. 75: 51-56.
- 2 Akongwi M., Emade K.C., Laupy A.A., Tih E.A., Ghogomu T.R., Cho N.F., Ngemenya M.N. (2023). Anti-Salmonella activity on multidrug-resistant strains and cytotoxicity of extracts and constituents of *Garcinia brevipedicellata* and *Garcinia epunctata*. ***Scientific African***. 19 (2023) e01465.

Rapid communication

C. Emade Kwene, Anastasie E. Tih*, Bintou Abderamane and Rapheal T. Ghogomu*

Two new phenolic glycosides from the leaves of *Garcinia epunctata* Stapf

<https://doi.org/10.1515/znc-2018-0217>

Received December 18, 2018; revised November 24, 2019; accepted January 1, 2020

Abstract: The leaves of *Garcinia epunctata* Stapf have furnished two new phenolic glucosides, epunctosides A and B, along with 13 known secondary metabolites identified as lanceoloside A, betulinic acid, lupeol, stigmasterol, β -sitosterol, β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside, stigmasterol-3-O- β -D-glucopyranoside, luteolin-7-O-glucoside, quercetin-7-O-glucoside, amentoflavone, robustaflavone, 4'-O-methyl-amentoflavone and 4'-O-methyl-robustaflavone. All structures were established from chemical and spectroscopic evidence including 1D and 2D NMR data as well as by comparing the obtained spectroscopic data with literature. This is the first report of the presence of phenolic glucosides in the genus *Garcinia*.

Keywords: chemotaxonomy; Clusiaceae; *Garcinia epunctata* (syns: *G. cereoflava* Engl.; *G. nyangensis* Pellegr.; *G. kuluensis* Spirlet); phenolic glycosides.

1 Introduction

Garcinia epunctata (Clusiaceae) is a tropical rain forest tree habitat of the West African coast extending from Senegal through Angola to the Democratic Republic of Congo [1]. This plant is widely distributed in the southern parts of Cameroon where indigenes use the stem, the stem bark or the leaves in folk medicine. The aqueous extract of the adult leaves is used by the Baka Pygmies to remedy buccal and gastrointestinal infections, while the extract

obtained from a mixture of its dry stem bark with that of *Lophira alata* is used as an antiseptic to solve gynecological infections.

Previous phytochemical investigations of the stem and the stem bark of this plant led to the identification of taxifolin, epunctanone, 7-epiisogarcinol, 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone, friedelin, lupeol, 16 β -hydroxy lupeol, betulin, stigmasterol, and rheediaxanthone A as constituents [2, 3]. We have now extended this study to its leaves, which has not been the subject of any investigation.

2 Results and discussion

As a continuation of the phytochemical studies of our local plants used in folk medicine, we have examined the ethyl acetate extract of the leaves of *G. epunctata*. This was subjected to different chromatographic methods that led to the isolation of 15 secondary metabolites. Among these, 13, earlier reported as compounds from other sources, with varied biological activities, include two triterpene derivatives (lupeol and betulinic acid), four steroid derivatives, β -sitosterol, stigmasterol, β -sitosterol-3-O- β -D-glucoside, and stigmasterol-3-O- β -D-glycoside) [4, 5] and five flavonoids derivatives (luteolin-7-O-glucoside, quercetin-7-O-glucoside, amentoflavone, robustaflavone and 4'-O-methyl-amentoflavone) [6–9].

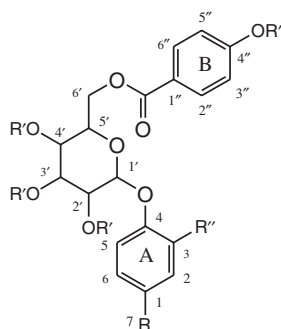
The remaining three compounds characterized as phenolic glycosides (Figure 1) are lanceoloside A (**1**), earlier reported from *Lophira lanceolata* [10], and epunctosides A (**2**) and B (**4**), two new compounds, the structures of which are described here.

Compound **1**, an amorphous pale yellow solid, is a phenolic glycoside since it gave positive tests for the presence of both the phenol function (aqueous FeCl_3 solution) and a sugar residue (alcoholic α -naphthol). It was assigned the molecular formula $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_9$ since its ESI high-resolution mass spectrum gave $[\text{M} + \text{H}]^+$ at m/z 393.1181 (calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{O}_9$: 393.1194).

The acid hydrolysis of compound **1** gave glucose and two aglycones, *p*-hydroxybenzoic acid and 1,4-dihydroxybenzene, confirming that it is a phenolic glycoside.

*Corresponding authors: Anastasie E. Tih and Rapheal T. Ghogomu, Faculty of Science, Department of Organic Chemistry, University of Yaounde I, PO Box 812, Yaounde, Cameroon, E-mail: ghogomut@yahoo.fr, ghogomuta@yahoo.fr, ghogomut@uy1.uninet.cm (R.T. Ghogomu)

C. Emade Kwene: Faculty of Science, Department of Organic Chemistry, University of Yaounde I, PO Box 812, Yaounde, Cameroon
Bintou Abderamane: Département de Chimie, Université de N'Djamena, N'Djamena, Chad.



- 1 R = OH, R' = R'' = H
- 2 R = CHO, R' = H, R'' = OH
- 3 R = CHO, R' = CH₃CO, R'' = CH₃COO
- 4 R = COOH, R' = OH, R'' = OH
- 5 R = COOH, R' = CH₃CO, R'' = CH₃COO

Figure 1: Structures of compounds 1–5.

The comparison of its spectral data (IR, 1D and 2D NMR) with those of known phenolic glycosides confirmed its identity with earlier described lanceolide A (1), or 4-hydroxyphenyl-6-O-(4-hydroxybenzoyl)-β-D-glucopyranoside, described in *L. lanceolata* [10].

Epunctoside A (2), obtained as an amorphous white solid, is also a phenolic glycoside which presented the $[M+H]^+$ peak in its ESI high-resolution mass spectrum at m/z 421.1128 (calculated for C₂₀H₂₁O₁₀: 421.1134). This suggested the molecular formula C₂₀H₂₀O₁₀ for compound 2, which thus has a CO group more than that of lanceolide A (1). The absence of effervescence when compound 2 is placed in contact with an aqueous solution of NaHCO₃ shows that this CO group is not incorporated in a carboxylic acid function in the structure of compound 2.

Its IR spectrum was very similar to that of lanceolide A (1), as both displayed very similar absorptions bands for the phenol function and the sugar residue. The main difference noticed between the spectra of both compounds was that compound 2 displayed two intense carbonyl absorptions (1705 and 1671 cm⁻¹), while lanceolide A (1) showed only one (1668 cm⁻¹).

The complete acetylation of compound 2 furnished a penta-acetate derivative 3, with the molecular formula C₃₀H₃₀O₁₅. Structure 3 has five acetyl groups as confirmed by the presence five sharp singlet signals at δ_H 2.20 (3H, s), 2.21 (3H, s), 2.22 (3H, s), 2.19 (3H, s) and 2.16 (3H, s) in its ¹H NMR spectrum. This implies that compound 2 originally had five phenol groups which were all converted to acetates groups in 3 by acetylation.

The complete analysis of the 1D and 2D NMR spectra of compound 2 (Table 1) revealed that its structure has a tri-substituted benzene ring A (δ_H 6.79, 7.33 and 7.24) and

a *p*-disubstituted benzene ring B [δ_H 7.92 (2H) and δ_H 6.93 (2H)]. Also it has a sugar residue bearing seven protons the signals of which appeared between δ_H 3.51 and δ_H 4.86 and lastly a lone proton singlet (δ_H 9.24, 1H, s, CH=O, C-7) assigned to an aldehyde function. The chemical shifts of the disubstituted benzene ring B protons in compound 2 were very close to those in lanceolide A (1), showing that both structures are closely related.

The ¹³C NMR spectrum of compound 2 (Table 1) had the signals for all the 20 carbon atoms as required by the molecular formula. Thirteen sp² carbons were identified among which seven methine carbon atoms gave signals between δ_C 116.2 and δ_C 131.9 ppm, and six quaternary sp² carbon atoms display signals between δ_C 116.9 and δ_C 169.9 ppm. Also, six aliphatic sugar carbon atoms gave signals between δ_C 63.8 and 103.2 found identical to those reported for glucose [11]. The two remaining signals at δ_C 169.9 and 190.2 were assigned to an ester carbonyl (C-7'', ring B) and an aldehyde carbonyl (C-7, ring A), respectively.

Since its acid hydrolysis afforded glucose along with two aglycones, 4-hydroxybenzoic acid [12] and 3,4-dihydroxybenzaldehyde [13], compound 2 is a phenolic glucoside derivative of 3,4-dihydroxybenzaldehyde esterified with 4-hydroxybenzoic acid.

The analysis of the nuclear overhauser effect spectroscopy (NOESY) spectrum of compound 2 showed cross peaks between the anomeric sugar proton (δ_H 4.86) and the aromatic ring A proton at 6.79 ppm (H-5), thus showing that the glycoside bond is between the anomeric sugar carbon C-1' (δ_C 103.2) and the aromatic carbon C-4 (δ_C 150.8, ring A) of 3,4-dihydroxybenzaldehyde. A second connection between the aldehyde proton (δ_H 9.24) and the two ring A protons H-2 (δ_H 7.33) and H-6 (δ_H 7.24) implied that the aldehyde group substituted on the carbon C-1 (δ_C 124.6, ring A). The third set of cross peaks observed between the two methylene sugar protons (δ_H 4.72, H-6'a; δ_H 4.30, H-6'b) and the two ring B protons (δ_H 7.92, H-2''/H-6'') showed that the sugar ester bond is between the carbon C-6 (δ_C 63.8) of the glucose residue and the *p*-hydroxybenzoyl ester carbonyl (δ_C 169.9). This shows that compound 2 is 4-O-[6-O-(4-O-hydroxybenzoyl)-β-D-glucopyranosyl]-3-hydroxybenzaldehyde, a new phenolic glycoside.

Epunctoside B (4), also obtained as an amorphous white solid, displayed in its ESI high-resolution mass spectrum the $[M+H]^+$ peak at m/z 437.1078 (calculated for C₂₀H₂₁O₁₁: 437.1090). This suggests the molecular formula C₂₀H₂₀O₁₁ for compound 4, which has one oxygen atom more than that of epunctoside A (2). Its IR spectrum, though very similar to that of 2, had no conjugated aldehyde carbonyl absorption at 1705 cm⁻¹ but instead the carbonyl absorption of a conjugated acid function at

Table 1: NMR (CD₃COCD₃, ¹H 500 MHz and ¹³C 125 MHz) data for compounds **1**, **2** and **4**.

No. C	1	2			4		
	δ _c , ppm	δ _c , ppm	δ _H , ppm	δ _c HMBC correlations	δ _c , ppm	δ _H , ppm	δ _c HMBC correlations
1	154.1	124.6	–		122.3	–	
2	117.2	119.2	7.33 (1H, d, 1.9)	123.8, 124.6, 147.4, 150.8, 190.3	116.9	7.36 (1H, d, 1.8)	122.3, 124.8, 145.2, 150.3, 169.5
3	116.1	147.4	–	–	145.2	–	–
4	151.2	150.8	–	–	150.3	–	–
5	116.1	116.4	6.79 (1H, d, 8.6)	123.8, 124.6, 147.4, 150.8	115.5	6.80 (1H, d, 8.8)	122.3, 124.8, 145.2, 150.3
6	117.2	123.8	7.24 (1H, dd, 8.6/1.9)	116.4, 119.2, 124.6, 150.8, 190.3	122.4	7.31 (1H, dd, 8.8/1.8)	115.5, 119.6, 122.3, 150.3, 169.5
7	–	190.3	9.24 (1H, s)	119.2, 123.8, 124.6	169.5		
1'	102.4	103.2	4.86 (1H, d, 7.8)	73.4, 76.6	103.4	4.84 (1H, d, 7.8)	72.9, 76.4
2'	72.4	73.4	3.51 (1H, dd, 7.8/7.4)	70.4, 76.6, 103.2	72.9	3.52 (1H, dd, 7.8/7.6)	70.4, 76.4, 103.4
3'	76.7	76.6	3.56 (1H, dd, 7.4/7.7)	70.4, 73.4, 74.6, 103.2	76.4	3.57 (1H, dd, 7.6/7.4)	70.4, 72.9, 74.7, 103.4
4'	70.4	70.4	3.54 (1H, dd, 7.7/7.7)	63.8, 73.4, 74.6, 76.6	70.4	3.53 (1H, dd, 7.4/7.4)	63.4, 72.9, 74.7, 76.4
5'	74.4	74.6	3.77 (1H, ddd, 7.7/6.7/2.4)	63.8, 70.4, 76.6	74.7	3.78 (1H, ddd, 7.4/6.4/2.2)	63.4, 70.4, 76.4
6'	64.4	63.8	4.72 (1H, dd, 11.9/2.4)	70.4, 74.6	63.4	4.71 (1H, dd, 11.8/2.2)	70.4, 74.7
			4.30 (1H, dd, 11.9/6.8)	70.4, 74.6		4.30 (1H, dd, 11.8/6.4)	70.4, 74.7
1''	123.8	122.1	–		122.6	–	
2''/6''	132.2	131.9	7.92 (2H, d, 8.7)	116.2, 122.1, 161.6, 169.9	132.0	7.92 (2H, d, 8.8)	116.2, 121.6 161.8, 168.2
3''/5''	116.3	116.2	6.93 (2H, d, 8.7)	122.1, 131.9, 161.6	116.2	6.93 (2H, d, 8.8)	121.6, 132.0, 161.8
4''	161.1	161.6		–	161.8		
7''	169.1	169.9		–	168.2		

1694 cm⁻¹. This was confirmed as compound **4** gave effervescence with an aqueous solution of NaHCO₃.

The acid hydrolysis of **4** gave glucose and two aglycones, 4-hydroxybenzoic acid [12] and 3,4-dihydroxybenzoic acid [13], suggesting that compound **4** is also a phenolic glycoside.

The complete acetylation of compound **4** gave a penta-acetate derivative, **5**, with the molecular formula C₃₀H₃₀O₁₆. In the ¹H NMR spectrum of compound **5**, five sharp singlet signals at δ_H 2.21 (3H, s), 2.20 (3H, s), 2.19 (3H, s), 2.16 (3H, s) and 2.14 (3H, s) confirmed the presence of five acetyl groups in its structure.

The ¹H NMR spectra of both compound **4** and epunctoside A (**2**) (Table 1) were also very similar. Heteronuclear single quantum coherence of compound **4** also displayed signals of protons for a trisubstituted benzene ring A [δ_H 7.36, (H-2), δ_H 6.80 (H-5) and δ_H 7.31 (H-6)]; a p-disubstituted benzene ring B [δ_H 7.92 (H-2'' and H-6'') and δ_H 6.93 (H-3'' and H-5'')], a glucosyl residue with seven protons between δ_H 4.84 and 3.52.

The ¹³C NMR spectrum (Table 1) of compound **4** had the signals of all the 22 carbon atoms as required by the molecular formula. The chemical shifts of carbon atoms obtained are very close to those calculated for epunctoside A (**2**). This included 13 sp² hybridized carbon atoms among which 6 are quaternary and 7 are methine groups. Also five sp³ hybridized carbons as methine groups and a methylene carbon were also identified. Finally, signals at 168.2 and 169.9 ppm were accounted for by two distinct carbonyl groups, one of an ester group and the other of a carboxylic acid function, respectively.

Its the ¹H NMR spectra spectrum of compound **4** had the signals of 12 protonated carbon atoms (11 methines and 1 methylene). The signals of the carbon atoms of the glucosyl residue were clearly displayed as that of the anomeric carbon C-1' was observed at δ_c 103.4, that of the methylene carbon (C-6') at δ_c 63.4, while those of the remaining four methine carbon atoms appeared at δ_c 72.9, (C-2'), 76.4 (C-3'), 70.4 (C-4') and 74.7 (C-5') [11].

The NOESY spectrum of compound **4** had cross peaks between the anomeric sugar proton H-1 (δ_{H} 4.86) and the aglycone proton H-5 (δ_{H} 6.80, ring A), thus establishing the glycoside bond between the sugar anomeric carbon C-1' (δ_{C} 103.4) and the carbon C-4 (δ_{C} 150.3) of 3,4-dihydroxybenzoic acid. Other cross peaks observed between methylene protons H-6a (δ_{H} 4.71) and H-6b (δ_{H} 4.30) and the protons H-2/H-6'' (δ_{H} 7.92, ring B) of *p*-hydroxybenzoic acid residue placed the ester bond between the carbonyl carbon C-7'' (δ_{C} 168.2, ring B) of the aglycone and the methylene carbon C-6' (δ_{C} 63.4) of glucose.

The above evidence shows that epunctoside B (**4**) is 6-O-(4-O-hydroxybenzoyl)- β -D-glucopyranosyl-3-hydroxybenzoic acid, which is also a new phenolic glycoside.

3 Chemotaxonomic significance

The genus *Garcinia* has been known to be an important source of many classes of secondary metabolites including flavonoids, biflavonoids and xanthenes [14–17] but not phenolic glycosides. This new source report of these compounds suggests that the genus *Garcinia* should also be considered as a natural source of phenolic glycosides.

4 Material and methods

4.1 General experimental procedures

UV spectra were recorded on a Kontron-Uvikon 930 spectrometer (Nova Biotech, San Diego, CA, USA) with compound dissolved in ethanol. A Jasco FTIR-3000E spectrometer (Jasco, Tokyo, Japan) was used to run the IR spectra of compounds conditioned as transparent KBr pellets. Optical rotations were obtained from a Perkin Elmer polarimeter (Perkin Elmer, Überlingen, Germany). HRESI mass spectra were recorded using a Finnigan LTQ FT Ultra mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany). Solutions of compounds in CD_3COCD_3 were used to record the 500 MHz ^1H and the 125 MHz ^{13}C spectra on a Bruker WM500 spectrometer (Bruker, Rheinstetten, Germany). Sephadex LH20 (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden) and kieselgel 60 (mesh 0.063, 0.200 mm; Merck, Darmstadt, Germany) served as stationary phases in column chromatography. Analytic thin layer chromatography (TLC) was carried out with pre-coated fluorescent silica gel 60 F_{254} aluminum sheets

(Merck) developed in the eluent mixture CH_2Cl_2 -MeOH (1:1, v/v), and chromatograms were visualized by spraying plates with 3% H_2SO_4 followed by heating in an oven at 60°C for 10 min. Preparative TLC fluorescent silica gel 60 F_{254} plates were made on glass support and developed in the same solvent system. Bands representing compounds were visualized using a UV lamp of wavelength 254 nm. Separated bands were isolated, scraped off and recovered with methanol and evaporated to get pure compounds.

4.2 Plant material

The leaves of *G. epunctata* were harvested in Eseka (Cameroon) in March 2012 and identified by Mr. Nana Victor, botanist in the National Herbarium, Yaounde, Cameroon, where a voucher specimen (VN 2860) was deposited.

4.3 Extraction and purification

Air-dried leaves of *G. epunctata* crushed into fine powder (1.5 kg) were extracted with hot methanol in a Soxhlet extractor giving a crude extract (324.5 g) after removal of solvent. This was further washed successively with hot solvents of increasing polarity [cyclohexane-ethyl acetate (97:3), ethyl acetate, acetone and methanol]. The removal of solvent in each case gave respectively four main fractions: F_1 (134 g), F_2 (58 g), F_3 (46.5 g) and F_4 (85.2 g).

The ethyl acetate fraction, F_2 , was first separated into three parts, A (16 g), B (37 g) and C (1.2 g), on a sephadex LH 20 column eluted with methanol. Fraction B was then separated into four subfractions B1, B2, B3 and B4 on a smaller second gel filtration chromatographic column over a sephadex LH20 support eluted with solvent methanol. These subfractions were further purified using a combination of chromatographic methods including column chromatography over silica gel support (CH_2Cl_2 -MeOH, 10:1) and preparative TLC on silica gel plates (CH_2Cl_2 -MeOH, 15:1) using the technique of multiple migrations to give pure compounds.

Applying this procedure on various subfractions, subfraction B1 gave eight pure compounds: lupeol (5 mg), β -sitosterol (8 mg), stigmasterol (6 mg), stigmasterol glucoside (12 mg), β -sitosterol glucoside (11 mg), quercitin-7-O-glucoside (16 mg), luteolin-7-O-glucoside (6 mg) and betulinic acid (7 mg). Subfraction B2 gave two compounds: stigma sterol (8 mg) and β -sitosterol (6 mg). Six compounds were obtained from subfraction B3: betulinic acid (10 mg), β -sitosterol glucoside (8 mg), stigmasterol glucoside (6 mg), 4'-O-methyl-robustaflavone

(7 mg), 4'-O-methyl-amentoflavone (5 mg) and luteolin-7-O-glucoside (6 mg), and finally subfraction B4 gave seven pure bands which were all scraped off and recovered by washing with methanol giving: lanceoloside A (7 mg), quercitin-7-O-glucoside (6 mg), epunctoside A (14 mg), epunctoside B (12 mg), amentoflavone (4 mg) and robustaflavone (6 mg).

4.4 Hydrolysis of compounds 1, 2 and 4

Compound **1** (8 mg) was placed in a 10 mL flask and diluted HCl (10%, 3 mL) was added. The set was put under reflux for 1 h after which it was allowed to cool, and water (5 mL) was added. A white deposit formed was filtered and washed with water and finally dried in a desiccator under vacuum for 24 h to give a mixture of aglycones which were separated on preparative TLC silica gel plates developed in the solvent mixture CH_2Cl_2 -MeOH (15:1) to give *p*-hydroxybenzoic acid (3 mg) and 1,4-dihydroxybenzene (2 mg).

Acetone was added to the aqueous filtrate, and a white precipitate of the sugar deposited was filtered and dried under vacuum for 24 h to give glucose (2 mg).

Compound **2** (10 mg) was subjected to the same procedure as above, and 3,4-dihydroxybenzaldehyde (4 mg), *p*-hydroxybenzoic acid (3 mg) and glucose (2 mg) were recovered.

Compound **4** (10 mg) was subjected to the same procedure as above, and 3,4-dihydroxybenzoic acid (4 mg), *p*-hydroxybenzoic acid (3 mg) and glucose (2 mg) were recovered.

Compound **2**: $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$, -amorphous white solid, $[\alpha]_D^{20} - 38$ (c 0.02, EtOH) - UV: λ_{max} (nm) log ϵ : 266 (4,2); 301 (3,8); -IR (KBr disc) ν_{max} cm^{-1} : 3114, 3084, 3048, 1705 and 1671, 1592, -ESI-HRMS: m/z (%): $[\text{M} + \text{H}]^+$ m/z 421.1128 (calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_{10}$: 421.1134), -NMR (^1H 500 MHz and ^{13}C 125 MHz); see Table 1.

Compound **4**: $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$, -amorphous white solid, $[\alpha]_D^{20} - 41$ (c 0.03, EtOH) - UV: λ_{max} (nm) log ϵ : 254 (4,1); 301 (3,4); -IR (KBr disc) ν_{max} cm^{-1} : 3108, 3081, 3051, 1694, 1668, 1598, -ESI-HRMS: m/z (%): $[\text{M} + \text{H}]^+$ m/z 437.1078 (calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_{11}$: 437.1083), -NMR (^1H 500 MHz and ^{13}C 125 MHz); see Table 1.

4.5 Acetylation of compounds 2 and 4

Compound **2** (5 mg) placed in a 10 mL flask was dissolved in a mixture of acetic anhydride (3 mL) and pyridine (3 mL). The well plugging the flask was next abandoned in an oven at 60°C for 2 h, after which it was allowed to

cool and water (5 mL) was added. A white deposit formed was filtered off and purified on a sephadex LH20 column eluted with methanol and finally dried in a desiccator for 24 h to give compound **3** (6 mg) as a white amorphous power.

Compound **3**: $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$, -amorphous white solid, $[\alpha]_D^{20} - 24$ (c 0.01, EtOH) - UV: λ_{max} (nm) log ϵ : 268 (2,4); 308 (1,7); -IR (KBr disc) ν_{max} cm^{-1} : 3048, 1722, 1712, 1708, 1664, 1596, -NMR (^1H (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 7.44 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-2), 6.81 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-5), 7.56 (1H, dd, $J=8.6$ and 1.9 Hz, H-6), 2.22 (3H, s, CH_3), 5.24 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1'), 3.95 (1H, dd, $J=7.6$ and 7.4 Hz, H-2'), 3.97 (1H, dd, $J=7.4$ and 7.7 Hz, H-3'), 3.94 (1H, dd, $J=7.7$ and 7.7 Hz, H-4'), 4.34 (1H, ddd, $J=7.7$, 6.6 and 2.2 Hz, H-5'), 4.34 (1H, dd, $J=11.9$ and 6.6 Hz, H-6a'), 5.01 (1H, dd, $J=11.9$ and 2.2 Hz, H-6b'), 2.16 (3H, s, CH_3), 2.20 (3H, s, CH_3), 2.19 (3H, s, CH_3), 8.02 (2H, d, $J=8.9$ Hz, H-2'' and H-6'') and 7.21 (2H, d, $J=8.9$ Hz, H-3'' and H-5''), 2.21 (3H, s, CH_3), -NMR (^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 124.4 (C, C-1), 119.1 (CH, C-2), 146.4 (C, C-3), 151.2 (C, C-4), 115.4 (CH, C-5), 124.6 (CH, C-6), 190.1 (C, C-7), 20.88 (CH_3), 168.9 (CO), 104.6 (CH, C-1'), 73.1 (CH, C-2'), 76.6 (CH, C-3'), 71.4 (CH, C-4'), 74.8 (CH, C-5'), 64.8 (CH_2 , C-6'), 20.64 (CH_3), 169.2 (CO), 20.66 (CH_3), 170.17 (CO), 20.42 (CH_3), 169.35 (CO), 124.1 (C, C-1''), 132.2 (CH, C-2'' and C-6''), 118.2 (CH, C-3'' and C-5''), 162.2 (CH, C-4''), 169.9 (CH, C-7''), 20.88 (CH_3), 169.6 (CO), -ESI-HRMS: m/z (%): $[\text{M} + \text{H}]^+$ m/z 631.1658 (calcd. for $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{O}_{15}$: 631.1661).

Compound **4** (4 mg) subjected to the same procedure as above gave compound **5** (5 mg).

Compound **5**: $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$, -amorphous white solid, $[\alpha]_D^{20} - 22$ (c 0.01, EtOH) - UV: λ_{max} (nm) log ϵ : 269 (2,2); 308 (1,6), -IR (KBr disc) ν_{max} cm^{-1} : 3050, 1720, 1710, 1708, 1668, 1592, -NMR (^1H (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 7.44 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-2), 6.81 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-6), 7.54 (1H, dd, $J=8.6$ and 1.9 Hz, H-6), 2.21 (3H, s, CH_3), 5.21 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1'), 3.94 (1H, dd, $J=7.6$ and 7.3 Hz, H-2'), 3.96 (1H, dd, $J=7.3$ and 7.7 Hz, H-3'), 3.92 (1H, dd, $J=7.7$ and 7.7 Hz, H-4'), 4.32 (1H, ddd, $J=7.7$, 6.4 and 2.2 Hz, H-5'), 4.52 (1H, dd, $J=11.9$ and 6.4 Hz, H-6a'), 5.01 (1H, dd, $J=11.9$ and 2.2 Hz, H-6b'), 2.14 (3H, s, CH_3), 2.20 (3H, s, CH_3), 2.19 (3H, s, CH_3), 8.01 (2H, d, $J=8.9$ Hz, H-2'' and H-6''), 7.20 (2H, d, $J=8.9$ Hz, H-3'' and H-5''), 2.16 (3H, s, CH_3), -NMR (^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 124.1 (C, C-1), 118.9 (CH, C-2), 146.2 (C, C-3), 151.2 (C, C-4), 115.6 (CH, C-5), 124.4 (CH, C-6), 168.1 (C, C-7), 20.88 (CH_3), 168.8 (CO), 104.4 (CH, C-1'), 73.2 (CH, C-2'), 76.6 (CH, C-3'), 71.6 (CH, C-4'), 74.8 (CH, C-5'), 64.8 (CH, C-6'), 20.64 (CH_3), 169.3 (CO), 20.66 (CH_3), 170.16 (CO), 20.41 (CH_3), 169.34 (CO), 124.0 (C, C-1''), 132.1 (CH, C-2'' and C-6''), 118.2 (CH, C-3'' and C-5''), 162.3 (CH, C-4''), 169.7 (CH, C-7''), 20.38 (CH_3), 169.4 (CO), -ESI-HRMS: m/z (%): $[\text{M} + \text{H}]^+$ m/z 647.1612 (calcd. for $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{O}_{16}$: 647.1609).

Acknowledgments: We thank Victor Nana of the National Herbarium Yaounde for the identification and the harvest of the plant material, Professor Bernard Bodo and M. Alain Blond of the Laboratory of Natural Products, Museum of Natural History, Paris, France, for spectra and the University of Yaounde 1 grants committee for financial assistance.

References

1. Parmentier I. Study of vegetation composition in tree inselbergs from continental Equatorial Guinea (west central Africa): effects of site, soil factors and position relative to forest fringe. *Belg J Bot* 2003;136:63–72.
2. Mbafor JT, Fomum ZT, Promsattha R, Sanson DR, Tempesta MS. Isolation and characterization of taxifolin 6-C-glucoside from *Garcinia epunctata*. *J Nat Prod* 1989;52:417–9.
3. Fotso GW, Ntumu AN, Ngachussi E, Dube M, Mapitse R, Kapche GD, et al. Epunctanone, a new benzophenone, and further secondary metabolites from *Garcinia epunctata* Stapf (Guttiferae). *Helv Chim Acta* 2014;97:957–64.
4. Samy MN, Sugimoto S, Matsunami K, Otsuka H, Kamel MS. Bioactive compounds from the leaves of *Eugenia uniflora*. *J Nat Prod (India)* 2014;7:37–47.
5. Kang W-Y, Li G-H, Hao X-J. Two new triterpenes from *Neonauclea sessilifolia*. *Acta Bot Sin* 2003;45:1003–7.
6. Lin L-C, Pai Y-F, Tsai T-H. Isolation of luteolin and luteolin-7-O-glucoside from *Dendranthema morifolium* Ramat Tzvel and their pharmacokinetics in rats. *J Agr Food Chem* 2015;63:7700–6.
7. Lee EJ, Kim JS, Kim HP, Lee J-H, Kang SS. Phenolic constituents from the flower buds of *Lonicera japonica* and their 5-lipoxygenase inhibitory activities. *Food Chem* 2010;120:134–9.
8. Elo-Manga SS, Tih AE, Ghogomu RT, Blond A, Bodo B. Chemical constituents of the leaves of *Campylospermum elongatum*. *Z Naturforsch C* 2017;72:71–5.
9. Cheng X-L, Ma S-C, Yu J-D, Yang S-Y, Xiao X-Y, Hu J-Y, et al. Selaginellin A and B, two novel natural pigments isolated from *Selaginella tamariscina*. *Chem Pharm Bull* 2008;56:982–4.
10. Pegnyemb DE, Messanga BB, Ghogomu RT, Sondengam BL, Martin MT, Bodo B. A new benzyolglycoside and a new prenylated isoflavone from *Lophira lanceolata*. *J Nat Prod* 1998;61:801–3.
11. Gurst JE. NMR and the structure of D-glucose. *J Chem Educ* 1991;68:1003.
12. Dhakal RC, Rajbhandari M, Kalauni SK, Awale S, Gewali MB. Phytochemical constituents of the bark of *Vitex negundo* L. *J Nepal Chem Soc* 2008/2009;23:89–92.
13. Syafni N, Putra DP, Arbain D. 3,4-Dihydroxybenzoic acid and 3,4-dihydroxy benzaldehyde from the fern *Trichomanes chinense* L. isolation, antimicrobial and antioxidant properties. *Indo J Chem* 2012;12:273–8.
14. Al-Shaghdaria A, Alarcóna AB, Cuesta-Rubioa O, Piccinellib AL, Rastrelli L. Biflavonoids, main constituents from *Garcinia bakeriana* leaves. *Nat Prod Commun* 2013;8:1237–40.
15. Geetha RV, Lakshmi T, Anitha R. *Garcinia cambogia* (Mala-bar Tamarind): a pharmacological review. *J Pharm Res* 2011;4:1464–6.
16. Ragasa CY, Tabin TJ, Reyes JM, Tan MC, Shen C-C. Chemical constituents of *Garcinia mangostana* pulp and seeds. *Int J Pharmac Clin Res* 2016;8:1166–9.
17. Stark T, Lösch S, Balemba O, Hofmann T. Two new benzoyl glucuronosyl glycerols from the leaves of *Garcinia buchananii* Baker. *Phytochem Lett* 2016;19:187–90.

Supplementary Material: The online version of this article offers supplementary material (<https://doi.org/10.1515/znc-2018-0217>).



Anti-Salmonella activity on multidrug-resistant strains and cytotoxicity of extracts and constituents of *Garcinia brevipedicellata* and *Garcinia epunctata*

Mirabel Akongwi^a, Emade C. Kwene^b, Laupy Anne Awah^c, Anastasie E. Tih^b,
Raphael T. Ghogomu^b, Fidelis Cho-Ngwa^{c,d}, Moses N. Ngemenya^{c,e,*}

^a Pharmacochemistry Research Laboratory, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Buea, P.O. Box 63 Buea, South West Region, Cameroon

^b Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, University of Yaounde 1, P. O. Box 812, Yaoundé, Cameroon

^c Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Science, University of Buea, P. O. Bo 63 Buea, South West Region, Cameroon

^d National Higher Polytechnic Institute, University of Bamenda, Cameroon

^e Department of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Health Sciences, University of Buea, P.O. Box 63 Buea, South West Region, Cameroon

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 August 2022

Revised 14 November 2022

Accepted 22 November 2022

Editor: DR B Gyampoh

Keywords:

Salmonella

Multidrug-resistant

Garcinia

Antibacterial

Cytotoxicity

ABSTRACT

The morbidity of Salmonella infections remains high partly due to emergence of multidrug-resistant (MDR) strains. *Garcinia* species have demonstrated activity against a wide range of infectious organisms including bacteria. Two species, *Garcinia brevipedicellata* and *G. epunctata* were investigated for activity against MDR clinical isolates of Salmonella. Methanol extracts of the leaves of both plants were serially re-extracted using ethyl acetate (EtOAc), acetone (Ace) and methanol (MeOH); and the three extracts tested for antibacterial activity by disc diffusion and microdilution methods, and cytotoxicity effects against monkey kidney epithelial (LLCMK2) cells. Five of eighteen pure compounds isolated, identified and tested for activity include β -sitosterol (**1**), stigmasterol (**2**), epuntosides A (**3**), B (**4**) from *G. epunctata* and brevipedicelone D (**5**) from *G. brevipedicellata*; among which three are new compounds (**3**, **4** and **5**). The EtOAc extract of *G. epunctata* and brevipedicelone D (**5**), recorded maximum diameters of zones of inhibition of 18 and 17 mm respectively corresponding to moderate activity. All the four crude extracts recorded the lowest minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.125 μ g/mL, corresponding to high activity against MDR Salmonella isolates and control strains. Brevipedicelone D (**5**) showed moderate activity with the lowest MIC of 16 μ g/mL. All the crude extracts and compound **5** were not cytotoxic ($CC_{50} = 250 - 809 \mu$ g/mL). Low minimum bactericidal concentrations (≤ 2 mg/mL) were recorded against most bacteria strains which may indicate bactericidal activity. This is the first report of moderate to high activity against MDR Salmonella and no cytotoxicity of the leaves and pure compounds from *G. brevipedicellata* and *G. epunctata*; hence, the leaves should be further investigated as a potential alternative treatment for infections of these strains and source of an antibacterial natural product lead.

© 2022 The Authors. Published by Elsevier B.V. on behalf of African Institute of Mathematical Sciences / Next Einstein Initiative.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Introduction

Typhoid fever is a systemic bacterial infection caused by *Salmonella enterica* species, a Gram-negative facultative bacillus of the Enterobacteriaceae family with subtypes and several serovars [1]. *S. enterica* is responsible for most of foodborne illnesses worldwide and affects both animals and humans. Transmission to humans occurs from contaminated food and water. The global disease burden of typhoid fever caused by the *Salmonella typhi* serovar is persistently high. The high morbidity is largely due to emergence of resistance with reported high multidrug resistance to all first-line antibiotics and also to the alternative fluoroquinolones and third generation cephalosporins used for treatment [2, 3, 4]. The emergence of antibiotic resistance is still on the rise and necessitates the search for new treatment options including plant natural products.

Plants remain a potential source of new efficacious antibacterials with promising activity reported for a large number of secondary metabolites. Plant alkaloids, phenolics, coumarins and terpenes have been reported with high activity against various bacterial species comparable to standard antibiotics, and acting by several mechanisms including resistance reversal [5, 6]. *Garcinia brevipedicellata* and *Garcinia epunctata* are two plants of interest. The genus *Garcinia* belong to the family Clusiaceae (formerly called Guttiferae). They are dioecious, small to medium sized trees with over 600 species and native to Africa, Australia, Asia and Polynesia [7]. The *Garcinia* species are known to have very wide-ranging medicinal properties especially as anti-infective agents including antitumoral, treatment of diarrhoea, dysentery, infected wounds, ulcers, skin disorders, bronchitis, and fever among others. Experimental studies have revealed anticancer, antimalarial, antiparasitic, and antibacterial activities for both crude extracts and isolated pure compounds of several species [8]. Both plants are used in traditional folk medicine and previous studies have demonstrated their antibacterial activity for the chewing stick of *G. epunctata*, and stem bark of *G. brevipedicellata* against both Gram-negative and positive bacteria [9, 10]. Pure compounds from *G. epunctata* stem bark demonstrated weak to moderate antibacterial activity against *Mycobacterium aurum* and *Neisseria gonorrhoeae* [11]. Overall, the antibacterial activity of these plants has not been extensively investigated both *in vitro* and *in vivo* given that there are very few reports on this; in particular data on the antibacterial properties of the leaves and their safety is rare. Considering the potential antibacterial properties of these plants reported for the chewing stick and the stem bark and the paucity of data for the leaves, this study investigated the activity of the crude extracts and some pure natural products isolated from the leaves. Furthermore, the activity was assessed against characterized MDR clinical isolates of *Salmonella* and the cytotoxicity of the active extracts and pure compound was investigated. This study therefore provides data on the activity of the leaves and some pure natural products thereof against MDR *Salmonella* which have not been previously reported.

Materials and methods

Plant materials

The leaves of *G. epunctata* and *G. brevipedicellata* were harvested in Eseka in March 2012 and in August 2013 in Malende village situated at 3 km from Dibang Sub-Division; both locations are found in the Nyong et Kelle Division of the Centre Region of Cameroon. The plants were identified by Mr. Victor Nana, a botanist of the National Herbarium, Yaoundé, Cameroon, where voucher specimens (VN 2860 and VN 2634 respectively), were deposited.

Preparation of crude extracts

Air dried and ground leaves of *G. epunctata* (1.5kg) and *G. brevipedicellata* (1.5 kg) were separately soaked in 5L of methanol for 48 hours. The mixture was filtered and the filtrate concentrated at 80 °C using a rotavapor (BUCHI Rotavapor, R-114). Each metabolic residue obtained was exhaustively fractionated, by serial extraction with three solvents in order of increasing polarity: ethyl acetate, acetone and methanol respectively. Only the ethyl acetate fractions were further analysed.

Isolation of pure compounds from ethyl acetate fractions

The *G. epunctata* fraction (58g), was fractionated by LH20 column chromatography eluting with pure methanol. This allowed us to obtain three large fractions A, B and C. Fraction B was placed on a silica column, eluted with the CH₂Cl₂/MeOH system in the proportions 15/1 by volume, to give ten sub-fractions indexed: B.1, B.2, B.3, B.4, B.5, B.6, B.7, B.8, B.9 and B.10.

Purification of B.2 using chromatography on a silica column, eluted with the mixture of methylene chloride and methanol in the proportions 20/1; followed by a preparative thin layer chromatography, (with silica as stationary phase and the methylene chloride/methanol solvent system in the proportions 10/1, as mobile phase) developed three times, made it possible to obtain **GEP.1** (**1**, 8mg) and **GEP.2** (**2**, 8mg)

* Corresponding author.

E-mail address: njutain.moses@ubuea.cm (M.N. Ngemenya).

B.3 was put on an LH20 column and eluted with pure methanol, to give four tertiary fractions indexed B.3a, B.3b, B.3c and B.3d. Each of these tertiary fractions was subjected to preparative thin layer chromatography, developed in methylene chloride/methanol system in the proportions 15/1. B.3b and B.3c were each developed three times in the same solvent system, resulting in the isolation of **GEP.5** (3,10mg) and **GEP.6** (4, 10mg)

The *G. brevipedicellata* fraction (62g), was divided into four equal portions A-D and each portion fractionated by size exclusion chromatography on Sephadex gel LH-20 and eluted with methanol. Sub-fractions were pooled together to obtain five main fractions. N1 (6.1 g), N2 (4.3 g), N3 (34 g), N4 (5.5 g) and N5 (3.2 g). N3 and N2 were repeatedly purified in an open silica gel column with CH₂Cl₂ /MeOH (10:1) followed by preparative thin layer chromatography yielding compounds **GB.2** (10 mg), **GB.3** (5, 52 mg), **GB.4** (10 mg) and more of compound **GB.3** (5, 8mg) respectively.

Sources of bacterial cells

Multidrug-resistant (MDR) Salmonella were isolated from clinical specimens collected from medical laboratories of four healthcare facilities in the Southwest region of Cameroon. The MDR Salmonella cells were isolated using culture, biochemical tests, susceptibility tests and molecular techniques as outlined in a published work of the authors [12]. Control strains: *S. typhimurium* (ATCC 14028), *S. enteritidis* (ATCC 13076), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), were provided by Dr. Kukwah Anthony Tufon, Microbiologist and Head of Bacteriology Unit, Medical Laboratory, Buea Regional Hospital, South West region of Cameroon.

Determination of antibacterial activity

The antibacterial activity of the crude extracts and pure compounds was determined using the disc diffusion method as previously described [13, 14] with modifications. Briefly, five (5) mm diameter sterile filter paper discs were impregnated with 10 µL of 20 mg/100µL DMSO extract solution (2mg per disc) and allowed to dry. Bacterial suspension (100µL of 0.5 McFarland 0.5) was uniformly spread on the surface of freshly prepared Mueller Hinton (MH) agar. The extract discs were gently fixed on the agar surface and kept for 3-5 minutes and then incubated at 37 °C for 24 hours. Chloramphenicol (30 µg) and ampicillin (30 µg), discs were used as positive control while 100% DMSO was used as the negative control. The plate was incubated inverted at 37 °C for 24hours. For the pure compounds, 5mg was dissolved in 1 mL of DMSO and 10 µL (50µg) pipetted on to a filter paper disc and tested by the same method.

The minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal (MBC) concentrations were determined using the microdilution method as previously described [15] with some modifications. A 40mg/mL stock solution of each extract was prepared (40 mg dissolved in 200µL of DMSO and 800 µL of MH broth added); it was diluted in broth and 75 µL added in duplicate in required wells in a 96-well microtitre plate followed by 75 µL bacterial suspension giving final concentrations of 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 mg/mL extract and 5×10⁵ CFUs/mL respectively. Positive (50 µg/mL gentamycin) and negative (bacteria suspension) control wells were included. Optical densities (ODs) of the plates were read at 595 nm (ELISA reader E-max Prediction Microplate Reader) after which the plates were incubated as above and ODs recorded again. The percentage inhibition was calculated using the formula:

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\Delta OD_{NC} - \Delta OD_{TS}}{\Delta OD_{NC}} \times 100$$

(NC = negative control, TS = test substance). MIC was taken as the lowest concentration with a percentage inhibition of ≥ 50%. Aliquots (10µL) of the MIC and pre-MIC wells were sub-cultured on nutrient agar and incubated as above. The lowest concentration of test substance with no visible bacterial colony was considered as the MBC. Stock solutions of pure compounds (1024 µg/mL) were prepared and tested same at final double dilution concentrations from 1 to 512 µg/mL.

Cytotoxicity assay

This was done as described in detail [13]. Briefly, monkey kidney epithelial cells, (LLC-MK2, ATCC, USA) were grown in complete culture (RPMI- 1640, SIGMA) medium (CCM) containing 10% newborn calf serum (NBCS), processed and counted as described. The cells were seeded in 96 well plate in duplicate at a density of 3000 cells/100µL of CCM and incubated at 37 °C in 5 % CO₂ humidified air (Heracell 150i, USA) and grown to confluence over 3 days. The medium was replaced with fresh CCM. A stock solution of extract (4 mg dissolved in 100 µL of DMSO and 900 µL of CCM added), was serially diluted in CCM to X2 test concentration and 100µL added giving final test concentrations (1.9 to 1000 µg/mL). Negative (cells + 2% DMSO) and positive (cells + 30µg/mL auranofin) control wells were included. The plate was incubated for 120 hours (5days), as above. Then the medium was discarded by flicking and blotting the plate, 100 µL of 1 mg/mL MTT in incomplete culture medium (no calf serum), was added to each well, the plate gently shaken and incubated for another 3 hours as above. Then 100 µL of DMSO was added to each well, and the plate shaken to solubilize the formazan precipitate. The optical densities (ODs) of wells were read same as above at 595nm. The percentage inhibition of formazan formation was calculated as follows:

$$\text{Percent inhibition (\%)} = [(\text{OD of control} - \text{OD of treatment}) \times 100] / (\text{OD of control})$$

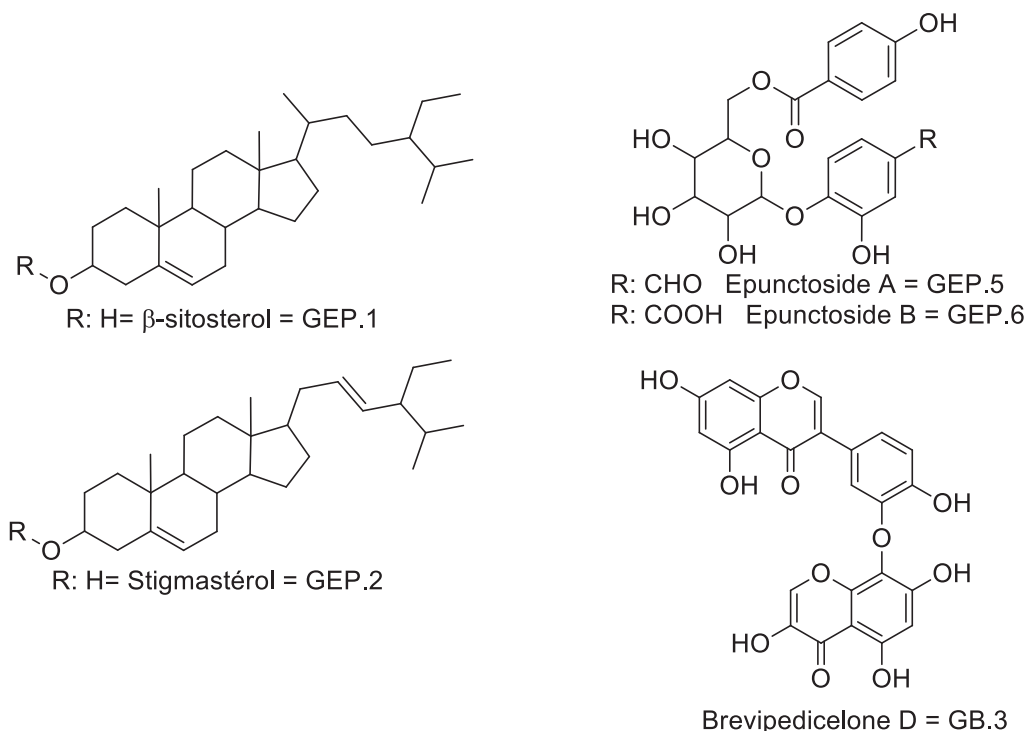


Fig. 1. Structures of compounds isolated from *Garcinia epunctata* **GEP.1** (1), **GEP.2** (2), **GEP.5** (3), **GEP.6** (4) and *Garcinia brevipedicellata* **GB.3** (5).

Data and statistical analysis

The zones of inhibition and MIC values were recorded and interpreted according to reference values [16] and guidelines [17]. Activities of the extracts (zones of inhibition and MIC values) were also compared using paired t-test with $p < 0.05$ considered as a significant difference. Dose response curves for the cytotoxicity assay were generated using Graph pad prism software version 8.0 and the CC_{50} (concentration which kills 50% of cells) values were determined by linear regression analysis.

Results

Natural products from *Garcinia* species

The extraction of the air-dried and powdered leaves of *G. brevipedicellata* and *G. epunctata* with methanol yielded a gum which was re-extracted with warm ethyl acetate to give a crude extract which was then fractionated by size exclusion column chromatography on Sephadex LH-20. The fractions obtained were subjected to a combination of column and preparative thin layer chromatography over silica gel that led to the isolation of thirteen (13) and five (5) secondary metabolites respectively from the two plants. Among these eighteen compounds, thirteen which had earlier been reported from other sources with varied biological activities include two triterpene derivatives (lupeol and betulinic acid), four steroid derivatives, β-sitosterol, stigmasterol, β-sitosterol-3-O-β-d-glucoside, and stigmasterol-3-O-β-d-glucoside) [18, 19], three flavonoids derivatives (luteolin-7-O-glucoside, quercetin-7-O-glucoside, and luteoline) and four biflavonoids robustaflavone, 4'-O-methyl-robustaflavone, brevipedicelone C, and 4'-O-methyl-amentoflavone) [20, 21, 22, 23]. The other five compounds reported in this study were characterized as phenolic glycosides (Figure 1). Four of these compounds isolated from *G. epunctata* include lanceoloside A, previously isolated from *Lophira lanceolata* [24], known as β-sitosterol (1); stigmasterol (2), epunctosides A (3) and B (4). Compounds 1 and 2 are sterols while 3 and 4 are phenolic glycosides. One of the five compounds, brevipedicelone D (5), a biflavonoid, was isolated from *G. brevipedicellata*. Three of these compounds are new (3, 4 and 5), and their structures had been determined and published [25, 26]. We now report the antibacterial activity and cytotoxicity of five of these compounds and their crude extracts. Their structures are shown in Figure 1.

Table 1
Anti-*Salmonella* activity of crude extracts (2 mg) of *Garcinia* species in disc diffusion assay

Test Bacteria	Diameter of zone of inhibition (mm)			
	GB- EtOAc	GB-Ace	GB-MeOH	GE. EtOAc <i>a</i>
BU01	13	13	13	14
BU02	16	14	14	14
Li01	15	14	14	16
Li02	15	13	13	16
Li03	14	14	14	13
Ti01	14	13	13	16
Ti02	12	14	14	17
Ti03	14	13	13	18
1*	14	12	12	18
2*	13	14	12	16
3*	13	13	14	17
4*	15	12	12	12
5*	15	15	14	18

GB-EtOAc, GB-Ace and GB-MeOH = ethyl acetate, acetone and methanol extracts of *Garcinia brevipedicellata* respectively. GE-EtOAc = *G. epunctata* ethyl acetate extract. Positive controls: chloramphenicol (30 µg) and ampicillin (30 µg) = 28 mm. BU, Li and Ti: Multidrug resistant *Salmonella* isolates. Control strains: 1* = *S. Typhimurium* ATCC 14028, 2* = *S. Enteritidis* ATCC 13076, 3* = *Escherichia coli* ATCC 25922, 4* = *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, 5* = *Staphylococcus aureus* ATCC 25923). *a*: Most active, $p = 0.008 - 0.03$ compared to the other extracts.

Table 2
Anti-*Salmonella* activity of extracts of *Garcinia* species in microdilution assay

Test Bacteria	MIC (mg/mL), MBC (mg/mL), MBC:MIC Ratio											
	<i>G. brevipedicellata</i>									<i>G. epunctata</i>		
	EtOAc			Ace			MeOHb			EtOAc		
BU01	0.5	2	4	0.25	1	4	0.25	1	4	0.125	0.5	4
BU02	0.25	0.5	2	0.125	1	8	0.125	1		0.25	1	4
Li01	0.125	0.5	4	0.25	0.5	2	0.25	1	4	0.5	1	2
Li02	0.5	1	2	1	2	2	0.5	2	4	0.5	2	4
Li03	0.5	1	2	0.5	2	4	0.125	1		0.5	2	4
Ti01	0.5	2	4	0.25	1	4	0.5	1	2	0.125	1	8
Ti02	0.25	0.5	2	0.5	1	2	0.25	0.5	2	0.125	0.25	2
Ti03	0.5	2	4	0.5	2	4	0.5	1	2	0.5	1	2
1*	0.125	0.5	4	0.25	1	4	0.25	0.5	2	0.125	0.5	4
2*	0.125	0.5	4	0.25	1	4	0.25	0.5	2	0.125	0.5	4
3*	0.25	1	4	0.5	2	4	0.5	2	4	0.25	1	4
4*	1	6	6	1	6	6	0.5	2	4	1	8	8
5*	0.25	1	4	0.5	1	2	0.25	0.5	2	0.25	1	4

MIC: Minimum inhibitory concentration; MBC: Minimum bactericidal concentration. Test bacteria codes are defined in Table 1. Interpretation of MIC values (mg/mL): ≤ 2 : High activity; > 2 and < 6 : Moderate activity; > 6 : low activity [17]. *b*: $p = 0.071$ to 0.89, no difference in activity.

Antibacterial activity of extracts and natural products

In the disc test, the diameters of zones of inhibition ranged from 12–15 mm for *G. brevipedicellata* and 13 to 18 mm for *G. epunctata* against 8 MDR *Salmonella* isolates and 5 bacteria control strains; corresponding to low and moderate activity ([16, 17]. The ethyl acetate extract of *G. epunctata* was the most active (Table 1) and its activity was significantly higher than those of the three extracts of *G. brevipedicellata* ($p = 0.008 - 0.03$). Four of the five pure compounds (1, 2, 5 and 4) showed low activity (8 to 10mm), and one (5) recorded moderate activity (14 to 17mm) against most of the tested bacteria.

The MIC recorded for crude extracts of both plants ranged from 0.125 to 1 mg/mL against all test bacteria corresponding to high activity (≤ 2 mg/mL) [17]. The lowest MIC of 0.125 mg/mL was recorded by each extract of both plants against at least one test organism (Table 2). The methanol extract of *G. brevipedicellata* (GB –MeOH) recorded the overall lowest MIC values; however its MIC values were not significantly different from those of the other extracts ($p = 0.071$ to 0.89). The MBC values were also low with most of them within the high activity range; only four MBC values were above this range recorded against one clinical *Salmonella* isolate and one control strain, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Hence, most MBC:MIC ratios were ≤ 4 , suggesting bactericidal activity (Table 2).

Four of the five pure compounds (1, 2, 3 and 4) recorded lower activity with higher MIC values ranging from 128 to 512 µg/mL, and 5 showed moderate activity with lower MIC values from 16 to 128 µg/mL, against both MDR *Salmonella* isolates and control strains (Table 3). Again, four of the pure compounds, 1, 2, 3 and 4, recorded a few high MBC values (not shown in the Table 3), ranging from 256 to 512 µg/mL against only 2 to 6 of the thirteen bacteria strains tested. Only compound 5

Table 3
Anti-Salmonella activity of pure compounds in microdilution assay

Test Bacteria	MIC ($\mu\text{g/mL}$)					MBC ($\mu\text{g/mL}$)
	1	2	3	4	5	
BU01	256	256	512	256	128	512
BU02	128	512	512	512	32	128
Li01	512	512	256	512	128	256
Li02	128	256	128	128	64	128
Li03	128	128	128	128	32	64
Ti01	512	128	256	128	16	32
Ti02	128	256	128	512	64	128
Ti03	128	128	512	256	64	128
1*	256	128	512	256	32	128
2*	256	128	512	256	32	128
3*	128	128	128	128	Nd	Nd
4*	512	512	512	512	Nd	Nd
5*	128	128	256	128	Nd	Nd

MIC ($\mu\text{g/mL}$) interpretation: ≤ 4 = high activity, 8–16 = moderate activity, ≥ 32 weak activity [16, 17]. Nd: not done.

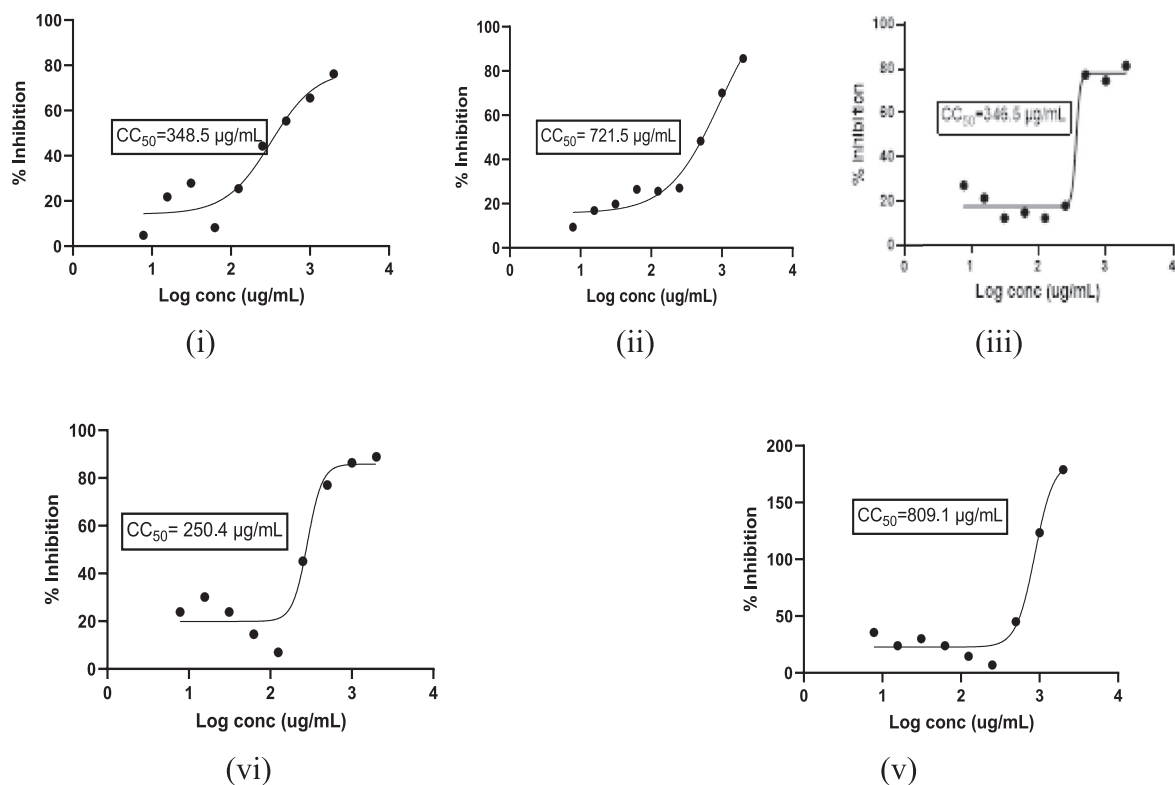


Fig. 2. Plots of cytotoxicity of test substances on monkey kidney epithelial LLC-MK2 cells. Crude extracts: *Garcinia brevipedicellata*: (i)-ethyl acetate, (ii)-acetone, (iii)-methanol; *G. punctata* (iv)-ethyl acetate; and pure product (v)- 5.

recorded lower MBCs against all tested bacteria ranging from 32 to 512 $\mu\text{g/mL}$, with MBC:MIC ratios from 2 to 4, suggesting bactericidal activity (Table 3).

Cytotoxicity of test substances

The plots for determination of cytotoxicity show dose-dependent inhibition of proliferation of the monkey kidney epithelial cells for the crude extracts and the pure compound 5 as seen in Figure 2. The CC_{50} values for all the extracts and compound 5 ranged from 250 to 809 $\mu\text{g/mL}$ (Figure 2), and the pure compound 5, had the highest value. The values were 8 to 27 times higher than the cut-off value (30 $\mu\text{g/mL}$) [15], below which a substance is considered cytotoxic, and all were greater than the MIC values for each extract.

Table 4
Selectivity indices of test substances from *Garcinia* species

Extracts and Pure Compound	CC ₅₀ (µg/mL) LLC-MK2 cells	MIC (µg/mL) Bacteria	SI
<i>G. brevipedicellata</i>			
EtOAc	348.5	125	2.8
Ace	721.5	125	5.8
MeOH	346.5	125	2.8
<i>G. epunctata</i>			
EtOAc	250.4	125	2.0
5	809.1	32	25.3

SI = selectivity index (ratio CC₅₀ / lowest MIC). **5**: pure compound isolated from *Garcinia epunctata*

The selectivity index values for the test substances (derived from the ratio CC₅₀ / lowest MIC) and pure compound ranged from 2 to 5.8 for the crude extracts and 25 for the pure compound **5**. Hence, the acetone extract and compound **5** were the most selective (Table 4).

Discussion

Several *Garcinia* species have been investigated for antibacterial activity against many bacterial species. However, the antibacterial properties of *G. brevipedicellata* and *G. epunctata* have not been extensively investigated and very sparsely against MDR *Salmonella*. In this study, an overall moderate to high activity was recorded in all assays for all crude extracts and one pure natural product, Brevipedicelone (**5**), isolated from *G. brevipedicellata*. This is the first report of considerable activity of these two plants against MDR *Salmonella*.

In the disc diffusion method, the crude extracts demonstrated low to moderate antibacterial activity [16]. The highest diameter of zone of inhibition recorded for crude extract was 18 mm (Table 1), and 17 mm for pure compound, corresponding to moderate activity. The highest activity was produced by the ethyl acetate extract of *G. epunctata*. The *G. epunctata* pure compounds did not show any significant antibacterial activity in the disc diffusion assay.

The MIC values showed high activity for all extracts of both plants which was relatively higher than the moderate activity recorded in the disc diffusion assay; the difference in activity compared to the disc test is likely due to differences in the test systems. High activity was recorded against both MDR clinical *Salmonella* isolates and control strains, with the lowest activity shown against *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) control strain (Table 2). The activities of the extracts were similar since the MIC values were not significantly different. Most of the MBC values of the extracts also showed high activity with most MBC:MIC ratios ≤ 4 , suggesting bactericidal activity which needs to be confirmed in further investigation. Of the five pure natural product isolates, only one, **5** from *G. brevipedicellata*, showed moderate activity against all tested bacteria. This natural product was also the most active in terms of MBC values with the MBC:MIC ratios ≤ 4 , also suggesting bactericidal activity. Overall, there was consistency in the results given their similar patterns in both assays. Information on the antibacterial activity of the leaves of *G. brevipedicellata* and *G. epunctata* against *Salmonella* is very rare. These findings therefore are likely to be the first reported for the leaves of the two *Garcinia* species. A study reported low antibacterial activity of the stem bark acetone extract of *G. brevipedicellata* against *S. typhimurium* and higher activity against *S. aureus* [10]. Another study reported low to moderate activity for aqueous and methanol extracts of *G. epunctata* chewing stick sold in Ghana [9]. Extracts of various organic solvents of the stem bark of six *Garcinia* species produced MIC values against a variety of Gram positive and negative bacteria (not including *Salmonella*), which are comparable to those of this study [27]. Despite the availability of several treatment antibiotics, the burden of *Salmonella* infections remains high and persistent largely due to multidrug resistance [2]. The recorded high activity against MDR strains of *Salmonella* provides a strong basis for further studies on these plants. These include *in vitro* studies on larger samples of MDR strains and *in vivo* studies to assess the efficacy of the leaves as a potential alternative treatment for resistant *Salmonella* infections. Also, studies on the natural products may yield an efficacious antibacterial natural product or derivative. An alternative treatment will significantly reduce the morbidity and mortality of *Salmonella* infections and contribute in achieving improved health and nutrition which is one of the priority areas in the African Union Agenda 2063 [28].

All the test substances had CC₅₀ values much higher than the cut-of value (30 µg/mL) [15], for cytotoxicity indicating negligible risk of toxicity in mammals. The most active ethyl acetate crude extract of *G. epunctata*, had a CC₅₀ value of 250.4 µg/mL but a low selectivity index of 2. However, the most active pure natural product from this extract, **5**, had the highest CC₅₀ value (809.1 µg/mL) and equally a high selectivity of 25 (Table 4); this is a promising natural product to be further investigated. Reports on toxicity of *G. brevipedicellata* and *G. epunctata* are scarce. A study on the leaves of *G. gardneriana*, revealed cytotoxicity in the hexane extract against a breast carcinoma cell line [29]; this may be due to secondary metabolites which are not present in the leaves of the two species tested in this study. The toxicity of these plants needs to be further investigated *in vivo*.

Conclusion

This study is the first report of moderate to high activity of the leaf crude extracts of *G. brevipedicellata* and *G. epunctata* and one pure compound isolated from *G. brevipedicellata* against MDR *Salmonella*. It also showed that these products are not cytotoxic. Therefore, the leaves may serve as a potential alternative treatment for resistant *Salmonella* infections. The active extracts and pure products should be further investigated *in vitro* and *in vivo* in an animal model of *Salmonella* infection.

Funding

No funding was received from any specific grant funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sector

Declaration of Competing Interest

The authors declare no competing interests.

Acknowledgments

We are grateful to Mr. Bodo Bernard of Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Musée National d'histoire Naturelle, Paris, France for the NMR analyses and Mr. Nana Victor of the National Herbarium, Yaounde Cameroon for the collection and identification of plant. The Biotechnology Unit, Faculty of Sciences, University of Buea provided facilities for the biological studies.

References

- [1] P. Khadka, J. Thapaliy, S. Thapa, Susceptibility pattern of *Salmonella enterica* against commonly prescribed antibiotics, to febrile-paediatric cases, in low-income countries, *BMC Pediatr* 21 (2021) 38.
- [2] F. Medalla, W. Gu, C.R. Friedman, M. Judd, J. Folster, P.M. Griffin, R.M. Hoekstra, Increased incidence of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella* infections, United States, 2004–2016, *Emerg. Infect. Dis.* 27 (6) (2021) 1662–1672, doi:10.3201/eid2706.204486.
- [3] Centers for disease control and prevention, Atlanta, USA 2019. Drug resistant *Salmonella* serotype typhi. <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/salmonella-typhi-508.pdf>. Accessed 15 May, 2022
- [4] M.A. Mbock, W.F. Fouatio, R.G. Kamkumo, P.V.T. Fokou, F.N. Tsofack, P.-K. Lunga, J.J. Essia Ngang, O. Boyomo, A.E. Nkengfack, B.L. Ndjakou, N. Sewald, F.F. Boyom, T. Dimo, *In vitro* and *in vivo* anti-*Salmonella* properties of hydroethanolic extract of *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. (Leguminosae) root bark and LC-MS-based phytochemical, *J. Ethnopharmacol.* (2020), doi:10.1016/j.jep.2020.113049.
- [5] N. Vaou, E. Stavropoulou, C. Voidarou, C. Tsigalou, E. Beirtzoglou, Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: a review study on challenges and future perspectives, *Microorganisms* 9 (2021) 2041, doi:10.3390/microorganisms9102041.
- [6] Y. Yan, X. Li, C. Zhang, L. Lv, B. Gao, M. Li, Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: a review, *Antibiotics* 10 (2021) 318, doi:10.3390/antibiotics10030318.
- [7] M.M. Patil, K.A.A. Garcia, Bioactive compounds and health benefits, *Introducit. Funct. Food Sci.* (2015).
- [8] B.L.S.-E. Santo, L.F. Santana, W.H.K. Junior, F.-O. de Araújo, D. Bogo, K.-C. Freitas, R.-C.A. Guimarães, P.A. Hiane, A. Pott, W.F.-O. Filiú, M.A. Asato, P.-O. Figueiredo, P.R.H.-O Bastos, Medicinal potential of *Garcinia* species and their compounds, *Molecules* 25 (2020) 4513, doi:10.3390/molecules25194513.
- [9] J.K. Mensah, C. Anamoah, K.B. Johnson, Y. Akuoko, Assessment of the antimicrobial and antioxidant activities of the extracts of *Garcinia kola*, *Garcinia epunctata* and *Acacia kamerunensis* plants used for oral hygiene in Ghana, *Curr. Sci. Perspect.* 3 (1) (2017) 13–20.
- [10] N. Joseph, C. Matchawe, D.N. Patrice, F.M. Kasali, N.J. Yann, F.K.P. René, N. Josaphat, Characterization and evaluation *in vitro* of the antibacterial activity of tannins from *Garcinia brevipedicellata* (Bark.G) Hutch. & Dalz, *J. Pharmacog. Phytochem.* 4 (2) (2015) 81–85.
- [11] G.W. Fotso, A.N. Ntuny, E.M. Ngachussi, R. Mapitse, G.D.W.F. Kapche, K. Andrae-Marobela, B.T. Ngadjui, B.M. Abegaz, Epunctanone, a new benzophenone, and further secondary metabolites from *Garcinia epunctata* STAPF (Guttiferae), *Helv. Chim. Acta* 97 (7) (2014) 957–964.
- [12] A R Ndi, L.A. Awah, S.M. Ghogomu, F. Cho-Ngwua, M.N. Ngemenya, Isolation and molecular identification of *Salmonella* with high multidrug resistance to first line typhoid antibiotics in Southwest Cameroon. *Microbes and Infectious Diseases Article-In-Press*, 2022, doi:10.21608/mid.2022.122411.1249.
- [13] M.N. Ngemenya, G.G.R. Djeukem, K.D. Nyongbela, P.N.N. Bate, S.B. Babiaka, E. Monya, R.K. Kalso, Microbial, phytochemical, toxicity analyses and antibacterial activity against multidrug resistant bacteria of some traditional remedies sold in Buea Southwest Cameroon, *BMC Complement. Altern. Med.* 19 (2019) 150.
- [14] A. Al-Rifai, A. Aqel, T. Al-Warhi, S.M. Wabaidur, Z.A. Al-Othman, A.Y. Badjah-Hadj-Ahmed, Antibacterial, antioxidant activity of ethanolic plant extracts of some *Convolvulus* species and their DART-ToF-MS profiling, Evid.-Based Complement. Altern. Med. (2017) Article ID 5694305, 9 pages.
- [15] P.N.N. Bate, A.E. Oroch, K.D. Nyongbela, S.B. Babiaka, A. Kukwah, M.N. Ngemenya, In vitro activity against multidrug-resistant bacteria and cytotoxicity of lichens collected from Mount Cameroon, *J. King Saud Univ. Sci.* 32 (2020) 614–619.
- [16] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100, 28th ed. Wayne. (2018). <http://file.clinical.ac.ir/repository/mmrc/CLSI-2018-M100-S28.pdf>.
- [17] P. Cos, A.J. Vlietinck, D.V. Berghe, L. Maes, Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger *in vitro* 'proof-of-concept', *J. Ethnopharmacol.* 106 (2006) 290–302, doi:10.1016/j.jep.2006.04.003.
- [18] M.N. Samy, S. Sugimoto, K. Matsunami, H. Otsuka, M.S. Kamel, Bioactive compounds from the leaves of *Eugenia uniflora*, *J. Nat. Product* 7 (2014) 37–47.
- [19] W.-Y. Kang, G.-H. Li, X.-J. Hao, Two new triterpenes from *Neonauclea sessilifolia*, *Acta Bot. Sin.* 45 (2003) 1003–1007.
- [20] S.S. Elo-Manga, A.E. Tih, R.T. Ghogomu, A. Blond, B. Bodo, Chemical constituents of the leaves of *Campylospermum elongatum*, *J. Biosci.* 72 (2017) 71–75, doi:10.1515/znc-2015-0260.
- [21] L.-C. Lin, Y.-F. Pai, T.-H. Tsai, Isolation of luteolin and luteolin-7-O-glucoside from *Dendranthema morifolium* Ramat Tzvel and their pharmacokinetics in rats, *J. Agric. Food Chem.* 63 (2015) 7700–7706.
- [22] E.J. Lee, J.S. Kim, H.P. Kim, J.-H. Lee, S.S. Kang, Phenolic constituents from the flower buds of *Lonicera japonica* and their 5-lipoxygenase inhibitory activities, *Food Chem.* 120 (2010) 134–139.
- [23] X.L. Cheng, S.-C. Ma, J.D. Yu, S.Y. Yang, X.Y. Xiao, J.Y. Hu, Y. Lu, P.C. Shaw, P.P. But, R.C. Lin, Selaginellin A and B, two novel natural pigments isolated from *Selaginella tamariscina*, *Chem. Pharm. Bull.* 56 (7) (2008) 982–984 PMID: 18591814, doi:10.1248/cpb.56.982.
- [24] D.E. Pegnyemb, B.B. Messanga, R.T. Ghogomu, B.L. Sondengam, M.T. Martin, B. Bodo, A new benzyolglycoside and a newprenylated isoflavone from *Lophira lanceolata*, *J. Nat. Prod.* 61 (6) (1998) 801–803.
- [25] C.E. Kwene, A.E. Tih, B. Abderamane, R.T. Ghogomu, Two new phenolic glycosides from the leaves of *Garcinia epunctata* Stapf, *Z Naturforsch C Biosci* 75 (1–2) (2020) 51–56 doi:org/, doi:10.1515/znc-2018-0217.

- [26] M. Akongwi, A.E. Tih, K.D. Nyongbela, M. Samje, R.T. Ghogomu, B. Bodo, Brevipedicelones D and E, two C-O-C flavonoid dimmers from the leaves of *Garcinia brevipedicellata* and anti-onchocercal activity, *Nat. Prod. Bioprospect.* 9 (1) (2019) 61–68.
- [27] N.H. Nguyen, M.T. Nguyen, H.D. Nguyen, P.D. Pham, U.D. Thach, B.D. Trinh, T.T. Ly, L.T.T. Nguyen, S.V. Dang, A.T. Do, B.H. Do, Antioxidant and antimicrobial activities of the extracts from different *Garcinia* species, *Evid.-Based Complement. Altern. Med.* (2021) Article ID 55429389 [pagesdoi.org/, doi:10.1155/2021/5542938](https://doi.org/10.1155/2021/5542938).
- [28] African Union. Goals and priority areas of agenda 2063. <https://au.int/agenda2063/goals>. Accessed 8 November, 2022.
- [29] S.C. Demenciano, M.C.B.L. Silva, C.A.F. Alexandrino, W.H.K. Junior, P.O. Figueiredo, W.S. Garcez, R.P. Campos, R.C.A. Guimarães, U.C. Sarmiento, D. Bogo, Antiproliferative activity and antioxidant potential of extracts of *Garcinia gardneriana*, *Molecules* 25 (2020) 3201, doi:10.3390/molecules25143201.