

**UNIVERSITE PARIS-SUD**  
**ÉCOLE DOCTORALE : INNOVATION THÉRAPEUTIQUE :**  
**DU FONDAMENTAL À L'APPLIQUÉ**  
Laboratoire de Pharmacognosie

En cotutelle avec

**UNIVERSITE FELIX HOUPHOUËT-BOIGNY**  
**UFR DES SCIENCES DES STRUCTURES DE LA MATIERE ET DE TECHNOLOGIE**  
Laboratoire de Chimie Organique Biologique

ANNÉE : 2013-2014

SÉRIE DOCTORAT N° 1262

**DISCIPLINE CHIMIE**

**THÈSE DE DOCTORAT**

Présentée

À L'UNITÉ DE FORMATION ET DE RECHERCHE  
FACULTÉ DE PHARMACIE DE CHÂTENAY-MALABRY  
UNIVERSITÉ PARIS-SUD

Par

**Faustin Aka KABRAN**

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS-SUD ET DE L'UNIVERSITÉ FELIX HOUPHOUËT-BOIGNY**

**Étude phytochimique de plantes ivoiriennes à activité  
antiparasitaire**

Soutenue le 2 décembre 2013

**Directeur de thèse :**  
**Co-directeur de thèse :**

**Bruno FIGADERE**  
**Léon Atoutou DJAKOURE**

**Directeur de recherche/Université Paris-Sud**  
**Professeur/Université Félix Houphouët-Boigny**

**Composition du jury :**

***Président du jury :***  
***Rapporteurs :***

**Cyrille KOUKLOVSKY**  
**Sylvie MICHEL**  
**Olivier THOMAS**  
**Alexandre MACIUK**

**Professeur/Université Paris-Sud**  
**Professeur/Université Paris Descartes**  
**Professeur/Université Nice Sophia Antipolis**  
**Maître de conférences/Université Paris-Sud**

***Examineur :***

# SOMMAIRE

## **Première partie : Etude chimique de *Mallotus oppositifolius* (Euphorbiaceae)**

|                                                                                                                                                       |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. Description de la plante .....</b>                                                                                                              | <b>9</b>  |
| 1.1. La famille des Euphorbiaceae.....                                                                                                                | 9         |
| 1.1.1. Présentation .....                                                                                                                             | 9         |
| 1.1.2. Intérêt nutritionnel, pharmacologique, écologique et commercial.....                                                                           | 10        |
| 1.1.3. Chimie des Euphorbiaceae .....                                                                                                                 | 12        |
| 1.2. Le genre <i>Mallotus</i> .....                                                                                                                   | 12        |
| 1.2.1. Présentation .....                                                                                                                             | 12        |
| 1.2.2. Propriétés pharmacologiques des <i>Mallotus</i> .....                                                                                          | 14        |
| 1.2.3. Phytochimie des <i>Mallotus</i> .....                                                                                                          | 15        |
| 1.3. L'espèce <i>Mallotus oppositifolius</i> .....                                                                                                    | 46        |
| 1.3.1. Classification .....                                                                                                                           | 46        |
| 1.3.2. Description botanique et écologie .....                                                                                                        | 46        |
| 1.3.3. Usages traditionnels .....                                                                                                                     | 48        |
| 1.3.4. Propriétés pharmacologiques .....                                                                                                              | 49        |
| 1.3.5. Travaux antérieurs sur <i>Mallotus oppositifolius</i> .....                                                                                    | 49        |
| <b>2. Extractions et isoléments des composés des feuilles, des écorces de tige, des racines et des fruits de <i>Mallotus oppositifolius</i> .....</b> | <b>50</b> |
| 2.1. Extractions .....                                                                                                                                | 50        |
| 2.2. Isoléments .....                                                                                                                                 | 51        |
| 2.2.1. Isolement des feuilles .....                                                                                                                   | 51        |
| 2.2.2. Isolement des écorces de tige .....                                                                                                            | 53        |
| 2.2.3. Isolement des racines .....                                                                                                                    | 53        |
| 2.2.4. Isolement des fruits .....                                                                                                                     | 55        |
| <b>3. Détermination structurale des composés isolés .....</b>                                                                                         | <b>55</b> |
| 3.1. Phytostérols, terpènes et corps gras .....                                                                                                       | 55        |
| 3.1.1. Caractérisation des composés stéroïdiques et terpéniques .....                                                                                 | 55        |
| 3.1.2. Analyse structurale de la molécule 6 (Lupéol).....                                                                                             | 57        |
| 3.1.3. Analyse structurale de la molécule 17 (Stigmastérol).....                                                                                      | 58        |
| 3.1.4. Analyse structurale de la molécule 39 ( $\beta$ -sitostérol).....                                                                              | 59        |
| 3.1.5. Analyse structurale de la molécule 40 (Cholestérol).....                                                                                       | 60        |
| 3.1.6. Analyse structurale de la molécule 15 (Friedeline).....                                                                                        | 61        |
| 3.1.7. Analyse structurale de la molécule 11 (Squalène) .....                                                                                         | 61        |
| 3.1.8. Analyse structurale de la molécule 10 (Phytol).....                                                                                            | 62        |
| 3.1.9. Analyse structurale de la molécule 16 ((Z)-octadec-5-én-1-ol) .....                                                                            | 63        |
| 3.1.10. Analyse structurale de la molécule 54 .....                                                                                                   | 63        |
| 3.1.11. Analyse structurale de la molécule 56 (Acide tétratriacontanoïque).....                                                                       | 65        |
| 3.1.12. Analyse structurale de la molécule 55 (Acide (9Z, 16Z, 23Z)-hentriaconta-9,16,23-triénoïque) .....                                            | 66        |
| 3.1.13. Analyse structurale de la molécule 64 (Pentacosanoate d'éthyle) .....                                                                         | 68        |
| 3.1.14. Analyse structurale de la molécule 59 (9,9,13,13-tétraméthyl-5,8,14,17-tétraoxahenicosan-11-one) .....                                        | 68        |

|                                                                               |                                                                                                                                                                     |            |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.1.15.                                                                       | Analyse structurale de la molécule 71 [(1Z, 5Z)-1,5-diméthylcycloocta-1,5-diène]                                                                                    | 70         |
| 3.2.                                                                          | Analyse structurale des composés en mélange                                                                                                                         | 71         |
| 3.2.1.                                                                        | Analyse structurale du mélange (17+18+19)                                                                                                                           | 71         |
| 3.2.2.                                                                        | Analyse structurale du mélange (25 + 26 + 27 + 28)                                                                                                                  | 72         |
| 3.2.1.                                                                        | Analyse structurale du mélange (29 + 30 + 53)                                                                                                                       | 72         |
| 3.2.2.                                                                        | Analyse structurale du mélange (18+33)                                                                                                                              | 74         |
| 3.2.3.                                                                        | Analyse structurale du mélange (20+21)                                                                                                                              | 75         |
| 3.2.4.                                                                        | Analyse structurale du mélange 60, 61, 62, 63 [2,10-diméthyl-9-undécénol + 1-éthoxyanthraquinone + (3β, 5α, 6β, 7α)-cholestan-3,6,7-triol + α-tocophéroquinone) ... | 76         |
| 3.2.5.                                                                        | Analyse structurale du mélange (22 + 23 + 24)                                                                                                                       | 77         |
| 3.2.6.                                                                        | Analyse structurale du mélange (31 + 32)                                                                                                                            | 78         |
| 3.3.                                                                          | Composés phénoliques                                                                                                                                                | 80         |
| 3.3.1.                                                                        | Caractérisation des phloroglucinols                                                                                                                                 | 80         |
| 3.3.2.                                                                        | Détermination structurale des phloroglucinols                                                                                                                       | 84         |
| 3.3.3.                                                                        | Caractérisation des coumarines                                                                                                                                      | 97         |
| 3.3.4.                                                                        | Détermination structurale des coumarines                                                                                                                            | 98         |
| 3.3.5.                                                                        | Caractérisation des flavonoïdes                                                                                                                                     | 102        |
| 3.3.6.                                                                        | Détermination structurale des flavonoïdes                                                                                                                           | 105        |
| 3.3.7.                                                                        | Dérivés de l'acide benzoïque                                                                                                                                        | 106        |
| 3.3.8.                                                                        | Autres composés phénoliques                                                                                                                                         | 108        |
| 3.3.9.                                                                        | Conclusion                                                                                                                                                          | 115        |
| 4.                                                                            | <b>Activités biologiques des extraits et des composés isolés de <i>Mallotus oppositifolius</i></b>                                                                  |            |
|                                                                               | <b>116</b>                                                                                                                                                          |            |
| 4.1.                                                                          | Principales activités biologiques des composés isolés                                                                                                               | 116        |
| 4.1.1.                                                                        | Terpènes, acides gras, alcools gras et dérivés                                                                                                                      | 116        |
| 4.1.2.                                                                        | Composés stéroïdiques                                                                                                                                               | 119        |
| 4.1.3.                                                                        | Composés phénoliques                                                                                                                                                | 121        |
| 4.2.                                                                          | Résultats des tests biologiques réalisés sur les extraits et composés isolés                                                                                        | 125        |
| 4.2.1.                                                                        | Feuilles de <i>Mallotus oppositifolius</i>                                                                                                                          | 125        |
| 4.2.2.                                                                        | Ecorces de tige de <i>Mallotus oppositifolius</i>                                                                                                                   | 127        |
| 4.2.3.                                                                        | Racines de <i>Mallotus oppositifolius</i>                                                                                                                           | 129        |
| 4.3.                                                                          | Conclusion                                                                                                                                                          | 130        |
| <b>Deuxième partie : Etude chimique d'<i>Isolona cooperi</i> (Annonaceae)</b> |                                                                                                                                                                     |            |
| 1.                                                                            | <b>Description de la plante</b>                                                                                                                                     | <b>132</b> |
| 1.1.                                                                          | La famille des Annonaceae                                                                                                                                           | 132        |
| 1.1.1.                                                                        | Présentation                                                                                                                                                        | 132        |
| 1.1.2.                                                                        | Intérêt pharmacologique, nutritionnel et économique                                                                                                                 | 133        |
| 1.1.3.                                                                        | Chimie des Annonaceae                                                                                                                                               | 135        |
| 1.2.                                                                          | Le genre <i>Isolona</i>                                                                                                                                             | 136        |
| 1.2.1.                                                                        | Présentation                                                                                                                                                        | 136        |
| 1.2.2.                                                                        | Usages traditionnels des <i>Isolona</i>                                                                                                                             | 136        |
| 1.2.3.                                                                        | Phytochimie des <i>Isolona</i>                                                                                                                                      | 137        |
| 1.3.                                                                          | L'espèce <i>Isolona cooperi</i>                                                                                                                                     | 141        |
| 1.3.1.                                                                        | Classification                                                                                                                                                      | 141        |
| 1.3.2.                                                                        | Description botanique et écologie                                                                                                                                   | 141        |
| 1.3.3.                                                                        | Propriétés pharmacologiques                                                                                                                                         | 142        |
| 1.3.4.                                                                        | Travaux antérieurs sur <i>Isolona cooperi</i>                                                                                                                       | 142        |

|                                                                                                                                  |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>2. Extractions et isollements des composés des feuilles, des écorces de tige et des racines d'<i>Isolona cooperi</i>.....</b> | <b>143</b> |
| 2.1. Extractions .....                                                                                                           | 144        |
| 2.2. Isollements .....                                                                                                           | 144        |
| 2.2.1. Isolement des feuilles .....                                                                                              | 144        |
| 2.2.2. Isolement des écorces de tige .....                                                                                       | 145        |
| 2.2.3. Isolement des racines .....                                                                                               | 145        |
| <b>3. Détermination structurale des composés isolés .....</b>                                                                    | <b>146</b> |
| 3.1. Acides gras-esters gras-lactone .....                                                                                       | 146        |
| 3.1.1. Analyse structurale de la molécule 47 (Acide oléique).....                                                                | 146        |
| 3.1.2. Analyse structurale de la molécule 49 (Acide 6-octadécénoïque) .....                                                      | 146        |
| 3.1.3. Analyse structurale de la molécule 45 (Oléate de méthyle).....                                                            | 147        |
| 3.1.4. Analyse structurale des constituants du mélange (45 + 46) (Oléate de méthyle et Palmitate de méthyle).....                | 148        |
| 3.1.5. Analyse structurale des constituants du mélange (68 + 69) .....                                                           | 148        |
| 3.1.6. Analyse structurale des constituants du mélange (57 + 58 + 65 + 66 + 67) ....                                             | 149        |
| 3.1.7. Analyse structurale de la molécule 74 (6-pentyl-5-hydroxy-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one).....                                | 150        |
| 3.2. Composés azotés.....                                                                                                        | 152        |
| 3.2.1. Analyse structurale de la molécule 42 (Hexadécanamide) .....                                                              | 152        |
| 3.2.2. Analyse structurale du mélange (41 + 42 + 43) .....                                                                       | 153        |
| 3.2.3. Analyse structurale de la molécule 44 (Caféine).....                                                                      | 153        |
| 3.2.4. Analyse structurale de la molécule 51 ( $\alpha$ -tomatine).....                                                          | 154        |
| 3.2.5. Analyse structurale de la molécule 50 (5-formylindole).....                                                               | 155        |
| 3.2.6. Analyse structurale de la molécule 52 (Papavérine) .....                                                                  | 155        |
| 3.2.7. Analyse structurale de la molécule 48 [(-)-Isochondodendrine] .....                                                       | 156        |
| 3.2.8. Analyse structurale de la molécule 72.....                                                                                | 159        |
| 3.2.9. Analyse structurale de la molécule 73.....                                                                                | 162        |
| 3.2.10. Conclusion .....                                                                                                         | 164        |
| <b>4. Activités biologiques des extraits et des composés isolés .....</b>                                                        | <b>166</b> |
| 4.1. Principales activités biologiques des molécules isolées .....                                                               | 166        |
| 4.1.1. Acides gras .....                                                                                                         | 166        |
| 4.1.2. Composés azotés .....                                                                                                     | 167        |
| 4.2. Résultats des tests biologiques réalisés sur les extraits et composés isolés.....                                           | 168        |
| 4.2.1. Feuilles d' <i>Isolona cooperi</i> .....                                                                                  | 168        |
| 4.2.2. Ecorces de tige d' <i>Isolona cooperi</i> .....                                                                           | 169        |
| 4.2.3. Racines d' <i>Isolona cooperi</i> .....                                                                                   | 171        |
| 4.3. Conclusion .....                                                                                                            | 172        |
| <b><u>Troisième partie: Modifications structurales d'une lactone: apoprunellelactone</u></b>                                     |            |
| <b>1. But.....</b>                                                                                                               | <b>175</b> |
| <b>2. Travaux antérieurs.....</b>                                                                                                | <b>175</b> |
| <b>3. Travaux d'hémisynthèses réalisés sur l'apoprunellelactone .....</b>                                                        | <b>176</b> |
| 3.1. Réaction d'hydrogénation-(Composé APL3).....                                                                                | 177        |
| 3.1.1. Mode opératoire .....                                                                                                     | 177        |
| 3.1.2. Mécanisme réactionnel.....                                                                                                | 178        |
| 3.1.3. Résultats .....                                                                                                           | 178        |
| 3.2. Réaction d'acétylation-(Composé APL2) .....                                                                                 | 179        |

|                                                      |                                                                                     |            |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.2.1.                                               | Mode opératoire .....                                                               | 179        |
| 3.2.2.                                               | Mécanisme réactionnel.....                                                          | 180        |
| 3.2.3.                                               | Résultats .....                                                                     | 180        |
| 3.3.                                                 | Réduction de cycle-(Composé APL1).....                                              | 181        |
| 3.3.1.                                               | Mode opératoire .....                                                               | 181        |
| 3.3.2.                                               | Mécanisme réactionnel.....                                                          | 182        |
| 3.3.3.                                               | Résultats .....                                                                     | 182        |
| 3.4.                                                 | Oxydation par le tétr oxyde d'osmium (OsO <sub>4</sub> )-(Composé APL7).....        | 183        |
| 3.4.1.                                               | Mode opératoire .....                                                               | 183        |
| 3.4.2.                                               | Mécanisme réactionnel.....                                                          | 184        |
| 3.4.3.                                               | Résultats .....                                                                     | 184        |
| 3.5.                                                 | Conclusion .....                                                                    | 185        |
| <b>4.</b>                                            | <b>Activités biologiques des analogues synthétisés de l'apoprunellelactone.....</b> | <b>185</b> |
| 4.1.                                                 | Activité leishmanicide en CE <sub>50</sub> .....                                    | 186        |
| 4.2.                                                 | Activité antifongique en CE <sub>90</sub> .....                                     | 186        |
| 4.3.                                                 | Conclusion .....                                                                    | 187        |
| <b><u>Quatrième partie: Partie expérimentale</u></b> |                                                                                     |            |
| <b>1.</b>                                            | <b>Matériels et appareillages .....</b>                                             | <b>191</b> |
| 1.1.                                                 | Matériel chromatographique.....                                                     | 191        |
| 1.1.1.                                               | Chromatographie sur couche mince (CCM) .....                                        | 191        |
| 1.1.2.                                               | Chromatographie sur couche mince préparative .....                                  | 191        |
| 1.1.3.                                               | Chromatographie d'adsorption sur colonne ouverte .....                              | 191        |
| 1.1.4.                                               | Chromatographie flash .....                                                         | 191        |
| 1.1.5.                                               | Chromatographie liquide sous vide ou vacuum liquid chromatography (VLC)<br>192      |            |
| 1.1.6.                                               | Chromatographie liquide à haute pression (CLHP) .....                               | 192        |
| 1.1.7.                                               | Filtration sur gel de dextrane : Sephadex® LH-20 .....                              | 192        |
| 1.1.8.                                               | Révélateurs .....                                                                   | 192        |
| 1.1.9.                                               | Solvants .....                                                                      | 195        |
| 1.2.                                                 | Appareils.....                                                                      | 195        |
| 1.2.1.                                               | Pouvoir rotatoire [α] <sub>D</sub> .....                                            | 195        |
| 1.2.2.                                               | Point de fusion.....                                                                | 195        |
| 1.2.3.                                               | Lampe UV .....                                                                      | 196        |
| 1.2.4.                                               | Spectrométrie UV-Visible.....                                                       | 196        |
| 1.2.5.                                               | Spectrométrie infrarouge (IR) .....                                                 | 196        |
| 1.2.6.                                               | Spectrométrie de masse (SM) .....                                                   | 196        |
| 1.2.7.                                               | Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN).....                          | 196        |
| 1.3.                                                 | Matériel biologique.....                                                            | 196        |
| 1.3.1.                                               | Activité trypanocide <i>in vitro</i> .....                                          | 196        |
| 1.3.2.                                               | Activité leishmanicide <i>in vitro</i> .....                                        | 197        |
| 1.3.3.                                               | Activité anthelminthique <i>in vitro</i> .....                                      | 198        |
| 1.3.4.                                               | Activité antifongique <i>in vitro</i> .....                                         | 199        |
| <b>2.</b>                                            | <b>Drogues végétales .....</b>                                                      | <b>199</b> |
| <b>3.</b>                                            | <b>Extraction, isolement et purification des composés .....</b>                     | <b>200</b> |
| 3.1.                                                 | Espèce <i>Mallotus oppositifolius</i> .....                                         | 200        |
| 3.1.1.                                               | Feuilles de <i>Mallotus oppositifolius</i> .....                                    | 200        |
| 3.1.2.                                               | Ecorces de tige de <i>Mallotus oppositifolius</i> .....                             | 206        |
| 3.1.3.                                               | Racines de <i>Mallotus oppositifolius</i> .....                                     | 209        |

|                                                                     |            |
|---------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.1.4. Fruits de <i>Mallotus oppositifolius</i> .....               | 211        |
| 3.2. Espèce <i>Isolona cooperi</i> .....                            | 213        |
| 3.2.1. Feuilles d' <i>Isolona cooperi</i> .....                     | 213        |
| 3.2.2. Ecorces de tige d' <i>Isolona cooperi</i> .....              | 214        |
| 3.2.3. Racines d' <i>Isolona cooperi</i> .....                      | 216        |
| <b>4. Description des composés isolés .....</b>                     | <b>217</b> |
| <b>5. Modulation structurale .....</b>                              | <b>253</b> |
| 5.1. Réaction d'hydrogénation .....                                 | 253        |
| 5.1.1. Mode opératoire .....                                        | 253        |
| 5.1.2. Résultats .....                                              | 253        |
| 5.2. Réaction d'acétylation .....                                   | 254        |
| 5.2.1. Mode opératoire .....                                        | 254        |
| 5.2.2. Résultats .....                                              | 254        |
| 5.3. Réduction de cycle .....                                       | 255        |
| 5.3.1. Mode opératoire .....                                        | 255        |
| 5.3.2. Résultats .....                                              | 255        |
| 5.4. Oxydation par le tétr oxyde d'osmium (OsO <sub>4</sub> ) ..... | 256        |
| 5.4.1. Mode opératoire .....                                        | 256        |
| 5.4.2. Résultats .....                                              | 256        |
| <b>Références bibliographiques .....</b>                            | <b>259</b> |
| <b>Annexes .....</b>                                                | <b>282</b> |
| <b>Listes .....</b>                                                 | <b>283</b> |
| Liste des figures .....                                             | 281        |
| Liste des tableaux .....                                            | 284        |
| Liste des photos .....                                              | 286        |
| Abréviations .....                                                  | 289        |
| Résumé .....                                                        | 291        |
| Summary .....                                                       | 292        |

# Introduction

---

Selon l'OMS, plus de 80% de la population des pays en développement ont encore recours à la médecine traditionnelle. Cette situation s'expliquerait par la difficulté qu'ont ces populations à accéder aux thérapeutiques modernes en raison de leur coût élevé et/ou de leur indisponibilité. Concernant les maladies infectieuses et parasitaires, l'apparition de résistances vis-à-vis des traitements classiques s'ajoute aux difficultés économiques et logistiques.

Afin d'avoir à notre disposition davantage de traitements et de pallier les résistances développées par les micro-organismes, le recours aux plantes médicinales a montré sa pertinence, aussi bien historiquement que de façon contemporaine. C'est le cas par exemple de la quinine (d'origine naturelle), longtemps utilisée comme médicament de référence dans le traitement du paludisme, et actuellement délaissée en faveur de l'artémisinine extraite d'*Artemisia annua*. Les produits naturels occupent donc une place de choix et jouent un rôle important dans le développement de nouvelles thérapeutiques.

Il apparaît donc opportun de déterminer les molécules responsables de l'activité pharmacologique de plantes pour lesquelles l'usage traditionnel est confirmé scientifiquement afin de découvrir de nouveaux composés biologiquement actifs. Ceci explique l'intérêt que portent les laboratoires de Chimie Organique Biologique de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan et le Laboratoire de Pharmacognosie de la Faculté de Pharmacie de l'Université Paris-Sud à l'étude phytochimique des plantes de la pharmacopée traditionnelle africaine. C'est d'ailleurs dans cette optique que nous avons entrepris l'étude de *Mallotus oppositifolius* et *Isolona cooperi*, deux plantes de la pharmacopée ivoirienne utilisées en tant qu'antiparasitaires.

En effet, *M. oppositifolius* est une plante de la famille des Euphorbiaceae dont les extraits de différents organes ont montré des activités anti-inflammatoire, antioxydante<sup>1,2</sup>, antifongique<sup>3</sup>, antiparasitaire<sup>4,5</sup>, antidiarrhéique<sup>6</sup>, et antibactérienne. Malgré ses potentialités

---

<sup>1</sup> Atawodi SE. Antioxidant potential of African medicinal plants. *Afr. J. Biotechnol.*, **2005**, 4, 2, 128-133.

<sup>2</sup> Farombi EO, Ogundipe O, Moody JO. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Mallotus oppositifolium* in model systems. *Afr. J. Med. Sci.*, **2001**, 30, 3, 213-215.

<sup>3</sup> Adekunle AA, Ikumapayi AM. Antifungal property and phytochemical screening of the crude extracts of *Funtumia elastica* and *Mallotus oppositifolius*. *West Indian Med. J.*, **2006**, 55, 4, 219-223.

<sup>4</sup> Kamanzi AK, Schmid C, Brun R, Kone MW, Traore D. Antitrypanosomal and antiplasmodial activity of medicinal plants from Côte d'Ivoire. *J. Ethnopharmacol.*, **2004**, 90, 221-227.

<sup>5</sup> Okpekon T. Etude chimique et biologique de plantes ivoiriennes utilisées en médecine traditionnelle en tant qu'antiparasitaire : *Aframomum sceptrum* K. Schum. (Zingiberaceae), *Bridelia ferruginea* Benth. (Euphorbiaceae), *Isolona cooperi* Hutch. & Dalz. et *Uvaria afzelii* Sc. Elliot (Annonaceae). Doctorat de l'Université Paris XI, Paris, **2006**.

<sup>6</sup> Kamgang R, Kamgne EVP, Fonkoua M C, Beng VPN, Sida MB. Activities of aqueous extracts of *Mallotus oppositifolium* on *Shigella dysenteriae* A1-induced diarrhoea in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **2006**, 33 (1/2), 89-94.

pharmacologiques, peu de données phytochimiques étaient disponibles pour cette plante, ce qui a motivé son étude.

La seconde plante, *Isolona cooperi*, appartient à la famille des Annonaceae. L'étude de divers extraits de la plante par **Okpekon** en 2006 a permis de mettre en évidence des activités antiparasitaires intéressantes. Deux lactones dont une de structure nouvelle, l'apoprunellelactone, et un alcaloïde bisbenzyltétrahydroisoquinoléinique ont été isolés au cours de cette étude. Par ailleurs, les huiles essentielles des feuilles, des écorces de tige et de racine ont été étudiées<sup>7</sup>.

Les travaux présentés dans cette thèse consistent en l'isolement, la purification, la détermination structurale des composés de ces plantes, et en l'évaluation de l'activité antiparasitaire des extraits totaux et des composés purifiés. Nos objectifs ont été la caractérisation chimique des espèces étudiées et l'évaluation des activités antiparasitaires des composés isolés en vue de la justification scientifique de l'utilisation traditionnelle de ces plantes.

La dernière partie de cette étude sera consacrée à l'hémisynthèse d'analogues structuraux de l'apoprunellelactone et à leur évaluation biologique. Cette lactone évaluée sur *Leishmania donovani* et *L. major*, agents responsables de la leishmaniose, a montré une activité prometteuse qui pourrait être améliorée par le développement d'analogues plus actifs.

---

<sup>7</sup> Boti JB, Koukoua G, N'guessan TY, Muselli A, Bernardini A-F, Casanova J. Composition of the leaf, stem bark and root bark oils of *Isolona cooperi* investigated by GC (retention index), GC-MS and <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy. *Phytochem. Anal.*, **2005**, 16, 357-363.

# PREMIERE PARTIE

PREMIERE PARTIE



ETUDE CHIMIQUE DE *MALLOTUS*  
*OPPOSITIFOLIUS* (EUPHORBIACEAE)

---

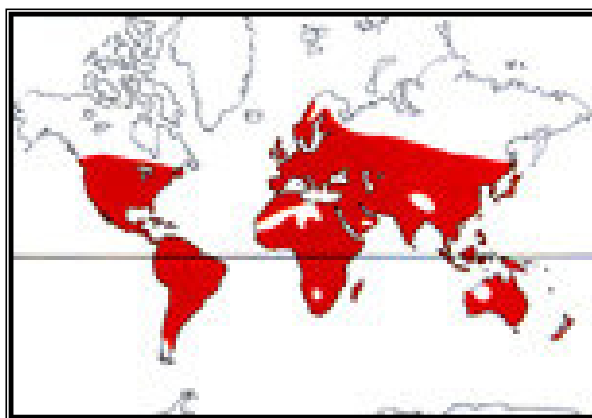
# 1. Description de la plante

## 1.1. La famille des Euphorbiaceae

### 1.1.1. Présentation

La famille des Euphorbiaceae appartient au grand groupe des Angiospermes, classe des Eudicots, sous-classe des Eurosidae I (ou Fabidae), ordre des Malpighiales (nomenclature **APG III**).

Les Euphorbiaceae *sensu lato* constituent une vaste famille de 317 genres regroupés en 52 tribus et cinq (5) sous-familles que sont les Crotonoïdeae, les Euphorbioïdeae, les Phyllanthoïdeae, les Oldfieldioïdeae et les Acalyphoïdeae<sup>8</sup>. Ce sont des plantes cosmopolites (Figure I.1.1.1) qui se trouvent cependant le plus fréquemment en Amérique et en Afrique tropicale<sup>9, 10</sup>.



**Figure I.1.1.1:** Répartition des Euphorbiaceae dans le monde  
([http://www.plantes-botanique.org/famille\\_euphorbiaceae](http://www.plantes-botanique.org/famille_euphorbiaceae))

Nous donnons ici une liste de quelques genres appartenant à cette famille : *Aleurites*, *Breynia*, *Croton*, *Euphorbia*, *Hevea*, *Hippomane*, *Jatropha*, ***Mallotus***, *Manihot*, *Mercurialis*, *Phyllanthus*, *Plukenetia*, *Ricinus*<sup>11</sup>.

D'aspect très variable, les Euphorbiaceae sont des plantes herbacées annuelles ou vivaces, des lianes, des arbustes ou des arbres. Certaines espèces ont des tiges succulentes et/ou avec du latex. Les feuilles sont de formes diverses. Elles sont alternes ou opposées généralement stipulées, souvent très réduites. Cependant, certaines espèces possèdent des feuilles palmées ou non, entières ou dentées, lobées ou composées. Les stipules sont libres et persistantes ; elles sont souvent réduites à des soies, à des glandes ou à des épines.

<sup>8</sup> Webster GL. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, **1994**, 81, 1, 33-144.

<sup>9</sup> [http : //www.cactuspro.com/encyclo/Euphorbiaceae](http://www.cactuspro.com/encyclo/Euphorbiaceae) (consulté le 30/10/13)

<sup>10</sup> [http : //www.afleurdepau.com/Flore/euphorbiaceae/f.htm](http://www.afleurdepau.com/Flore/euphorbiaceae/f.htm) (consulté le 30/10/13)

<sup>11</sup> Watson L, Dallwitz MJ, (1992 onwards). The Families of Flowering Plants: Descriptions, Illustrations, Identification and Information Retrieval. Version: 14<sup>th</sup> December 2000.

Les inflorescences sont terminales ou axillaires. Les fleurs, unisexuées et actinomorphes, sont le plus souvent disposées en racèmes, en épis ou en panicules cymeuses. Les segments du périanthe peuvent être libres, soudés ou imbriqués, quelquefois réduits ou absents. Les fruits sont généralement en capsules constitués de deux à trois lobes contenant chacun un ou deux ovules. Certaines espèces ont des graines albuminées (une à deux graines par lobe, rarement une par fruit) et pourvues d'une caroncule<sup>8,12</sup>.

### 1.1.2. Intérêt nutritionnel, pharmacologique, écologique et commercial

De nombreuses espèces sont cultivées par l'homme pour des raisons économiques, nutritionnelles, ornementales et médicales. C'est le cas de l'hévéa (*Hevea brasiliensis*), du ricin (*Ricinus communis*), du manioc (*Manihot esculenta*) et des espèces des genres *Croton*, *Euphorbia* (*Euphorbia pulcherrima*), *Acalypha* et *Jatropha*.



*Hevea brasiliensis*



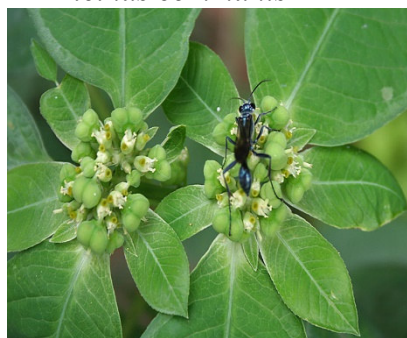
*Manihot esculenta*



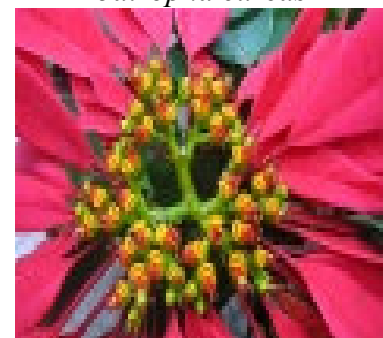
*Ricinus communis*



*Jatropha curcas*



*Euphorbia heterophylla*



*Euphorbia pumcherrima*

**Photo I.1.1 : Quelques espèces d'Euphorbiaceae**

<sup>12</sup> De Jussieu AL. *Genera Plantarum*, 283, 1789

En effet, les espèces du genre *Jatropha* sont des sources d'huiles industrielles<sup>13,14</sup> ; nous pouvons citer entre autres, *Jatropha macrocarpa* et *J. curcas* utilisées pour la production de biocarburants<sup>15,16,17,18</sup>.

En médecine traditionnelle, les Euphorbiaceae sont utilisées dans de nombreuses régions pour le traitement des maladies gastro-intestinales<sup>19,20,21</sup>, du diabète, du cancer<sup>22</sup>, du paludisme, des rhumatismes, des maladies cardiovasculaires<sup>23,24</sup> et de la syphilis. Elles sont également utilisées pour le traitement d'infections respiratoires, des maux de dents, de la toux et des maladies vénériennes<sup>24</sup>.

Par ailleurs, elles possèdent des propriétés purgatives<sup>15,25</sup>, cicatrisantes<sup>26</sup>, antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, hémostatiques, contraceptives et anthelminthiques<sup>27,28,29,30</sup>. En outre des propriétés antioxydantes, insecticides, anti-coagulantes, hépatoprotectrices,

---

<sup>13</sup> Mayworm MAS, Do Nascimento AS, Salatino A. Seeds of species from the "caatinga": proteins, oils and fatty acid contents. *Rev. Bras. de Bot.*, **1998**, 21, 3.

<sup>14</sup> Kleiman R, Smith CR, Yates SG, Jones Q. Search for new industrial oils. XII. Fifty-eight Euphorbiaceae oils, including one rich in vernolic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1965**, 42, 169-172.

<sup>15</sup> Aranda-Rickert A, Morzán L, Fracchia S. Seed oil content and fatty acid profiles of five Euphorbiaceae species from arid regions in Argentina with potential as biodiesel source. *Seed Sci. Res.*, **2011**, 21, 63-68.

<sup>16</sup> King AJ, HE W, Cuevas JA, Freudenberger M, Ramiamanana D, Graham IA. Potential of *Jatropha curcas* as a source of renewable oil and animal feed. *J. Exp. Bot.*, **2009**, 60, 2897-2905.

<sup>17</sup> Francis G, Edinger R, Becker K. A concept for simultaneous wasteland reclamation, fuel production, and socio-economic development in degraded areas in India: need, potential and perspectives of *Jatropha* plantations. *Natural Resources Forum*, **2005**, 29, 12-24.

<sup>18</sup> Kandpal JB, Madan M. *Jatropha curcas* : a renewable source of energy for meeting future energy needs. *Renew. Energ.*, **1995**, 6, 159-160.

<sup>19</sup> Hernández T, Canales M, Avila JG, Duran A, Caballero J, Romo de Vivar A and Lira R. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (Mexico). *J. Ethnopharmacol.*, **2003**, 88 (2-3), 181-188.

<sup>20</sup> Beutler JA, McCall KL, Boyd MR. A novel geranylflavone from *Macaranga schweinfurthii*. *Nat. Prod. Lett.*, **1999**, 13, 29-32.

<sup>21</sup> De Almeida ABA, Melo PS, Hiruma-Lima CA, Gracioso JS, Carli L, Nunes DS, Haun M and Souza Brito ARM. Antiulcerogenic effect and cytotoxic activity of semi-synthetic crotonin obtained from *Croton cajucara* Benth. *European Journal of Pharmacology*, **2003**, 472, 3, 205-212.

<sup>22</sup> Lopes MI, Saffi J, Echeverrigaray S, Pêgas Henriques JA and Salvador M. Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. *J. Ethnopharmacol.*, **2004**, 95 (2-3), 437-445.

<sup>23</sup> Frankel F, Boyd LC. Inhibition of oxidation of human low density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet*, **1993**, pp.341.

<sup>24</sup> Oliver B. Medicinal plants in Nigeria. Nigerian College of Arts, *Science and Technology*, **1960**, Lagos.

<sup>25</sup> Mampane KJ, Joubert PH, Hay IT. *Jatropha curcas*: use as a traditional Tswana medicine and its role as a cause of acute poisoning. *Phytother. Res.*, **1987**, 1, 50-51.

<sup>26</sup> Esmeraldino LE, Souza AM, Sampa SV. Evaluation of the effect of aqueous extract of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) on the hemorrhagic activity induced by the venom of *Bothrops jararaca*, using new techniques to quantify hemorrhagic activity in rat skin. *Phytomedicine*, **2005**, 12, 8, 570-576.

<sup>27</sup> Seigler DS. Phytochemistry and systematic of the Euphorbiaceae. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, **1994**, 81, 2, 380-401.

<sup>28</sup> Chhabra SC, Mahunnah RLA, Mshiu EN. Plants used in traditional medicine in eastern Tanzania. III. Angiosperms (Euphorbiaceae to Menispermaceae). *J. Ethnopharmacol.*, **1990**, 28, 255-283.

<sup>29</sup> Noachovitch G. Nourrir pertinemment tous les hommes. *R. Tiers Monde*, **1979**, 20, 80, 795-819.

<sup>30</sup> Busson F, Bergeret B. Contribution à l'étude chimique des feuilles de manioc *Manihot ultissima* POHL Euphorbiacées. *Médecine tropicale*, **1958**, Vol. 18, N°1.

cytotoxiques, antiplasmodiales, antitumorales et antivirales ont été mises en évidence chez différentes espèces de *Jatropha*<sup>31</sup>.

Certaines espèces telles que *Mallotus oppositifolius*, *Euphorbia hirta*, *E. heterophylla* et *E. hyssopifolia*, comme les Poaceae<sup>32,33</sup>, ont la capacité d'absorber les métaux lourds (vanadium, plomb, nickel, aluminium, zinc, etc.) des huiles usagées des moteurs. Elles contribuent à dépolluer les sols sur lesquels elles poussent qui contiennent ces éléments<sup>32,34,35,33</sup>. Les espèces comme *E. pulcherrima*, *E. dendroides* produisent une sève laiteuse toxique très irritante pour les yeux, la peau et les muqueuses.

### 1.1.3. Chimie des Euphorbiaceae

Divers types de métabolites secondaires ont été identifiés et/ou isolés de cette famille de plantes. Les plus fréquemment rencontrés sont des **terpénoïdes**, notamment des diterpènes et des triterpènes surtout dans le latex de certaines espèces. Les **alcaloïdes**, les **glycosides cyanogènes**, les **glucosinolates**, les **anthocyanes**, les **stéroïdes** et les **tanins** font aussi partie de ces métabolites courants. D'autres groupes de composés comme les **acides aminés**, les **coumarines**, les **flavonoïdes** et les **lignanes** sont par contre faiblement représentés chez cette famille<sup>36,27</sup>.

## 1.2. Le genre *Mallotus*

### 1.2.1. Présentation

Le genre *Mallotus*, décrit pour la première fois par De Loureiro en 1790 avec une seule espèce, *Mallotus paniculatus* (ex *M. cochinchinensis*), appartient à l'ordre des Malpighiales, à la famille des Euphorbiaceae, à la sous-famille des Acalyphoideae, tribu des Acalypheae, sous

---

<sup>31</sup> Sabandar CW, Ahmat N, Jaafar FM, Sahidin I. Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): A review. *Phytochem.*, **2013**, 85, 7-29.

<sup>32</sup> Anoliefo GO, Ikhajagbe B, Okonofhua BO, Diafe FV. Eco-taxonomic distribution of plant species around motor mechanic workshops in Asaba and Benin City, Nigeria : Identification of oil tolerant plant species. *African Journal of Biotechnology*, **2006**, Vol. 5, 19, 1757-1762.

<sup>33</sup> Gibson JP, Pollard AJ. Zn tolerance in *Panicum virgatum* L. (Switch grass) from the pitcher mine area. *Proc. Oklahoma Academy Sci.*, **1988**, 68, 45-48.

<sup>34</sup> Prasad MNV, Freitas H. Metal hyperaccumulation in plants- Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electron J. Biotechnol.*, **2003**, 3, 6.

<sup>35</sup> Cunningham SD, Lee CR. Phytoremediation: Plant-based remediation of contaminated soils and sediments. Bioremediation: Science, Application, Regulation and Technology. *Soil Science Society of America Special Publication*, Madison, **1995**, 145-156.

<sup>36</sup> Guy BK, Akhanovna MJB, Odette DD, Jonathan GS, Yves-Alain B. Sur la composition phytochimique qualitative des extraits bruts hydrométhanoliques des feuilles de 6 cultivars de *Manihot esculenta* Crantz de Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, **2010**, 45, 2, 200-211.

tribu des Rottlerinae (Euphorbiaceae s.s.)<sup>37,38,8</sup>. Il compte environ 150 espèces dont 140 se rencontrent dans l'Est et le Sud-Est de l'Asie, depuis l'Indo Malaisie jusqu'à la Nouvelle-Calédonie et les Fidji, et dans l'Est et l'Ouest de l'Australie. Seulement deux espèces se rencontrent en Afrique tropicale et à Madagascar<sup>39</sup> : il s'agit de *Mallotus baillonianus* Müll. Arg, une plante endémique à Madagascar, et de *M. oppositifolius* (Geiseler) Müll. Arg.<sup>40</sup>. Les *Mallotus* sont des arbres, des arbustes et des lianes largement répandus en Asie tropicale et tempérée<sup>40,37,41</sup>. Ils poussent dans les forêts humides primaires ou secondaires à feuilles persistantes. On les retrouve également dans les forêts décidues, caractérisées par la présence d'une majorité d'arbres dont les feuilles tombent au rythme des saisons. Les *Mallotus* se rencontrent souvent en zones montagneuses à des altitudes inférieures à 1000 mètres<sup>40</sup>. Par ailleurs, certaines espèces comme *Mallotus oreophilus* Müll. Arg. peuvent se retrouver à des altitudes de 2000 mètres<sup>42</sup>. Les espèces du genre *Mallotus* se caractérisent par des feuilles persistantes, alternes ou opposées, de tailles inégales, en spirales ou déroulées. Elles sont généralement simples et entières avec des stipules réduites à des soies ou à des glandes colorées, palmatinervées ou non. On note également une absence de laticifères<sup>8,37</sup>. Les fleurs, mâles ou femelles, sont régulières, apétales et disposées en panicules, en racèmes ou pointues. Par ailleurs, l'inflorescence peut se réduire en une seule fleur terminale ou axillaire. Le réceptacle floral comporte un androcée avec des constituants détachés du périanthe, ou ne comporte ni androcée, ni gynécée. Chez les fleurs femelles, les étamines (20 à 200) sont fertiles. Les stigmates (au nombre de trois) sont soudés, tordus et courts (0,7 mm à 11mm). L'ovaire est constitué de trois loges uniovulées ; les styles (au nombre de trois) sont simples, libres ou partiellement soudés et apicaux. La placentation est axillaire ou apicale. Les fruits, charnus (espèces succulentes) ou non, sont déhiscents ou peu déhiscents. Les graines (une par méricarpe) de ces fruits sont globulaires<sup>37,43,44</sup>. Les espèces du genre *Mallotus* se reproduisent généralement par des graines<sup>40</sup>.

<sup>37</sup> Sierra SEC, Van Welzen PC et Suk JWF. A taxonomic revision of *Mallotus* section Philippinenses (Former section Rottlera-Euphorbiaceae) in Malesia and Thailand. *Blumea*, **2005**, 50, 221-248.

<sup>38</sup> Nowicke JW, Takahashi M. Pollen morphology, exine structure, and systematics of Acaphyloideae (Euphorbiaceae), Part 4, *Rev Paleobot Palynol*, **2002**, 121:231-336.

<sup>39</sup> Schatz GE. Flore générique des arbres de Madagascar. *Royal Botanic gardens*, Kew & Missouri Botanical Gardens, Saint-Louis, **2001**, 503p.

<sup>40</sup> Rivière C, Nguyen Thi Hong V, Tran Hong Q, Chataigné G, Nguyen Hoai N, Dejaegher B, Tistaert C, Nguyen Thi Kim T, Vander Heyden Y, Chau Van M, Quetin-Leclercq. *Mallotus* species from Vietnamese mountainous areas: phytochemistry and pharmacological activities, *Phytochem Rev*, **2010**, 9, 2, 217-253.

<sup>41</sup> Arisawa M. Chemical constituents and biological activity of genus *Mallotus* (Euphorbiaceae). *Foods Food Ingredients J. Jpn*, **1997**, 171, 68-75.

<sup>42</sup> Thin NN. *Euphorbiaceae* Juss., 1789-Thau dau (Dai kich) family. In: Ban NT (ed) The appendix of Vietnamese plant species, vol II. *Agriculture Publishing House*, Hanoi, **2003**, 626-633.

<sup>43</sup> Kulju KKM, Sierra SEC, Draisma SGA, Samuel R, Van Welzen PC. Molecular phylogeny of *Macaranga*, *Mallotus* and related genera (Euphorbiaceae s.s): Insights from plastid and nuclear DNA sequence data. *Am. J. Bot.*, **2007**, 94, 1726-1743.

<sup>44</sup> Sierra SEC, Aparicio M, Kulju KKM, Fiser ZR-S. *Mallotus*. Part I : Expanded circumscription and revision of the genus *Cordemoya* (Euphorbiaceae). *Blumea*, **2006**, 51, 519-540.

### 1.2.2. Propriétés pharmacologiques des *Mallotus*

Diverses espèces du genre *Mallotus* sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses affections.



*Mallotus japonicus*



*Mallotus philippensis*



*Mallotus repandus*



*Mallotus apelta*

**Photo I.1.2: Quelques espèces du genre *Mallotus***

Ainsi les écorces de *Mallotus japonicus* sont utilisées contre les maux de ventre au Japon, l'ulcère duodénal et gastrique en Chine, et contre les acnés<sup>45</sup>. Les fruits de *M. philippinensis* sont utilisés contre les vers intestinaux, la constipation, les fièvres, les morsures de serpents<sup>8</sup> et comme aphrodisiaques. En application externe, ils sont utilisés contre les dermatoses, les infections urinaires et comme antiseptiques pour les oreilles<sup>46</sup>.

Les racines de *M. barbatus* et *M. nepalensis* sont respectivement utilisées contre les hémorragies et les fractures osseuses. Les racines et les tiges de *M. repandus* sont utilisées contre les fièvres, les cirrhoses de foie, les ulcères gastriques, les morsures de serpents, les arthrites rhumatismales et comme insecticides<sup>41,45,47</sup>. Cette plante est également utilisée comme anti-inflammatoire et antihépatotoxique<sup>47,48</sup>.

<sup>45</sup> Ishii R, Horie M, Saito K, Arisawa M, Kitanaka S. Inhibitory effects of phloroglucinol derivatives from *Mallotus japonicus* on nitric oxide production by a murine macrophage-like cell line, RAW 264.7, activated by lipopolysaccharide and interferon- $\gamma$ . *Biochim. Biophys. Acta*, **2001**, 1568, 74-82.

<sup>46</sup> Iqbal Z, Jabbar A, Akhtar MS, Muhammad G, Lateef M. Possible role of ethnoveterinary medicine in poverty reduction in Pakistan: Use of botanical anthelmintics as an example. *J. Agri. Soc. Sci.*, **2005**, 1, 2, 187-195.

<sup>47</sup> Sutthivaiyakit S, Thongtan J, Pisutjaroenpong S, Jiaranantanont K, Kongsaree P. D:A Friedo-oleanane Lactones from the stems of *Mallotus repandus*. *J. Nat. Prod.*, **2001**, 64, 569-571.

<sup>48</sup> Huang PL, Wang LW, Lin CN. New triterpenoids of *Mallotus repandus*. *J. Nat. Prod.*, **1999**, 62, 891-892.

En raison de leurs nombreuses utilisations traditionnelles, les *Mallotus* ont fait l'objet de nombreuses évaluations biologiques. En effet, la plupart des espèces évaluées ont montré, *in vitro*, une activité importante sur les cellules KB<sup>41</sup>, des activités anti-inflammatoire, antipyrétique<sup>49</sup>, hépatoprotectrice<sup>50</sup>, antimicrobienne, antivirale, anti-oxydante et cytotoxique<sup>51,52,53</sup>. L'extrait aqueux du cortex et du péricarpe de *Mallotus japonicus* a montré des activités antitumorale, antiherpétique et antivirale. L'inhibition de la prostaglandine E2 (lipide dérivé de l'acide arachidonique facilitant l'initiation de la thrombose artérielle et aggravant l'athérothrombose) et de la transcriptase du Virus d'Immuno Déficience Humaine (VIH/RT) par cet extrait ont été décrites<sup>41,54</sup>. La VIH/RT est également inhibée par l'extrait aqueux de *M. apelta*<sup>55</sup>. Par ailleurs, le péricarpe de *M. japonicus* est décrit comme étant capable de réduire la production de monoxyde d'azote (NO) dont l'excès dans l'organisme est néfaste pour les tissus<sup>41,45</sup>.

Les tiges et les rhizomes de *M. repandus* possèdent des propriétés anti-inflammatoire, anti hépatotoxique et cytotoxique. Les péricarpes de *M. philippinensis* sont ténicides et anthelminthiques<sup>41</sup>. Les extraits alcooliques de *Mallotus stenanthus*, *M. roxburghianus* et *M. nepalensis* ont montré respectivement des activités anti-tumorale<sup>41</sup>, anti-oxydante<sup>56</sup> et antidépressive<sup>57</sup>.

### 1.2.3. Phytochimie des *Mallotus*

Les investigations chimiques sur les constituants du genre *Mallotus* ont débuté en 1855 par Anderson qui isola la rottlerine (Figure I.1.2.3.7b2a), un composé phénolique<sup>41</sup>. Depuis cette date, différentes études phytochimiques réalisées dans ce genre ont permis de mettre en évidence, en plus des **composés phénoliques**, des **terpénoïdes**, des **stéroïdes**, des **acides gras insaturés**, des **amides**, des **phtalates** et des **alcaloïdes**. Dans la section suivante, nous présentons chacun de ces groupes de composés étayés par quelques exemples.

<sup>49</sup> Chattopadhyay D, Arunachalam G, Mandal AB, Sur TK, Mandal SC, Bhattacharya SK. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of folklore *Mallotus peltatus* leaf extract. *J. Ethnopharmacol.*, **2002a**, 82, 229-237.

<sup>50</sup> Kim HS, Lim HK, Chung MW, Kim YC. Antihepatotoxic activity of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride-intoxicated hepatocytes. *J. Ethnopharmacol.*, **2000**, 69, 79-83.

<sup>51</sup> Rivière C, Nguyen VTH, Pieters L, Dejaegher B, Vander HY, Chau VM, Quetin-Leclercq J. Polyphenols isolated from antiradical extracts of *Mallotus metcalfeanus*. *Phytochem.*, **2009**, 70, 1, 86-94.

<sup>52</sup> Arfan M, Amin H, Karamać M, Kosińska A, Amarowicz R, Shahidi F. Antioxidant activity of extracts of *Mallotus philipensis* fruits and bark. *Journal of food lipids*, **2007**, 14, 280-297.

<sup>53</sup> Kumar VP, Chauhan NS, Padh H, Rajani M. Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, **2006**, 107, 182-188.

<sup>54</sup> Arisawa M. Constituents of the pericarps of *Mallotus japonicus* (Euphorbiaceae). *Toyama Japan Yakugaku Zasshi*, **2003**, 123, 4, 217-224.

<sup>55</sup> Cheng XF, Chen ZL. Chemical study on *Mallotus apelta*. 223<sup>rd</sup> ACS National Meeting, Orlando, United States, April 7-11, **2002**.

<sup>56</sup> Rana VS, Rawat MSM, Pant G, Nagatsu A. Chemical constituents and antioxidant activity of *Mallotus roxburghianus*. *Chem. Biodivers.*, **2005**, 2, 6, 792-798.

<sup>57</sup> Rastogi S, Mehrotra BN, Kulshreshtha DK. Constituents of *Mallotus nepalensis* Muell. Arg.: A mild CNS depressant. *Nat. Prod. Sci.*, **2004**, 10, 5, 237-239.

### 1.2.3.1. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes constituent un ensemble très vaste de métabolites secondaires des règnes animal et végétal. Ils sont formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées, dérivées du 2-méthyl butadiène<sup>58,59</sup>. Les terpénoïdes sont des composés doués de propriétés biologiques multiples. En effet, ils ont des propriétés antimicrobienne<sup>60,61,62</sup>, anti-inflammatoire<sup>63,64</sup>, antitumorale<sup>65,66</sup>, insecticide<sup>67</sup> et neuroprotective<sup>68</sup>.

Les terpénoïdes isolés à partir des espèces du genre *Mallotus* sont principalement des **sesquiterpènes**<sup>69</sup>, des **diterpènes**, des **triterpènes**, des **caroténoïdes**, des **iridoïdes** et des **polyprénols**.

#### 1.2.3.1.1. Les iridoïdes

Les iridoïdes *stricto sensu* sont des monoterpènes caractérisés par un squelette cyclopenta [c] pyranique. Ces composés existent généralement sous forme d'hétérosides. Ils tirent leurs noms de celui de fourmis du genre *Iridomirmex* à partir desquelles des composés impliqués dans leur mécanisme de défense (iridodial, iridomyrmécine et composés apparentés) furent isolés<sup>59</sup>. Ils sont présents aussi bien chez les animaux que chez les végétaux et interviennent dans les interactions plante-animal.

---

<sup>58</sup> Carneiro VA, Santos HS, Arruda FVS, Bandeira PN, Albuquerque MRJR, Pereira MO, Henriques M, Cavada BS, Teixeira EH. Casbane Diterpene as a Promising Natural Antimicrobial Agent against Biofilm-Associated Infections. *Molecules*, **2011**, 16, 190-201.

<sup>59</sup> Bruneton J. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> Édition. Éd. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, **2009**, 1120 p.

<sup>60</sup> Souza AB, Martins CH, Souza MG, Furtado NA, Heleno VC, de Sousa JP, Rocha EM, Bastos JK, Cunha WR, Veneziani RC, Ambrósio SR. Antimicrobial activity of terpenoids from *Copaifera langsdorffii* Desf. against cariogenic bacteria. *Phytother. Res.*, **2011**, 25, 2, 215-220.

<sup>61</sup> Sarikahya NB, Kirmizigül. Antimicrobial triterpenoid glycosides from *Cephalaria scoparia*. *J. Nat. Prod.*, **2010**, 73, 825-830.

<sup>62</sup> Griffin SG, Wyllie SG, Markham JL, Leach DN. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour Frag. J.*, **1999**, 14, 322-332.

<sup>63</sup> Han Y. Ginkgo terpene component has an anti-inflammatory effect on *Candida albicans*-caused arthritic inflammation. *Int. Immunopharmacol.*, **2005**, 5, 1049-1056.

<sup>64</sup> Houghton PJ, Mensah AY, Iessa N, Hong LY. Terpenoids in *Buddleja*: relevance to chemosystematics, chemical ecology and biological activity. *Phytochemistry*, **2003**, 64, 385-393.

<sup>65</sup> Lage H, Duarte N, Coburger C, Hilgeroth A, Ferreira MJU. Antitumor activity of terpenoids against classical and atypical multidrug resistant cancer cells. *Phytomedicine*, **2010**, 17, 441-448.

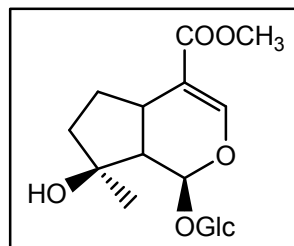
<sup>66</sup> Murakami A, Tanaka T, Lee J-Y, Surh Y-J, Kim HW, Kawabata K, Nakamura Y, Jiwajinda S, Ohigashi H. Zerumbone, a sesquiterpene in subtropical ginger, suppresses skin tumor initiation and promotion stages in ICR mice. *International Journal of Cancer*, **2004**, 110, 481-490.

<sup>67</sup> Grodnitzky JA, Coats JR. QSAR evaluation of monoterpene's insecticidal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, 50, 4576-4580.

<sup>68</sup> Chang H-J, Kim HJ, Chun HS. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) for neuroprotective activity of terpenoids. *Life Sciences*, **2007**, 80, 835-841.

<sup>69</sup> Ramalakshmi S, Muthuchelian K. Analysis of bioactive constituents from the leaves of *Mallotus tetracoccus* (Roxb.) KURZ, by gas chromatography-mass spectrometry. *IJPSR*, **2011**, 2, 6, 1449-1454.

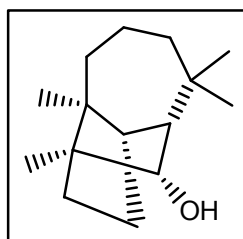
Chez les *Mallotus*, un seul membre de cette famille, un glycoside, la **mussaenoside** (Figure I.1.2.3.1a) a été isolé de l'extrait à l'acétate d'éthyle des tiges de *M. apelta*<sup>70</sup>.



**Figure I.1.2.3.1a : Structure de la mussaenoside isolée de *Mallotus apelta***

#### 1.2.3.1.2. Les sesquiterpénoïdes

Ce sont des terpénoïdes constitués de quinze atomes de carbone. Un grand nombre de sesquiterpènes sont des constituants des huiles essentielles des végétaux supérieurs. Dans cette famille de molécules, le longibornéol (Figure I.1.2.3.1b) a été identifiée par GC-MS à partir de l'extrait éthanolique de *Mallotus tetracoccus*<sup>69</sup>. Cette molécule présente dans plusieurs plantes possède des propriétés anti-microbienne<sup>71</sup>, anti-tumorale et anti-fongique<sup>72</sup>.



**Figure I.1.2.3.1b : Structure du longibornéol**

#### 1.2.3.1.3. Les diterpénoïdes

Ce sont des dérivés des hydrocarbures en C<sub>20</sub>. Ils se rencontrent surtout dans les résines. Ces composés possèdent des propriétés pharmacologiques diverses. En effet, on leur reconnaît certaines potentialités thérapeutiques telles que des propriétés cytotoxiques, anti-inflammatoires et abortives. Des propriétés anti-tumorale et anti-oxydante ont été décrites respectivement chez les diterpènes tétracycliques et phénoliques. Les diterpènes peuvent également être des antihypertenseurs, des analgésiques et des édulcorants<sup>59</sup>. Chez le genre *Mallotus*, quatre types structuraux ont été mis en évidence : les **rosanes**, les **dolabradanes**, les **diterpènes lactones** et les **cembrénoïdes**.

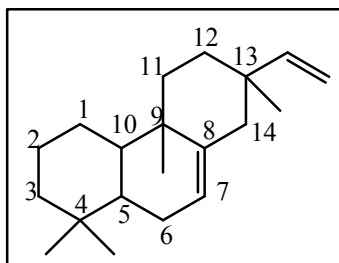
<sup>70</sup> Qi X, Yang Y, Ye Y. Study on chemical constituents from stem of *Mallotus apelta*. *J. Chin. Med. Mater.*, **2005**, 28, 765-766.

<sup>71</sup> Kizil M, Kizil G, Yavuz M, Ayetekin C. Antimicrobial Activity of Resins Obtained from the Roots and Stems of *Cedrus libani* and *Abies Cilicia*. *Appl. Biochem. Micro.*, **2002**, 38, 2, 144-146.

<sup>72</sup> Guo W-X, Yang Q-D, Liu Y-H, Xie X-Y, Wang-Miao, Niu R-C. Palmitic and Linoleic Acids Impair Endothelial Progenitor Cells by Inhibition of Akt/eNOS Pathway. *Arch. Med. Res.*, **2008**, 39, 434-442.

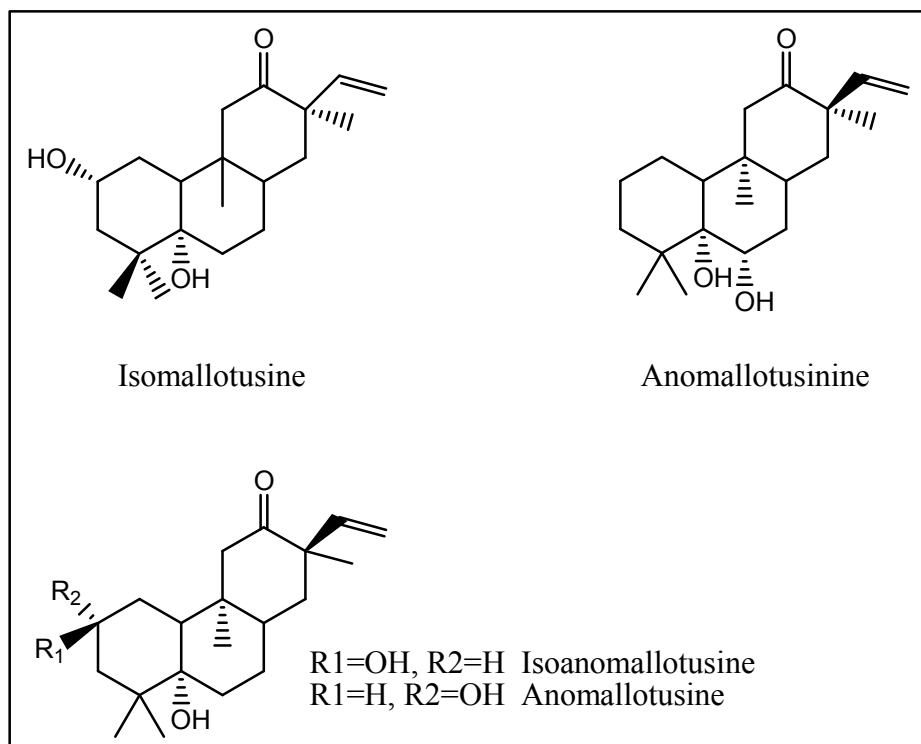
### 1.2.3.1.3.1. Les rosanes

Le squelette rosane est tricyclique de type phénanthrène, diméthylé en position 4 et monométhylé en positions 9 et 13. Il possède deux fonctions éthyléniques dont l'une exocyclique en position 13 et l'autre endocyclique C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub>. Le plus souvent cette dernière est réduite (Figure I.1.2.3.1c1a).



**Figure I.1.2.3.1c1a : Squelette rosane**

C'est le cas des quatre composés de cette structure isolés des parties aériennes de *Mallotus anomalus*, une espèce asiatique (Figure I.1.2.3.1c1b)<sup>73</sup>. Parmi ceux-ci, l'isomallotusine a été décrit comme possédant, *in vitro*, une activité inhibitrice sur les cellules de leucémie P388. Toutefois, il est inactif *in vivo*<sup>41</sup>.

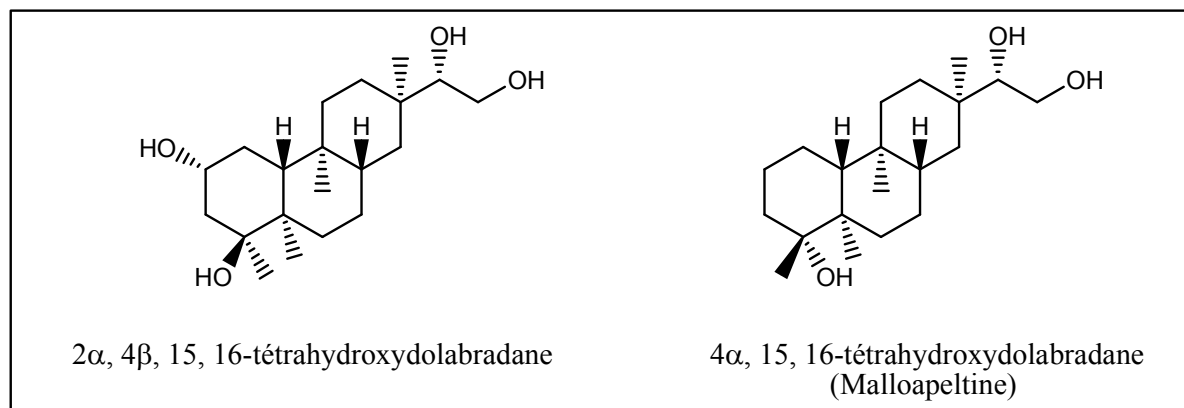


**Figure I.1.2.3.1c1b : Rosanes isolés de *Mallotus anomalus***

<sup>73</sup> Yang Y, Tang Z, Feng S, Xu R, Zhong Q, Zhong Y. Studies on the chemical constituents of *Mallotus anomalus*. III. Structure of new rosane-type diterpenoids. *Huaxue Xuebao*, **1992**, 50, 2, 200-204.

### 1.2.3.1.3.2. Les dolabradanes

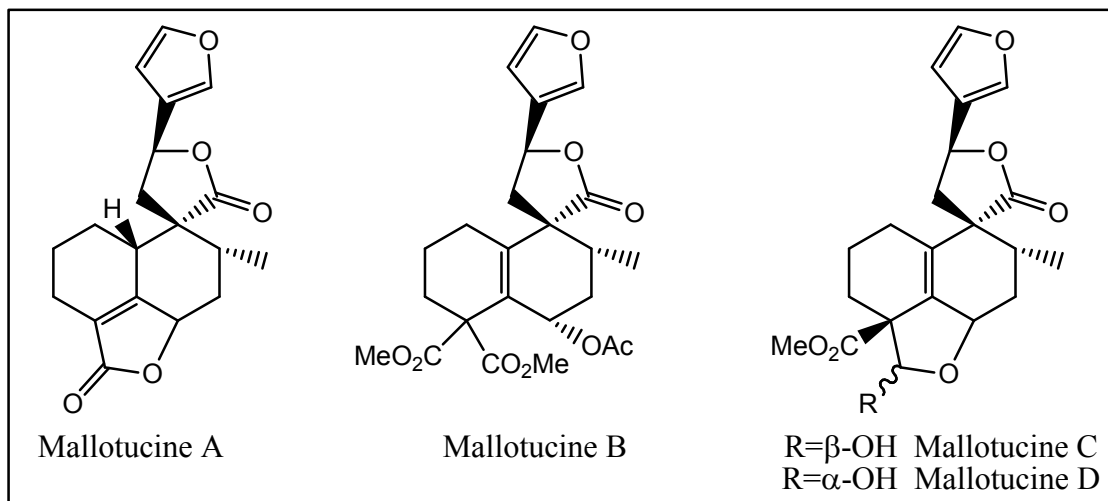
Les dolabradanes sont des diterpènes tricycliques de structure apparentée aux rosanes. Ils diffèrent de ces derniers par l'absence d'un des méthyles en position 4 et par la réduction des doubles liaisons endo- et exocycliques. Deux membres de cette famille de composés ont été isolés de *Mallotus apelta* par **Cheng et al.**<sup>74</sup> en 1999 (Figure I.1.2.3.1c2).



**Figure I.1.2.3.1c2 : Diterpènes de type dolabradane isolés de *Mallotus apelta***

### 1.2.3.1.3.3. Les diterpènes lactones

Ce sont des diterpènes de type naphthalène ayant au moins une fonction lactone dans leur structure. Chez les *Mallotus*, seule *Mallotus repandus* a fourni ce type structural<sup>75,76</sup>.



**Figure I.1.2.3.1c3 : Diterpènes lactones isolés de *Mallotus repandus***

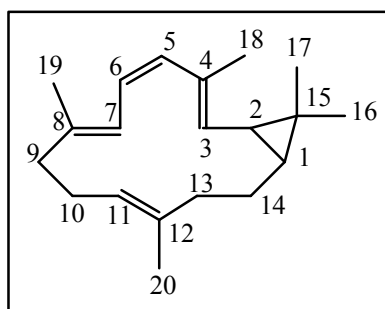
<sup>74</sup> Cheng XF, Chen ZL, Meng ZM. Two new diterpenoids from *Mallotus apelta* Muell. Arg. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **1999**, 1, 163-168.

<sup>75</sup> Nakatsu T, Ito S, Kawashima T. Mallotucin C and D, two diterpenic lactones from *Mallotus repandus*. *Heterocycles*, **1981**, 15, 241-244.

<sup>76</sup> Kawashima T, Nakatsu T, Fukazawa Y, Ito S. Diterpenic lactones of *Mallotus repandus*. *Heterocycles*, **1976**, 5, 227-232.

#### 1.2.3.1.3.4. Les cembrénoïdes

Les cembrénoïdes sont des produits naturels dont le squelette carboné est un macrocycle polyénique à quatorze chaînons. En dehors des végétaux, ce type de squelette a été également retrouvé chez les animaux (termites, fourmis, alligator)<sup>77,78,79,80,81,82</sup>. Plusieurs conformations de ce groupe de composés ont été mises en évidence dans la littérature<sup>83</sup>. Parmi celles-ci, on distingue le squelette casbène qui comporte dans sa structure un cycle cyclopropyle accolé au macrocycle (Figure I.1.2.3.1c4a). Chez la plupart des casbènes décrits dans la littérature, les deux cycles ont une jonction *cis* ; très peu de molécules possèdent une jonction *trans*. Les différentes structures ont le même squelette carboné en RMN ; elles diffèrent les unes des autres soit par le degré d'oxydation, soit par la configuration d'un (ou plus) centre asymétrique<sup>84</sup>.



**Figure I.1.2.3.1c4a : Squelette casbène**

Les casbènes sont des composés extrêmement rares dans la nature ; ils ont été décrits de quelques espèces appartenant aux Euphorbiaceae<sup>84,85</sup>. Dans cette famille, ce type structural a

<sup>77</sup> Duh CY, Wang SK, Weng YL, Chiang MY, Dai CF. Cytotoxic terpenoids from the Formosan soft coral *Nephthea brassica*. *J. Nat. Prod.*, **1999**, 62, 1518-1521.

<sup>78</sup> Mattern DL, Scott WD, McDaniel CA, Weldon PJ, Graves DE. Cembrene A and a congeneric ketone isolated from the paraoral glands of the Chinese alligator (*Alligator sinensis*). *J. Nat. Prod.*, **1997**, 60, 828-831.

<sup>79</sup> Edwards JP, Chambers J. Identification and source of a queen-specific chemical in the Pharaoh's ant, *Monomorium pharaonis* (L.). *J. Chem. Ecol.*, **1984**, 10, 1731-1747.

<sup>80</sup> Wiemer DF, Meinwald J, Prestwich GD, Miura I. Cembrene A and (3Z)-cembrene A:

Diterpenes from a termite soldier (*Isoptera Termitidae Termitinae*). *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, 3950-3952.

<sup>81</sup> Vanderah DJ, Rutledge N, Schmitz FJ, Ciereszko LS. Marine natural products: Cembrene-A and cembrene-C from a soft coral, *Nephthea* sp. *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 1614-1616.

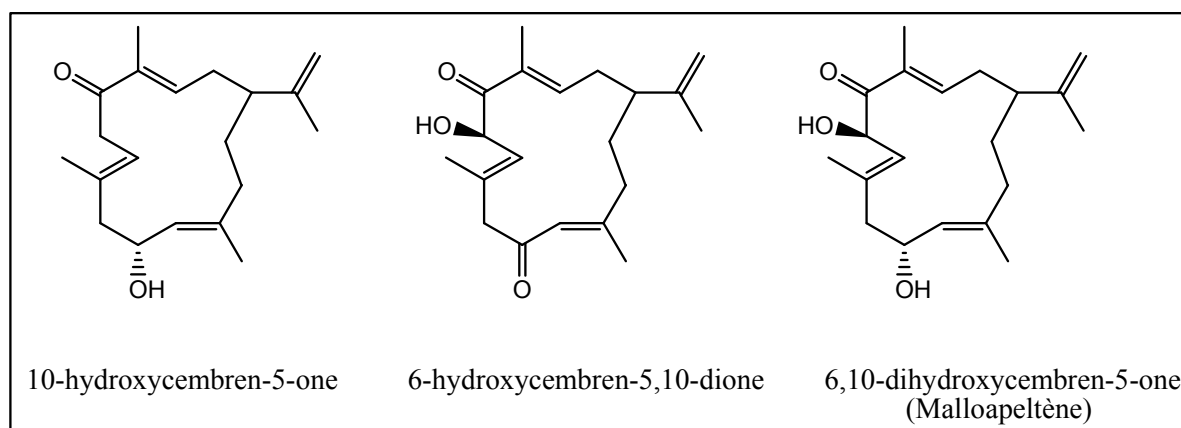
<sup>82</sup> Birch AJ, Brown WV, Corrie JET and Moore BP. Neocembrene-A, a termite train pheromone. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1972**, 2653-2658.

<sup>83</sup> Villanueva HE, Setzer WN. Cembrene Diterpenoids: Conformational Studies and Molecular Docking to Tubulin. *Rec. Nat. Prod.*, **2010**, 4, 2, 115-123.

<sup>84</sup> Yan Li, Carbone M, Vitale RM, Amodeo P, Castelluccio F, Sicilia G, Mollo E, Nappo M, Cimino G, Guo YW, Gavagnin M. Rare Casbane Diterpenoids from the Hainan Soft Coral *Sinularia depressa*. *J. Nat. Prod.*, **2010**, 73, 133-138.

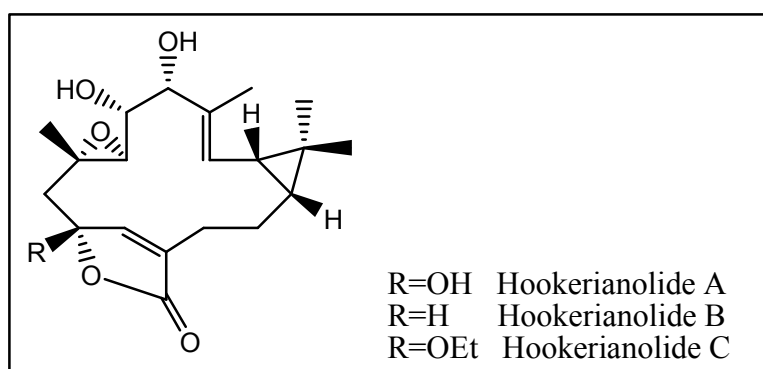
<sup>85</sup> Choi YH, Pezzuto JM, Kinghorn AD, Farnsworth NR. Plant anticancer agents, XLVI. Cytotoxic casbane-type constituents of *Agrostistachys hookeri*. *J. Nat. Prod.*, **1988**, 51, 1, 110-116.

été trouvé chez seulement sept espèces parmi lesquelles l'on peut citer *Croton nepetaefolius*<sup>86</sup>, *Ricinus communis*, *Agrostistachys hookeri*<sup>85,87</sup> et *Croton nitens*<sup>88</sup>.



**Figure I.1.2.3.1c4b : Cembrènes isolés de *Mallotus apelta***

De nombreuses propriétés biologiques de ces composés ont été signalées dans la littérature. En effet, ils possèdent des propriétés antibactérienne et antimicrobienne. Par ailleurs, ils sont cytotoxiques contre les cellules cancéreuses humaines HT-29, A549, NCI-H460, KB, SGC7901, HO-8910<sup>89,77</sup>, les cellules P-388 de la leucémie<sup>77,85</sup>, les cellules tumorales humaines Hep G2 et SW-1990, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*<sup>58,84</sup>.



**Figure I.1.2.3.1c4c : Casbènes isolés de *Mallotus hookerianus***

<sup>86</sup> Moura VLA, Monte FJO, Filho RB. A new casbane-type diterpenoid from *Croton nepetaefolius*. *J. Nat. Prod.*, **1990**, 53, 6, 1566-1571.

<sup>87</sup> Choi YH, Kim J, Pezzuto JM, Kinghorn AD, Farnsworth NR, Lotter H, Wagner H. Agrostistachin, a novel cytotoxic macrocyclic diterpene from *Agrostistachys hookeri*. *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 48, 5795-5798.

<sup>88</sup> Burke BA, Chan WR, Pascoe KO, Blount JF, Manchand PS. The structure of crotonitenone, a novel casbane diterpene from *Croton nitens*. *J. Chem. Soc.*, **1981**, 1, 2666.

<sup>89</sup> Liang QL, Dai CC, Jiang JH, Tang YP, Duan JA. A new cytotoxic casbane diterpene from *Euphorbia pekinensis*. *Fitoterapia*, **2009**, 80, 8, 514-516.

Chez le genre *Mallotus*, six cembrènes de structures très originales, dont trois de type casbène (Figure I.1.2.3.1c4c), ont été isolés de deux espèces asiatiques, *Mallotus hookerianus*<sup>90</sup> et *M. apelta*<sup>74</sup>.

#### 1.2.3.1.3.5. Les triterpénoïdes

Les triterpènes sont des composés en C<sub>30</sub> répartis en plus de quarante squelettes différents et issus de la cyclisation du 3*S*-2,3-époxy-2,3-squalène ou plus rarement du squalène lui-même<sup>59</sup>. Ils sont largement répandus non seulement dans les végétaux supérieurs, mais aussi dans les organismes maritimes, les moisissures, les microorganismes ou rarement dans les bolets (Boletaceae). Ils sont doués d'activités biologiques multiples : anti-inflammatoire<sup>47,48,91</sup>, antiulcérogénique, insecticide, anti-hépatotoxique, anti-hépatique, anti-ulcérogastrique<sup>47,91</sup>, antimalariale<sup>92</sup>. Ils peuvent être des analgésiques et des immunomodulateurs ou posséder des effets cytostatique, tonique, virostatique et antimycotique. Par ailleurs, ces composés présentent souvent une toxicité liée à leurs propriétés hémolytique et cytostatique<sup>91</sup>.

Les triterpènes isolés des *Mallotus* sont pentacycliques regroupés en deux grands groupes selon le type de noyaux constituant les différents cycles. On distingue des triterpènes de **type 6/6/6/6/5** et des triterpènes de **type 6/6/6/6/6**.

##### 1.2.3.1.3.5.1. Les triterpénoïdes de type 6/6/6/6/5

Les triterpènes de ce groupe sont constitués d'un enchaînement de quatre noyaux à six chaînons et d'un noyau à cinq chaînons. Ceux isolés des *Mallotus* sont principalement des **lupanes** et des **hopanes** (Figure I.1.2.3.1d1). Ainsi, de *M. apelta* ont été isolés le hennadiol<sup>93</sup>, le 3β-29-dihydroxylupane<sup>94</sup> et le 3α-hydroxyhop-22 (29)-ene (malloapelta A)<sup>93</sup>. Le lupéol a été isolé de *M. philippinensis*<sup>95</sup> et de *M. repandus*<sup>96</sup> tandis que le 29-Nor-21α-H-hopan-3, 22-dione a été isolé de *M. paniculatus*<sup>96</sup>. Par ailleurs, **Bandopadhyay M et al.**<sup>95</sup> ont isolé à partir de l'extrait à l'éther de pétrole des tiges de *M. philippinensis* la bétuline-3-acétate et le lupéol-3-acétate.

<sup>90</sup> Bai Y, Yang YP, Ye Y. Hookerianolides A-C: Three novel casbane-type diterpenoid lactones from *Mallotus hookerianus*. *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 37, 6637-6640.

<sup>91</sup> Nonita P.P., Mylene M.U. Antioxidant and cytotoxic activities and phytochemical screening of four Philippine medicinal plants. *J. Med. Plant. Res.*, **2010**, 4, 5, 407-414.

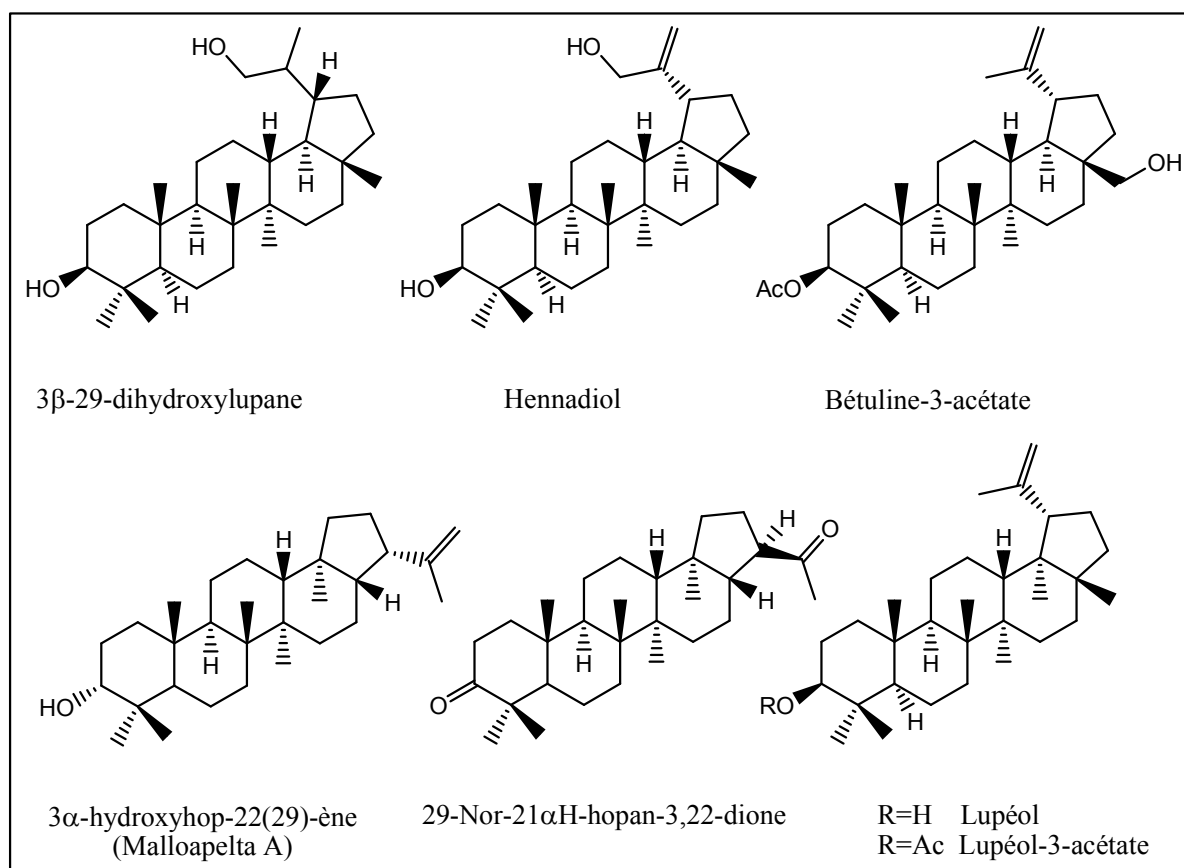
<sup>92</sup> Kaur K, Jain M, Kaur T, Jain R. Antimalarials from nature. *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, 17, 3229-3256.

<sup>93</sup> Van Kiem P, Minh CV, Huong HT. Pentacyclic triterpenoids from *Mallotus apelta*. *Archiv Pharm Res.*, **2004**, 27, 1109-1113.

<sup>94</sup> Shan X, Feng L, Wu C. Chemical constituents of the roots of *Mallotus apelta* (Lour.) Müell.-Arg. *Zhiwu Xuebao*, **1985**, 27, 192-195.

<sup>95</sup> Bandopadhyay M, Dhingra VK, Mukerjee SK, Pardeshi NP, Seshadri TR. Triterpenoid and other components of *Mallotus philippinensis*. *Phytochemistry*, **1972**, 11, 1511.

<sup>96</sup> Hui WH, Li MM. An examination of the Euphorbiaceae of Hong Kong. Part 14. Triterpenoids from *Mallotus repandus*: three new δ-lactones. *Phytochemistry*, **1977**, 16, 113-115.



**Figure I.1.2.3.1d1 : Triterpènes de type 6/6/6/6/5 isolés des *Mallotus***

#### 1.2.3.1.3.5.2. Les triterpénoïdes de type 6/6/6/6/6

Ils sont constitués de cinq noyaux à six chaînons. Ce type structural est le plus fréquemment rencontré chez les *Mallotus*. Les triterpènes de ce groupe isolés des *Mallotus* sont de types **ursane**, **oleanane** et **friedelane** ; ce dernier est commun chez les *Mallotus*.

Les squelettes de type ursane (Figure I.1.2.3.1d2a) ont été décrits de *M. philippinensis*<sup>95</sup>, *M. repandus*<sup>48,96</sup>, *M. apelta*<sup>70,94</sup>, *M. peltatus*<sup>49,97</sup> et de *M. hookerianus*<sup>96</sup>.

<sup>97</sup> Chattopadhyay D, Arunachalam G, Mandal AB, Bhadra R, Mandal Subhash C. (2003). CNS activity of the methanol extract of leaf of *Mallotus peltatus* (Geist) Muell. Arg. Leaf : An ethnomedicine of Onge. *J. Ethnopharmacol*, **2003**, 85, 1, 99-105.

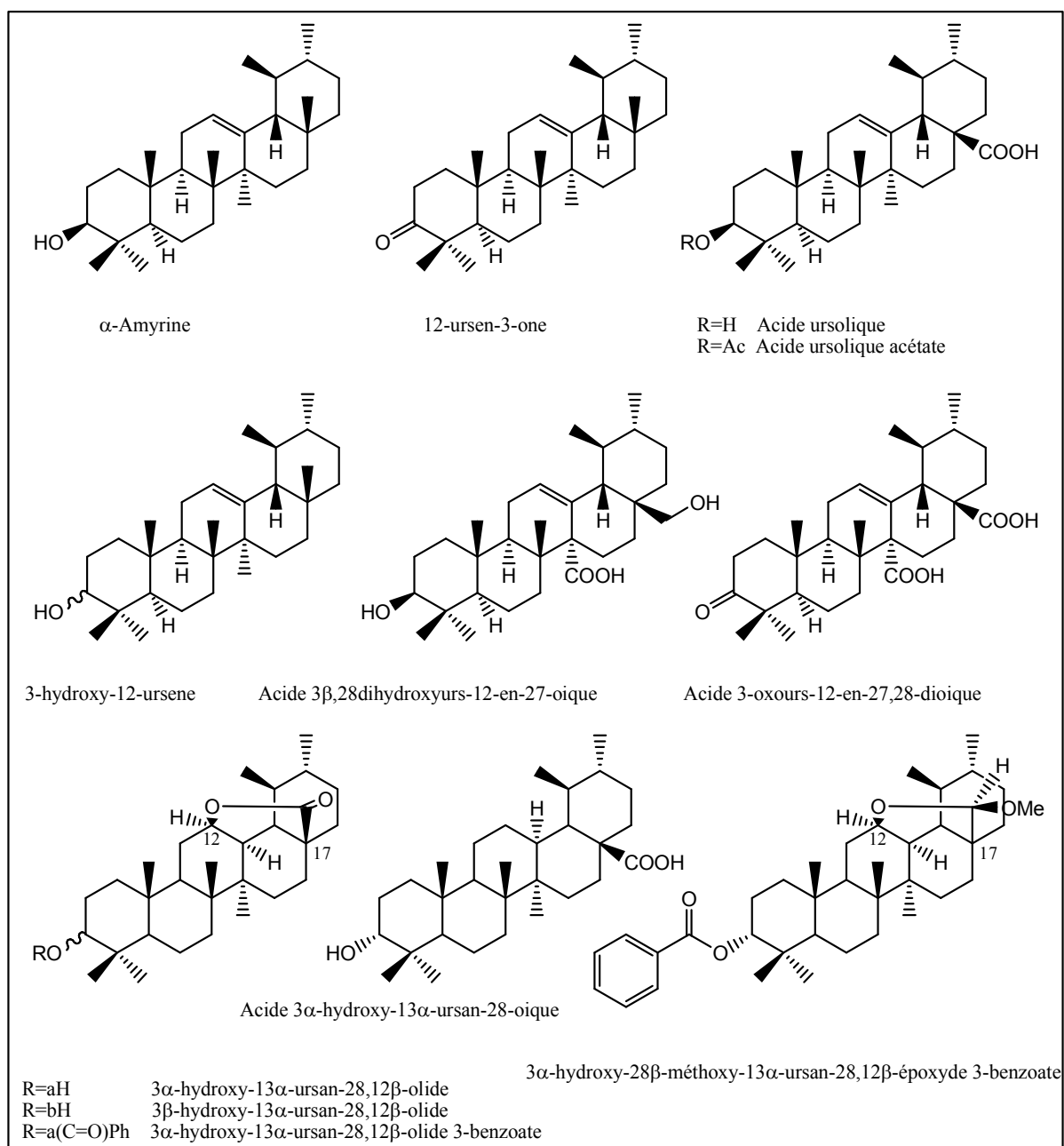


Figure I.1.2.3.1d2a : Triterpènes de type ursane isolés des *Mallotus*

Ceux de types friedelane et oleanane (Figure I.1.2.3.1d2b) ont été isolés de *M. apelta*<sup>70,93,94,98,99</sup>, *M. hookerianus*<sup>100</sup>, *M. paniculatus*<sup>101</sup>, *M. philippinensis*<sup>95,102</sup>, *M. repandus*<sup>47,96</sup> et de *M. metcalfeanus*<sup>51</sup>.

---

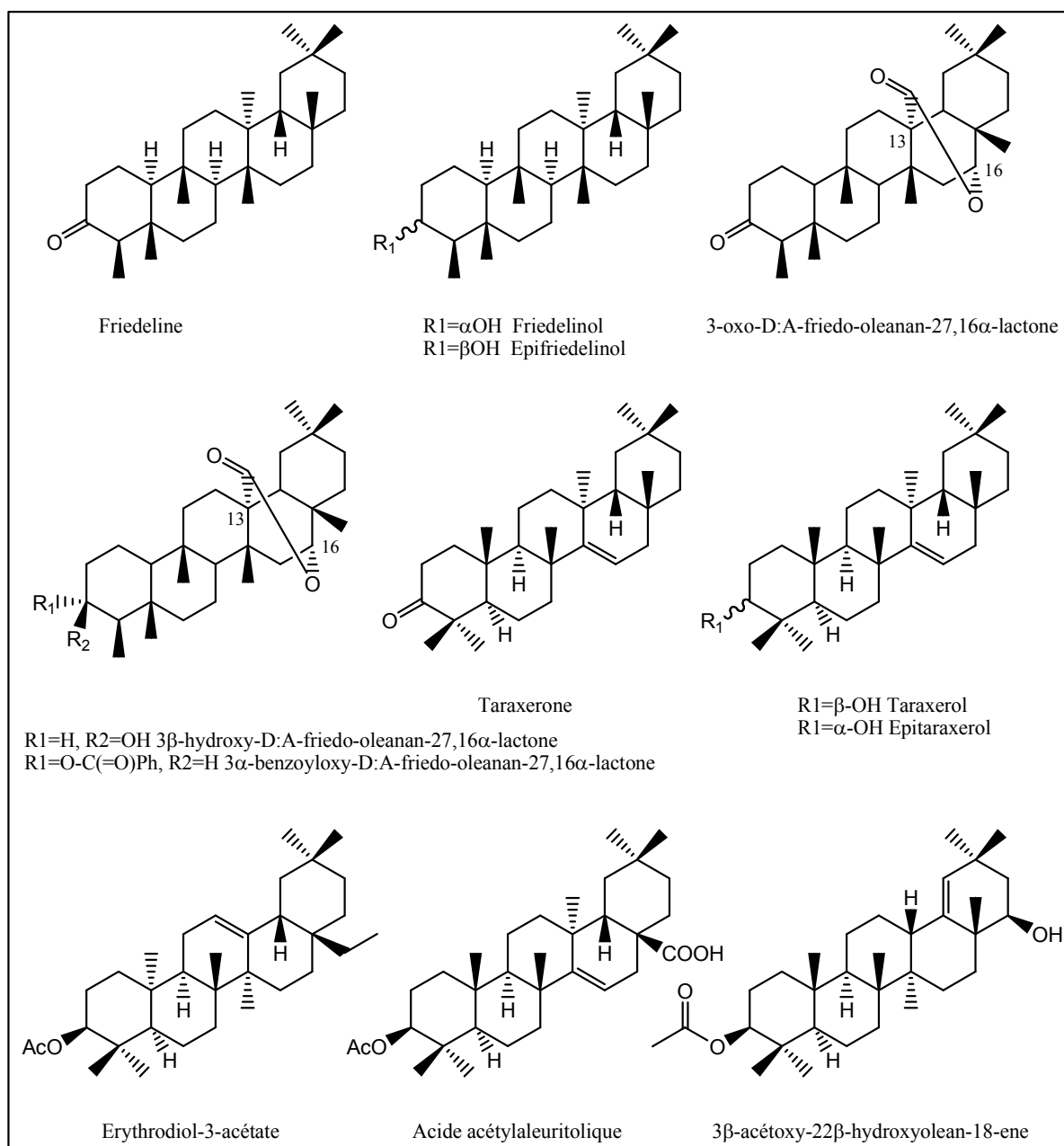
<sup>98</sup> Wu GF, Wei S, Lan SB. Isopentenyl flavanone from *Mallotus apelta*. *Zhongcaoyao*, **2006**, 37, 126-128.

<sup>99</sup> Van Chau M, Phan VK, Nguyen HN. Chemical investigations and biological studies of *Mallotus apelta*. IV. Constituents with inhibitory activity against NFAT transcription and NF- $\kappa$ B activation from *Mallotus apelta*. *Tap Chi Hoa Hoc*, **2005d**, 43, 773-777.

<sup>100</sup> Hui WH, Li MM. An examination of the Euphorbiaceae of Hong Kong. Part 13. Triterpenoids from two *Mallotus* species: a nor-triterpene and two new acids. *Phytochemistry*, **1976**, 15, 985-986.

<sup>101</sup> Hui WH, Chan CK, Chow LC. Examination of the Euphorbiaceae of Hong Kong. IV. Triterpenoids and sterols of *Aporosa chinensis* and *Mallotus paniculatus*. *Phytochemistry*, **1969**, 8, 519.

<sup>102</sup> Nair SP, Rao JM. Kamaladiol-3-acetate from the stem bark of *Mallotus philippinensis*. *Phytochemistry*, **1993**, 32, 407-409.



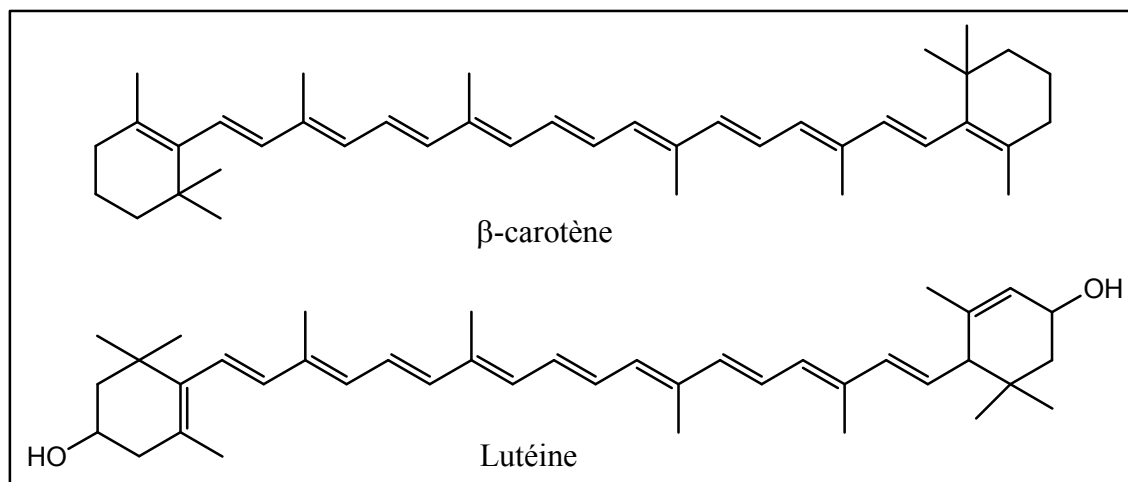
**Figure I.1.2.3.1d2b : Triterpènes de types friedelane et oleanane isolés des *Mallotus***

Les molécules δ-lactoniques triterpéniques isolées chez les *Mallotus* sont de structures atypiques. La fonction δ-lactonique se situe en positions 12-17 chez les ursanes (Figure I.1.2.3.1d2a) ou en positions 13-16 chez les friedelanes (Figure I.1.2.3.1d2b). Par ailleurs, Ces fonctions δ-lactoniques peuvent être réduites et se retrouver sous forme hémiacétal (cas du 3α-hydroxy-28β-méthoxy-13α-ursan-28,12β-époxyde-3-benzoate) (Figure I.1.2.3.1d2a).

#### 1.2.3.1.3.6. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments largement répandus dans la nature. On les rencontre dans les pétales des fleurs, les fruits, les racines et les graines des végétaux supérieurs, rarement chez

les champignons. Ils interviennent dans la photosynthèse et sont photoprotecteurs à l'égard des radiations nocives ; ce sont des antioxydants. Deux composés de cette famille, le  $\beta$ -carotène et la lutéine (Figure I.1.2.3.1e) ont été isolés de l'extrait méthanolique des feuilles de *Mallotus apelta*<sup>103</sup>. Ces deux composés sont présents dans les feuilles de presque tous les végétaux<sup>59</sup>.



**Figure I.1.2.3.1e : Caroténoïdes isolés de *Mallotus apelta***

#### 1.2.3.1.3.7. Les polyprénols

Les polyprénols sont des molécules constituées de longues chaînes d'unités isopréniques. Les plus longues chaînes de polyprénols sont celles du caoutchouc naturel<sup>104</sup>. La longueur de la chaîne polyisoprénique de ces molécules dépend de la plante d'où elles ont été isolées<sup>105</sup>. Les polyprénols sont largement distribués dans l'appareil photosynthétique des plantes (les graines et les feuilles)<sup>106</sup>. Ils possèdent diverses activités biologiques. En effet, ce sont des anti-cancers<sup>107</sup> et des anti-dyslipidémiques<sup>108</sup>. Ils améliorent la fluidité et la stabilité des membranes

<sup>103</sup> Van Chau M, Phan VK, Hoang TH. Chemical investigations and biological studies of *Mallotus apelta*. I. Pentacyclic triterpenoids from *Mallotus apelta*. *Tap Chi Hoa Hoc*, **2005b**, 43, 235-239.

<sup>104</sup> Tanaka Y. Structure and biosynthesis mechanism of natural polyisoprene. *Prog. Polym. Sci.*, **1989**, 14, 339-371.

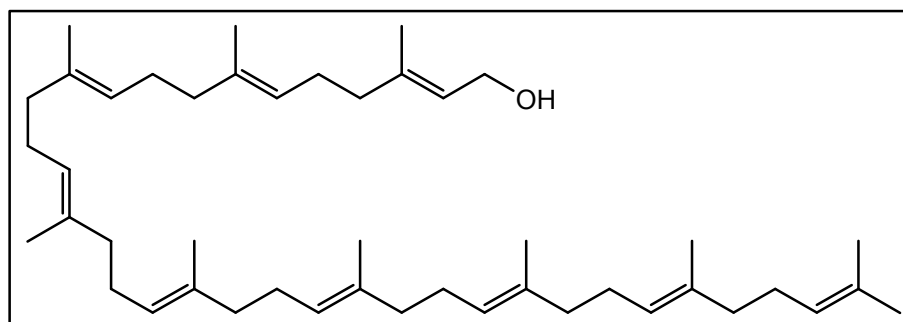
<sup>105</sup> Kulcitsky V, Hertel J, Skoczylas E, Świeżewska E, Chojnacki T. The occurrence of long-chain polyprénols in leaves of plants of Combretaceae family. *Acta Biochim. Pol.*, **1996**, 43, 4, 707-712.

<sup>106</sup> Chouda M, Jankowski W. The occurrence of polyprénols in seeds and leaves of woody plants. *Acta Biochim. Pol.*, **2005**, 52, 243-53.

<sup>107</sup> Kuznecovs S, Jegina K, Kuznecovs I. Inhibition of P-glycoprotein by polyprénol in human breast cancer cells. *Breast*, **2007**, 16, Suppl. 1, S15, 3.

<sup>108</sup> Singh G, Gupta P, Rawat P, Puri A, Bhatia G, Maurya R. Antidyslipidemic activity of polyprénol from *Coccinia grandis* in high-fat-diet-fed hamster model. *Phytomedicine*, **2007**, 14, 792-8.

biologiques<sup>109</sup> et luttent contre les virus de la grippe<sup>110</sup>. Par ailleurs, ils sont hépatoprotecteurs<sup>111,112</sup>. Ce type structural a été décrit chez deux *Mallotus* : *M. barbatus*<sup>113</sup> et *M. apelta*<sup>99</sup>.



**Figure I.1.2.3.1f : Structure du bétulaprénilol**

Ceux isolés des feuilles de *M. barbatus* sont constitués de 14 à 20 unités isopréniques et se présentent sous forme d'esters d'acide acétique tandis le bétulaprénilol (Figure I.1.2.3.1g) a été isolé de *M. apelta*<sup>99</sup>. Par ailleurs **Ranjan et al.**<sup>114</sup> ont montré en 2001 que la teneur en polyprénols des feuilles augmente avec l'âge avec des valeurs très élevées chez certaines espèces.

#### 1.2.3.1.3.8. Autres terpénoïdes

D'autres structures de type terpénique ont été isolées de l'extrait méthanolique des feuilles de *Mallotus apelta* : il s'agit du **squalène** et du **trans-phytol**<sup>115</sup> (Figure I.1.2.3.1g).

<sup>109</sup> Walinska K, Iwan A, Gorna K, Gogolewski S. The use of long-chain plant polyprenols as a means to modify the biological properties of new biodegradable polyurethane scaffolds for tissue engineering. A pilot study. *J. Mater Sci. Mater Med.*, **2008**, 19, 129-35.

<sup>110</sup> Safatov AS, Boldyrev AN, Bulychev LE, Buryak GA, Kukina TP, Poryvaev VD. A prototype prophylactic anti-influenza preparation in aerosol form on the basis of *Abies sibirica* polyprenols. *J. Aerosol Med.*, **2005**, 18, 1, 55-62.

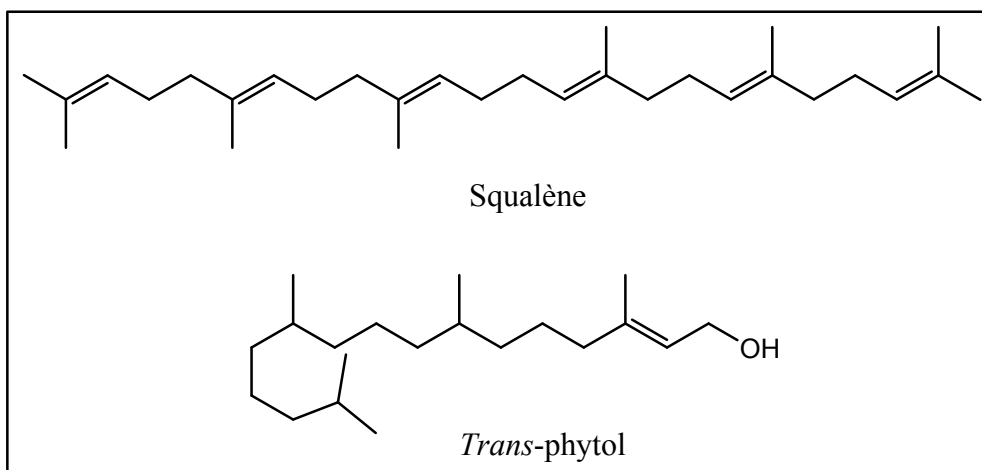
<sup>111</sup> Yang L, Wang CZ, Ye JZ, Li HT. Hepatoprotective effects of polyprenols from *Ginkgo biloba* L. leaves on CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia*, **2011**, 82, 834-40.

<sup>112</sup> Golovanova EV, Vinnitskaia EV, Shaposhnikova NA, Petrakov AV, Mel'kina ES. Effectiveness of the new plant hepatoprotector-Ropren in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Eksp Klin Gastroenterol*, **2010**, 97-102.

<sup>113</sup> Sasak W, Chojnacki T. Long-chain polyprenols of tropical and subtropical plants. *Acta Biochim. Pol.*, **1973**, 20, 343-350.

<sup>114</sup> Ranjan R, Marczewski A, Chojnacki T, Hertel J, Swiezewska E. Search for polyprenols in leaves of evergreen and deciduous Ericaceae plants. *Acta Biochim Pol*, **2001**, 48, 2, 579-584.

<sup>115</sup> Van Chau M, Phan VK, N'guyen HN, Hoang TH, Lee JJ, Kim YH. Chemical investigations and biological studies of *Mallotus apelta*. V. Flavonoids and other compounds from *Mallotus apelta*. *Tap Chi Hoa Hoc*, **2004**, 42, ii-iii.



**Figure I.1.2.3.1g : Squalène et *trans*-phytol isolés de *Mallotus apelta***

### 1.2.3.2. Les stéroïdes

Les stéroïdes sont des molécules présentes chez la plupart des végétaux. Ceux fréquemment rencontrés chez les *Mallotus* sont des cardénolides, le  $\beta$ -sitostérol, le daucostérol, le stigmastérol et l'ergostérol (Figure I.1.2.3.2).

Les cardénolides sont des stéroïdes possédant deux groupements hydroxyles, l'un secondaire en C-3 $\beta$ , l'autre tertiaire en C-14 $\beta$  et une fonction  $\gamma$ -lactonique  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturée d'orientation  $\beta$ , en position 17 du squelette androstane. De nombreux cardénolides et leurs dérivés (glycosides et rhamnosides) ont été isolés de *Mallotus philippinensis*, de *Mallotus paniculatus*<sup>41,116,117,118</sup> et de *Mallotus japonicus*<sup>119</sup>. Ce sont des produits issus de la fermentation des graines et donc sont probablement des métabolites produits par des microorganismes.

Le  $\beta$ -sitostérol a été isolé des racines, des tiges et des feuilles de *M. apelta*<sup>70,94,98</sup>, des feuilles et des tiges de *M. hookerianus*<sup>100</sup>, des tiges de *M. paniculatus*<sup>101</sup> et de *M. philippinensis*<sup>95</sup>. Il a été également isolé de *M. peltatus*<sup>49,97,120</sup>.

Le daucostérol a été isolé des feuilles et des tiges *M. apelta*<sup>70,115</sup> ainsi que des écorces de tige de *M. philippinensis*<sup>95</sup>. L'ergostérol et le stigmastérol ont été obtenus des feuilles de *M. apelta*<sup>115</sup>. Par ailleurs, le stigmastérol a été isolé des tiges de *M. paniculatus*<sup>101</sup>.

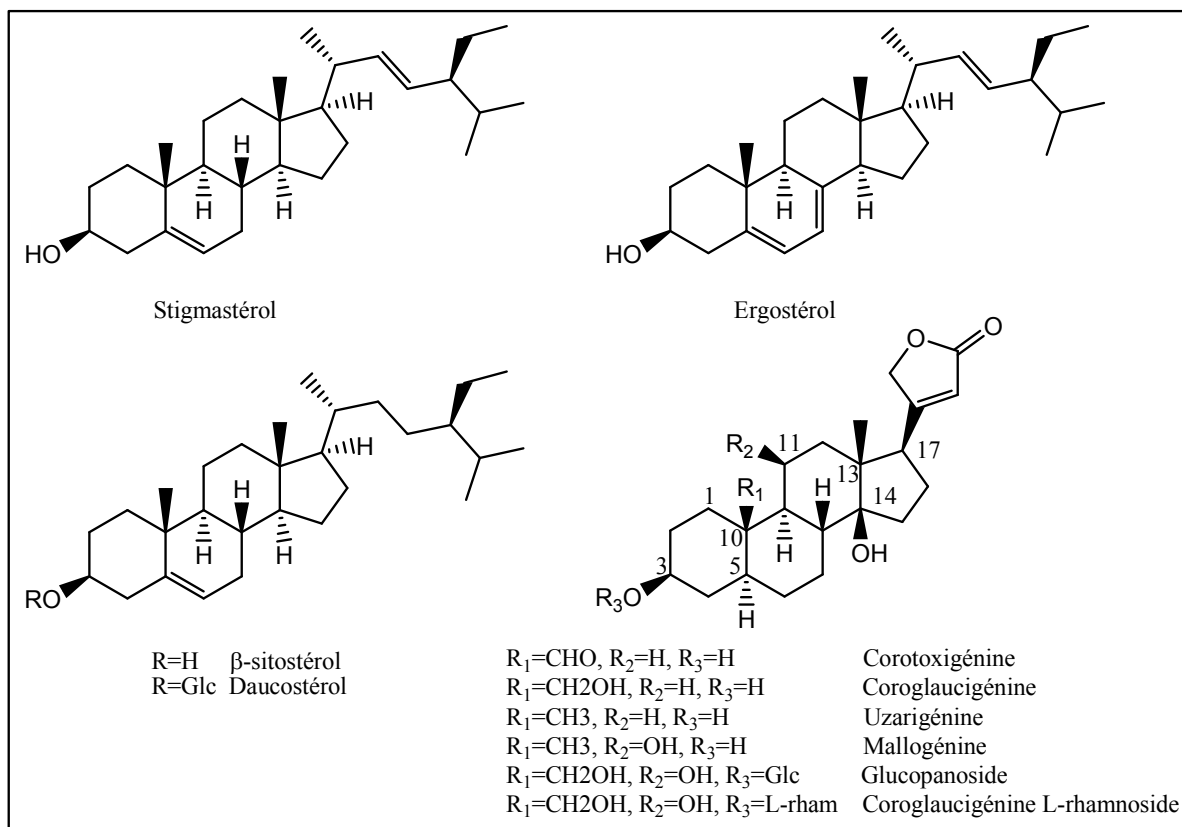
<sup>116</sup> Roberts KD, Weiss E, Reichstein T. Glycosides and aglycons. CCLII. Cardenolides of the seed of *Mallotus philippinensis*. *Helv. Chim. Acta*, **1963**, 46, 2886-2893.

<sup>117</sup> Roberts KD, Weiss E, Reichstein T. Glycosides and aglycons. CCLXXII. The cardenolides of the seeds of *Mallotus paniculatus*. *Helv. Chim. Acta*, **1966**, 49, 316-329.

<sup>118</sup> Roberts KD, Weiss E, Reichstein T. Glycosides and aglycons. CCXCV. Cardenolides from seeds of *Mallotus paniculatus*. 2. Structural proof. *Helv. Chim. Acta*, **1967**, 50, 1645-1664.

<sup>119</sup> Okabe H, Yamouchi T. Studies on the constituents of *Mallotus japonicus* Muell.-Arg. II. A corotoxigenin trioside from the seeds. *Chem. Pharm. Bull.*, **1976**, 24, 11, 2886-2888.

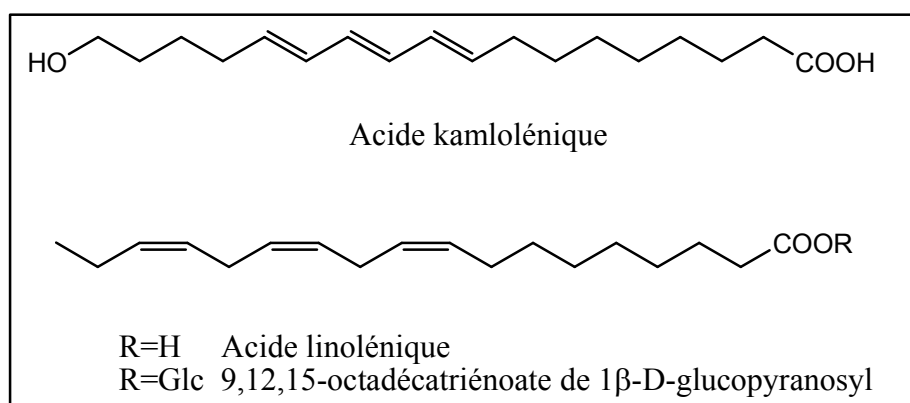
<sup>120</sup> Chattopadhyay D, Arunachalam G, Mandal AB, Bhattacharya SK. Dose-Dependent Therapeutic Anti-infective from Ethno medicines of Bay Islands. *Chemotherapy*, **2006**, 52, 3, 151-157.



**Figure I.1.2.3.2 : Stéroïdes isolés des *Mallotus***

### 1.2.3.3. Les acides gras insaturés

Divers acides gras ont été isolés des feuilles de *Mallotus apelta*<sup>115</sup> et de l'huile des graines de *M. paniculatus* et *M. philippinensis*<sup>121,122</sup>.



**Figure I.1.2.3.3 : Acides gras isolés des *Mallotus***

<sup>121</sup> Yu X, Wang H, Zhang J. Structural determination of fatty acid components in the seeds oils of five species of Euphorbiaceae. *Zhiwu Xuebao*, **1991**, 33, 199-205.

<sup>122</sup> Gupta SC, Gupta SS, Aggarwal JS. Chemical examination of the seeds of *Mallotus philippinensis*. III. Constitution of kamlolenic acid isolated from the oil. *J. Sci. Ind. Res*, **1953**, 12, 240-242.

#### 1.2.3.4. Les amides et polyamides

Deux polyamides de structures atypiques ont été isolés de l'extrait chlorométhylénique de *Mallotus anomalus*. Il s'agit de la mallotansine et de l'isomallotansine (Figure I.1.2.3.4). Le mélange (1:1) de ces deux conformères inhibe, *in vitro*, les cellules P388 de leucémie avec une  $CI_{50}$  de 1  $\mu\text{g/mL}$ <sup>41</sup>. Par ailleurs, un furanocarboxamide, le *trans*-2-carboxy-4-hydroxytetrahydrofuran-N, N-diméthylamide a été isolé de *M. cuneatus*<sup>123</sup>.

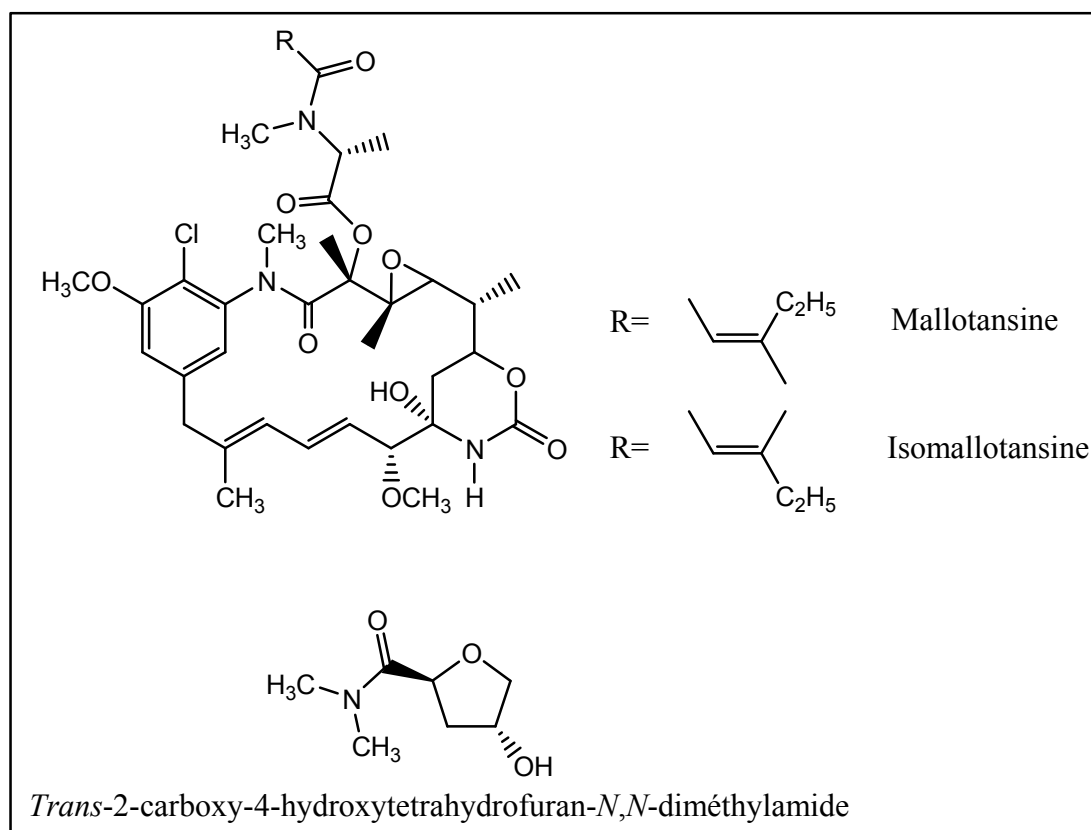


Figure I.1.2.3.4 : Amide et polyamides isolés des *Mallotus*

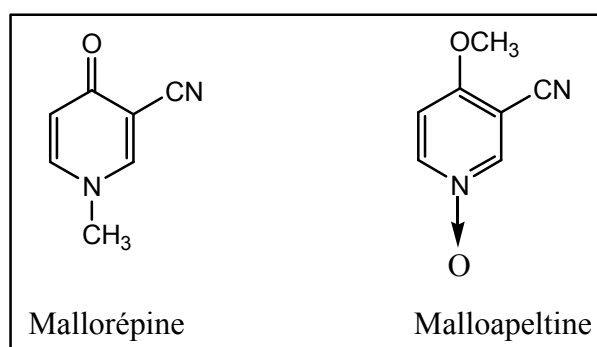
#### 1.2.3.5. Les alcaloïdes

La mallorépine, une  $\delta$ -cyanopyridinone extraite de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Mallotus repandus*<sup>124</sup> et la malloapeltine, une N-oxyde cyanopyridine isolée de *M. apelta*<sup>125</sup> sont les seuls alcaloïdes isolés chez le genre *Mallotus* (Figure I.1.2.3.5).

<sup>123</sup> Growseiss A, Cardellina JH II, Gray GN, Boyd MR. A novel furanocarboxamide from *Mallotus cuneatus*. *Nat. Prod. Lett.*, **1994**, 5,3, 175-178.

<sup>124</sup> Hikino H, Tamada M, Yen KY. Mallorépine, cyano- $\delta$ -pyridone from *Mallotus repandus*. *Planta Med.*, **1978**, 33, 4, 385-388.

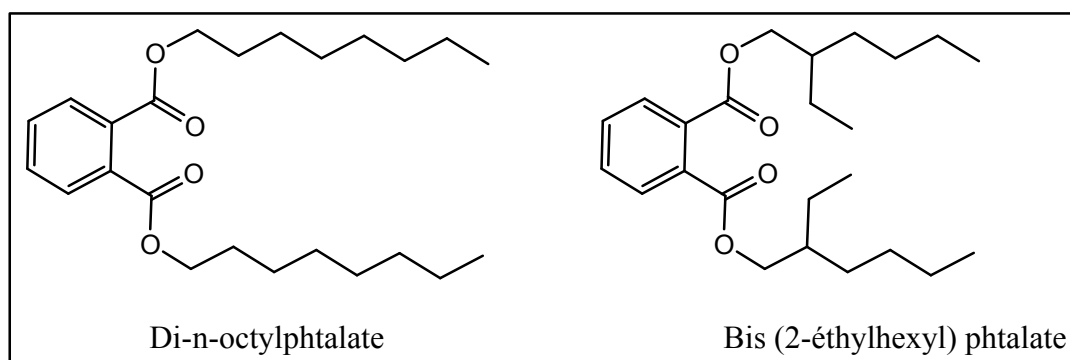
<sup>125</sup> Cheng XF, Meng ZM, Chen ZL. A pyridine-type alkaloid from *Mallotus apelta*. *Phytochemistry*, **1998**, 49, 2193-2194.



**Figure I.1.2.3.5 : Alcaloïdes isolés des *Mallotus***

### 1.2.3.6. Les phtalates

Ce sont des composés largement décrits de nombreuses espèces végétales<sup>126,127,128</sup>. En dehors de leurs propriétés anti-microbiennes, ils sont utilisés comme additifs des thermoplastiques. En effet, ils accroissent la flexibilité, la transparence et la dureté de ces matières plastiques. Bon nombre d'entre eux ont été identifiés chez le genre *Mallotus*. Parmi ceux-ci, nous pouvons citer le **di-n-octylphtalate** et le **bis (2-éthylhexyl) phtalate** (Figure I.1.2.3.6), deux diesters de l'acide phtalique. Ces molécules ont été identifiées par GC-MS à partir de l'extrait éthanolique d'une espèce indienne, *Mallotus tetracoccus*<sup>69</sup>.



**Figure I.1.2.3.6 : Phtalates isolés des *Mallotus***

<sup>126</sup> Duc N, Dung N, Lyun HL, Hyang-Bok L, Dongman K, Junghyun S, Eunki K. Isolation of dioctyl phthalate with high depigmenting effect from Chinese herb *Nigella glandulifera* Freyn. *Journal of Biotechnology*, **2007**, 131, 2, S43.

<sup>127</sup> Graham PR. Phthalates ester plasticizers-Why and how they are used. *Environ. Health Persp.*, **1973**, 3, 3-12.

<sup>128</sup> Perkins EG. Characterisation of the non-volatile compounds formed during the thermal oxidation of corn oil. II. Phthalate esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1967**, 44, 3, 197-199.

Le bis (2-éthylhexyl) phtalate a montré une activité anti-microbienne contre les bactéries gram positives et certains champignons pathogènes<sup>129,130</sup>.

### 1.2.3.7. Les composés phénoliques

Ce sont des composés doués d'activités multiples avec une importance biologique largement démontrée. En effet, chez les plantes, ils jouent un rôle important dans le phénomène de résistance aux maladies<sup>131,132,133,134,135</sup>. Par exemple ceux contenus dans les margines de l'olivier (flavonoïdes, phénols, glucosides phénoliques) inhibent le développement des microorganismes tels que les bactéries (lactobacilles) et les champignons (*Geotrichum*, *Rhizopus*, *Rhizoctonia*)<sup>134,136</sup>, les flavonoïdes du pommier (genre *Malus*) interviennent dans le mécanisme de résistance vis-à-vis de la tavelure (*Venturia inaequalis*)<sup>137,138,139</sup>.

Chez l'homme, ces composés disposent également d'un large spectre d'activités biologiques<sup>140</sup>. En effet, ils sont antifongiques<sup>141</sup>, antioxydants<sup>142</sup>, antibactériens, antiallergiques, anticarcinogéniques et antiviraux<sup>143</sup>. Par ailleurs, ils ont la capacité de chélater les métaux et

---

<sup>129</sup> Al-Bari MAA, Bhuiyan MSA, Flores ME, Petrosyan P, Garcia-Varela M, Ul Islam MA. *Streptomyces bangladeshensis* sp nov., isolated from soil, which produces bis-(2-ethylhexyl) phthalate. *Int. J. Syst. Evol. Micr.*, **2005**, 55, 1973-1977.

<sup>130</sup> Al-Bari MAA, Sayeed MA, Rahman MS, Mossadik MA. Characterization and antimicrobial activities of a phthalic acid derivative produced by *Streptomyces bangladeshiensis*- A novel species in Bangladesh. *Res. J. Med. and Medical Sci.*, **2006**, 1, 77-81.

<sup>131</sup> Witzell J, Martín JA. Phenolic metabolites in the resistance of northern forest trees to pathogens- past experiences and future prospects. *Can. J. For. Res.*, **2008**, 38, 2711-2727.

<sup>132</sup> Lateur M. Perspectives de lutte contre les maladies des arbres fruitiers à pépins au moyen de substances naturelles inductrices d'une résistance systémique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **2002**, 6, 2, 67-77.

<sup>133</sup> Nicholson RL, Hammerschmidt R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **1992**, 30, 369-389.

<sup>134</sup> Nefzaoui A. Valorisation des sous-produits de l'olivier. *Options Méditerranéennes*, Séries Séminaires, 16, **1991**, 101-108.

<sup>135</sup> Holowezak J, Kuc J, Williams EB. Metabolism of DL- and L- phenylalanine in *Malus* related to susceptibility and resistance to *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, **1962**, 52, 699-703.

<sup>136</sup> Vazquez RA, Graciani CE, Maestro DR. Componentes fenólicos de la aceituna I. Polifenoles de la pulpa. *Grasas y Aceites*, **1970**, 25, 5, 269.

<sup>137</sup> Treutter D, Feuch W. The pattern of flavan-3-ols in relation to scab resistance of apple cultivars. *J. Hort. Sci.*, **1990**, 65, 511-517.

<sup>138</sup> Mayr U, Michalek S, Treutter D, Feuch W. Phenolic compounds of apple and their relationship to scab resistance. *J. Phytopathol.*, **1997**, 145 (2-3), 69-75.

<sup>139</sup> Rademacher W, Speakman JB, Römmelt S, Treutter D. Induction of resistance against bacterial and fungal pathogens in apple by prohexadione-Ca. *Phytopathology*, **1999**, 89, S63.

<sup>140</sup> McNally DJ, Wurms K, Labbé C, Bélanger RR. A standardized methodology for the study of induced glycosylated plant phenolics. *Can. J. Plant. Pathol.*, **2002**, 24, 429-436.

<sup>141</sup> Bailey JA, Mansfield JW. Phytoalexins. *John Wiley & Sons*, New York, **1982**.

<sup>142</sup> De Sotillo DR, Hadley M, Holm ET. Potato peel waste : stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract. *J. Food. Sci.*, **1994**, 59, 1031-1033.

<sup>143</sup> Merken HM, Merken CD Beecher GR. Kinetics method for the quantitation of anthocyanins , flavonols and flavones in foods. *J. Agric. Food. Chem.*, **2001**, 49, 2727-2732.

d'interagir avec les protéines et les carbohydrates (sucres) <sup>143,144,145</sup> ; ils retardent le vieillissement cellulaire en captant les radicaux libres <sup>146</sup>.

Les espèces du genre *Mallotus* sont connues pour leur richesse en composés phénoliques et divers squelettes ont été mis en évidence.

#### 1.2.3.7.1. Les coumarines, isocoumarines et coumarinolignoïdes

Les coumarines tirent leur nom de “coumarou”, nom vernaculaire de *Dipteryx odorata* willd. (Fabaceae) (fève tonka) d'où fut isolée pour la première fois en 1820, la coumarine. Elles constituent une large classe de composés présents dans plusieurs espèces appartenant à différentes familles botaniques. Ce sont des métabolites secondaires qu'on retrouve pratiquement dans tous les organes des plantes tels que les fleurs, les fruits et les racines <sup>147,148,149</sup>.

Ces composés dérivent de la 2*H*-1-benzopyran-2-one considérée comme une lactonisation des acides *o*-hydroxy-*Z*-cinnamiques. En dehors de quelques rares cas dont la coumarine elle-même, toutes les coumarines sont substituées en position 7 par un groupement hydroxyle.

Les hydroxy-coumarines sont le modèle typique de ce type de composés. Ce sont des chélateurs potentiels des métaux et des inhibiteurs de radicaux libres <sup>150</sup>.

La 7-hydroxycoumarine connue sous le nom d'ombelliférone est le précurseur des coumarines 6,7-di- et 6, 7, 8-trihydroxylées <sup>59</sup>. Les coumarines ont été décrites comme possédant des activités anti-inflammatoire, antioxydante, antiallergique, analgésique, hépato protectrice, anti-thrombotique, vasodilatatrice, anti-carcinogénétique, anticoagulante, anthelminthique, sédative, hypnotique, hypothermique, antifongique, antimicrobienne, anti-ulcéreuse et antivirale <sup>91,151</sup>.

Les hydroxyles de ces composés peuvent être méthylés ; c'est le cas de la scopolétine (ou scopolétol) isolée des racines de *Mallotus resinusus* avec un groupement méthoxy en position 6 (Figure I.1.2.3.7a). Cette molécule a été décrite comme responsable du clivage de l'ADN en

---

<sup>144</sup> Baxter NJ, Lilley TH, Haslam E, Williamson MP. Multiple interactions between polyphenols and a salivary praline-rich protein repeat result in complexation and precipitation. *Biochemistry*, **1997**, 36, 5566-5577.

<sup>145</sup> Siebert KJ, Troukhanova NV, Lynn PY. Nature of polyphenol-protein interactions. *J. Agric. Food. Chem.*, **1996**, 44, 80-85.

<sup>146</sup> Ioku K, Tsushida T, Takei Y, Nakatani N, Terao J. Antioxidative activity of quercetin monoglucosides in solution and phospholipids bilayers. *Biochim. Biophys. Acta*, **1995**, 1234, 99-104.

<sup>147</sup> Razavi SM, Nazemiyeh H, Hajiboland R, Kumarasamy Y, Delazar A, Nahar L, Sarker SD. Coumarins from the aerial parts of *Prangos uloptera* (Apiaceae). *Braz. J. Pharmacogn.*, **2008**, 18, 1-5.

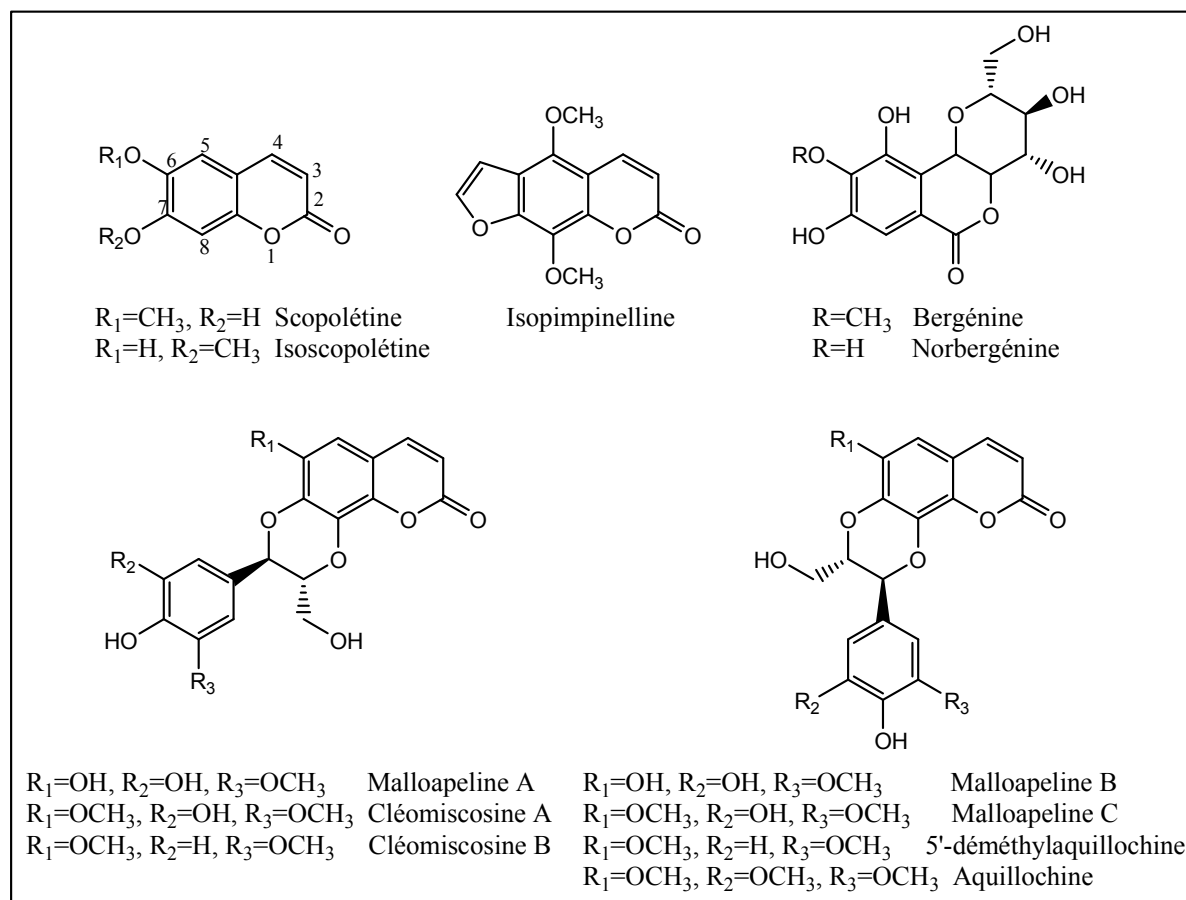
<sup>148</sup> Ribeiro CVC, Kaplan MAC. Tendências evolutivas de famílias produtoras de cumarinas em angiospermae. *Quim. Nova*, **2002**, 25, 533-538.

<sup>149</sup> Leal LKAM, Ferreira AAG, Bezerra GA, Matos FJA, Viana GSB. Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study. *J. Ethnopharmacol.*, **2000**, 70, 151-159.

<sup>150</sup> Kostova I. Synthetic and Natural Coumarins as Cytotoxic Agents. *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents*, **2005**, 5, 1, 29-46.

<sup>151</sup> Kostova I, Monolov I, Karaivonova M. Synthesis, physicochemical characterization, and cytotoxic screening of new zirconium complexes with coumarin derivatives. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **2001**, 334, 157-162.

présence de cations cuivre  $\text{Cu}^{2+}$ . La présence et le nombre de groupements hydroxyles phénoliques semblent être déterminants pour cette activité, quelles que soit leurs positions<sup>152</sup>.



**Figure I.1.2.3.7a : Coumarines, isocoumarines et coumarinolignoïdes isolées des *Mallotus***

La bergénine, un des constituants majeurs de *M. japonicus*<sup>153</sup>, isolée également de *M. roxburghianus*<sup>56</sup>, *M. philippinensis*<sup>95</sup> et de *M. repandus*<sup>48,154</sup>, et la norbergénine obtenue à partir de *M. japonicus*<sup>155</sup> sont deux dérivés isocoumariniques (Figure I.1.2.3.7a) possédant diverses activités pharmacologiques. En effet, ces deux molécules sont des inhibiteurs de l'activité de la tyrosine hydroxylase. Cette activité expliquerait l'utilisation de *M. japonicus* dans le traitement de l'ulcère gastrique<sup>156</sup>. Par ailleurs, des coumarinolignoïdes telles que la cléomiscosine A et

<sup>152</sup> Ma J, Jones SH, Hecht SM. A coumarin from *Mallotus resinousus* that mediates DNA cleavage. *J. Nat. Prod.*, **2004**, 67, 1614-1616.

<sup>153</sup> Lim HK, Kim HS, Choi HS, Oh S, Choi J. Hepatoprotective effects of bergenin, a major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride-intoxicated rats. *J. Ethnopharmacol.*, **2000a**, 72, 3, 469-474.

<sup>154</sup> Tomizawa S, Asuke K, Suguro N. Bergenin: isocoumarin from the stems of *Mallotus repandus*. *Phytochemistry*, **1976**, 15, 328.

<sup>155</sup> Lim HK, Kim HS, Chung MW, Kim YC. Protective effects of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on D-galactosamine-intoxicated rat hepatocytes. *J. Ethnopharmacol.*, **2000b**, 70, 69-72.

<sup>156</sup> Zhang YH, Fang LH, Lee MK, Ku BS. *In vitro* inhibitory effects of bergenin and norbergenin on bovine Adrenal tyrosine hydroxylase. *Phytother. Res.*, **2003**, 17, 967-969.

B, la malloapeline A, B et C, l'aquillochine et la 5'-déméthylaquillochine ont été isolées de *M. apelta*<sup>157,158</sup>.

#### 1.2.3.7.2. Les phloroglucinols

Les phloroglucinols sont des composés fréquemment rencontrés chez les *Mallotus*. La plupart des molécules que nous avons isolées de *Mallotus oppositifolius* font partie de ce groupe. Nous allons donc par la suite nous attarder sur les caractéristiques de ces composés.

Les phloroglucinols sont des composés benzéniques 1,3,5-trihydroxylés (Figure I.1.2.3.7b). Ils sont fréquemment substitués en positions 2, 4 et 6 par divers groupements en C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>.<sup>159</sup>

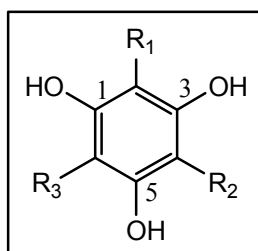


Figure I.1.2.3.7b : Noyau de base des phloroglucinols

Il en existe de diverses structures allant de la plus simple (généralement des monomères) aux plus complexes (phlorotanins). C'est une classe de composés largement répandus possédant de nombreuses activités biologiques<sup>160,161,162</sup>. En effet, de nombreuses familles botaniques telles que les *Myrtaceae*, les *Guttiferae*, les *Euphorbiaceae*, les *Compositae*, les *Aspidiaceae*, les *Rutaceae*, les *Rosaceae*, les *Clusiaceae*, les *Lauraceae*, les *Crassulaceae*, les *Cannabinaceae* et les *Fagaceae* regorgent de ces composés. Ils sont également rencontrés chez certains organismes marins et microbiens<sup>163</sup>. Parmi les composés isolés du genre *Mallotus*, ce groupe est sans aucun doute le plus fréquemment rencontré.

Les phloroglucinols isolés du genre *Mallotus* peuvent être regroupés en deux grands groupes, à savoir les **phloroglucinols simples** et les **phloroglucinols dimériques**.

<sup>157</sup> Xu JF, Feng ZM, Liu J, Zhang PC. New hepatoprotective coumarinolignoids from *Mallotus apelta*. *Chem Biodivers*, **2008**, 5, 591-597.

<sup>158</sup> Cheng XF, Chen ZL. Coumarinolignoids of *Mallotus apelta*. *Fitoterapia*, **2000**, 71, 341-342.

<sup>159</sup> Lounasmaa M, Karjalainen A, Widén CJ, Huhtikangas A. Mass spectral studies on some naturally occurring phloroglucinol derivatives. Part III. The mass spectra of some mono- and bicyclic phloroglucinol derivatives from rhizomes of different *Dryopteris* species. *Acta Chem. Scand.*, **1972**, 26, 1, 89-101.

<sup>160</sup> Gamal AM et Sabrin RMI. Eucalyptone G, a new phloroglucinol derivative and other constituents from *Eucalyptus globulus* Labill. *Arkivoc*, **2007**, 15, 281-291.

<sup>161</sup> Na M, Jang J, Min BS, Lee SJ, Lee MS, Kim BY, Oh WK, Ahn JS. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 4738-4742.

<sup>162</sup> Umehara K, Singh IP, Etoh H, Takasaki M, Konoshima T. Five euglobals, phloroglucinol-monoterpene adducts from *Eucalyptus grandis*, *Phytochemistry*, **1998**, 49, 1699-1704.

<sup>163</sup> Singh IP, Bharate SB. Phloroglucinol compounds of natural origin. *Nat. Prod. Rep.*, **2006**, 23, 558-591.

#### 1.2.3.7.2.1. Les phloroglucinols simples

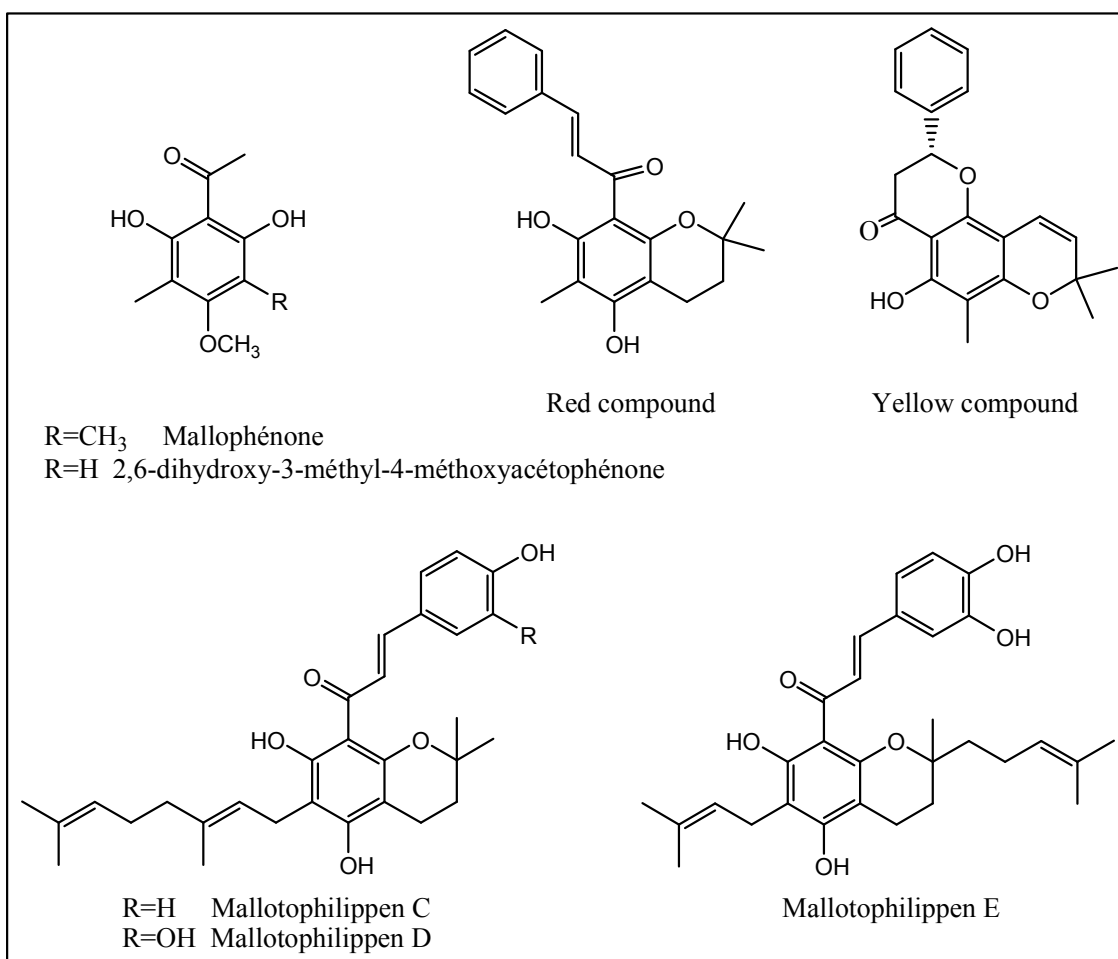
Ce sont des monomères possédant un seul noyau benzénique<sup>163</sup>. La mallophénone et la 2,6-dihydroxy-3-méthyl-4-méthoxyacétophénone (Figure I.1.2.3.7b1) isolées de *Mallotus japonicus*<sup>41,54</sup> sont des exemples typiques. La 2,6-dihydroxy-3-méthyl-4-méthoxyacétophénone inhibe l'incorporation de la <sup>3</sup>H-choline dans les phospholipides<sup>41</sup>. Une activité modérée de la molécule sur la production de monoxyde d'azote (NO) a été décrite<sup>45</sup>.

La cyclisation intramoléculaire d'une chaîne latérale alkyle sur un des groupements hydroxyles contigus conduit aux phloroglucinols à noyau benzopyranique. **Daikonya et al.**<sup>164</sup> ont isolé à partir de l'extrait acétonique des fruits de *Mallotus philippinensis* trois phloroglucinols comportant ce type de noyau ; il s'agit des mallotophilippènes C, D et E (Figure I.1.2.3.7b1). Ces composés inhibent la production du monoxyde d'azote (NO), nocif pour l'organisme vivant. Ils sont également immunorégulateurs et possèdent des propriétés antiallergique et anti-inflammatoire<sup>164</sup>.

Des péricarpes de *Mallotus philippinensis*, deux composés représentatifs de ces phloroglucinols à noyau benzopyranique, dont l'un rouge (red compound) et l'autre jaune (yellow compound) (Figure I.1.2.3.7b1), ont été isolés ainsi que leurs dérivés génériquement appelés kamalines en rapport avec le nom vernaculaire "Kamala" donné à cette espèce en Asie<sup>41</sup>.

---

<sup>164</sup> Daikonya A, Katsuki S, Kitanaka S. Anti-allergic agents from natural sources 9. Inhibition of nitric oxide production by novel chalcone derivatives from *Mallotus philippinensis* (Euphorbiaceae). *Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, 52, 11, 1326-1329.

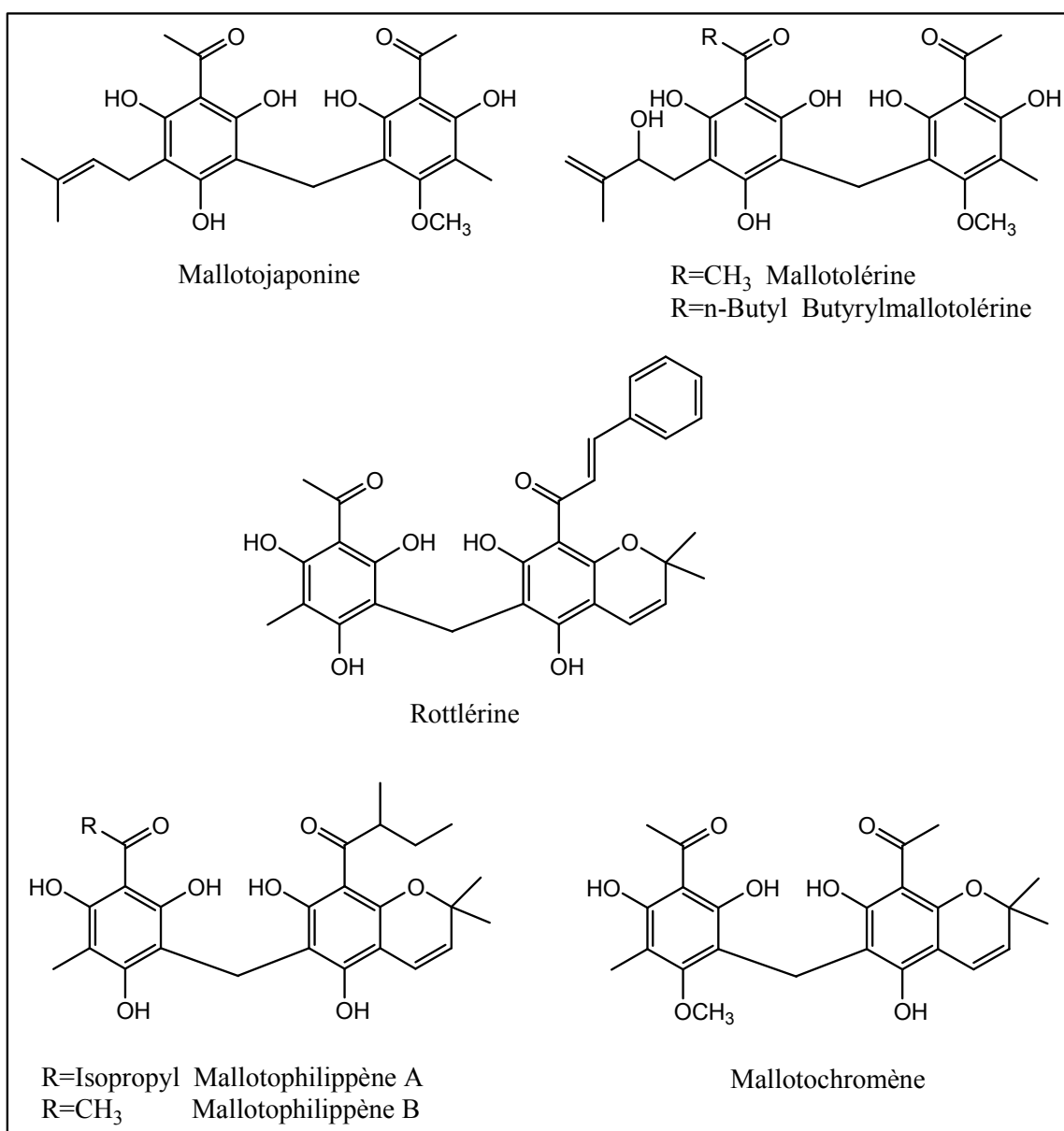


**Figure I.1.2.3.7b1 : Phloroglucinols simples extraits des *Mallotus***

#### 1.2.3.7.2.2. Les phloroglucinols dimériques

Ce sont des phloroglucinols possédant deux noyaux benzéniques ou filiciniques reliés par un groupement méthylène (-CH<sub>2</sub>-) ou par la formation d'un cycle chromane. Cette classe de composés se rencontre principalement dans les genres *Dryopteris* et *Aspidium* (Fougères), *Hypericum*, *Myrtus*, *Mallotus*, *Helichrysum* et *Eucalyptus*. On les trouve moins fréquemment chez certaines espèces des genres *Acronychia*, *Kunzea*, *Hagenia*, *Euphorbia*, *Melicope* et *Agrimonia* ; ils ont été également décrits de certains microorganismes<sup>163</sup>.

Chez les *Mallotus*, seuls les phloroglucinols dimériques à pont méthylène ont été décrits dans la littérature. On peut distinguer les **phloroglucinols dimériques simples** et les **phloroglucinols dimériques à noyau pyranique** dans le cas d'une cyclisation intramoléculaire d'une chaîne latérale sur un des groupements hydroxyles de l'un ou l'autre noyau benzénique ou filicinique.



**Figure I.1.2.3.7b2a : Phloroglucinols dimériques des *Mallotus***

Concernant les **phloroglucinols dimériques simples**, trois composés, la mallotojaponine, la mallotolérine et la butyrylmallotolérine (Figure I.1.2.3.7b2a), isolés des péricarpes de *Mallotus japonicus* ont retenu notre attention. En effet, ils ont montré, *in vitro*, une importante activité cytotoxique contre les cellules KB et les cellules L5178Y de leucémie.

Les études de relation structure-activité ont montré que cette activité décroît progressivement lorsqu'on remplace le radical acyle en position 1 par les groupements méthyle, propyle ou isobutyryle. La présence de la chaîne latérale en position 3 augmente l'activité cytotoxique<sup>41</sup>. Par ailleurs, la mallotojaponine et la mallotolérine inhibent, *in vitro*, la production du monoxyde d'azote<sup>45</sup>.

De nombreux **phloroglucinols dimériques à noyau pyranique** ont été également isolés. Ainsi, des fruits de *Mallotus philippinensis* ont été extraits les mallotophilippènes A et B (Figure

I.1.2.3.7b2a). Ces phloroglucinols ont montré une activité anti-inflammatoire et inhibent, *in vivo*, la production de monoxyde d'azote et d'histamine<sup>165</sup>.

La rottlérine (Figure I.1.2.3.7b2a), la première molécule isolée du genre *Mallotus* par Anderson en 1855 et obtenue à partir de *Mallotus japonicus*<sup>41</sup>, fait partie de ce type structural. Ce phloroglucinol possède des activités cytotoxique, antitumorale, antivirale, anti-VIH et inhibe la production de monoxyde d'azote, de prostaglandine E2, et d'interleukine-6<sup>54</sup>. Il a été également isolé de *Mallotus japonicus*, le mallotochromène (Figure I.1.2.3.7b2a) décrit comme inhibiteur de l'incorporation de la <sup>3</sup>H-choline dans les cellules C3H10T1/2 promotrices de tumeurs<sup>41</sup>. Il serait inhibiteur de la production de monoxyde d'azote<sup>45</sup>.

Une étude de relation structure-activité a permis d'établir que les formes dimérisées des phloroglucinols sont les plus actives sur l'inhibition de la production du monoxyde d'azote. Par ailleurs, la présence de groupement isoprényl en position 3 (cas de la mallotojaponine) augmente cette activité inhibitrice. La cyclisation de la chaîne latérale avec un groupement hydroxyle en position ortho par rapport au groupement acétyle diminue cette activité ; ainsi, la mallotojaponine est plus active que le mallotochromène. Par contre, la cyclisation de la chaîne latérale avec un groupement hydroxyle en position para par rapport au groupement acétyle augmente l'activité inhibitrice. Aussi, cette activité est accrue par la présence d'un groupement hydroxyle libre sur le cycle chromane. Ces résultats montrent que la présence d'une chaîne latérale et la position de sa cyclisation sont les facteurs les plus importants de l'activité inhibitrice de la production du monoxyde d'azote<sup>45</sup>.

Une série de cyclisations des phloroglucinols peut conduire à la formation de molécules de structures très complexes telles que les **phlorotanins**. C'est le cas des kamalachalcones A, B et D, des structures de type chalcone (Figure I.1.2.3.7b2b) isolées de *Mallotus philippinensis*<sup>166,167,168</sup>.

---

<sup>165</sup> Daikonya A, Shigeki K, Jin-Bin Wu, Susumu K. Anti-allergic agents from natural sources (4<sup>1</sup>): Anti-allergic activity of new phloroglucinol derivatives from *Mallotus philippinensis* (Euphorbiaceae). *Chem. Pharm. Bull.*, **2002**, 50, 12, 1566-1659.

<sup>166</sup> Li Y, Luo Y, Huang W, Wang LWJ. Total synthesis of mallotophilippen C. *Tetrahedron Lett*, **2006**, 47, 4153-4155.

<sup>167</sup> Furusawa M, Ido Y, Tanaka T, Ito T, Nakaya KI, Ibrahim I, Ohshima M, Linuma M, Shirataka Y, Takahashi Y. Novel, complex flavonoids from *Mallotus philippinensis* (Kamala tree). *Helv. Chim. Acta*, **2005**, 88, 5, 1048-1058.

<sup>168</sup> Tanaka T, Ito T, Linuma M, Takahashi Y, Naganawa H. Dimeric chalcone derivatives from *Mallotus philippinensis*. *Phytochemistry*, **1998**, 48, 8, 1423-1427.

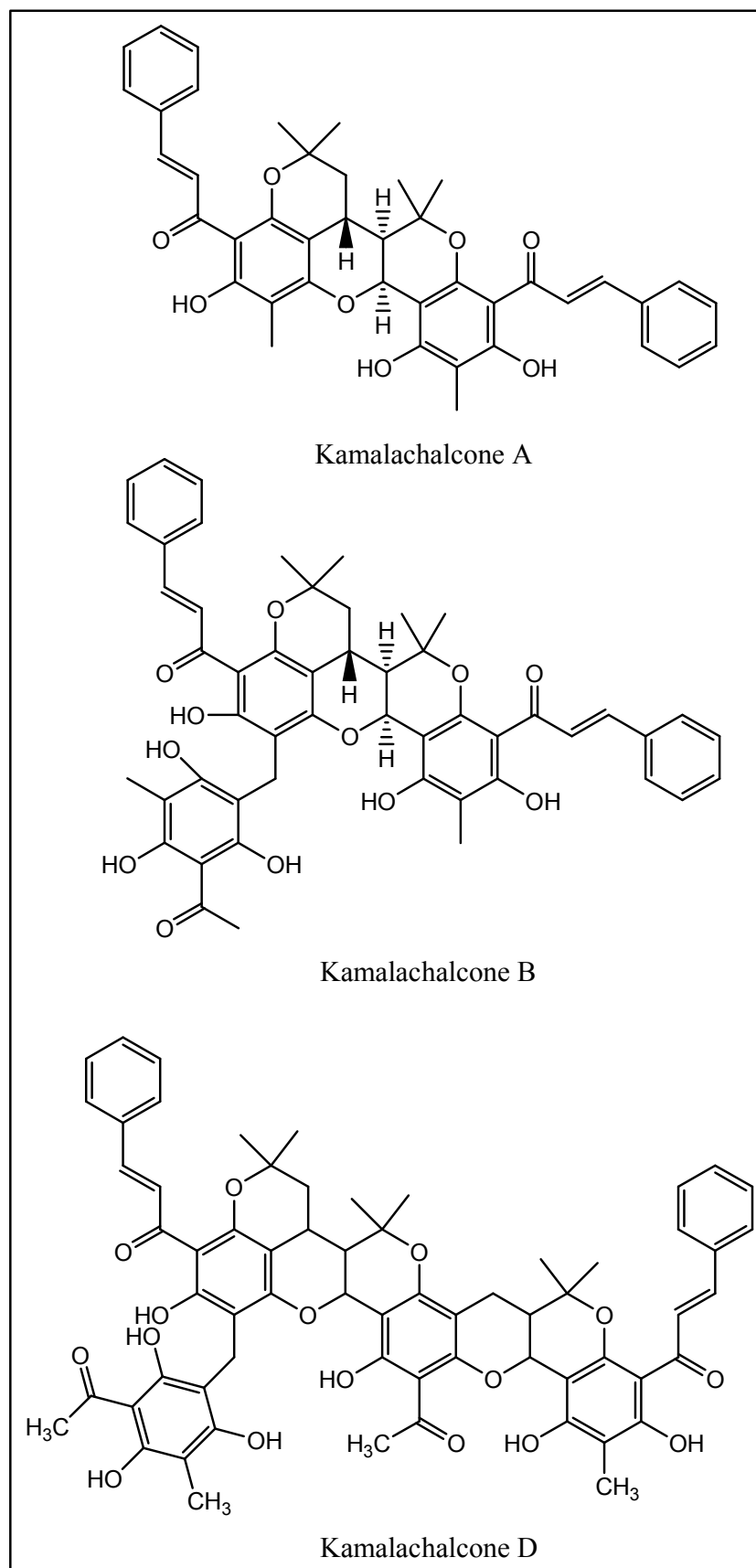


Figure I.1.2.3.7b2b : Phlorotanins isolés de *Mallotus philippinensis*

#### 1.2.3.7.3. L'acide gallique et ses dérivés

L'acide gallique est un composé benzénique 3,4,5-trihydroxylé comportant une fonction acide carboxylique en position 1 (Figure I.1.2.3.7c). Cette molécule est un agent d'activation de la résistance induite des plantes<sup>169,170,171</sup>. Il a été isolé avec trois de ses dérivés glucosylés et pyranique (Figure I.1.2.3.7c) à partir de l'extrait éthanolique des feuilles de *Mallotus furetianus*<sup>172</sup>.

La condensation de plusieurs unités de l'acide gallique ou avec un sucre par estérification conduit à la formation de **tanins galliques** de structures souvent complexes. C'est le cas de l'acide repandusinique A (Figure I.1.2.3.7c), une structure très originale isolée de *Mallotus repandus*<sup>173</sup>. Cette molécule a montré une activité inhibitrice sur la VIH/RT ( $CI_{50} = 0,05 \mu M$ ) et sur l'ADN polymérase  $\alpha$  des cellules HeLa ( $CI_{50} = 0,6 \mu M$ )<sup>41</sup>. Des feuilles de *Mallotus japonicus*, un autre dérivé a été identifié : l'acide valonéique dilactone (Figure I.1.2.3.7c). Ce composé inhibe la xanthine oxydase, une enzyme catalysant la formation de l'acide urique de la xanthine ( $CI_{50} = 0,76 \mu M$ )<sup>41</sup>.

#### 1.2.3.7.1. Les flavonoïdes : flavonols, flavones, flavonolignanes

Les flavonoïdes sont des pigments quasi-universels des végétaux. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles<sup>59</sup>. La propriété principale de ces composés est leur capacité à diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et à renforcer leur résistance (veino-actifs). Ils réduisent chez l'animal les signes d'une hypovitaminose C expérimentale<sup>59</sup>. Ils ont été décrits comme possédant des activités antimalariale<sup>92</sup>, anticancéreuse, antivirale, anti-inflammatoire et cardioprotectrice<sup>174,175,176</sup>. Par ailleurs, ce sont des inhibiteurs enzymatiques *in vitro* : inhibition de la hyaluronidase par les flavones, inhibition de l'élastase, inhibition de la protéine-kinase, inhibition de la phosphodiesterase de l'AMPc, inhibition de l'aldose réductase<sup>59</sup>, etc.

---

<sup>169</sup> Kuc J. Concept and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *Eur. J. Plant. Pathol.*, **2001**, 107, 7-12.

<sup>170</sup> Lyon GD, Reglinski T, Newton AC. Novel disease control compounds: the potential to "immunize" plants against infection. *Plant. Pathol.*, **1995**, 44, 407-427.

<sup>171</sup> Kessmann H, Staub T, Hofmann C, Maetzke T, Herzog J. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **1994**, 32, 439-459.

<sup>172</sup> Wei K, Li W, Koike K, Liu L, Fu X, Lin L, Chen Y, Nikaido T. Two new galloylglucosides from the leaves of *Mallotus furetianus*. *Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, 52, 6, 776-779.

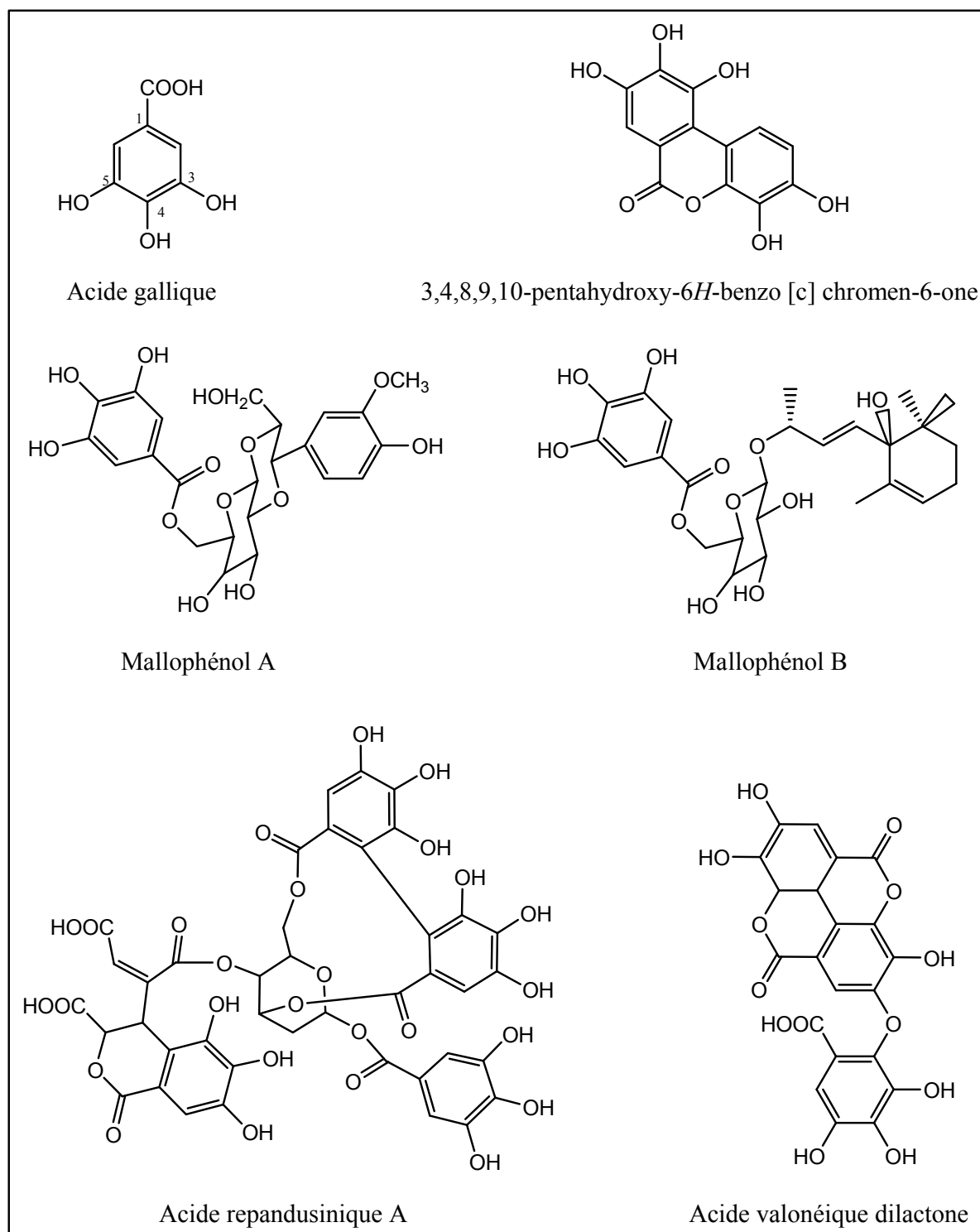
<sup>173</sup> Saijo R, Nonaka G, Nishioka I. Tannins and related compounds. LXXXVII. Isolation and characterization of four new hydrolyzable tannins from the leaves of *Mallotus repandus*. *Chem. Pharm. Bull.*, **1989**, 37, 2624-2630.

<sup>174</sup> Ebehardt MV, Lee CY, Liu RH. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, **2000**, 405, 903-904.

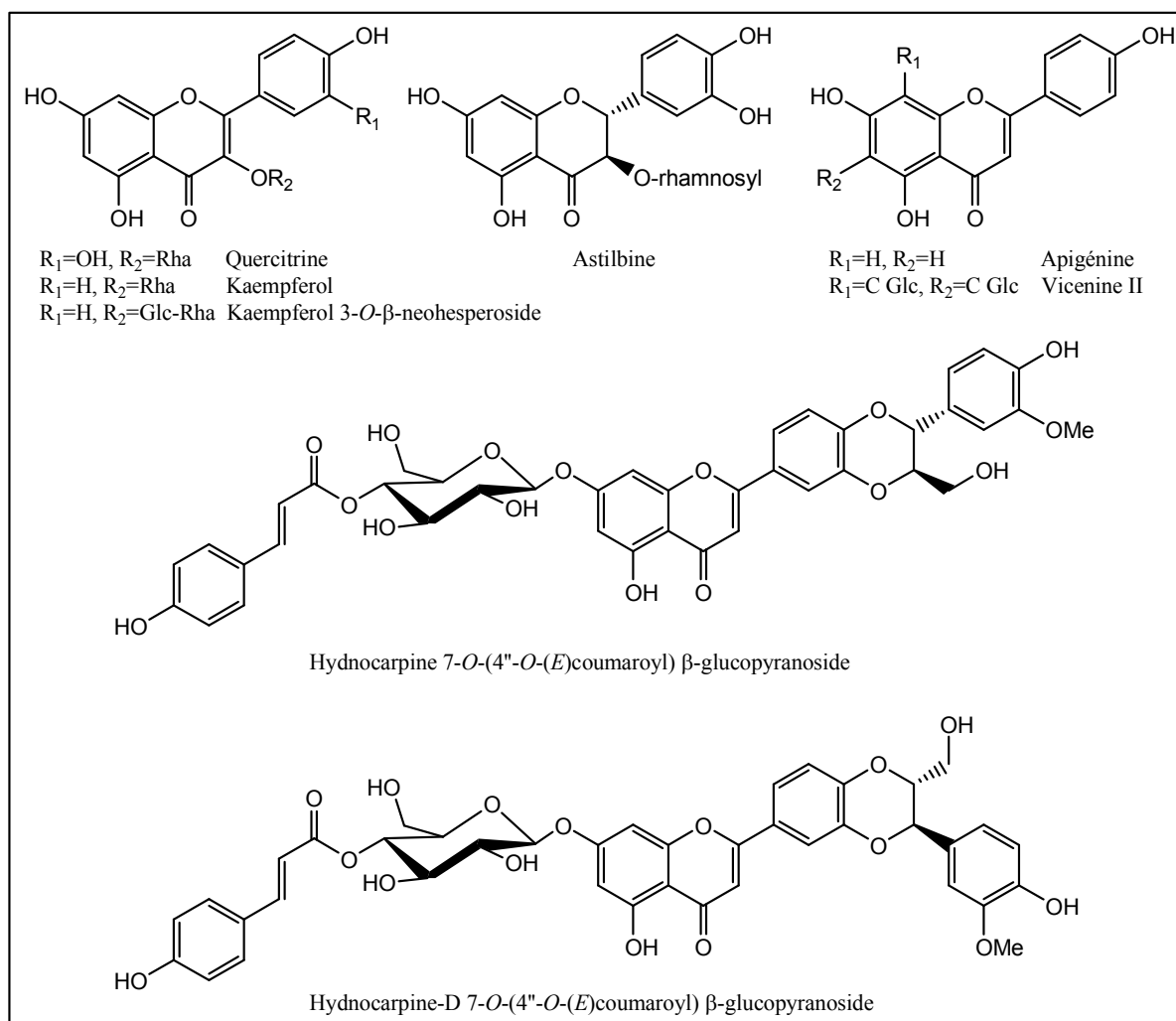
<sup>175</sup> King A, Young G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. Am. Diet. Assoc.*, **1999**, 99, 2, 213-218.

<sup>176</sup> Wang H, Cao G, Prior R. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.*, **1996**, 44, 701-705.

Les flavonoïdes ont la même origine biosynthétique et possèdent de ce fait le même enchaînement 2-phénylchromane qui constitue l'unité structurale de base. Selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, on en distingue différentes classes.



**Figure I.1.2.3.7c : Acide gallique et dérivés des *Mallotus***



**Figure I.1.2.3.7d : Exemples de flavones, flavonols et flavonolignanes isolés des *Mallotus***

Les flavonoïdes peuvent se retrouver sous formes d'aglycone ou d'hétérosides. Ces deux formes ont été retrouvées chez les *Mallotus*. Divers squelettes ont été décrits dans ce genre. Ainsi des **flavonols** ont été mis en évidence chez *M. apelta*<sup>115</sup> et *M. metcalfianus*<sup>51</sup> et des **flavones** et des **flavonolignanes** chez les mêmes espèces<sup>51,177</sup> (Figure I.1.2.3.7d).

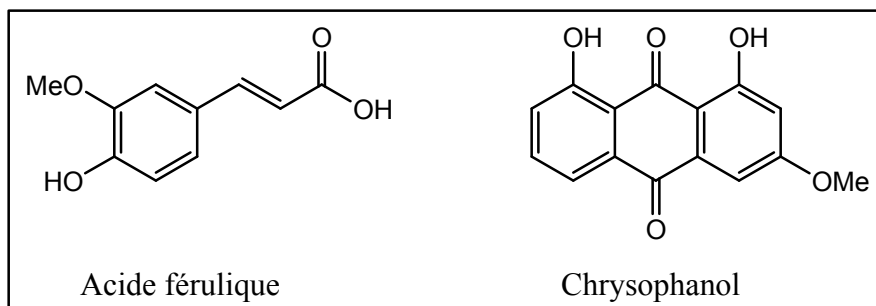
#### 1.2.3.7.2. Les quinones et acides-phénols

Le terme **acide-phénol** désigne tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Dans la pratique, cette dénomination se rapporte aux dérivés des acides benzoïque et cinnamique. L'intérêt thérapeutique de ces composés est limité. Certaines molécules de cette famille de composés telle que l'arbutine possèdent des propriétés antiseptiques urinaires. Par ailleurs, hormis les propriétés antibactériennes et antifongiques de certains composés à l'égard des organismes phytopathogènes, les dérivés salicylés ont montré

<sup>177</sup> Zhu B, Bai G, Jiang S. Studies on chemical constituent and quantitative determination of *Mallotus apelta*. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, **2007**, 32, 932-934.

des propriétés anti-inflammatoires. Des esters hétérosidiques phénylpropanoïques sont également des inhibiteurs enzymatiques : inhibition de la phosphodiesterase de l'AMPc, inhibition de l'aldose réductase, inhibition de la 5-lipoxygénase<sup>59</sup>.

Chez les *Mallotus*, seul l'acide férulique (Figure I.1.2.3.7f) a été isolé de *M. metcalfianus*<sup>51</sup>.



**Figure I.1.2.3.7f : Quinone et acide-phénol isolés des *Mallotus***

Les **quinones** sont des composés oxygénés caractérisés par un motif 1,4-dicétocyclohexa-2,5-diénique (*para*-quinones) ou par un motif 1,2-dicétocyclohexa-3,5-diénique (*ortho*-quinones). Ces composés correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques<sup>59</sup>. Les quinones naturelles ont leur dione conjuguée aux doubles liaisons d'un noyau benzénique (benzoquinones) ou à celles d'un système aromatique polycyclique condensé : naphthalène (naphtoquinones), anthracène (anthraquinones), 1,2-benzanthracène (anthracyclinones), naphtodianthrène (naphtodianthrènes), etc. De nombreuses quinones ont été décrites, principalement dans le règne végétal (chez les angiospermes, les gymnospermes, les champignons, les lichens et très rarement chez les fougères), ainsi que dans le règne animal, en particulier chez les échinodermes et les arthropodes. Aucune application thérapeutique n'a été décrite chez les benzoquinones naturelles. Par ailleurs, de nombreuses naphtoquinones ont montré des activités antibactérienne, fongicide, antiprotozoaire, cytotoxique et antivirale<sup>59</sup>.

Le seul membre de cette famille de composés isolé des *Mallotus*, le chrysophanol (Figure I.1.2.3.7f), appartient au groupe des anthraquinones. Il a été obtenu à partir des feuilles de *M. apelta*<sup>178</sup>.

### 1.2.3.8. Autres composés

Outre les composés évoqués plus haut, d'autres types de molécules, quelquefois ubiquitaires du règne végétal, ont été identifiées du genre *Mallotus*. De *M. apelta* ont été isolés l' $\alpha$ -tocophérol<sup>99</sup> et l'acide nicotinique<sup>178</sup>. Par ailleurs, une étude phytochimique menée sur *M. metcalfianus* a permis d'isoler un alcool gras, le n-hexacosanol, un mégastigmane, le blumenol-C-glucoside et le méthyl-2-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosylbenzoate<sup>51</sup> (Figure I.1.2.3.8).

<sup>178</sup> Kang F, Lu H. Separation and analysis of the chemical constituents of *Mallotus apelta*. *Guangdong Yaoxueyuan Xuebao*, **2007**, 23, 121-123.

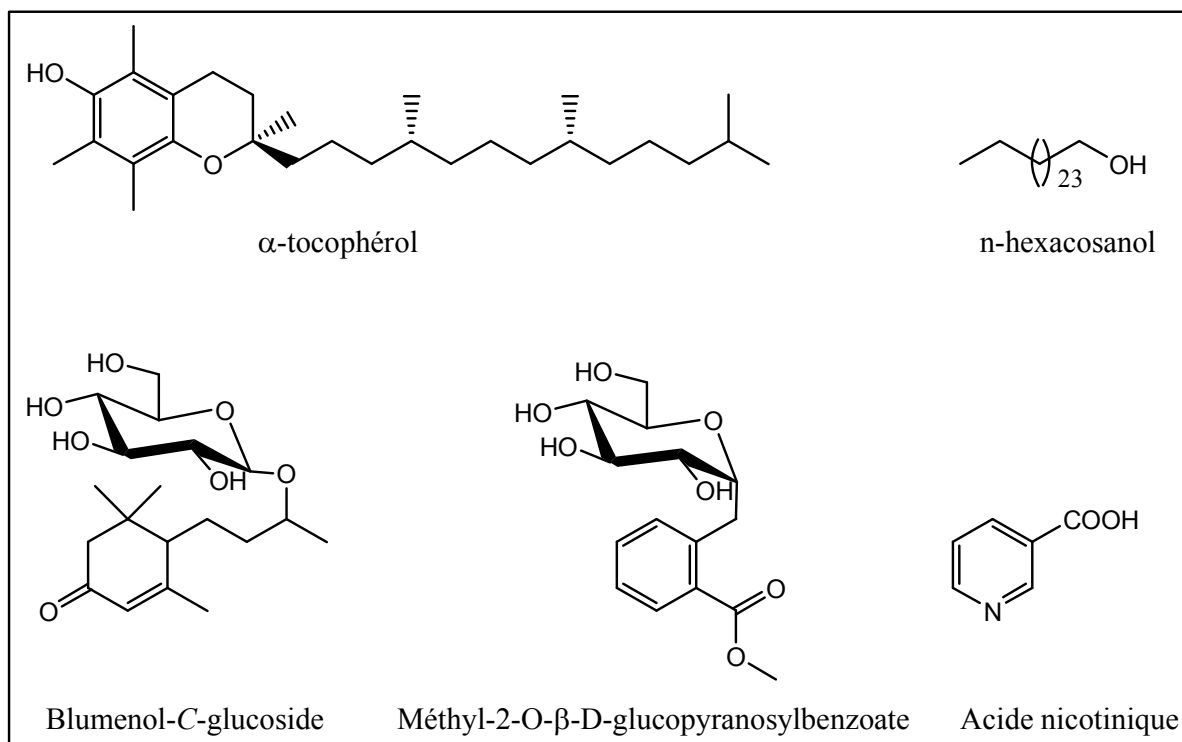


Figure I.1.2.3.8 : Composés isolés de *Mallotus apelta* et de *M. metcalfianus*

### 1.3. L'espèce *Mallotus oppositifolius*

#### 1.3.1. Classification

**Règne :** Végétal

**Embranchement :** Spermaphyte (plante à graine)

**Sous-embranchement :** Angiosperme (plante à fleurs)

**Classe :** Dicotylédones

**Famille :** Euphorbiaceae

**Sous-famille :** Acalyphoïdeae

**Tribu :** Acalypheae

**Sous-tribu :** Rottlerinae

**Genre :** *Mallotus*

**Espèce :** *Mallotus oppositifolius* (Geiseler) Müll. Arg.

#### 1.3.2. Description botanique et écologie

*Mallotus oppositifolius* est un arbuste dioïque qui n'excède généralement pas deux mètres de hauteur (**Photo A**). Cette espèce largement répandue, surtout en Afrique tropicale<sup>28</sup>, se

rencontre depuis le Sénégal jusqu'à l'Ethiopie et vers le sud jusqu'en Angola et au Mozambique ainsi qu'à Madagascar<sup>179</sup>.

Elle est présente dans les savanes et dans les brousses secondaires du Nigeria<sup>180,181</sup>, du Cameroun<sup>182,183</sup>, du Bénin<sup>184,185</sup>, du Ghana<sup>186</sup> et de la Côte d'Ivoire<sup>187,188</sup>.



**Photo I.1.3.2: *Mallotus oppositifolius* (CNF-Abidjan)**

**A** : Plante femelle entière

**B** : Rameau fleuri

**C** : Fruits

<sup>179</sup> Schmelzer GH, Gurib-Fakim A. Ressources végétales de l'Afrique tropicale Vol.11 (1) : Plantes médicinales 1. Fondation PROTA/Backhuys Publishers/CTA, Wageningen, Pays-bas, **2008**, 869p.

<sup>180</sup> Kayode J, Omotoyinbo AM. Conservation of botanicals used for dental and oral healthcare in ekiti State, Nigeria. *Ethnobotanical Leaflets*, Article 2, **2008**, Vol. 2008, Issue 1.

<sup>181</sup> Farombi EO. African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents. *Afr. J. Biotechnol.*, **2003**, 2, 12, 662-671.

<sup>182</sup> Hauser S, Ngoumbe S, Nkongmeneck AB. Effects on plant species composition of glyphosate application in a plantain system after secondary forest clearing. Conference on International Agricultural Research for Development, University of Bonn, *Tropentag*, October 11-13, **2006**.

<sup>183</sup> Kamgang R, Zintchem R, Dimo T, Panjo Yewa M. Effets des extraits totaux aqueux de *Mallotus oppositifolius* et de *Euphorbia hirta* (Euphorbiaceae) sur l'activité contractile intestinale du rat. *AJST*, **2001**, 2, 2, 8-11.

<sup>184</sup> Akoegninou A, Tossou MG, Yedomonhan H, Fohounfo TH, Traore D. Etude des plantes mellifères de la petite saison des pluies et de quelques aspects du comportement des abeilles au Bénin, **2006**.

<sup>185</sup> Aschfalk A, Steingass H, Muller W, Drochner W. Acceptance and digestibility of some selected browse feeds with varying tannin content as supplements in sheep nutrition in West Africa. *J. Vet. Med.*, **2000**, A 47, 513-524.

<sup>186</sup> Lock JM, Hall JB. Floral biology of *Mallotus oppositifolius* (Euphorbiaceae). *Biotropica*, **1982**, 14, 2, 153-155.

<sup>187</sup> Kouassi RH, Tiébré MS, N'Guessan KE. Aperçu de la végétation des Inselbergs Brafoyé et Mafa-Mafou (Sud-Est de la Côte d'Ivoire). *European Journal of Scientific Research*, **2009**, 28, 1, 92-123.

<sup>188</sup> Bouquet A, Debray M. Plantes médicinales de la Côte d'Ivoire. Travaux et documents de l'ORSTOM, N°32. Éd. ORSTOM, Paris, **1974**, 232 p.

Elle se reconnaît par ses grandes feuilles ovées, arrondies à la base (Photo I.1.3.2 B), souvent couvertes de poils étoilés et dont le limbe est criblé sur sa surface inférieure de points glanduleux. Les plantes femelles portent des inflorescences simples en racèmes composées de dix à quinze fleurs femelles solitaires. Chaque inflorescence est composée d'ovaires trilobés. Près de la moitié des fleurs donnent des petits fruits, de couleur verte. Ces derniers, trilobés (Photo I.1.3.2 C), contiennent une graine par lobe et noircissent à maturité. Les plantes mâles portent également des inflorescences simples en racèmes, mais les fleurs (environ 90 par inflorescence), à parfum doux, sont disposées en grappes de trois à sept. Chaque fleur possède un périanthe et environ trente étamines qui s'ouvrent pour former une masse presque sphérique. Les grains de pollen, non cohérents, ont des diamètres d'environ 20 µm. Les fleurs mâles s'ouvrent suivant une séquence bien définie ; aucune inflorescence solitaire n'est observée durant toute la période de floraison. Chaque fleur mâle a généralement une durée de vie d'un jour contrairement aux fleurs femelles qui restent ouvertes pendant plus d'une semaine<sup>186</sup>.

### 1.3.3. Usages traditionnels

Tout comme les autres *Mallotus*, *Mallotus oppositifolius* est largement utilisée pour le traitement de diverses maladies. En effet, les feuilles et l'écorce de tige sont employées comme analgésiques, antibactériens, vermifuges et hémostatiques<sup>179,189</sup>. Le bain de vapeur aux feuilles sert à traiter l'épilepsie et les maladies mentales. Les feuilles écrasées ou leur jus sont utilisés pour traiter les yeux enflammés, les douleurs dentaires, le paludisme, les maladies vénériennes et les infections urinaires. La décoction de racines et le jus des feuilles sont utilisés contre la pneumonie, les vomissements et les douleurs à la poitrine<sup>28,179</sup>.

En Côte d'Ivoire, cette plante est utilisée pour traiter le cancer du sein<sup>190</sup>. Le décocté des feuilles préalablement pilées est utilisé comme vermifuge. Le suc des feuilles en instillations nasales lutte contre les céphalées. La pommade obtenue avec la poudre de feuilles (ou de feuilles fraîches écrasées ou mastiquées) et le beurre de karité (*Vitellaria paradoxa*, Sapotaceae), combat les plaies, les ulcères, les démangeaisons et accélère la cicatrisation. Le décocté de racines et de feuilles en boisson est un remède contre les fatigues généralisées et les anémies. On l'utilise pour traiter la varicelle, les helminthes intestinaux, la dysenterie, la stérilité féminine, les convulsions et parfois la lèpre. En Afrique orientale, la décoction de racines se prend comme aphrodisiaque<sup>188,191</sup>. *M. oppositifolius* fait d'ailleurs partie des plantes considérées comme aphrodisiaques<sup>192</sup>.

Au Bénin, les feuilles de cette plante sont utilisées comme complément dans l'alimentation des moutons pour faciliter la digestion de la matière organique et améliorer leur productivité<sup>185</sup>. Au Cameroun cette plante sert à lutter contre les diarrhées infantiles, les helminthiases et le lumbago. Elle est également exploitée pour ses vertus hémostatiques<sup>183</sup>. Au Nigeria, la tige est

<sup>189</sup> Mosango, D.M. *Mallotus oppositifolius* (Geiseler) Müll.Arg. Fiche de Protabase. Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A. (Editeurs). PROTA <<http://database.prota.org/recherche.htm>>. Consulté le 10 juillet 2012.

<sup>190</sup> Kabran GR, Ambeu NC, Mamyrbékova-Békro JA, Békro YA. CCM d'extraits sélectifs de 10 Plantes utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein en Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, **2011**, 63, 4, 592-603.

<sup>191</sup> Okpekon T, Yolou S, Gleye C, Roblot F, Loiseau P, Bories C, Grellier P, Frappier F, Laurens A, Hocquemiller R. Antiparasitic activities of medicinal plants used in Ivory Coast. *J. Ethnopharmacol.*, **2004**, 90, 91-97.

<sup>192</sup> Goetz P. Traitement des troubles de la libido masculine. *Phytothérapie*, **2006**, 1, 9-14.

utilisée comme cure-dents pour lutter contre le tartre et les caries dentaires<sup>180,193</sup>. Par ailleurs, les graines sont réputées toxiques<sup>179</sup>.

Outre ses usages en médecine traditionnelle, le bois de *Mallotus oppositifolius* est utilisé comme bois de feu et comme tuteur à igname. Il sert à confectionner des manches d'outils et est utilisé pour le séchage des escargots. Les tiges minces ou l'écorce servent de matériaux pour fabriquer des liens<sup>179</sup>.

#### 1.3.4. Propriétés pharmacologiques

Les extraits de différents organes de cette plante ont été décrits comme possédant des activités anti-inflammatoire, antioxydante<sup>1,2,181</sup> et antidiarrhéique<sup>6</sup>. Par ailleurs, ces extraits ont montré des activités antimicrobienne et antibactérienne<sup>3,194</sup>, antifongique, notamment sur *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp*, *Trichoderma sp* et *Candida albicans*<sup>3</sup>. Une importante activité antiparasitaire de la plante sur *Plasmodium falciparum* (CI<sub>50</sub> = 14,1 µg/mL), *Trypanosoma brucei brucei* (CL<sub>100</sub> = 50 µg/mL), *T.b. rhodesiense* (CI<sub>50</sub> = 14,3 µg/mL) et sur Nematode (CE<sub>50</sub> = 2,5 µg/mL) a été décrite<sup>4,191</sup>.

#### 1.3.5. Travaux antérieurs sur *Mallotus oppositifolius*

De nombreuses évaluations biologiques ont été effectuées sur divers extraits de la plante ; nous pouvons citer entre autres les travaux de **Ogundipe et al.**<sup>194</sup>, **Farombi et al.**<sup>181</sup>, **Okpekon et al.**<sup>191</sup>, **Adekunle et al.**<sup>3</sup>, **Nwaehujor et al.**<sup>195,196</sup> etc. qui ont permis de mettre en évidence des activités anti-inflammatoire, antioxydante, antidiarrhéique, antimicrobienne, antibactérienne, antifongique et antiparasitaire de différents extraits des organes de la plante.

Contrairement à certaines espèces du genre *Mallotus* telles que *Mallotus japonicus*, *Mallotus philippinensis*, etc., qui ont fait l'objet de nombreuses études phytochimiques, *Mallotus oppositifolius* n'a jusqu'alors fait l'objet que de très peu d'étude phytochimique. La seule étude chimique disponible à ce jour sur cette espèce, a été menée récemment par **Harinantenaina et al.**<sup>197</sup> en 2013. De cette étude, les auteurs ont isolé et caractérisé trois composés phénoliques de type phloroglucinol dont deux sont de structures nouvelles. Il s'agit des mallotojaponines B et C (structures nouvelles) et de la mallotophénone (Figure I.1.3.5).

---

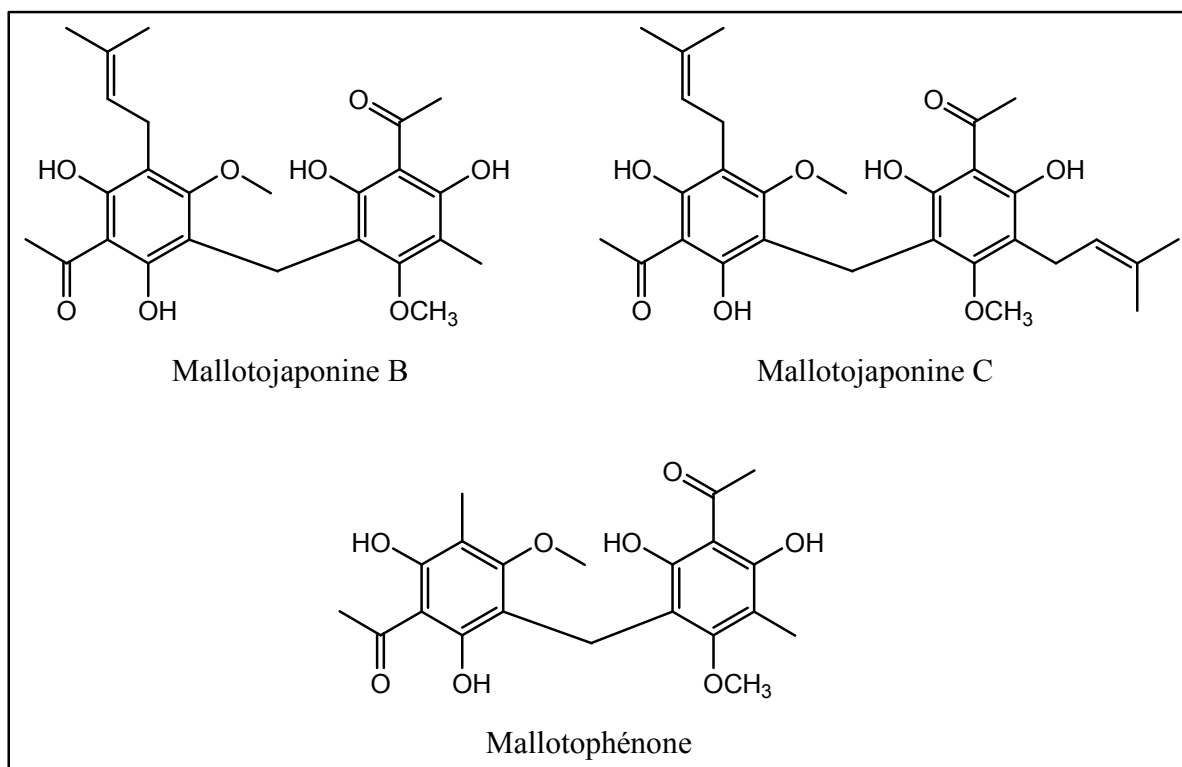
<sup>193</sup> Okwu DE, Ekei O. Phytochemical screening and mineral composition of chewing sticks in South Eastern Nigeria. *Global J. Pure Appl. Sci.*, **2003**, 9, 2, 235-238.

<sup>194</sup> Ogundipe O, Moody JO, Fakeye TO, Ladipo OB. Antimicrobial activity of *Mallotus oppositifolium* extractives. *Afr. J. Med. Me Sci.*, **2000**, 29 (3-4), 281-283.

<sup>195</sup> Nwaehujor CO, Ezeigbo II, Nwinyi FC. Evaluation of *Mallotus oppositifolius* methanol leaf extract on the glycaemia and lipid peroxidation in alloxan-induced diabetic rats: a preliminary study. *Biochemistry Research International*, **2013**, 2013, 1-6.

<sup>196</sup> Nwaehujor CO, Ezeja MI, Udeh NE, Okoye DN, Udegbonam RI. Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of *Mallotus oppositifolius* (Geisel) methanol leaf extracts. *Arabian Journal of Chemistry*, **2012**, In press.

<sup>197</sup> Harinantenaina L, Bowman JD, Brodie PJ, Sleboznick C, Callmender MW, Rakotobe E, Randrianaiivo R, Rasamison VE, Gorka A, Roepe PD, Cassera MB, Kingston DGI. Antiproliferative and antiparasmodial dimeric phloroglucinols from *Mallotus oppositifolius* from the Madagascar dry forest. *J. Nat. Prod.*, **2013**, 76, 388-393.



**Figure I.1.3.5 : Phloroglucinols isolés de *M. oppositifolius***

L'évaluation biologique de ces molécules sur *Plasmodium falciparum* a montré une  $CI_{50}$  de  $0.75 \pm 0.30 \mu\text{M}$  pour la mallotojaponine B et de  $0.14 \pm 0.04 \mu\text{M}$  pour la mallotojaponine C alors que la mallotophénone est inactive sur ce parasite. Par ailleurs, ces trois composés la mallotojaponine B, la mallotojaponine C et la mallotophénone ont montré une forte inhibition de la lignée cancéreuse A2780 responsable du cancer de l'ovaire chez l'homme de  $1,10 \pm 0,05$ ,  $1.3 \pm 0.1$  et de  $6.3 \pm 0.4 \mu\text{M}$  respectivement.

## 2. Extractions et isollements des composés des feuilles, des écorces de tige, des racines et des fruits de *Mallotus oppositifolius*

Les organes de plante étudiés ont été récoltés dans la même localité, au Sud-est de la Côte d'Ivoire, dans leur habitat naturel. Pour les feuilles deux récoltes ont été effectuées. Après séchage et broyage, la poudre obtenue est soumise à une extraction.

La numérotation des molécules isolées suit l'ordre dans lequel leurs structures ont été déterminées et non l'ordre de leur isolement. Par ailleurs, un document annexe joint à la fin du document pourra servir de guide au lecteur.

### 2.1. Extractions

Nous avons suivi le même protocole d'extraction pour tous les organes de la plante. La figure I.2.1 indique les différentes étapes d'extraction. Pour chaque organe de plante, trois extraits, hexanique (ou cyclohexanique), chlorométhylénique et à l'acétate d'éthyle sont obtenus.

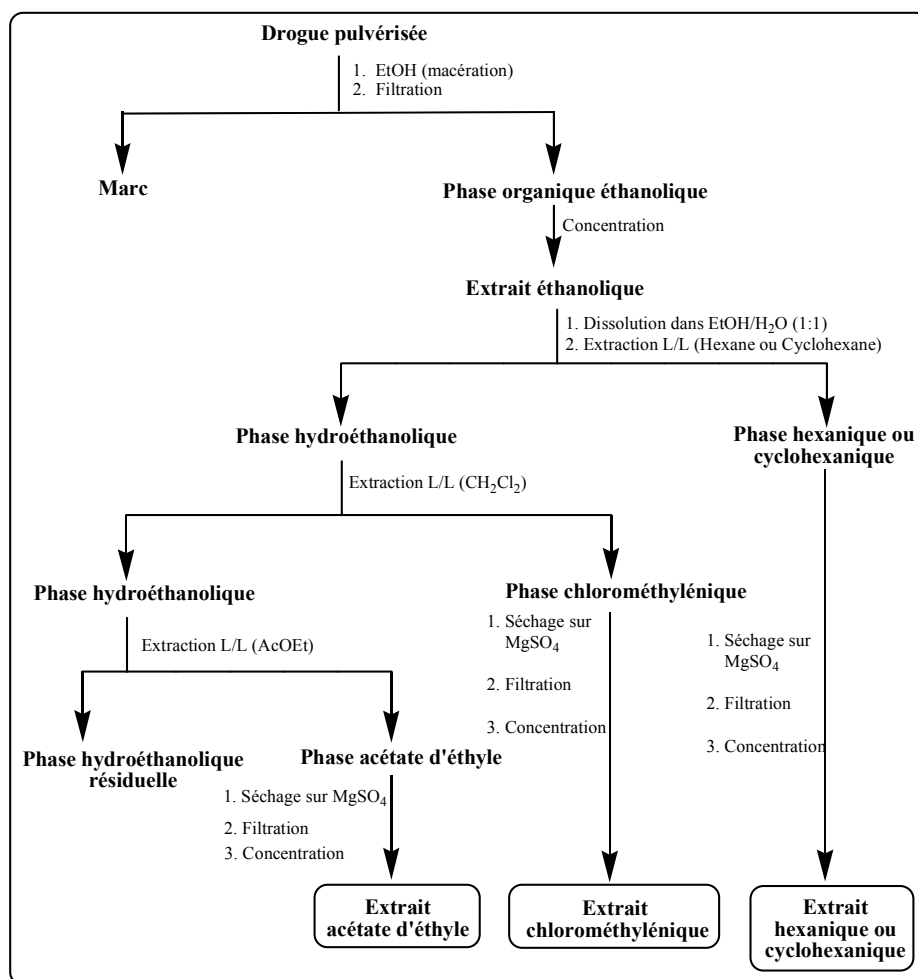


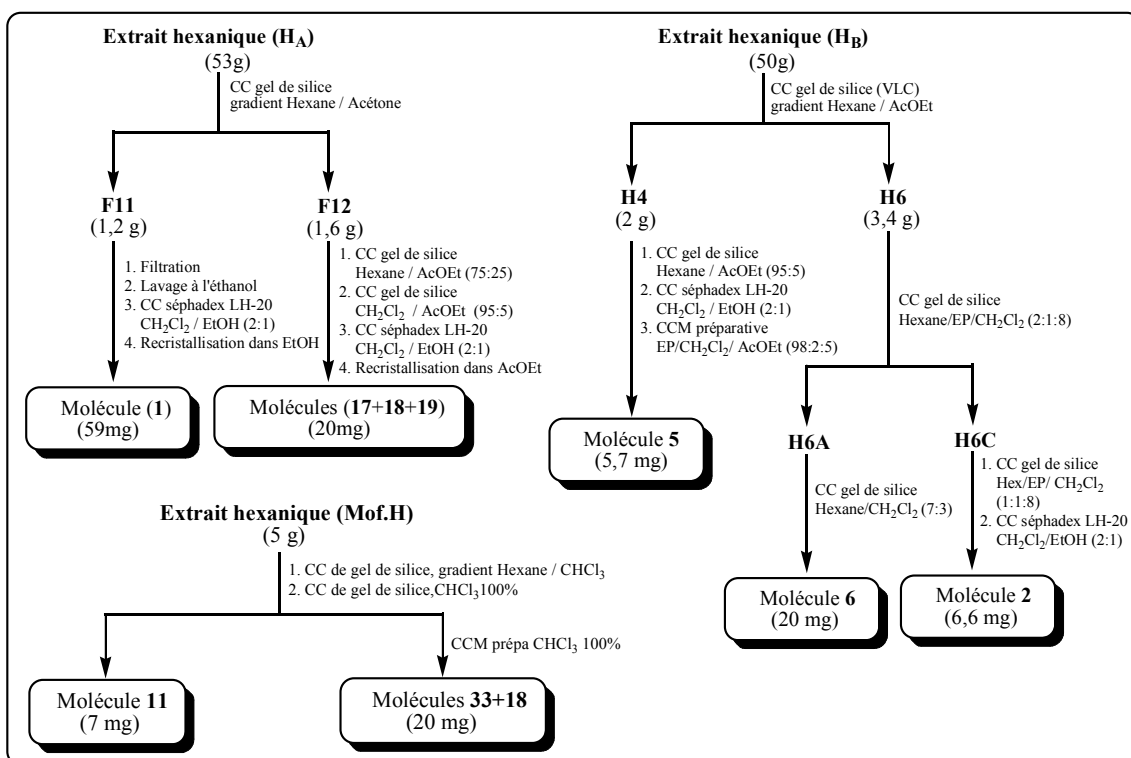
Figure I.2.1 : Extractions de *Mallotus oppositifolius*

## 2.2. Isolements

L'isolement et la purification des composés à partir des extraits ont été réalisés par combinaisons de techniques chromatographiques. Dans certains cas une recristallisation a été nécessaire.

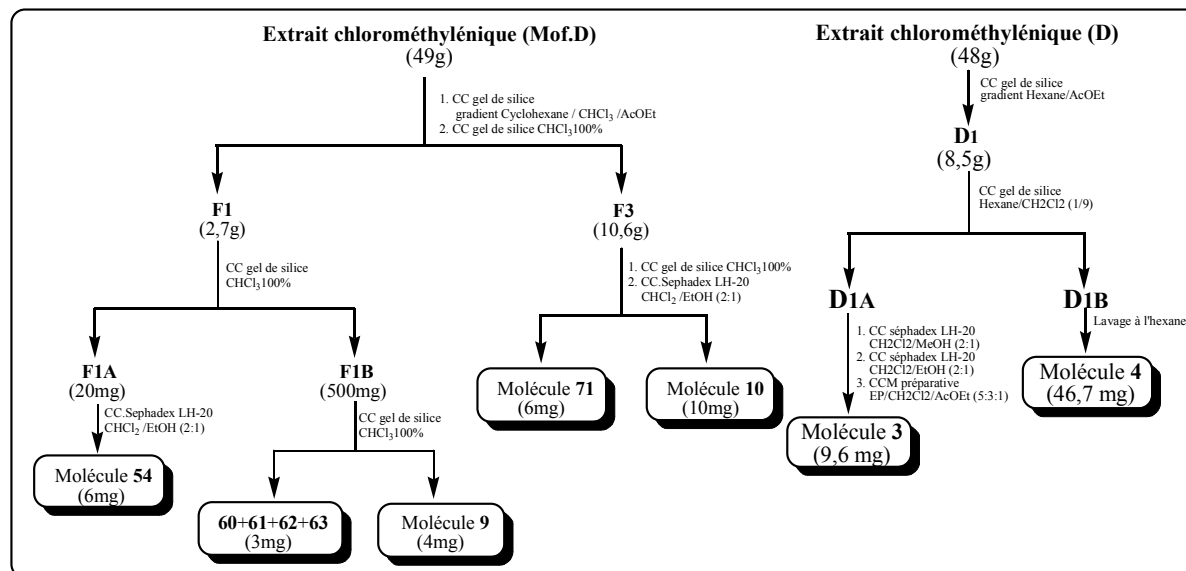
### 2.2.1. Isolement des feuilles

Nous avons étudié trois extraits hexaniques (**H<sub>A</sub>**, **H<sub>B</sub>** et **Mof.H**) obtenus à partir des échantillons des deux récoltes effectuées. La purification de ces extraits est indiquée sur la figure I.2.2.1a. Dix composés ont été isolés et identifiés.



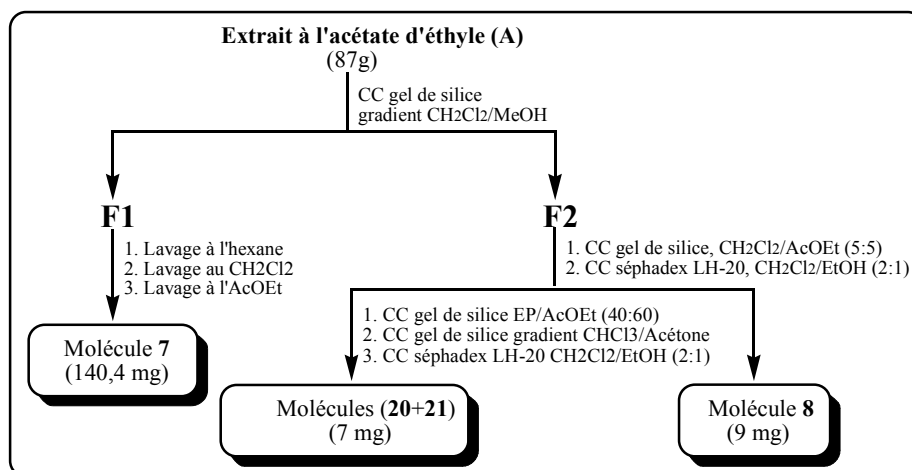
**Figure I.2.2.1a : Purification de l'extrait hexanique des feuilles**

L'étude des extraits chlorométhyléniques **D** et **Mof.D** a permis d'isoler et d'identifier dix molécules (Figure I.2.2.1b).



**Figure I.2.2.1b : Purification de l'extrait chlorométhylénique des feuilles**

De l'étude de l'extrait à l'acétate d'éthyle (**A**), quatre composés ont été isolés et identifiés (Figure I.2.2.1c).



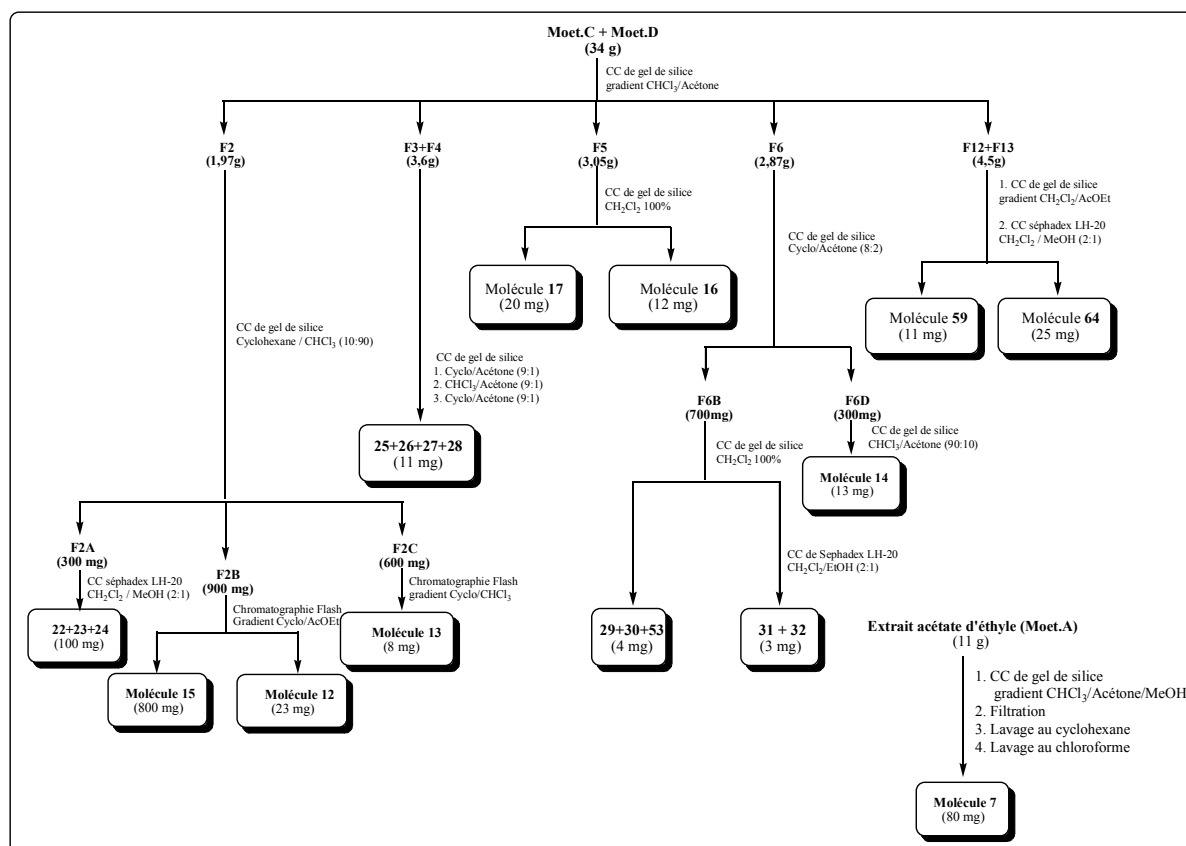
**Figure I.2.2.1c : Purification de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles**

### 2.2.2. Isolement des écorces de tige

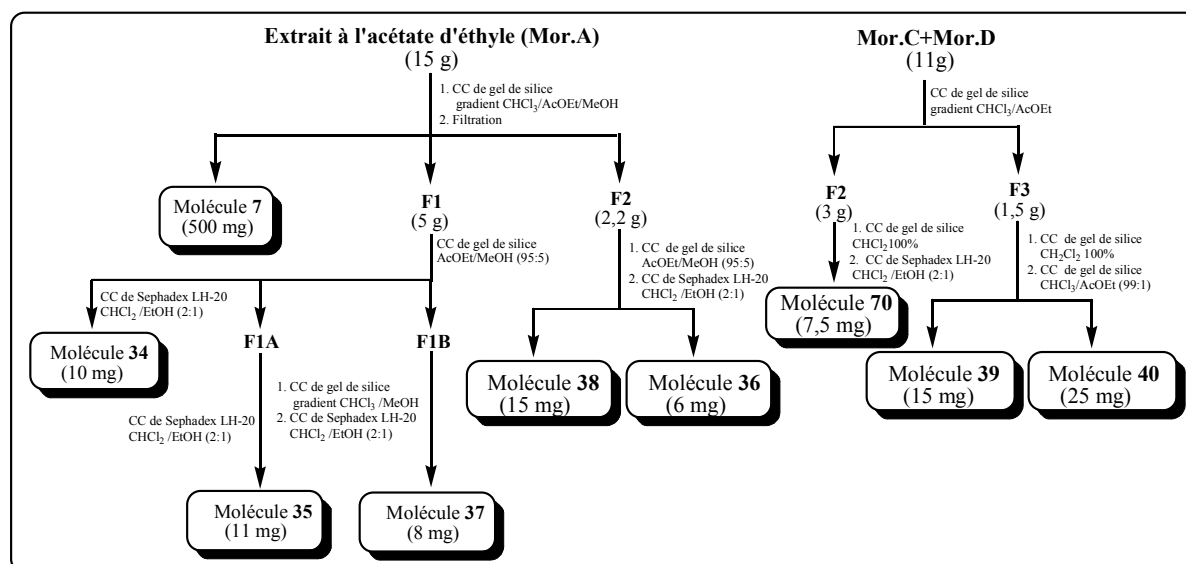
Trois extraits, cyclohexanique (**Moet.C**), chlorométhylénique (**Moet.D**) et à l'acétate d'éthyle (**Moet.A**) ont été obtenus. Les extraits cyclohexanique et chlorométhylénique qui présentaient des profils chromatographiques semblables en CCM ont été associés pour former une fraction unique. La purification de ces extraits et de l'extrait à l'acétate d'éthyle a permis d'obtenir respectivement dix neuf et un composé (Figure I.2.2.2).

### 2.2.3. Isolement des racines

Les extraits cyclohexanique (**Mor.C**) et chlorométhylénique (**Mor.D**) de profils chromatographiques sur CCM similaires ont été associés pour être purifiés. Leur purification a donné trois molécules tandis que la purification de l'extrait à l'acétate d'éthyle (**Mor.A**) a permis d'obtenir six composés (Figure I.2.2.3).



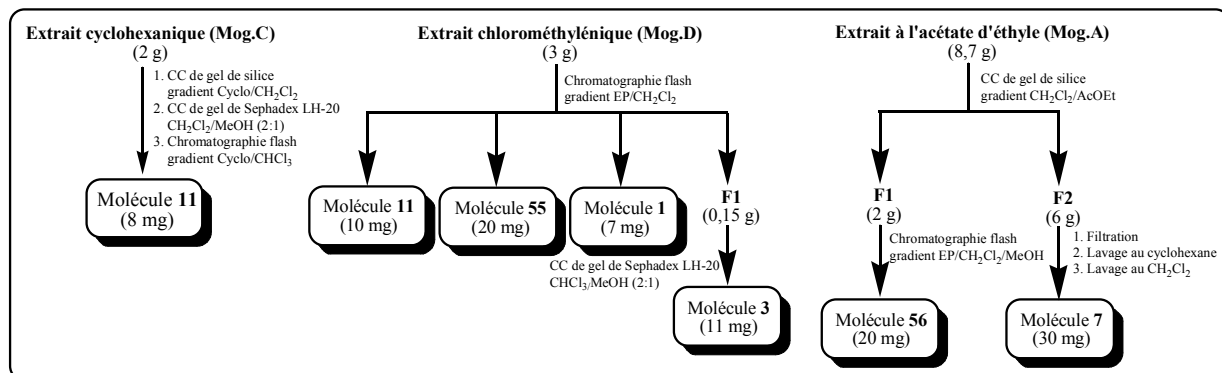
**Figure I.2.2.2 : Purification des extraits cyclohexanique, chlorométhylénique et à l'acétate d'éthyle des écorces de tige**



**Figure I.2.2.3 : Purification des extraits cyclohexanique, chlorométhylénique et à l'acétate d'éthyle des racines**

#### 2.2.4. Isolement des fruits

De l'étude de cet organe de la plante deux composés ont été obtenus de l'extrait à l'acétate d'éthyle, un de l'extrait cyclohexanique et quatre de l'extrait chlorométhylénique (Figure I.2.2.4).



**Figure I.2.2.4 : Purification des extraits cyclohexanique, chlorométhylénique et à l'acétate d'éthyle des fruits**

### 3. Détermination structurale des composés isolés

La détermination structurale des molécules isolées a été réalisée à partir des données spectrales obtenues par spectroscopie ultraviolette (UV), spectroscopie infrarouge (IR), spectroscopie de masse (SM) et spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton et du carbone 13.

#### 3.1. Phytostéroïls, terpènes et corps gras

##### 3.1.1. Caractérisation des composés stéroïdiques et terpéniques

Dans cette section nous donnerons quelques caractéristiques physico-chimiques des stéroïdes et des terpènes. L'identification de ces composés se fait par analyse combinée des techniques spectrales que sont l'infrarouge, l'ultraviolet, la RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C, et très souvent par l'étude des fragmentations en spectrométrie de masse.

##### 3.1.1.1. Caractérisation chimique

Les stéroïdes sont des composés qui se caractérisent par un noyau cyclopentanophénanthrénique (noyau stérane) hydrophobe. Ils sont avec les terpènes généralement solubles dans les solvants apolaires tels que l'hexane, l'éther de pétrole, le dichlorométhane, le chloroforme, etc. Leur purification se fait par les techniques chromatographiques habituelles sur silice.

Les composés stéroïdiques et terpéniques peuvent être révélés sur CCM par l'acide phosphomolybdique, la vanilline sulfurique et le réactif de Liebermann-Burchard. Ce dernier

permet de mettre en évidence les triterpènes de types oléanane, ursane, lupane ainsi que les stéroïdes. On observe des tâches de colorations diverses selon le type de composé testé. Ainsi on a une coloration rouge pour les triterpènes de type oléanane et ursane, une coloration jaune-orangée pour les triterpènes de type lupane et une coloration jaune ou jaune-vert pour les stéroïdes.

D'autres réactions de coloration plus spécifiques tels que la réaction de Zimmermann peuvent être utilisés. Cette réaction qui permet de caractériser les stéroïdes dont le carbone en position 17 porte une fonction cétone utilise le *m*-dinitrobenzène et une solution de potasse dans l'éthanol. La présence de 17-cétostéroïdes est matérialisée par une coloration rouge pourpre. Par ailleurs, les 17-cétostéroïdes saturés sont caractérisés par la méthode de Pincus qui utilise le trichlorure d'antimoine dans un mélange d'acide acétique et d'anhydride acétique. La réaction est positive lorsqu'après chauffage une coloration bleue est observée.

### 3.1.1.2. Caractérisation spectrale

#### 3.1.1.2.1. Spectroscopie ultraviolette (UV)

Cette technique donne des informations sur les systèmes électroniques conjugués. Elle ne permet pas de caractériser de façon formelle les stérols et les terpènes. Les spectres obtenus sont non seulement tributaires des systèmes électroniques présents dans la structure, mais également des différents substituants et du solvant (ou du système de solvants) dans lequel le spectre est enregistré.

#### 3.1.1.2.2. Spectroscopie infrarouge (IR)

Le spectre infrarouge de ces composés donne des informations plus caractéristiques. Les terpènes et les stéroïdes possèdent généralement un nombre élevé de groupements méthyne, méthylène et méthyle. Par conséquent de fortes bandes d'élongation C-H sont visibles entre 2850 et 3000  $\text{cm}^{-1}$  et des bandes de déformation du même groupement, d'intensité plus faible s'observent entre 1350 et 1480  $\text{cm}^{-1}$ . Par ailleurs, les doubles liaisons éthyléniques sont visibles entre 1500 et 1650  $\text{cm}^{-1}$ , tandis que l'élongation C-O de l'oxyméthine des stéroïdes s'observe aux environs de 1100-1200  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 3.1.1.2.3. Spectroscopie de masse (SM)

Le spectre de masse par impact électronique des stérols montre des fragments caractéristiques indiquant la nature de la chaîne latérale en position 17 du noyau stérane. Chez les stéroïdes possédant une insaturation dans le noyau stérane, des pics résultant d'un réarrangement de type rétro-Diels-Alder sont observables.

#### 3.1.1.2.4. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  des stérols montre des amas de pics très denses dans la région de 0,60 à 2,50 ppm. Ces amas sont attribuables aux nombreux groupements méthyne, méthylène et

méthyle présents dans leur structure. Les caractéristiques des spectres des stérols sont liées à l'oxyméthine en position 3 visible dans l'intervalle 3-4 ppm du spectre proton et au carbone C-3 visible entre 65 et 80 ppm sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$ .

### 3.1.2. Analyse structurale de la molécule 6 (Lupéol)

Le composé **6** qui se présente sous forme d'un solide blanc cotonneux a été isolé de la fraction H6 à de l'extrait hexanique des des feuilles. L'élucidation de sa structure a été réalisée par analyse combinée de ses spectres infrarouge, de masse par impact électronique, de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  mono et bidimensionnels, et par comparaison de ses données spectrales avec celles décrites dans la littérature. Sa formule brute  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$  est compatible avec la valeur à  $m/z$  426 sur le spectre CPG-SM.

Sur le spectre infrarouge de **6**, on note la présence d'un groupement hydroxyle à  $3393\text{ cm}^{-1}$ , d'un groupement éthylénique à  $1638\text{ cm}^{-1}$  et de bandes de vibration symétrique de groupements méthyles géminés<sup>198,199</sup> à  $1380$  et  $1369\text{ cm}^{-1}$ .

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  montre des signaux pour trente carbones dont sept méthyles, onze méthylènes, six méthynes et six carbones quaternaires suggérant une structure de type triterpène pour le composé **6**.

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  met en évidence des protons isoprényles caractéristiques d'un triterpène pentacyclique de type lupane<sup>200,201</sup> à travers les résonances à  $\delta$  4,68 (d ; 1H ; 1,6Hz), 4,56 (d ; 1H ; 1,2Hz) et 1,68 (s, 3H). On note également sur ce spectre la présence d'un proton oxyméthine à  $\delta$  3,18 (dd ; 1H ; 4,8Hz ; 11,2Hz) et de sept singulets de méthyles quaternaires à  $\delta$  1,68 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,78 (s, 3H) et 0,76 (s, 3H). L'attribution des protons à leurs carbones respectifs été effectuée grâce à l'analyse du spectre HSQC.

L'ensemble de ces données spectrales en accord avec celles relevées dans la littérature<sup>200,201,202</sup> permettent d'identifier le composé **6** au **3 $\beta$ -hydroxylup-20 (29)-ène** ou **lupéol**.

Cette molécule a fait l'objet de synthèse en 2009 par **Surendra et Corey**<sup>203</sup>.

<sup>198</sup> Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ. Spectrometric identification of organic compounds. 7<sup>th</sup> edition, John Wiley & Sons, Inc, **2005**, 502p.

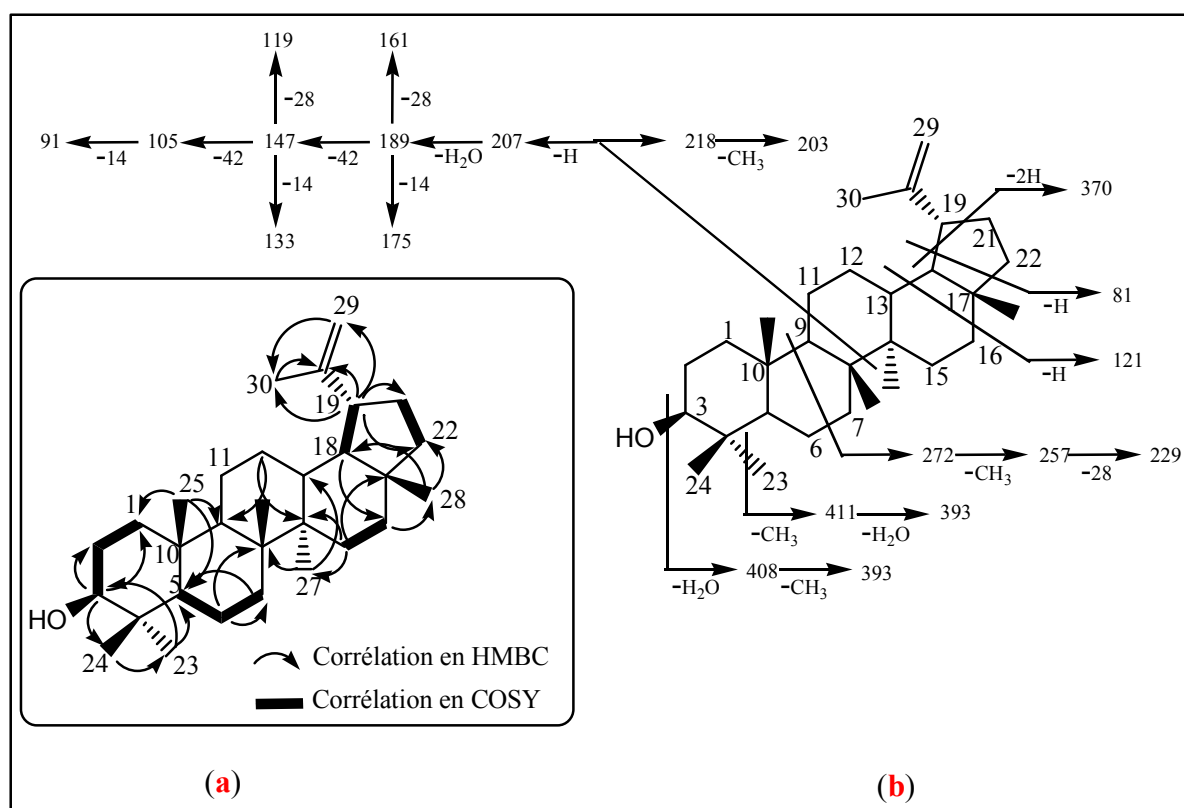
<sup>199</sup> Siddiqui BS, Ilyas F, Rasheed M, Begum S. Chemical constituents of leaves and stem bark of *Plumeria obtusa*. *Phytochemistry*, **2004**, 65, 2077-2084.

<sup>200</sup> Gallo MBC, Sarachine MJ. Biological activities of lupeol. *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, **2009**, 3, 1, 46-66.

<sup>201</sup> Lutta KP, Christine B, Teresa AA, Cornelius WW. Antimicrobial marine natural products from the sponge *Axinella infundibuliformis*. *Rec. Nat. Prod.*, **2008**, 2: 4, 116-127.

<sup>202</sup> Fotie J, Bohle DS, Leimanis ML, Georges E, Rukunga G, Nkengfack E. Lupeol longchain fatty acid esters with antimalarial activity from *Holarrhena floribunda*. *J. Nat. Prod.*, **2006**, 69, 62-67.

<sup>203</sup> Surendra K, Corey EJ. A Short Enantioselective Total Synthesis of the Fundamental Pentacyclic Triterpene Lupeol. *Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 13928-13929.



**Figure I.3.1.2 : Corrélations importantes en COSY et en HMBC du lupéol (a) ; fragments importants en SMIE du lupéol (b)**

### 3.1.3. Analyse structurale de la molécule 17 (Stigmastérol)

Le composé **17** se présente sous forme de cristaux blancs en aiguilles. Il est obtenu à partir de la fraction F5 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des écorces de tige. Ce composé donne une coloration bleue-violacée avec le réactif de Liebermann-Burchard caractéristique des stéroïdes<sup>204</sup> et une coloration violette après révélation à la vanilline sulfurique. Sa formule brute  $C_{29}H_{48}O$  est compatible avec la valeur à  $m/z$  412 sur le spectre de masse CPG-SM.

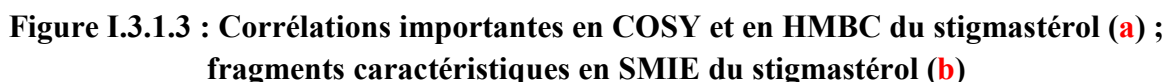
La présence sur le spectre IR des bandes d'absorption à 3392 et 1051  $cm^{-1}$  révèle l'existence dans la structure de **17** de groupement hydroxyle d'alcool secondaire<sup>205</sup>. Par ailleurs, des bandes d'élongation C-H de méthyles angulaires<sup>206</sup> sont observées à 2933 et 2867  $cm^{-1}$ . Les absorptions à 1467 et 1063  $cm^{-1}$  sont respectivement caractéristiques de groupements méthylènes cycliques (fréquence de torsion) et de cyclo-alcanes. Ce spectre suggère également la présence dans la structure de **17** de groupements éthylénique et isopropyle à travers la faible fréquence

<sup>204</sup> Harborne JB. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. 3<sup>rd</sup> Ed., Chapman and Hall: London, **1998**, 302p.

<sup>205</sup> Mehta GN, Makhija IK, Vignesh H, Chandrashekar KS, Richard L, Prasanna KS. Isolation of 3 $\beta$ -16 $\alpha$ -dihydroxy-5-cholesten-21-al, n-Docosanoic acid and Stigmasterol from petroleum ether extract of stem bark of *Michelia champaca*. *Arch. Appl. Sci. Res.*, **2010**, 2, 6, 344-348.

<sup>206</sup> Gangwal A, Parmar SK, Sheth NR. Triterpenoid, flavonoids and sterols from *Lagenaria siceraria* fruits. *Der Pharmacia Lettre*, **2010**, 2, 1, 307-317.

L'analyse des spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  caractéristiques des stéroïdes, en concordance avec les spectres infrarouge, CPG-SM et les données de la littérature<sup>207,208,209,210</sup>, nous permettent d'identifier le composé **17** au **stigmastérol**.



Le composé **39** a été isolé à partir de la fraction F3 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des racines sous forme d'un solide blanc. Sa formule brute  $C_{29}H_{50}O$  est compatible avec la masse de l'ion moléculaire  $[M]^+$  à  $m/z$  414 sur son spectre CPG-SM. Ce composé donne une coloration bleue-violacée avec le réactif de Lieberman-Burchard suggérant une structure de type stéroïdique.

<sup>207</sup> Kamboj A, Saluja AK. Isolation of stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* (Asteraceae). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2011**, 3, 1, 94-96.

<sup>208</sup> Cui E-J, Park H-J, Wu Q, Chung I-S, Kim J-Y, Baek N-I. Sterols from the seed of Cowpea (*Vigna sinensis* K.). *J. Appl. Biol. Chem.*, **2010**, 53, 2, 77-81.

<sup>209</sup> Makhija IK, Vignesh H, Chandrashekar KS, Richard L, Prasanna KS. Isolation of 3 $\beta$ -16 $\alpha$ -dihydroxy-5-cholesten-21-al, n-Docosanoic acid and Stigmasterol from petroleum ether extract of stem bark of *Michelia champaca*. *Arch. Appl. Sci. Res.*, **2010**, 2 (6), 344-348.

210 Kongduang D, Wungsintaweekul J, De-Eknamkul W. Biosynthesis of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol proceeds exclusively via the mevalonate pathway in cell suspension cultures of *Croton stellatopilosus*. *Tetrahedron Letters*, **2008**, 49, 4067-4072.

<sup>211</sup> Patra A, Jha S, Murthy PN, Manik, Sharone A. Isolation and characterization of stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -sitosterol) from the leaves of *Hygrophila spinosa* T. Anders. *IJPSR*, **2010**, 1, 2, 95-100.

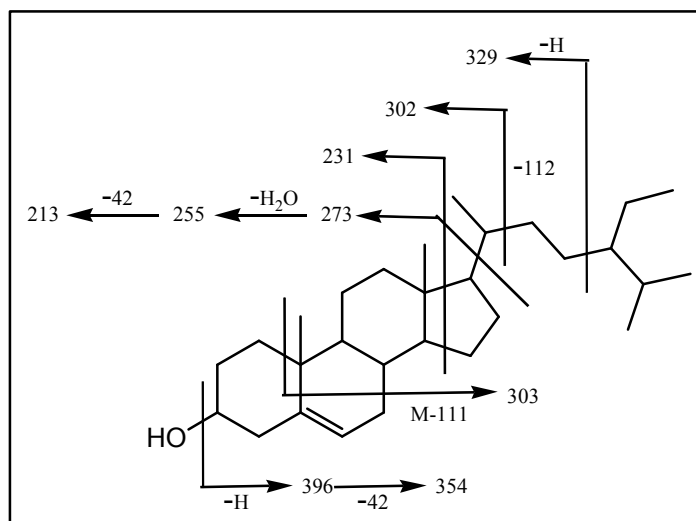
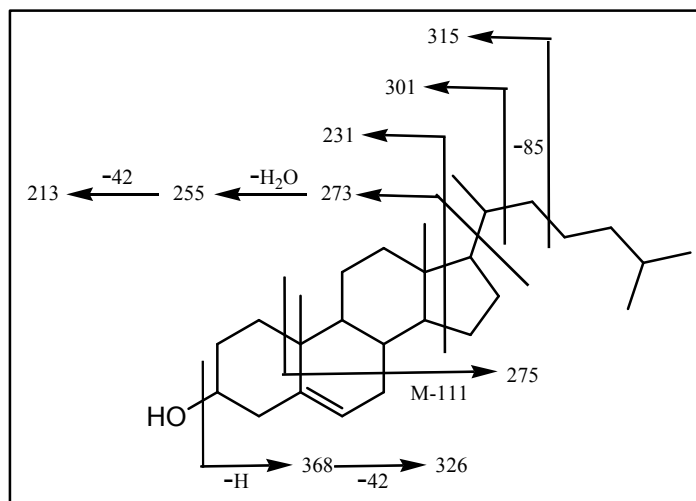


Figure I.3.1.4 : Fragments caractéristiques en SMIE du  $\beta$ -sitostérol

### 3.1.5. Analyse structurale de la molécule 40 (Cholestérol)

Le composé **40** se présente sous forme d'un solide blanc. Il a été isolé à partir de la fraction F3 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des racines. Ce composé a été identifié au **cholestérol** sur la base de la concordance de ses données infrarouge, RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , CPG-SM et avec celles de la littérature<sup>212</sup>. Quelques fragments caractéristiques en SMIE de ce composé sont présentés sur la figure I.3.1.5.



Figures I.3.1.5 : Fragments caractéristiques en SMIE du cholestérol

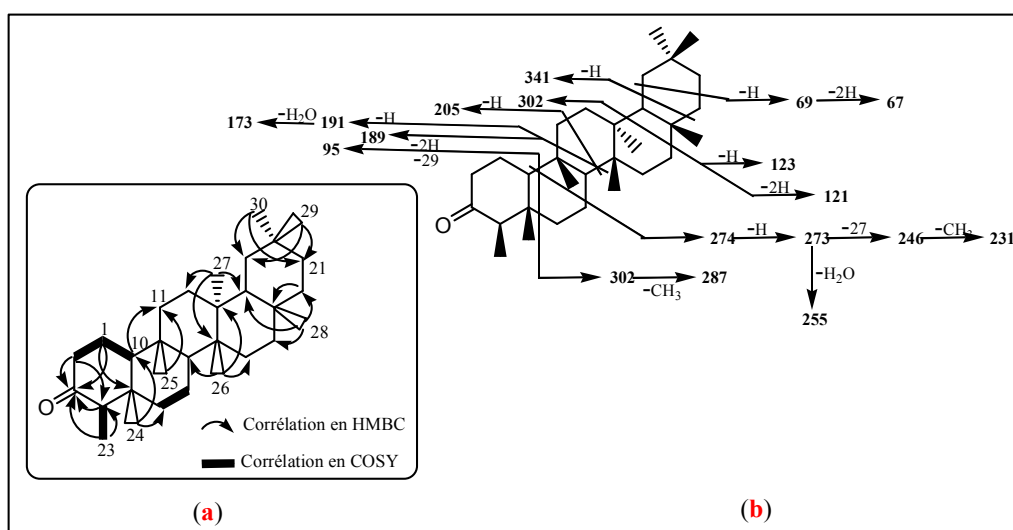
<sup>212</sup> Holland GP, Alam TM. Multi-dimensional  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HETCOR and FSLG-HETCOR NMR study of sphingomyelin bilayers containing cholesterol in the gel and liquid crystalline states. *Journal of Magnetic Resonance*, **2006**, 181, 316-326.

### 3.1.6. Analyse structurale de la molécule 15 (Friedeline)

Le composé **15** se présente sous forme d'un solide blanc cotonneux. Il a été obtenu à partir de la fraction F2 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des écorces de tige. Sa formule brute  $C_{30}H_{50}O$  a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  427,3942 (calculé 427,3940).

Sur le spectre infrarouge de **15**, on note la présence d'un groupement carbonyle de cétone cyclique à  $1714\text{ cm}^{-1}$  et de bandes de vibration symétrique de groupements méthyles géminés<sup>198,199</sup> à  $1390$ ,  $1387$  et  $1356\text{ cm}^{-1}$ .

Le composé **15** a été identifié à la **friedeline** sur la base de ses données spectrales infrarouge, RMN  $^1H$  et  $^{13}C$ , GC-MS en accord avec les données de la littérature<sup>213,214,215</sup>.



**Figure I.3.1.6 : Corrélations importantes en COSY et en HMBC de la friedeline (a) ; Fragments importants en SMIE de la friedeline (b)**

### 3.1.7. Analyse structurale de la molécule 11 (Squalène)

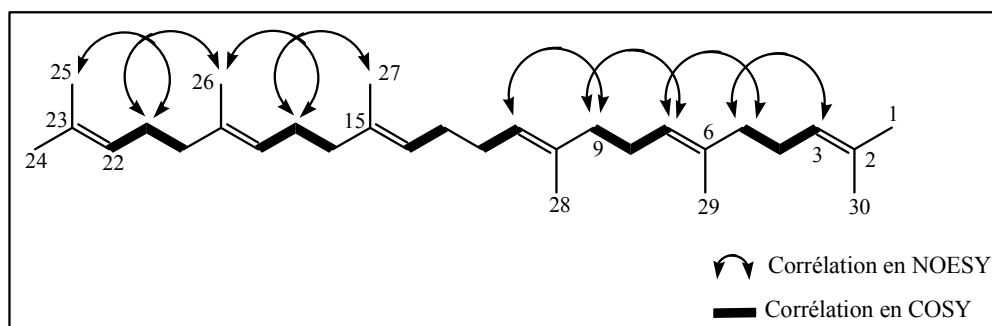
Le composé **11**, obtenu à partir de la fraction F1 de l'extrait hexanique des feuilles se présente sous forme d'une huile incolore et visqueuse. Sa formule brute  $C_{30}H_{50}$  a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  411,3991 (calculé 411,3991).

<sup>213</sup> Mann A, Ibrahim K, Oyewale AO, Amupitan JO, Fatope MO, Okogun JI. Antimycobacterial Friedelane-terpenoid from the Root Bark of *Terminalia Avicennioides*. *American Journal of Chemistry*, **2011**, 1, 2, 52-55.

<sup>214</sup> Ghosh P, Mandal A, Chakraborty M, Saha A. Triterpenoids from *Quercus suber* and their antimicrobial and phytotoxic activities. *J. Chem. Pharm. Res.*, **2010**, 2, 4, 714-721.

<sup>215</sup> Queiroga CL, Silva GF, Dias PC, Possenti A, Carvalho JE. Evaluation of the antiulcerogenic activity of friedelan-3 $\beta$ -ol and friedelin isolated from *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **2000**, 72, 465-468.

La comparaison de ses données spectrales infrarouge, RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , CPG-SM avec celles de la littérature<sup>216,217,218</sup> indique qu'il s'agit du **squalène**.



**Figure I.3.1.7 : Quelques corrélations en COSY et en NOESY du squalène**

### 3.1.8. Analyse structurale de la molécule 10 (Phytol)

Le composé **10** a été isolé sous forme d'une huile incolore à partir de la fraction F3 de l'extrait chlorométhylénique des feuilles. Sa formule brute  $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$  est compatible avec la valeur à  $m/z$  278  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  sur le spectre CPG-SM. Le spectre infrarouge de **10**, met en évidence une bande de groupement hydroxyle à  $3341\text{cm}^{-1}$ , deux bandes de groupement C-O à  $1089$  et  $1046\text{cm}^{-1}$ , caractéristiques d'une fonction alcool primaire et une bande de groupement vinylique à  $1453\text{cm}^{-1}$ . La configuration (*7R*, *11R*) est attribuée sur la base de la comparaison du signe du pouvoir rotatoire positif ( $\alpha_D = +7$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) avec les données de la littérature ( $\alpha_D = +5$ ,  $\text{CHCl}_3$ )<sup>219,220</sup>. Ces données infrarouge et CPG-SM en concordance avec les données de la RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , comparées à celles de la littérature, nous permettent de suggérer la structure de **10** comme étant celle du (**7R**, **11R**)-**3, 7, 11, 15-tétraméthylhexadec-2-én-1-ol** encore appelé **-phytol**.

Par ailleurs, l'infrarouge ne permet pas de trancher sur la configuration *E* ou *Z* des composés vinyliques trisubstitués. En outre la configuration *E* du phytol est celle fréquemment décrite dans la littérature à l'état naturel, il est donc probable que celui que nous décrivons soit de configuration *E*.

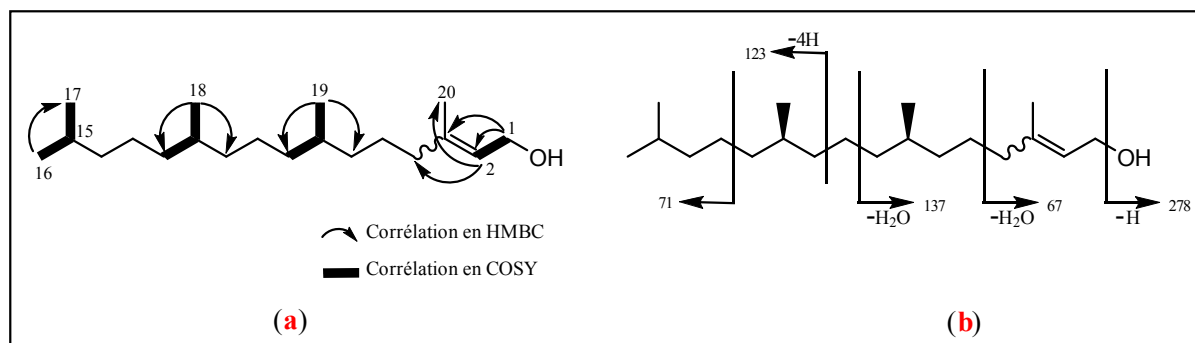
<sup>216</sup> Altun A, Ok S. NMR analyses and diffusion coefficient determination of minor constituents of olive oil: combined experimental and theoretical studies. *J. Chem. Eng. Data*, **2012**, 57, 2619-2624.

<sup>217</sup> Kuo Y-H, Chu P-H. Studies on the constituents from the bark of *Bauhinia purpurea*. *J. Chin. Chem.Soc.*, **2002**, 49, 2, 269-274.

<sup>218</sup> Kalinowski H-O, Berger S, Braun S. Carbon-13 NMR spectroscopy. Ed. John Wiley & Sons Ltd., **1988**, 776p.

<sup>219</sup> Alarif WM, Ayyad SN, Al-Lihaibi SS. Acyclic diterpenoid from the red alga *Gracilaria foliifera*. *Rev. Latinoamer. Quim.*, **2010**, 38, 1, 52-57.

<sup>220</sup> Park B-Y, Min B-S, Oh S-R, Kim J-H, Kim T-J, Kim D-H, Bae K-H, Lee H-K. Isolation and anticomplement activity of compounds from *Dendropanax morbifera*. *Journal of Ethnopharmacology*, **2004**, 90, 403-408.

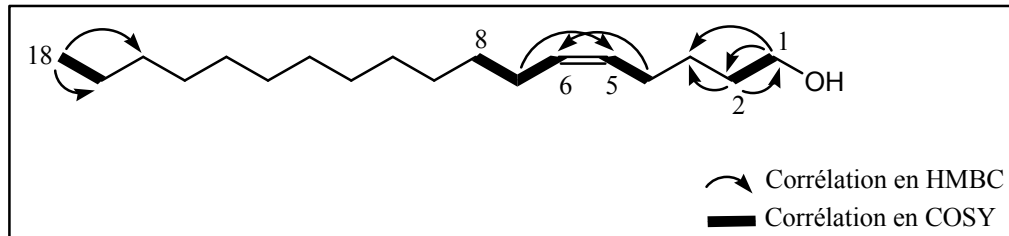


**Figure I.3.1.8 : Quelques corrélations en COSY et en HMBC du phytol (a) ; fragments importants en SMIE du phytol (b)**

### 3.1.9. Analyse structurale de la molécule 16 ((Z)-octadec-5-én-1-ol)

Isolé à partir de la fraction F5 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des écorces de tige, le composé **16** se présente sous forme d'une huile orange. Sa formule brute C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+Na]<sup>+</sup> à *m/z* 291,2659 (calculé 291,2664).

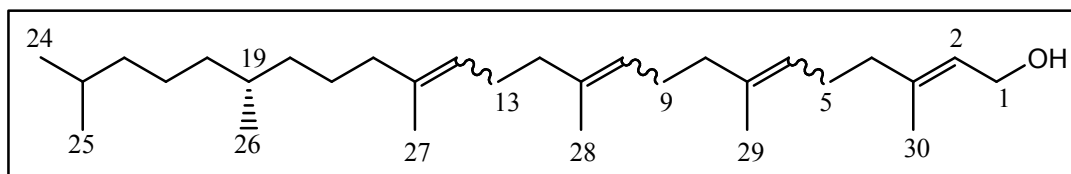
Le spectre infrarouge de **16**, montre une bande de groupement hydroxyle à 3398 cm<sup>-1</sup>, une de groupement éthylénique à 1604 cm<sup>-1</sup> ainsi qu'une bande caractéristique d'alcène de configuration *Z* à 667 cm<sup>-1</sup>. Ces données corroborées par les données des spectres de RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C nous permettent d'identifier le composé **16** au ((Z)-octadec-5-én-1-ol.



**Figure I.3.1.9 : Quelques corrélations en COSY et en HMBC de la molécule 16**

### 3.1.10. Analyse structurale de la molécule 54

La molécule **54** a été isolée sous forme d'une huile jaune à partir de la fraction F1 de l'extrait chlorométhylénique des feuilles. Sa formule brute C<sub>30</sub>H<sub>54</sub>O est compatible avec la valeur à *m/z* 430 observée sur le spectre CPG-SM.



**Figure I.3.1.10 : Structure du composé 54**

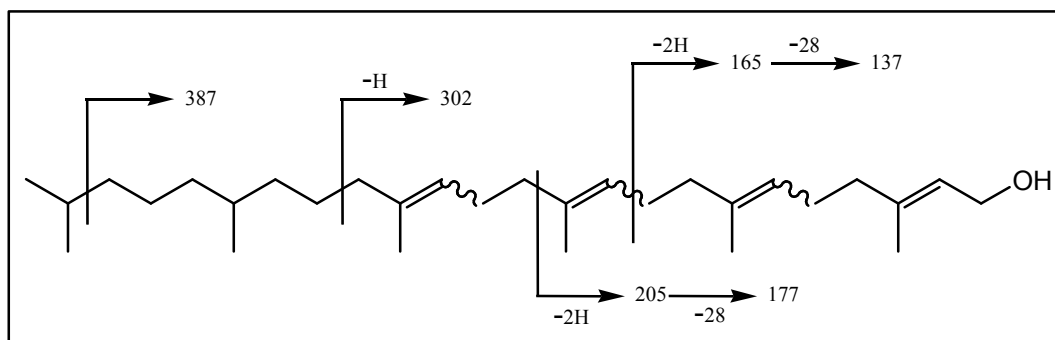
Le spectre infrarouge de **54** montre un groupement hydroxyle à  $3219\text{ cm}^{-1}$ , des groupements éthyléniques à  $1738$  et  $1616\text{ cm}^{-1}$ . Par ailleurs, de fortes bandes d'élongations CH sont visibles entre  $2970$  et  $2845\text{ cm}^{-1}$  tandis que la bande à  $1082\text{ cm}^{-1}$  est caractéristique de groupement C-O d'alcool primaire.

Le composé **54** présente les mêmes caractéristiques spectrales RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  que le (*E*)-phytol (**10**) à la différence qu'il présente un nombre beaucoup plus élevé de groupements alkyles ( $\text{CH}_3$  et  $\text{CH}_2$ ) et vinyliques. Sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$ , les protons vinyliques sont visibles à  $\delta$  5,34 (t ; 7,2Hz) et 5.12 (m) tandis que ceux d'un hydroxyméthylène s'observent à  $\delta$  4,55 (d ; 7,2Hz). Les protons des groupements alkyles apparaissent entre 0.86 et 2.04 ppm.

**Tableau I.3.1.10 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **54****

| Atome N°        | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) |
|-----------------|-----------------------------------|------------------------------------------|
| <b>1</b>        | 60,8                              | 4,55 (d ; 7,2)                           |
| <b>2</b>        | 119,3                             | 5,34 (t ; 7,2)                           |
| <b>3</b>        | 140,6                             | -                                        |
| <b>7/11/15</b>  | 135,2                             | -                                        |
| <b>4/8/12</b>   | 39,7                              | 2,04 (m)                                 |
| <b>5/9/13</b>   | 26,6                              |                                          |
| <b>6/10</b>     | 125,0                             | 5,12 (m)                                 |
| <b>14</b>       | 124,2                             |                                          |
| <b>15</b>       | 135,2                             | -                                        |
| <b>16</b>       | 39,3                              | 1,98 (t ; 4,2)                           |
| <b>17/21</b>    | 26,3                              | 1,25 (m)                                 |
| <b>18</b>       | 37,4                              |                                          |
| <b>19</b>       | 32,7                              | 1,67 (m)                                 |
| <b>20</b>       | 32,1                              | 1,25 (m)                                 |
| <b>22</b>       | 29,6                              | 1,25 (m)                                 |
| <b>23</b>       | 27,9                              | 1,67 (m)                                 |
| <b>24/25</b>    | 23,4                              | 0,86 (d ; 6,4)                           |
| <b>26</b>       | 22,7                              |                                          |
| <b>27/28/29</b> | 15,9                              | 1,59 (s)                                 |
| <b>30</b>       |                                   | 1,67 (s)                                 |

Sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$ , les carbones de groupements vinyliques s'observent entre 119 et 135 ppm, le carbone de l'oxyméthylène à  $\delta$  60.8 et les carbones des groupements alkyles entre 15.9 et 39.7 ppm.



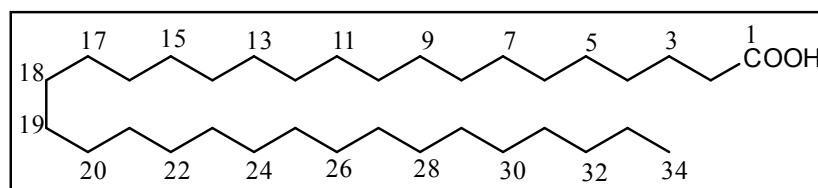
**Figure I.3.1.10 : Quelques fragments importants en SMIE du composé **54****

Des fragments importants permettant de confirmer la structure de **54** sont indiqués sur la figure I.3.1.10.

Concernant la configuration des doubles liaisons, la spectroscopie IR permet de distinguer la configuration *Z* ou *E* d'une liaison éthylénique disubstituée, mais pas d'une liaison éthylénique trisubstituée ou tétrasubstituée. Le proton H-1 corrèle en NOESY avec le méthyle 30. On observe cependant un couplage résiduel COSY entre ce proton H-1 et le proton H-2. La configuration de la double liaison C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> est donc *E*. Par contre le rapport d'intégration entre les protons H-2 et les protons H-6, H-10 et H-14 est de 1 pour 8. Ceci n'est pas compatible avec la masse (430) et le degré d'insaturation (4) envisagé. Par ailleurs, en NOESY on observe des corrélations à la fois de type *Z* et *E* entre les protons H-6, H-10, H-14, les méthyles 27, 28, 29 et les méthylènes H-5, H-9 et H-13, sans qu'il ne soit possible de les attribuer. Il semble donc que ces signaux proviennent d'un mélange d'homologues dans lesquels sont présentes à la fois des liaisons *Z* et *E*. On pourrait s'attendre à distinguer des homologues en CPG. La présence d'un seul pic en CPG-SMIE nous conduit à suggérer que l'un des homologues n'a pas été chromatographié, par exemple en raison d'une masse trop élevée. Enfin concernant la configuration du carbone C-19, l'alpha D peut suggérer une configuration *R* en comparaison avec le phytol qui comprend deux centres asymétriques *R, R* mais la confirmation de cette configuration nécessiterait la comparaison avec une molécule comprenant un seul centre chiral. Ces données spectrales nous permettent de suggérer la structure du composé **54** comme étant celle du (*R,2E*)-3,7,11,15,19,23-hexaméthyltétracosa-2,6,10,14-tétraen-1-ol.

### 3.1.11. Analyse structurale de la molécule **56** (Acide tétratriacontanoïque)

Le composé **56** a été isolé à partir de la fraction F1 de l'extrait à l'acétate d'éthyle des fruits. Il se présente sous forme d'un solide blanc et a un point de fusion de 94-96°C. Sa formule brute C<sub>34</sub>H<sub>68</sub>O<sub>2</sub> est compatible avec la valeur à *m/z* 507,2 [M-H]<sup>-</sup> observée sur le spectre de masse APCI.



**Figure I.3.1.11 : Structure de l'acide tétratriacontanoïque**

Le spectre infrarouge de **56** montre deux bandes à 3059 et 1711  $\text{cm}^{-1}$  attribuables respectivement à des groupements hydroxyle et carbonyle d'acide carboxylique. Cette hypothèse est en accord avec les spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  qui mettent en évidence un proton de groupement hydroxyle carboxylique à  $\delta$  13,70 (s) et un groupement carbonyle à  $\delta$  179,6 respectivement.

La concordance des données spectrales infrarouge, de masse et de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , en accord avec les données de la littérature<sup>221,222,223</sup>, nous permet d'identifier le composé **56** comme étant l'**acide tétratriacontanoïque** (Figure I.3.1.11).

### 3.1.12. Analyse structurale de la molécule 55 (Acide (9Z, 16Z, 23Z)-hentriaconta-9,16,23-triénoïque)

Le composé **55** qui se présente sous forme d'une huile incolore a été isolé à partir de l'extrait chlorométhylénique des fruits. L'analyse combinée de ses spectres infrarouge, de masse et de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  a permis de proposer la structure de ce composé comme étant celle de l'**acide (9Z, 16Z, 23Z)-hentriaconta-9,16,23-triénoïque** (Figure I.3.1.12a).

En effet, sa formule brute  $\text{C}_{31}\text{H}_{56}\text{O}_2$  est compatible avec les valeurs à  $m/z$  459,2  $[\text{M}-\text{H}]^-$  et 483,4  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  observées sur le spectre de masse ESI réalisé en modes négatif et positif respectivement. Cette formule correspond à un indice d'insaturation de 4.

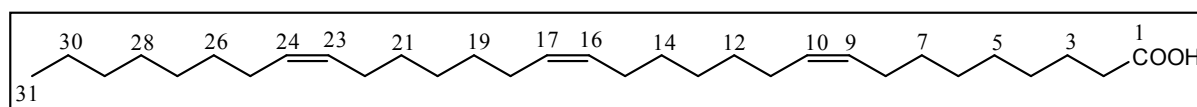


Figure I.3.1.12a : Structure de la molécule 55

Le spectre infrarouge de **55** est caractéristique d'un acide carboxylique linéaire comportant trois groupements éthyléniques non conjugués, en accord avec l'indice d'insaturation trouvé. Ce spectre montre une large bande de groupement hydroxyle à 3356  $\text{cm}^{-1}$ , une forte bande de groupement carbonyle à 1711  $\text{cm}^{-1}$  et des groupements éthyléniques à 1704, 1622 et 1467  $\text{cm}^{-1}$ . Par ailleurs, de fortes bandes d'élongation C-H sont visibles à 2976, 2917 et 2850  $\text{cm}^{-1}$ .

<sup>221</sup> Mahmood U, Shukla YN, Thakur RS. Non-alkaloidal constituents from *Solanum torvum* leaves. *Phytochemistry*, **1983**, 22, 1, 167-169.

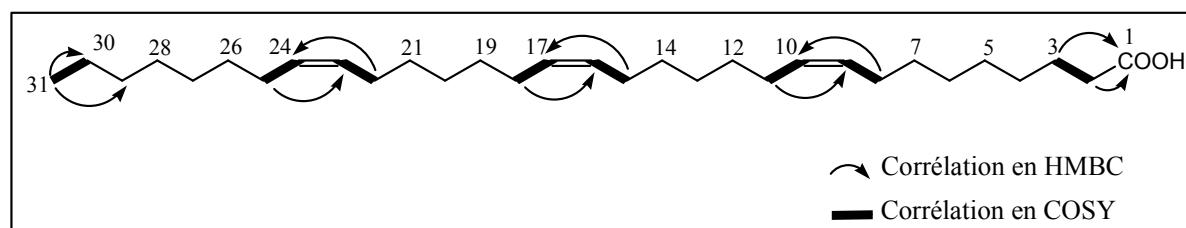
<sup>222</sup> Drake NL, Melamed S. Tetratriacontanoic acid and related compounds. Contribution from the Chemistry Department of the University of Maryland, **1968**, Vol. 70, 364-367.

<sup>223</sup> Schuette HA, Maylott AO, Roth DA. Solidification point curve of binary acid mixtures. VI. Tetratriacontanoic-Hexatriacontanoic acids. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, **1948**, 64-65.

**Tableau I.3.1.12 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **55****

| Atome N°                                  | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) |
|-------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------|
| <b>1</b>                                  | 179,8                             | -                                        |
| <b>2</b>                                  | 34,0                              | 2,34 (t ; 7,6)                           |
| <b>3</b>                                  | 24,6                              | 1,63 (quint ; 7,6 ; 7,2 ; 6,8)           |
| <b>4/5/6/7/12/13/14/19/20/21/26/27/28</b> | 29,0-29,6                         | 1,25 (m)                                 |
| <b>8/11/15/18/22/25</b>                   | 27,2                              | 2,01 (q ; 8 ; 6)                         |
| <b>9/10/16/17/23/24</b>                   | 129,7/130,0                       | 5,34 (ddd ; 10,5 ; 8 ; 6)                |
| <b>29</b>                                 | 31,9                              | 1,25 (m)                                 |
| <b>30</b>                                 | 22,6                              |                                          |
| <b>31</b>                                 | 14,0                              | 0,88 (t ; 6,8)                           |
| <b>OH</b>                                 | -                                 | 13,70 (s)                                |

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Tableau I.3.1.12) montre les protons éthyléniques à  $\delta$  5,34 (ddd ; 10,5 ; 8 ; 6), ceux qui leur sont adjacents à  $\delta$  2,01 (q ; 8 ; 6) et les protons H-2, H-3 et H-31 à  $\delta$  2,34 (t ; 7,6), 1,63 (quint ; 7,6 ; 7,2 ; 6,8) et 0,88 (t ; 6,8) respectivement. Les autres groupements méthylènes résonnent sous forme d'un multiplet centré à  $\delta$  1,25 (m) tandis que le proton hydroxyle apparaît à  $\delta$  13,70 (s).



**Figure I.3.1.12b : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé **55****

Sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$ , le carbone C-1 apparaît à  $\delta$  179,8, les carbones vinyliques sont visibles à  $\delta$  129,7 et 130,0 tandis que le carbone du méthyle terminal s'observe à  $\delta$  14,0. Par ailleurs, les carbones des groupements méthylènes sont visibles entre 22,6 et 34,0 ppm (Tableau I.3.1.12). En outre quelques corrélations observées en COSY et en HMBC attestant la structure du composé **55** sont indiquées sur la figure I.3.1.12b. Les configurations *Z* des doubles liaisons 9,16 et 23 sont suggérées par la valeur à  $721\text{ cm}^{-1}$  sur le spectre infrarouge<sup>224</sup>. En effet, la présence d'au moins une configuration *E* donnerait une bande aux environs de  $970\text{-}960\text{ cm}^{-1}$ . Cette molécule est décrite pour la première fois ; il s'agit d'une structure originale.

Biogénétiquement, cette molécule pourrait provenir d'addition d'unités en C2 comme tous les acides gras (acides gras à nombre pair d'atomes de carbone) suivie d'une méthylation finale (acides gras à nombre impair d'atomes de carbone).

<sup>224</sup> Furnis BS, Hannaford AJ, Smith PWG. Vogel's textbook of practical organic chemistry. 5<sup>th</sup> Ed., **1989**, 1540p.

### 3.1.13. Analyse structurale de la molécule 64 (Pentacosanoate d'éthyle)

Le composé **64** a été isolé sous forme d'une huile incolore à partir des fractions F12 et F13 des écorces de tige. Sa formule brute  $C_{27}H_{54}O_2$  compatible avec la valeur à  $m/z$  411  $[M+H]^+$  observée sur le spectre de masse APCI correspond à une insaturation de 1, attribuable à un groupement carbonyle d'ester aliphatique comme l'attestent les spectres infrarouge et de RMN  $^{13}C$ . En effet, le spectre infrarouge met en évidence une bande de groupement carbonyle à  $1711\text{ cm}^{-1}$  tandis que le spectre de RMN  $^{13}C$  montre une résonance de groupement carbonyle à  $177,8\text{ ppm}$ . La concordance de toutes les données spectrales de **64** nous a permis de l'identifier au **pentacosanoate d'éthyle**. Quelques corrélations observées en COSY et en HMBC pour ce composé sont indiquées sur la figure I.3.1.13.

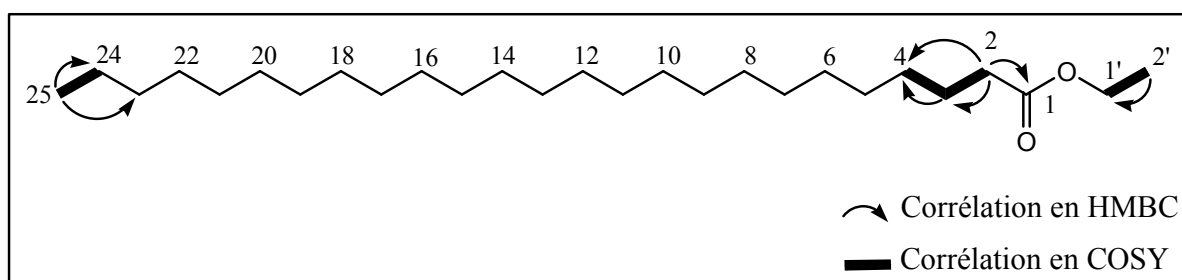


Figure I.3.1.13 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du pentacosanoate d'éthyle

### 3.1.14. Analyse structurale de la molécule 59 (9,9,13,13-tétraméthyl-5,8,14,17-tétraoxahenicosan-11-one)

Le composé **59** a été isolé sous forme d'une huile jaune à partir des fractions F12 et F13 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des écorces de tige. Il donne une réaction négative avec le réactif de Dragendorff en milieu basique indiquant l'absence d'atome d'azote. Les techniques utilisées (ESI, APCI et CPG-SM) pour déterminer la masse de ce produit n'ont pas donné le résultat escompté. Nous avons eu recours aux spectres de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  pour la détermination de la formule brute. La détermination de sa structure a été réalisée par analyse des spectres infrarouge et de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$ . La formule brute  $C_{21}H_{42}O_5$  de ce composé a été déduite de l'analyse combinée des spectres de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$ . Cette formule correspond à un indice d'insaturation de 1.

Le spectre infrarouge de **59** montre une forte bande de groupement carbonyle caractéristique d'une cétone à  $1700\text{ cm}^{-1}$  et des bandes de groupements éthers à  $1120$  et  $1072\text{ cm}^{-1}$ .

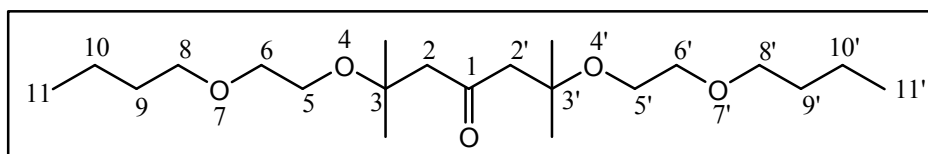


Figure I.3.1.14a : Structure du composé 59

L'étude des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  ( $J$ -mod) mono- et bidimensionnel HSQC permet de mettre en évidence, six signaux de méthylènes dont un apparaissant sous forme de singulet à  $\delta$  2,35 (s, 4H) et deux signaux de groupements méthyles, intégrant chacun pour un nombre pair de protons. Ces données, compatibles avec la formule brute hypothésée, permettent de suggérer une structure moléculaire symétrique.

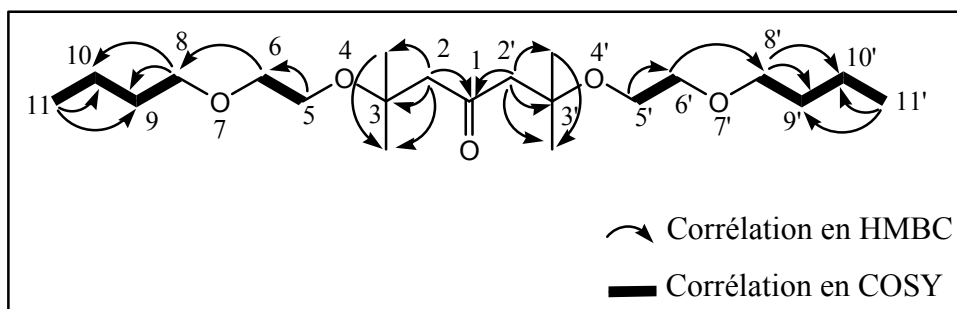
**Tableau I.3.1.14 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **59****

| Atome N°                   | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m ( $J$ , Hz) | HMBC                                     | COSY              |
|----------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------|
| <b>1</b>                   | 209,7                             | -                                            | -                                        | -                 |
| <b>2/2'</b>                | 53,7                              | 2,35 (4H, s)                                 | C1 ; C3/C3' ; C3/C3'-CH <sub>3</sub>     | -                 |
| <b>3/3'</b>                | 68,9                              | -                                            | -                                        | -                 |
| <b>5/5'</b>                | 60,8                              | 3,41 (4H ; t ; 4,8)                          | C6/C6'                                   | H6/H6'            |
| <b>6/6'</b>                | 71,4                              | 3,23 (4H ; t ; 4,8)                          | C5/C5' ; C8/C8'                          | H5/H5'            |
| <b>8/8'</b>                | 70,3                              | 3,19 (4H ; t ; 6,8)                          | C6/C6' ; C9/C9' ; C10/C10'               | H9/H9'            |
| <b>9/9'</b>                | 31,0                              | 1,29 (4H ; quint ; 7,2 ; 6,8)                | C8/C8'                                   | H10/H10' ; H8/H8' |
| <b>10/10'</b>              | 18,6                              | 1,09 (4H ; quint ; 7,2)                      | -                                        | H11/H11' ; H9/H9' |
| <b>11/11'</b>              | 13,2                              | 0,63 (6H ; t ; 7,2)                          | C9/C9' ; C10/C10'                        | H10/H10'          |
| <b>3/3'-CH<sub>3</sub></b> | 28,6                              | 0,97 (12H, s)                                | C2/C2' ; C3/C3' ; C3/C3'-CH <sub>3</sub> | -                 |

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  permet de mettre en évidence la présence de groupements n-butanoyles à travers les résonances à  $\delta$  3,19 (4H ; t ; 6,8Hz), 1,29 (4H ; quint ; 7,2 ; 6,8 Hz), 1,09 (4H ; quint ; 7,2 Hz) et 0,63 (6H ; t ; 7,2 Hz), et de groupements éthanedioyles à travers les triplets à  $\delta$  3,41 (4H ; t ; 4,8 Hz) et 3,23 (4H ; t ; 4,8 Hz). Ces attributions sont confirmées par le spectre bidimensionnel homonucléaire  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY. Ce spectre montre des corrélations entre le signal de méthyle à  $\delta$  0,63 et celui de méthylène à  $\delta$  1,09, ce dernier corrélant avec son homologue à  $\delta$  1,29 qui montre des connectivités avec le triplet résonant à champ faible à  $\delta$  3,19. Par ailleurs, des corrélations existent entre les triplets de méthylènes à  $\delta$  3,41 et 3,23.

Sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$ , les carbones d'oxyméthylènes résonnent à  $\delta$  71,4 (C-6/C-6'), 70,3 (C-8/C-8') et 60,8 (C-5/C-5'), les autres groupements méthylènes non oxygénés sont visibles à  $\delta$  53,7 (C-2/C-2'), 31,0 (C-9/C-9') et 18,6 (C-10/C-10'). Les groupements méthyles s'observent à  $\delta$  28,6 (C-3/3'-CH<sub>3</sub>) et 13,2 (C-11/C-11'). Ce spectre présente également des résonances pour un carbone quaternaire oxygéné à  $\delta$  68,9 (C-3/C-3') et un groupement carbonyle à  $\delta$  209,7 (C-1). Ces attributions ont été réalisées grâce à l'examen du spectre HMBC.

En effet sur le spectre HMBC, on note des corrélations importantes entre les protons à  $\delta$  3,23 (H-6/H-6') et le carbone à  $\delta$  70,3 (C-8/C-8') d'une part, et entre le singulet à  $\delta$  2,35 (H-2/H-2') et les carbones à  $\delta$  209,7 (C-1), 68,9 (C-3 /C-3') et 28,6 (C-3/3'-CH<sub>3</sub>) d'autre part. Par ailleurs, on observe des connectivités entre les protons à  $\delta$  0,97 (H-3/3'-CH<sub>3</sub>) et les carbones à  $\delta$  28,6 (C-3/3'-CH<sub>3</sub>) auxquels ils sont liés. D'autres corrélations observées sur ce spectre permettant d'attester la structure de **59** sont indiquées sur la figure I.3.1.14b.

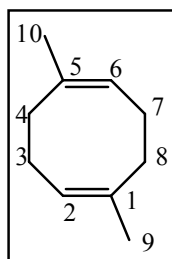


**Figure I.3.1.14b : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé 59**

L'ensemble de ces données spectrales nous permettent de suggérer la structure du composé **59** comme étant celle du **9,9,13,13-tétraméthyl-5,8,14,17-tétraoxahenicosan-11-one** (Figure I.3.1.14a). Cette molécule est décrite pour la première fois.

### 3.1.15. Analyse structurale de la molécule 71 [(1Z, 5Z)-1,5-diméthylcycloocta-1,5-diène]

Le composé **71** se présente sous forme d'une huile jaune. Il a été isolé à partir de la fraction F3 de l'extrait chlorométhylénique des feuilles. Sa formule brute  $C_{10}H_{16}$  est compatible avec la valeur à  $m/z$  135  $[M-H]^+$  observée sur le spectre CPG-SM.



**Figure I.3.1.15a : Structure de la molécule 71**

Le spectre infrarouge de **71** présente une bande moyenne à  $1737\text{ cm}^{-1}$  caractéristique de liaisons éthyléniques non conjuguées<sup>225</sup>.

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Tableau I.3.1.15) met en évidence des signaux pour deux protons éthyléniques à  $\delta$  5,11 (t ; H-2/H-6), quatre méthylènes et deux méthyles tous en alpha d'une insaturation à  $\delta$  2,04 (ddd ; H-3/H-7), 1,99 (t ; H-4/H-8) et 1,68 (s, H-9/H-10) respectivement. La structure cyclooctadiène symétrique de **71** est élucidée par le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  qui montre quatre carbones éthyléniques dont, un quaternaire à  $\delta$  135,2 (C-1/C-5) et un tertiaire à  $\delta$  124,3 (C-2/C-6), quatre méthylènes à  $\delta$  39,7 (C-4/C-8) et 26,4 (C-3/C-7), et deux méthyles à  $\delta$  23,4 (C-9/C-10).

<sup>225</sup> Pretsch E, Bühlmann P, Affolter C. Structure determination of organic compounds: Tables of spectral data. Éd. Springer, Berlin, Heidelberg, **2000**, 421 p.

Tableau I.3.1.15 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **71**

| Atome N°    | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m ( $J$ , Hz) | HMBC                  | COSY  | NOESY  |
|-------------|-----------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------|-------|--------|
| <b>1/5</b>  | 135,2                             | -                                            | -                     | -     | -      |
| <b>2/6</b>  | 124,3                             | 5,11 (t ; 6,8)                               | C3/C7, C4/C8, C9/C10  | H3/H7 | H9/H10 |
| <b>3/7</b>  | 26,4                              | 2,04 (ddd ; 10,8 ; 6,8 ; 4)                  | C1/C5 ; C2/C6 ; C4/C8 | H2/H6 | -      |
| <b>4/8</b>  | 39,7                              | 1,99 (t ; 4,4)                               | C3/C7, C1/C5, C2/C6   | -     | -      |
| <b>9/10</b> | 23,4                              | 1,68 (s)                                     | C1/C5 ; C2/C6 ; C4/C8 | -     | H2/H6  |

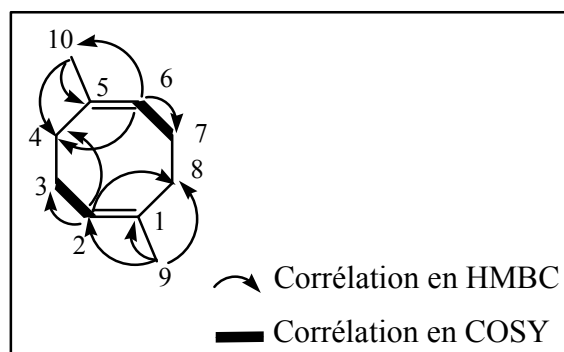


Figure I.3.1.15b : Corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé **71**

Ces données spectrales corroborées par la RMN 2D, HMBC, COSY et NOESY (Figure I.3.1.15b) ont permis d'établir la structure du composé **71** comme étant le **(1Z, 5Z)-1,5-diméthylcycloocta-1,5-diène**. Cette molécule est décrite pour la première fois ; il s'agit d'une structure nouvelle.

### 3.2. Analyse structurale des composés en mélange

Outre les constituants du mélange (**60** + **61** + **62** + **63**) dont les structures ont été établies uniquement à partir du spectre CPG-SM, l'élucidation de la structure des constituants des autres mélanges a été réalisée par analyse combinée des spectres infrarouge, d'impact électronique et de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ .

#### 3.2.1. Analyse structurale du mélange (17+18+19)

Le mélange (**17**+**18**+**19**) a été obtenu à partir de la fraction F12 de l'extrait hexanique des feuilles. Il se présente sous forme d'un solide blanchâtre. Trois composés **17**, **18** et **19** ont été identifiés aux temps de rétention de 18,50, 18,87 et 18,63 minutes respectivement sur le chromatogramme obtenu par CPG-SM (Annexe 1). Ils ont été identifiés au **stigmastérol**, **clionastérol** et **campestérol** respectivement. En effet, la différence entre le clionastérol (**18**) et le  $\beta$ -sitostérol (**39**) se situe au niveau de la stéréochimie du carbone 24 qui a une configuration *R* chez le  $\beta$ -sitostérol et *S* chez le clionastérol.

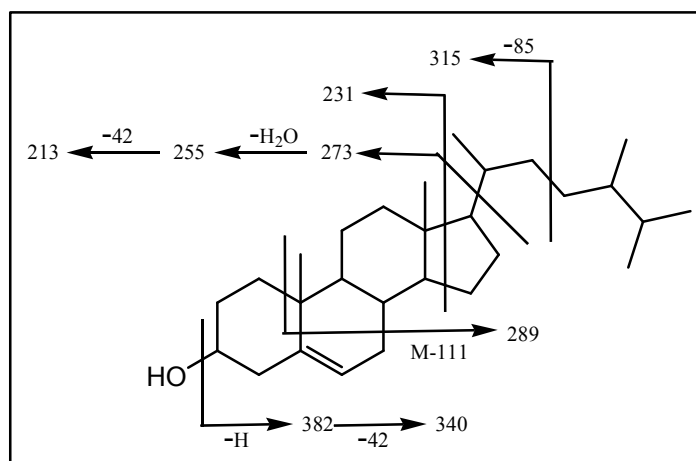


Figure I.3.2.1 : Fragments caractéristiques en SMIE du campesterol

### 3.2.2. Analyse structurale du mélange (25 + 26 + 27 + 28)

Le mélange (25 + 26 + 27 + 28) a été obtenu sous forme d'une huile verdâtre à partir de la fraction F3 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des écorces de tige. Six composés ont été identifiés aux temps de rétention de 18,63, 18,86, 19,77, 19,84, 19,98 et 20,06 minutes respectivement sur le chromatogramme obtenu par CPG-SM. Il s'agit du :

- stigmastérol (17),
- $\beta$ -sitostérol (39),
- 3',6'-dihydro-(3 $\beta$ , 5  $\beta$ , 6 $\alpha$ , 22 $\xi$ , 23 $\xi$ )-cyclopropa [5,6]-33-norgorgostan-3-ol (25),
- 24, 28-méthylène fucostérol (26)
- citrost-7-en-3-ol (27) et du 4 $\beta$ , 14 $\beta$ -diméthyl-9, 19-cyclocholestan-3-ol-7-one (28).

Les fragments caractéristiques en SMIE de ces composés sont indiqués sur la figure I.3.2.2.

### 3.2.1. Analyse structurale du mélange (29 + 30 + 53)

Le mélange (29 + 30 + 53) a été obtenu à partir de la fraction F6 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des écorces de tige. Il se présente sous forme de solide blanchâtre. Trois composés ont été identifiés aux temps de rétention de 18,53, 18,67 et 18,90 minutes sur le chromatogramme obtenu en CPG-SM. Il s'agit de l'ergostanol, du 4,4-diméthylcholest-7-én-3-ol et du stigmastanol.

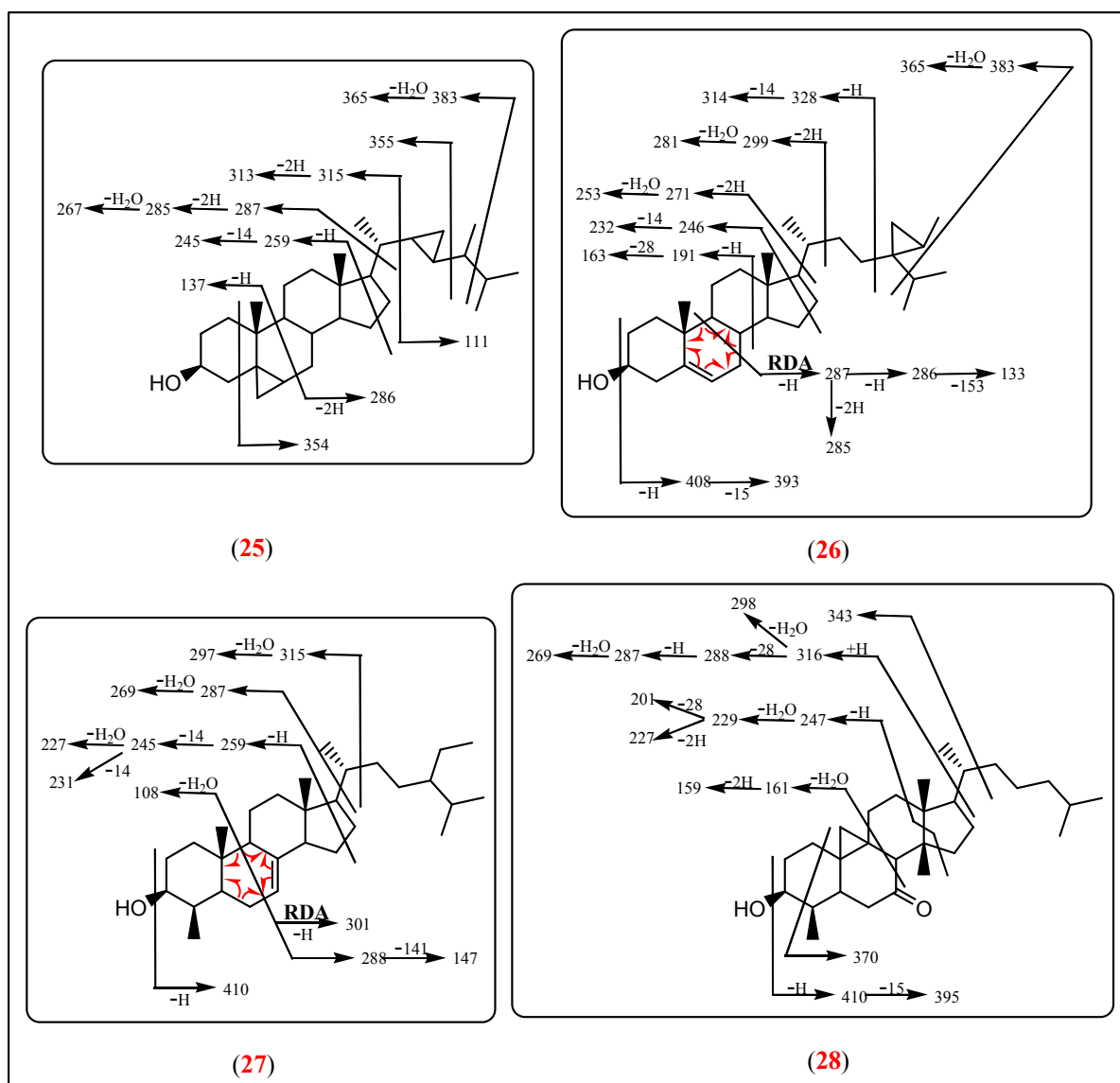


Figure I.3.2.2 : Fragments importants en SMIE des composés 25, 26, 27 et 28

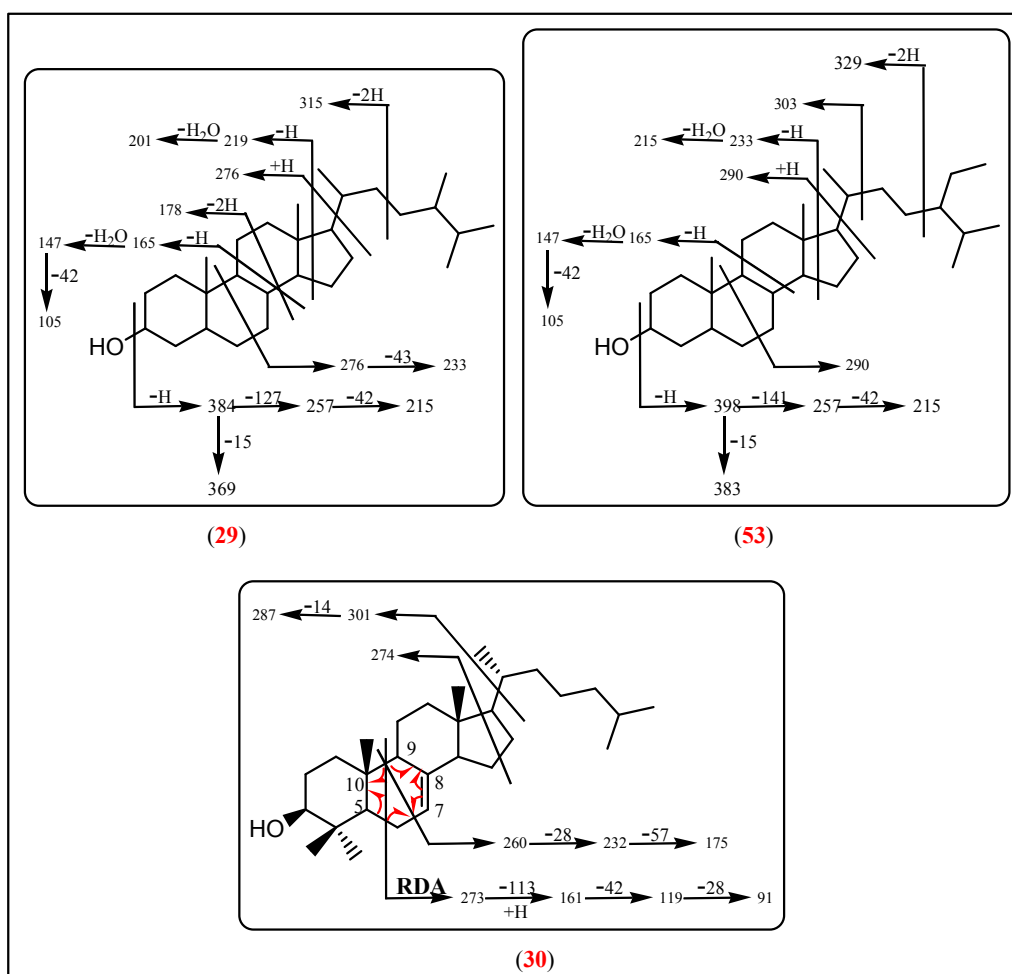


Figure I.3.2.3 : Fragments caractéristiques des composés 29, 30 et 53

### 3.2.2. Analyse structurale du mélange (18 + 33)

Le mélange (18+33) qui se présente sous forme d'une huile jaune visqueuse a été obtenu à partir de l'extrait hexanique des feuilles. Le **clionastérol (18)** et le **(9Z, 12Z, 15Z)-octadéca-9, 12, 15-triénoate d'isopropyle (33)** ont été identifiés aux temps de rétention 23.88 et 20.55 minutes respectivement en CPG-SM.

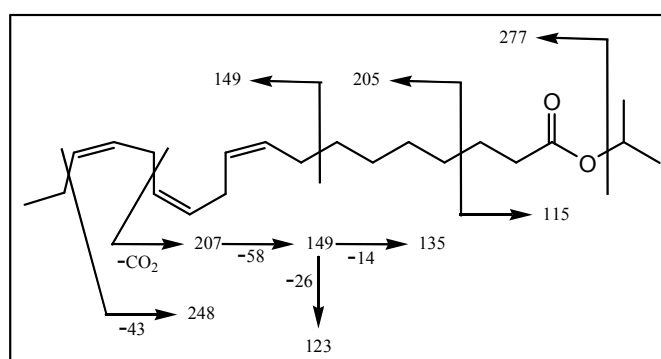


Figure I.3.2.4 : Fragments importants en SMIE du composé 33

### 3.2.3. Analyse structurale du mélange (20 + 21)

Le mélange (20+21) qui se présente sous forme d'une huile jaune a été obtenu à partir de la fraction F2 de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles. Deux composés aux temps de rétentions de 14,70 (21) et 15,50 minutes (20) en CPG-SM ont été identifiés. Il s'agit du **pentatriacont-1-ène (21)** et du **bis (6-méthylheptyl) phthalate (20)** respectivement. Les fragments caractéristiques obtenus en CPG-SM pour le bis (6-méthylheptyl) phthalate sont indiqués sur la figure I.3.2.5.

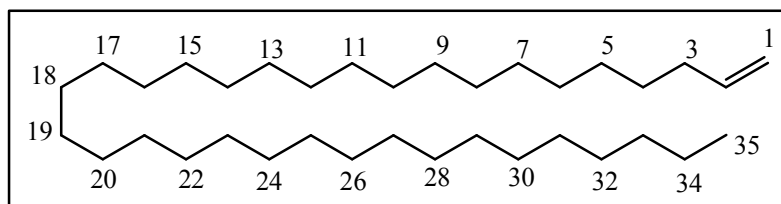


Figure I.3.2.5a : Structure du pentatriacont-1ène

Par ailleurs, le spectre SMIE du pentatriacont-1-ène présente des amas de pics correspondant à des fragments de type  $C_nH_{2n-1}$ ,  $C_nH_{2n}$  et  $C_nH_{2n+1}$  (avec  $n$  entier naturel inférieur ou égal à 35) distants de quatorze unités de masse, caractéristiques des hydrocarbures à chaîne linéaire en général.

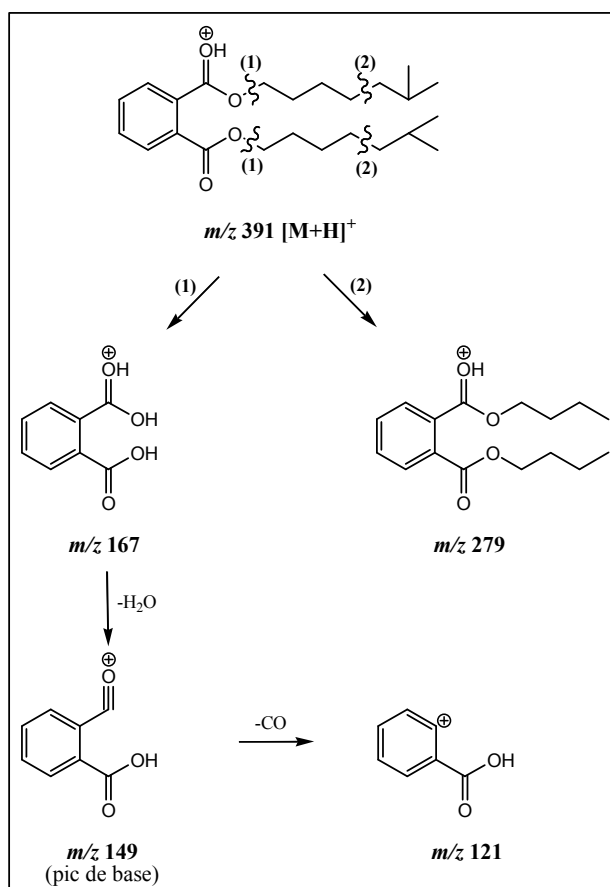


Figure I.3.2.5 : Fragments en SMIE du bis (6-méthylheptyl) phthalate

### 3.2.4. Analyse structurale du mélange 60 + 61 + 62 + 63 [2,10-diméthyl-9-undécénol + 1-éthoxyanthraquinone + (3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 7 $\alpha$ )-cholestan-3,6,7-triol + $\alpha$ -tocophéroquinone]

Le mélange (60 + 61 + 62 + 63) qui se présente sous forme d'une huile jaune a été isolé à partir de la fraction F1 de l'extrait chlorométhylénique des feuilles. L'étude du spectre de masse CPG-SM a permis d'identifier ces composés aux temps de rétention 11,39, 12,02, 18,05 et 18,15 minutes respectivement au **2,10-diméthyl-9-undécénol (60)**, **1-éthoxyanthraquinone (61)**, **(3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 7 $\alpha$ )-cholestan-3,6,7-triol (62)** et  **$\alpha$ -tocophéroquinone (63)**. Les fragments importants ayant permis leur identification sont représentés sur la figure I.3.2.6.

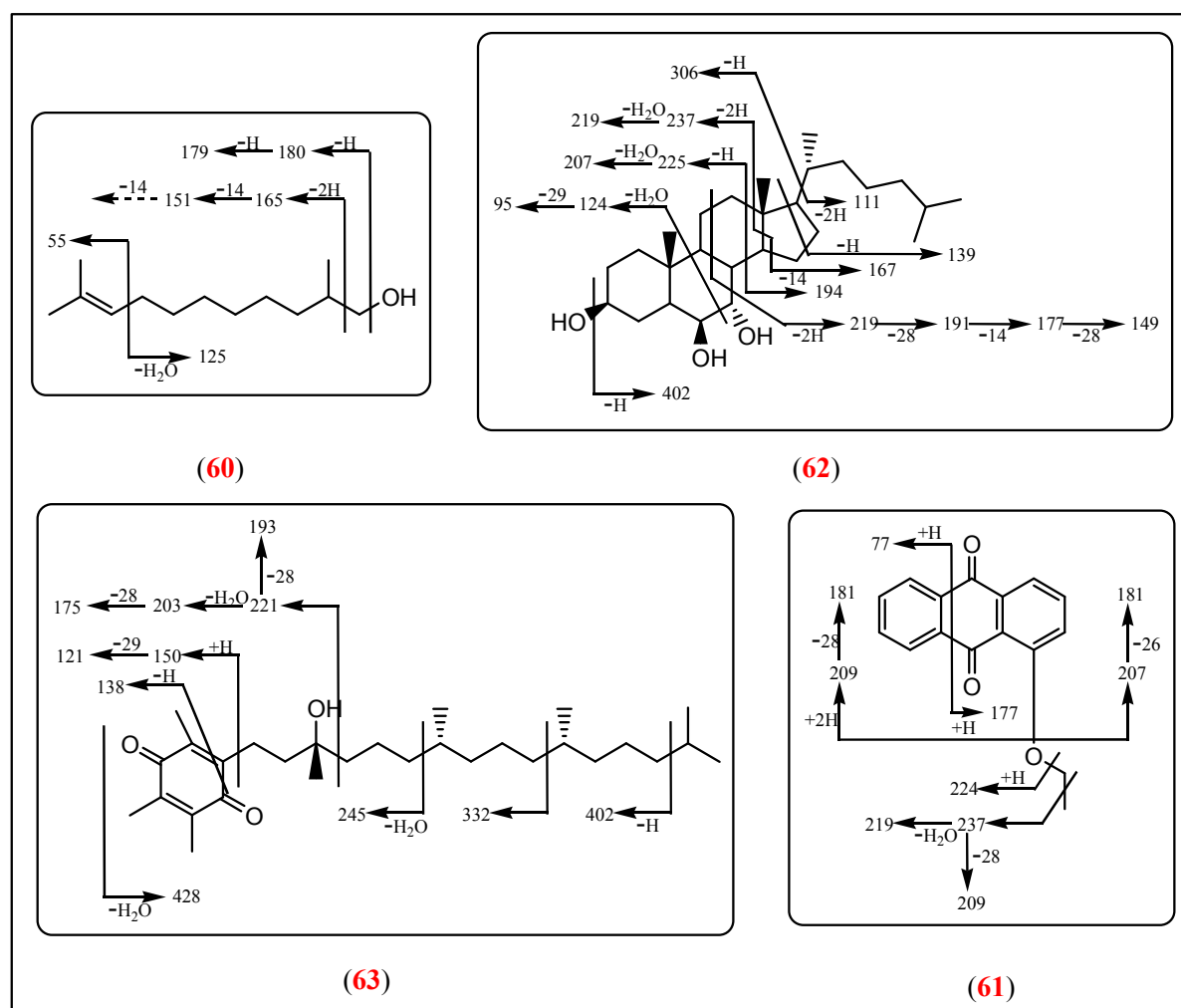


Figure I.3.2.6 : Fragments importants en SMIE des composés 60, 61, 62 et 63

### 3.2.5. Analyse structurale du mélange (22 + 23 + 24)

Obtenu à partir de la fraction F2 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des écorces de tige, le mélange (22 + 23 + 24) se présente sous forme d'une huile de couleur jaune-pâle.

Le spectre infrarouge du mélange (22 + 23 + 24), caractéristique des esters aliphatiques montre des bandes très intenses d'élongation C-H à 2923 et 2852  $\text{cm}^{-1}$ , une forte bande de groupement carbonyle à 1738  $\text{cm}^{-1}$  et deux bandes d'élongation C-O d'ester à 1242 et 1182  $\text{cm}^{-1}$ . Une faible bande de groupements éthyléniques est également visible à 1513  $\text{cm}^{-1}$ . Par ailleurs, une bande d'intensité moyenne à 687  $\text{cm}^{-1}$  traduit une conformation *Z* pour les composés éthyléniques présents dans le mélange. En effet, on note une absence de bande aux environs de 970-960 caractéristique d'une conformation *E*.

Trois composés, l'**heptadécanoate de méthyle (22)**, le **(9*Z*, 12*Z*)-octadéca-9, 12-diénoate d'éthyle (23)** et le **(9*Z*)-octadécaénoate d'éthyle (24)** aux temps de rétentions de 12,42, 13,41 et 13,45 minutes respectivement sur le chromatogramme obtenu en CPG-SM ont pu être identifiés.

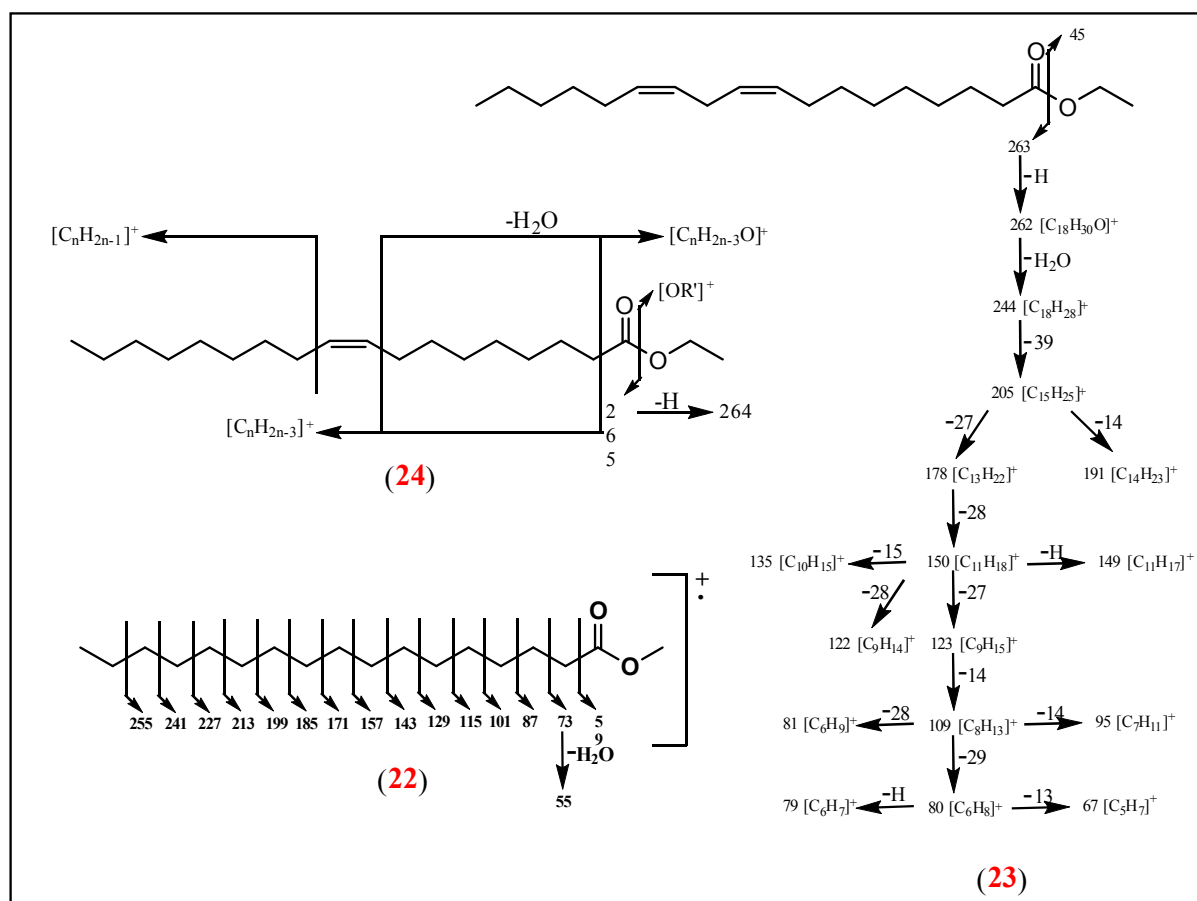


Figure I.3.2.7 : Fragments en SMIE des composés 22, 23 et 24

### 3.2.6. Analyse structurale du mélange (31 + 32)

Le mélange inséparable (**31** + **32**) a été isolé sous forme d'une huile incolore à partir de la fraction F6 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des écorces de tige. La formule brute  $C_{12}H_{18}O_2$  est compatible avec la valeur à  $m/z$  194 observée sur le spectre CPG-SM.

L'identité des constituants du mélange a été déterminée par analyse combinée des spectres infrarouge, CPG-SM et de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$ . Deux composés **31** et **32** (Figure I.3.2.8a) au temps de rétention 10.39 minutes en CPG-SM ont été identifiés.

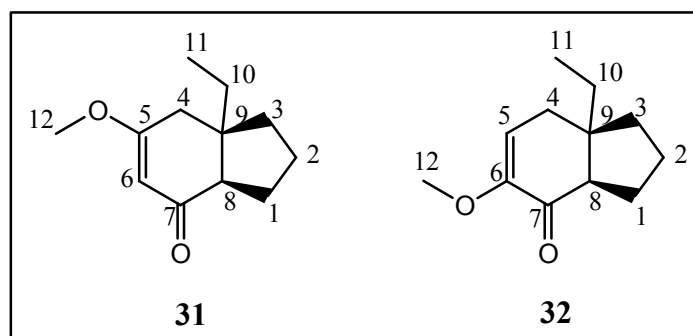


Figure I.3.2.8a : Structures des molécules **31** et **32**

Le spectre infrarouge du mélange (**31** + **32**) montre une superposition de deux bandes intenses caractéristiques de groupements carbonyles à 1734 et 1718  $cm^{-1}$ . Par ailleurs, une bande de groupement éthylénique est visible à 1640  $cm^{-1}$ .

Le spectre de RMN  $^1H$  de (**31** + **32**), caractéristique des composés terpéniques, met en évidence une série de pics très denses dans la région 0,8-2,6 ppm (Tableau I.3.2.8). Par ailleurs, des résonances de groupements éthyléniques sont visibles entre 6,22 et 6,32 ppm. Un singulet de groupement méthoxyle s'observe à 3,76 ppm.

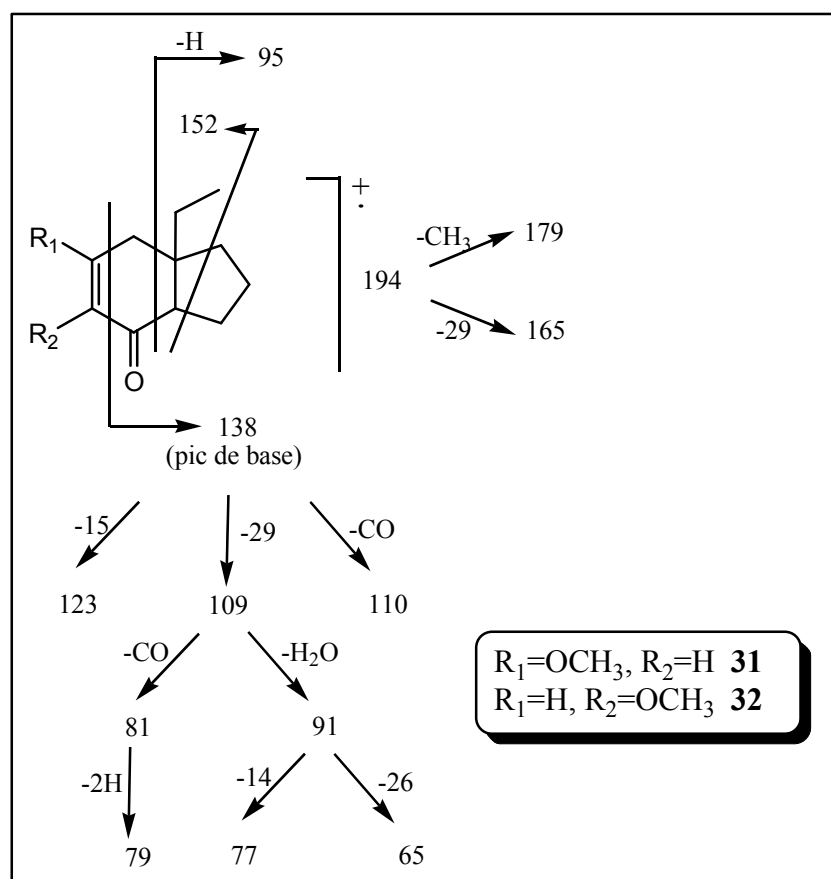
Tableau I.3.2.8 : RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  dans le  $CDCl_3$  des composés **31** et **32**

|           | <b>31</b>                  |                             | <b>32</b>                  |                             |
|-----------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Atome N°  | $^{13}C$ ( $\delta$ , ppm) | $^1H$ ( $\delta$ , ppm) (m) | $^{13}C$ ( $\delta$ , ppm) | $^1H$ ( $\delta$ , ppm) (m) |
| <b>1</b>  | 26,9                       | 1,42 (m) ; 1,59 (m)         | 26,9                       | 1,42 (m) ; 1,59 (m)         |
| <b>2</b>  | 22,5                       | 1,59 (m)                    | 22,5                       | 1,59 (m)                    |
| <b>3</b>  | 36,0*                      | 1,25 (m) ; 1,32 (m)         | 36,0*                      | 1,25 (m) ; 1,32 (m)         |
| <b>4</b>  | 36,0*                      | 2,00 (s)                    | 36,0*                      | 2,00 (dd ; 6,6 ; 3,2)       |
| <b>5</b>  | 179,3                      | -                           | 107,8                      | 6,27 (dd ; 6,6 ; 2)         |
| <b>6</b>  | 98,6                       | 6,28 (s)                    | 147,7                      | -                           |
| <b>7</b>  | 203,7                      | -                           | 195,7                      | -                           |
| <b>8</b>  | 50,8                       | 2,38-2,55 (m)               | 50,8                       | 2,38-2,55 (m)               |
| <b>9</b>  | 46,0                       | -                           | 46,0                       | -                           |
| <b>10</b> | 31,4**                     | 1,25 (m)                    | 30,8**                     | 1,25 (m)                    |
| <b>11</b> | 14,0                       | 0,88 (m)                    | 14,0                       | 0,88 (m)                    |
| <b>12</b> | 55,2                       | 3,76 (s)                    | 55,2                       | 3,76 (s)                    |

\*, \*\* : Carbones interchangeables

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  de (**31** + **32**) est en accord avec les spectres infrarouge et de RMN  $^1\text{H}$ . En effet, il met en évidence deux groupements carbonyles à  $\delta$  203,7 et 195,7, quatre groupements éthyléniques à  $\delta$  179,3, 147,7, 107,8 et 98,6 et un groupement méthoxyle à  $\delta$  55,2. On note également sur ce spectre, la présence d'un groupement méthyne à  $\delta$  50,8, d'un carbone quaternaire  $\text{sp}^3$  à  $\delta$  46,0 et d'un méthyle à  $\delta$  14,0. Par ailleurs, des résonances de cinq méthylènes sont visibles à  $\delta$  36,0, 31,4, 30,8, 26,9 et 22,5.

La structure des composés du mélange (**31** + **32**) a été étayée par l'analyse complète du spectre de masse d'impact électronique.



**Figure I.3.2.8b : Fragments en SMIE des composés 31 et 32**

L'allure globale du spectre de masse GC-SM permet de formuler l'hypothèse de structures de type 9-éthyl-indan-7-one à travers les fragments à  $m/z$  152, 138 (pic de base) et 95. En effet, le fragment à  $m/z$  152 provient de la rupture des liaisons  $\text{C}_1-\text{C}_8$  et  $\text{C}_3-\text{C}_9$  du noyau cyclopentane correspondant à la perte d'une unité en  $\text{C}_3$ , tandis que celui à  $m/z$  95 résulte d'une rupture des liaisons  $\text{C}_4-\text{C}_9$  et  $\text{C}_7-\text{C}_8$  avec perte d'un atome d'hydrogène. Ce dernier fragment ( $m/z$  95) correspond à la perte d'une unité éthyl-cyclopentane. La présence sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  du carbone quaternaire  $\text{sp}^3$  à  $\delta$  46,0 ( $\text{C}-9$ ) ainsi que d'un seul groupement méthyne ( $\text{CH}$ ) conforte l'emplacement du groupement éthyl en position 9. Par ailleurs, le pic de base à  $m/z$  138  $[\text{M}-56]^+$  provient d'une rupture des liaisons  $\text{C}_4-\text{C}_5$  et  $\text{C}_6-\text{C}_7$  correspondant à la perte d'une unité méthoxy-vinyl, ce qui permet de suggérer le positionnement du groupement carbonyle en position 7. En outre un emplacement de ce dernier en position 4 provoquerait un déblindage

plus important du carbone C-9 (au-delà de 50 ppm), ce qui serait en désaccord avec la RMN  $^{13}\text{C}$ . D'autres fragments importants obtenus permettant de confirmer notre hypothèse structurale sont représentés sur la Figure I.3.2.8b.

La position du groupement méthoxyle en C-5 (composé **31**) ou en C-6 (composé **32**) est suggérée par l'analyse des spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (Tableau I.3.2.8). En effet, la présence du seul composé **31** montrerait un singulet pour le proton H-6 sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$  et la présence de deux carbones éthyléniques à  $\delta_{\text{C}}$  98,6 (C-6) et 179,3 (C-5) et d'un seul carbonyle à  $\delta_{\text{C}}$  203,7 (C-7), ce qui n'est pas le cas. En réalité, on observe un multiplet pour les protons dans la région des éthyléniques sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$  [ $\delta_{\text{H}}$  6.22-6.32 (m)] et la présence de deux autres carbones éthyléniques à  $\delta_{\text{C}}$  107,8 et 147,7 attribuables aux carbones C-5 et C-6 respectivement du composé **32**.

Le pic à 10.39 minutes sur le spectre CPG-SM correspond donc à un mélange d'isomères **31** et **32** (Figure I.3.2.8a). Il s'agit du **9-éthyl-5-méthoxy-ind-5-èn-7-one (31)** et du **9-éthyl-6-méthoxy-ind-5-èn-7-one (32)**. C'est la première fois que ces structures sont décrites, il s'agit de molécules nouvelles.

### 3.3. Composés phénoliques

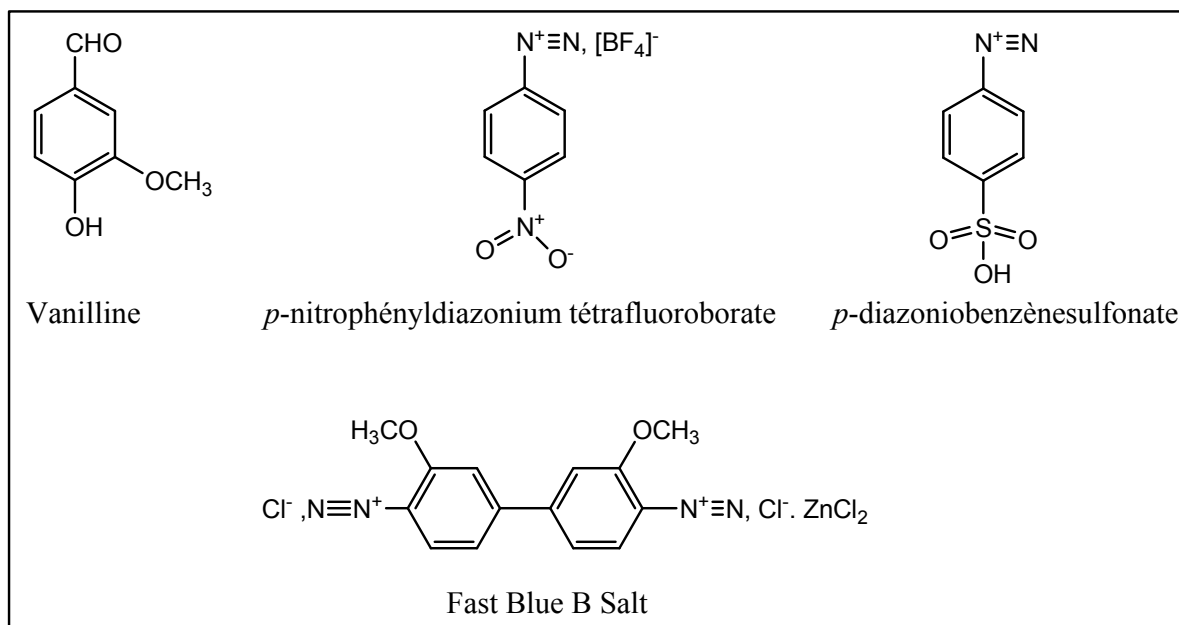
#### 3.3.1. Caractérisation des phloroglucinols

##### 3.3.1.1. Caractérisation chimique

Les phloroglucinols sont des composés hydrosolubles généralement extraits en milieu aqueux, acétonique ou alcoolique. Comme tous les composés phénoliques, ils sont acides et solubles dans l'eau<sup>226</sup> et dans les hydroxydes alcalins<sup>59</sup>. Pour les caractériser sur CCM, on utilise les réactions colorées de caractérisation des phénols dont les réactifs sont la vanilline et autres aldéhydes en milieu chlorhydrique ou sulfurique, le réactif de Gibbs (ou 2,6-dichloroquinone chloro-imide) qui forme des indo-phénolates avec les composés phénoliques, et le phosphomolybdate-phosphotungstate. Le réactif de Millon peut également être utilisé, et donne une coloration allant du rouge au rouge orangé. On peut faire aussi usage des sels de diazonium tels que le p-diazoniobenzènesulfonate, le p-nitrophényldiazonium tétrafluoroborate, formant des azobenzènes ou des styrylazobenzènes colorés avec les composés phénoliques<sup>59</sup>, et le Fast Blue B Salt (ou 3,3'-diméthoxy-biphényl-4,4'-bis-diazonium dichloride) (Figure I.2.3.2.1.1) qui forme un complexe rouge avec le groupement phénol.

---

<sup>226</sup> Harborne JB. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Ed., Chapman and Hall, **1973**, 278p.



**Figure I.3.3.1.1 : Quelques réactifs de caractérisation des composés phénoliques**

Des réactifs plus spécifiques sont également utilisés. Il s'agit du chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ), du chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et du polyéthylène glycol (PEG) qui sont utilisés pour caractériser les composés phénoliques de type flavonoïde. La vitesse de la réaction, la spécificité et la coloration obtenue sont, pour certains de ces réactifs, déterminées par la structure du composé phénolique<sup>59</sup>. On peut également utiliser la lumière UV pour mettre en évidence les composés phénoliques, directement ou après exposition aux vapeurs d'ammoniaque.

### 3.3.1.2. Caractérisation spectrale

Les phloroglucinols, qu'ils soient monomères, dimères ou trimères, présentent dans l'ensemble les mêmes caractéristiques spectrales.. Les polymères à pont méthylène sont en général les plus représentatifs chez le genre *Mallotus*, par conséquent, pour ce type structural, nous insisterons davantage sur leur caractérisation.

#### 3.3.1.2.1. Spectroscopie UV

Le spectre UV des phloroglucinols présente trois absorptions caractéristiques entre 200-230 nm et 260-350 nm. Les absorptions entre 200-230 nm sont attribuables aux systèmes  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés des groupements carbonyles des phloroglucinols comportant une ou plusieurs chaînes latérales acyles. Les bandes entre 260-350 nm sont attribuables aux noyaux aromatiques portant des groupements hydroxyles. Cette présence d'hydroxyles phénoliques est également mise en évidence par un déplacement bathochrome de ces bandes en milieu alcalin<sup>226,227</sup>.

<sup>227</sup> Coskun M, Sakushima A, Nishibe S, Hisada S. Phloroglucinol derivatives of *Dryopteris abbreviata*. *Chem. Pharm. Bull.*, **1982**, 30, 11, 4102-4106.

### 3.3.1.2.2. Spectroscopie IR

Le spectre IR des phloroglucinols montre dans la zone de 3200 à 3600  $\text{cm}^{-1}$  des bandes de formes variables caractéristiques de groupements hydroxyles phénoliques. Ces bandes sont fines pour des hydroxyles libres et larges ou fortes pour des hydroxyles associés<sup>228</sup> (existence de liaisons hydrogène). On note par ailleurs sur le spectre des phloroglucinols possédant des groupements latéraux acyles, une forte bande sous forme de "bec de canard" vers 1590-1620  $\text{cm}^{-1}$  caractéristique de ces groupements. En effet, la bande intense vers 1620  $\text{cm}^{-1}$  est caractéristique du C=O des groupements carbonyles  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés. Celle située aux environs de 1590  $\text{cm}^{-1}$  est attribuable à la double liaison C=C conjuguée du noyau aromatique avec le C=O.

### 3.3.1.2.3. Spectroscopie de masse (SM)

Les spectres de masse par impact électronique des phloroglucinols polymériques sont semblables à ceux des monomères après le clivage du pont méthylène. En effet, chez les monomères, le spectre montre un ion moléculaire intense. On note également la présence de fragment important à  $[\text{M-R}]^+$  traduisant la perte du radical alkyle du groupement acyle latéral<sup>227</sup> (Figure I.3.3.12a).

En général, deux types de fragmentation s'observent principalement chez les phloroglucinols dimères ou trimères : le clivage du pont méthylène et la perte de la chaîne latérale acyle. Le clivage du pont méthylène, d'un côté comme de l'autre du groupement méthylène ( $-\text{CH}_2-$ ) (Figure I.3.3.12a), chez les phloroglucinols dimères et trimères, fournit les ions fragments les plus intenses. Concernant les dimères à noyau benzopyranique, l'ion fragment comportant ce noyau correspond au pic de base (Figure I.3.3.12b). La perte de la chaîne latérale acyle conduit aux fragments caractéristiques précédemment évoqués<sup>227,229,230</sup> (Figure I.3.3.12a).

---

<sup>228</sup> Widén CJ, Vida G, Von Euw J, Reichstein T. Die phloroglucide von *Dryopteris villarii* (Bell.) woynar und anderer farne der gattung *Dryopteris* sowie die mögliche. *Helv. Chim. Acta*, **1971**, 54, 8, 2824-2850.

<sup>229</sup> Supudompol B, Likhitwitawuid K, Houghton PJ. Phloroglucinol derivatives from *Mallotus pallidus*. *Phytochemistry*, **2004**, 65, 2589-2594.

<sup>230</sup> Wollenweber E, Stevens JF, Ivanic M, Deinzer ML. Acylphloroglucinols and flavonoid aglycones produced by external glands on the leaves of two *Dryopteris* ferns and *Currania robertiana*. *Phytochemistry*, **1998**, 48, 6, 931-939.

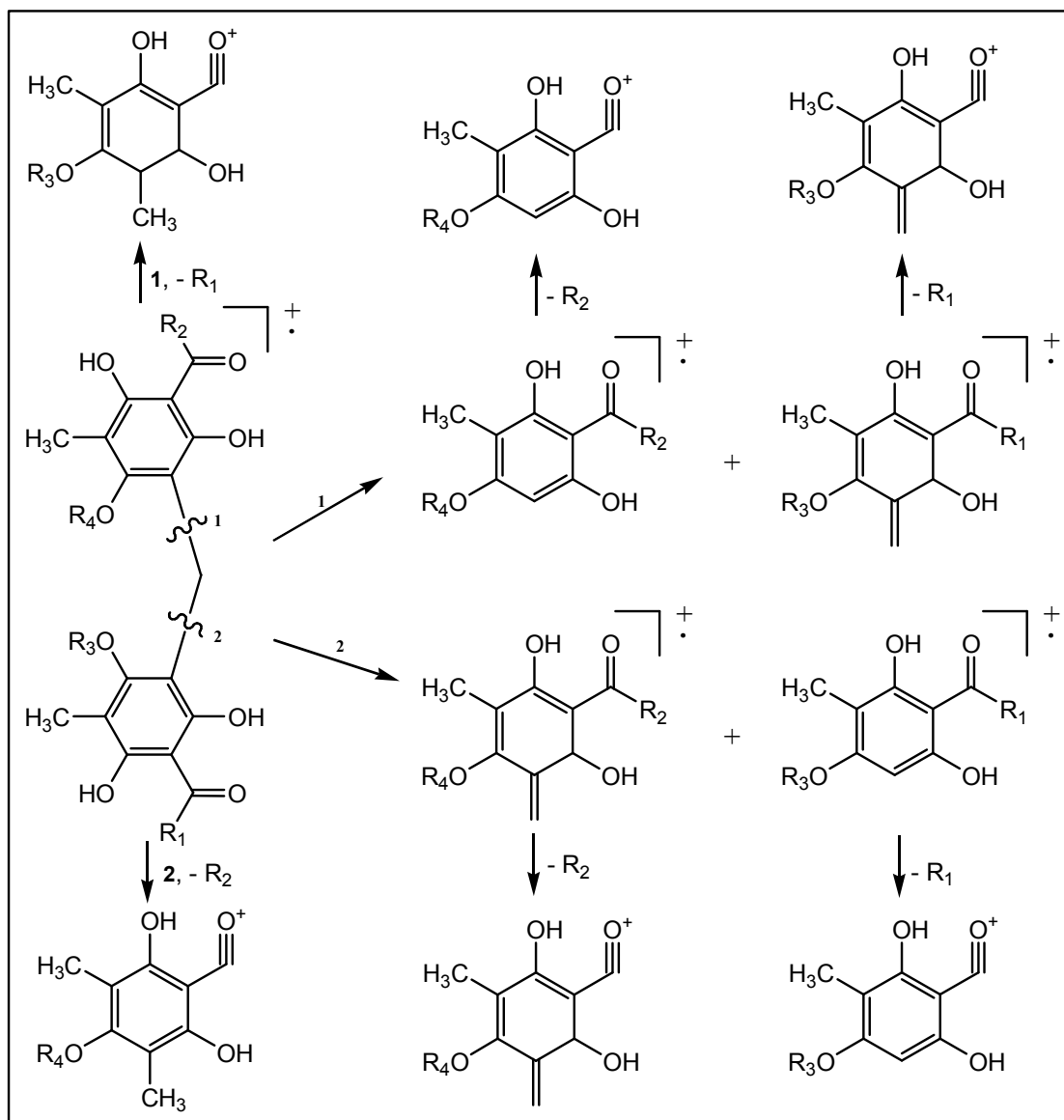


Figure I.3.3.12a : Fragments caractéristiques des dimères à pont méthylène

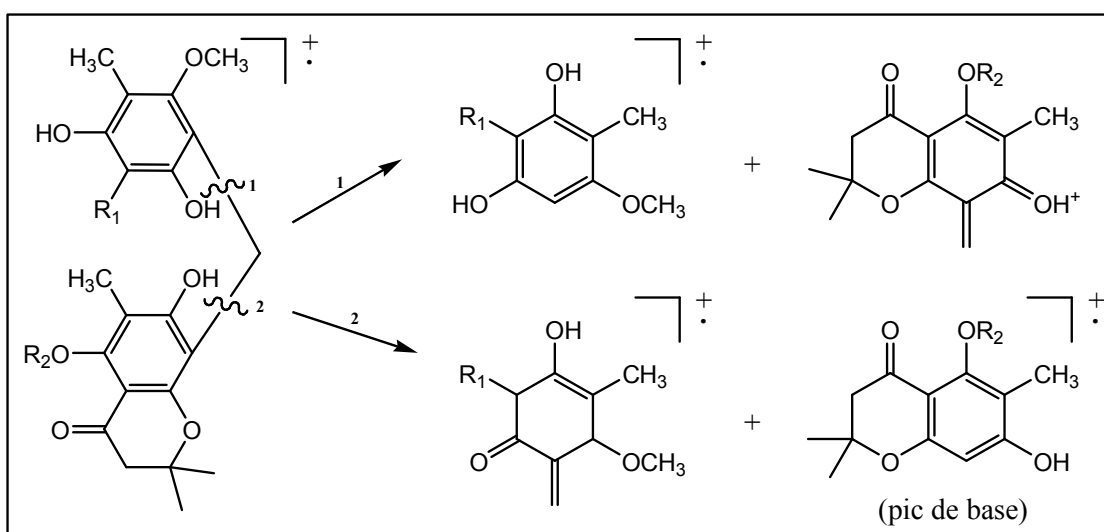
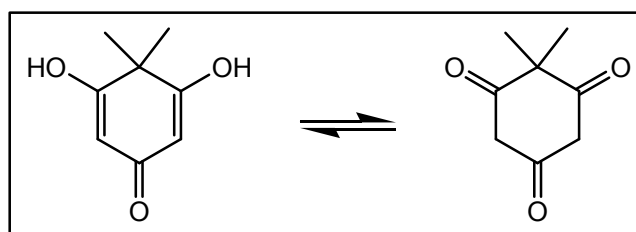


Figure I.3.3.12a : Fragments caractéristiques des dimères benzopyraniques

#### 3.3.1.2.4. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  donne des signaux caractéristiques des substituants butyryles, propionyles, méthyles aromatiques, du pont méthylène, des noyaux aromatiques, des groupements hydroxyles et méthoxyles phénoliques<sup>227</sup>.

Les groupements méthoxyles résonnent entre 3,5 et 4 ppm, les méthyles aromatiques aux environs de 2,1 ppm contrairement aux méthyles d'un noyau filicinique qui résonnent entre 1,4 et 1,6 ppm. Cette différence de déplacement chimique de groupement méthyle aromatique est due au phénomène de tautomérisation éventuel existant avec le noyau filicinique (Figure I.3.3.12c).



**Figure I.3.3.12c : Acide filicinique**

Les protons des hydroxyles ont des déplacements chimiques très variables allant de 5 à 18,5 ppm. Ces déplacements chimiques sont fonction de leurs positions par rapport aux différents substituants du cycle. Les couplages entre protons vicinaux de la chaîne latérale sont de l'ordre de 6 à 7,5 Hz. Les protons aromatiques ont des résonances de l'ordre de 5,90 à 6,1 ppm, ceux du pont méthylène, chez les dimères et les trimères, résonnent respectivement à environ 3,3-3,8 ppm et à 4,3 ppm. Quant aux protons du cycle pyrane des phloroglucinols, ils apparaissent de façon caractéristique aux environs de 2,8 ppm<sup>229</sup>.

En RMN  $^{13}\text{C}$ , les carbones aromatiques possèdent des déplacements entre 103 et 170 ppm à l'exception des carbones porteurs d'un hydrogène qui résonnent à 90-95 ppm. Les résonances des carbones d'un noyau filicinique se situent aux environs de 108-200 ppm ; celle du carbone portant les méthyles géminés s'observe aux environs de 45 ppm. Le déplacement du carbone du pont méthylène apparaît entre 16 et 18,5 ppm. Le carbonyle de la chaîne latérale acyle résonne autour de 203-208 ppm<sup>165,230,231</sup>.

### 3.3.2. Détermination structurale des phloroglucinols

#### 3.3.2.1. Analyse structurale de la molécule 1 (Méthylène bis-aspidinol)

La structure de cette molécule a été établie par analyses combinées des données spectrales (SM, IR, UV, et RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ). Obtenue à partir de la fraction F11 de l'extrait hexanique des feuilles, elle se présente sous forme de cristaux en aiguilles, de couleur jaunâtre, et donne une réaction négative avec le réactif de Dragendorff indiquant l'absence d'atome d'azote.

<sup>231</sup> Ito H, Muranaka T, Mori K, Jin Z-X, Tokuda H, Nishino H, Yoshida T. Ichthyotoxic phloroglucinol derivatives from *Dryopteris fragrans* and their anti-tumor promoting activity. *Chem. Pharm. Bull.*, **2000**, 48, 8, 1190-1195.

Sa formule moléculaire  $C_{25}H_{32}O_8$  a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  461,2174 (calculé 461,2175).

Le spectre IR de ce composé montre une bande étroite à  $3256\text{ cm}^{-1}$  indiquant la présence de fonctions hydroxyles libres. La réaction positive avec le Fast Blue B Salt confirme la présence de fonctions phénol. On observe également deux bandes intenses très proches sous forme de “ bec de canard ” à  $1615$  et  $1598\text{ cm}^{-1}$ . La bande à  $1615\text{ cm}^{-1}$  est caractéristique des groupements carbonyles  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés tandis que celle à  $1598\text{ cm}^{-1}$  est attribuable aux doubles liaisons  $C=C$  du cycle benzénique conjuguées<sup>228,229</sup> avec le  $C=O$ .

La présence de groupements cétones  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturées est confirmée, sur le spectre UV, par la bande d'absorption intense à  $207\text{ nm}$ <sup>225</sup>. Deux autres bandes importantes sont également observées à  $279$  et  $286\text{ nm}$ .

Une analyse des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (J-mod) mono- et bidimensionnel HSQC permet de mettre en évidence, trois signaux de méthyle, trois de méthylène et deux de groupements hydroxyles, intégrant chacun pour un nombre pair de protons. Ces données, complétées par la masse, permettent de suggérer une structure moléculaire symétrique.

En RMN du  $^1\text{H}$ , le signal de méthylène à  $3,69\text{ ppm}$ , intégrant pour deux protons, est caractéristique des déplacements chimiques des protons du pont méthylène des phloroglucinols dimères<sup>229,231,232</sup>. Par ailleurs, une analyse de ce spectre permet de mettre en évidence la présence de groupements butyryles à travers les résonances à  $\delta$   $3,12$  (4H, t,  $J = 7,4\text{ Hz}$ ),  $1,71$  (4H, sext,  $J = 7,4\text{ Hz}$ ) et  $0,98$  (6H, t,  $J = 7,4\text{ Hz}$ ). Ces attributions sont confirmées par le spectre bidimensionnel homonucléaire  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY qui montre des corrélations entre le signal de méthyle à  $\delta$   $0,98$  et celui de méthylène à  $\delta$   $1,71$ , ce dernier corrélant avec le triplet de méthylène résonant à champ faible à  $\delta$   $3,12$ . Ce déplacement de méthylène indique que ces protons sont adjacents à un groupement électroattracteur, notamment un carbonyle et/ou un noyau aromatique. On notera par ailleurs la présence sur ce spectre de résonances de méthyle aromatique ( $\delta$   $2,14$  ; 6H), de méthoxyle ( $\delta$   $4,00$  ; 6H) et d'hydroxyle ( $\delta$   $8,98$  et  $13,71$  ; 2H chacun) se présentant toutes sous forme d'un singulet.

Sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$ , les carbones de méthyles aromatiques (5/5'-Me) et de méthoxyles (6/6'-OMe) résonnent respectivement à  $8,9$  et  $62\text{ ppm}$ . Ce spectre présente également des résonances pour six carbones quaternaires aromatiques dont trois porteurs d'oxygène à  $\delta$   $162,7$  (C-4/C-4'),  $159,4$  (C-6/C-6') et  $156,8$  (C-2/C-2'), et trois alkylés à  $\delta$   $109,9$  (C-5/C-5'),  $108,8$  (C-1/C-1') et  $108,2$  (C-3/C-3'). Un signal de carbonyle est également observé à  $\delta$   $207,9$  (C-1''/C-1'''). Ces attributions ont été réalisées grâce à l'examen complet du spectre HMBC permettant d'établir des corrélations  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  longues distances  $^2J$  et  $^3J$ .

En effet sur le spectre HMBC, on note des corrélations importantes entre les protons à  $3,69\text{ ppm}$  (H- $\alpha$ ) et les carbones à  $159,4$  (C-6/C-6'),  $156,8$  (C-2/C-2') et  $108,8\text{ ppm}$  (C-1/C-1'). Les protons de méthoxyle à  $4,00\text{ ppm}$  (6/6'-OMe) ne corrélaient qu'avec le carbone à  $159,4\text{ ppm}$  (C-6/C-6'). Quant aux protons de méthyles aromatiques ( $\delta$   $2,14$ , 5/5'-Me), ils ne montrent des corrélations qu'avec les carbones à  $\delta$   $162,7$  (C-4/C-4'),  $159,4$  (C-6/C-6') et  $109,9$  (C-5/C-5').

---

<sup>232</sup> Patama TT, Widén CJ. Phloroglucinol derivatives from *Dryopteris fusco-atra* and *D. hawaiiensis*. *Phytochemistry*, **1991**, 30, 10, 3305-3310.

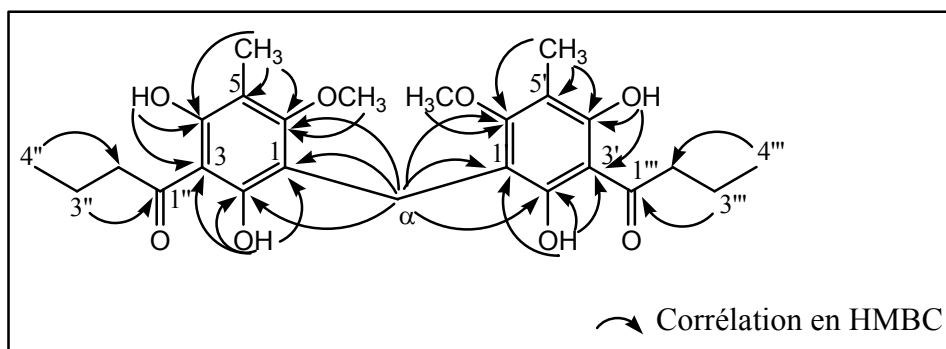


Figure I.3.3.2.1a : Quelques corrélations importantes en HMBC du composé **1**

Les corrélations existant entre les protons hydroxyles à 8.98 ppm (2/2'-OH) et les carbones à 156,8 (C-2/C-2'), 108,8 (C-1/C-1') et 108,2 ppm (C-3/C-3') d'une part, et d'autre part, entre ceux à 13,71 ppm (4/4'-OH) et les carbones à 162,7 (C-4/C-4') et 108,2 ppm (C-3/C-3') confirment ces attributions. L'ensemble de ces corrélations a permis d'attribuer sans ambiguïté tous les carbones du composé **1**.

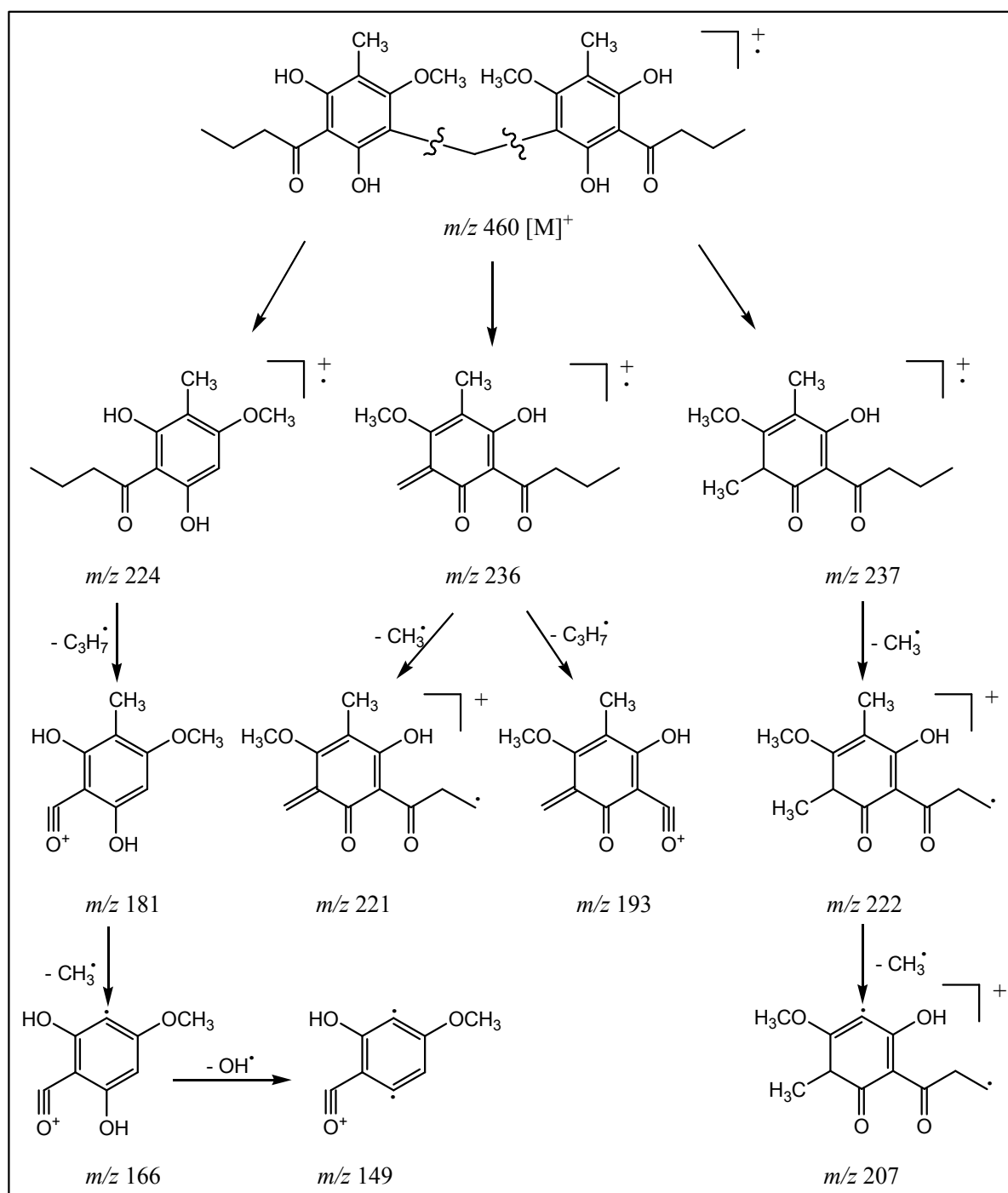
La position du groupement butyryle sur le noyau aromatique est précisée grâce à l'analyse du spectre UV. En effet sur ce spectre, les deux bandes d'absorption à 279 et 286 nm, caractéristiques des noyaux aromatiques porteurs de groupements hydroxyles<sup>233</sup>, indiquent un cycle aromatique acylé, oxygéné en positions ortho et para, et porteur de groupements alkyles en positions méta<sup>234</sup>.

Le spectre de masse d'impact électronique de **1** conforte l'emplacement de cette chaîne latérale. En effet sur ce spectre, les fragments ioniques à  $m/z$  236 et 224, résultant de la rupture du pont méthylène, sont caractéristiques des phloroglucinols dimériques<sup>227,230</sup>. Ces fragments, par perte d'un groupement propyle, peuvent conduire respectivement aux ions à  $m/z$  193 et 181 (pic de base), ce dernier pouvant ensuite subir une déméthylation (ion à  $m/z$  166) puis le clivage d'un radical hydroxyle (ion à  $m/z$  149). Le fragment à  $m/z$  221, provenant d'une perte probable du méthyle terminal de la chaîne latérale butyryle de l'ion à  $m/z$  236, confirme l'emplacement de celle-ci<sup>227</sup>. Les fragments obtenus à partir de l'ion  $m/z$  237 viennent compléter cette attribution. La concordance des données spectrales (SM, IR, UV, RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ) ainsi que la valeur du point de fusion obtenue, comparativement à celles de la littérature sur les phloroglucinols dimériques<sup>227,230,231</sup>, nous permettent de suggérer la structure du composé isolé comme étant celle du **méthylène-bis-2,4-dihydroxy-6-méthoxy-5-méthyl-3-butyrylbenzène** encore appelé **méthylène bis-aspidinol** (Figure I.2.3.2.4a). Ce composé a été isolé pour la première fois de *Ctenitis apiciflora* et *C. nidus*, deux Dryopteraceae Asiatiques<sup>235</sup>.

<sup>233</sup> Hesse M, Meier H, Zeeh B. Méthodes spectroscopiques pour la chimie organique. Éd. Masson, Paris, **1997**, 417 p.

<sup>234</sup> Beaudoin GJ, Flamand E, Chavanne M, Jullien A. Chimie organique expérimentale. 2<sup>ème</sup> Édition. Éd. Belin, Paris, **1991**, 901 p.

<sup>235</sup> Widén CJ, Puri HS. Phloroglucinol derivatives in *Ctenitis apiciflora* and *C. nidus*. *Planta Med.*, **1979**, 36, 343-349.



**Figure I.3.3.2.1b : Fragments importants en SMIE du composé 1**

L'étude structurale de ce composé est complétée par l'analyse de son spectre homonucléaire  $^1H$ - $^1H$  NOESY, décrivant les couplages entre des protons proches dans l'espace. En effet, aucune donnée de la littérature ne mentionne la configuration spatiale des différents groupements de cette molécule. L'analyse du spectre NOESY de cette molécule met en évidence une série de corrélations importantes confirmant nos attributions. En effet, une connectivité est observée entre les protons du pont méthylène ( $\delta$  3,69, H- $\alpha$ ) et ceux des hydroxyles à  $\delta$  8,98 (2/2'-OH), ceux-ci corrélant avec leurs homologues à  $\delta$  13,71 (4/4'-OH) et les méthylènes à  $\delta$  1,71 (H-3'' et H-3'''). Les signaux à 13,71 et 1,71 ppm corréleront également

entre eux. Les protons des méthyles de toluène ( $\delta$  2,14, 5/5'-Me) et de méthoxyle ( $\delta$  4,00, 6/6'-OMe) ne corrèlent qu'entre eux.

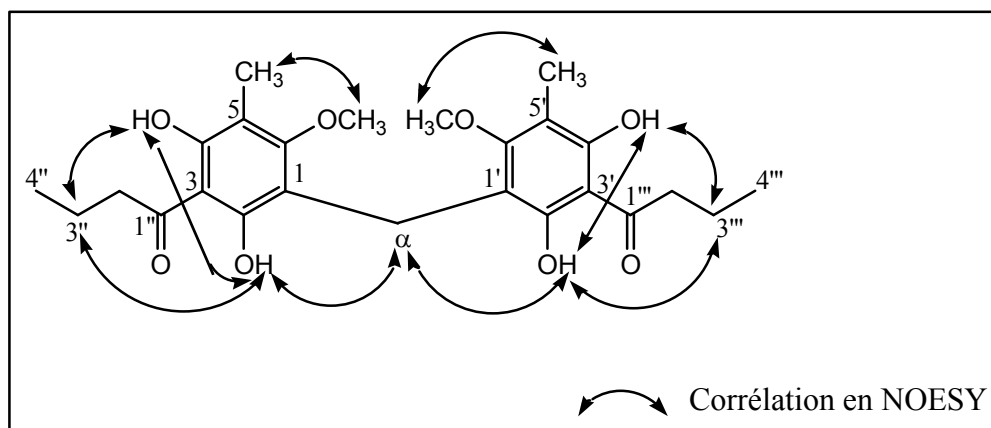


Figure I.3.3.2.1c : Corrélations en NOESY du composé 1

C'est la première fois que cette molécule est isolée à partir d'une espèce du genre *Mallotus*. Le méthylène bis-aspidinol est un composé rarement rencontré chez les Phanérogames. En effet, à ce jour, il n'a été extrait que de *Calypttranthes pallens*, une Myrtaceae de l'Amérique du Nord<sup>236</sup>. Toutefois, chez les Cryptogames, cette molécule a été fréquemment rencontrée surtout avec les Ptérydophytes (Fougères) notamment chez les espèces des genres *Ctenitis* (Dryopteraceae) et *Dryopteris* (Dryopteridaceae)<sup>163,235,237</sup>.

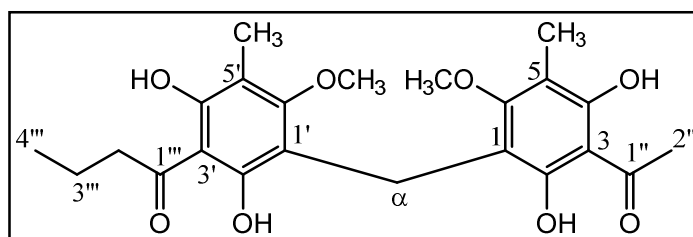
De distribution très restreinte chez les phanérogames, le méthylène bis-aspidinol pourrait être considéré comme un marqueur chimiotaxonomique important. A cet effet, il pourrait permettre de rapprocher les Euphorbiaceae des Myrtaceae.

### 3.3.2.2. Analyse structurale de la molécule 2

Le composé **2** a été isolé sous forme de cristaux rougeâtres en paillettes à partir de la fraction H6 de l'extrait hexanique des feuilles. Sa formule brute  $C_{23}H_{28}O_8$  est déduite de son spectre de masse ESIHR réalisé en mode négatif qui présente le pic de l'ion  $[M-H]^-$  à  $m/z$  431,1715 (calculé 431,1706), soit 28 unités de masse de moins que le méthylène bis-aspidinol (**1**). Ceci est en accord avec la présence d'un groupement acétyle dans la structure de **2** à la place du groupement butyryle dans la structure de **1**.

<sup>236</sup> Lobo-Echeverri T, Rivero-Cruz JF, Su BN, Chai HB, Cordell GA, Pezzuto JM, Swanson SM, Soejarto DD, Kinghorn AD. Constituents of the leaves and twigs of *Calypttranthes pallens* collected from an experimental plot in southern Florida. *J. Nat. Prod.*, **2005**, 68, 4, 577-580.

<sup>237</sup> Widén CJ, Fraser-Jenkins CR, Reichsteins T, Sarvela J. A survey of phenolic compounds in *Dryopteris* and related fern genera. Part III. Phloroglucinol derivatives in subgenera *Erythrovaria* and *Nephrocystis* and related genera (Pteridophyta, Dryopteridaceae). *Ann. Bot. Fennici*, **2001**, 38, 99-138.



**Figure I.3.3.2.2a : Structure du composé 2**

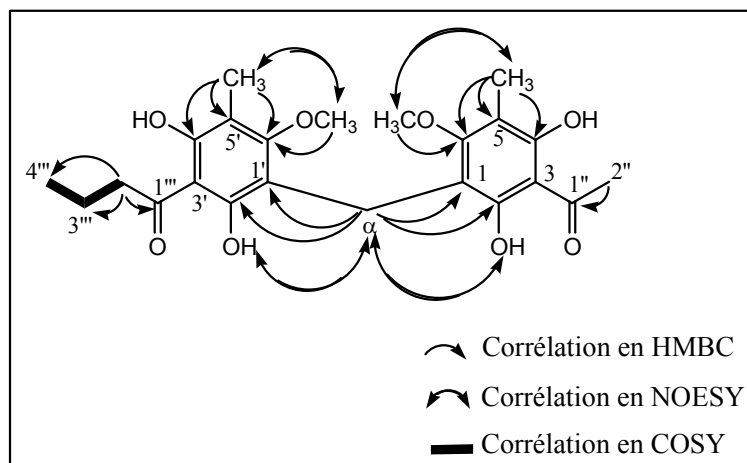
Le spectre infrarouge de **2** est semblable à celui de **1**. Ce spectre montre une bande étroite de groupements hydroxyles à  $3271\text{ cm}^{-1}$  tandis que les bandes de groupements carbonyles  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés et de doubles liaisons C=C de cycle benzénique conjuguées avec le C=O sont respectivement visibles à  $1625$  et  $1601\text{ cm}^{-1}$ . Ce composé donne également une réaction positive avec le Fast Blue B Salt suggérant la présence de fonction phénol dans sa structure.

**Tableau I.3.3.2.2 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé 2**

| Atome N°    | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) (m) | HMBC                                                      | COSY                                  | NOESY       |
|-------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------|
| 1/1' (3/3') | 108,1/108,2                       | -                                  | -                                                         | -                                     | -           |
| 2/2'        | 157,0                             | -                                  | -                                                         | -                                     | -           |
| 4/4'        | 162,8                             | -                                  | -                                                         | -                                     | -           |
| 5/5'        | 109,8/109,9                       | -                                  | -                                                         | -                                     | -           |
| 6/6'        | 159,7                             | -                                  | -                                                         | -                                     | -           |
| 1''         | 205,3                             | -                                  | -                                                         | -                                     | -           |
| 2''         | 33,7                              | 2,71 (3H, s)                       | C <sub>1''</sub>                                          | -                                     | -           |
| 1'''        | 207,8                             | -                                  | -                                                         | -                                     | -           |
| 2'''        | 46,7                              | 3,12 (2H, t, 7,4)                  | C <sub>4'''</sub> , C <sub>3'''</sub> , C <sub>1'''</sub> | H <sub>3'''</sub>                     | -           |
| 3'''        | 17,7*                             | 1,71 (2H, sext, 7,4)               | C <sub>1'''</sub> , C <sub>2'''</sub> , C <sub>4'''</sub> | H <sub>4'''</sub> , H <sub>2'''</sub> | -           |
| 4'''        | 13,9                              | 0,98 (3H, t, 7,4)                  | C <sub>2'''</sub> , C <sub>3'''</sub>                     | H <sub>3'''</sub>                     | -           |
| $\alpha$    | 18*                               | 3,69 (2H, s)                       | C <sub>1/1'</sub> , C <sub>2/2'</sub> , C <sub>6/6'</sub> | -                                     | 2-OH, 2'-OH |
| 5/5'-Me     | 8,9/9,00                          | 2,13 (6H, s)                       | C <sub>4/4'</sub> , C <sub>5/5'</sub> , C <sub>6/6'</sub> | -                                     | 6/6'-OMe    |
| 6/6'-OMe    | 62,0                              | 4,00 (6H, s)                       | C <sub>6/6'</sub>                                         | -                                     | 5/5'-Me     |
| 2-OH        | -                                 | 8,94 (1H, s)                       | C <sub>1/1'</sub> , C <sub>2/2'</sub>                     | -                                     | H $\alpha$  |
| 2'-OH       | -                                 | 9,01 (1H, s)                       | C <sub>1/1'</sub> , C <sub>2/2'</sub>                     | -                                     | H $\alpha$  |
| 4-OH        | -                                 | 13,70 (1H, s)                      | C <sub>3/3'</sub> , C <sub>4/4'</sub>                     | -                                     | -           |
| 4'-OH       | -                                 | 13,65 (1H, s)                      | C <sub>3/3'</sub> , C <sub>4/4'</sub>                     | -                                     | -           |

\* Carbones interchangeables

Les spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de **2** montrent également des similitudes avec ceux de **1** à la différence de la présence de signaux d'un groupement acétyle à la place de groupement butyryle chez **1**. Ceci est corroboré par le singulet à 2,71 ppm (3H) (H-2'') qui ne corrèle qu'avec le carbonyle à 205,3 ppm (C-1'') sur le spectre HMBC. Le méthyle du groupement acétyle est visible sur le spectre  $^{13}\text{C}$  à 33,7 ppm. Le dédoublement des signaux des groupements hydroxyles sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$  traduit la perte de la symétrie de **2** comparativement à **1**.



**Figure I.3.3.2.2b : Corrélations importantes en HMBC, COSY et NOESY du composé 2**

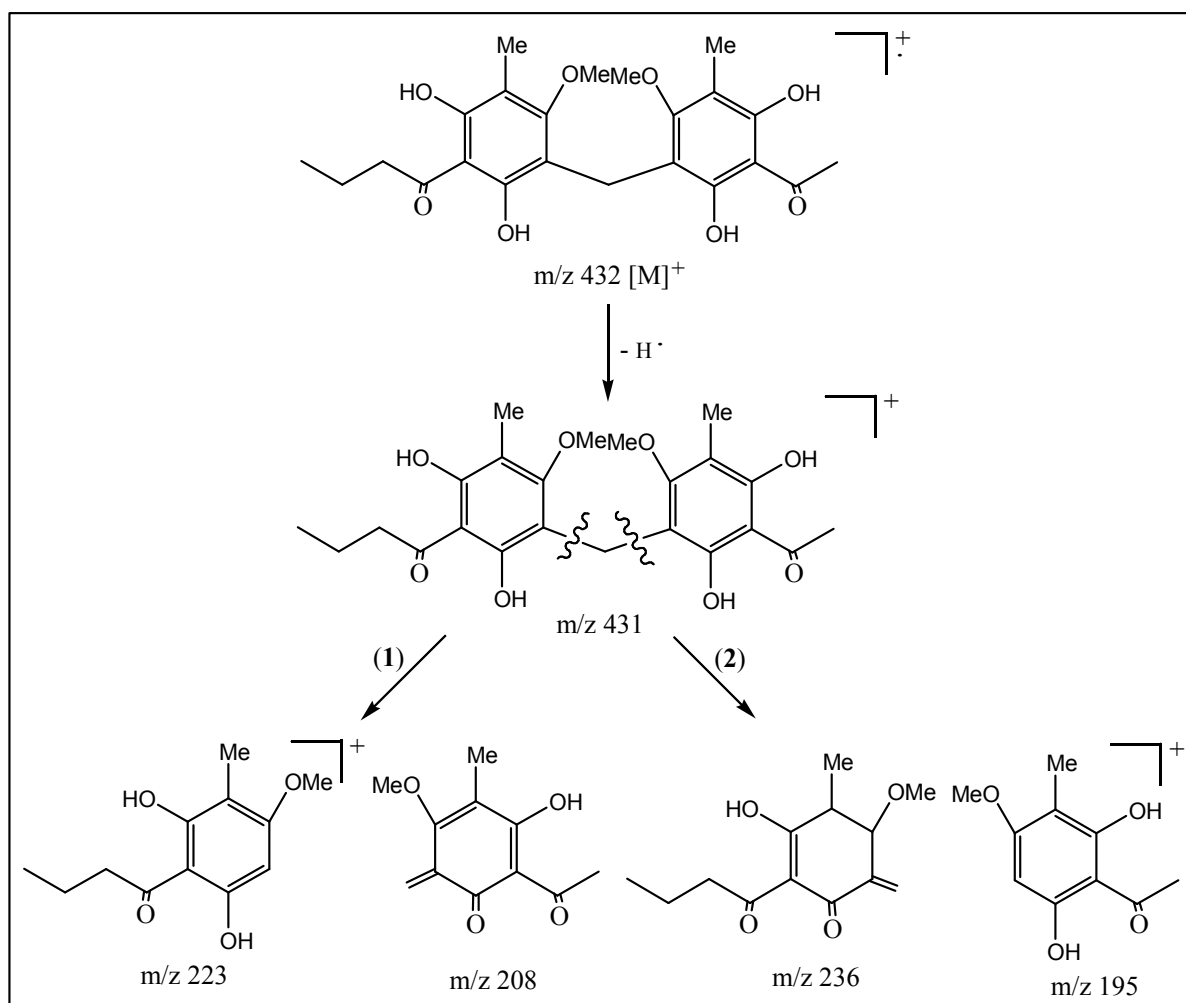
La stéréochimie de **2** a été établie à partir de son spectre de corrélation homonucléaire  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY. En effet, sur ce spectre, on note des connectivités entre les protons du pont méthylène à  $\delta$  3,69 (s, 2H) (H- $\alpha$ ) et les protons des hydroxyles à  $\delta$  8,94 (2-OH) et à  $\delta$  9,01 (2'-OH). Des corrélations sont également visibles entre les méthyles de toluène à  $\delta$  2,13 (s, 6H) (5/5'-Me) et les groupements méthoxyles à  $\delta$  4,00 (s, 6H) (6/6'-OMe). Ces attributions permettent de proposer la structure du composé **2** comme indiquée sur la figure I.3.3.2.2a. Il s'agit d'un nouveau phloroglucinol de type acylphloroglucinol et a été identifié comme étant le **1-[3-(3-acétyl-2,4-dihydroxy-6-méthoxy-5-méthylbenzyl)-2,6-dihydroxy-4-méthoxy-5-méthylphenyl] butan-1-one**.

L'étude structurale de ce composé a été achevée par l'analyse de son spectre de masse ESI réalisé en mode négatif. En effet, sur ce spectre le pic important à  $m/z$  431 correspond à la perte d'un atome d'hydrogène par la molécule. Les fragments à  $m/z$  223 et 195 résultent de la rupture du pont méthylène caractéristique des phloroglucinols dimériques<sup>227,230</sup>.

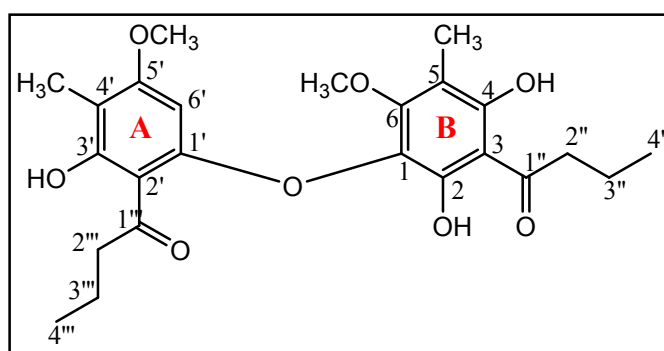
### 3.3.2.1. Analyse structurale de la molécule 4

Le composé **4** a été isolé sous forme d'une poudre blanche à partir de la fraction D1 de l'extrait chlorométhylénique des feuilles. Sa formule brute  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_8$  a été établie à partir de son spectre de masse ESIHR réalisé en mode négatif qui montre le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[\text{M}-\text{H}]^-$  à  $m/z$  445,1887 (calculé 445,1863), ce qui correspond à un indice de déficience en hydrogène de 10.

Le spectre infrarouge de **4** est semblable à celui de **1**, caractéristique des composés de type phloroglucinol<sup>228</sup>. L'analyse des spectres  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de **4** et **1** indique des similitudes au niveau des déplacements chimiques. Ces deux composés sont donc des analogues structuraux. La différence entre ces deux structures réside d'une part, en la présence dans la structure de **4** d'un pont oxygène à la place du pont méthylène dans la structure de **1**, et d'autre part, en la présence d'un atome d'hydrogène ( $\delta_{\text{H}}$  5,95 s ;  $\delta_{\text{C}}$  91,5) sur l'un des noyaux benzéniques de **4** (noyau A) et aux positions des différents substituants du noyau A.



**Figure I.3.3.2.2c : Fragments en ESI du composé 2**



**Figure I.3.3.2.3a : Structure du composé 4**

Tableau I.3.3.2.3: RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé **4**

| Position    | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m ( $J$ , Hz) | HMBC                                                                                     | COSY                                | NOESY                                        |
|-------------|-----------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------|
| 1/1' (6/5') | 163,1                             | -                                            | -                                                                                        | -                                   |                                              |
| 2/4/3'      | 160,0                             | -                                            | -                                                                                        | -                                   |                                              |
| 3/5 (2'/4') | 103,6                             | -                                            | -                                                                                        | -                                   |                                              |
| 6'          | 91,5                              | 5,95 (1H, s)                                 | $\text{C}_{2'}/4'$ , $\text{C}_{1'}/5'$                                                  | -                                   | 6/5'-OMe                                     |
| 1''/1'''    | 206,1                             | -                                            | -                                                                                        | -                                   | -                                            |
| 2''/2'''    | 46,1                              | 3,05 (4H ; t ; 7,6)                          | $\text{C}_{1''}$ , $\text{C}_{3''}$ , $\text{C}_{4''}$                                   | $\text{H}_{3''}/\text{H}_{3'''}$    | 5/4'-Me, $\text{H}_{3''}$ , $\text{H}_{4''}$ |
| 3''/3'''    | 18,1                              | 1,72 (4H ; sext ; 7,6)                       | $\text{C}_{1''}$ , $\text{C}_{2''}$ , $\text{C}_{4''}$                                   | $\text{H}_{2''}$ , $\text{H}_{4''}$ | $\text{H}_{2''}/2'''$                        |
| 4''/4'''    | 14,0                              | 0,99 (6H ; t ; 7,6)                          | $\text{C}_{2''}$ , $\text{C}_{3''}$                                                      | $\text{H}_{3''}/\text{H}_{3'''}$    | $\text{H}_{2''}/2'''$                        |
| 5/4'-Me     | 7,1                               | 2,00 (3H, s) ;<br>2,01 (3H, s)               | $\text{C}_4, \text{C}_5, \text{C}_6, \text{C}_{3'}$ ,<br>$\text{C}_4'$ , $\text{C}_5'$ , | -                                   | 6/5'-OMe, $\text{H}_{2''}/2'''$              |
| 6/5'-OMe    | 55,6                              | 3,82 (3H, s) ;<br>3,83(3H, s)                | $\text{C}_6$ / $\text{C}_{5'}$                                                           | -                                   | $\text{H}_6'$ , 5/4'-Me                      |

Les corrélations en COSY et en HMBC au niveau du noyau B de **4** sont semblables à celles du composé **1** ce qui permet le positionnement des substituants de ce noyau comme indiqué sur la figure I.3.3.2.3a.

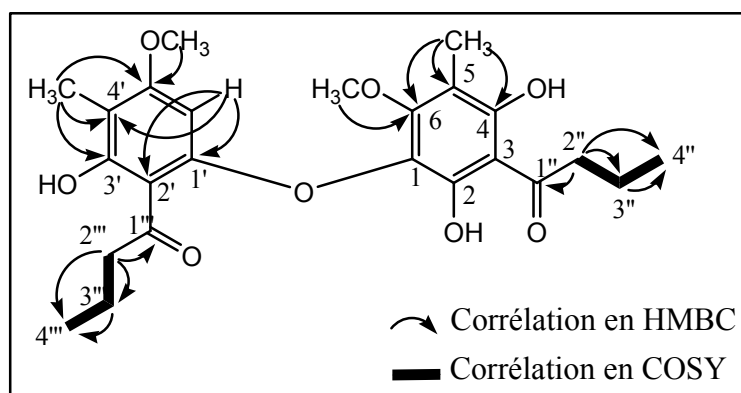
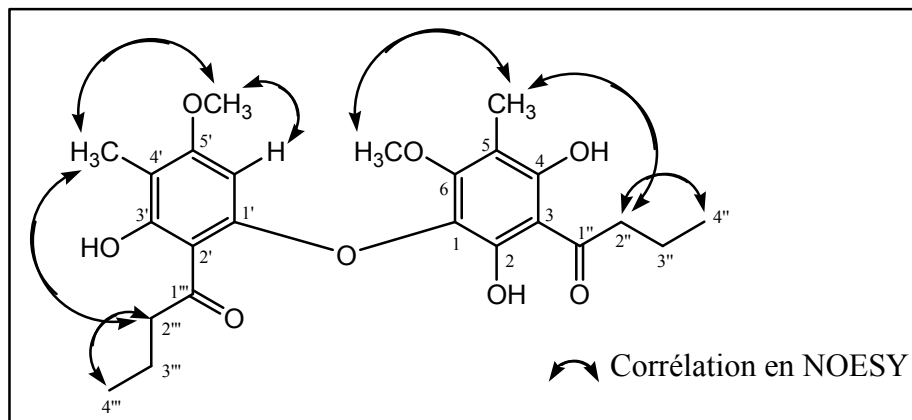


Figure I.3.3.2.3b : Corrélations importantes en HMBC et COSY du composé **4**

L'emplacement des substituants du noyau A a été effectué au moyen des spectres HMBC et NOESY. Sur le spectre HMBC, les protons du groupement méthoxyle ( $\delta_{\text{H}}$  3,82, s) (5'-OMe) ne corrélient qu'avec le carbone C-5' ( $\delta_{\text{C}}$  163,1), le groupement méthyle 4'-Me montre des connectivités avec les carbones C-5' ( $\delta_{\text{C}}$  163,1), C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  103,6) et C-3' ( $\delta_{\text{C}}$  160,0), tandis que le proton H-6' montre des corrélations  $^2J$  avec les carbones C-1' et C-5' et  $^3J$  avec les carbones C-2' ( $\delta_{\text{C}}$  103,6) et C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  103,6). Ces attributions sont en accord avec le spectre NOESY. En effet, ce spectre montre des corrélations entre le proton H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  5,95) et le méthoxyle 5'-OMe, ce dernier corrélant avec le méthyle de toluène 4'-Me ( $\delta_{\text{H}}$  2,01). Une connectivité est également observée entre le méthyle de toluène précédemment évoqué et les protons H-2''' ( $\delta_{\text{H}}$  3,05 ; t ; 7,6 Hz) du groupement butyryle. Ces éléments complétés par la masse permettent la liaison des

noyaux A et B par un atome d'oxygène à la place du pont méthylène comme c'est le cas chez le composé **1**.



**Figure I.3.3.2.3c: Corrélations importantes en NOESY du composé **4****

Au vu de tous ces éléments, la structure de **4** a été établie comme indiquée sur la Figure I.3.3.2.3a. Il s'agit de la **1-[6-(3-butyryl-2,4-dihydroxy-6-méthoxy-5-méthylphenoxy)-2-hydroxy-4-méthoxy-3-méthylphényle] butan-1-one**. La revue bibliographique effectuée sur les phloroglucinols à ce jour, nous permet d'affirmer l'originalité de ce composé.

Pour les molécules **2** et **4**, nous proposons le schéma biogénétique suivant :

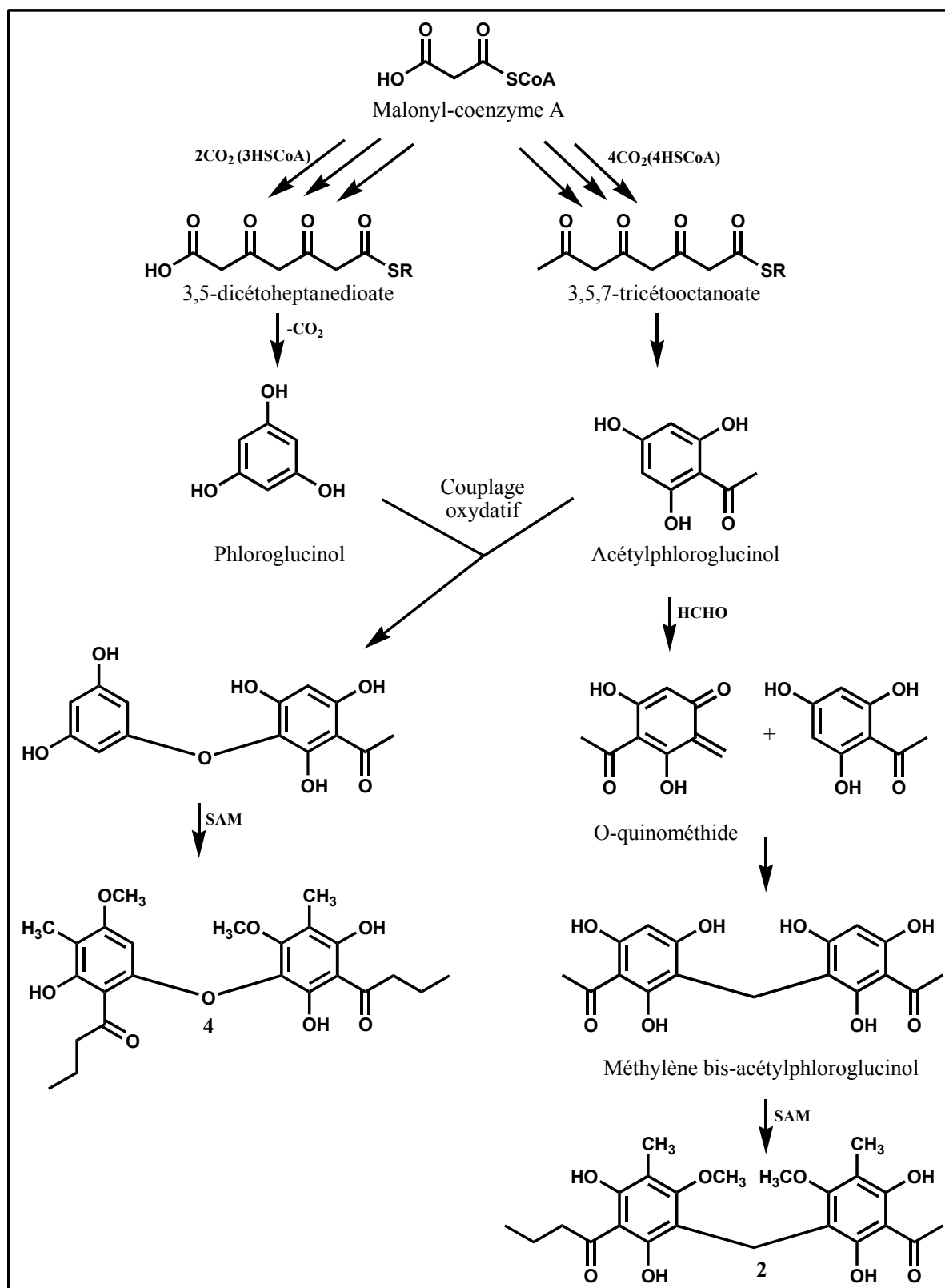


Figure I.3.2.3.d : Hypothèse biogénétique des molécules 2 et 4

### 3.3.2.2. Analyse structurale de la molécule 3 (Aspidinol B)

Ce composé a été isolé sous forme de cristaux orangés en aiguilles à partir de la fraction D1 de l'extrait chlorométhylénique des feuilles. Son point de fusion est de 116,5°C.

La formule brute  $C_{12}H_{16}O_4$  de **3** a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à 225,1122 (calculé 225,1127) correspondant à un indice de déficience en hydrogène de 5. Il réagit positivement au Fast Blue B Salt, suggérant la présence de groupement phénolique.

La molécule **3** présente quasiment les mêmes caractéristiques spectrales que le méthylène bis-aspidinol (**1**) ; la différence se situe au niveau du spectre de RMN. En effet, le spectre de RMN  $^1H$  de **3** présente un singulet de proton aromatique blindé à  $\delta$  5,95 (H-5). Ce proton corrèle avec le carbone à  $\delta$  91,4 (C-5) sur le spectre de corrélation hétéronucléaire  $^1H$ - $^{13}C$  HSQC. Par ailleurs, on note l'absence de déplacement chimique caractéristique du pont méthylène sur les spectres de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  du composé **3**.

Ces attributions permettent d'identifier le composé **3** au **2,6-dihydroxy-4-méthoxy-3-méthylbutyrylbenzène** encore appelée **aspidinol B**.

Ce composé a été isolé et décrit dans plusieurs plantes dont : *Elaphoglossum spathulatum*<sup>238</sup>, *Dryopteris marginalis*<sup>239</sup>, *D. villarii*<sup>230</sup>, *D. crassirhizoma*<sup>161</sup>. Il est caractéristique des Fougères (Ptérydophytes)<sup>238</sup>. Par ailleurs, c'est la première fois qu'il est décrit d'une espèce du genre *Mallotus*.

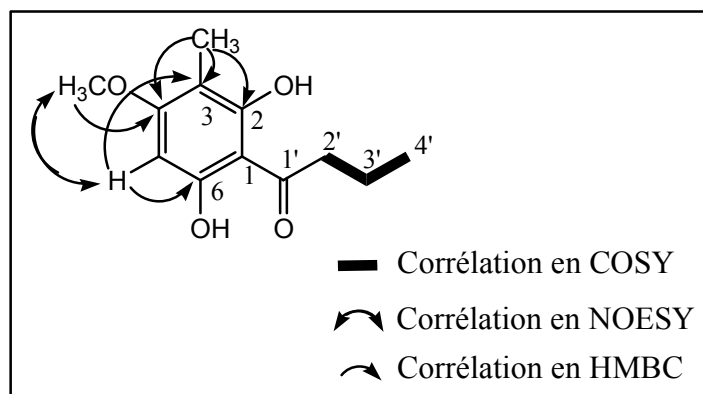


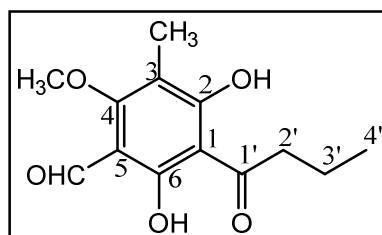
Figure I.3.3.2.4 : Quelques corrélations importantes en COSY, HMBC et NOESY de la molécule **3**

### 3.3.2.3. Analyse structurale de la molécule 5 (5-formylaspidinol)

La molécule **5** a été isolée à partir de la fraction H4 de l'extrait hexanique des feuilles. Il se présente sous forme d'un solide blanchâtre en limailles. Ce composé donne une réaction positive avec le Fast Blue B Salt suggérant la présence de fonctions phénoliques.

<sup>238</sup> Socolsky C, Salvatore A, Asakawa Y, Bardón A. Bioactive new bitter-tasting *p*-hydroxystyrene glycoside and other constituents from *Elaphoglossum spathulatum*. Issue in honor of Prof. R. Rossi and Prof. E. Rúveda, *ARKIVOC*, **2003**, x, 347-355.

<sup>239</sup> Penttilä A, Govind JK. Isolation, structure, and synthesis of margaspidin, a new dryopteris phloroglucinol derivative. *J. Pharm.Sci.*, **1965**, 54, 9, 1362-1364.



**Figure I.3.3.2.5 : Structure du composé 5**

La formule brute  $C_{13}H_{16}O_5$  est compatible avec son spectre de masse APCI réalisé en mode négatif qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M-H]^-$  à  $m/z$  251,1. Cette formule correspond à 28 unités (CO) de masse de plus que l'aspidinol B (**3**).

Le spectre infrarouge de **5**, semblable à celui de l'aspidinol B présente une bande de groupement hydroxyle à  $3325\text{ cm}^{-1}$ , une faible bande d'élongation C-H de fonction aldéhyde<sup>233</sup> à  $2800\text{ cm}^{-1}$  et une bande de groupement carbonyle à  $1732\text{ cm}^{-1}$ . Deux bandes intenses caractéristiques de doubles liaisons benzéniques conjuguées avec des groupements carbonyles<sup>228,229</sup> sont visibles à  $1621$  et  $1593\text{ cm}^{-1}$ .

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  de **5** est également semblable à celui de l'aspidinol B à l'exception de l'apparition du signal d'un groupement formyle ( $\delta_{\text{H}}$  9,98, 1H, s, 5-CHO) à la place du signal d'un proton aromatique. Ce spectre présente des signaux pour deux protons hydroxyles phénoliques à  $\delta$  15,17 (1H, s, 6-OH) et 14,15 (1H, s, 2-OH), un méthoxyle à  $\delta$  3,89 (3H, s, 4-OMe), un méthyle aromatique à  $\delta$  2,08 (3H, s, 3-Me) et un groupement butyryle à travers les résonances à  $\delta$  3,13 (2H, t, 7,4 Hz, H-2'), 1,73 (2H, sext, 7,4 Hz, H-3') et 1,00 (3H, t, 7,4 Hz, H-4').

**Tableau I.3.3.2.5 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé 5**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) | HMBC                                             | COSY                              |
|----------|-----------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------|
| 1/3/5    | 111,0                             | -                                        | -                                                | -                                 |
| 2/6      | 173,2                             | -                                        | -                                                | -                                 |
| 4        | 166,3                             | -                                        | -                                                | -                                 |
| 1'       | 208,6                             | -                                        | -                                                | -                                 |
| 2'       | 46,3                              | 3,13 (2H, t, 7,4)                        | -                                                | H <sub>3'</sub>                   |
| 3'       | 17,7                              | 1,73 (2H, sext, 7,4)                     | -                                                | H <sub>2'</sub> , H <sub>4'</sub> |
| 4'       | 13,8                              | 1,00 (3H, t, 7,4)                        | C <sub>2'</sub> , C <sub>3'</sub>                | H <sub>3'</sub>                   |
| 3-Me     | 8,0                               | 2,08 (s, 3H)                             | C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub> | -                                 |
| 4-OMe    | 62,9                              | 3,89 (s, 3H)                             | C <sub>4</sub>                                   | -                                 |
| 5-CHO    | 192,5                             | 9,98 (s, 1H)                             | -                                                | -                                 |
| 2-OH     | -                                 | 14,15 (s, 1H)                            | -                                                | -                                 |
| 6-OH     | -                                 | 15,17 (s, 1H)                            | -                                                | -                                 |

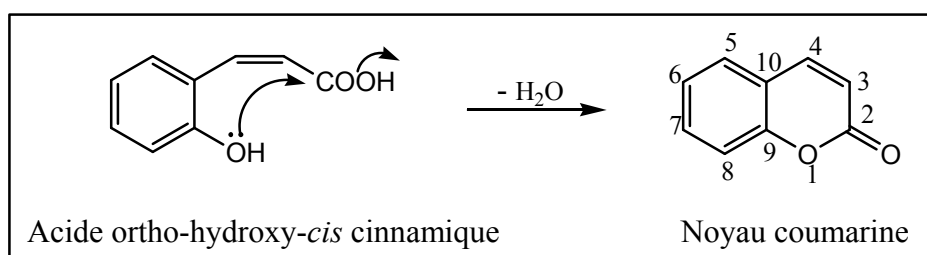
Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ne montre que trois carbones aromatiques à  $\delta$  173,2 (C-2/C-6), 166,3 (C-4) et 111,0 (C-1/C-3/C-5). Le carbonyle du groupement formyle est visible à  $\delta$  192,5 (5-

CHO), le méthoxyle à  $\delta$  62,9 (4-OMe) et les carbones du groupement butyryle à  $\delta$  208,6 (C-1'), 46,3 (C-2'), 17,7 (C-3') et 13,8 (C-4').

De ces données spectrales, la structure du composé **5** est déterminée comme étant la **2,6-dihydroxy-5-formyl-4-méthoxy-3-méthylbutyrylbenzène** ou **5-formylaspidinol**. C'est la première fois que cette molécule est décrite ; il s'agit d'une structure originale.

### 3.3.3. Caractérisation des coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles dont la structure comporte le noyau benzo- $\alpha$ -pyrone résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy-*Z* cinnamique (Figure I.3.3.3).



**Figure I.3.3.3 : Formation de la coumarine à partir de l'acide ortho-hydroxy-*Z* cinnamique**

Elles se présentent généralement sous forme de solides cristallisés blancs ou jaunâtres de saveur amère. Les coumarines possèdent une ou plusieurs fonctions phénoliques étherifiées ou non (à l'exception de la coumarine proprement dite). On distingue les **coumarines simples** et les **coumarines complexes** constituées des furocoumarines (ou furanocoumarines) et des pyrocoumarines. Dans notre étude, celles que nous avons isolées font partie des coumarines simples ; nous nous intéresserons à la caractérisation chimique et spectrale de ces dernières dans les sections suivantes.

#### 3.3.3.1. Caractérisation chimique

Les coumarines libres (génines) sont solubles dans les alcools et les solvants organiques avec lesquels on peut les extraire. Les formes hétérosidiques sont solubles dans les alcools et assez solubles dans l'eau. La purification des coumarines se fait par les techniques chromatographiques sur silice aussi bien pour les formes libres que pour les hétérosides. La CLHP semi-préparative en phases normale et inverse est également utilisée. On peut aussi recourir à la sublimation ou jouer sur les propriétés spécifiques de la lactone à savoir l'ouverture et la solubilisation en milieu alcalin, puis fermeture en milieu acide. Néanmoins, ces deux dernières méthodes ont pour inconvénient le risque d'altération de la structure originelle<sup>59</sup>.

Les coumarines peuvent être caractérisées sur CCM en lumière ultraviolette. Elles présentent des taches dont la coloration, renforcée en présence d'ammoniac, varie du bleu au jaune et au pourpre. Celles possédant des groupements hydroxyles possèdent une intense fluorescence bleue en lumière ultraviolette (UV 365-366 nm).

### 3.3.3.2. Caractérisation spectrale

#### 3.3.3.2.1. Spectroscopie UV

Les coumarines ont un spectre UV caractéristique modifié en milieu alcalin (hydroxyde de potassium, méthanolate de sodium). Ce spectre est fortement influencé par la nature et la position des substituants. La présence de noyau  $\alpha$ -pyrone confère à ces molécules une forte absorbance pour des longueurs d'ondes comprises entre 270 et 350 nm.

#### 3.3.3.2.2. Spectroscopie IR

Le spectre infrarouge des coumarines présente généralement des bandes caractéristiques ordinaires d'un noyau benzénique et de groupement hydroxyle dans le cas des hydroxycoumarines. La présence du carbonyle conjugué du noyau  $\alpha$ -pyrone est couramment indiquée par la présence d'une forte bande aux environs de  $1700\text{-}1730\text{ cm}^{-1}$  suivie de bandes d'intensités plus faibles entre  $1460$  et  $1615\text{ cm}^{-1}$ .

#### 3.3.3.2.3. Spectrométrie de masse (SM)

La spectrométrie de masse permet de déterminer dans la plupart des cas la masse moléculaire des coumarines. En effet, le pic de l'ion moléculaire de ces composés est généralement intense. Le noyau  $\alpha$ -pyrone est généralement caractérisé par des pertes de deux groupements carbonyles.

#### 3.3.3.2.4. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

La RMN  $^1\text{H}$  de ces composés fournit des résonnances de protons aromatiques ordinaires. Par ailleurs, le proton H-3 du cycle  $\alpha$ -pyrone s'observent généralement entre 6 et 6.8 ppm tandis que le proton H-4 plus déblindé que le précédent par effet mésomère est visible entre 7 et 8 ppm.

En RMN  $^{13}\text{C}$ , le carbonyle C-2 résonne généralement entre 158 et 165 ppm alors que les carbones C-3 et C-4 apparaissent respectivement à 110-120 ppm et 130-145 ppm.

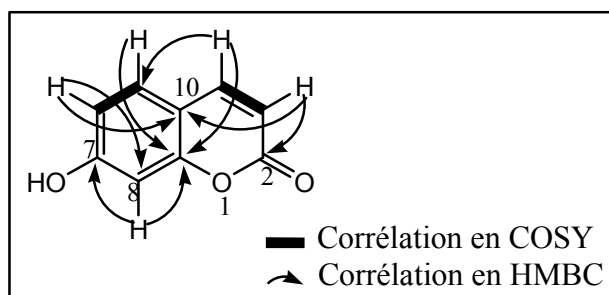
### 3.3.4. Détermination structurale des coumarines

#### 3.3.4.1. Analyse structurale de la molécule 34 (Ombelliférone)

Le composé **34** est obtenu sous la forme d'un solide blanc à partir de la fraction F1 de l'extrait à l'acétate d'éthyle des racines. Elle donne une fluorescence bleue-pâle à l'UV 366 nm et a un point de fusion de  $226\text{-}228^\circ\text{C}$ . Sa formule brute  $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$  est déduite de son spectre ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  163,0390 (calculé 163,0395). Le

spectre IR du composé **34** révèle des bandes caractéristiques des 7-hydroxy-coumarines<sup>240,241</sup> à 3379, 3113, 1678, 1601 et 1587 cm<sup>-1</sup>.

L'ensemble de ses données spectrales en accord avec celles de la littérature<sup>242,243,244,245</sup> nous permettent de suggérer la structure du composé **34** comme étant celle de la **7-hydroxy-coumarine** encore appelée **ombelliférone**.



**Figure I.3.3.4.1 : Quelques corrélations en COSY et en HMBC de l'ombelliférone**

### 3.3.4.2. Analyse structurale de la molécule **14** (Scopolétine)

La molécule **14** a été isolée sous forme d'un solide blanc à partir de la fraction F6 de l'extrait chlorométhylénique des écorces de tige. Elle donne une fluorescence bleue-pâle à l'UV 366 nm et a un point de fusion 203-205°C. La formule brute C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> de **14** a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+Na]<sup>+</sup> à *m/z* 215.0320 (calculé 215,0320). Le spectre IR montre des bandes caractéristiques des 7-hydroxy-coumarines<sup>240,241</sup> à 3372, 1715 et 1566 cm<sup>-1</sup> ; cette hypothèse est étayée par le spectre UV qui montre des bandes à λ<sub>max</sub> 343,7, 296,2, et 227,8 nm.

Le composé **14** a été identifié à la **7-hydroxy-6-méthoxy-2H-chromèn-2-one** ou **7-hydroxy-6-méthoxy-coumarine**, encore appelée **scopolétine** ou **scopoletol** sur la base de ses données spectrales en concordance avec celles de la littérature<sup>242,246,247</sup>.

<sup>240</sup> Ishii H, Okada Y, Baba M, Okuyama T. Studies of coumarins from the Chinese drug Qianhu, XXVII: structure of a new simple coumarin glycoside from Bai-Hua Qianhu, *Peucedanum praeruptorum*. *Chem. Pharm. Bull.*, **2008**, 56, 9, 1349-1351.

<sup>241</sup> Nakamori T, Taniguchi M, Shibano M, Wang N-H, Baba K. Chemical studies on the root of *Heracleum candicans* WALL., *J. Nat. Med.*, **2008**, 62, 403-412.

<sup>242</sup> Kassim NK, Rahmani M, Ismail A, Sukari MA, Lian Ee GC, Nasir NM, Awang K. Antioxidant activity-guided separation of coumarins and lignan from *Melicope glabra* (Rutaceae). *Food Chemistry*, **2013**, 139, 87-92.

<sup>243</sup> Singh R, Singh B, Singh S, Kumar N, Kumar S, Arora S. Umbelliferone-An antioxidant isolated from *Acacia nilotica* (L.) Willd. Ex. Del. *Food Chemistry*, **2010**, 120, 825-830.

<sup>244</sup> Hu X-J, Jin H-Z, Su J, Zhang W, Xu W-Z, Yan S-K, Liu R-H, Li J-Q, Zhang W-D. Coumarins from *Daphne retusa*. *Chin. J. Nat. Med.*, **2009**, 7, 1, 34-36.

<sup>245</sup> Shi XH, Chen HH, Kong LY. Studies on chemical constituents in *Chrozophora sabulosa* Kar [J]. *Chin. Pharm. J.*, **2007**, 42, 4, 252-256.

<sup>246</sup> Zhang H-L, Zhang Q-W, Zhang X-Q, Ye W-C, Wang Y-T. Chemical constituents from the roots of *Morinda officinalis*. *Chin. J. Nat. Med.*, **2010**, 8, 3, 192-195.

<sup>247</sup> Siddiqui BS, Sattar FA, Ahmad F. Isolation and structural elucidation of chemical constituents from the fruits of *Morinda citrifolia* Linn.[J]. *Arch. Pharm Res.*, **2007**, 30, 8, 919-923.

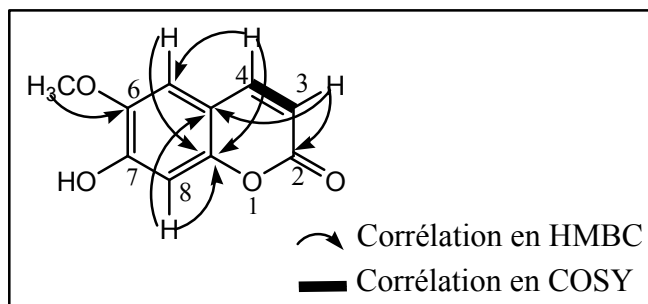


Figure I.3.3.4.2 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC de la scopolétine

### 3.3.4.3. Analyse structurale de la molécule 70 (Octacosanoate de 6-méthoxy-2-oxo-2H-chromen-7-yl)

Le composé **70** qui se présente sous forme d'une cire jaune a été isolé à partir de la fraction F2 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des racines. L'analyse des spectres infrarouge, de masse APCI et de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  nous a permis de proposer la structure de ce composé comme étant celle de l'octacosanoate de 6-méthoxy-2-oxo-2H-chromen-7-yl (Figure I.3.3.4.3a).

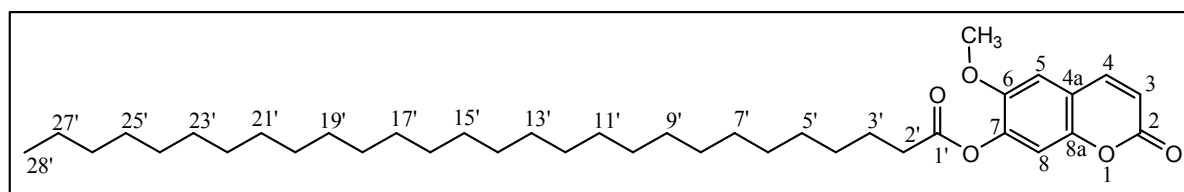


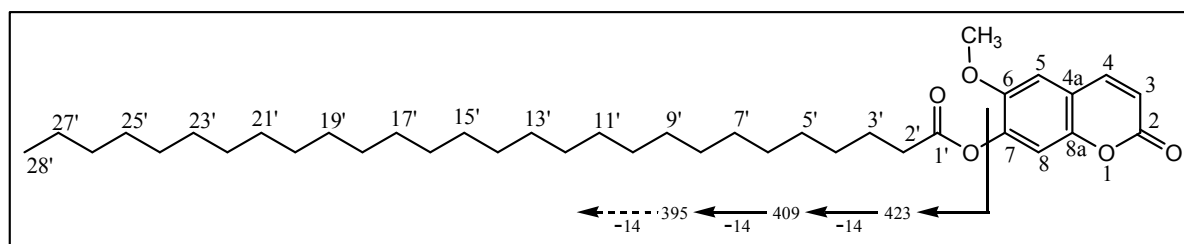
Figure I.3.3.4.3a : Structure du composé 70

Le spectre infrarouge de **70** semblable à celui de la scopolétine (**14**) met en évidence de fortes bandes de groupements C-H à 2931, 2918 et 2850  $\text{cm}^{-1}$ , une forte bande caractéristique de groupement carbonyle à 1707  $\text{cm}^{-1}$ , des bandes de groupements éthyléniques à 1609, 1566 et 1512  $\text{cm}^{-1}$ . Par ailleurs, des bandes de groupements éther C-O sont visibles entre 1141 et 1293  $\text{cm}^{-1}$ .

Tableau I.3.3.4.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule 70

| Atome N°           | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) | HMBC              | COSY               |
|--------------------|-----------------------------------|------------------------------------------|-------------------|--------------------|
| 2                  | 161,5                             | -                                        | -                 | -                  |
| 3                  | 113,2                             | 6,26 (1H ; d ; 9,6)                      | C2, C4a           | H4                 |
| 4                  | 143,3                             | 7,59 (1H ; d ; 9,6)                      | C2, C5, C8a       | H3                 |
| 4a                 | 111,4                             | -                                        | -                 | -                  |
| 5                  | 107,5                             | 6,84 (1H, s)                             | C4, C7, C8a       | -                  |
| 6                  | 144,1                             | -                                        | -                 | -                  |
| 7                  | 149,7                             | -                                        | -                 | -                  |
| 8                  | 103,2                             | 6,90 (1H, s)                             | C6, C4a, C8a      | -                  |
| 8a                 | 150,2                             | -                                        | -                 | -                  |
| 1'                 | 179,1                             | -                                        | -                 | -                  |
| 2'                 | 33,9                              | 2,33 (2H ; t ; 7,4)                      | C1', C3', C4'-25' | H3'                |
| 3'                 | 24,6                              | 1,61 (m)                                 | C1', C2', C4'-25' | H2', H4'           |
| 4'-25'             | 29,0-29,6                         | 1,24 (m)                                 | C27', C4'-25'     | H3', H26', H4'-25' |
| 26'                | 31,8                              | 1,96-2,09 (m)                            | C4'-25'           | H4'-25'            |
| 27'                | 22,6                              | 1,24 (m)                                 | -                 | H28'               |
| 28'                | 14,0                              | 0,86 (3H ; t ; 6,6)                      | C26', C27'        | H27'               |
| 6-OCH <sub>3</sub> | 56,3                              | 3,94 (3H, s)                             | C6                | -                  |

L'analyse des spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de **70**, semblables à ceux de la scopolétine montre que ce composé est un ester de la scopolétine. En effet, sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$ , les signaux des protons du noyau 6-méthoxy-coumarine résonnent dans les champs faibles entre 7,59 et 3,94 ppm, tandis que ceux de la chaîne alkyle sont visibles entre 2,33 et 0,86 ppm. Sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$ , le carbonyle de la fonction ester résonne à  $\delta$  179,1, les carbones du noyau 6-méthoxy-coumarine sont visibles entre 161,5 et 56,3 ppm. Par ailleurs, les carbones de la chaîne alkyle s'observent entre  $\delta$  33,9 et 14,0.

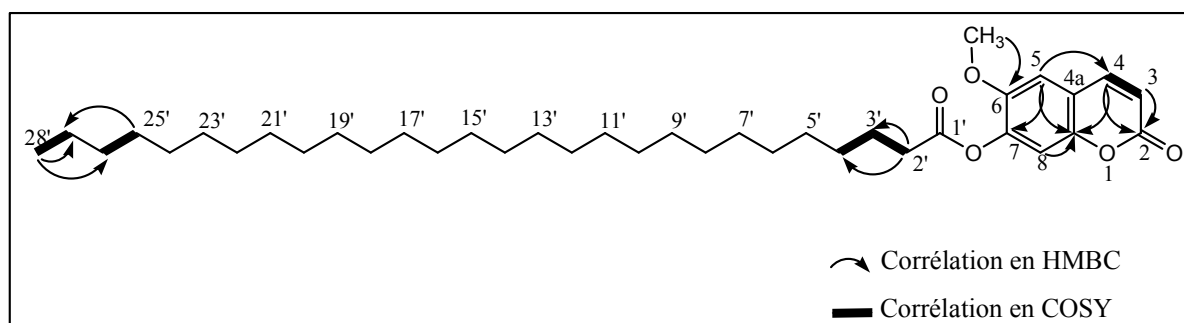


**Figure I. 3.3.4.3b : Fragments en APCI/MS/MS du composé 70**

Le spectre de masse APCI de **70** réalisé en modes positif et négatif est en accord avec cette hypothèse structurale. Une analyse minutieuse de ce dernier a permis de proposer la formule brute  $\text{C}_{38}\text{H}_{62}\text{O}_5$  pour ce composé, correspondant à une masse moléculaire de 598 g/mol et à un indice d'insaturation de huit. En mode positif, le fragment d'ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  193 correspond à la scopolétine ( $M=192$  g/mol), tandis que celui à  $m/z$  425 est attribuable à la chaîne latérale ester. La fragmentation en APCI/MS/MS en mode négatif de cet ion à  $m/z$  425 donne une succession de pics correspondant à des pertes successives de groupements méthylènes par la chaîne latérale. En effet, ce fragment correspond à celui de l'acide octacosanoïque ( $M=424$  g/mol) qui résulte de la perte de la portion 6-méthoxy-coumarine par la molécule **70**.

L'étude structurale du composé **70** a été achevée par l'analyse des spectres bidimensionnels COSY et HMBC. Quelques corrélations importantes relevées sur ces spectres confirmant la structure proposée sont indiquées sur la figure I.3.3.4.3c.

Cette molécule de type ester coumarine est décrite pour la première fois. Il s'agit d'une structure nouvelle.



**Figure I.3.3.4.3c : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé 70**

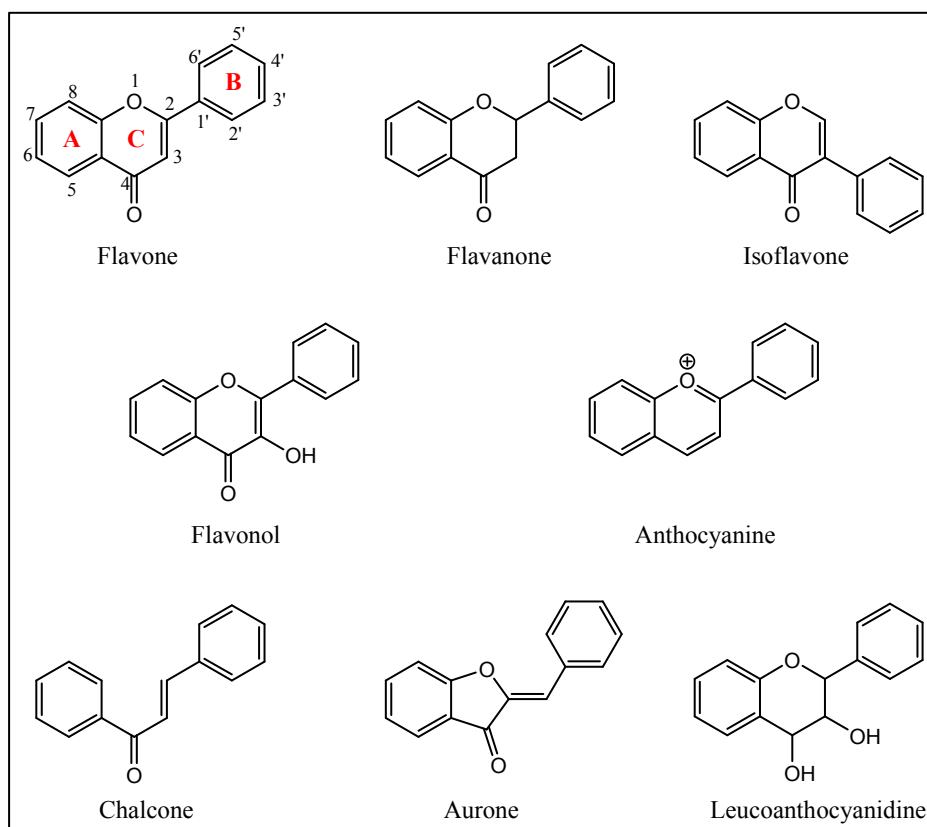
### 3.3.5. Caractérisation des flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un vaste ensemble de composés phénoliques formés d'un noyau phényl benzo- $\gamma$ -pyrone (deux cycles benzéniques notés A et B reliés par un hétérocycle pyranne ou pyrone noté C)<sup>248,249</sup>. Leur classification est fonction du degré d'oxydation du noyau pyranique central qui est ouvert chez les chalcones ou recyclisé en un motif furanique chez les aurones (Figure I.3.3.5).

Dans notre étude, nous avons isolé et caractérisé des flavones et des flavonols d'où l'intérêt de donner quelques caractéristiques physiques et chimiques de ces composés.

#### 3.3.5.1. Caractérisation chimique

Les flavonoïdes sous formes hétérosides sont généralement hydrosolubles et solubles dans les alcools. Ils peuvent être extraits, le plus souvent à chaud par de l'acétone ou par des alcools (éthanol, méthanol) additionnés d'eau. Les génines sont pour la plupart solubles dans les solvants organiques apolaires. Lorsqu'elles ont au moins un groupement phénolique libre, elles se solubilisent dans les solutions d'hydroxydes alcalins. La séparation et la purification des flavonoïdes se fait par les techniques chromatographiques habituelles, à savoir, la chromatographie sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup>, sur cellulose, sur polyamide, la CLHP en



**Figure I.3.3.5 : Quelques classes de flavonoïdes**

<sup>248</sup> Morand C, Crespy V, Manach C, Besson C, Demigne C, Remesy C. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **1998**, 275, 212-219.

<sup>249</sup> Kühnau J. The flavonoids: A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.*, **1976**, 24, 117-191.

phases C<sub>8</sub> ou C<sub>18</sub>, etc.

Pour les caractériser, on utilise des réactions colorées qui permettent de mettre en évidence aussi bien les génines que les hétérosides. En effet, les flavonoïdes répondent positivement au test de pulvérisation au chlorure ferrique, à l'anisaldéhyde, à l'acide sulfanilique diazoté ou d'autres réactifs généraux des composés phénoliques. Des réactions plus spécifiques sont également utilisées ; on peut citer entre autre la réaction de la cyanidine (Test de Shinoda) avec la poudre de magnésium en milieu chlorhydrique (flavanones et dihydroflavonols) ou avec le zinc dans le même milieu (quasiment toutes les classes de flavonoïdes). On peut également utiliser l'observation à la lumière ultraviolette avant et après pulvérisation de trichlorure d'aluminium, avant et après exposition aux vapeurs d'ammoniac : la nature et les changements des fluorescences observées donnent des renseignements sur le type de flavonoïde présent. Les chalcones et aurones sont directement visibles sur les CCM ; en présence de vapeurs d'ammoniac les taches passent successivement à l'orange et au rouge. Les flavonoïdes sont aussi révélées après pulvérisation d'une solution à 1% de l'ester du 2-aminoéthanol et de l'acide diphénylborique suivie de l'examen en lumière ultraviolette puis dans le visible. La sensibilité de cette réaction est améliorée en pulvérisant en plus une solution méthanolique à 5% de polyéthylèneglycol 400.

### 3.3.5.2. Caractérisation spectrale

#### 3.3.5.2.1. Spectroscopie UV

La spectroscopie UV est une méthode couramment utilisée dans l'élucidation des structures des flavonoïdes. Les spectres de ces molécules enregistrés successivement en milieu neutre (méthanol), en présence de bases (acétate de sodium, hydroxyde de sodium), d'acide de Lewis (trichlorure d'aluminium) ou d'acide borique, fournissent des indications importantes sur le type de squelette, la nature et la position des substituants.

La plupart des flavonoïdes étalent sur leurs spectres UV deux bandes d'absorption maximales, l'une entre 240-295 nm (bande II), caractérisant le système benzoyle du cycle A et l'autre entre 300-500 nm (bande I), caractérisant le système cinnamoyle du cycle B. Les intensités de ces bandes dépendent du degré de conjugaison de la structure.

#### 3.3.5.2.2. Spectroscopie IR

Les spectres infrarouges fournissent des informations sur les groupements fonctionnels présents dans une molécule lorsqu'on examine leurs fréquences de vibration caractéristiques. L'information capitale qui ressort de cette technique pour l'étude des flavonoïdes est la détection des groupements hydroxyles et carbonyles. En effet, la plupart des flavones hydroxylés, des isoflavones, des chalcones ou dihydrochalcones ont présenté une large bande d'absorption entre 3200 et 3600 cm<sup>-1</sup> due à la présence d'un groupement dihydroxyle. De plus une bande intense d'absorption caractéristique des groupements carbonyles chez les flavonoïdes est observée autour de 1680 cm<sup>-1</sup> et diminue jusqu'à 1620 cm<sup>-1</sup>, lorsque le groupement hydroxyle est chélaté avec le groupement C=O. A partir du spectre IR des

flavonoïdes, une bande d'absorption est observée autour de  $1600\text{ cm}^{-1}$  caractéristique des doubles liaisons aromatiques.

#### 3.3.5.2.3. Spectrométrie de masse (SM)

La spectrométrie de masse est une méthode indispensable pour la détermination des structures des flavonoïdes. Elle permet de déterminer la masse moléculaire et renseigne sur la distribution des substituants au niveau des cycles A et B. La fragmentation en SMIE obéit généralement à deux voies, les fragments les plus importants sont ceux issus de la rétro Diels-Alder (Figure I.3.3.3.2).

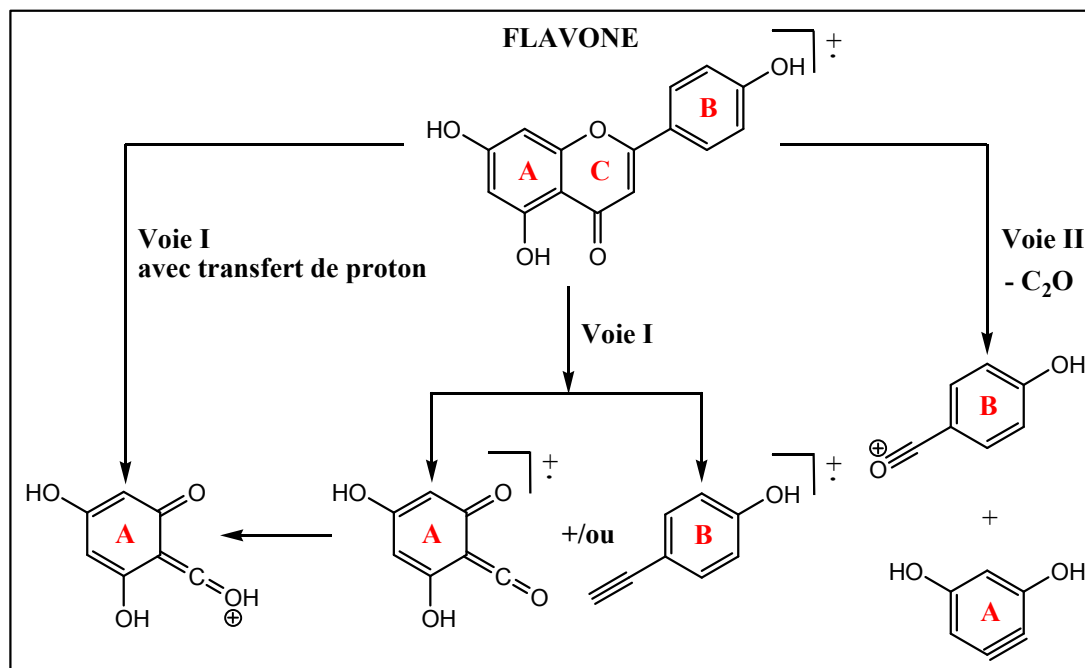


Figure I.3.3.3.2 : Fragmentation par rétro Diels-Alder des flavones

#### 3.3.5.2.4. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

La RMN permet de connaître le type de squelette de flavonoïde, par identification des protons des cycles A, B, C avec leur constante de couplage et d'identifier ceux des groupes hydroxyles et méthoxyles.

Chez les flavones, les protons en positions 2 et 3 du cycle C sont très caractéristiques. En effet, ceux en position 2 sont visibles entre 5.0 et 5.5 ppm, tandis que ceux en position 3 sont observables entre 6.5 et 6.8 ppm. Les protons du cycle B sont visibles entre 6.5 et 8 ppm avec des constantes de couplage variables selon la position des protons les uns par rapport aux autres. Par ailleurs, ceux du cycle A apparaissent entre 6 et 6.5 ppm, généralement blindés par les groupements hydroxyles (en positions 5 et 7) en ortho. Les protons des groupements hydroxyles sont visibles entre 10 et 14 ppm.

La RMN du  $^{13}\text{C}$  permet de confirmer le squelette de base assigné aux flavonoïdes (flavone, isoflavone, flavanone, isoflavanone, chalcone), d'identifier les positions des substituants sur les cycles A et B. Elle permet également de distinguer les flavonoïdes ortho hydroxylées de celles

méta hydroxylées. En effet, les deux carbones des premiers apparaissent entre 141 et 149 ppm en deux pics presque accolés, alors que ceux de leurs homologues se trouvent entre 151 et 165 ppm<sup>250</sup>. De plus le carbonyle C-4 est visible entre 176 et 183 ppm.

### 3.3.6. Détermination structurale des flavonoïdes

#### 3.3.6.1. Analyse structurale de la molécule 35 (Quercétine)

Le composé **35** a été isolé sous forme de poudre jaune à partir de la fraction F1 de l'extrait à l'acétate d'éthyle des racines. Il répond positivement au test au chlorure ferrique, caractéristique des hydroxyles phénoliques et au test de Shinoda (coloration rouge avec l'acide chlorhydrique concentré), caractéristique des flavonoïdes et a un point de fusion de 315-317°C. Sa formule brute C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub> a été déduite de son spectre de masse ESIHR réalisé en mode positif qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+H]<sup>+</sup> à *m/z* 303,0503 (calculé 303,0505).

Le spectre UV de **35**, semblable à celui des flavonoïdes<sup>251</sup> de type flavonol<sup>252</sup>, présente deux bandes caractéristiques à λ<sub>1</sub>=366 nm (système cinnamoyle du cycle B) et à λ<sub>2</sub>=255 nm (système benzoyle du cycle A).

L'ensemble des données spectrales en concordance avec celles de la littérature<sup>251,253,254,255</sup> nous permettent d'identifier le composé **35** à la **quercétine**.

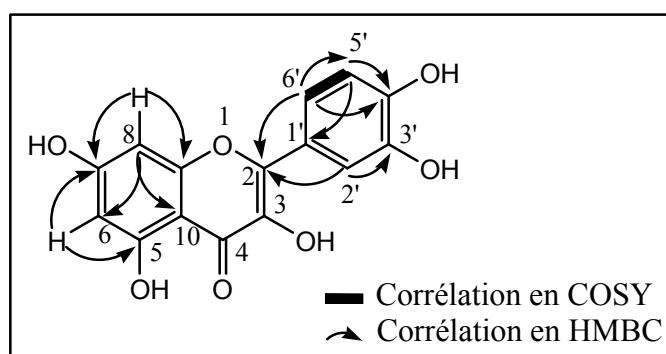


Figure I.3.3.6 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC de la quercétine

#### 3.3.6.2. Analyse structurale de la molécule 36 (Vitexine)

<sup>250</sup> Grayer RJ. Plant phenolics. In *Flavonoids*, Ed. Harborne JB, **1989**, San Diego, Academic Press, 283-323.

<sup>251</sup> Huang L, Cao Y, Chen G. Purification of quercetin in *Anoectochilu roxburghii* (wall) Linl using UMAE by high-speed counter-current chromatography and subsequent structure identification. *Separation and Purification Technology*, **2008**, 64, 101-107.

<sup>252</sup> Gonnet JF, Kozjek F, Favre-Bonvin J. Les flavonols d'*Asclepias syriaca*. *Phytochemistry*, **1973**, 12, 2773-2775.

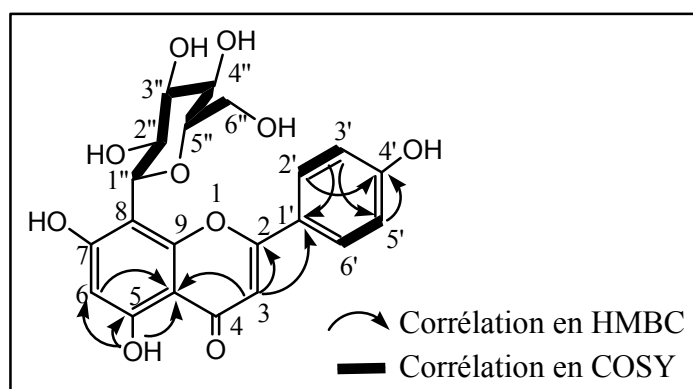
<sup>253</sup> Kang J, Li Z, Wu T, Jensen GS, Schauss AG, Wu X. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). *Food Chemistry*, **2010**, 122, 610-617.

<sup>254</sup> Awaad AS, Maitland DJ, Soliman GA. Hepatoprotective activity of *Schouwia thebica* Webb. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2006**, 16, 10, 4624-4628.

<sup>255</sup> Wawer I, Zielinska A. <sup>13</sup>C-CP-MAS-NMR studies of flavonoids. I. Solid-state conformation of quercetin, quercetin 5'-sulphonic acid and some simple polyphenols. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, **1997**, 10, 33-38.

Le composé **36** a été isolé de la fraction F2 de l'extrait à l'acétate d'éthyle des racines. C'est un solide jaune qui a un point de fusion de 260°C. Il répond positivement au test de Shinoda, ce qui est en accord avec son spectre UV qui présente deux maxima d'absorption à 268 (caractéristique du système benzoyle du cycle A) et 337 nm (système cinnamoyle du cycle B)<sup>256</sup>, ce dernier étant caractéristique d'une flavone. L'analyse de son spectre de masse ESIHR réalisé en mode positif permet de lui attribuer la formule brute C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub> à partir du pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+H]<sup>+</sup> à *m/z* 433,1134 (calculé 433,1135).

La concordance de ses données spectrales en accord avec celles de la littérature<sup>253,257,258,259</sup> nous permet d'identifier le composé **36** à la **vitexine**.



**Figure I.3.3.6.2 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC de la vitexine**

### 3.3.7. Dérivés de l'acide benzoïque

#### 3.3.7.1. Analyse structurale de la molécule **37** (Acide gallique)

Isolé à partir de la fraction F1 de l'extrait à l'acétate d'éthyle des racines, le composé **37** se présente sous forme d'un solide blanc. Il a un point de fusion de 211°C. Sa formule brute C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub> est compatible avec la valeur à *m/z* 169 [M-H]<sup>-</sup>.

Le spectre IR de **37** présente une large bande de groupements hydroxyles entre 3000 et 3420 cm<sup>-1</sup>, une forte bande de groupement carbonyle en forme de « bec de canard » à 1698 cm<sup>-1</sup>, des bandes de groupements éthyléniques à 1613 et 1541 cm<sup>-1</sup> et de fortes bandes de groupements C-O sont visibles à 1322, 1266, 1197 et 1029 cm<sup>-1</sup>.

<sup>256</sup> Li H, Cao D, Yi J, Cao J, Jiang W. Identification of the flavonoids in mungbean (*Phaseolus radiatus* L.) soup and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, **2012**, 135, 2942-2946.

<sup>257</sup> Leong ACN, Kinjo Y, Tako M, Iwasaki H, Oku H, Tamaki H. Flavonoid glycosides in the shoot system of *Okinawa Taumu* (*Colocasia esculenta* S.). *Food Chemistry*, **2010**, 119, 2, 630-635.

<sup>258</sup> Vázquez E, Martínez EM, Cogordán JA, Delgado G. Triterpenes, phenols, and other constituents from the leaves of *Ochroma pyramidale* (Balsa Wood, Bombacaceae). Preferred conformations of 8-C-β-D-Glucopyranosyl-apigenin (vitexin). *Rev. Soc. Quím. Méx.*, **2001**, 45, 4, 254-258.

<sup>259</sup> Tillequin F, Paris M, Jacquemin H, Paris RR. Flavonoïdes de *Piper marginatum*. Isolement d'un nouvel hétéroside flavonique : le marginatoside. *Planta Med.*, **1978**, 33, 46-52.

Le composé **37** a été identifié à l'acide **3, 4, 5-trihydroxybenzoïque** ou **acide gallique** par comparaison de ses données spectrales avec celles de la littérature<sup>255,260</sup>.

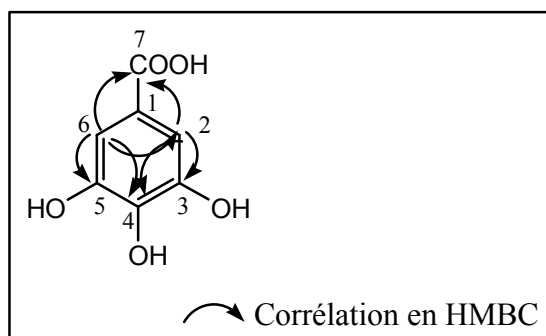


Figure I.3.3.7.1 : Quelques corrélations importantes en HMBC de l'acide gallique

### 3.3.7.2. Analyse structurale de la molécule **8** (Méthyl gallate)

Le composé **8** qui se présente sous forme d'aiguilles incolores a été isolé à partir de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles. Il a un point de fusion de 188-190°C. Sa formule brute  $C_8H_8O_5$  a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion moléculaire  $[M]^+$  à  $m/z$  184,8652 (calculé 184,8650). Le composé **8** présente des caractéristiques spectrales infrarouge et RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  semblables à l'acide gallique à la différence qu'il présente un groupement méthoxyle de plus que ce dernier.

La concordance de ses données spectrales avec celles de la littérature<sup>261,262,263</sup> nous a permis de l'identifier au **méthyl-3, 4, 5-trihydroxybenzoate** ou **méthyl gallate**.

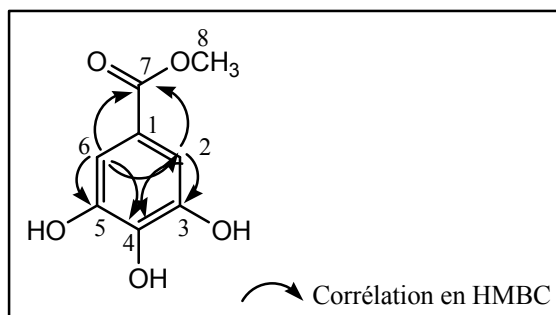


Figure I.3.3.7.2 : Quelques corrélations importantes en HMBC du méthyl gallate

<sup>260</sup> Latha RCR, Daisy P. Insulin-secretagogue, antihyperlipidemic and other protective effects of gallic acid isolated from *Terminalia bellerica* Roxb. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, **2011**, 189, 112-118.

<sup>261</sup> Banday JA, Mir FA, Farooq S, Qurishi MA, Koul S, Razdan TK. Salicylic acid and methyl gallate from the roots of *Conyza canadensis*. *IJCAS*, **2012**, 3, 2, 1305-1308.

<sup>262</sup> Teke GN, Lunga PK, Wabo HK, Kuiate J-R, Vilarem G, Giacinti G, Kikuchi H, Oshima Y. Antimicrobial and antioxidant properties of methanol extract, fractions and compounds from the stem bark of *Entada abyssinica* Stend ex A. Satabie. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **2011**, 11-57.

<sup>263</sup> Hayat S, Atta-ur-Rahman, Choudhary MI, Khan KM, Abbaskhan A. Two new cinnamic acid esters from marine brown alga *Spatoglossum variabile*. *Chem. Pharm. Bull.*, **2002**, 50, 9, 1297-1299.

### 3.3.7.3. Analyse structurale de la molécule 13 (acide 2,3-dihydroxybenzoïque)

Le composé **13** a été isolé sous forme d'une poudre amorphe de couleur blanche à partir de la fraction F2 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des écorces de tige. Il fond à 203-205°C. Sa formule brute est déduite comme étant  $C_7H_6O_4$  sur la base de l'ion pseudo-moléculaire observé à  $m/z$  153,0187  $[M-H]^-$  (calculé 153,0188) en ESIHR réalisé en mode négatif.

L'analyse des spectres infrarouge et de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  du composé **13** a permis de l'identifier à l'**acide-2,3-dihydroxybenzoïque**.

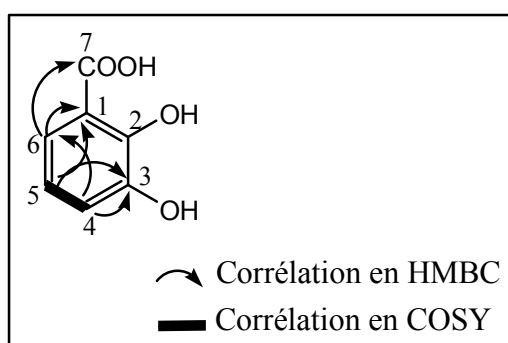


Figure I.3.3.7.3 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC de l'acide-2,3-dihydroxybenzoïque

### 3.3.8. Autres composés phénoliques

#### 3.3.8.1. Analyse structurale de la molécule 7 (Bergénine)

La molécule **7** a été isolée sous forme de cristaux blancs en grains à partir des extraits à l'acétate d'éthyle des feuilles, des racines et des fruits. Elle est optiquement active ( $[\alpha]_D = -39,1$ ) et a un point de fusion de 236-238°C. Son spectre de masse ESIHR permet de déduire sa formule brute  $C_{14}H_{16}O_9$  d'après l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  329,0873 (calculé 329,0873).

La concordance des données spectrales infrarouge, masse, RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  ainsi que les valeurs du point de fusion et du pouvoir rotatoire obtenues, comparativement à celles de la littérature<sup>264,265,266,267</sup>, nous permettent de suggérer la structure du composé **7** comme étant celle de la **bergénine**. Elle a été isolée pour la première fois en 1880 par Garreau et Machelart<sup>268</sup>, des rhizomes de trois *Bergeniasp.* C'est un composé fréquemment rencontré chez les *Mallotus*. Par ailleurs, c'est la première fois qu'il est isolé de *Mallotus oppositifolius*.

<sup>264</sup> Silva SL, Oliveira VG, Yano T, Nunomura R. Antimicrobial activity of bergenin from *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. *Acta amazonica*, **2009**, 39, 1, 187-192.

<sup>265</sup> De Abreu HA, Lago IAS, Souza GP, Piló-Veloso D, Duarte HA, AlcântaraAFC. Antioxidant activity of (+)-bergenin-a phytoconstituent isolated from the bark of *Sacoglottis uchi* (Humireaceae). *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, 6, 2713-2718.

<sup>266</sup> Wang G-C, Liang J-P, Wang Y, Li Q, Ye W-C. Chemical constituents from *Flueggea virosa*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **2008**, 6, 4, 251-253.

<sup>267</sup> Saijo R, Nonaka G-I, Nishioka I. Gallic acid esters of bergenin and norbergenin from *Mallotus japonicas*. *Phytochemistry*, **1990**, 29, 1, 267-270.

<sup>268</sup> Franz G, Grün M. Chemistry, occurrence and biosynthesis of C-glycosyl compounds in plants. *Planta Med.*, **1983**, 47, 131-140.

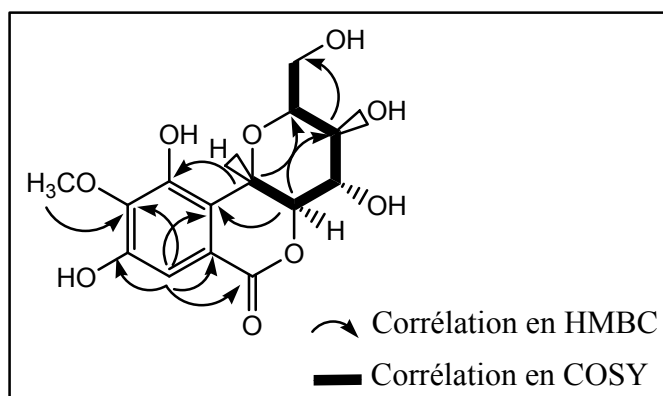


Figure I.3.3.8.1 : Corrélations importantes en COSY et en HMBC de la bergénine

### 3.3.8.2. Analyse structurale de la molécule 38 (Juglone)

Ce composé a été isolé sous forme d'un solide jaune-orangé à partir de la fraction F2 de l'extrait à l'acétate d'éthyle des racines. Sa formule brute C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> a été déduite de son spectre de masse ESIHR réalisé en mode négatif qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M-H]<sup>-</sup> à *m/z* 173,0237 (calculé 173,0239). Le spectre d'absorption UV montre deux maxima à 214 nm et 250 nm suggérant la présence de fragment phénolique dans la molécule.

Sur la base de ses données spectrales, en accord avec les données de la littérature<sup>269,270,271,272</sup> ce composé a été identifié à la **5-hydroxy-1, 4-naphtoquinone** encore appelée **juglone**.

La juglone est une molécule fréquemment rencontrée chez les *Juglandaceae*, particulièrement dans les feuilles, les tiges, les écorces de tige et les racines de *Juglans regia*, *J. nigra* et *J. cinerea*<sup>269</sup>. C'est un métabolite phytotoxique isolé de nombreux champignons tels que *Mycosphaerella fijiensis*<sup>273</sup>, *Juglans regia*<sup>274</sup> et *Wangiella dermatitidis*<sup>275</sup>.

<sup>269</sup> Montenegro RC, Araújo AJ, Molina MT, Filho JDBM, Rocha DD, López-Montero E, Goulart MOF, Bento ES, Alves APNN, Pessoa C, Moraes MO, Costa-Lotufo LV. Cytotoxic activity of naphthoquinones with special emphasis on juglone and its 5-O-methyl derivative. *Chemico-Biological Interactions*, **2010**, 184, 439-448.

<sup>270</sup> Bruce BF, Donald CW, Maxwell CJ, Geoffrey FI, Peter GG, David KP. Carbon-13 N.M.R Studies of 1,4-Naphthoquinones and 9,10-Anthraquinones. *Aust. J. Chem.*, **1979**, 32, 769-77.

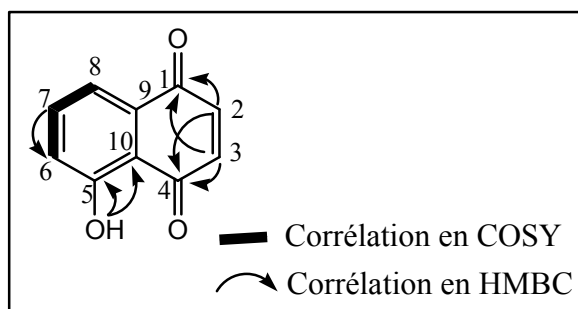
<sup>271</sup> Masaaki K, Yoshihiro T, Kazuo T, Naoki T. Carbon-13 NMR spectra of juglone, naphthazarin and their derivatives. *Tetrahedron Letters*, **1976**, N°8, 619-620.

<sup>272</sup> Moore RE, Scheuer PJ. Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Substituted Naphthoquinones. Influence of Substituents on Tautomerism, Anisotropy, and Stereochemistry in the Naphthazarin System. *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, 31, 3272-3283.

<sup>273</sup> Stierle AA, Upadhyay R, Hershenhorn J, Strobel G, Molina G. The phytotoxins of *Mycosphaerella fijiensis*, the causative agent of Black Sigatoka disease of bananas and plantains. *Experientia*, **1991**, 47, 853-859.

<sup>274</sup> Müller W-U, Leistner E. Metabolic relation between naphthalene derivatives in *Juglans*. *Phytochem*, **1978**, 17, 1735-1738.

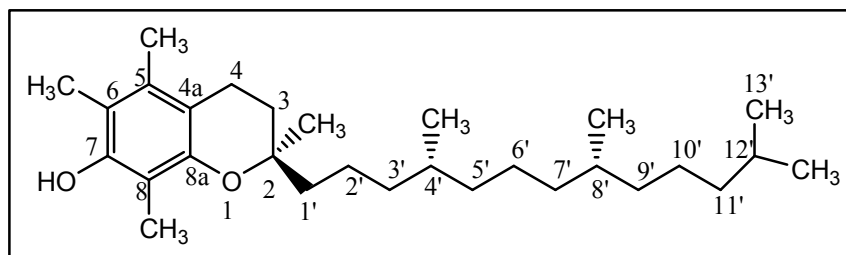
<sup>275</sup> Wheeler MH, Stipanovic RD. Melanin biosynthesis and the metabolism of flaviolin and 2-hydroxyjuglone in *Wangiella dermatitidis*. *Arch Microbiol*, **1985**, 142, 234-241.



**Figure I.3.3.8.2 : Corrélacions en COSY et en HMBC de la juglone**

### 3.3.8.3. Analyse structurale de la molécule **9** : (*R*)-2, 5, 6, 8-tétraméthyl-2-((4*R*, 8*R*)-4, 8, 12-triméthyltridécy) chroman-7-ol

Le composé **9** obtenu sous forme d'une huile orange correspond à un composé optiquement actif ( $[\alpha]_D^{22} = -65$ ). Sa formule brute  $C_{29}H_{50}O_2$  a été déduite de son spectre ESIHR qui montre le pic de l'ion moléculaire  $[M]^+$  à  $m/z$  430,3802 (calculé 430,3811). La présence d'un groupement hydroxyle phénolique dans la structure de **9** est signalée par la bande d'absorption OH à  $3477\text{ cm}^{-1}$  et par les bandes à  $1461$  et  $1418\text{ cm}^{-1}$  attribuables à un cycle aromatique.



**Figure I.3.3.8.3a : Structure du composé **9****

L'analyse des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  permet de mettre en évidence huit groupements méthyles ( $\text{CH}_3$ ) dont trois portés par le noyau aromatique sont visibles sur le spectre  $^{13}\text{C}$ , à champs forts, à 11,2 (5- $\text{CH}_3$ ), 11,7 (8- $\text{CH}_3$ ) et 12,2 ppm (6- $\text{CH}_3$ ), onze méthylènes ( $\text{CH}_2$ ), trois groupements méthynes ( $\text{CH}$ ) et sept carbones quaternaires ( $\text{C}$ ) dont six aromatiques.

La structure de **9** (Figure I.3.3.8.3a) a été établie grâce à l'analyse des spectres HMBC et COSY. En effet, le spectre HMBC montre des corrélacions entre le triplet à  $\delta$  2,60 (H-4) et les carbones à  $\delta$  31,5 (C-3), 117,3 (C-4a), 121,0 (C-5) et 145,5 (C-8a) ; entre les protons à  $\delta$  2,11 (5- $\text{CH}_3$  et 8- $\text{CH}_3$ ) et les carbones à  $\delta$  117,3 (C-4a), 121,0 (C-5), 122,6 (C-6), 144,5 (C-7) et 145,5 (C-8a). Par ailleurs, des corrélacions importantes existent entre les protons à  $\delta$  2,17 (6- $\text{CH}_3$ ) et les carbones à  $\delta$  121,0 (C-5), 122,6 (C-6) et 144,5 (C-7). Sur le spectre COSY, une corrélacion est observée entre les protons à 2,60 ppm (H-4) et le multiplet à 1,75 ppm (H-3). Les autres corrélacions sont indiquées sur la Figure I.3.3.8.3b.

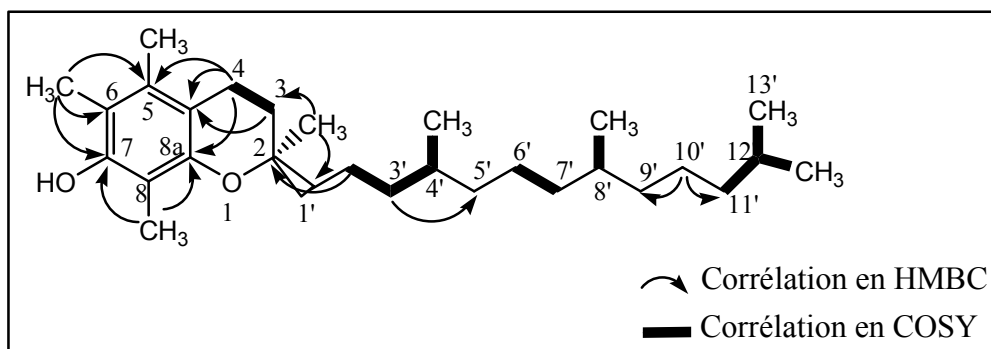


Figure I.3.3.8.3b : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé 9

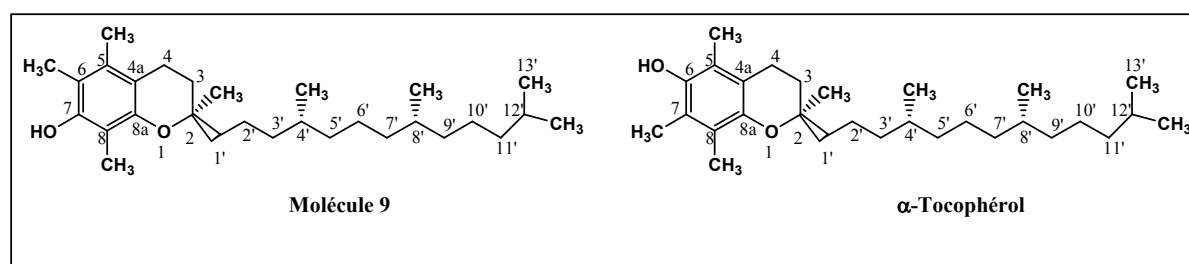
Tableau I.3.3.8.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé 9

| Atome               | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm)<br>m (J, Hz) | HMBC                              | COSY                             | NOESY                  |
|---------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------|
| 2                   | 74,5                              | -                                           | -                                 | -                                | -                      |
| 3                   | 31,5                              | 1.75 (t ; 6,8)                              | C4a, C1', C2-CH <sub>3</sub> , C4 | H4                               | H4, H <sub>5</sub> -Me |
| 4                   | 20,7                              | 2.60 (t ; 6,8)                              | C8a, C5, C4a, C3                  | H3                               | H3, H <sub>5</sub> -Me |
| 4a                  | 117,3                             | -                                           | -                                 | -                                | -                      |
| 5                   | 121,0                             | -                                           | -                                 | -                                | -                      |
| 6                   | 122,6                             | -                                           | -                                 | -                                | -                      |
| 7                   | 144,5                             | -                                           | -                                 | -                                | -                      |
| 8                   | 118,4                             | -                                           | -                                 | -                                | -                      |
| 8a                  | 145,5                             | -                                           | -                                 | -                                | -                      |
| 1'                  | 39,8 <sup>#</sup>                 | 1.49 (t ; 6,4)                              | C2 / C13', C12'-CH <sub>3</sub>   | -                                | -                      |
| 2'                  | 24,8                              | 1,43 (m)                                    | C2, C1'                           | H3'                              | -                      |
| 3'                  | 21,0                              | 0.84 (m)                                    | C1', C5'                          | H2', H4'                         | -                      |
| 4'                  | 32,8 <sup>**</sup>                | 1.38 (m)                                    | -                                 | H3'                              | -                      |
| 5'                  | 37,4 <sup>*</sup>                 | 1,06 (m)                                    | -                                 | -                                | -                      |
| 6'                  | 37,4 <sup>*</sup>                 |                                             | -                                 | H7'                              | -                      |
| 7'                  | 37,2                              |                                             | -                                 | H6'                              | -                      |
| 8'                  | 32,7 <sup>**</sup>                | 1.38 (m)                                    | -                                 | -                                | -                      |
| 9'                  | 39,3                              | 1,26 (m)                                    | -                                 | -                                | -                      |
| 10'                 | 24,4                              | 1.43 (m)                                    | C11', C9'                         | -                                | -                      |
| 11'                 | 39,8 <sup>#</sup>                 | 1,51 (m)                                    | C2 / C13', C12'-CH <sub>3</sub>   | -                                | -                      |
| 12'                 | 27,9                              | 0,84 (m)                                    | C11'                              | H13', H11', H12'-CH <sub>3</sub> | -                      |
| 13'                 | 22,7                              | 0.86 (d ; 6,8)                              | -                                 | H12'                             | -                      |
| 2-CH <sub>3</sub>   | 23,8                              | 1,22 (s)                                    | C2, C3, C1'                       | -                                | -                      |
| 5-CH <sub>3</sub>   | 11,2                              | 2,11 (s)                                    | C8a, C7, C6, C5, C4a              | -                                | H3, H4                 |
| 6-CH <sub>3</sub>   | 12,2                              | 2,17 (s)                                    | C5, C6, C7                        | -                                | -                      |
| 8-CH <sub>3</sub>   | 11,7                              | 2.12 (s)                                    | C8a, C7, C6, C5, C4a              | -                                | -                      |
| 4'-CH <sub>3</sub>  | 19,7                              | 0.86 (d ; 6,8)                              | -                                 | H4'                              | -                      |
| 8'-CH <sub>3</sub>  | 19,6                              | 0.87 (d ; 6,8)                              | -                                 | H8'                              | -                      |
| 12'-CH <sub>3</sub> | 22,6                              | 0.86 (d ; 6,8)                              | -                                 | H12'                             | -                      |

\* ; \*\* ; # Carbones interchangeables

Ces connectivités mettent en évidence la présence d'une unité chromane avec le noyau benzénique tétra-substitué comme indiqué dans la structure de 9 (Figure I.3.3.8.3a). En outre,

sur les spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , on remarque la présence de déplacements chimiques caractéristiques d'un groupement phytyl substituant le noyau chromane à travers les résonances à  $\delta_{\text{H}}$  0,86 (d ; 6,8 Hz) correspondant aux protons 4'-CH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{C}}$  19,7), 8'-CH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{C}}$  19,6), 12'-CH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{C}}$  22,6) et C-13' ( $\delta_{\text{C}}$  22,7). La position de ce substituant phytyl sur le noyau chromane est précisée grâce à l'analyse du spectre HMBC qui montre d'une part, une connectivité entre les protons à  $\delta$  1,22 (2-CH<sub>3</sub>) et les carbones à  $\delta$  31,5 (C-3), 39,8 (C-1') et 74,5 (C-2) et d'autre part une connectivité entre les protons à  $\delta$  1,43 (H-2') et le carbone à  $\delta$  74,5 (C-2), ce qui permet de placer ce groupement ainsi que le méthyle 2-CH<sub>3</sub> en position 2 comme indiquée sur la Figure I.3.3.8.3a. Ces différentes corrélations en RMN ainsi que la comparaison des données de RMN  $^{13}\text{C}$  avec celles de la littérature sur l' $\alpha$ -tocophérol et ses dérivés<sup>276,277</sup> permettent de suggérer que le composé **9** est un dérivé de l' $\alpha$ -tocophérol. La différence entre le composé **9** et l' $\alpha$ -tocophérol réside en la position du groupement hydroxyle en C-7 chez le composé **9** alors qu'il est en C-6 chez l' $\alpha$ -tocophérol (Figure I.3.3.8.3c). Les configurations absolues des carbones C-2, C-4' et C-8' ont été attribuées sur la base de considérations biosynthétiques en accord avec les données bibliographiques sur l' $\alpha$ -tocophérol<sup>278</sup>.



**Figure I.3.3.8.3c : Structures du composé **9** et de l' $\alpha$ -tocophérol**

C'est la première fois que ce composé est décrit ; il s'agit du **(R)-2, 5, 6, 8-tétraméthyl-2-((4R, 8R)-4, 8, 12-triméthyltridécyl) chroman-7-ol**.

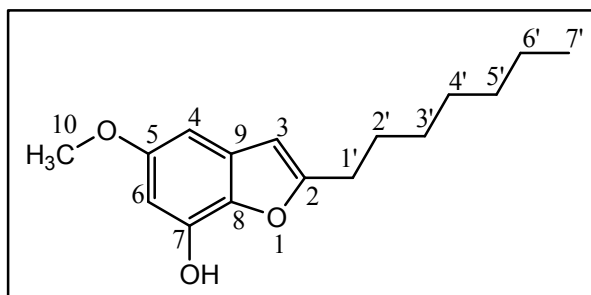
#### 3.3.8.4. Analyse structurale de la molécule **12** (2-heptyl-5-méthoxy-benzofuran-7-ol)

La molécule **12** a été isolée sous forme d'une cire jaune à partir de la fraction F2 des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique des écorces de tige. Sa formule brute C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub> a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+Na]<sup>+</sup> à  $m/z$  285,1084.

<sup>276</sup> Chen C-R, Chao L-H, Pan M-H, Liao Y-W, C-I. Tocopherols and Triterpenoids from *Sida acuta*. *J. Chin. Chem. Soc.*, **2007**, 54, 1, 41-45.

<sup>277</sup> Lee CK, Chang MH. The chemical constituents from the heartwood of *Eucalyptus citriodora*. *J. Chin. Chem. Soc.*, **2000**, 47, 3, 555-560.

<sup>278</sup> Ekiel IH, L. Hughes, G.W. Burton P.A. Jovall, K.U. Ingold ICP. Smith. "Structure and dynamics of alpha-tocopherol in model membranes and in solution: a broad-line and high-resolution NMR study". *Biochemistry*, **1988**, 27: 1432-1440.



**Figure I.3.3.8.4a : Structure du composé 12**

Sur le spectre infrarouge de **12** on note la présence d'un groupement hydroxyle à  $3397\text{ cm}^{-1}$  et de groupements éthyléniques aromatiques à  $1738$  et  $1714\text{ cm}^{-1}$ . Ces données sont en accord avec celles du spectre UV qui montre des maxima à  $239$ ,  $277$ ,  $290$  et  $324\text{ nm}$  indiquant la présence de fragment phénolique dans la structure de **12**. Les maxima à  $277$  et  $324\text{ nm}$  sont caractéristiques d'un noyau benzofurane<sup>279</sup>.

L'étude des spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (Tableau I.3.3.8.4) confirme cette structure de benzofurane.

**Tableau I.3.3.8.4 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule 12**

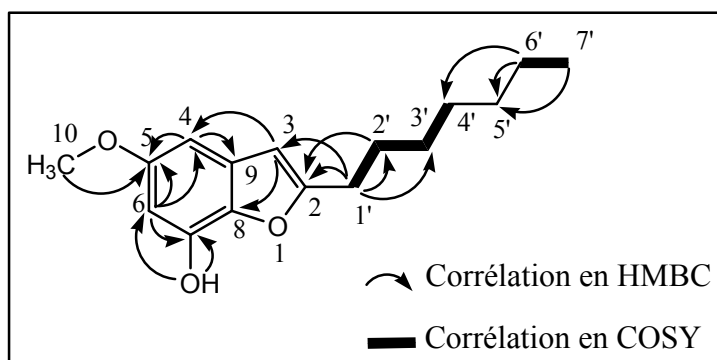
| Atome        | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m ( $J$ , Hz) | HMBC              | COSY                     | NOESY  |
|--------------|-----------------------------------|----------------------------------------------|-------------------|--------------------------|--------|
| <b>2</b>     | 158,0                             | -                                            | -                 | -                        | -      |
| <b>3</b>     | 103,8                             | 6,16 (s)                                     | C2, C4, C8, C1'   | -                        | -      |
| <b>4</b>     | 101,0                             | 6,30 (d ; 2,4)                               | C3, C5, C6, C9    | -                        | H10    |
| <b>5</b>     | 166,7                             | -                                            | -                 | -                        | -      |
| <b>6</b>     | 100,1                             | 6,45 (d ; 2,4)                               | C4, C5, C7        | -                        | H10    |
| <b>7</b>     | 163,6                             | -                                            | -                 | -                        | -      |
| <b>8</b>     | 139,4                             | -                                            | -                 | -                        | -      |
| <b>9</b>     | 99,9                              | -                                            | -                 | -                        | -      |
| <b>10</b>    | 55,6                              | 3,85 (s)                                     | C5                | -                        | H4, H6 |
| <b>1'</b>    | 33,2                              | 2,47 (t ; 7,6)                               | C2, C3, C2', C3'  | H2'                      | -      |
| <b>2'</b>    | 26,4                              | 1,68 (dt ; 7,6 ; 6,8)                        | C2, C1'           | H1', H3'                 | -      |
| <b>3'/4'</b> | 29,6                              | 1,24 (Brs)                                   | C3'/C4', C5', C6' | H2', H6',<br>H3'/H4'/H5' | -      |
| <b>5'</b>    | 31,1                              |                                              |                   |                          | -      |
| <b>6'</b>    | 22,3                              | 1,35 (2H ; m)                                | C4', C5'          | H7'                      | -      |
| <b>7'</b>    | 13,9                              | 0,90 (t ; 6,8)                               | C5', C6'          | H6'                      | -      |
| <b>7-OH</b>  | -                                 | 11,12 (s)                                    | C6, C7            | -                        | -      |

Sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$ , les protons à  $\delta$  6,45 (d ; 2,4 Hz ; H-6), 6,30 (d ; 2,4 Hz ; H-4) et 6,16 (s, H-3) sont attribuables au noyau benzofurane. Par ailleurs, le blindage des protons H-4 et H-6 qui couplent en méta ( $J=2,4\text{ Hz}$ ) indique qu'ils sont en position ortho de groupements oxygénés mis en évidence à travers les résonances à  $\delta$  11,12 (s, 7-OH) et 3,85 (s, H-10) attribuables respectivement à un hydroxyle et un méthoxyle. On note également sur ce spectre, la présence d'un groupement alkyle à travers les résonances à  $\delta$  2,47 (t ; 7,6 Hz ; H-1'), 1,68

<sup>279</sup> Hranjec M, Sović I, Ratkaj I, Pavlović G, Ilić N, Valjalo L, Pavelić K, Pavelić SK, Karminski-Zamola G. Antiproliferative potency of novel benzofuran-2-carboxamides on tumour cell lines: Cell death mechanisms and determination of crystal structure. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2013**, 59, 111-119.

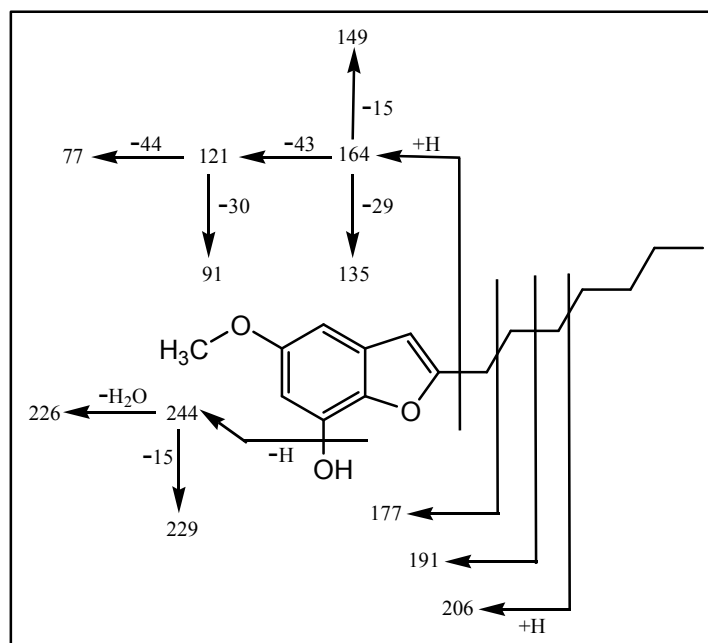
(dt ; 7,6 Hz ; 6,8 ; H-2'), 1,35 (m ; H-6'), 1,24 (Brs ; H-3'/H-4'/H-5') et 0,90 (t ; 6,8 Hz ; H-7'). Le spectre de RMN COSY indique une série de corrélations entre les protons de ce groupement alkyle permettant leur attribution (Figure I.3.3.8.4b). En effet, on note des connectivités entre les protons à  $\delta$  1,68 (H-2') et ceux à  $\delta$  2,47 (H-1') et 1,24 (H-3'/H-4'/H-5'), ces derniers corrélant avec ceux à  $\delta$  1,35 (H-6'). Les protons H-6' corrèlent également avec le triplet de méthyle à  $\delta$  0,90 (H-7').

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  est en accord avec cette attribution. En effet, les carbones du noyau benzofurane sont visibles à  $\delta$  166,7 (C-5), 163,6 (C-7), 158,0 (C-2), 139,4 (C-8), 103,8 (C-3), 101,0 (C-4), 100,1 (C-6) et 99,9 (C-9). Celui du groupement méthoxyle apparaît à  $\delta$  55,6 (C-10) tandis que ceux de la chaîne alkyle s'observent à  $\delta$  33,2 (C-1'), 26,4 (C-2'), 29,6 (C-3'/C-4'), 31,1 (C-5'), 22,3 (C-6') et 13,9 (C-7').



**Figure I.3.3.8.4b : Corrélations en COSY et en HMBC du composé 12**

La position sur le noyau benzofurane des différents substituants (hydroxyle, méthoxyle et alkyle) mis en évidence est indiquée par l'analyse du spectre de corrélation hétéronucléaire HMBC (Figure I.3.3.8.4b). En effet, les corrélations existant entre les protons à  $\delta$  2,47 (H-1') et les carbones C-2 et C-3 d'une part, et entre les protons à  $\delta$  1,68 (H-2') et le carbone C-2 d'autre part, permettent de positionner sans ambiguïté le groupement alkyle sur le carbone C-2. En outre, les protons du groupement méthoxyle ( $\delta_{\text{H}}$  3,85) ne montrent de connexion qu'avec le carbone C-5 du noyau benzofurane d'où sa situation sur ce dernier. Par ailleurs, la position du groupement hydroxyle en position 7 est soutenue par les corrélations qui existent entre le proton de ce groupement à  $\delta$  11,12 (7-OH) et les carbones C-6 et C-7 (Figure I.3.3.8.4b). La nature du groupement alkyle précédemment mis en évidence est précisée par l'analyse du spectre de masse d'impact électronique en accord avec la formule brute proposée et les spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ . En effet, sur le spectre GC-SM, le pic de base à  $m/z$  164 correspond à la perte d'une chaîne latérale alkyle saturée en  $\text{C}_7$ . Il s'agit d'un groupement n-heptyle. D'autres fragments confortant notre hypothèse structurale sont indiqués sur la Figure I.3.3.8.4c.



**Figure I.3.3.8.4c : Quelques fragments importants en SMIE du composé 12**

La convergence de l'ensemble de ces données spectrales permet d'établir la structure du composé **12** comme étant le **2-heptyl-5-méthoxy-benzofuran-7-ol** (Figure I.3.3.8.4a). Cette molécule est décrite pour la première fois; il s'agit d'une structure nouvelle.

### 3.3.9. Conclusion

- L'étude chimique des feuilles de *Mallotus oppositifolius* a permis d'isoler 22 molécules réparties en composés phénoliques, stéroïdiques, terpéniques, phtalate et ester gras. Parmi ces molécules, les composés **2**, **4**, **5**, **9**, **71** et **54** sont décrits pour la première fois. Les molécules **2**, **4** et **5** ont un squelette de type phloroglucinol, la molécule **9** est une analogue de l' $\alpha$ -tocophérol, forme active de la vitamine E tandis que les composés **71** et **54** sont des terpènes. En outre, nous n'avons pas pu établir la configuration précise *Z/E* du composé **54**.
- L'étude chimique des écorces de tiges de *M. oppositifolius* a permis d'isoler 20 molécules de natures chimiques diverses : composés phénoliques, esters d'acides gras, alcool gras, alcanone, composés terpéniques, des indanes et des stérols. Parmi ces composés, les deux indanes (composés **31** et **32**), le benzofurane **12** et l'alcanone **59** sont de structures nouvelles.
- L'étude chimique des racines de *M. oppositifolius* a permis d'isoler et de caractériser 8 molécules, toutes isolées pour la première fois de cette plante. Ce sont des composés phénoliques et des stérols. Outre la juglone et l'acide gallique, les composés phénoliques isolés sont des flavonoïdes et des coumarines. Par ailleurs, l'une des coumarines, la molécule **70** est nouvelle.
- De l'étude des fruits de *M. oppositifolius*, 3 composés phénoliques (bergénine, aspidinol B et méthylène bis-aspidinol), deux acides gras dont un de structure nouvelle (composé **55**), et un composé terpénique, le squalène ont été isolés et caractérisés.

## 4. Activités biologiques des extraits et des composés isolés de *Mallotus oppositifolius*

### 4.1. Principales activités biologiques des composés isolés

Dans cette partie, nous relevons les différentes activités biologiques décrites dans la littérature des composés isolés.

#### 4.1.1. Terpènes, acides gras, alcools gras et dérivés

##### 4.1.1.1. Lupéol (6)

Le lupéol est un triterpène pentacyclique présent dans divers fruits et légumes. Diverses propriétés pharmacologiques ont été décrites pour ce composé dans la littérature.

En effet, il possède des propriétés cardioprotectrices<sup>280,281,282</sup>, antiarthritique, anti-inflammatoire<sup>283,284,285,286,287</sup>, antilithiasique<sup>288,289</sup>, antiplasmodiale<sup>290</sup>, anti-protozoaire, antimicrobienne<sup>291</sup> et antitumorale<sup>292,293,294,295</sup>. Il inhibe la croissance des cellules cancéreuses

---

<sup>280</sup> Sudharsan PT, Mythili Y, Selvakumar E, Varalakshmi P. Cardioprotective effect of pentacyclic triterpene, lupeol and its ester on cyclophosphamide-induced oxidative stress. *Human and Experimental Toxicology*, **2005**, 24, 313-318.

<sup>281</sup> Andrikopoulos NK, kaliora AC, Assimopoulou AN, Papapeorgiou VP. Biological activity of some naturally occurring resins, gums, and pigments against *in vitro* LDL oxidation. *Phytotherapy Res.*, **2003**, 17, 501-507.

<sup>282</sup> Saleem R, Ahmad SI, Ahmed M, Faizi Z, Zikr-ur-Rehman S, Ali M, Faizi S. Hypotensive activity and toxicology of constituents from *Bombax ceiba* stem bark. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **2003**, 26, 41-46.

<sup>283</sup> Vasconcelos JF, Teixeira MM, Barbosa-Filho JM, Lúcio ASSC, Almeida JRGS, Queiroz LP, Ribeiro-dos-Santos R, Soares MBP. The triterpenoid lupeol attenuates allergic airway inflammation in a murine model. *International Immunopharmacology*, **2008**, 8, 1216-1221.

<sup>284</sup> Patočka J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification. *J. Appl. Biomed.*, **2003**, 1, 7-12.

<sup>285</sup> Agarwal RB, Rangari VD. Antiinflammatory and antiarthritic activities of lupeol and 19 $\alpha$ -H lupeol isolated from *Strobilanthes callosus* and *Strobilanthes ixiocephala* Roots. *Indian J. Pharmacol.*, **2003**, 35, 384-387.

<sup>286</sup> Geetha T, Varalakshmi P. Anti-inflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in rats. *J. Ethnopharmacol.*, **2001**, 76, 77-80.

<sup>287</sup> Geetha T, Varalakshmi P. Anti-inflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in adjuvant-induced arthritis. *Fitoterapia*, **1998**, 69, 1, 13-19.

<sup>288</sup> Malini MM, Lenin M, Varalakshmi P. Protective effect of triterpenes on calcium oxalate crystal-induced peroxidative changes in experimental urolithiasis. *Pharmacol. Res.*, **2000**, 41, 413-418.

<sup>289</sup> Vidya L, Varalakshmi P. Control of urinary risk factors of stones by betulin and lupeol in experimental hyperoxaluria. *Fitoterapia*, **2000**, 71, 535-543.

<sup>290</sup> De Almeida Alves TM, Nagem TJ, De Carvalho LH, Krettli AU, Zani CL. Antiplasmodial triterpene from *Vernonia brasiliensis*. *Planta Med.*, **1997**, 63, 554-555.

<sup>291</sup> Ahamed BKM, Krishna V, Gowdru HB, Rajanaika H, Kumaraswamy HM, Rajshekarappa S, Dandin CJ, Mahadevan KM. Isolation of bactericidal constituents from the steam bark extract of *Grewia tiliaefolia* Vahl. *Research Journal of Medicinal Plant*, **2007**, 1, 72-82.

<sup>292</sup> Chaturvedula VSP, Schilling JK, Miller JS, Andriantsiferana R, Rasamison VE, Kingston DGI. New cytotoxic terpenoids from the wood of *Vepris ponctata* from the Madagascar rainforest. *J. Nat. Prod.*, **2004**, 67, 895-898.

<sup>293</sup> Moriarity DM, Huang J, Yancey CA, Zhang P, Setzer WN, Lawton RO, Bates RB, Caldera S. Lupeol is the cytotoxic principle in the leaf extract of *Dendropanax cf. querceti*. *Planta Med.*, **1998**, 64, 370-372.

<sup>294</sup> Miles DH, Kokpol U. Tumor inhibitors II: constituents and antitumor activity of *Sarracenia flava*. *J. Pharm. Sci.*, **1976**, 65, 284-285.

<sup>295</sup> Miles DH, Kokpol U, Zalkow LH, Steindel SJ, Nabors JB. Tumor inhibitors I: preliminary investigation of antitumor activity of *Sarracenia flava*. *J. Pharm. Sci.*, **1974**, 63, 613-615.

HL-60 responsables de la leucémie<sup>296</sup> et exerce une action cytotoxique sur des cellules humaines de cancer prostatique, pancréatique et de la peau<sup>297,298,299,300,301</sup>.

Par ailleurs, il a une activité chimiopréventive sur certains cancers tel que le cancer du foie<sup>302,303,304,305</sup>.

#### 4.1.1.2. Friedeline (15)

Les friedelanes constituent une importante classe de composés triterpéniques dotés de diverses activités biologiques<sup>306</sup>. Parmi ces composés, la friedeline, a été décrite comme possédant des activités antibactérienne et anti-fongique<sup>307</sup>. **Mann et al**<sup>213</sup> ont récemment montré que la friedeline possède *in vitro*, une activité antibactérienne sur *Mycobacterium bovis* (BCG) de 4,9 µg/mL.

#### 4.1.1.3. Squalène (11)

Le squalène est un triterpène isoprénique naturellement produit par tous les organismes supérieurs. Il a été isolé pour la première fois de l'huile de foie de requin (*Squalus spp.*) qui en est la principale source et d'où il tire son nom<sup>308</sup>. On le retrouve en quantité moindre dans l'huile d'olive, l'huile de palme, l'huile du germe de blé et le son de riz<sup>309</sup>. C'est un intermédiaire dans

---

<sup>296</sup> Aratanechemuge Y, Hibasami H, Sanpin K, Katsuzaki H, Imai K, Komiya T. Induction of apoptosis by lupeol isolated from mokumen (*Gossampinus malabarica* L. Merr) in human promyelotic leukemia HL-60 cells. *Oncology Reports*, **2004**, 11, 2, 289-292.

<sup>297</sup> Nigam N, Prasad S, Shukla Y. "Preventive effects of lupeol on DMBA induced DNA alkylation damage in mouse skin". *Food. Chem. Toxicol*, **2007**, 45, 11, 2331-5.

<sup>298</sup> Saleem M, Afaq F, Adhami VM, Mukhtar H.. "Lupeol modulates NF-kappaB and PI3K/Akt pathways and inhibits skin cancer in CD-1 mice". *Oncogene*, **2004**, 23, 30, 5203-14.

<sup>299</sup> Saleem M, Kaur S, Kweon M-H, Adhami VM, Afaq F, Mukhtar H. Lupeol, a fruit and vegetable based triterpene, induces apoptotic death of human pancreatic adenocarcinoma cells via inhibition of ras signalling pathway. *Carcinogenesis*, **2005a**, 26, 1956-1964.

<sup>300</sup> Saleem M, Kweon M-H, Yun J-M, Adhami VM, Khan N, Syed DN, Mukhtar H. A novel dietary triterpene lupeol induces fas-mediated apoptotic death of androgen-sensitive prostate cancer cells and inhibits tumor growth in xenograft model. *Cancer Res.*, **2005b**, 65, 11203-11213.

<sup>301</sup> Prasad S, Kalra N, Singh M, Shukla Y. Protective effects of lupeol and mango extract against androgen induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Asian J. Androl.*, **2008**, 10, 2, 313-318.

<sup>302</sup> Zhang L, Zhang Y, Zhang L, Yang X, Lv Z. Lupeol, a dietary triterpene, inhibited growth, and induced apoptosis through down-regulation of DR3 in SMMC7721 cells. *Cancer Investigation*, **2009**, 27, 163-170.

<sup>303</sup> Saleem M, Alam A, Arifin S, Shah MS, Ahmed B, Sultana S. Lupeol, a triterpene, inhibits early responses of tumor promotion induced by benzoyl peroxide in murine skin. *Pharmacol. Res.*, **2001**, 43, 127-134.

<sup>304</sup> Dzubak P, Hajdich M, Vydra D, Hustova A, Kvasnica M, Biedermann D, Markova L, Urban M, Sarek J. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Nat. Prod. Rep.*, **2006**, 23, 394-411.

<sup>305</sup> Sunitha S, Nagaraj M, Varalakshmi P. Hepatoprotective effect of lupeol and lupeol linoleate on tissue antioxidant defence system in cadmium-induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia*, **2001**, 72, 516-523.

<sup>306</sup> Tane P, Tsopmo A, Ngnokam D, Ayafor FJ, Sterner O. New friedelane triterpenes from *Lepidobotrys staudtii*. *Tetrahedron*, **1996**, 52, 47, 14989-14994.

<sup>307</sup> Viswanathan MB, Ananthi JDJ, Kumar PS. Antimicrobial activity of bioactive compounds and leaf extracts in *Jatropha tanjorensis*. *Fitoterapia*, **2012**, 83, 1153-1159.

<sup>308</sup> Gershbein LL, Singh EJ. Hydrocarbons of dogfish and cod liver and herring oil. *J. Am Oil. Chem. Soc.*, **1969**, 46, 554-557.

<sup>309</sup> Huang Z-R, Lin Y-K, Fang J-Y. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds : Potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules*, **2009**, 14, 540-554.

la biosynthèse du cholestérol et des hormones stéroïdes. Le squalène est également utilisé comme ingrédient dans les crèmes hydratantes en cosmétologie. Par ailleurs, il est l'un des constituants principaux des lipides polyinsaturés de la surface de la peau<sup>310,311,312</sup> et présente un intérêt antioxydant, hydratant et antitumoral pour la peau<sup>313</sup>. Il participe dès lors à la réduction des dommages causés par les radicaux libres, la lumière ultraviolette ou d'autres sources de dommages oxydatifs sur la peau<sup>314</sup>. Par ailleurs, des études expérimentales ont montré que le squalène inhibe la prolifération des tumeurs des poumons, du côlon et de la peau chimiquement induites chez les rongeurs<sup>315</sup>.

En médecine, c'est le premier adjuvant lipophile (substance administrée conjointement avec un vaccin qui stimule le système immunitaire et augmente la réponse au vaccin) pour vaccin contre la grippe à avoir été commercialisé.

#### 4.1.1.4. Phytol (10)

Le phytol est un alcool gras diterpénique qui a montré *in vivo*, des effets anticonvulsants. En effet, il protège les souris contre les crises épileptiques induites par la pilocarpine et réduit le taux de mortalité<sup>316</sup>. Il active et régularise *in vitro*, la prolifération des peroxisomes intervenant dans le métabolisme des lipides<sup>317</sup>. **Bernhard et al.**<sup>318</sup>, en l'introduisant dans l'alimentation des rats, ont constaté une augmentation de l'effet lipotrope se traduisant par la présence des acides phyténique et phytanique dans le foie et la baisse du niveau de l'acide oléique. L'isomère *trans* de ce composé a montré une activité antituberculeuse sur *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv<sup>319,320</sup>, tandis que **Saikia et al.**<sup>321</sup> ont mis en évidence cette même activité avec le mélange (1 :1) des isomères *Z* et *E* qui s'est avéré moins actif sur la même bactérie. Chez la souris, le phytol réduit le cancer de peau induit par le DMBA (7,12-

<sup>310</sup> Auffray B. Protection against singlet oxygen, the main actor of sebum squalene peroxidation during sun exposure, using *Commiphora myrrha* essential oil. *Int. J. Cosmet. Sci.*, **2007**, 29, 23-29.

<sup>311</sup> Passi S, De Pittà O, Puddu P, Littarru GP. Lipophilic antioxidants in human sebum and aging. *Free Radic. Res.*, **2002**, 36, 471-477.

<sup>312</sup> Pragst, F, Auwärter V, Kiessling B, Dyes C. Wipe-test and patch-test for alcohol misuse based on the concentration ratio of fatty acid ethyl esters and squalene CFAEE/CSQ in skin surface lipids. *Forensic Sci. Int.*, **2004**, 143, 77-86.

<sup>313</sup> De Luca C, Valacchi G. Surface Lipids as Multifunctional Mediators of Skin Responses to Environmental Stimuli. *Mediators of Inflammation*, **2010**, Review Article, 11 p.

<sup>314</sup> Kelly GS. Squalene and its potential clinical uses. *Altern. Med. Rev.*, **1999**, 4, 29-36.

<sup>315</sup> Smith, T.J. Squalene: potential chemopreventive agent. *Expert Opin. Invest. Drugs*, **2000**, 9, 1841-1848.

<sup>316</sup> Costa JP, Ferreira PB, De Sousa DP, Jordan J, Freitas RM. Anticonvulsant effect of phytol in a pilocarpine model in mice. *Neuroscience Letters*, **2012**, 523, 115-118.

<sup>317</sup> Goto T, Takahashi N, Kato S, Egawa K, Ebisu S, Moriyama T, Fushiki T, Kawada T. Phytol directly activates peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR  $\alpha$ ) and regulates gene expression involved in lipid metabolism in PPAR $\alpha$ -expressing HepG2 hepatocytes. *B.B.R.C.*, **2005**, 337, 440-445.

<sup>318</sup> Bernhard VK, Maier R, Ritzel G. Effect of phytol on liver lipids. *Hoppe-Seyler's Z. Physiology and Chemistry*, **1967**, 348, 7, 759-764.

<sup>319</sup> Saludes JP, Garson MJ, Franzblau SG, Aguinaldo AM. Antitubercular constituents from the hexane fraction of *Morinda citrifolia* Linn. (Rubiaceae). *Phytother. Res.*, **2002**, 16, 7, 683-685.

<sup>320</sup> Rajab MS, Cantrell CL, Franzblau SG, Fischer NH. Antimycobacterial activity of (E)-phytol and derivatives: a preliminary structure-activity study. *Planta Med.*, **1998**, 64, 2.

<sup>321</sup> Saikia D, Parihar S, Chanda D, Ojha S, Kumar JK, Chantia CS, Shanker K, Negi AS. Antitubercular potential of some semisynthetic analogues of phytol. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, 20, 508-512.

diméthylbenz (a) anthracène)<sup>322</sup>. En outre le test d'Ames (test biologique permettant de déterminer le potentiel mutagène d'un composé chimique) réalisé avec le phytol sur *Salmonella typhimurium* a montré qu'il n'est pas mutagène<sup>323</sup>. **Arnhold et al.**<sup>324</sup> en 2002 ont montré que le phytol réduit considérablement la tératogénèse (production de malformations congénitales) induite par le rétinol ou par l'acide tout trans rétinoïque chez la souris en gestation.

Le phytol est un ingrédient utilisé en parfumerie et en cosmétique pour la fabrication de savons et autres articles de toilette, de shampoing, ainsi que d'autres produits non cosmétiques tels que les détergents<sup>325</sup>.

Par ailleurs, le phytanol et la phytanyl amine, deux dérivés du phytol utilisés comme adjuvants, ont montré des propriétés immunostimulantes chez la souris<sup>326</sup>.

#### 4.1.2. Composés stéroïdiques

##### 4.1.2.1. Stigmastérol (17)

Le stigmastérol possède des propriétés hypocholestérolémiantes<sup>327,328,329</sup> et anti-inflammatoire<sup>330</sup>. Par ailleurs, il régularise la production des hormones thyroïdiennes et le taux de glucose sanguin chez la souris<sup>331</sup>.

##### 4.1.2.2. Clionastérol (18)

Le clionastérol est un phytostérol présent dans les membranes plasmiques des plantes dont il régularise la perméabilité et la fluidité<sup>332</sup>.

##### 4.1.2.3. $\beta$ -sitostérol (39)

---

<sup>322</sup> Kagoura M, Matsui C, Morohashi M. Carcinogenicity study of phytol (3, 7, 11, 15-tetramethyl -2-hexadecen-1-ol) in ICR mice. *Journal of Investigative Dermatology*, **1993**, 101, 3, 460.

<sup>323</sup> Choi Y-H, Ahn S-J, Park K-Y, Yoo M-A, Lee W-H. Effects of phytol on the mutagenicity of UV and EMS in salmonella and drosophila mutation assaying systems. *Environmental Mutagens and Carcinogens*, **1993**, 13, 2, 92-100.

<sup>324</sup> Arnhold T, Elmazar MMA, Nau H. Prevention of vitamin A teratogenesis by phytol or phytanic acid results from reduced metabolism of retinol to the teratogenic metabolite, all-trans-retinoic acid. *Toxicological Sciences*, **2002**, 66, 2, 274-282.

<sup>325</sup> McGinty D, Letizia CS, Api AM. Fragrance material review on phytol. *Food Chem. Toxicol.*, **2010**, 48, S59-S63.

<sup>326</sup> Aachoui Y, Chowdhury RY, Fitch RW, Ghosh SK. Molecular signatures of phytol-derived immunostimulants in the context of chemokine-cytokine microenvironment and enhanced immune response, *Cellular Immunology*, **2011**, 271, 227-238.

<sup>327</sup> Batta AK, Xu G, Honda A, Miyazaki T, Salen G. Stigmasterol reduces plasma cholesterol levels and inhibits hepatic synthesis and intestinal absorption in the rat. *Metabolism Clinical and Experimental*, **2006**, 55, 292-299.

<sup>328</sup> Tabata T, Tanaka M, Lio T. Hypocholesterolemic activity of phytosterol II. *Yakugaku Zasshi*, **1980**, 100, 5, 546-52.

<sup>329</sup> Chandler RF, Hooper SN, Ismail HA. Antihypercholesterolemic studies with sterols:  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol. *J. Pharma. Sci.*, **1979**, 68, 2, 245-247.

<sup>330</sup> Gabay O, Sanchez C, Salvat C, Chevy F, Breton M, Nourissat G, Wolf C, Jacques C, Berenbaum F. Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. *Osteoarthritis and Cartilage*, **2010**, 18, 1, 106-116.

<sup>331</sup> Panda S, Jafri M, Kar A, Meheta BK. Thyroid inhibitory, antiperoxidative and hypoglycemic effects of stigmasterol isolated from *Butea monosperma*. *Fitoterapia*, **2009**, 80, 123-126.

<sup>332</sup> Marsan M-P, Muller I, Milon A. Ability of clionasterol and poriferasterol (24-epimers of sitosterol and stigmasterol) to regulate membrane lipid dynamics. *Chemistry and Physics of Lipids*, **1996**, 84, 117-121.

Le  $\beta$ -sitostérol est un composé naturellement présent dans la nature. C'est le plus abondant des phytostérols ; on le retrouve dans les fruits, les légumes et dans les graines de plantes<sup>333</sup>.

Chez l'homme, le  $\beta$ -sitostérol réduit l'absorption de cholestérol dans la lumière intestinale et son taux sanguin<sup>334,335,336</sup>. Son utilisation dans le traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate (adénome prostatique) en améliorerait les symptômes. Il possède en outre des propriétés bactériostatique<sup>94</sup>, analgésique, antimutagène, anti-inflammatoire, antipyrétique et antinéoplasique<sup>337,338</sup>. Des propriétés anti-oxydantes ont été décrites pour ce composé<sup>339,340</sup>. Le  $\beta$ -sitostérol inhibe, *in vitro*, la croissance de certaines cellules tumorales spécifiques telles que les cellules HT-29 (responsables du cancer du colon chez l'homme)<sup>341</sup>, les cellules MCF-7 et MDA-MB-231 (responsables du cancer de sein), et diminue, *in vivo*, la taille et l'extension des cellules métastatiques<sup>333</sup>.

Par ailleurs, une étude menée par **Gomes et al**<sup>342</sup>, a montré que le mélange  $\beta$ -sitostérol + stigmasterol (3 :1) isolé des racines de *Pluchea indica* Less. (Asteraceae) neutralise, *in vitro*, l'action létale du venin de vipère (*Daboia russelli*) et de cobra (*Naja kaouthia*). Cette étude a également mis en évidence l'action de défibrination, anti hémorragique, anti-œdème<sup>343</sup>, anti-neurotoxique et anti-cardiotoxique de ce mélange.

#### 4.1.2.4. Cholestérol (40)

Le cholestérol fut découvert sous forme solide dans les calculs biliaires, d'où il tire son nom, en 1758 par le médecin chimiste français François Poulletier de La Salle. C'est un constituant majeur des membranes des cellules animales<sup>332</sup>.

Sa fonction chez l'homme consiste entre autre au maintien de la structure et du fonctionnement de la membrane cellulaire.

---

<sup>333</sup> Awad AB, Chinnam M, Fink CS, Bradford PG.  $\beta$ -sitosterol activates Fas signalling in human breast cancer cells. *Phytomedicine*, **2007**, 14, 747-754

<sup>334</sup> Davis WW. The physical chemistry of cholesterol and  $\beta$ -sitosterol related to the intestinal absorption of cholesterol. *N. Y. Acad. Sci.*, **1955**, 18, 123-155.

<sup>335</sup> Berger A, Jones PJH, Abimweis SS. Plant sterols: Factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids Health Dis.*, **2004**, 3, 1-19.

<sup>336</sup> Ikeda I, Tanaka K, Sugano M, Vahouny GVGallo LL. Inhibition of cholesterol absorption in rats by plant sterols. *J. Lipid Res.*, **1988**, 29, 1573-1582.

<sup>337</sup> Park D-S, Choi SZ, Kim KR, Lee SM, Lee KR, Pyo S. Immunomodulatory activity of triterpenes and phenolic compounds from *Viscum album* L. *J. Appl. Pharmacol.*, **2004**, 11, 1-4.

<sup>338</sup> Park K-Y, Jung K-O, Rhee S-H, Choi YH. Antimutagenic effects of Doenjang (Korean fermented soypaste) and its active compounds. *Mutation Res.*, **2003**, 523-524.

<sup>339</sup> Moreno JJ. Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. *Free Radic. Biol. Med.*, **2003**, 35, 1073-1081.

<sup>340</sup> Vivancos M, Moreno JJ.  $\beta$ -sitosterol modulates antioxidant enzyme response in RAW 264.7 macrophages. *Free Radical Biol. Med.*, **2005**, 39, 1, 91-97.

<sup>341</sup> Jayaprakasha GK, Mandadi KK, Poulouse SM, Jadegoud Y, Gowda NGA, Patil BS. Inhibition of colon cancer cell growth and antioxidant activity of bioactive compounds from *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 4923-4932.

<sup>342</sup> Gomes A, Saha A, Chatterjee I, Chakravarty AK. Viper and cobra venom neutralization by  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol isolated from the root extract of *Pluchea indica* Less. (Asteraceae). *Phytomedicine*, **2007**, 14, 637-643.

<sup>343</sup> Delaporte RH, Sarragiotto MH, Takemura OS, Sanchez GM, Filho BP, Nakamura CV. Evaluation of the antioedematogenic, free radical scavenging and antimicrobial activities of aerial parts of *Tillandsia streptocarpa* Baker-Bromeliaceae. *J. Ethnopharmacol.*, **2004**, 95 (2-3), 229-233.

### 4.1.3. Composés phénoliques

#### 4.1.3.1. Méthylène bis-aspidinol (1)

Le méthylène bis-aspidinol est cytotoxique sur différentes lignées de cellules cancéreuses avec des  $CI_{50}$  allant de 2,7 à 19,4  $\mu\text{g/mL}$ . La plus forte inhibition a été obtenue avec les cellules de carcinome nasopharyngé humain (cellules KB) avec une activité de 2,7  $\mu\text{g/mL}$  (soit 5,87  $\mu\text{M}$ )<sup>236</sup>. Il a également montré une forte activité sur *Plasmodium falciparum* avec une  $CI_{90}$  de 0,61  $\mu\text{M}$ . Ces travaux sur ce parasite ont fait l'objet d'un brevet<sup>344</sup>. Une activité anti-tumorale a été décrite pour ce composé par **Kapadia et al.**<sup>345</sup>

#### 4.1.3.2. Aspidinol B (3)

Des études biologiques ont montré que cette molécule est responsable d'activités anthelminthiques de divers extraits d'espèces de fougères du genre *Dryopteris*<sup>346</sup> et d'activité ichthyotoxique contre le medaka (*Oryzias latipes*) (espèce de poisson des rizières en Asie) avec une tolérance limite minimale de 1,5  $\mu\text{g/mL}$  après 24 heures<sup>163</sup>. C'est un inhibiteur de l'acide gras synthase, un complexe multienzymatique responsable de la synthèse des acides gras<sup>161</sup>. Par ailleurs, il a montré des propriétés anti-tumorales<sup>345</sup>.

#### 4.1.3.3. Bergénine (7)

La bergénine a fait l'objet de nombreuses études pharmacologiques. L'évaluation *in vitro* de ce composé par le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et le  $\beta$ -carotène a permis de mettre en évidence son potentiel antioxydant<sup>347</sup>. En effet, la bergénine a un effet protecteur contre l'hépatite virale chez la souris<sup>348</sup> et protège le foie contre les dommages causés par la D-galactosamine et le tétrachlorure de carbone<sup>349</sup> chez les rats. Elle a également montré des activités anti-HIV<sup>350</sup>, anti-tussive<sup>351</sup>, anti-inflammatoire<sup>352</sup>, anti-cancer, anti-coagulant, anti-malarial et hypolipidique<sup>353</sup>.

<sup>344</sup> Kapadia GJ. Antimalarial agents. *US Patent Issued*, **1998**, 4. (Disponible au <http://www.patentstorm.us/patents/5684035/fulltext.html>) (Consulté le 27/06/2013).

<sup>345</sup> Kapadia GJ, Tokuda H, Konoshima T, Takasaki M, Takayasu J, Nishino H. Anti-tumor promoting activity of *Dryopteris* phlorophenone derivatives. *Cancer Letters*, **1996**, 105, 161-165.

<sup>346</sup> Murakami T, Tanaka N. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, 54, *Springer*, Vienna, **1988**.

<sup>347</sup> Zamarrud, Iftikhar A, Hidayat H, Viqar UA, Muhammad Q, Afroze A, Faryal VM. Two new antioxidant bergenin derivatives from the stem of *Rivea hypocrateriformis*. *Fitoterapia*, **2011**, 82, 722-725.

<sup>348</sup> Wang D, Zhu H, Zhang Y, Yang C. A carbon-carbon-coupled dimeric bergenin derivative biotransformed by *Pleurotus ostreatus*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 18, 4073-4075.

<sup>349</sup> Hikino H, Kiso Y, Hatano T, Yoshida T, Okuda T. Antihepatotoxic actions of tannins. *J. Ethnopharmacol.*, **1985**, 14, 19-29.

<sup>350</sup> Piacente S, Pizza C, De Tommasi N, Mahmood N. Constituents of *Ardisia japonica* and their *in vitro* anti-HIV activity. *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 565-569.

<sup>351</sup> Piegen X. Traditional experience of chinese herb medicine. Its application in drug research and new drug searching. In: Beal, J.L., Reinhard, E. (Eds.). *Natural Products as Medicinal Agents. Hippokrates Veriag*, **1980**, Stuttgart.

<sup>352</sup> Swarnalakshmi T, Sethuraman MG, Sulochana N, Arivudainambi R. A note on the anti-inflammatory activity of bergenin. *Current Science*, **1984**, 53, 7, 917.

<sup>353</sup> Jahromi MAF, Chansouria JPN, Ray AB. Hypolipidaemic activity in rats of bergenin, the major constituent of *Flueggea microcarpa*. *Phytother. Res.*, **1992**, 6, 180-183.

#### 4.1.3.4. Méthyl gallate (8)

Le méthyl gallate a montré une importante activité anti-bactérienne contre *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Shigella flexenari*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* et *Pseudomonas aeruginosa*<sup>354,355</sup>. Par ailleurs, il a montré des activités antifongique<sup>262</sup>, antioxydante<sup>356,357</sup> et anti-inflammatoire<sup>356</sup>.

#### 4.1.3.5. Acide gallique (37)

L'acide gallique est un composé phénolique polyhydroxylé largement distribué dans les plantes, les fruits et les aliments dans lesquels il est présent sous forme libre ou comme constituant de base des tanins appelés gallotanins<sup>358</sup>. Il est connu pour ses propriétés antioxydante<sup>357</sup>, anti-inflammatoire, anti-virale<sup>359</sup>, anti-hyperlipidémique<sup>260</sup> et anticancérigène<sup>360</sup>.

#### 4.1.3.6. Acide 2,3-dihydroxybenzoïque (13)

L'acide 2,3-dihydroxybenzoïque comme la plupart des composés phénoliques, est un antioxydant. Il a la capacité de chélater les ions fer III (sidérophore)<sup>361</sup>. Cette propriété s'explique par la présence de groupement catéchol dans sa structure. Ce composé diminue la néphrotoxicité induite par la vancomycine<sup>361</sup> et la kanamycine<sup>362</sup> respectivement chez le rat et chez la souris.

#### 4.1.3.7. Scopolétine (14)

La scopolétine est une coumarine aglycone qui tire son nom du fait qu'on la retrouve dans les racines des espèces du genre *Scopolia*. Les évaluations biologiques réalisées *in vitro* sur la souche H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie responsable de la tuberculose) par **Chiang C-C et al**<sup>363</sup> ont donné une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 42 µg/mL

---

<sup>354</sup> Noor W, Gul R, Ali I, Choudhari MI. Isolation and antibacterial activity of the compounds from *Ranunculus repens* L. *Jour. Chem. Soc. Pak.*, **2006**, 28, 3, 271-274.

<sup>355</sup> Penna C, Marino S, Vivot E, Cruaños MC, Muños J. de D, Cruaños J, Ferraro G, Gutkind G, Martino V. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. *J. Ethnopharmacol.*, **2001**, 77, 37-40.

<sup>356</sup> Fang S-H, Rao YK, Tzeng Y-M. Anti-oxidant and inflammatory mediator's growth inhibitory effects of compounds isolated from *Phyllanthus urinaria*. *J. Ethnopharmacol.*, **2008**, 116, 333-340.

<sup>357</sup> Thuong PT, Kang HJ, Na M, Jin W, Youn UJ, Seong YH, Song K-S, Min B-S, Bae K. Anti-oxidant constituents from *Sedum takesimensense*. *Phytochemistry*, **2007**, 68, 2432-2438.

<sup>358</sup> Niemetz R, Gross GG. Enzymology of gallotannin and ellagitannin biosynthesis. *Phytochemistry*, **2005**, 66, 2001-2011.

<sup>359</sup> Li Dan, Liu Z, Zhao W, Xi Y, Niu F. A straightforward method to determine the cytotoxic and cytopathic effects of the functional groups of gallic acid. *Process Biochemistry*, **2011**, 46, 2210-2214.

<sup>360</sup> You BR, Park WH. Gallic acid-induced lung cancer cell death is related to glutathione depletion as well as reactive oxygen species increase. *Toxicology in Vitro*, **2010**, 24, 1356-1362.

<sup>361</sup> Naghibi B, Ghafghazi T, Hajhashemi V, Talebi A, Taheri D. The effect of 2,3-dihydroxybenzoic acid and tempol in prevention of vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. *Toxicology*, **2007**, 232, 192-199.

<sup>362</sup> Severinsen SA, Kirkegaard M, Nyengaard JR. 2,3-Dihydroxybenzoic acid attenuates kanamycin-induced volume reduction in mouse utricle type I hair cells. *Hearing Research*, **2006**, 212, 99-108.

<sup>363</sup> Chiang C-C, Cheng M-J, Peng C-F, Huang H-Y, Chen I-S. A novel dimeric coumarin analog and antimycobacterial constituents from *Fatoua pilosa*. *Chemistry and Biodiversity*, **2010**, 7, 1728-1736.

pour ce composé. Ces auteurs ont montré qu'elle est plus active sur cette bactérie que son homologue déméthoxylée, l'ombelliférone (CMI=58 µg/mL).

Cette molécule a été décrite comme responsable du clivage<sup>152</sup> de l'ADN en présence de cations cuivre Cu<sup>2+</sup>. Par ailleurs, elle a montré une activité cytotoxique sur les cellules de leucémie P388 et les cellules KB. Elle inhibe, *in vitro*, l'activité de la 5-lipoxygénase (enzyme responsable de la leucémie du rat), l'adénosine monophosphate cyclique (AMP<sub>c</sub>) phosphodiesterase et l'aldose réductase de la rate<sup>152</sup>.

#### 4.1.3.8. Ombelliférone (34)

L'ombelliférone est une coumarine largement répandue dans les produits naturels<sup>364</sup>. Elle est connue pour son activité antioxydante *in vitro*<sup>242</sup> et *in vivo* chez le rat<sup>365</sup>. Elle est également anti-hyperlipidémique, antidiabétique<sup>366,367</sup>, anti-inflammatoire<sup>364</sup> et a un effet radioprotecteur *in vitro* sur les lymphocytes humains<sup>368</sup>. Ces effets justifient son potentiel protecteur des membranes lipidiques du foie et du rein chez le rat<sup>369</sup>. Elle est considérée comme un agent chimiothérapeutique potentiel<sup>370</sup>.

#### 4.1.3.9. Quercétine (35)

La quercétine est un composé ubiquitaire des fruits et légumes tels que l'oignon, le thé, la pomme, la baie, etc. Diverses études menées, *in vitro* et *in vivo*, ont montré que la quercétine est un excellent antioxydant<sup>371,372,373</sup>. C'est un puissant capteur de radicaux oxygénés libres<sup>374</sup>. En effet, elle possède tous les éléments structuraux caractéristiques d'un anti-oxydant : deux groupements hydroxyles ortho dans le cycle B (groupement catéchol), une double liaison en position 2,3 du cycle C et les groupements hydroxyles en positions 3 et 5 avec le groupement

---

<sup>364</sup> Toyama DO, Marangoni S, Diz-Filho EBS, Oliveira SCB, Toyama MH. Effect of umbelliferone (7-hydroxycoumarin, 7-HOC) on the enzymatic, edematogenic and necrotic activities of secretory phospholipase A2 (sPLA2) isolated from *Crotalus durissus collilineatus* venom. *Toxicon*, **2009**, 53, 417-426.

<sup>365</sup> Ramalingam R, Vaiyapuri M. The effects of umbelliferone on lipid peroxidation and antioxidant status in diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma. *Journal of Acute Medicine*, **2013**, 1-10 (*in press*).

<sup>366</sup> Ramesh B, Pugalendi KV. Antihyperlipidemic and antidiabetic effects of Umbelliferone in streptozotocin diabetic rats. *Yale J. Biol.Med.*, **2005a**, 78, 189-196.

<sup>367</sup> Ramesh B, Pugalendi KV. Effect of Umbelliferone on cellular redox status in STZ-diabetic rats. *W. W. W. J. Biol.*, **2005c**, 9, 1.

<sup>368</sup> Kanimozhi G, Prasad NR, Ramachandran S, Pugalendi KV. Umbelliferone modulates gamma-radiation induced reactive oxygen species generation and subsequent oxidative damage in human blood lymphocytes. *European Journal of Pharmacology*, **2011**, 672, 20-29.

<sup>369</sup> Ramesh B, Viswanathan P, Pugalendi KV. Protective effect of Umbelliferone on membranous fatty acid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, **2007**, 566, 231-239.

<sup>370</sup> Muthu R, Thangavel P, Selvaraj N, Ramalingam R, Vaiyapuri M. Synergistic and individual effects of umbelliferone with 5-fluorouracil on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against 1,2-dimethylhydrazine induced rat colon carcinogenesis. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, **2013**, 3, 74-82.

<sup>371</sup> Torres R, Faini F, Modak B, Urbina F, Labbe C, Guerrero J. Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry*, **2006**, 67, 984-987.

<sup>372</sup> Choi EJ, Chee K-M, Lee BH. Anti-and prooxidant effects of chronic quercetin administration in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **2003**, 482, 281-285.

<sup>373</sup> Choi EJ, Lee BH, Lee K, Chee K-M. Long-term combined administration of quercetin and daidzein inhibits quercetin-induced suppression of glutathione antioxidant defenses. *Food Chem. Toxicol.*, **2005**, 43, 793-798.

<sup>374</sup> Ahmedova A, Paradowska K, Wawer I. <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C MAS NMR and DFT GIAO study of quercetin and its complex with Al (III) in solid state. *J. Inorg. Biochem.*, **2012**, 110, 27-35.

4-oxo<sup>375</sup>. Une étude de relations structure-activité a montré que le potentiel anti-prolifération de la quercétine peut être attribué aux différents substituants hydroxyles, particulièrement les hydroxyles en positions 3 et 5 des cycles B et A respectivement. Par ailleurs, d'autres substituants tels que les groupements osidiques chez les flavones, diminuent ce potentiel<sup>376</sup>. En outre de nombreuses publications ont mis en évidence des propriétés anti-cancer pour ce composé avec différents mécanismes d'action (inhibition d'enzymes carcinogènes, interactions avec des récepteurs et autres protéines, induction de l'apoptose par activation de mitochondries, etc.)<sup>377,378,379</sup>. Il présente l'avantage d'une faible toxicité ; les études pharmacocinétiques réalisées chez des patients atteints de cancers en phase I ont montré une bonne tolérance de la quercétine<sup>380</sup>. Par ailleurs, des propriétés anti-inflammatoire, vasodilatatrice et cardioprotectrice ont été décrites pour ce composé<sup>381</sup>. La quercétine est également un inhibiteur de la monoamine oxydase A et dans une moindre mesure de la monoamine oxydase B. En effet, ces enzymes permettent l'inactivation des neurotransmetteurs de la classe des monoamines (noradrénaline, sérotonine et dopamine) et participent ainsi à la régulation de l'humeur. Diverses expériences réalisées *in vitro* ont montré que l'exposition des cellules de hamster et souris ainsi que des lymphocytes humains à la quercétine entraîne des aberrations chromosomiques et des cassures au niveau de l'un des brins de l'ADN conduisant ainsi à la formation de micronoyaux<sup>382,383,384</sup>. Par ailleurs, la méthylation des groupements hydroxyles de la quercétine diminue significativement, voire supprime totalement l'activité mutagène<sup>385</sup>.

#### 4.1.3.10. Vitexine (36)

La vitexine a été décrite comme possédant des activités antioxydante et anti-inflammatoire.

<sup>375</sup> Rietjens IM, Boersma MG, van der Woude H, Jeurissen SM, Schutte ME, Alink GM. Flavonoids and alkenylbenzenes : Mechanisms of mutagenic action and carcinogenic risk. *Mutat. Res.*, **2005**, 574, 124-138.

<sup>376</sup>Loa J, Chow P, Zhang K. Studies of structure-activity relationship on plant polyphenol-induced suppression of human liver cancer cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2009**, 63, 6, 1007-1016.

<sup>377</sup> Chen W, Wang X, Zhuang J, Zhang L, Lin Y. Induction of death receptor 5 and suppression of surviving contribute to sensitization of TRAIL-induced cytotoxicity by quercetin in non-small cell lung cancer cells. *Carcinogenesis*, **2007**, 28, 10, 2114-2121.

<sup>378</sup> Volate SR, Davenport DM, Muga SJ, Wargovich MJ. Modulation of aberrant crypt foci and apoptosis by dietary herbal supplements (quercetin, curcumin, silymarin, ginseng and rutin). *Carcinogenesis*, **2005**, 26, 8, 1450-1456.

<sup>379</sup> Xing N, Chen Y, Mitchell SH, Young CY. Quercetin inhibits expression and function of the androgen receptor in LNCaP prostate cancer cells. *Carcinogenesis*, **2001**, 22, 3, 409-414.

<sup>380</sup> Ferry DR, Smith A, Malkhandi J, Fyfe DW, de Takats PG, Anderson D, Baker J, Kerr DJ. Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. *Clinical Cancer Research*, **1996**, 2, 4, 659-668.

<sup>381</sup> Middleton Jr.E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plants flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol. Rev.*, **2000**, 42, 4, 673-751.

<sup>382</sup> Han XH, Hong SS, Hwang JS, Lee MK, Hwang BY, Ro JS. Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. *Arch. Pharm. Res.*, **2007**, 30, 1, 13-17.

<sup>383</sup> Caria H, Chaveca T, Laires A, Rueff J. Genotoxicity of quercetin in the micronucleus assay in mouse bone marrow erythrocytes, human lymphocytes, V79 cell line and identification of kinetochore-containing (crest staining) micronuclei in human lymphocytes. *Mutat. Res.*, **1995**, 343, 85-94.

<sup>384</sup> Gasper J, Rodrigues A, Laires A, Silva F, Costa S, Monteiro MJ, Monterio C, Rueff J. On the metabolisms of genotoxicity and metabolism of quercetin. *Mutagenesis*, **1994**, 9, 445-449.

<sup>385</sup> Czeczot H, Tudek B, Kusztełak J, Szymczyk T, Dobrowolska B, Glinkowska G, Malinowski J, Strzelecka H. Isolation and studies of the mutagenic activity in the Ames test of flavonoids naturally occurring in medical herbs. *Mutat. Res.*, **1990**, 240, 209-216.

#### 4.1.3.11. Juglone (38)

La juglone est un métabolite phytotoxique produit par la plupart des membres de la famille des *Juglandaceae*. Elle est naturellement présente dans toutes les parties de ces plantes. Les plantes qui la produisent peuvent produire des réactions toxiques sur un certain nombre d'autres espèces végétales poussant dans leur voisinage (allelopathie). En effet, elle est un inhibiteur de la respiration qui soutire aux plantes sensibles, l'énergie qui leur est nécessaire pour assurer leur métabolisme.

La juglone a montré, *in vitro*, de nombreuses activités cytotoxiques contre diverses cellules tumorales humaines telles que les cellules de leucémie HL-60, du mélanome MDAMB 435, du colon HCT-8 et HCT-15 et du système nerveux SF-295<sup>269,386,387</sup>. Elle a également montré des activités antifongique, anti-inflammatoire, anti-bactérienne et antivirale<sup>388,389</sup>. En outre, la juglone réduit la formation d'azoxyméthane responsable de tumeurs intestinales chez les rats<sup>390</sup> et entraîne la mort des cellules cancéreuses SGC-7901 (cancer de l'estomac)<sup>391</sup>. Par ailleurs, l'association juglone-ascorbate inhibe, *in vitro*, la prolifération des cellules T24 responsables du cancer de la vessie chez l'homme<sup>392</sup>.

### 4.2. Résultats des tests biologiques réalisés sur les extraits et composés isolés

#### 4.2.1. Feuilles de *Mallotus oppositifolius*

Les résultats des tests trypanocides (en  $CL_{100}$ ), leishmanicides (en  $CE_{50}$ ) et anthelminthiques (en  $CE_{50}$ ) des extraits et produits des feuilles de *M. oppositifolius* sont consignés dans le tableau I.4.2.1.

---

<sup>386</sup> Kamei H, Koide T, Hashimoto Y, Hasegawa M. Inhibition of cell growth in culture by quinones. *Cancer Biother. Radiopharm.*, **1998**, 13, 185-188.

<sup>387</sup> Cenas N, Prast S, Nivinskas H, Sarlauskas J, Arnér ESJ. Interactions of nitroaromatic compounds with the mammalian selenoprotein thioredoxin reductase and the relation to induction of apoptosis in human cancer cells. *J. Biol. Chem.*, **2006**, 281, 5593-5603.

<sup>388</sup> Babula P, Adam V, Kizek R, Sladky Z, Havel L. Naphthoquinones as allelochemical triggers of programmed cell death. *Environ. Exp. Bot.*, **2009**, 65, 330-337.

<sup>389</sup> Omar S, Lemonnier B, Jones N, Ficker C, Smith ML, Neema C, Towers GH, Goel K, Arnason JT. Antimicrobial activity of extracts of eastern North American hardwood trees and relation to traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.*, **2000**, 73, 161-170.

<sup>390</sup> Sugie S, Okamoto K, Rahman KMW, Tanaka T, Kawai K, Yamahara J, Mori H. Inhibitory effects of plumbagin and juglone on azoxymethane-induced intestinal carcinogenesis in rats. *Cancer Lett.*, **1998**, 127, 177-183.

<sup>391</sup> Ji Y-B, Qu Z-Y, Zou X. Juglone-induced apoptosis in human gastric cancer SGC-7901 cells via the mitochondrial pathway. *Exp. Toxicol. Pathol.*, **2011**, 63, 69-78.

<sup>392</sup> Kwiecinski MR, Pedrosa RC, Felipe KB, Farias MS, Glorieux C, Valenzuela M, Sid B, Benites J, Valderrama JA, Verrax J, Calderon PB. Inhibition of cell proliferation and migration by oxidative stress from ascorbate-driven juglone redox cycling in human bladder-derived T24 cells. *BBRC*, **2012**, 421, 268-273.

**Tableau I.4.2.1 : Activités trypanocides (en  $CL_{100}$ ), leishmanicides (en  $CE_{50}$ ) et anthelminthiques (en  $CE_{50}$ ) des extraits et produits des feuilles de *M. oppositifolius***

| Produits                                      | <i>T. b. brucei</i> |               | <i>L. donovani</i> |               | <i>C. elegans</i> |               |
|-----------------------------------------------|---------------------|---------------|--------------------|---------------|-------------------|---------------|
|                                               | $CL_{100}$          |               | $CE_{50}$          |               | $CE_{50}$         |               |
|                                               | $\mu\text{g/mL}$    | $\mu\text{M}$ | $\mu\text{g/mL}$   | $\mu\text{M}$ | $\mu\text{g/mL}$  | $\mu\text{M}$ |
| Extrait EtOH ( <i>E</i> )                     | 62,5                | -             | > 125              | -             | > 125             | -             |
| Extrait hexanique ( <i>H</i> )                | 15,6                | -             | > 125              | -             | > 125             | -             |
| Extrait $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ( <i>D</i> ) | 31,25               | -             | > 125              | -             | > 125             | -             |
| Extrait AcOEt ( <i>A</i> )                    | 31,25               | -             | > 125              | -             | > 125             | -             |
| Résiduel EtOH ( <i>R</i> )                    | 125                 | -             | > 125              | -             | > 125             | -             |
| Méthylène bis-aspidinol (1)                   | 0,36                | 0,78          | > 125              | -             | -                 | -             |
| Phloroglucinol 2                              | 125                 | 289,35        | 9,2                | 21,29         | > 125             | -             |
| Aspidinol B (3)                               | 62,5                | 279,01        | 8,7                | 38,83         | > 125             | -             |
| Phloroglucinol 4                              | 250                 | 560,53        | 150,1              | 336,54        | > 125             | -             |
| 17 + 18 + 19                                  | > 125               | -             | > 125              | -             | -                 | -             |
| Bergénine (7)                                 | > 125               | -             | > 125              | -             | -                 | -             |
| 20 + 21                                       | > 125               | -             | > 125              | -             | -                 | -             |
| Méthylgallate (8)                             | 125                 | 679,34        | > 125              | -             | -                 | -             |
| Squalène (11)                                 | 31,3                | 76,34         | > 125              | -             | -                 | -             |
| 18 + 33                                       | > 125               | -             | > 125              | -             | -                 | -             |
| Tocophérol 9                                  | > 125               | -             | > 125              | -             | -                 | -             |
| Mélarsozol (Mel W)                            | 0,2                 | 0,4           | -                  | -             | -                 | -             |
| Pentamidine                                   | -                   | -             | 2,6                | 7,7           | -                 | -             |
| Métabendazole                                 | -                   | -             | -                  | -             | -                 | 1,0 ± 0,3     |

#### 4.2.1.1. Activités trypanocides en $CL_{100}$

L'évaluation *in vitro* de l'activité trypanocide des extraits et des composés isolés a été réalisée avec la souche GVR 35 de *Trypanosoma brucei brucei* au stade trypomastigote. La référence utilisée est le mélarsozol (Mel W).

Cinq extraits et dix produits purs ou mélange de produits des feuilles ont été évalués pour leurs activités trypanocides. Les extraits évalués sont les extraits éthanolique (*E*), hexanique (*H*), chlorométhylénique (*D*), à l'acétate d'éthyle (*A*) et hydroéthanolique résiduel (*R*). Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau I.4.2.1.

L'analyse de ce tableau montre que l'extrait brut éthanolique (*E*) ne possède qu'une activité trypanocide modérée ( $CL_{100}$  de 62,5  $\mu\text{g/mL}$ ), comparée à celle du produit de référence, le mélarsozol (Mel W,  $CL_{100}$  de 0,2  $\mu\text{g/mL}$ ). La purification partielle de cet extrait par des solvants de polarité croissante a permis d'obtenir les sous extraits hexanique (*H*), chlorométhylénique (*D*), à l'acétate d'éthyle (*A*) et hydroéthanolique résiduel (*R*). Les activités antitrypanosomiales mesurées pour ces sous extraits varient entre 15 et 125  $\mu\text{g/mL}$ . Le sous extrait *H* est le plus actif avec une  $CL_{100}$  de 15,6  $\mu\text{g/mL}$ , une activité quatre fois supérieure à celle de l'extrait brut éthanolique. Les sous extraits *D* et *A* ne montrent qu'une toxicité moyenne sur ce modèle parasitaire avec une  $CL_{100}$  de 31,25  $\mu\text{g/mL}$  chacun. Quant à l'extrait hydroéthanolique résiduel *R*, d'activité de l'ordre de 125  $\mu\text{g/mL}$ , il peut être considéré comme

inactif. Nos résultats viennent confirmer ceux précédemment rapportés dans la littérature sur les feuilles de *Mallotus oppositifolius*<sup>4,191</sup>.

Ces essais de toxicité sur *Trypanosoma b. brucei* montrent que l'essentiel de l'activité trypanocide des feuilles est dû aux composés apolaires et moyennement polaires présents dans cet organe de la plante. Parmi les composés isolés et testés, le méthylène bis-aspidinol (**1**) et le squalène (**11**) issus de la purification du sous extrait **H**, sont les plus actifs avec des  $CL_{100}$  de 0,78  $\mu$ M (0,36  $\mu$ g/mL) et 76,34  $\mu$ M (31,3  $\mu$ g/mL) respectivement. L'activité mesurée pour le méthylène bis-aspidinol est comparable à celle du mëlarsoprol utilisé comme substance thérapeutique de référence dans le traitement de la trypanosomiase humaine africaine ou maladie du sommeil. Par ailleurs, les composés **2**, **3** (aspidinol B) et **8** (méthylgallate) sont moyennement actifs avec des activités de 289,35  $\mu$ M (125  $\mu$ g/mL), 279,01  $\mu$ M (62,5  $\mu$ g/mL) et 679,34  $\mu$ M (125  $\mu$ g/mL) respectivement. Les composés **4**, (**17** + **18** + **19**), **7** (bergénine), (**20** + **21**), (**18** + **33**) et **9** d'activités supérieures à 125  $\mu$ g/mL sont considérés comme inactifs sur ce modèle parasitaire.

#### 4.2.1.2. Activités leishmanicides en $CE_{50}$

L'évaluation *in vitro* de l'activité leishmanicide des extraits et des composés isolés a été réalisée avec la souche LV9 de *Leishmania donovani* au stade promastigote. La référence utilisée est la pentamidine.

L'analyse des résultats montre qu'aucun des extraits testés n'est actif sur *L. donovani* ( $CE_{50} > 125 \mu$ g/mL). Les composés **2** et **3** (aspidinol B) issus de la purification des extraits hexanique (**H**) et chlorométhylénique (**D**) respectivement, montrent une forte inhibition des leishmanies avec des activités de l'ordre de 21 à 39  $\mu$ M. L'inactivité des extraits pourrait s'expliquer par la présence de ces composés en faible concentration.

#### 4.2.1.3. Activités anthelminthiques en $CE_{50}$

L'évaluation *in vitro* de l'activité anthelminthique des extraits et des composés isolés a été effectuée sur *Caenorhabditis elegans*. La référence utilisée est le mébendazole. Les activités en  $CE_{50}$ , sont exprimées en  $\mu$ g/mL ou en  $\mu$ M pour les produits purs.

L'analyse des résultats des tests réalisés sur *C. elegans* montre que ni les extraits, ni les molécules évaluées ne sont actifs à 125  $\mu$ g/mL (Tableau I.4.2.1).

#### 4.2.1.4. Activités antifongiques en $CE_{90}$

L'évaluation *in vitro* de l'activité antifongique des extraits et des composés isolés a été effectuée sur *Aspergillus fumigatus* et sur *Candida albicans*. La référence utilisée est l'amphotérine B. Les activités en  $CE_{90}$ , sont exprimées en  $\mu$ g/mL ou en  $\mu$ M pour les produits purs.

Les différents extraits et molécules testés sont inactifs sur *C. albicans* à 125  $\mu$ g/mL.

### 4.2.2. Ecorces de tige de *Mallotus oppositifolius*

Les résultats des tests trypanocides (en  $CL_{100}$ ) et leishmanicides (en  $CE_{50}$ ) des extraits et produits des écorces de tige de *M. oppositifolius* sont consignés dans le tableau I.4.2.2.

**Tableau I.4.2.2 : Activités trypanocides (en  $CL_{100}$ ) et leishmanicides (en  $CE_{50}$ ) des extraits et produits des écorces de tige de *M. oppositifolius***

| Produits                                           | <i>T. b. brucei</i> |               | <i>L. donovani</i> |               |
|----------------------------------------------------|---------------------|---------------|--------------------|---------------|
|                                                    | $CL_{100}$          |               | $CE_{50}$          |               |
|                                                    | $\mu\text{g/mL}$    | $\mu\text{M}$ | $\mu\text{g/mL}$   | $\mu\text{M}$ |
| Extrait EtOH ( <i>Moet.E</i> )                     | 250                 | -             | 75,3               | -             |
| Extrait cyclohexanique ( <i>Moet.C</i> )           | 250                 | -             | 41,3               | -             |
| Extrait $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ( <i>Moet.D</i> ) | 62,5                | -             | 42,9               | -             |
| Extrait AcOEt ( <i>Moet.A</i> )                    | 250                 | -             | 62,4               | -             |
| <b>22 + 23 + 24</b>                                | 125                 | -             | > 125              | -             |
| Friedeline ( <b>15</b> )                           | > 125               | -             | > 125              | -             |
| Benzofurane <b>12</b>                              | 125                 | 477,09        | > 125              | -             |
| Acide 2,3-dihydroxybenzoïque ( <b>13</b> )         | > 125               | -             | > 125              | -             |
| Stigmastérol ( <b>17</b> )                         | 250                 | 606,79        | 140,8              | 341,71        |
| (Z)-octadec-5-én-1-ol ( <b>16</b> )                | 62,5                | 233,20        | > 125              | -             |
| Cétone <b>59</b>                                   | <b>15,6</b>         | <b>37,5</b>   | <b>7,7</b>         | <b>18,50</b>  |
| Scopolétine ( <b>14</b> )                          | 125                 | 651,04        | > 125              | -             |
| Mélaroprol (Mel W)                                 | 0,2                 | 0,4           | -                  | -             |
| Pentamidine                                        | -                   | -             | 2,6                | 7,7           |

#### 4.2.2.1. Activités trypanocides en $CL_{100}$

Quatre extraits, à savoir les extraits éthanolique (*Moet.E*), cyclohexanique (*Moet.C*), chlorométhylénique (*Moet.D*) et à l'acétate d'éthyle (*Moet.A*) et huit produits purs ou mélange ont été évalués. Les résultats des tests trypanocides réalisés avec les différents extraits et composés sont consignés dans le tableau I.4.2.1.

Les valeurs d'activité enregistrées varient entre 62 et 250  $\mu\text{M}$  pour les extraits et entre 15 et 125  $\mu\text{M}$ , voire plus pour les produits isolés. Ces résultats montrent une activité modérée de l'extrait chlorométhylénique *Moet.D* (62,5  $\mu\text{M}$ ), tandis que les extraits éthanolique (*Moet.E*), cyclohexanique (*Moet.C*) et à l'acétate d'éthyle (*Moet.A*) d'activité 250  $\mu\text{g/mL}$  respectivement sont inactifs. La purification des extraits *Moet.C* et *Moet.D* a conduit aux composés **16** ((Z)-octadec-5-én-1-ol) et **59** qui sont les plus actifs parmi les composés testés. Le composé **59** le plus actif avec une activité de 15,6  $\mu\text{g/mL}$  (37,5  $\mu\text{M}$ ) pourrait être responsable de l'activité de l'extrait chlorométhylénique. Par ailleurs, les autres composés testés n'ont pas montré d'activité significative ce qui pourrait justifier les résultats obtenus avec les extraits.

#### 4.2.2.2. Activités leishmanicides en $CE_{50}$

Les résultats des tests anti-leishmanies consignés dans le tableau I.4.2.2 indiquent dans l'ensemble une activité modérée des extraits testés de l'ordre de 41 à 75  $\mu\text{g/mL}$ . Parmi les molécules évaluées, seul le composé **59** issu de la purification des extraits cyclohexanique et chlorométhylénique a montré une activité significative qui est de 7,7  $\mu\text{g/mL}$  (18,50  $\mu\text{M}$ ). La

présence de ce composé dans ces extraits pourrait expliquer l'activité observée pour ces extraits qui sont les plus actifs.

#### 4.2.2.3. Activités anthelminthiques en $CE_{50}$

Les résultats des tests anthelminthiques traduisent une absence d'activité des extraits et des produits purs sur le nématode *Caenorhabditis elegans*.

#### 4.2.2.4. Activités antifongiques en $CE_{90}$

Les extraits et molécules testés sont inactifs sur *C. albicans* et sur *A. fumigatus*.

### 4.2.3. Racines de *Mallotus oppositifolius*

Les résultats des tests trypanocides (en  $CL_{100}$ ) et leishmanicides (en  $CE_{50}$ ) des extraits et produits des racines de *M. oppositifolius* sont consignés dans le tableau I.4.2.3.

**Tableau I.4.2.3 : Activités trypanocides (en  $CL_{100}$ ) et leishmanicides (en  $CE_{50}$ ) des extraits et produits des racines de *M. oppositifolius***

| Produits                                          | <i>T. b. brucei</i> |               | <i>L. donovani</i> |               |
|---------------------------------------------------|---------------------|---------------|--------------------|---------------|
|                                                   | $CL_{100}$          |               | $CE_{50}$          |               |
|                                                   | $\mu\text{g/mL}$    | $\mu\text{M}$ | $\mu\text{g/mL}$   | $\mu\text{M}$ |
| Extrait EtOH ( <i>Mor.E</i> )                     | > 250               | -             | 150,2              | -             |
| Extrait cyclohexanique ( <i>Mor.C</i> )           | 125                 | -             | 36,7               | -             |
| Extrait $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ( <i>Mor.D</i> ) | 125                 | -             | 66,5               | -             |
| Extrait AcOEt ( <i>Mor.A</i> )                    | 250                 | -             | 180                | -             |
| Ombelliférone ( <b>34</b> )                       | > 125               | -             | > 125              | -             |
| Quercétine ( <b>35</b> )                          | 125                 | 413,90        | > 125              | -             |
| Cholestérol ( <b>40</b> )                         | > 125               | -             | 60                 | 155,44        |
| Acide gallique ( <b>37</b> )                      | 62,5                | 367,64        | 125                | 735,29        |
| Vitexine ( <b>36</b> )                            | > 125               | -             | > 125              | -             |
| Coumarine <b>70</b>                               | 62,5                | 188,25        | 32                 | 96,38         |
| Mélaroprol (Mel W)                                | 0,2                 | 0,4           | -                  | -             |
| Pentamidine                                       | -                   | -             | 2,6                | 7,7           |

#### 4.2.3.1. Activités trypanocides en $CL_{100}$

Les extraits éthanolique (*Mor.E*), cyclohexanique (*Mor.C*), chlorométhylénique (*Mor.D*) et à l'acétate d'éthyle (*Mor.A*) ainsi que sept produits purs des racines ont été évalués. Les résultats des tests réalisés sont mentionnés dans le tableau I.4.2.3.

L'analyse de ce tableau montre une faible activité trypanocide des extraits cyclohexanique (*Mor.C*) et chlorométhylénique (*Mor.D*) (125  $\mu\text{g/mL}$  chacun), alors que les extraits éthanolique (*Mor.E*) ( $CL_{100} > 250 \mu\text{g/mL}$ ) et à l'acétate d'éthyle (*Mor.A*) ( $CL_{100} = 250 \mu\text{g/mL}$ ) se sont avérés inactifs. Parmi les produits purs testés, les composés **70** ( $CL_{100} = 62,5 \mu\text{g/mL}$ ) et **37** ( $CL_{100} = 62,5 \mu\text{g/mL}$ ) ont également montré des activités modestes à l'image des extraits dont ils sont issus.

#### 4.2.3.2. Activités leishmanicides en $CE_{50}$

L'analyse des résultats des tests réalisés sur *Leishmania donovani* (Tableau I.4.2.3) indique une activité modeste des extraits cyclohexanique ( $CE_{50} = 36,7 \mu\text{g/mL}$ ) et chlorométhylénique ( $CE_{50} = 66,5 \mu\text{g/mL}$ ), tandis que les extraits éthanolique ( $CE_{50} = 150,2 \mu\text{g/mL}$ ) et à l'acétate d'éthyle ( $CE_{50} = 180 \mu\text{g/mL}$ ) sont inactifs.

Le composé **70** est le plus actif des molécules testées avec une activité de  $32 \mu\text{g/mL}$  ( $96,38 \mu\text{M}$ ) qui est pratiquement le double de celle du cholestérol (**40**). La présence de ces deux produits dans les extraits cyclohexanique et chlorométhylénique dont ils sont issus expliquerait l'activité observée au niveau de ces extraits.

#### 4.2.3.3. Activités anthelminthiques en $CE_{50}$

Les extraits et molécules testés ne sont pas actifs sur *Caenorhabditis elegans* à  $125 \mu\text{g/mL}$ .

#### 4.2.3.4. Activités antifongiques en $CE_{90}$

Les extraits et molécules des racines de *M. oppositifolius* sont inactifs sur *C. albicans* et sur *A. fumigatus*.

### 4.3. Conclusion

L'évaluation biologique des extraits bruts et molécules pures des différents organes de *M. oppositifolius* a montré dans l'ensemble des activités modestes. Parmi les extraits évalués, l'extrait hexanique des feuilles a montré une activité trypanocide intéressante alors que les extraits cyclohexaniques des écorces de tige et des racines, ainsi que l'extrait chlorométhylénique des écorces de tige sont peu actifs. Concernant les composés purs, le méthylène bis-aspidinol et la cétone **59** sont les plus actifs sur *T. b. brucei* tandis que sur *L. donovani* les composés les plus actifs sont le phloroglucinol **2**, l'aspidinol B et la cétone **59**. Par ailleurs, aucun extrait, ni molécule pure n'a montré d'activité anthelminthique et antifongique digne d'intérêt. Ces résultats indiquent d'une part, qu'on peut isoler des molécules actives dans des extraits inactifs d'où l'intérêt de l'isolement systématique. D'autre part, on note des différences significatives d'activités entre analogues ; c'est le cas des molécules **1** et **2** sur les trypanosomes. En outre, l'évaluation biologique de ces composés a permis de justifier en partie l'utilisation traditionnelle de cette plante en tant qu'antiparasitaire.

# DEUXIEME PARTIE:

ETUDE CHIMIQUE  
D' *ISOLONA COOPERI* (ANNONACEAE)

---

# 1. Description de la plante

## 1.1. La famille des Annonaceae

### 1.1.1. Présentation

Les Annonaceae sont une vaste famille de plantes constituée de (plus) de 120 genres et plus de 2000 espèces<sup>393,394</sup>. Cette famille, une des plus archaïques des Angiospermes, décrite pour la première fois par A.L. de JUSSIEU<sup>12</sup> en 1789, appartient à la classe des Paléodicots, sous-classe des Magnoliids, ordre des Magnoliales dont elle est la plus importante. C'est une famille très homogène du point de vue botanique et de l'habitat. En effet, les plantes de cette famille ne poussent que dans les régions tropicales et subtropicales à l'exception des espèces des genres *Asimina* et *Deeringothalamnus* qui se rencontrent également dans les régions tempérées d'Amérique du Nord jusqu'aux grands lacs<sup>395,396,397</sup>. *Annona*, *Cananga*, *Isolona* et *Uvaria* sont quelques genres de cette famille<sup>398,399</sup>.

Les Annonaceae sont des plantes ligneuses de moyenne altitude, souvent aromatiques représentées par des arbres (15-20m) et des arbustes (7-10m), quelquefois par des buissons sarmenteux ou des lianes<sup>396,400</sup>. Les arbres ont généralement un tronc cylindrique à écorce odorante, de couleur grisâtre, plissée et fissurée.

Les feuilles sont simples, alternes et distiques, non stipulées souvent luisantes. De taille et de forme variables, elles sont courtement pétiolées ou subsessiles, jamais lobées ni dentées avec le limbe penninervé. Elles sont coriaces ou membraneuses avec un indument constitué de poils généralement simples, parfois étoilés<sup>394,401</sup>.

Les fleurs sont axillaires, extra-axillaires, oppositifoliées ou terminales. Elles sont soit solitaires, soit regroupées en inflorescence pauciflores ou en grappes. Elles sont souvent hermaphrodites et présentent un périanthe constitué d'un calice de trois sépales valvaires, de petite taille, libres ou partiellement unis, et d'une corolle de six pétales disposés sur deux cycles alternes. Les étamines de forme oblongue ou cunéiforme, sont très nombreuses et peu différenciées en filet et anthères. Elles sont libres et disposées en spirale sur toute la surface d'un réceptacle convexe autour de nombreux carpelles. Ces derniers sont généralement indépendants et parfois inclus dans le réceptacle<sup>394,397</sup>.

---

<sup>393</sup>Santos DYAC, Salatino MLF. Foliar flavonoids of Annonaceae from Brazil: taxonomic significance. *Phytochemistry*, **2000**, 55, 567-573.

<sup>394</sup>Leboeuf M, Cavé A, Bhaumik PK, Mukherjee B, Mukherjee R. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry*, **1982**, 21, 12, 2783-2813.

<sup>395</sup>Cronquist A. The evolution and classification of flowering plants. *The New York Botanical Garden*, **1988**, New York.

<sup>396</sup>Hutchinson J. The Genera of Flowering Plants. Dicotyledones. *Clarendon Press*, **1964**, 1, Oxford.

<sup>397</sup>Heywood VH. Flowering Plants of the World. *University Press*, **1978**, Oxford.

<sup>398</sup><http://fr.wikitranslation.com/en/Annonaceae> (consulté le 30/10/2013)

<sup>399</sup>Leboeuf M, Cavé A, Bhaumik PK, Mukherjee B, Mukherjee R. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry*, **1982**, 21, 12, 2783-2813.

<sup>400</sup>Le Thomas A. Annonacées. In : Flore du Gabon, Aubréville A., Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, **1969**, 16, 1-371.

<sup>401</sup>Hutchinson J. The Families of Flowering plants. *University Press*, **1973**, Oxford.

Les fruits, toujours constitués de méricarpes peuvent être classés en deux groupes selon le degré d'évolution du gynécée : les syncarpes vrais et les polycarpes ; ces derniers sont subdivisés en apocarpes et pseudosyncarpes.

Les graines des Annonaceae sont généralement lisses et possèdent un tégument dur et luisant. Elles ont un embryon de petite taille au centre d'un albumen ruminé<sup>397,402</sup>.

### 1.1.2. Intérêt pharmacologique, nutritionnel et économique

Les Annonaceae sont l'une des familles de plantes les plus utilisées du point de vue économique, nutritionnel et pharmacologique.

Du point de vue économique, diverses espèces des genres *Annona* et *Rollinia* sont cultivées pour leurs fruits comestibles. En effet, seulement quelques genres tels que *Annona*, *Rollinia*, *Uvaria* et *Asimina* produisent des fruits comestibles.



*Annona purpurea*



*Rollinia edulis*



*Xylopia aethiopica*



*Cananga odorata*

**Photo II.1.1. : Quelques espèces des Annonaceae**

Concernant le genre *Annona*, le plus économiquement important<sup>403</sup>, on peut citer entre autres *A. muricata* (corossol vrai), *A. cherimola* (cherimoya), *A. squamosa* (pomme-cannelle), *A. senegalensis* (pomme-cannelle du Sénégal), *A. reticulata* (cœur de bœuf), *A. montana* (corossol bâtard), *A. glabra* (pomme-cannelle de mer), *A. purpurea* (soncoya) et *A. diversifolia*

<sup>402</sup> Keay RWJ, Annonaceae in Flora of West Tropical Africa, **1954**, 2<sup>nd</sup> Ed, Vol.1, London.

<sup>403</sup> Janick J, Paull RE. The Encyclopedia of Fruit & Nuts. Cambridge University Press, **2006**, Cambridge, 180p.

(ilama)<sup>404,405</sup>. Chez le genre *Rollinia*, quelques espèces sont également consommées ; il s'agit de *R. pulchrinervis*, *R. williamsii* et *R. edulis*<sup>404,406</sup>.

Par ailleurs, les graines de *Xylopia aethiopica* (poivre de Guinée ou d'Éthiopie) et de *Monodora myristica* (muscade de calabash) sont utilisées comme condiments et les fleurs de *Cymbopetalum penduliflorum* comme épices<sup>396,407</sup>.

Certaines espèces telles que *Cananga odorata* et *Artabotrys odoratissimus* possèdent des fleurs odorantes et sont utilisées comme matières premières en parfumerie<sup>394,408</sup>. D'autres fournissent des huiles comestibles, des savons, des colorants, des cordages ou sont employées comme combustibles<sup>409,410</sup> ou insecticides.

En médecine traditionnelle, de nombreuses espèces de cette famille sont couramment employées pour le traitement d'affections diverses.

Ainsi le décocté des jeunes pousses et des feuilles d'*A. muricata* est utilisé contre les infections de la vésicule biliaire, la toux, les indigestions, la diarrhée et la dysenterie. La purée de feuilles est utilisée en cataplasme pour soulager l'eczéma et le rhumatisme ; les fruits mûrs préviennent le scorbut tandis que les non mûrs, doués de propriétés astringentes, luttent contre la dysenterie. Par ailleurs, les fleurs ont des propriétés antispasmodiques<sup>403</sup>.

Les écorces de tiges d'*A. senegalensis* sont utilisées pour traiter le ver de Guinée (dracunculose), la diarrhée, les gastro entérites, les morsures de serpent, les maux de dents et les infections respiratoires<sup>411</sup>. Les fruits permettent d'arrêter les vomissements, les diarrhées et la dysenterie. Les feuilles sont utilisées comme fortifiant et contre la pneumonie ; les racines permettent de traiter le rhume de poitrine (bronchite aiguë), les maux de ventre, les maladies vénériennes et les vertiges. Cette plante est active, *in vivo*, sur *Trypanosoma brucei brucei*, ce qui justifie son utilisation en médecine traditionnelle contre la maladie du sommeil<sup>412,413</sup>. En outre, certains extraits ont montré des activités anti-bactérienne et anti-tumorale<sup>414</sup>.

Le décocté des feuilles d'*A. squamosa* est un remède contre le rhume tandis que celui des écorces de tiges est utilisé pour arrêter la diarrhée. Le jus de fruits traite les diarrhées infantiles<sup>415</sup>. Les racines sont utilisées pour le traitement de la dysenterie et la poudre obtenue

---

<sup>404</sup> Castaneda RR. Frutas silvestres de Colombia. Vol.II, **1969**, p.58-63, Bogota.

<sup>405</sup> Kerharo J, Adam JG. La Pharmacopée sénégalaise traditionnelle, plantes médicinales et toxiques. Ed. Vigot Frères, Paris, **1974**, 1011 p.

<sup>406</sup> Von Reis S, Lipp FJ. New plant sources for drugs and foods from the New York botanical garden herbarium. *Havard University Press*, **1982**, Cambridge, Massachusets.

<sup>407</sup> Walker A, Sillans R. Les plantes utiles du Gabon. *P. Lechevalier*, **1961**, Paris.

<sup>408</sup> Leboeuf M, Streith J, Cavé A. Alcaloïdes des Annonacées: alcaloïdes des écorces de *Cananga odorata* Hook. F. et Thomson. *Ann. Pharm. Fr.*, **1975**, 33, 1, 43-47.

<sup>409</sup> Mishra A, Dogra JVV, Singh JN, Jha OP. Post Coital Antifertility Activity of *Annona squamosa* and *Ipomoea fistula*. *Planta Med.*, **1979**, 35, 3, 283-285.

<sup>410</sup> Naidu NB, Saletore SA. *Annona squamosa* (custard apple) seed. IV. Soapmaking properties. *Indian Soap J.*, **1954**, 20, 141-147.

<sup>411</sup> Fatope MO, Audu OT, Takeda Y, Zeng L, Shi G, Shimada H, McLaughlin JL. Bioactive ent-kaurene diterpenoids from *Annona senegalensis*. *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 301-303.

<sup>412</sup> Sahpaz S, Bories C, Loiseau PM, Cortes D, Hocquemiller R, Laurens A, Cave A. Cytotoxic and antiparasitic activity from *Annona senegalensis* seeds. *Planta Med.*, **1994**, 60, 538-540.

<sup>413</sup> Freiburghaus F, Kaminsky R, Nkunya MH, Brun R. Evaluation of African medicinal plants for their *in vitro* trypanocidal activity. *J. Ethnopharmacol.*, **1996**, 55, 1-11.

<sup>414</sup> Durodola JI. Antitumor effects against sarcoma 180 ascites of fractions of *Annona senegalensis*. *Planta Med.*, **1975**, 28, 32-36.

<sup>415</sup> Enweani IB, Esebelahie NO, Obroku J, Obi LC. Use of soursop and sweetsop juice in the management of diarrhoea in children. *J. Diarrhoeal Dis. Res.*, **1998**, 16, 252-253.

à partir des graines possède des propriétés insecticides. Par ailleurs, outre les propriétés antibactériennes relevées chez la plante<sup>416</sup>, les extraits d'écorces de tiges ont montré des effets antitumoraux au laboratoire<sup>417</sup>.

Le décocté des écorces de racines d'*Uvaria scheffleri* est utilisé contre les fièvres et les états fébriles. Les extraits de cette plante ont montré en outre des activités anti-malariales<sup>418</sup>. Chez le même genre, on peut noter l'action diurétique du décocté des racines d'*U. leptocladon* dans le traitement de la blennorragie (gonorrhée) ainsi que son usage contre la dysenterie<sup>419</sup>.

Les espèces du genre *Artabotrys* possèdent également de nombreuses applications en médecine traditionnelle. C'est le cas de *A. modestus* dont l'infusion des feuilles est un remède contre les nausées et les vomissements, le décocté des racines lutte contre les maux de ventre et la diarrhée<sup>419</sup>. *A. hexapetalus* est utilisée comme antipaludique<sup>420</sup>, *A. thomsonii* contre les splénomégalies<sup>421</sup> et *A. suaveolens* contre le choléra<sup>422</sup>. Outre les utilisations traditionnelles rapportées, il est à noter l'activité hormonale (antioestrogène et antifertilité) d'extraits de *A. odoratissimus*<sup>423,424</sup>.

### 1.1.3. Chimie des Annonaceae

Les Annonaceae ont été pendant longtemps l'une des familles de plantes les moins explorées du point de vue de leur constitution chimique. Depuis quelques décennies, de nombreuses études chimiques des espèces de cette famille ont été menées. Ces études qui ont fait l'objet, en 1982, d'une mise au point par Leboeuf et al.<sup>394</sup>, ont permis de mettre en évidence de nombreux métabolites secondaires appartenant à divers groupes chimiques.

De tous les composés isolés des Annonaceae à ce jour, **les alcaloïdes** occupent une place de choix non seulement de par leurs activités pharmacologiques révélées, mais par leur diversité structurale. Il est important de souligner que la plupart des alcaloïdes isolés de cette famille sont de type isoquinoléine. Les isoquinoléines des Annonaceae sont de divers types structuraux ; on peut citer entre autres les isoquinoléines simples, les benzyloisoquinoléines, les bis-benzyloisoquinoléines, les protoberbérines, les tétrahydroprotoberbérines et les aporphinoïdes. Par ailleurs, des structures de type indolique ou  $\beta$ -carboline ont été mises en évidence<sup>394</sup>.

<sup>416</sup> Anjaria JV. "Herbal Drugs: Potential for Industry and Cash". In: *New Crops for Food and Industry*. Ed. G. Wickens Haq N. and Day P. *Chapman and Hall*, London, UK, **1989**, pp.84-92.

<sup>417</sup> Hopp DC, Zeng L, Gu Z, McLaughlin JL. Squamotacin: an annonaceous acetogenin with cytotoxic selectivity for the human prostate tumor cell line (PC-3). *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 97-99.

<sup>418</sup> Nkunya MHH, Weenen H, Bray DH, Mgani QA, Mwasumbi LB. Antimalarial activity of Tanzanian plants and their active constituents: the genus *Uvaria* (Annonaceae). *Planta Med.*, **1991**, 57, 341-343.

<sup>419</sup> Kokwaro JO. Medicinal Plants of East Africa. 3<sup>rd</sup> Ed., **2009**, Nairobi: University of Nairobi Press, 478p.

<sup>420</sup> Peigen X. Recent developments on medicinal plants in China. *J. Ethnopharm.*, **1983**, 7, 95-109.

<sup>421</sup> Bouquet A. Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville). Mémoire N°36, O.R.S.T.O.M., **1969**, Paris.

<sup>422</sup> Hirschhorn HH. Botanical remedies of the former Dutch East Indies (Indonesia). Part II: Dicotyledones up to and including *leguminosae*. *J. Ethnopharm.*, **1983**, 8, 65-96.

<sup>423</sup> Prakash AO. Effect of *Artabotrys odoratissimus* extracts on rat uterine glycogen, protein and non protein nitrogen. *Planta Med.*, **1980**, 38, 54-61.

<sup>424</sup> Prakash AO. Antiestrogenic mode of action of leaf extracts of *Artabotrys odoratissimus*. *Indian J. Exp. Biol.*, **1978**, 16, 1214-1215.

Les benzyloisoquinoléines sont des molécules généralement connues pour leurs propriétés spasmolytiques et relaxantes des muscles lisses et de l'utérus<sup>425,426</sup>.

Les bisbenzyloisoquinoléines ont fait l'objet de nombreuses études pharmacologiques. Ces études ont mis en évidence des propriétés antibactérienne, antifongique, anti tumorale et hypotenseur<sup>425</sup>. Elles sont connues depuis longtemps comme responsables de l'activité des curares.

Hormis les alcaloïdes, d'autres structures non alcaloïdiques ont été mises en évidence chez les Annonaceae. Il s'agit des **polyphénols**, des **terpénoïdes**, des **polyacétates**, des **composés aromatiques**, des **carbohydrates**, des **lipides**, des **acides aminés** et des **protéines**.

## 1.2. Le genre *Isolona*

### 1.2.1. Présentation

Le genre *Isolona* appartient à la sous-classe des Magnoliids, à l'ordre des Magnoliales et à la famille des Annonaceae. Il est représenté par une vingtaine d'espèces présentes en Afrique tropicale et à Madagascar<sup>427,428</sup>. Nous donnons ici la liste des espèces appartenant à ce genre : *I. campanulata*, *I. capuronii*, *I. cauliflora*, *I. congolana*, ***I. cooperi***, *I. dewevrei*, *I. ghesquierei*, *I. heinsenii*, *I. hexaloba*, *I. linearis*, *I. maitlandii*<sup>429</sup>, *I. perrieri*, *I. pleurocarpa*, *I. thonneri*, *I. zenkeri*, *I. madagascariensis*<sup>430</sup>, *I. deightonii*<sup>6</sup>, *I. humbertiana*<sup>6</sup>, *I. letestui*<sup>6</sup>, *I. pilocarpa*<sup>6</sup>.

Les *Isolona* sont des arbres ou arbustes, glabres ou à indument de poils simples, des sous-bois de la forêt dense humide. Ils produisent des fleurs hermaphrodites, axillaires ou naissant sur des rameaux defeuillés, solitaires ou géminées, dressées ou pendantes. Elles présentent trois à quatre petites bractées imbriquées, soudées à la base. Le calice se compose de trois petits sépales valvaires. Les pétales égaux, au nombre de six, sont en un verticille, valvaires, souvent longuement soudés en un tube à la base. Les étamines, très nombreuses, sont en trois ou quatre verticilles. Les carpelles soudés sont en un ovaire uniloculaire contenant de nombreux ovules, étroitement et irrégulièrement insérés, à placentation pariétale.

Les fruits à péricarpe ligneux, lisse plus ou moins côtelé ou bosselé, sont ovoïdes ou ellipsoïdes-oblongs. Ils contiennent de nombreuses graines noyées dans une pulpe charnue.

Les graines à testa lisse et brun sont ellipsoïdes à subglobuleuses.

### 1.2.2. Usages traditionnels des *Isolona*

Divers usages en médecine traditionnelle des espèces du genre *Isolona* ont été décrits dans la littérature.

---

<sup>425</sup> Shamma M, Moniot JL. Isoquinoline alkaloids research, 1972-1977. *Plenum Press*, **1978**, New York, 425 p.

<sup>426</sup> Shamma M. The isoquinoline alkaloids, chemistry and pharmacology. *Academic Press*, **1972**, New York, 594 p.

<sup>427</sup> Boti JB, Yao PA, Koukoua G, N'guessan TY, Casanova J. Components and chemical variability of *Isolona campanulata* Engler & Diels leaf oil. *Flavour Fragr. J.*, **2006**, 21, 166-170.

<sup>428</sup> Achenbach H, Löwel M. Constituents of *Isolona maitlandii*. *Phytochemistry*, **1995**, 40, 3, 967-973.

<sup>429</sup> Achenbach H. Investigations on West African medicinal plants. *Pure Appl. Chem.*, **1986**, 58, 5, 653-662.

<sup>430</sup> [http://www.plantes-botanique.org/genre\\_isolona](http://www.plantes-botanique.org/genre_isolona) (consulté le 30/10/2013)



*Isolona campanulata*



*Isolona hexaloba*

**Photo II.1.2. : Quelques espèces du genre *Isolona***

En Côte d'Ivoire, l'espèce *I. campanulata* Engl. & Diels est utilisée pour combattre la stérilité féminine et comme aphrodisiaque<sup>431</sup>. *I. cooperi* est utilisée comme reconstituant<sup>432</sup> et pour le traitement de la maladie du sommeil.

Au Congo, *I. hexaloba* Engl. & Diels est utilisée comme purgatif et relaxant musculaire<sup>431</sup>.

### 1.2.3. Phytochimie des *Isolona*

Diverses études phytochimiques ont été effectuées sur le genre *Isolona*. Ces études ont permis de mettre en évidence, des **alcaloïdes**, des **indoles**, des **tanins**, des **stéroïdes**, des **terpènes** et des **lactones**. Par ailleurs, à notre connaissance aucune acétogénine n'a été décrite chez ce genre à ce jour.

#### 1.2.3.1. Tanins, terpènes, stéroïdes et lactones

Un screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de stéroïdes, de terpènes et de tanins dans divers extraits d'*Isolona hexaloba*, *I. pilosa* et *I. zenkeri*<sup>433</sup>. En outre, le polycarpol (Figure II.1.2.3.1) un triterpène ubiquitaire des Annonaceae, a été isolé seulement de *I. campanulata*<sup>434</sup>, à côté de la présence de tanins<sup>435</sup>.

Par ailleurs, l'étude chimique des huiles essentielles d'*I. cooperi* a révélé la présence de composés terpéniques et lactoniques dans cette espèce<sup>427</sup>.

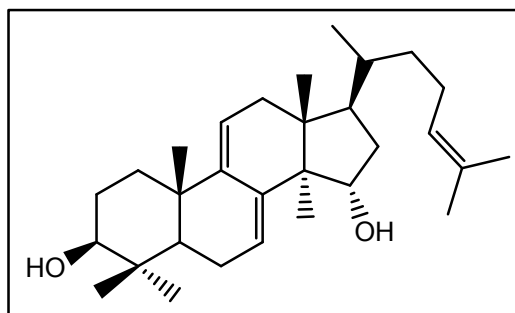
<sup>431</sup> Kerharo J, Bouquet A. Plantes médicinales et toxiques de la Côte d'Ivoire et Haute-Volta. Ed. Vigot Frères, Paris, **1950**, 295 p.

<sup>432</sup> Adjanohoun EJ, Aké Assi L. Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Éd. Centre National de Floristique, Abidjan, **1979**, 250 p.

<sup>433</sup> Cabalion P, Fournet A, Mangenet P, Bouquet A. Preliminary chemical studies on plants of the Congo. *Fitoterapia*, **1980**, 51, 2, 89-111.

<sup>434</sup> Hocquemiller R, Cabalion P, Bruneton J, Cavé A. Alcaloïdes des Annonacées : 23. Alcaloïdes des écorces d'*Isolona campanulata* Engler et Diels. *Pl. Med. Phytoth.*, **1978**, 12, 3, 230-234.

<sup>435</sup> Odebiyi OO, Sofowora EA. Phytochemical screening of Nigerian medicinal plants II. *Llodia*, **1978**, 41, 3, 234-246.



**Figure II.1.2.3.1 : Polycarpol**

### 1.2.3.2. Alcaloïdes

La plupart des métabolites isolés des *Isolona* appartient à cette classe de composés. Ceux isolés, comme chez la plupart des Annonaceae, sont des **isoquinoléines**, notamment des **bisbenzyltétrahydroisoquinoléines** et des **aporphinoïdes**.

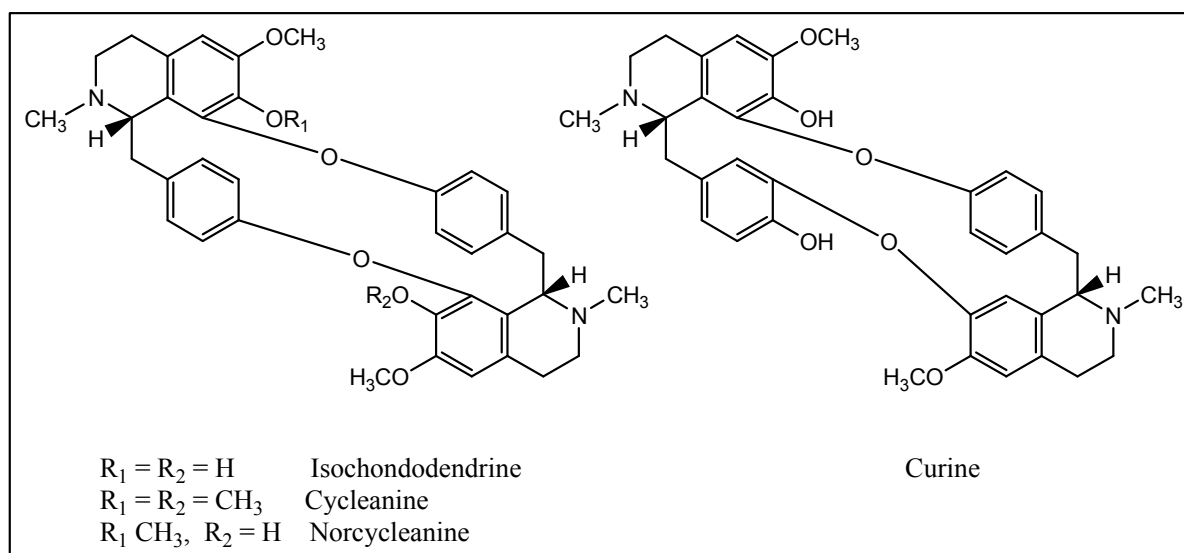
#### 1.2.3.2.1. Les bisbenzyltétrahydroisoquinoléines

Comme leur nom l'indique, les bisbenzyltétrahydroisoquinoléines sont des isoquinoléines tétrahydrogénées, qui possèdent dans leur structure deux noyaux benzyles (Figure II.1.2.3.2a). C'est l'une des plus importantes classes d'alcaloïdes naturels connus pour leurs diverses activités biologiques. Ils sont largement répandus chez les Ménispermaceae<sup>436</sup>. Ce sont des inhibiteurs de la cholinestérase<sup>437</sup>, des antituberculeux, des antibactériens, antifongiques, antimalariaux, anticancéreux, anti HIV-1 et HIV-2<sup>59,92,438</sup>. En outre, plusieurs molécules de ce groupe sont hypotensives tandis que d'autres, actives au niveau de la plaque motrice ont une action curarisante<sup>59</sup>.

<sup>436</sup> Barbosa-Filho JM, Ca-Cunha EVL, Gray AI. In: Cordell GA, Editor. Alkaloids of the Menispermaceae. *The alkaloids*, **2000**, 54, 1-190.

<sup>437</sup> Cometa MF, Fortuna S, Palazzino G, Volpe MT, Salgado ER, Nicoletti M, Tomassini L. New cholinesterase inhibiting bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Abuta grandifolia*. *Fitoterapia*, **2012**, 83, 476-480.

<sup>438</sup> Otshudi AL, Apers S, Pieters L, Claeys M, Pannecouque C, De Clercq E, Van Zeebroeck A, Lauwers S, Frédérick M, Foriers A. Biologically active bisbenzylisoquinoline alkaloids from the root bark of *Epinerum villosum*. *J. Ethnopharmacol.*, **2005**, 102, 89-94.



**Figure II.1.2.3.2a : Bisbenzyltétrahydroisoquinoléines des *Isolona***

Chez les *Isolona*, les bisbenzyltétrahydroisoquinoléines ont été retrouvés chez *I. ghesquiereina*<sup>439</sup>, *I. hexaloba* et *I. pilosa*<sup>440</sup>.

#### 1.2.3.2.2. Les aporphinoïdes

Les aporphinoïdes sont des isoquinoléines fréquents chez certaines familles archaïques telles que les Annonaceae, les Lauraceae, les Magnoliaceae, les Monimiaceae, les Menispermaceae, les Hernandiaceae et les Ranunculaceae<sup>59</sup>. Très peu de membres de cette famille de composés ont été isolés des *Isolona* (Figure II.1.2.3.2b). Les espèces ayant fourni ces composés sont *I. pilosa*, *I. zenkeri*<sup>440</sup> et *I. campanulata*<sup>434</sup>. Par ailleurs, une seule proaporphine, la (-)-**N-méthylcrostparine** et une seule oxoaporphine, la **liriodénine**, ubiquitaire des Annonaceae, ont été isolées respectivement de *I. zenkeri*<sup>440</sup> et de *I. campanulata*<sup>434</sup>.

De nombreuses études biologiques menées sur la liriodénine ont montré qu'elle est antibactérienne, antifongique<sup>Erreur ! Signet non défini.</sup>, analgésique<sup>441</sup>, cytotoxique<sup>442</sup> et sédative<sup>441</sup>. L'anonaïne quant à elle a montré des activités inhibitrice de la dopamine-adénylate-cyclase<sup>443</sup>, antibactérienne<sup>444</sup>, hypotensive et cytotoxique<sup>441</sup>.

<sup>439</sup> Mambu L, Martin M-T, Razafimahefa D, Ramanitrahambola D, Rasoanaivo P, Frappier F. Spectral characterisation and antiplasmodial activity of bisbenzylisoquinolines from *Isolona ghesquiereina*. *Planta Med.*, **2000**, 66, 537-540.

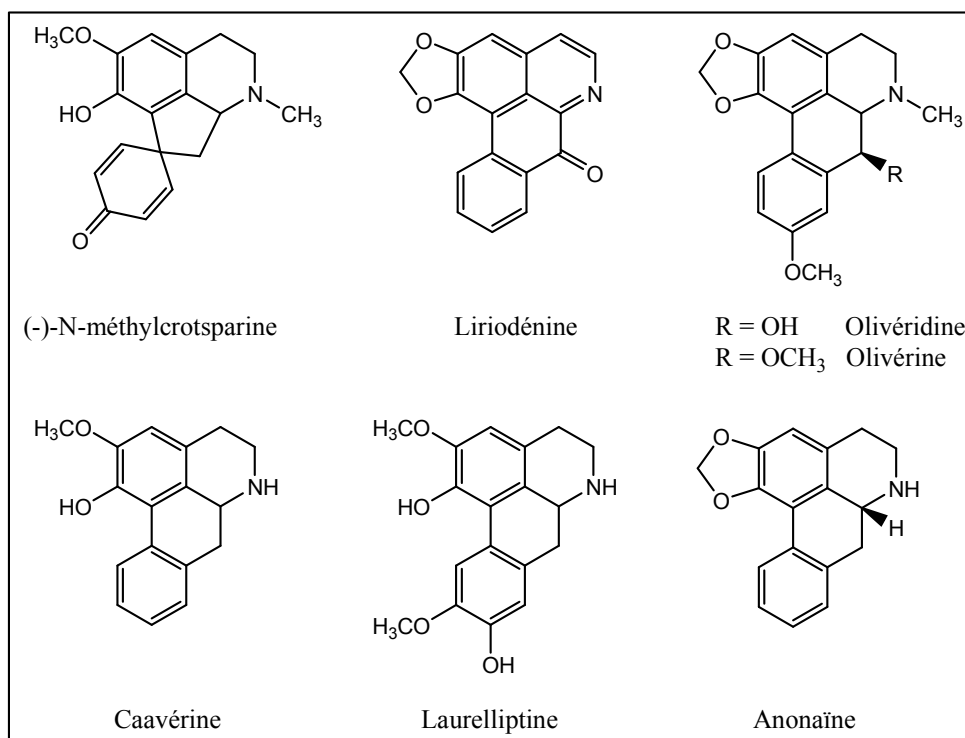
<sup>440</sup> Hocquemiller R, Cabalion P, Bouquet A, Cavé A. *C. R. Acad. Sci. Paris, Série C*, **1977**, 285, 447.

<sup>441</sup> Leboeuf M, Cavé A, Forgacs P, Tiberghien R, Provost J, Touché A, Jacquemin H. Alcaloïdes des Annonacées XL : étude chimique et pharmacologique des alcaloïdes de l'*Annona montana* MACF. *Plantes médicinales et phytothérapie*, Tome XVI, **1982b**, 3, 169-184.

<sup>442</sup> Borup-Grochtmann I, Kingston DGI. Aporphine Alkaloids from *Annona acuminata*. *J. Nat. Prod.*, **1982**, 45, 102.

<sup>443</sup> Sheppard H, Brughardt CR. The dopamine-sensitive adénylate cyclase of the rat caudate nucleus-3. The effect of aporphines and protoberberines. *Biochem. Pharmacol.*, **1978**, 27, 8, 1113-1116.

<sup>444</sup> Chen CR, Beal JL, Doskotch RW, Mitscher LA, Svoboda GH. A phytochemical study of *Doryphora sassafras*. II. Isolation of eleven crystalline alkaloids from the bark. *Lloydia*, **1974**, 37, 3, 493-500.



**Figure II.1.2.3.2b : Aporphinoïdes des *Isolona***

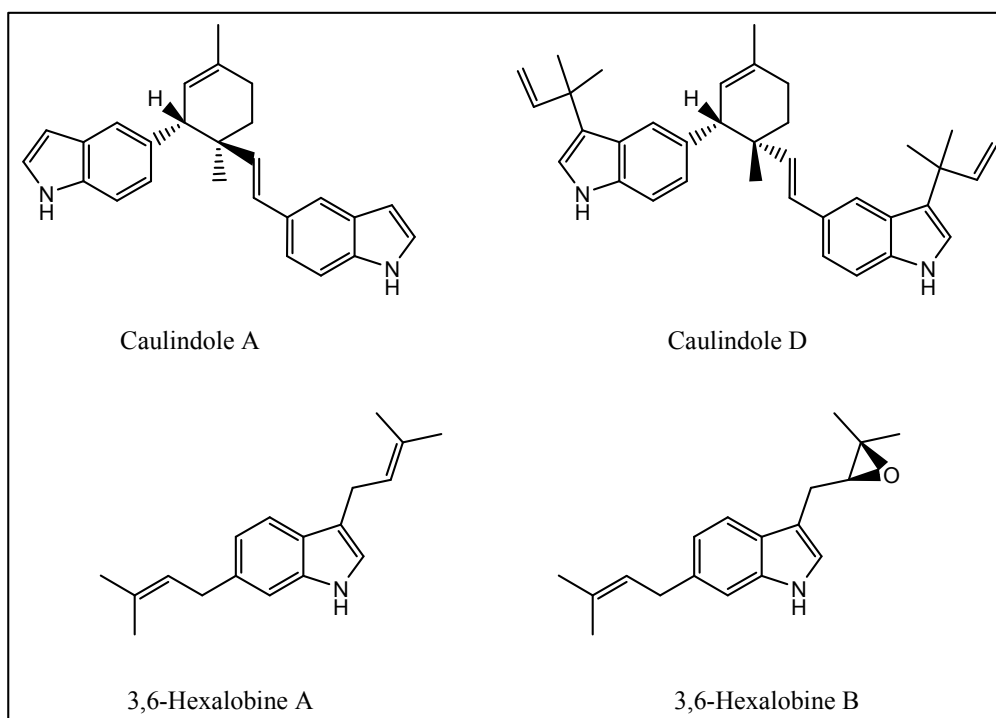
### 1.2.3.3. Indoles

De nombreux indoles ont été isolés du genre *Isolona*. Ce sont généralement des **indoles prénylés** qui se présentent sous forme **monomère** ou **dimère** (Figure II.1.2.3.3).

Les **monomères** ont été mis en évidence dans les feuilles et les écorces de tige de *I. maitlandii*<sup>428</sup>, dans les écorces de tige et de racine de *I. cauliflora*<sup>445</sup> ainsi que dans les huiles essentielles des feuilles, des écorces de tige et des racines de *I. cooperi*<sup>7</sup>. Ces composés ont été décrits comme possédant des activités antifongiques<sup>428,446</sup>. Par ailleurs, le **5-(3-méthyl-2-butényl)-1H-indole** et le **(E)-5-(3-méthylbuta-1,3-diényl)-1H-indole** isolés de *I. cauliflora* inhibent la croissance de *Plasmodium falciparum* (CI<sub>50</sub> = 21 µg/mL)<sup>445</sup>.

<sup>445</sup> Makangara JJ, Henry L, Jonker SA, Nkunya MHH. The caulindoles: dimeric prenylindoles from *Isolona cauliflora*. *Phytochemistry*, **2004**, 65, 227-232.

<sup>446</sup> Achenbach H. Investigations on West African medicinal plants. *Pure Appl. Chem.*, **1986**, 58, 5, 653-662.



**Figure II.1.2.3.3 : Indoles prénylés isolés des *Isolona***

Les **dimères** ont été isolés des écorces de tige et des racines de *I. cauliflora*. Les Caulindoles A et D (Figure II.1.2.3.3) sont également antifongiques ; ils inhibent la croissance de *Aspergillus niger*, *A. flavus* et *Botryodiplodia theobromae*<sup>445</sup>, des champignons pathogènes des plantes.

### 1.3. L'espèce *Isolona cooperi*

#### 1.3.1. Classification

**Règne :** *Plantae*

**Sous-règne :** *Tracheobionta*

**Superdivision :** *Spermatophyta*

**Division :** *Mangoliophyta*

**Sous-classe :** *Magnoliids*

**Ordre :** *Magnoliales*

**Famille :** *Annonaceae*

**Genre :** *Isolona*

**Espèce :** *Isolona cooperi* Hutch. & Dalz.

#### 1.3.2. Description botanique et écologie

*Isolona cooperi* est un arbuste pouvant atteindre deux mètres de haut. Cette plante présente des feuilles oblongues-obovales de grande taille (8-27 cm de long sur 2,5-10 cm de large), obtuses à arrondies à la base, acuminées et glabres (Photo II.1.3.2). Ces feuilles, à limbe gaufré, sont

brillantes dessus et mat dessous. On distingue dix à treize paires de nervures latérales très saillantes dessous et une nervure médiane saillante dessus.



**Photo II.1.3.2 : *Isolona cooperi* Hutch. & Dalz. ex Cooper**  
(Photo T. OKPEKON)

Les fleurs de couleur jaune verdâtre sont solitaires et axillaires. La corolle étalée mesure environ 4,5 cm de diamètre. Les lobes sont lancéolés, de dimensions 2 cm de long sur 5 mm de large à la base.

Les fruits, jaunes à maturité, sont glabres, lisses avec de petites taches blanches<sup>447</sup>.

Cette plante ne pousse que dans les sous-bois des forêts denses tropicales et humides de l'Afrique de l'Ouest depuis le Libéria jusqu'au Ghana.

En Côte d'Ivoire, on la rencontre dans les forêts pélo-hygrophiles du Sud du pays, à l'état disséminé.

### 1.3.3. Propriétés pharmacologiques

Il existe très peu de données dans la littérature sur l'utilisation d'*Isolona cooperi* en médecine traditionnelle.

Au Ghana, cette plante est utilisée comme contre-poison d'usage plus ou moins magique<sup>448</sup>.

Au Sud de la Côte d'Ivoire, chez les peuples Attié et Abé, la plante est employée comme reconstituant. Les feuilles triturées avec un peu d'eau servent à se frictionner le corps<sup>432</sup>. Par ailleurs, elle est utilisée par les praticiens traditionnels de cette région pour le traitement de la maladie du sommeil.

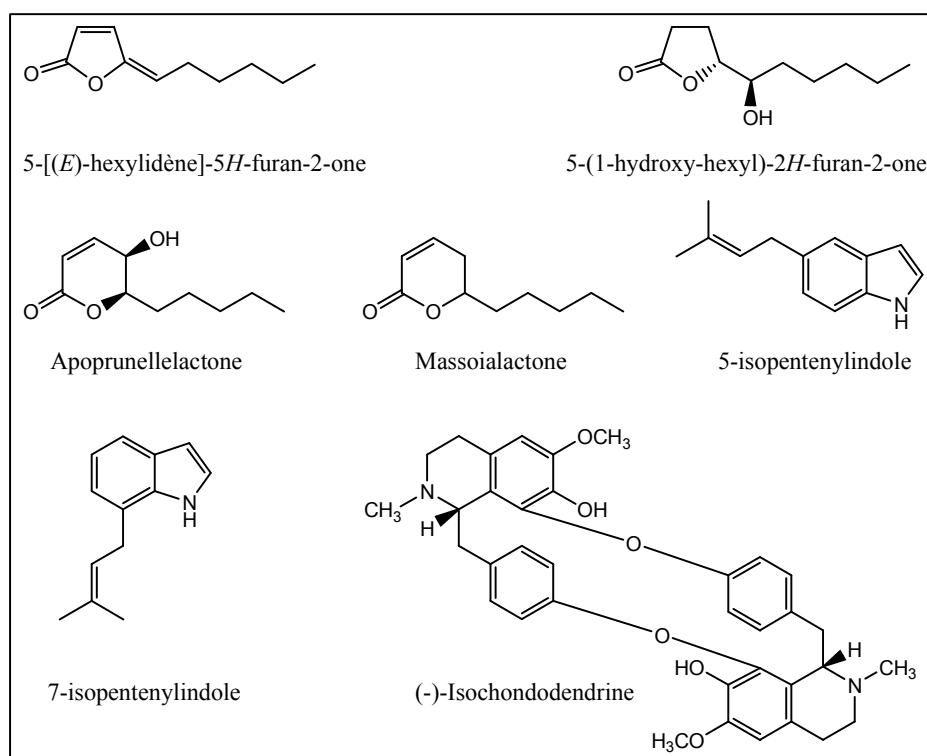
### 1.3.4. Travaux antérieurs sur *Isolona cooperi*

Les extraits cyclohexanique, chlorométhylénique et alcaloïdique d'*Isolona cooperi* ont été étudiés par **Okpekon T<sup>5</sup>** en 2006 pendant ses travaux de thèse. Les extraits étudiés ont montré

<sup>447</sup> Hutchinson J, Dalziel JM. Flora of West Tropical Africa. HMSO, 1954, Vol.1, part 1, 2<sup>nd</sup> Ed., London.

<sup>448</sup> Irvine FR. Woody Plants of Ghana. Oxford University Press, Oxford, London, 1961, 868 p.

des activités intéressantes sur *Trypanosoma brucei brucei*, *Leishmania donovani*, *L. major* et *Plasmodium falciparum*. De cette étude, deux lactones dont une de structure nouvelle, l'apoprunellelactone, et un bisbenzyltétrahydroisoquinoléine ont été isolés (Figure II.1.3.4). En outre, les huiles essentielles des feuilles, des écorces de tige et de racine ont été étudiées<sup>7</sup>. Par combinaison de la CPG-Masse et de la RMN <sup>13</sup>C, divers composés terpéniques (monoterpènes et sesquiterpènes), des lactones et des indoles prénylés ont été identifiés (Figure II.1.3.4).



**Figure II.1.3.4 : Molécules d'*Isolona cooperi***

Par ailleurs, l'analyse aux rayons X des feuilles sèches de cette plante a permis de mettre en évidence la présence de micro-éléments tels que le fer, le manganèse, le zinc et le sélénium<sup>449</sup>.

## 2. Extractions et isollements des composés des feuilles, des écorces de tige et des racines d'*Isolona cooperi*

Les feuilles, les écorces de tige et les racines d'*Isolona cooperi* ont été récoltées au Sud-est de la Côte d'Ivoire, dans leur habitat naturel. La poudre de plante obtenue après séchage et broyage est soumise à une extraction.

<sup>449</sup> Djama AAD, Kouassi Goffri MC, Koua AA, Ofosu FG, Aboh IJK. Trace Element Analysis of some Antiparasitic Medicinal Plants in Côte d'Ivoire Using Energy-Dispersive X-ray Fluorescence (EDXRF) Technique. *Curr. Res. J. Biol. Sci.*, **2011**, 3, 3, 209-215.

## 2.1. Extractions

Le protocole d'extraction est le même pour tous les organes de la plante. Ce protocole est présenté sur la figure II.2.1. Pour chaque organe de plante, un extrait chlorométhylénique et un extrait alcaloïdique sont effectués.

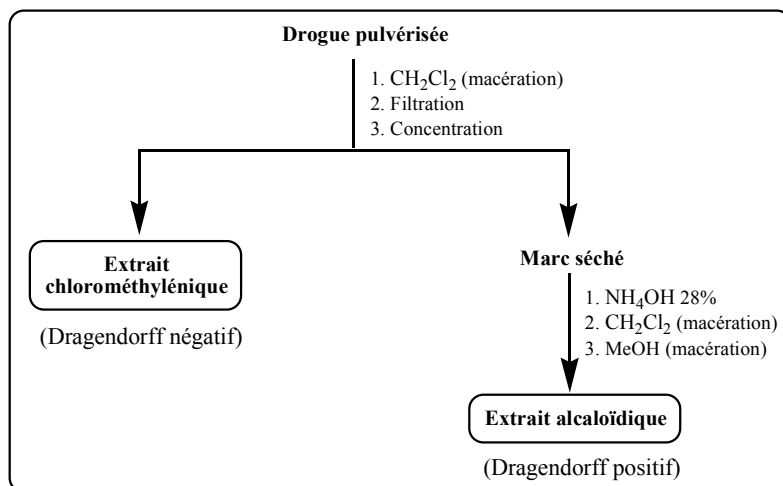


Figure II.2.1 : Extractions d'*Isolona cooperi*

## 2.2. Isolements

### 2.2.1. Isolement des feuilles

Deux extraits chlorométhylénique (**Icf.D**) et alcaloïdique (**Icf.A**) ont été étudiés. La purification des ces extraits est indiquée sur la figure II.2.2. Quatorze composés ont été isolés et identifiés.

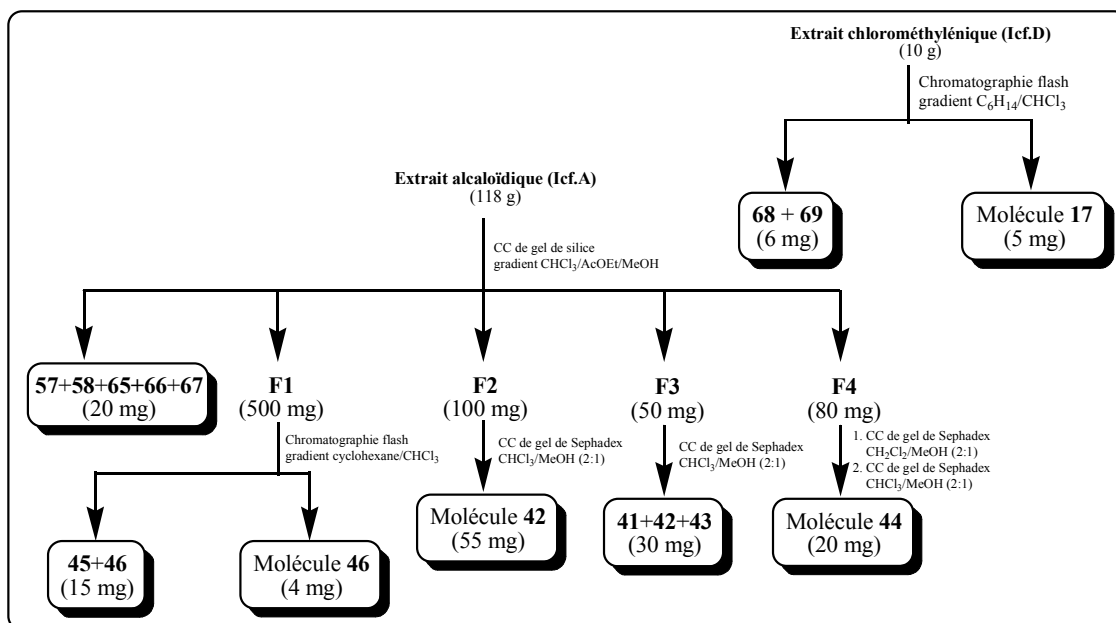
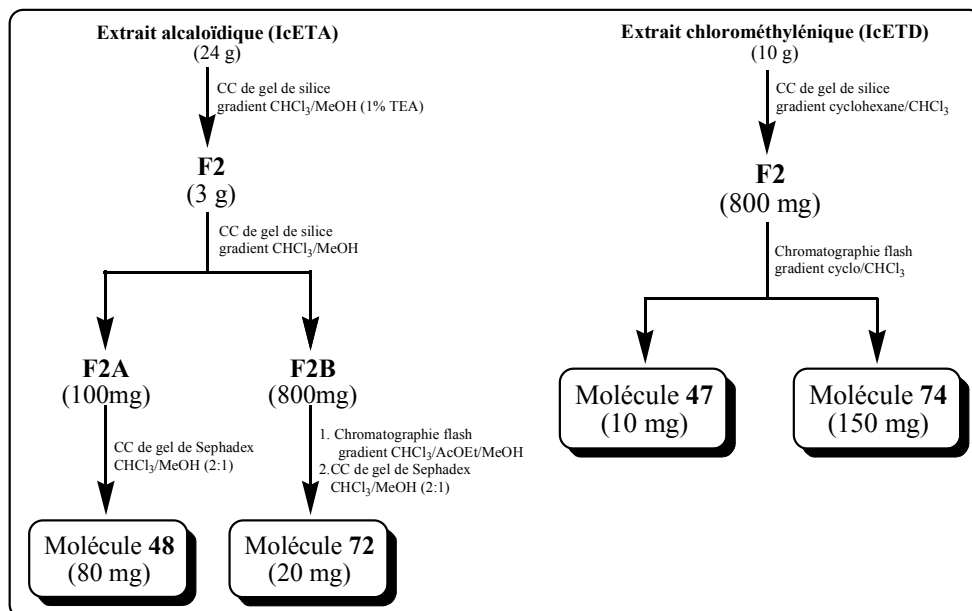


Figure II.2.2.1 : Purification des extraits chlorométhylénique et alcaloïdique des feuilles

### 2.2.2. Isolement des écorces de tige

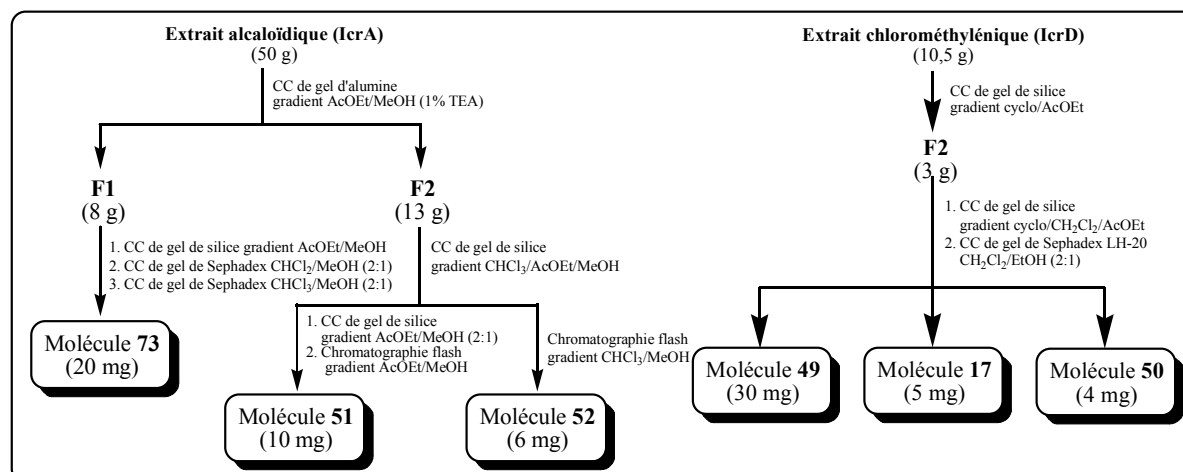
Deux composés ont été isolés de l'extrait chlorométhylénique (**IcETD**) et deux de l'extrait alcaloïdique (**IcETA**).



**Figure II.2.2.2 : Purification des extraits chlorométhylénique et alcaloïdique des écorces de tige**

### 2.2.3. Isolement des racines

La purification des extraits chlorométhylénique et alcaloïdique des racines a permis d'isoler et d'identifier six composés. Les étapes de cette purification sont indiquées sur la figure II.2.2.3.



**Figure II.2.2.3 : Purification des extraits chlorométhylénique et alcaloïdique des racines**

### 3. Détermination structurale des composés isolés

#### 3.1. Acides gras-esters gras-lactone

##### 3.1.1. Analyse structurale de la molécule 47 (Acide oléique)

Le composé **47** a été obtenu à partir de la fraction F2 de l'extrait chlorométhylénique des écorces de tige. Il se présente sous forme d'une huile blanchâtre. Sa formule brute  $C_{18}H_{34}O_2$  a été déduite de son spectre de masse ESIHR réalisé en mode négatif qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M-H]^-$  à  $m/z$  281,2480 (calculé 281,2481). Cette formule correspond à un indice de déficience en hydrogène de deux.

Le spectre infrarouge de **47** montre une bande de groupement hydroxyle à  $3373\text{ cm}^{-1}$ , une bande de groupement carbonyle d'acide carboxylique à  $1708$  et une bande à  $691\text{ cm}^{-1}$  caractéristique d'un composé éthylénique de configuration Z.

La convergence des données infrarouge, de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$ , ainsi que la masse, en accord avec les données de la littérature<sup>218</sup>, nous permettent d'identifier le composé **47** à l'**acide oléique**.

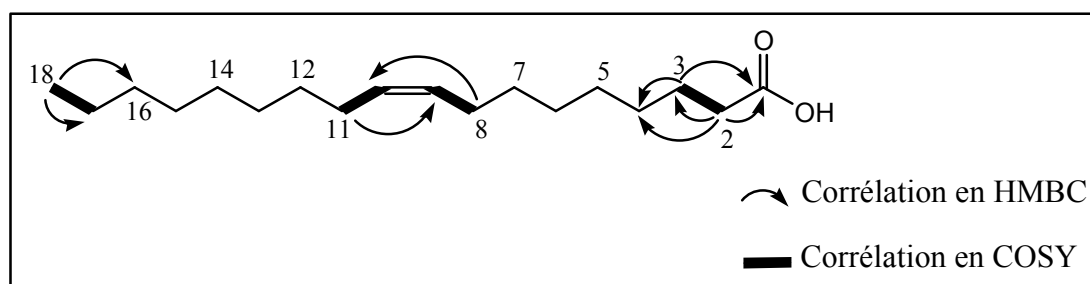


Figure II.3.1.1 : Quelques corrélations en COSY et en HMBC de l'acide oléique

##### 3.1.2. Analyse structurale de la molécule 49 (Acide 6-Z-octadécénoïque)

Le composé **49** se présente sous forme d'une huile très visqueuse de couleur violette. Il a été isolé à partir de la fraction F2 de l'extrait chlorométhylénique des racines. Sa formule brute  $C_{18}H_{34}O_2$  est déduite de son spectre de masse ESIHR, réalisé en mode négatif qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M-H]^-$  à  $m/z$  281,2487 (calculé 281,2486). Cette formule correspond à un indice de déficience en hydrogène de 2. Le spectre infrarouge du composé **49** est caractéristique d'un acide gras insaturé de configuration Z attesté par les bandes à  $1710$  et  $720\text{ cm}^{-1}$ .

L'identité du composé **49** est finalement confirmée comme correspondant à l'**acide 6-Z-octadécénoïque**.

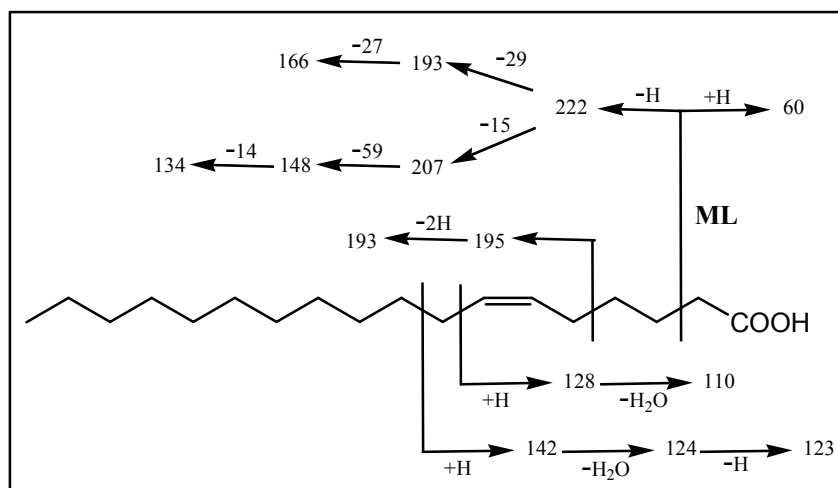


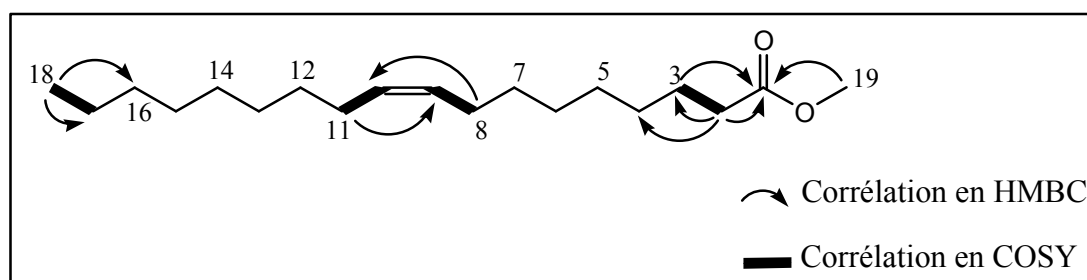
Figure II.3.12 : Quelques fragments importants en SMIE de l'acide 6-octadécénoïque

### 3.1.3. Analyse structurale de la molécule 45 (Oléate de méthyle)

Le composé **45** qui se présente sous forme d'une huile incolore a été isolé à partir de la fraction F1 de l'extrait alcaloïdique des feuilles. Sa formule brute  $C_{19}H_{36}O_2$  a été déduite de son spectre de masse ESIHR réalisé en mode positif qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+Na]^+$  à  $m/z$  319,2614 (Calculé 319,2613).

Le spectre infrarouge du composé **45**, caractéristique des esters aliphatiques, met en évidence des bandes très intenses d'élongation C-H à 2960, 2924 et 2853  $cm^{-1}$ , une forte bande de groupement carbonyle à 1742  $cm^{-1}$  et une bande d'élongation C-O d'ester à 1170  $cm^{-1}$ . Des bandes de groupement éthylénique sont également visibles à 1466 et 1435  $cm^{-1}$ ; la bande à 669  $cm^{-1}$  indique une configuration *Z* pour ce composé alors qu'on l'observerait à 960-970 pour une configuration *E*.

De ses données spectrales, la structure du composé **45** a été déduite comme étant celle du **(9Z)-octadécaénoate de méthyle** communément appelé **oléate de méthyle**.



Figures II.3.1.3 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC de l'oléate de méthyle

#### 3.1.4. Analyse structurale des constituants du mélange (45 + 46) (Oléate de méthyle et Palmitate de méthyle)

Le mélange (**45** + **46**), obtenu à partir de la fraction F1 de l'extrait alcaloïdique des feuilles, se présente sous forme d'une huile jaune-pâle. Deux composés **45** et **46** aux temps de rétention de 15.88 et 14.69 minutes respectivement en GC-SM ont été identifiés. Il s'agit de l'**oléate de méthyle** et du **palmitate de méthyle** respectivement.

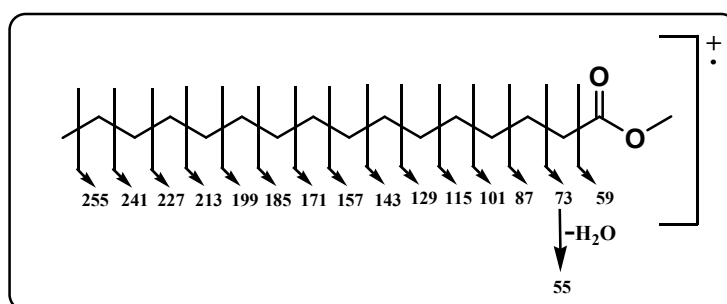


Figure II.3.1.4 : Fragments en SMIE du palmitate de méthyle

#### 3.1.5. Analyse structurale des constituants du mélange (68 + 69)

Le mélange (**68** + **69**) qui se présente sous forme d'une huile blanchâtre a été obtenu à partir de l'extrait chlorométhylénique des feuilles. Deux composés aux temps de rétention 21,58 (**68**) et 22,38 (**69**) minutes sur le spectre GC-SM ont été identifiés au **Palmitate de (E)-3,7,11,15-tétraméthylhexadec-2-ényl** et au **Stéarate de (E)-3,7,11,15-tétraméthylhexadec-2-ényl** respectivement.

En effet, le spectre infrarouge de ce mélange, caractéristique des esters gras met en évidence de fortes bandes de groupements C-H à 2917 et 2849  $\text{cm}^{-1}$ , une forte bande de groupement carbonyle à 1736  $\text{cm}^{-1}$  et une bande de groupement éthylénique à 1698  $\text{cm}^{-1}$ . Par ailleurs, une forte bande de groupement éther C-O est visible à 1170  $\text{cm}^{-1}$ .

Les spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , semblables à ceux du trans-phytol (**10**) sont en accord avec le spectre infrarouge. La différence avec le spectre du phytol réside en la présence d'un groupement carbonyle d'ester sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  de (**68** + **69**) indiquant que les composés **68** et **69** sont des esters du phytol. La configuration *E* adoptée pour ces composés est déduite des corrélations observées sur le spectre NOESY entre les protons à 4,58 ppm (H-1') et ceux du méthyle à 1,68 (H-20') d'une part, et d'autre part, entre le proton vinylique à 5,35 (H-2') et ceux à 2,00 (H-4'). Par comparaison du signe du pouvoir rotatoire du mélange ( $\alpha_D = +18$ ) avec celui du (*E*)-phytol, nous proposons une configuration *R* pour les carbones C-7' et C-11'.

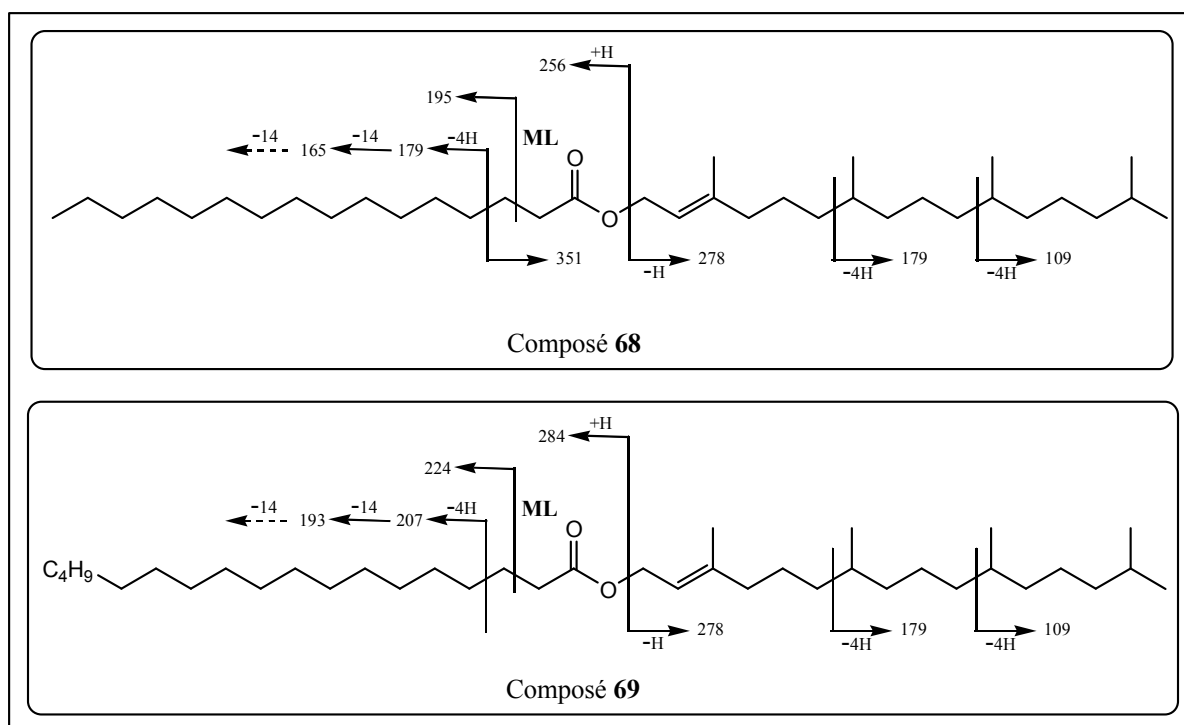


Figure II.3.1.5 : Quelques fragments importants en SMIE des composés 68 et 69

### 3.1.6. Analyse structurale des constituants du mélange (57 + 58 + 65 + 66 + 67)

Le mélange (**57** + **58** + **65** + **66** + **67**) qui a l'aspect d'une huile jaune a été obtenu à partir de l'extrait alcaloïdique des feuilles. Il donne une réaction négative avec le réactif de Dragendorff indiquant l'absence d'atome d'azote dans les structures des constituants de ce mélange. Cinq composés aux temps de rétention de 19,72 (**67**), 21,54 (**58**), 21,59 (**65**), 22,25 (**57**) et 22,31 (**66**) minutes respectivement en GC-SM ont été identifiés. Il s'agit de l'**oléate de 9-Z-octadécényl** (**57**), du **palmitate de 9-Z-octadécényl** (**58**), du **palmitate d'octadécyl** (**65**), du **stéarate de 9-Z-octadécényl** (**66**) et de l'**heptacosane** (**67**).

La configuration *Z* des composés **57**, **58** et **66** est déduite du spectre infraouge qui montre une bande à  $704\text{ cm}^{-1}$  caractéristique d'une configuration *Z*.

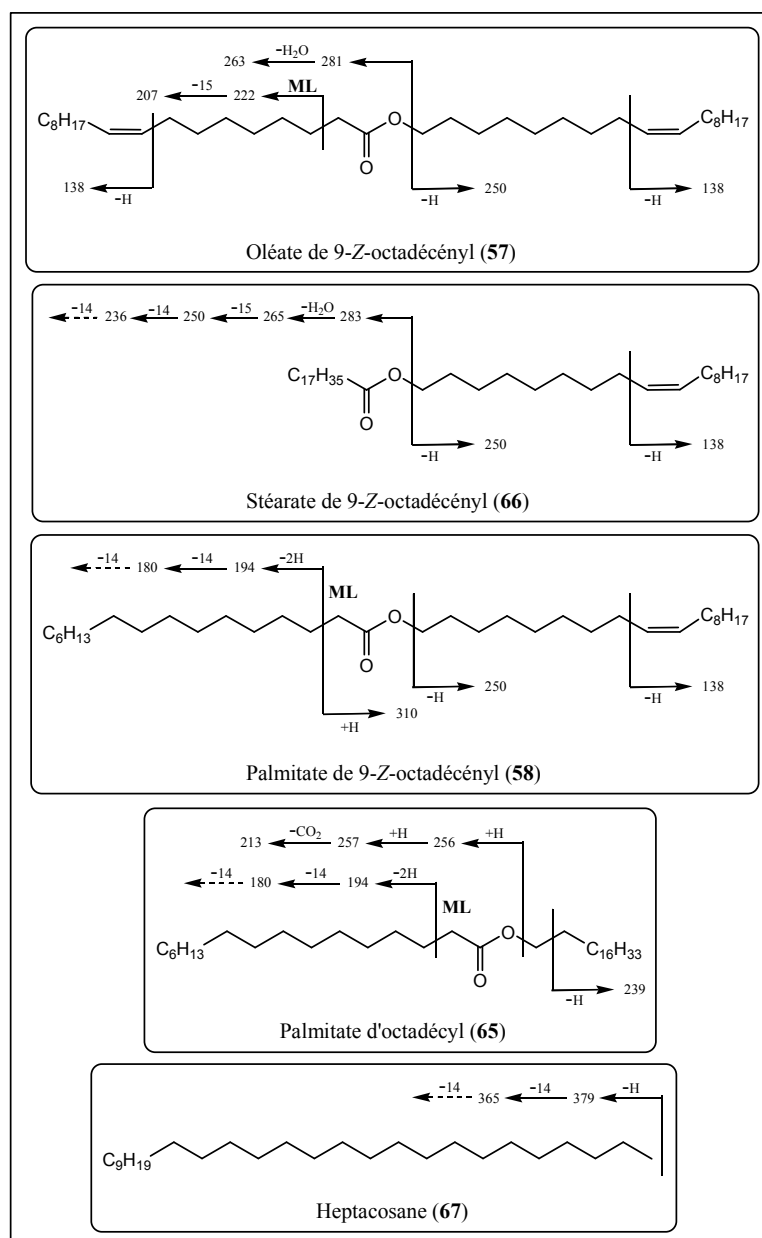
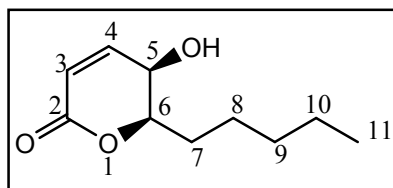


Figure II.3.1.6 : Quelques fragments importants en SMIE des composés 57, 58, 65, 66, 67

### 3.1.7. Analyse structurale de la molécule 74 (6-pentyl-5-hydroxy-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one)

Le composé **74** a été isolé sous forme d'une cire jaunâtre à partir de la fraction F2 de l'extrait chlorométhylénique des écorces de tige. Il donne une réaction positive avec le réactif de Kedde indiquant la présence d'un noyau  $\delta$ -lactone  $\alpha,\beta$ -insaturée, confirmée par le spectre infrarouge qui montre une bande caractéristique à  $1698\text{ cm}^{-1}$ . La présence de groupement hydroxyle est également indiquée sur ce spectre par la bande à  $3361\text{ cm}^{-1}$ .

Sa formule brute  $C_{10}H_{16}O_3$  a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui montre le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  185,1172 (calculé 185,1178), correspondant à un indice de déficience en hydrogène de trois. Cette formule suggère que le cycle lactonique est substitué par un groupement saturé de type pentyle.



**Figure II.3.1.7a : Structure du composé 74**

L'analyse des spectres de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ainsi que bidimensionnels COSY, HSQC et HMBC confirme cette hypothèse structurale.

En effet, le spectre de RMN  $^1\text{H}$  montre des signaux de protons oléfiniques à  $\delta$  7.00 (1H, dd,  $J = 9.6, 6$  Hz) et 6.06 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz), ainsi que de protons oxyméthynes à  $\delta$  4.29 (1H, dt,  $J = 6, 3.2, 2.8$  Hz) et 4.04 (1H, dd,  $J = 6, 2.4$  Hz). Ces protons ont été attribués respectivement à H-4, H-3, H-6 et H-5 de la  $\delta$ -lactone. La valeur des constantes de couplage ainsi que les corrélations observées sur le spectre COSY entre le signal à  $\delta$  4.04 (H-5) et ceux à  $\delta$  4.29 (H-6) et 7.00 (H-4), ce dernier corrélant avec celui à  $\delta$  6.06 (H-3), confirment ces attributions.

Les deux multiplets centrés à  $\delta$  1.89 et 1.79, intégrant chacun pour un proton, sont attribuables au méthylène en position 7, le spectre COSY montrant une corrélation entre ces résonances et le proton H-6 ( $\delta$  4.29). Le méthylène en position 8 apparaît sous forme de deux multiplets à 1.44 et 1.52 ppm. Le large signal centré à  $\delta$  1.33 intégrant pour quatre protons ainsi que le triplet à  $\delta$  0.89 comptant pour trois protons ont été attribués respectivement aux deux derniers méthylènes et au méthyle terminal de la chaîne latérale (Figure II.3.3.1.2a).

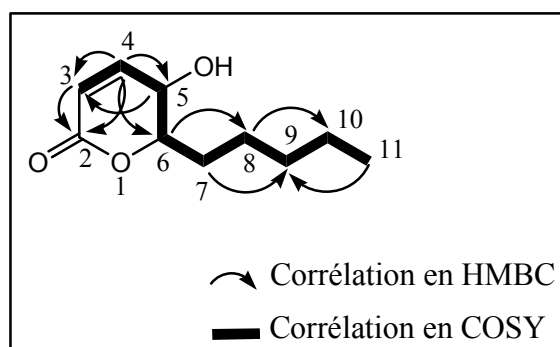
**Tableau II.3.1.7 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé 74**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m ( $J$ , Hz) |
|----------|-----------------------------------|----------------------------------------------|
| 2        | 164,2                             | -                                            |
| 3        | 122,7                             | 6,06 (d ; 9.6)                               |
| 4        | 144,6                             | 7,00 (dd ; 9.6 ; 6)                          |
| 5        | 61,9                              | 4,04 (dd ; 6 ; 2.4)                          |
| 6        | 81,1                              | 4,29 (ddd ; 6 ; 3.2 ; 2.8)                   |
| 7a, 7b   | 29,9                              | 1,79 (m) ; 1,89 (m)                          |
| 8a, 8b   | 24,6                              | 1,44 (m) ; 1,52 (m)                          |
| 9        | 31,5                              | 1,33 (m)                                     |
| 10       | 22,4                              |                                              |
| 11       | 13,9                              | 0,89 (t ; 7.2)                               |

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  confirme cette structure. En effet, ce spectre présente des signaux pour un carbonyle à  $\delta$  164.2 (C-2) et pour deux carbones éthyléniques à  $\delta$  144.6 (C-4) et 122.7 (C-3). Les deux méthynes oxygénés sont observés à  $\delta$  81.1 (C-6) et 61.9 (C-5). Ces attributions ont été réalisées grâce à l'analyse du spectre hétéronucléaire HSQC.

Les carbones du groupement pentyle apparaissent de façon caractéristique entre 13.9 et 31.5 ppm. L'étude des spectres HSQC et HMBC a permis de les attribuer sans ambiguïté (Figure II.3.3.1.2b). Les corrélations importantes en HMBC confirmant notre hypothèse structurale

sont indiquées sur la Figure II.3.3.1.2b. Par ailleurs, la configuration *5R* et *6R* des carbones C-5 et C-6 est déduite du signe du pouvoir rotatoire négatif comparativement à celui trouvé dans la littérature<sup>5</sup>.



**Figure II.3.1.7 : Corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé 74**

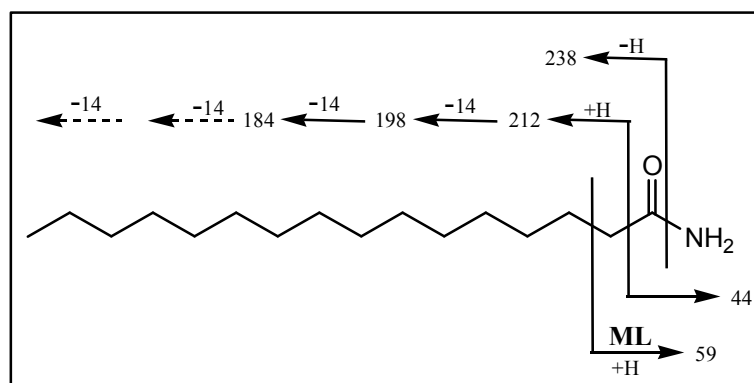
La concordance des données spectrales infrarouge, de masse, de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé **74** nous permet de suggérer sa structure comme étant celle de la **6-pentyl-5-hydroxy-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one** (Figure II.3.1.7a).

## 3.2. Composés azotés

### 3.2.1. Analyse structurale de la molécule **42** (Hexadécanamide)

Le composé **42** a été isolé à partir de la fraction F2 de l'extrait alcaloïdique des feuilles. Il se présente sous forme d'un solide blanc et donne une coloration orangée avec le réactif de Dragendorff en milieu basique indiquant la présence d'atome d'azote dans sa structure. Il a un point de fusion de 104-106°C. Sa formule brute  $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{NO}$  est compatible avec la valeur à  $m$  278  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  observée sur le spectre de masse ESI. Elle correspond à un indice de déficience en hydrogène de un. Le spectre infrarouge de **42** montre des bandes caractéristiques de fonction amide à 3392, 3259, 1643 et 1215  $\text{cm}^{-1}$ .

La convergence des données spectrales indique que le composé **42** est l'**hexadécanamide** encore appelé **palmitamide**.



**Figure II.3.2.1 : Quelques fragments importants en SMIE de l'hexadécanamide**

### 3.2.2. Analyse structurale du mélange (41 + 42 + 43)

Le mélange (41 + 42 + 43) a été isolé sous forme d'une poudre rose-pâle à partir de la fraction F3 de l'extrait alcaloïdique des feuilles. Il donne une coloration orangée avec le réactif de Dragendorff en milieu basique indiquant la présence d'atome d'azote dans la structure des constituants du mélange. Trois composés aux temps de rétention 15,14 (**hexadécamide**, 42), 16,16 ((**Z**)-9-octadécénamide, 41) et 16,30 minutes (**1-nonadécaneamine**, 43) sur le spectre GC-SM ont été identifiés.

Le spectre infrarouge du mélange (41 + 42 + 43) est semblable à celui de l'hexadécamide (42) à l'exception de la présence de bande de groupement éthylénique à  $1664\text{ cm}^{-1}$ . Sur ce spectre les bandes caractéristiques de fonctions amide et/ou amine sont observables à 3377, 3196, 3182, 3150, 1647, 1470, 1420 et  $1212\text{ cm}^{-1}$ .

Par ailleurs, la bande observée à  $689\text{ cm}^{-1}$  corrobore la configuration Z du composé 41.

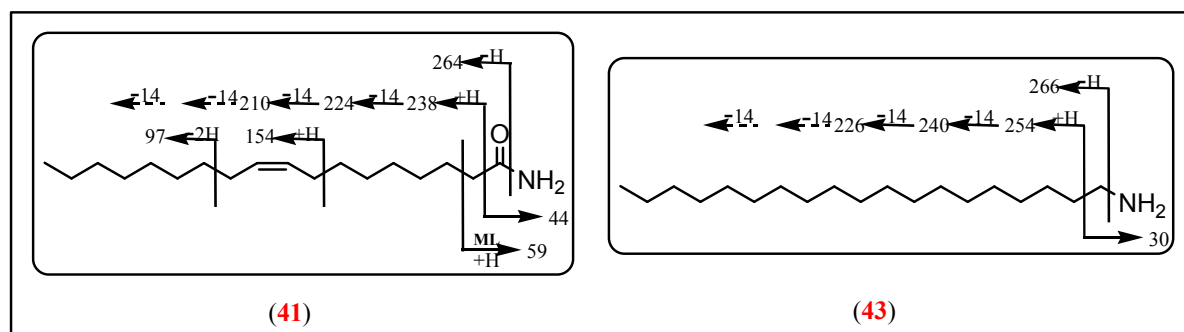


Figure II.3.2.2 : Fragments importants en SMIE des composés 41 et 43

### 3.2.3. Analyse structurale de la molécule 44 (Caféine)

Le composé 44 a été isolé sous forme de cristaux blancs à partir de la fraction F4 de l'extrait alcaloïdique des feuilles. Il a un point de fusion de  $228-230^{\circ}\text{C}$ . Sa formule brute  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$  a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  195,0882 (calculé 195,0882). Il a été identifié à la **1, 3, 7-triméthylxanthine** ou **caféine** sur la base de ses données spectrales et par comparaison avec les données de la littérature<sup>450</sup>.

A notre connaissance, *Isolona cooperi* est la seconde espèce des Annonaceae à fournir ce composé. En effet, il a déjà été isolé en 1947 par **Tanteri B** d'*Annona cherimolia*, dont il constitue le composé majoritaire des graines<sup>394</sup>.

<sup>450</sup> Islam MK, Sohrab MH, Jabbar A. Caffeine and *P*-anisaldehyde from the fruits of *Enterolobium saman* prain. *IJPSR*, **2012**, 3, 1, 168-170.

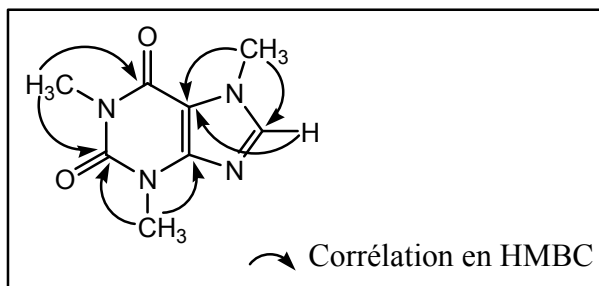


Figure II.3.2.3 : Corrélations en HMBC du composé 44

#### 3.2.4. Analyse structurale de la molécule 51 ( $\alpha$ -tomatine)

La molécule **51** a été isolée à sous forme d'un solide blanc à partir de la fraction F2 de l'extrait alcaloïdique des racines. Elle donne une réaction positive au réactif de Dragendorff en milieu basique indiquant la présence d'atome d'azote dans sa structure. Elle répond à la formule brute  $C_{50}H_{83}NO_{21}$  déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  1034,5536 (calculé 1034,5536).

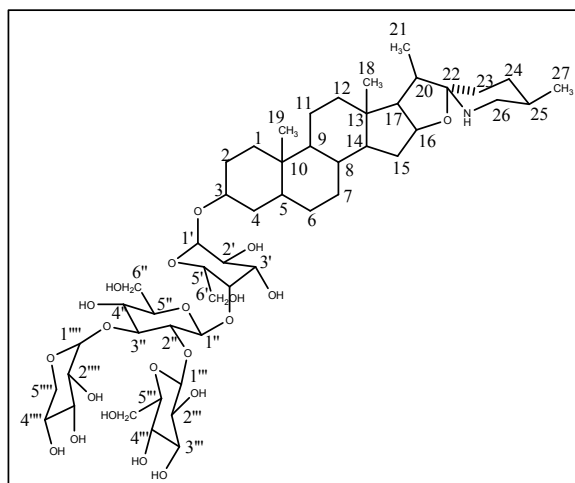


Figure II.3.2.4 : Structure de l' $\alpha$ -tomatine

La structure de la molécule **51** a été déterminée par comparaison de ses données spectrales RMN  $^{13}C$ , le pouvoir rotatoire ( $[\alpha]_D$ ), ainsi que la valeur de son point de fusion avec les données de la littérature<sup>451,452</sup>. En effet, ce composé a un point de fusion de 265-267°C (Litt. 260-265°C) et un pouvoir rotatoire spécifique de -23,1 (Littérature -29,5).

La coïncidence de nos données avec celles de la littérature sur l' $\alpha$ -tomatine nous permettent d'identifier le composé **51** à ce dernier. L' $\alpha$ -tomatine est un composé fréquemment rencontré chez les solanaceae. A notre connaissance, c'est la première fois qu'elle est isolée d'une Annonaceae.

<sup>451</sup> Weston RJ, Gottlieb HE, Hagaman EW, Wenkert E. Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Naturally Occurring Substances. LI\* *Solanum* Glycoalkaloids. *Aust. J. Chem.*, **1977**, 30, 917-921.

<sup>452</sup> Roddick JG. The steroidal glycoalkaloid  $\alpha$ -tomatine. *Phytochemistry*, **1974**, 13, 9-25.

### 3.2.5. Analyse structurale de la molécule 50 (5-formylindole)

Le composé **50**, isolé à partir de la fraction F2 de l'extrait chlorométhylénique des racines, se présente sous forme d'une poudre blanchâtre. Le spectre d'absorption UV, caractéristique du chromophore indolique<sup>453</sup> montre trois maxima à 206, 248 et 296 nm. Le spectre de masse ESIHR de **50** réalisé en mode positif montre le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  146,0610 (calculé 146,0606), ce qui permet de proposer la formule brute  $C_9H_7NO$  pour ce composé. Le composé **50** a été identifié au **5-formylindole**. C'est la première fois qu'il est décrit de cette espèce du genre *Isolona*.

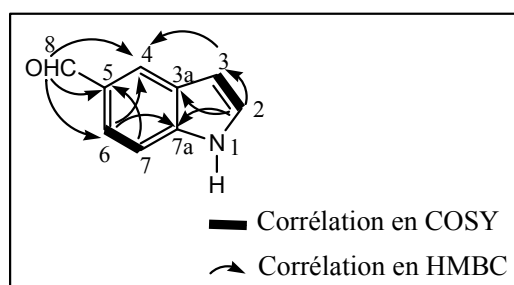


Figure II.3.2.5 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé **50**

### 3.2.6. Analyse structurale de la molécule 52 (Papavérine)

Isolé en faible quantité (6 mg) à partir de la fraction F2 de l'extrait alcaloïdique des racines, le composé **52** n'a pas pu être cristallisé. Il se présente sous forme d'une huile orange pâle et donne une réaction positive avec les réactifs de Dragendorff et de Mayer, indiquant sa nature alcaloïdique. Son spectre ultraviolet montre des maxima à 240, 290 et 320 nm typiques du chromophore isoquinoléine<sup>454</sup>. Le spectre infrarouge en accord avec le spectre UV, montre des vibrations caractéristiques d'un noyau isoquinoléine<sup>455</sup> à 1434 et 1410  $\text{cm}^{-1}$ .

La formule brute  $C_{20}H_{21}NO_4$  du composé **52** a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  340,1550 (calculé 340,1549).

La concordance de nos données spectrales en accord avec celles de la littérature<sup>456,457</sup> nous permettent d'identifier le composé **52** à la **papavérine**.

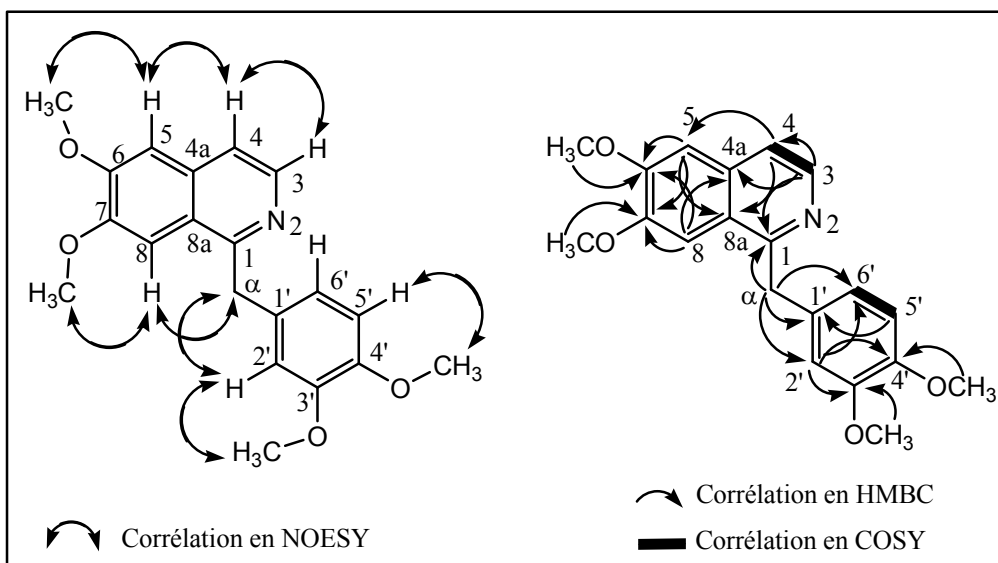
<sup>453</sup> Bruneton J, Bouquet A, Cavé A. Alcaloïdes des feuilles du *Crioceras dipladeniiflorus*. *Phytochemistry*, **1974**, 13, 1963-1967.

<sup>454</sup> Montagnac A, Hamid A, Hadi A, Remy F, Païs M. Isoquinoline alkaloids from *Ancistrocladus tectorius*. *Phytochemistry*, **1995**, 39, 3, 701-704.

<sup>455</sup> Leopold N, Baena JR, Bolboacă M, Cozar O, Kiefer W, Lendl B. Raman, IR, and surface-enhanced Raman spectroscopy of papaverine. An automated setup for in situ synthesis of the silver substrate and recording of the SER spectra. *Vib. Spectrosc.*, **2004**, 36, 47-55.

<sup>456</sup> Marsailoli AJ, Rúveda EA, Reis FAM.  $^{13}\text{C}$  NMR spectral analysis of some isoquinoline alkaloids. *Phytochemistry*, **1978**, 17, 1655-1658.

<sup>457</sup> Janssen RHAM, Lousberg RJJ, Wijkens P, Kruk C, Theuns HG. Assignment of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR resonances of some isoquinoline alkaloids. *Phytochemistry*, **1989**, 28, 10, 2833-2839.

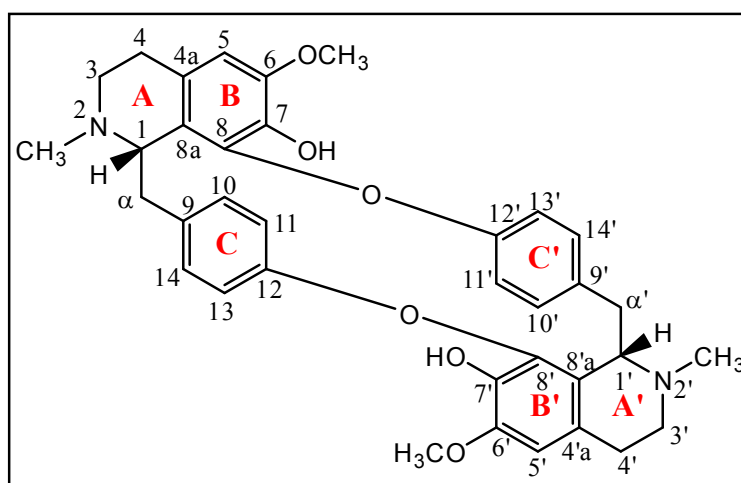


**Figure II.3.2.6 : Corrélations importantes en COSY, NOESY et en HMBC de la papavérine**

### 3.2.7. Analyse structurale de la molécule **48** [(-)-Isochondodendrine]

Le composé **48** se présente sous forme d'une poudre blanche. Il a été isolé de la fraction F2 de l'extrait alcaloïdique des écorces de tige. Il donne une réaction positive avec le réactif de Dragendorff en milieu basique suggérant la présence d'atome d'azote dans la molécule et précipite dans l'acétone.

La formule brute  $C_{36}H_{38}N_2O_6$  du composé **48** a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  595,2808 (calculé 595,2808).



**Figure II.3.2.7a : Structure du composé **48****

Sur le spectre de masse d'impact électronique de **48**, on note la présence d'un fragment à  $m/z$  298, d'intensité importante, indiquant qu'il s'agit d'une bis-benzyltétrahydroisoquinoléine

(BBTHIQ), contenant deux ponts éthers de type tête à queue. En effet, ce fragment résulte du double clivage benzylique des BBTHIQ de ce type<sup>439,458</sup>.

**Tableau II.3.2.7 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule 48**

| Atome                 | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) | HMBC                                       | COSY    | NOESY                               |
|-----------------------|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------|---------|-------------------------------------|
| 1/1'                  | 58,1                     | 4,42 (1H ; d ; 10,8)              | C3/3', C4a/4a', C9/9',<br>C8/8', C8a/8a'   | Hα/α'   | H2/2'-<br>CH <sub>3</sub> , H14/14' |
| 3/3'                  | 44,8                     | 2,81 (3H, m)                      | C1/1', C4a/4a'                             | H4/4'   | H2/2'-CH <sub>3</sub>               |
| 4/4'α,<br>4/4'β       | 25,4                     | 2,81 (3H, m)/3,06 (2H, m)         | C3/3', C5/5', C4a/4a',<br>C8a/8a'          | H3/3'   | H5/5'                               |
| 4a/4a'                | 123,4                    | -                                 | -                                          | -       | -                                   |
| 5/5'                  | 107,6                    | 6,16 (1H, s)                      | C4a/4a', C7/7'                             | -       | H6/6'-OCH <sub>3</sub> ,<br>H4/4'   |
| 6/6'                  | 150,9                    | -                                 | -                                          | -       | -                                   |
| 7/7'                  | 136,0                    | -                                 | -                                          | -       | -                                   |
| 8/8'                  | 140,2                    | -                                 | -                                          | -       | -                                   |
| 8a/8a'                | 124,6                    | -                                 | -                                          | -       | -                                   |
| 9/9'                  | 129,4                    | -                                 | -                                          | -       | -                                   |
| 10/10'                | 129,1                    | 6,23 (1H ; dd ; 8,4 ; 2)          | C14/14', C12/12', Cα/α'                    | H11/11' | Hα/α'                               |
| 11/11'                | 114,8                    | 5,82 (1H ; dd ; 8,4 ; 2)          | C13/13', C12/12',<br>C10/10', C9/9'        | H10/10' | -                                   |
| 12/12'                | 153,6                    | -                                 | -                                          | -       | -                                   |
| 13/13'                | 117,8                    | 7,01 (1H, m)                      | C9/9', C12/12'                             | H14/14' | -                                   |
| 14/14'                | 127,3                    | 7,19 (1H ; d ; 7,2)               | C10/10', C12/12'                           | H13/13' | H1/1'                               |
| α/α'a,<br>α/α'b       | 34,1                     | 2,27 (1H ; t ; 11,6)/3,06 (2H, m) | C1/1', C10/10', C14/14',<br>C9/9', C8a/8a' | H1/1'   | H10/10'                             |
| 2/2'-CH <sub>3</sub>  | 40,8                     | 2,09 (3H, s)                      | C3/3', C1/1'                               | -       | H1/1', H3/3'                        |
| 6/6'-OCH <sub>3</sub> | 55,5                     | 3,69 (3H, s)                      | C6/6'                                      | -       | H5/5'                               |
| 7/7'-OH               | -                        | 11,10 (1H, s)                     | -                                          | -       | -                                   |

La RMN <sup>1</sup>H montre douze signaux dont les intégrations donnent des nombres pairs de protons, suggérant une BBTHIQ symétrique. Dans la région des aromatiques, on observe un système ABX à δ 6,23 (dd ; *J*<sub>ortho</sub> = 8,4 Hz, *J*<sub>méta</sub> = 2,0 Hz) et 5,82 (dd ; *J*<sub>ortho</sub> = 8,4 Hz, *J*<sub>méta</sub> = 2,0 Hz), ainsi qu'un système AB à δ 7,19 et 7,01 (*J*<sub>ortho</sub> = 7,2 Hz), attribuables aux protons des noyaux C et C' de la BBTHIQ.

La corrélation sur le spectre COSY du signal à δ 6,23 (H-10/H-10') avec celui à δ 5,82 (H-11/H-11') d'une part, mais aussi entre le signal à δ 7,19 (H-14/H-14') et celui à δ 7,01 (H-13/H-13') d'autre part, confirment ces données. Ces couplages entre protons aromatiques suggèrent que les noyaux C et C' de la BBTHIQ sont disubstitués en para. Par ailleurs, sur le spectre HSQC, la corrélation des carbones à δ 117,8 et 114,8 respectivement avec les protons à δ 7,01 (H-13/H-13') et 5,82 (H-11/H-11') indique une possibilité de substitution, en ortho de ces protons, par un groupement oxygéné. Le spectre HMBC apporte une confirmation en montrant une connectivité entre le carbone quaternaire très déblindé à δ 153,6 (C-12/C-12') et les protons à δ 7,19 (H-14/H-14'), 6,23 (H-10/H-10') et 5,82 (H-11/H-11'). Le singulet à δ 6,16, corrélant

<sup>458</sup> Baldas J, Bick IRC, Ibuka T, Falco MR, de Vries JX, Porter QN. Mass spectroscopy of bisbenzylisoquinoline alkaloids. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1972**, 592-601.

en HSQC avec le carbone à  $\delta$  107,6, a été attribué aux noyaux B et B' de la BBTHIQ sur la base de l'étude du spectre HMBC.

Le doublet à  $\delta$  4,42, intégrant pour deux protons, est attribuable aux méthynes des cycles A et A' de la BBTHIQ. Sa connectivité sur le spectre COSY avec les protons à  $\delta$  3,06 et 2,27 permet de définir les protons géminés en position  $\alpha$  et  $\alpha'$ . Ces deux derniers signaux corrélient entre eux sur le spectre COSY.

Les méthylènes des cycles A et A' (H-3/H-3', H-4/H-4'), quant à eux, sont visibles à  $\delta$  3,06 et 2,81. La corrélation entre ces deux signaux sur le spectre COSY confirme ces données. Les singulets intenses à  $\delta$  3,69 (6H, s) et 2,09 (6H, s), intégrant chacun pour six protons, sont attribuables respectivement à deux groupements méthoxyles et de N-méthyles. Un signal de protons hydroxyles, intégrant pour deux protons, également observé à  $\delta$  11,10 (2H, s), suggère la présence de groupements OH dans la BBTHIQ.

La RMN  $^{13}\text{C}$  confirme notre hypothèse structurale. En effet, elle met en évidence des résonances de dix huit carbones. Dans le domaine des aromatiques, les deux signaux à  $\delta$  129,1 (C-10/C-10') et 127,3 (C-14/C-14'), sont attribuables aux autres carbones non substitués des noyaux C et C' de la BBTHIQ. Ces attributions ont été possibles grâce à l'étude des spectres HSQC et HMBC. Les carbones des cycles A et A' de la BBTHIQ sont observés à  $\delta$  58,1 (C-1/C-1'), 44,8 (C-3/C-3') et 25,4 (C-4/C-4'). Les méthoxyles, les N-méthyles et les méthylènes en  $\alpha$  et  $\alpha'$  résonnent respectivement à  $\delta$  55,5, 40,8 et 34,1.

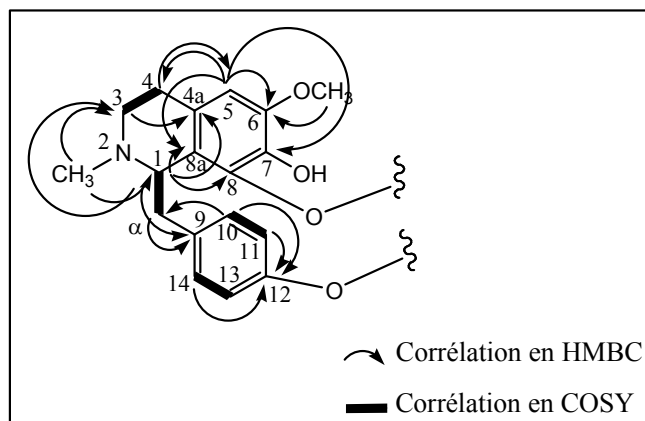
Les carbones quaternaires porteurs d'un groupement oxygéné apparaissent à  $\delta$  153,6 (C-12/C-12'), 150,9 (C-6/C-6'), 140,2 (C-8/C-8') et 136,0 (C-7/C-7'). Les autres quaternaires sont observés à  $\delta$  129,4 (C-9/C-9'), 124,6 (C-8a/C-8'a) et 123,4 (C-4a/C-4'a). Ces attributions ont été effectuées à partir de l'étude du spectre HMBC. En effet, la connectivité des protons méthoxyles ( $\delta$  3,69) et aromatiques ( $\delta$  6,16, H-5/H-5') avec le signal de carbone commun à  $\delta$  150,9 (C-6/C-6') nous permet de positionner ces groupements méthoxyles en ortho de ces protons aromatiques, c'est-à-dire en C-6/C-6'. Une confirmation est apportée par le spectre NOESY qui montre une corrélation entre ces protons.

Les positions des ponts éthers et des OH sur les noyaux B et B' ont été précisées grâce aux corrélations observées sur le spectre HMBC et par comparaison avec la littérature concernant les résonances chez les BBTHIQ de ces deux types de groupements. En effet, le carbone d'un pont éther des noyaux B et B' est observé autour de 140 ppm alors qu'un groupement OH libre est plus blindé<sup>459</sup>. Sur le spectre HMBC, les corrélations longues distances  $^3J$  observées, entre d'une part le signal à  $\delta$  6,16 (H-5/H-5') et les carbones à  $\delta$  136,0 (C-7/C-7'), mais aussi entre les méthynes à  $\delta$  4,42 et les carbones à  $\delta$  140,2 (C-8/C-8') (Figure II.3.2.7b), permettent de placer ces groupements sans ambiguïté.

Par ailleurs, le carbone à  $\delta$  129,4, montrant sur le spectre HMBC une connectivité  $^2J$  avec les protons géminés des méthylènes  $\alpha$  et  $\alpha'$  de la BBTHIQ à  $\delta$  3,06 et 2,27, ainsi qu'une connectivité  $^3J$  avec les protons méthynes à  $\delta$  4,42 (H-1/H-1'), est attribuable aux carbones alkyl-substitués C-9/C-9'.

---

<sup>459</sup> Schiff PL Jr. Bisbenzylisoquinoline alkaloids. *J. Nat. Prod.*, **1987**, 50, 529 -599.



**Figure II.3.2.7b : Quelques corrélations importantes en HMBC et en COSY du composé 48**

Le spectre UV du composé **48** met en évidence des bandes d'absorption à 214, 275 et 281 nm caractéristiques des BBTHIQ, et notamment de l'isochondodendrine. Le spectre IR est également en accord avec ces données<sup>459,460</sup>.

Les configurations absolues des carbones 1*S* et 1'*S* sont déduites du signe négatif du pouvoir rotatoire, comparativement à celui rapporté dans la littérature pour ce composé<sup>461</sup>.

L'identité du composé **48** a été finalement confirmée comme correspondant au (-)-**isochondodendrine** (Figure II.3.2.7a) par comparaison de ses données spectrales avec celles rapportées dans la littérature<sup>439,456,461</sup>.

L'isochondodendrine, isolée pour la première fois de *Nectandra rodiaei* Hook. (Lauraceae)<sup>462</sup>, est ubiquitaire des Menispermaceae. Dans la famille des Annonaceae, elle a été retrouvée chez certaines espèces des genres *Guatteria* (*G. megalopphylla*) et surtout d'*Isolona* (*I. pilosa*, *I. hexaloba* et *I. guesquiereina*)<sup>394,439</sup>.

### 3.2.8. Analyse structurale de la molécule 72

Le composé **72** a été isolé à partir de la fraction F2 de l'extrait alcaloïdique des écorces de tige. Ce composé qui se présente sous forme d'une huile verdâtre donne une coloration orangée avec le réactif de Dragendorff en milieu basique indiquant la présence d'atome d'azote dans sa structure.

Sa formule brute C<sub>36</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> a été déduite de son spectre de masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+H]<sup>+</sup> à *m/z* 597,2965 (calculé 597,2965), soit deux unités de masse de plus que l'isochondodendrine (**48**). Cette formule correspond à un degré d'insaturation de 18 au lieu de 19 chez l'isochondodendrine. Cette différence permet de suggérer une structure de type BBTHIQ comportant un seul pont éther tête à queue. Cette

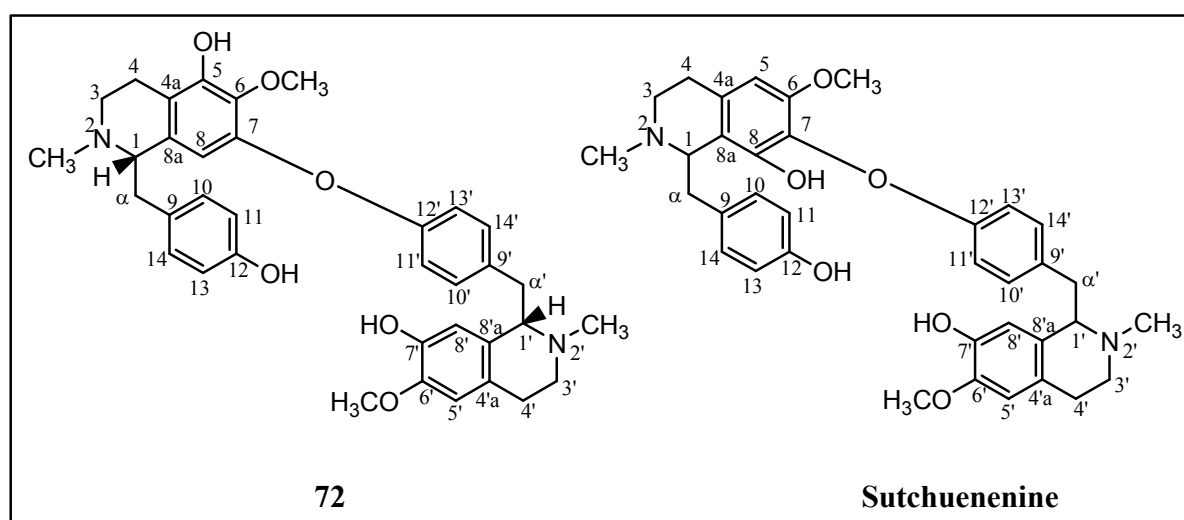
<sup>460</sup> Dwuma-Badu D, Ayim JSK, Mingle CA, Tackie AN, Slatkin DJ, Knapp JE, Schiff PL Jr. Alkaloids of *Cissampelos pareira*. *Phytochemistry*, **1975**, 2520-2521.

<sup>461</sup> Kanyinda B, Vanahaelen-Fastré R, Vanaelen M. Two new isochondodendrine-type alkaloids from the roots of *Anisocycla jollyana*. *J. Nat. Prod.*, **1997**, 60, 1121-1124.

<sup>462</sup> Faltis F, Neumann F. Alkaloids the pareira root. II. Isochondodendrine. *Monatshefte fuer Chemie*, **1922**, 42, 311-376.

hypothèse est confortée par le spectre de masse APCIMS qui montre des pics à  $m/z$  597  $[M+H]^+$ , 489, 298, 192 (pic de base) et 107 caractéristiques de ce type structural<sup>463</sup>.

En effet, l'ion fragment à  $m/z$  489  $[M-107]^+$  résulte de la perte du cycle C tandis que les pics à  $m/z$  298, 192 et 107 correspondent respectivement aux cycles ABC', A'B' et C. Par ailleurs, cette attribution suggère la présence d'un seul groupement hydroxyle et d'un seul méthoxyle sur chaque portion de cycles AB et A'B', ainsi qu'un seul hydroxyle sur le cycle C<sup>463</sup>. Ce composé présente des caractéristiques spectrales UV, infrarouge et RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  similaires à la sutchuenenine (Figure II.3.2.8a), un bisbenzyltétrahydroisoquinoléine isolé de *Cyclea sutchuenensis*<sup>463</sup>.



**Figure II.3.2.8a : Structures de la sutchuenenine et du composé 72**

Le spectre UV de **72** montre un maximum d'absorption à 285 nm attribuable à un système aromatique conjugué. Le spectre infrarouge met en évidence des groupements hydroxyles à  $3456\text{ cm}^{-1}$  et des groupements éthyléniques aromatiques à  $1615$  et  $1505\text{ cm}^{-1}$ .

Sur le spectre de RMN  $^1H$ , les protons aromatiques apparaissent entre 5,69 et 6,83 ppm, les signaux des groupements méthoxyles s'observent à  $\delta$  3,32 (6-OCH<sub>3</sub>) et 3,60 (6'-OCH<sub>3</sub>), les groupements N-CH<sub>3</sub> sont visibles à  $\delta$  2,34 (2-CH<sub>3</sub>) et 2,36 (2'-CH<sub>3</sub>) tandis que les groupements méthynes (H-1/H-1') et méthylènes (H-3/H-3', H-4/H-4', H- $\alpha$ /H- $\alpha'$ ) résonnent entre 2,43 et 3,65 ppm.

Sur le spectre de RMN  $^{13}C$ , les carbones aromatiques sont visibles entre 112,5 et 157,4 tandis que les carbones aliphatiques s'observent entre  $\delta$  25,1 et 65,7.

La différence entre le composé **72** et la sutchuenenine se situe au niveau de la position du groupement hydroxyle du cycle B. Ce groupement est situé en C-8 chez la sutchuenenine alors qu'il est situé en C-5 chez le composé **72**. La position de ce groupement en C-5 est étayée par la corrélation importante observée sur le spectre bidimensionnel HMBC entre le singulet à  $\delta$  5,69 (H-8) et les carbones à  $\delta$  65,6/65,7 (C-1/C-1') alors que cette connexion est absente chez la sutchuenenine. D'autres corrélations observées sur ce spectre ainsi que les corrélations mises

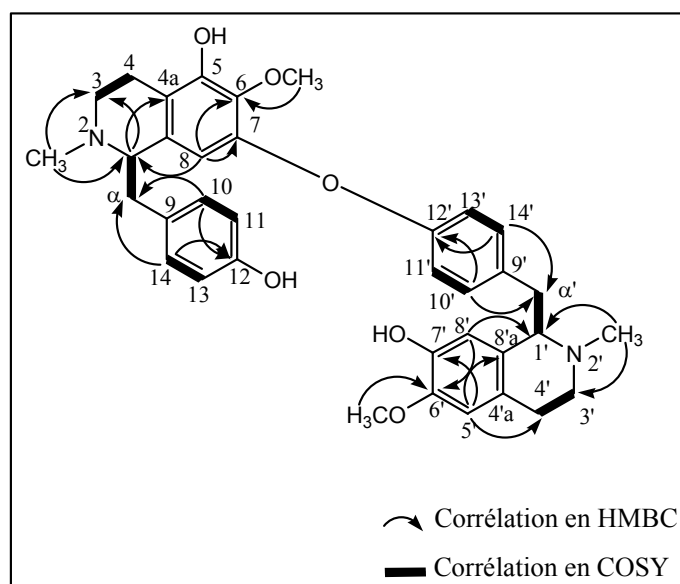
<sup>463</sup> Wang X-K, Zhao T-F, Lai S, Shizuri Y, Yamamura S. Head-to-tail bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Cyclea sutchuenensis*. *Phytochemistry*, **1993**, 33, 5, 1253-1256.

en évidence sur le spectre homonucléaire  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY confirmant la structure de **72** sont indiquées sur la figure II.3.2.8b.

**Tableau II.3.2.8 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$  de la molécule **72****

| Atome N°                              | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m ( <i>J</i> , Hz) |
|---------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------|
| 1/1'                                  | 65,6/65,7                         | 3,65 (dd ; 6,4 ; 10,8)                            |
| 3/3'                                  | 46,8/47,4                         | 2,62-2,73 (m) ; 3,04 (m)                          |
| 4/4' $\alpha$ , 4/4' $\beta$          | 25,1/25,5                         | 2,43-2,51 (m) ; 2,62-2,73 (m)                     |
| 4a                                    | 124,9                             | -                                                 |
| 4a'                                   | 129,1                             | -                                                 |
| 5                                     | 145,3                             | -                                                 |
| 5'                                    | 112,6*                            | 6,45 (s)                                          |
| 6/7                                   | 146,5                             | -                                                 |
| 6'/7'                                 | 148,1/148,3                       | -                                                 |
| 8                                     | 112,5*                            | 5,69 (s)                                          |
| 8'                                    | 115,8                             | 5,93 (s)                                          |
| 8a/8a'                                | 126,0/126,7                       | -                                                 |
| 9/9'                                  | 131,5/134,4                       | -                                                 |
| 10/14                                 | 131,8                             | 6,83 (d ; 8,4)                                    |
| 10'/14'                               | 126,9                             | 6,61 (d ; 8,4)                                    |
| 11/13                                 | 117,9/118,5                       | 6,56 (d ; 8,4)/6,70 (d ; 8,4)                     |
| 11'/13'                               | 122,9                             | 6,31 (m)                                          |
| 12/12'                                | 157,4                             | -                                                 |
| $\alpha/\alpha'a$ , $\alpha/\alpha'b$ | 40,0/40,6                         | 2,62-2,73 (m) ; 2,93-2,97 (m)                     |
| 2/2'-CH <sub>3</sub>                  | 42,0/42,2                         | 2,34 (s) ; 2,36 (s)                               |
| 6-OCH <sub>3</sub>                    | 56,3                              | 3,32 (s)                                          |
| 6'-OCH <sub>3</sub>                   | 56,0                              | 3,60 (s)                                          |

\* Carbones interchangeables



**Figure II.3.2.8b : Quelques corrélations importantes en HMBC et en COSY du composé **72****

Les configurations absolues des carbones 1*S* et 1'*S* sont déduites du signe positif du pouvoir rotatoire ( $\alpha_D = +67^\circ$ ) comparativement à celui de la sutchuenenine rapporté dans la littérature. La structure du composé **72** a été finalement établie comme indiquée sur la figure II.3.2.8a. Cette molécule est décrite pour la première fois ; il s'agit du **phénol, 4-[[[(1*S*)-1,2,3,4-tétrahydro-5-hydroxy-6-méthoxy-7-[2-méthoxy-5-[[[(1*S*)-1,2,3,4-tétrahydro-7-hydroxy-6-méthoxy-2-méthyl-1-isoquinoliny]]méthyl]phényl]-2-méthyl-1-isoquinoliny]]méthyl]**.

### 3.2.9. Analyse structurale de la molécule 73

Le composé **73** isolé à partir de la fraction F1 de l'extrait alcaloïdique des racines, se présente sous forme d'une gomme de couleur jaune-orangée. Sa formule brute  $C_{38}H_{44}N_2O_6$  a été déduite de sa masse ESIHR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  625,3279 (calculé 625,3278). Cette formule brute indique la présence de deux groupements méthoxyles supplémentaires chez le composé **73** par rapport à l'isochondodendrine (**48**) de formule brute  $C_{36}H_{38}N_2O_6$ . Cette hypothèse est en accord avec les spectres de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  de **73** semblables à ceux de l'isochondodendrine.

En effet, le spectre de RMN  $^{13}C$  de **73** met en évidence 38 résonnances constituées de six méthyles dont quatre méthoxyles, six méthylènes, treize méthynes et treize carbones quaternaires dont sept oxygénés. Le spectre de RMN  $^1H$  montre quatre signaux de groupements méthoxyles à  $\delta$  3,53 (s), 3,55 (s), 3,76 (s) et 3,80 (s), deux groupements  $N-CH_3$  à  $\delta$  2,47 (s) et 2,50 (s), onze signaux aromatiques apparaissant entre 5,97 et 6,97 ppm, et des multiplets résonnant à champs fort à  $\delta$  2,59-3,72.

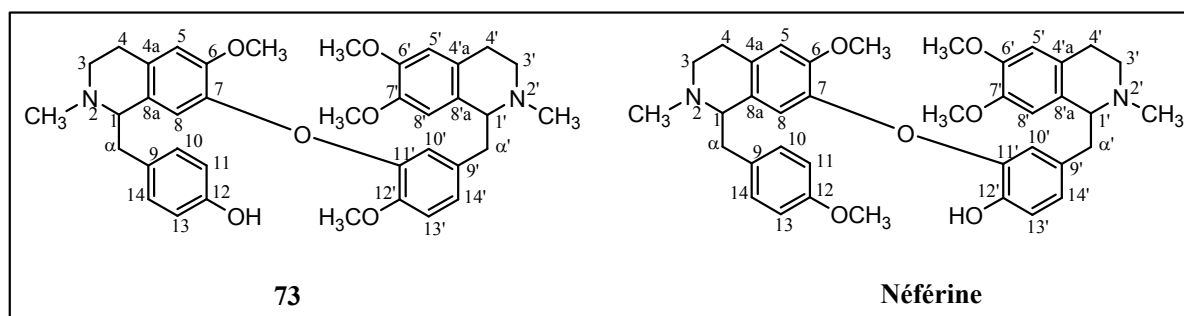


Figure II.3.2.9a : Structures du composé **73** et de la néférine

Le spectre UV de **73** semblable à celui de l'isochondodendrine, montre une bande à 280 nm caractéristique des BBTHIQ<sup>461,464,465</sup>. Le composé **73** est donc un analogue structural de l'isochondodendrine. La différence entre ces deux composés se situe au niveau de la position des ponts éthers de type « tête à queue » et de la position des méthoxyles.

<sup>464</sup> Yang J, Zhou K. Spectral assignments and reference data. NMR spectroscopic analysis of neferine and isoliensinine. *Magn. Res. Chem.*, **2004**, 42, 994-997.

<sup>465</sup> Mukherjee R, Keifer PA. Spectral assignments and reference data. Warifteine and methylwarifteine:  $^1H$  and  $^{13}C$  assignments by two-dimensional NMR spectroscopy. *Magn. Res. Chem.*, **2003**, 41, 213-218.

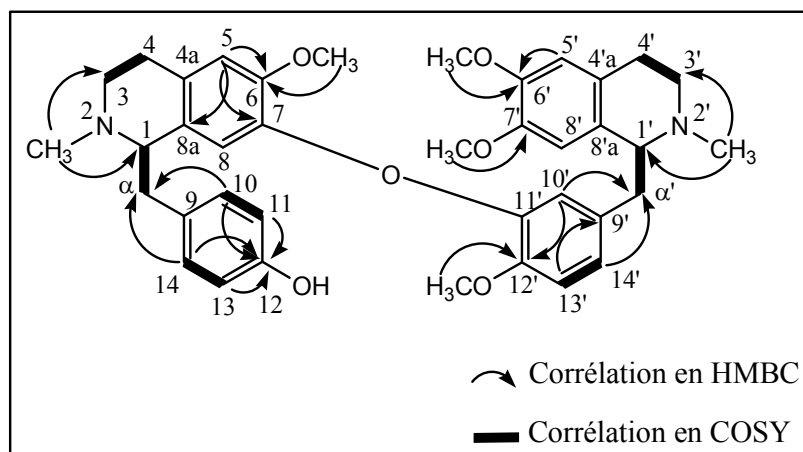
En effet, chez l'isochondrodendrine, les ponts éthers relient les carbones C-8 et C-12' d'une part et C-8' et C-12 d'autre part, alors que le composé **73** ne possède qu'un seul pont éther entre les carbones C-7 et C-11' comme chez la néférine (Figure II.3.2.9a).

**Tableau II.3.2.9 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **73****

| Atome N°                              | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz)    |
|---------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------|
| 1/1'                                  | 64,6                              | 3,66 (dd ; 5,6 ; 6,8)/3,72 (dd ; 5,6 ; 7,2) |
| 3/3'                                  | 46,3/46,4                         | 2,79 (m) / 3,19 (m)                         |
| 4/4' $\alpha$ , 4/4' $\beta$          | 24,8/25,0                         | 2,79 (m) / 2,59 (m)                         |
| 4a/4a'                                | 125,4/125,5                       | -                                           |
| 5/8'                                  | 111,0/111,1/111,2                 | 5,97 (s) / 5,98 (s)                         |
| 5'                                    |                                   | 6,49 (s)                                    |
| 6/6'                                  | 147,3/147,4                       | -                                           |
| 7/7'/12'                              | 146,1/146,2/146,4                 | -                                           |
| 8                                     | 120,7                             | 6,53 (s)                                    |
| 8a/8a'                                | 128,3/128,4                       | -                                           |
| 9/9'                                  | 131,6/134,3                       | -                                           |
| 10/14                                 | 130,9                             | 6,97 (d ; 8,4)                              |
| 10'                                   | 125,9                             | 6,77 (s)                                    |
| 11/13                                 | 114,4/116,0                       | 6,76 (d ; 8,4) / 6,87 (d ; 8)               |
| 12                                    | 155,3                             | -                                           |
| 11'                                   | 142,9                             | -                                           |
| 13'                                   | 117,1                             | 6,76 (d ; 8,4)                              |
| 14'                                   | 117,9                             | 6,76 (d ; 8,4)                              |
| $\alpha/\alpha'a$ , $\alpha/\alpha'b$ | 40,1/40,4                         | 2,66 (dd ; 8 ; 13,6) / 3,08 (dd ; 6 ; 13,2) |
| 2/2'-CH <sub>3</sub>                  | 42,1/42,2                         | 2,47 (s) ; 2,50 (s)                         |
| 6/6'-OCH <sub>3</sub>                 | 55,4/55,5/55,6/55,7               | 3,76 (s) ; 3,80 (s)                         |
| 7'/12'-OCH <sub>3</sub>               | 55,4/55,5/55,6/55,7               | 3,53 (s) ; 3,55 (s)                         |

Les positions du pont éther et des méthoxyles ont été précisées grâce aux corrélations observées sur le spectre HMBC et par comparaison avec les données de la littérature sur la néférine<sup>464</sup>. Sur le spectre HMBC, les corrélations observées entre les protons à  $\delta$  3,76/3,80 (6/6'-OCH<sub>3</sub>) et les carbones à  $\delta$  147,3/147,4 (C-6/C-6') d'une part, et entre les protons à  $\delta$  5,97/5,98 (H-5/H-8'), 6,49 (H-5') et 6,53 (H-8) et les carbones à  $\delta$  147,3/147,4 (C-6/C-6') et 146,1/146,2 (C-7/C-7'), et entre les protons à  $\delta$  3,53/3,55 (12'-OCH<sub>3</sub>) et le carbone à  $\delta$  146,4 (C-12') d'autre part, permettent de positionner les groupements méthoxyles sur les carbones C-6, C-6', C-7' et C-12', et le pont éther entre les carbones C-7 et C-11'.

D'autres corrélations observées sur ce spectre permettant de confirmer la structure de **73** ainsi que les corrélations en COSY sont indiquées sur la Figure II.3.2.9b.



**Figure II.3.2.9b : Corrélations importantes en HMBC et en COSY du composé 73**

Les configurations absolues des carbones 1R et 1'S sont déduites du signe négatif du pouvoir rotatoire comparativement à celui rapporté dans la littérature pour la néférine<sup>464</sup>. La structure du composé **73** est établie comme indiquée sur la figure II.3.2.9a. C'est un isomère de position de la néférine ; les deux composés diffèrent par la position du groupement méthoxyle en position 12 chez la néférine et en position 12' chez le composé **73**. La revue bibliographique effectuée sur ce dernier indique qu'il est décrit pour la première fois. Il s'agit du **phénol, 4-[[[(1R)-1,2,3,4-tétrahydro-6-méthoxy-7-[2-méthoxy-5-[[[(1S)-1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-2-méthyl-1-isoquinoliny]]méthyl]phenoxy]-2-méthyl-1-isoquinoliny]]méthyl]**. La figure II.3.2.9c indique une hypothèse de biogénèse de cette molécule dérivant de la L-tyrosine comme tous les alcaloïdes de type bis-benzyl-isoquinoléines.

### 3.2.10. Conclusion

- L'étude chimique des feuilles d'*Isolona cooperi* a permis d'isoler six composés dont quatre azotés parmi lesquels un alcaloïde, la caféine (**44**), et deux esters gras. *I. cooperi* est la seconde espèce de la famille des Annonaceae après *Annona cherimolia* à fournir la caféine.
- De l'étude des écorces de tige d'*I. cooperi* quatre composés dont un acide gras, une lactone et deux alcaloïdes de type bis-benzyltétrahydroisoquinoléine ont été isolés. Parmi ces alcaloïdes, le composé **72** est de structure nouvelle.
- L'étude chimique des racines d'*I. cooperi* a permis d'isoler six molécules dont un acide gras, l'acide 6-octadécénoïque (**49**), un stérol, le stigmastérol (**17**), un indole, le 5-formylindole (**50**), un glycoalcalcoïde, l' $\alpha$ -tomatine (**51**), une isoquinoléine, la papavérine (**52**) et un bisbenzyltétrahydroisoquinoléine (**73**) de structure nouvelle. Par ailleurs, les molécules connues sont isolées pour la première fois d'*I. cooperi*.

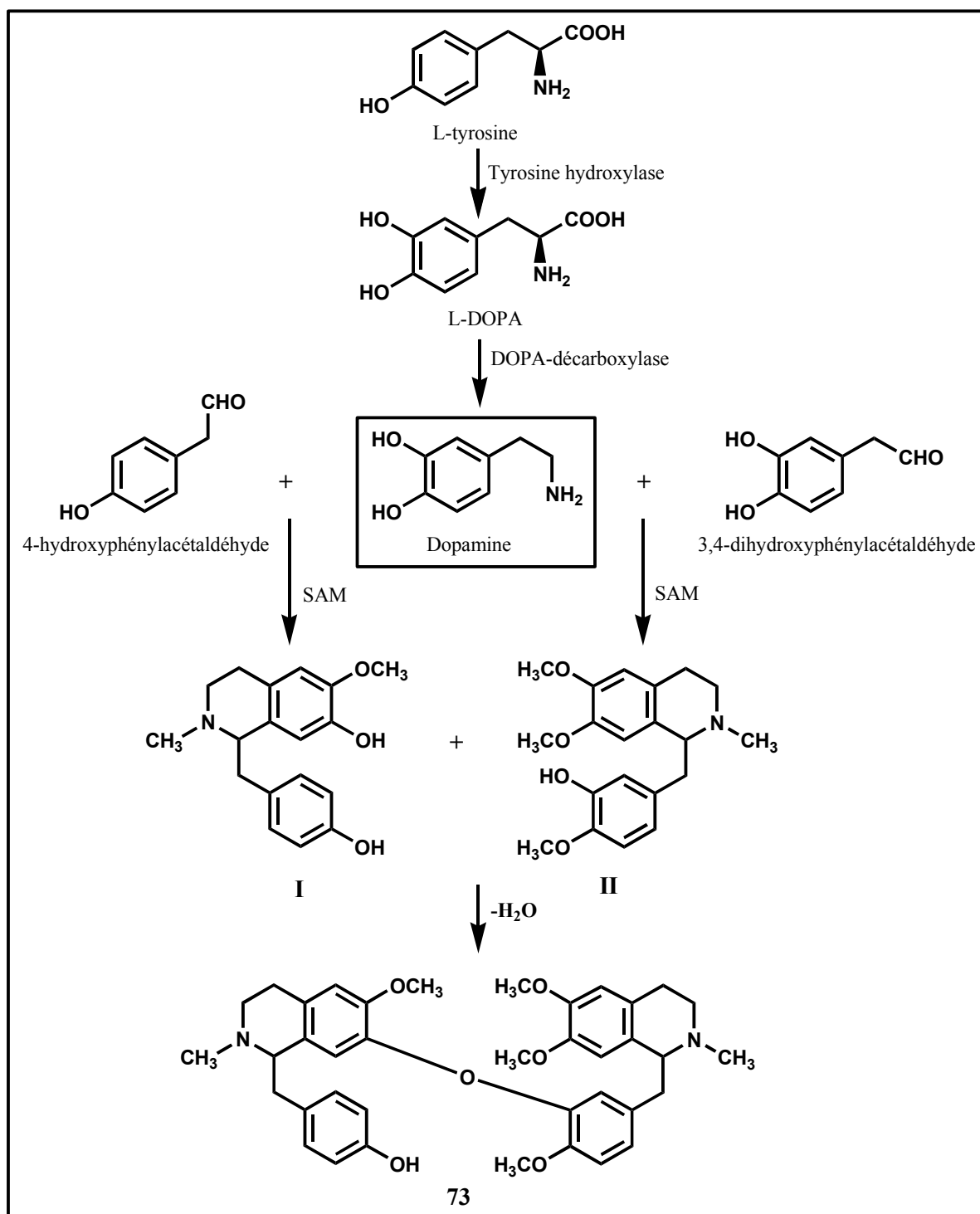


Figure II.3.2.9c : Hypothèse biogénétique de la molécule 73

## 4. Activités biologiques des extraits et des composés isolés

### 4.1. Principales activités biologiques des molécules isolées

#### 4.1.1. Acides gras

##### 4.1.1.1. Acide oléique (47)

Le nom de cet acide vient de l'huile d'olive (*Olea europea*, Oleacea) dont il constitue le composant principal (55 à 80 %). L'acide oléique est présent en abondance dans toutes les huiles animales et végétales. Il joue un rôle important dans la régulation du taux de cholestérol et protège contre les maladies cardiovasculaires<sup>466</sup>. C'est un inhibiteur non toxique de l'élastase (enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'élastine)<sup>467</sup>. Il favorise la migration des cellules MDA-MB-231 dans le processus d'invasion au cours du développement du cancer du sein. Il diminuerait le LDL-cholestérol et augmenterait conjointement le HDL-cholestérol, entraînant ainsi une diminution du risque d'athérogénèse. Par ailleurs, l'acide oléique a été décrit comme possédant des propriétés inhibitrices sur la croissance des micro- et macro-algues et des cyanobactéries<sup>468</sup>.

##### 4.1.1.2. Acide palmitique (46)

L'acide palmitique est un acide gras largement répandu dans la nature. C'est un constituant majoritaire de l'huile de palme (*Elaeis sp.*, Palmae, 41 à 47%) et des graisses et huiles animales et végétales telles que le beurre, le fromage, le lait et la viande.

L'acide palmitique diminue la viabilité des cellules souches d'embryons de souris et augmente leur apoptose<sup>469</sup>. Il entraîne également l'apoptose des cellules testiculaires de Leydig chez le rat *in vitro* et des progéniteurs des cellules endothéliales<sup>470,72</sup>, augmentant ainsi les risques d'athérosclérose à l'origine de bon nombres de maladies cardiovasculaires<sup>471,472</sup>.

---

<sup>466</sup> De Lacruz JP, Villalobos MA, Carmona JA, Martin-Romero M, Smith-Agreda JM, de la Cuesta FS. Antithrombotic potential of olive oil administration in rabbits with elevated cholesterol. *Thromb. Res.*, **2000**, 100, 305-315.

<sup>467</sup> Edwards VJ, Howley P, Davis R, Mashchak A, Goheen SC. Protease inhibition by oleic acid transfer from chronic wound dressings to albumin. *International Journal of Pharmaceutics*, **2007**, 340, 42-51.

<sup>468</sup> Namikoshi M, Suzuki S, Meguro S, Kobayashi H, Mine Y, Kasuga I. Inhibitors of microtubule assembly produced by marine fungus strain TUF 98F139 collected in Palau. *J. Tokyo Univ. Fish.*, **2002**, 88, 1-6.

<sup>469</sup> Yuan Q, Zhao S, Wang F, Zhang H, Chen Z-J, Wang J, Wang Z, Du Z, Ling E-A, Liu Q, Hao A. Palmitic acid increases apoptosis of neural stem cell *via* activating c-Jun N-terminal kinase. *Stem Cell Research*, **2013**, 10, 257-266.

<sup>470</sup> Jiang H, Liang C, Liu X, Jiang Q, He Z, Wu J, Pan X, Ren Y, Fan M, Li M, Wu Z. Palmitic acid promotes endothelial progenitor cells apoptosis via p38 and JNK mitogen-activated protein kinase pathways. *Atherosclerosis*, **2010**, 210, 71-77.

<sup>471</sup> Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A, Huang Y. High-density lipoprotein cholesterol as a predictor of coronary heart disease risk: the PROCAM experience and pathophysiological implications for reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*, **1996**, 124, S11-20.

<sup>472</sup> Ishiyama J, Taguchi R, Yamamoto A, Murakami K. Palmitic acid enhances lectin-like oxidized LDL receptor (LOX-1) expression and promotes uptake of oxidized LDL in macrophage cells. *Atherosclerosis*, **2010**, 209, 118-124.

En outre, **Nadathur SR et al.**<sup>473</sup> ont montré que l'acide palmitique extrait du yaourt (lait fermenté) a des propriétés antimutagènes, *in vitro*, sur la N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. Par ailleurs, il a été montré plus tôt que le yaourt et ses extraits sont antimutagéniques contre certains mutagènes des cellules des mammifères et microbiennes<sup>474</sup>. L'acide palmitique et les autres acides gras à longue chaîne aliphatique possèdent une action inhibitrice sur la germination des graines de céréales, notamment le sorgho. Selon **Marambe B.**<sup>475</sup>, l'inhibition de l'activité de l'alpha-amylase serait un des aspects du mode d'action de ces molécules.

#### 4.1.2. Composés azotés

##### 4.1.2.1. Isochondodendrine (48)

De nombreuses études ont montré que l'isochondodendrine est toxique pour les protozoaires, notamment pour les leishmanies et les trypanosomes<sup>476,477</sup>. Elle inhibe l'acétylcholinestérase chez la souris<sup>437</sup>. Des propriétés antiplasmodiales (*in vitro* sur *P. falciparum* souches chloroquino-résistantes FcB-1, FMC29, K1) et cytotoxique ont été également décrites<sup>439</sup>. Par ailleurs, une activité antiamibienne a été rapportée par **Marshall SJ et al.**<sup>478</sup>

##### 4.1.2.2. Papavérine (52)

La papavérine est connue pour son action vasodilatatrice et ses effets anticonvulsivants<sup>59</sup>. Elle est également employée comme relaxant musculaire<sup>455</sup>. Cette molécule pratiquement inactive sur le système nerveux central, agit au niveau cardiaque en allongeant la période réfractaire et en augmentant le débit coronarien. Par ailleurs, elle est utilisée dans les sensations d'étourdissement du sujet âgé et dans le traitement des accidents vasculaires cérébraux<sup>59</sup>.

##### 4.1.2.3. $\alpha$ -tomatine (51)

L' $\alpha$ -tomatine est un glycoalcaloïde connu pour ses propriétés antibactérienne, antiprotozoaire et surtout antifongique. Cette molécule est cependant inactive sur *Escherichia coli* et sur *Penicillium notatum*. Par ailleurs, d'autres études ont montré qu'elle est capable d'inhiber le

<sup>473</sup> Nadathur SR, Carney JR, Gould SJ, Bakalinsky AT. Palmitic acid is the major fatty acid responsible for significant anti-N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) activity in yogurt. *Mutation Res.*, **1996**, 359, 179-189.

<sup>474</sup> Bodana AR, Rao DR. Antimutagenic activity of milk fermented by *Streptococcus thermophiles* and *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Dairy Sci.*, **1990**, 73, 3379-3384.

<sup>475</sup> Marambe B, Nagaoka T, Ando T. Identification and biological activity of germination-inhibiting long-chain fatty acids in animal-waste composts. *Plant Cell Physiol.*, **1993**, 34, 605-612.

<sup>476</sup> Fournet A, Monjon AM, Muñoz V, Angelo A, Bruneton J, Hocquemiller R, Cortes D, Cavé A. Activité antiparasitaire d'alcaloïdes bisbenzylisoquinoléines. I. Activité *in vitro* sur des promastigotes de trois souches de *Leishmania*. *J. Ethnopharmacol.*, **1988a**, 24, 327-335.

<sup>477</sup> Fournet A, Monjon AM, Muñoz V, Angelo A, Bruneton J, Hocquemiller R, Cortes D, Cavé A. Activité antiparasitaire d'alcaloïdes bisbenzylisoquinoléines. II. Activité *in vitro* sur des épimastigotes de trois souches typifiées de *Trypanosoma cruzi*. *J. Ethnopharmacol.*, **1988b**, 24, 337-343.

<sup>478</sup> Marshall SJ, Russell PF, Wright CW, Anderson MM, Phillipson JD, Kirby GC, Warhurst DC, Schiff Jr PL. *In vitro* antiparasitodal, antiamoebic, and cytotoxic activities of a series of bisbenzylisoquinoline alkaloids. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1994**, 38, 96-103.

métabolisme de l'oxygène chez *E. coli*<sup>452</sup>. La tomatine inhibe la croissance et le développement de la nymphe de la sauterelle (*Melanoplus bivittatus*)<sup>479</sup> et de la larve du moustique (*Aedes aegypti*)<sup>480</sup>. Elle est toxique pour de nombreux animaux domestiques comme le porc<sup>481</sup>. Cette toxicité permet aux plantes qui la contiennent de se défendre contre les insectes prédateurs<sup>482</sup>. L'application de pommade à 5% de tomatine sur les yeux de lapins entraîne la conjonctivite chez ces derniers. Par ailleurs, la même pommade appliquée sur la peau ne provoque aucune irritation<sup>452</sup>. En outre il se produit une augmentation de la vitesse de synthèse du cholestérol hépatothique et de l'intestin chez des rats nourris à 1% de tomatine<sup>483</sup>.

#### 4.1.2.4. Caféine (44)

La caféine a été découverte en 1819 par le chimiste allemand Friedrich Ferdinand Runge. On la retrouve dans plusieurs plantes tropicales : elle est présente dans les grains de café, les feuilles de thé, le cacao (chocolat) ou la noix de kola. La caféine agit comme stimulant du système nerveux central et du système cardiovasculaire. Elle diminue la somnolence et la sensation de fatigue, et augmente temporairement l'attention.

Elle est diurétique et favorise la sécrétion des sucs gastriques, favorisant de ce fait la digestion. De plus, elle augmente le travail musculaire, ce qui fait d'elle un dopant sportif à une concentration de plus de 12 µg/ml d'urine. Elle possède également une faible propriété anesthésiante. Cependant, à forte dose, elle peut causer de l'arythmie, des ulcères d'estomac et duodénal, de l'insomnie et même des tremblements.

### 4.2. Résultats des tests biologiques réalisés sur les extraits et composés isolés

Les tests trypanocides, leishmanicides, anthelminthiques et antifongiques ont été effectués dans les mêmes conditions avec les mêmes souches parasitaires que ceux réalisés avec les différents produits des organes de *Mallotus oppositifolius*. Dans cette section, deux extraits (extraits chlorométhylénique et alcaloïdique) de chaque organe de plante ainsi que les molécules pures ou en mélange obtenues à partir de ces extraits ont été évalués.

#### 4.2.1. Feuilles d'*Isolona cooperi*

##### 4.2.1.1. Activités trypanocides en CL<sub>100</sub>

Les extraits chlorométhylénique (**Icf.D**) et alcaloïdique (**Icf.A**) ainsi que deux molécules pures (**42** et **44**) et un mélange de molécules (**41 + 42 + 43**) ont été testés sur *Trypanosoma b. brucei*. Les résultats obtenus indiquent que ni les extraits, ni les molécules évalués ne sont actifs sur *T. b. brucei*.

<sup>479</sup> Harley KLS, Thorsteinson AJ. The influence of plant chemicals on the feeding behavior, development, and survival of the two-striped grasshopper, *Melanoplus bivittatus* (Say), Acrididae: Orthoptera. *Can. J. Zool.*, **1967**, 45, 305-319.

<sup>480</sup> Harley KLS. A note on the influence of a range of plant chemicals on the growth and survival of *Aedes aegyptii* L. Larvae. *Can. J. Zool.*, **1967**, 45, 1297-1300.

<sup>481</sup> Forsyth AA. British poisonous plants. HMSO, London, **1968**, 2<sup>nd</sup> Ed., 131p.

<sup>482</sup> Fraenkel G. The raison d'être of secondary plant substances. *Science*, **1959**, 129, 1466-1470.

<sup>483</sup> Cayen MN. Effect of dietary tomatine on cholesterol metabolism in the rat. *J. Lipid Res.*, **1971**, 12, 4, 482-490.

#### 4.2.1.2. Activités leishmanicides en $CE_{50}$

Les extraits chlorométhylénique (*Icf.D*) et alcaloïdique (*Icf.A*) des feuilles ainsi que les molécules pures **42** (Hexadécanamide) et **44** (Caféine) sont inactifs sur *Leishmania donovani*. Par contre le mélange (Z)-9-octadécénamide, hexadécanamide et 1-nonadécaneamine (**41** + **42** + **43**) a montré une activité leishmanicide modérée de 62  $\mu\text{g/mL}$ .

**Tableau II.4.2.1.2 : Activités leishmanicides en  $CE_{50}$  des extraits et produits des feuilles d'*I. cooperi***

| Produits                                             | <i>Leishmania donovani</i>     |                             |
|------------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
|                                                      | $CE_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) | $CE_{50}$ ( $\mu\text{M}$ ) |
| Extrait $\text{CH}_2\text{Cl}_2$<br>( <i>Icf.D</i> ) | > 125                          | -                           |
| Extrait alcaloïdique<br>( <i>Icf.A</i> )             | > 125                          | -                           |
| <b>41 + 42 + 43</b>                                  | <b>62</b>                      | -                           |
| Hexadécanamide ( <b>42</b> )                         | > 125                          | > 125                       |
| Caféine ( <b>44</b> )                                | > 125                          | > 125                       |
| Pentamidine                                          | 2,6                            | 7,7                         |

#### 4.2.1.3. Activités anthelminthiques en $CE_{50}$

Les résultats des tests nématocides réalisés sur *Caenorhabditis elegans* indiquent une absence d'activité aussi bien au niveau des extraits que des molécules pures ou en mélange.

#### 4.2.1.4. Activités antifongiques en $CE_{90}$

Aucun extrait ni produit pur ou en mélange n'est actif sur *Candida albicans* et sur *Aspergillus fumigatus*.

#### 4.2.2. Ecorces de tige d'*Isolona cooperi*

Les résultats des tests trypanocides (en  $CL_{100}$ ) et leishmanicides (en  $CE_{50}$ ) des extraits et produits des écorces de tige d'*I. cooperi* sont consignés dans le tableau II.4.2.2.

**Tableau II.4.2.2 : Activités trypanocides (en  $CL_{100}$ ) et leishmanicides (en  $CE_{50}$ ) des extraits et produits des écorces de tige d'*I. cooperi***

| Produits                                | <i>T. b. brucei</i> |               | <i>L. donovani</i> |              |
|-----------------------------------------|---------------------|---------------|--------------------|--------------|
|                                         | $CL_{100}$          |               | $CE_{50}$          |              |
|                                         | µg/mL               | µM            | µg/mL              | µM           |
| Extrait $CH_2Cl_2$ ( <i>Ic ET.D</i> )   | > 125               | -             | > 125              | -            |
| Extrait alcaloïdique ( <i>Ic ET.A</i> ) | > 125               | -             | > 125              | -            |
| Acide oléique ( <b>47</b> )             | > 125               | -             | > 125              | -            |
| Isochondodendrine ( <b>48</b> )         | <b>62,5</b>         | <b>105,21</b> | 125                | 210,43       |
| BBTHIQ <b>72</b>                        | > 125               | -             | <b>31</b>          | <b>51,92</b> |
| Mélarsoptol (Mel W)                     | 0,2                 | 0,4           | -                  | -            |
| Pentamidine                             | -                   | -             | 2,6                | 7,7          |

#### 4.2.2.1. Activités trypanocides en $CL_{100}$

Les extraits chlorométhylénique (*IcET.D*) et alcaloïdique (*IcET.A*) testés sont inactifs sur *T. b. brucei* ; il en est de même pour les composés **47** et **72**. Par ailleurs, l'isochondodendrine (**48**) est moyennement active avec une activité de 62,5 µg/mL (105,21 µM) sur ce modèle parasitaire. Ce résultat confirme ceux de la littérature décrivant l'isochondodendrine comme un composé trypanocide<sup>477,484</sup>. En outre l'absence d'activité de l'extrait alcaloïdique dont est issue l'isochondodendrine pourrait s'expliquer par sa faible concentration dans l'extrait.

#### 4.2.2.2. Activités leishmanicides en $CE_{50}$

Les extraits testés et l'acide oléique (**47**) sont inactifs sur *Leishmania donovani*. L'alcaloïde **72** est le composé le plus actif avec une  $CE_{50}$  de 31 µg/mL (51,92 µM). Par ailleurs, l'isochondodendrine (**48**) est faiblement actif avec un potentiel leishmanicide de 125 µg/mL (210,43 µM) (Tableau II.4.2.2).

#### 4.2.2.3. Activités anthelminthiques en $CE_{50}$

Les résultats des tests indiquent que ni les extraits, ni les molécules pures ou en mélange testés ne sont actifs.

#### 4.2.2.4. Activités antifongiques en $CE_{90}$

Aucun extrait ni composé pur des écorces de tige n'a montré d'activité fongicide notoire.

<sup>484</sup> Camacho MR, Phillipson JD, Croft SL, Rock P, Marshall SL, Schiff Jr PL. *In vitro* activity of *Triclisia patens* and some bisbenzylisoquinoline alkaloids against *Leishmania donovani* and *Trypanosoma brucei brucei*. *Phytother. Res.*, **2002**, 16, 432-436.

#### 4.2.3. Racines d'*Isolona cooperi*

Les résultats des tests trypanocides (en  $CL_{100}$ ), leishmanicides (en  $CE_{50}$ ), anthelminthiques (en  $CE_{50}$ ) et antifongiques (en  $CE_{90}$ ) des extraits et produits des racines d'*I. cooperi* sont consignés dans le tableau II.4.2.3.

##### 4.2.3.1. Activités trypanocides en $CL_{100}$

Les extraits chlorométhylénique (*Icr.D*) et alcaloïdique (*Icr.A*) testés sont inactifs sur *T. b. brucei*. L' $\alpha$ -Tomatine (**51**), la papavérine (**52**) et l'acide 6-octadécénoïque (**49**) sont moyennement actifs avec des activités qui varient entre 62 et 125  $\mu\text{g/mL}$ . Le composé **73** issu de la purification de l'extrait alcaloïdique est le plus actif avec une activité de 31,5  $\mu\text{g/mL}$  (50,4  $\mu\text{M}$ ). Le 5-formylindole (**50**) est inactif sur *T. b. brucei*.

##### 4.2.3.2. Activités leishmanicides en $CE_{50}$

L'analyse du tableau II.4.2.3 montre que l'extrait alcaloïdique (*Icr.A*) est inactif sur *Leishmania donovani* ; par contre l'extrait chlorométhylénique qui a une activité de 125  $\mu\text{g/mL}$  est faiblement actif. Parmi les molécules évaluées, le glycoalcaloïde **51** ( $\alpha$ -Tomatine) est le plus actif avec un potentiel leishmanicide de 15,5  $\mu\text{g/mL}$  (15  $\mu\text{M}$ ), tandis que le composé **73**, une bisbenzyltétrahydroisoquinoléine a une activité modérée de 62,5  $\mu\text{g/mL}$  (100  $\mu\text{M}$ ). En outre, la papavérine (**52**), le 5-formylindole (**50**) et l'acide 6-octadécénoïque

**Tableau II.4.2.3 : Activités trypanocides (en  $CL_{100}$ ), leishmanicides (en  $CE_{50}$ ), anthelminthiques (en  $CE_{50}$ ) et antifongiques (en  $CE_{90}$ ) des extraits et produits des racines d'*I. cooperi***

| Produits                                          | <i>Trypanosoma brucei brucei</i> |               | <i>Leishmania donovani</i> |               | <i>Caenorhabditis elegans</i> |               | <i>Candida albicans</i> |               | <i>Aspergillus fumigatus</i> |               |
|---------------------------------------------------|----------------------------------|---------------|----------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|-------------------------|---------------|------------------------------|---------------|
|                                                   | $CL_{100}$                       |               | $CE_{50}$                  |               | $CE_{50}$                     |               | $CE_{90}$               | $CE_{90}$     | $CE_{90}$                    | $CE_{90}$     |
|                                                   | $\mu\text{g/mL}$                 | $\mu\text{M}$ | $\mu\text{g/mL}$           | $\mu\text{M}$ | $\mu\text{g/mL}$              | $\mu\text{M}$ | $\mu\text{g/mL}$        | $\mu\text{M}$ | $\mu\text{g/mL}$             | $\mu\text{M}$ |
| Extrait $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ( <i>Icr.D</i> ) | > 125                            | -             | 125                        | -             | > 100                         | -             | > 125                   | -             | > 125                        | -             |
| Extrait alcaloïdique ( <i>Icr.A</i> )             | > 125                            | -             | > 125                      | -             | > 100                         | -             | > 125                   | -             | > 125                        | -             |
| $\alpha$ -Tomatine ( <b>51</b> )                  | 62,5                             | 60,5          | 15,5                       | 15            | 100                           | -             | 62,5                    | 60,5          | 23                           | 22,26         |
| Papavérine ( <b>52</b> )                          | 125                              | 368,73        | > 125                      | -             | > 100                         | -             | > 125                   | -             | > 125                        | -             |
| BBTHIQ <b>73</b>                                  | 31,5                             | 50,4          | 62,5                       | 100           | > 100                         | -             | > 125                   | -             | > 125                        | -             |
| 5-formylindole ( <b>50</b> )                      | > 125                            | -             | > 125                      | -             | > 100                         | -             | > 125                   | -             | > 125                        | -             |
| Acide 6-octadécénoïque ( <b>49</b> )              | 125                              | 443,26        | > 125                      | -             | > 100                         | -             | > 125                   | -             | > 125                        | -             |
| Mélarsozol (Mel W)                                | 0,2                              | 0,4           | -                          | -             | -                             | -             | -                       | -             | -                            | -             |
| Pentamidine                                       | -                                | -             | 2,6                        | 7,7           | -                             | -             | -                       | -             | -                            | -             |
| Mébendazole                                       | -                                | -             | -                          | -             | -                             | 1,0 $\pm$ 0,3 | -                       | -             | -                            | -             |
| Amphotérine B                                     | -                                | -             | -                          | -             | -                             | -             | 0,064                   | -             | 0,064                        | -             |

(49) ne sont pas actifs. L'absence d'activité de l'extrait alcaloïdique pourrait s'expliquer soit, par une faible concentration des composés actifs dans ce dernier, soit par un effet antagoniste des molécules en présence.

#### 4.2.3.3. Activités anthelminthiques en $CE_{50}$

Les extraits et molécules pures des racines ne sont pas actifs sur le nématode *Caenorhabditis elegans* à l'exception de l' $\alpha$ -Tomatine (51) qui a montré une activité modeste de 100  $\mu\text{g/mL}$  (96,80  $\mu\text{M}$ ).

#### 4.2.3.4. Activités antifongiques en $CE_{90}$

Les extraits des racines d'*I. cooperi* ne sont pas actifs. Parmi les composés purs évalués, seul l' $\alpha$ -Tomatine (51) est actif aussi bien sur *Candida albicans* que sur *Aspergillus fumigatus* avec des  $CE_{90}$  de 62,5  $\mu\text{g/mL}$  (60,5  $\mu\text{M}$ ) et 23  $\mu\text{g/mL}$  (22,26  $\mu\text{M}$ ) respectivement. Ce résultat indique une non spécificité de ce composé sur les champignons.

### 4.3. Conclusion

L'étude chimique d'*Isolona cooperi* a permis d'isoler 22 molécules réparties en composés alcaloïdiques, acides gras, esters gras, stérol et composé indolique, toutes isolées pour la première fois de cette plante. Les alcaloïdes isolés sont des isoquinoléines notamment des bisbenzyltétrahydroisoquinoléines, un benzylisoquinoléine, la papavérine (52) et un glycoalcaloïde stéroïdique, l' $\alpha$ -tomatine (51). Parmi ces molécules, les composés 72 et 73 des bisbenzyltétrahydroisoquinoléines sont décrits pour la première fois.

L'évaluation biologique des extraits et des composés isolés sur *Leishmania donovani*, *Trypanosoma brucei brucei*, *Caenorhabditis elegans*, *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* a montré dans l'ensemble des activités modestes. Parmi les composés testés, l' $\alpha$ -tomatine a montré des activités relativement intéressantes sur *L. donovani* ( $CE_{50}$  = 15  $\mu\text{M}$ ), *T. b. brucei* ( $CL_{100}$  = 60,5  $\mu\text{M}$ ), *A. fumigatus* ( $CE_{90}$  = 60,5  $\mu\text{M}$ ) et *C. albicans* ( $CE_{90}$  = 22,26  $\mu\text{M}$ ). En dehors de l' $\alpha$ -tomatine, l'alcaloïde 72 est le seul composé à montrer une activité leishmanicide appréciable ( $CE_{50}$  = 51,92  $\mu\text{M}$ ). Par ailleurs, le composé 73 est le plus actif sur *T. b. brucei* ( $CL_{100}$  = 50,4  $\mu\text{M}$ ).



# TROISIEME PARTIE

TROISIEME PARTIE



MODIFICATIONS STRUCTURALES D'UNE  
LACTONE : AOPRUNELLELACTONE

---

## 1. But

Cette partie de notre travail a été réalisée avec le Docteur Laurent EVANNO, Maître de conférences au Laboratoire de Pharmacognosie de la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry. Elle vise dans un premier temps, à réaliser l'hémisynthèse d'analogues structuraux du **(5*R*, 6*R*)-5-hydroxy-6-pentyl-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-one** ou **apoprunellelactone** (Figure III.1), une lactone isolée des écorces de tige d'*Isolona cooperi*. Dans un second temps, ces analogues seront évalués sur diverses souches parasitaires afin d'établir une relation structure-activité et éventuellement améliorer l'activité antiparasitaire.

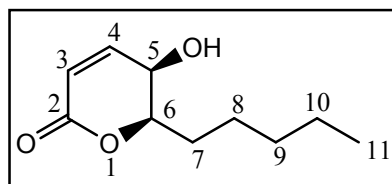


Figure III.1 : Structure de l'apoprunellelactone

## 2. Travaux antérieurs

L'apoprunellelactone (Figure III.1) est une  $\delta$ -lactone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturée qui se présente sous forme d'une cire jaunâtre. Elle constitue le composé majoritaire des écorces de tige d'*Isolona cooperi* d'où elle a été isolée et décrite pour la première fois par le Docteur Timothée OKPEKON<sup>5</sup>. L'isolement et la purification de ce composé à partir de l'extrait cyclohexanique de cet organe de la plante ont été réalisés par chromatographies successives sur colonne de gel de silice 60H et de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20. L'élucidation structurale a été effectuée par analyses combinées des données spectrales infrarouge, ultraviolet, RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C, et la masse. Par ailleurs, la configuration absolue a été établie par la méthode de Mosher<sup>485</sup>.

L'évaluation biologique de cette lactone sur *Trypanosoma brucei brucei*, *Leishmania donovani*, *L. major* et sur la lignée cellulaire cancéreuse KB (carcinome buccal humain) a donné les résultats du tableau III.2. Le Mélarsoptol (Mel W), la pentamidine et le Taxotère<sup>®</sup> (docetaxel) ont été utilisés respectivement comme témoins positifs.

Tableau III.2 : Activités trypanocide, leishmanicide et cytotoxique, *in vitro*, de l'apoprunellelactone

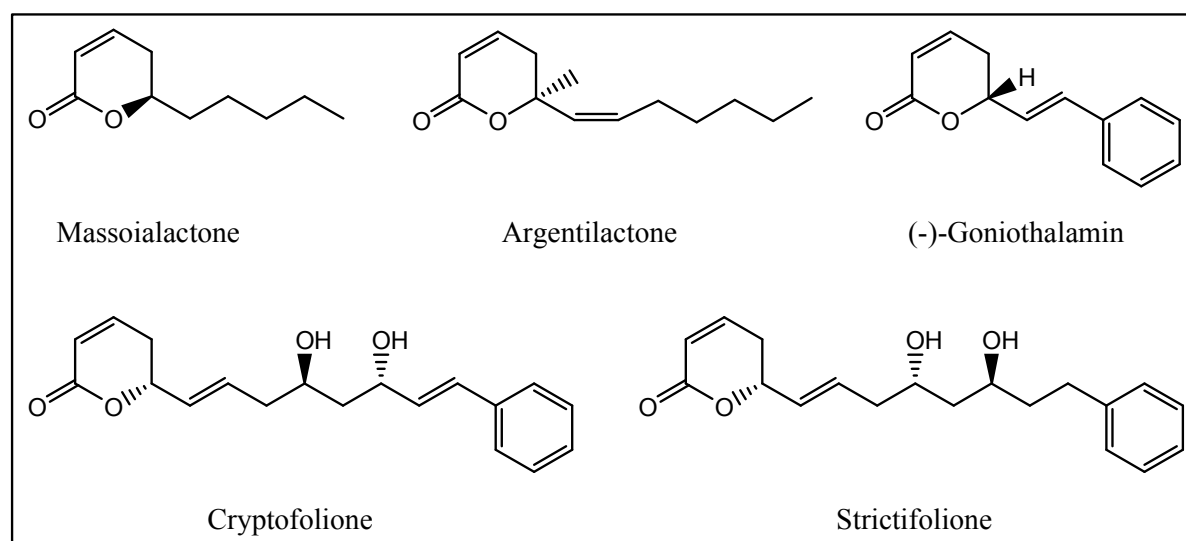
| Produits                       | <i>L. donovani</i><br><i>CI</i> <sub>50</sub> (μM) | <i>L. major</i><br><i>CI</i> <sub>50</sub> (μM) | <i>T. b. brucei</i><br><i>CL</i> <sub>100</sub> (μM) | % d'inhibition à |      |
|--------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------|------|
|                                |                                                    |                                                 |                                                      | 10 μM            | 1 μM |
| APL                            | 16,3                                               | 8,2                                             | 38,0                                                 | 95               | 38   |
| Pentamidine                    | 7,7                                                | 2,2                                             | -                                                    | -                | -    |
| Mélarsoptol (Mel W)            | -                                                  | -                                               | 0,4                                                  | -                | -    |
| Taxotène (10 <sup>-4</sup> μM) | -                                                  | -                                               | -                                                    | 84               |      |

<sup>485</sup> Mosher HS, Dale JA. Nuclear magnetic resonance enantiomer reagents. Configurational correlations via nuclear magnetic resonance chemical shifts of diastereomeric mandelate, o-methylmandelate, and  $\alpha$ -methoxy- $\alpha$ -trifluoromethylphenylacetate (MTPA) esters. *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, 95, 512-518.

L'analyse des résultats de ce tableau indique que l'apoprunellelactone a une activité relativement intéressante sur *Trypanosoma brucei brucei* ( $CL_{100} = 38 \mu\text{M}$ ). Elle a une activité leishmanicide beaucoup plus intéressante sur *L. donovani* ( $CI_{50} = 16,3 \mu\text{M}$ ). Evaluée sur *L. major* elle a montré une inhibition deux fois plus importante de la croissance des parasites ( $CI_{50} = 8,2 \mu\text{M}$ ). Par ailleurs, elle a montré une cytotoxicité acceptable (inhibition de 38% à  $1 \mu\text{M}$ ) sur les cellules cancéreuses KB. Ces résultats fort encourageants méritent d'être améliorés par hémisynthèse d'analogues structuraux.

### 3. Travaux d'hémisynthèses réalisés sur l'apoprunellelactone

Un très grand nombre de substances naturelles et de médicaments sont des hétérocycles. Les hétérocycles oxygénés naturels et synthétiques sont connus pour leurs diverses et importantes activités biologiques. Parmi ceux-ci, les lactones en général et en particulier les  $\delta$ -lactones  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturées, constituent une classe de composés intéressants qui se rencontre beaucoup dans la nature et dont de nombreux membres possèdent une activité biologique (Figure III.3a)<sup>486, 487, 488</sup>. La présence de différents centres réactionnels sur l'hétérocycle  $\delta$ -lactonique ouvre une large gamme de synthèse. La réactivité de ces composés en plus de leurs diverses activités biologiques justifie leur intérêt en synthèse organique.



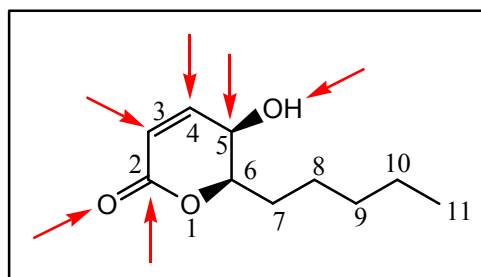
**Figure III.3a : Quelques  $\delta$ -lactones  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturées d'intérêt biologique**

<sup>486</sup> Kumar RN, Meshram HM. Total synthesis of (-)-diospongin A and (+)-cryptofolione via asymmetric aldol reaction. *Tetrahedron Letters*, **2011**, 52, 9, 1003-1007.

<sup>487</sup> Touati R, Ratovelomanana-Vidal V, Hassine BB, Genêt J-P. Synthesis of enantiopure (*R*)-(-)-massoialactone through ruthenium-SYNPHOS® asymmetric hydrogenation. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, 17, 24, 3400-3405.

<sup>488</sup> de Oliveira CMA, Silva MRR, Kato L, da Silva CC, Ferreira HD, Souza LKH. Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of *Hyptis ovalifolia* Benth. (Lamiaceae). *J. Braz. Chem. Soc.*, **2004**, 15, 5, 756-759

L'apoprunellelactone (Figure III.1) qui fait l'objet de cette étude, fait partie de cette famille de composés. En effet, elle possède plusieurs sites d'attaque, que ce soit par des électrophiles ou par des nucléophiles (Figure III.3b) suggérant ainsi des possibilités de modulations de sa structure.



**Figure III.3b : Sites réactifs de l'apoprunellelactone**

Dans les sections suivantes, nous présenterons les différentes réactions d'hémisynthèses réalisées sur cette molécule. Il s'agit des réactions d'**hydrogénation**, d'**acétylation**, de **réduction de cycle** et d'**oxydation par le tétr oxyde d'osmium**. Le but de ces réactions n'est pas forcément d'obtenir des rendements élevés mais de pouvoir obtenir le produit recherché quelque soit la réaction utilisée, vue la faible quantité de produit de départ dont nous disposons pour l'ensemble des réactions. Le plus important est d'obtenir une masse suffisante de produit final pour les analyses physico-chimiques permettant de certifier l'identité du produit et de procéder aux tests biologiques. Vu le temps imparti pour nos travaux de thèse, nous n'avons pas envisagé la synthèse totale de l'apoprunellelactone, cet axe pouvant être poursuivi par la suite.

### 3.1. Réaction d'hydrogénation-(Composé APL3)

Comme nous le signalions tantôt, l'apoprunellelactone présente plusieurs sites qui pourraient se prêter à diverses réactions. En effet, cette molécule possède des insaturations dans sa structure qui peuvent se prêter à des réactions de réduction ; il s'agit de la fonction carbonyle en C-2 et de la double liaison éthylénique en C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> (Figure III.3b). Dans un souci de préserver la fonction lactonique, nous avons utilisé une réaction qui permette la réduction de la seule liaison éthylénique. Pour ce faire, nous avons utilisé la réaction classique d'hydrogénation catalytique sur palladium. Cette réaction a l'avantage de ne pas réduire toutes les insaturations de la molécule, en l'occurrence la fonction carbonyle.

#### 3.1.1. Mode opératoire

Dans un ballon de 50 mL muni d'un barreau magnétique sont dissous 20,6 mg d'apoprunellelactone **APL** (1 éq ; 0,111 mmol) dans 10 mL de méthanol. La solution obtenue est mise sous argon afin de chasser l'air à l'intérieur du ballon, puis sous hydrogène. Le milieu réactionnel est ensuite laissé sous agitation, à température ambiante, pendant 24 heures. Après réaction, le milieu réactionnel est à nouveau mis sous argon ; il est ensuite filtré sur célite® 545 puis le solvant évaporé sous pression réduite. 20 mg de produit **APL3** sont obtenus.

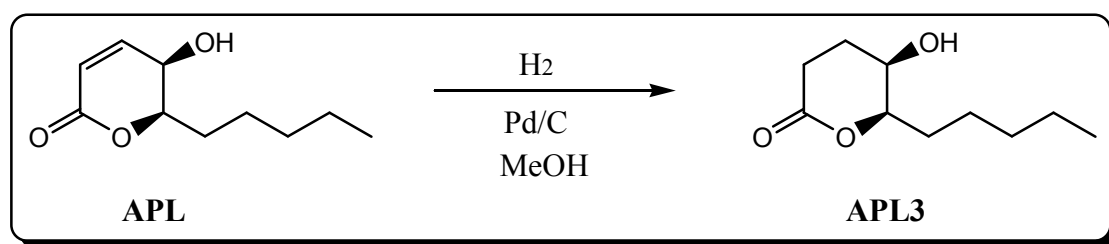


Figure III.3.1.1 : Réaction d'hydrogénation de l'apoprunelelactone

### 3.1.2. Mécanisme réactionnel

L'addition d'hydrogène sur la double liaison est stéréospécifique. En effet, au moment de la réaction chaque atome de la molécule de dihydrogène se lie au palladium (catalyseur) ce qui rend la liaison entre les deux atomes plus fragile et fait supporter à chaque atome un déficit en électron. Les atomes d'hydrogène deviennent ainsi réactifs vis-à-vis de la double liaison éthylénique riche en électron. Un atome d'hydrogène est additionné à la double liaison (étape réversible), suivi de l'autre (étape irréversible). Les deux atomes d'hydrogène se fixent sur la même face du plan de la double liaison. Il se produit une *cis-addition* (ou *addition syn*)<sup>489</sup>.

### 3.1.3. Résultats

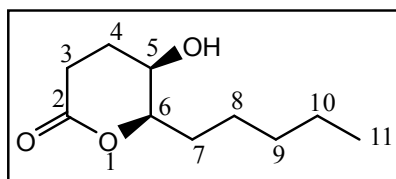


Figure III.3.1.3 : Structure du composé APL3  
[(5*R*, 6*R*)-5-hydroxy-6-pentyl-tétrahydropyran-2-one]

La réaction d'hydrogénation réalisée avec le palladium a permis de réduire la double liaison C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> sans affecter la fonction carbonyle. Elle a été effectuée avec un rendement de 97,08%. Le produit de réaction obtenu, le **(5*R*, 6*R*)-5-hydroxy-6-pentyl-tétrahydropyran-2-one** (Figure III.3.1.3) est une huile incolore d'odeur agréable. Les résultats des analyses RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C de ce produit sont consignés dans le tableau III.3.1.3. Les résultats d'autres analyses physico-chimiques sont également donnés.

<sup>489</sup> Arnaud P. Cours de chimie organique. 2<sup>e</sup> tirage, 1990, 15<sup>e</sup> Ed., Ed. Dunod, 522p.

**Tableau III.3.1.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé APL3**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) |
|----------|-----------------------------------|------------------------------------------|
| 2        | 177,3                             | -                                        |
| 3        | 28,6                              | 2,55 (m)                                 |
| 4        | 32,8                              | 1,52 (m)                                 |
| 5        | 73,5                              | 3,55 (ddd ; 4.8 ; 4.4 ; 3.2)             |
| 6        | 82,9                              | 4,41 (dt ; 4.8 ; 4.4)                    |
| 7a, 7b   | 25,0                              | 2,10 (m) ; 2,23 (m)                      |
| 8        | 24,0                              | 1,30 (m)                                 |
| 9        | 31,6                              |                                          |
| 10       | 22,4                              |                                          |
| 11       | 13,9                              | 0,88 (t ; 7)                             |

Formule brute  $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_3$ , PM = 186

Masse = 20 mg

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 3420, 2960, 2932, 2867, 2853, 2358, 1757, 1460, 1190, 1160, 1133, 1084, 1027, 927, 648.

ESIHR  $m/z$  : 187,1334  $[\text{M}+\text{H}]^+$

$[\alpha]_D$  : -87 (C = 1.03,  $\text{CHCl}_3$ )

Rf = 0,627 dans  $\text{C}_6\text{H}_{12}/\text{AcOEt}$  (30 : 70)

### 3.2. Réaction d'acétylation-(Composé APL2)

La seconde réaction que nous avons mise en œuvre est une réaction d'acylation de la fonction hydroxyle en position 5 du cycle lactonique. Rappelons qu'une réaction d'acylation est une réaction au cours de laquelle un groupement acyle est ajouté à une molécule depuis un agent acylant. Lorsque le groupement acyle ajouté à la molécule est le groupement acétyle, la réaction porte le nom d'**acétylation**. C'est cette dernière que nous avons mise en œuvre. Pour ce faire, nous avons utilisé comme agent acylant l'anhydride acétique qui se prête aisément à cette réaction.

#### 3.2.1. Mode opératoire

Dans un ballon de 50 mL muni d'un barreau magnétique sont introduits 22,6 mg d'apoprunellelactone **APL** (1 éq ; 0,122 mmol), 800  $\mu\text{L}$  de dichlorométhane, 200  $\mu\text{L}$  de pyridine et 30  $\mu\text{L}$  d'anhydride acétique (2,5 éq ; 0,307 mmol). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 24 heures. Le mélange est ensuite extrait avec du dichlorométhane (3x5 mL) puis lavé avec une solution d'acide chlorhydrique à 1% (3x2 mL). La phase organique est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et filtrée sur coton avant d'être évaporée sous pression réduite. 9 mg de composé **APL2** sont ainsi obtenus.

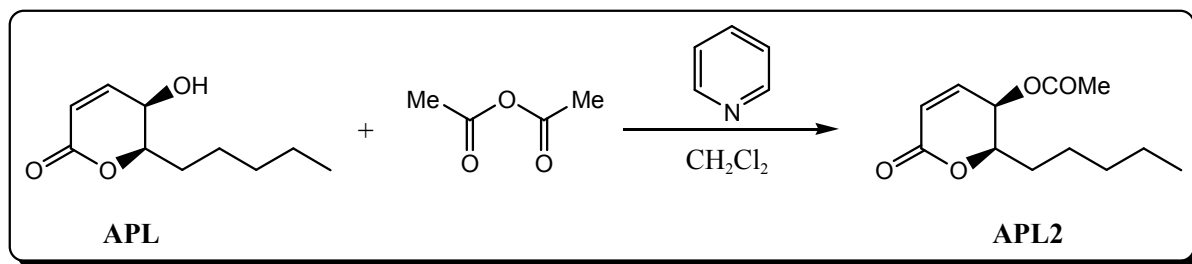


Figure III.3.2.1 : Réaction d'acétylation de l'apoprunelelactone

### 3.2.2. Mécanisme réactionnel

La réaction d'acétylation est une réaction de substitution électrophile. Ici l'atome d'hydrogène de la fonction hydroxyle sera remplacé par un groupement acétyle apporté par l'anhydride acétique. Dans cette réaction, l'entité électrophile est un ion acétylium libéré par l'anhydride acétique après activation de l'une de ses fonctions acétyles par la pyridine. La fonction hydroxyle de l'apoprunelelactone subit une attaque électrophile de l'ion acétylium libéré qui se substitue au proton du groupement hydroxyle. On assiste par ailleurs à la formation d'un sel de pyridinium (acétate de pyridinium) dans le milieu, empêchant ainsi une éventuelle réaction parasite de dimérisation du produit formé par cycloaddition.

### 3.2.3. Résultats

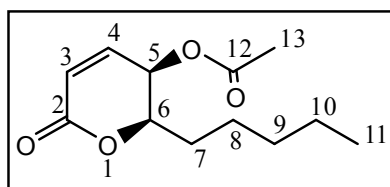


Figure III.3.2.3 : Structure du composé APL2  
[(5*R*, 6*R*)-6-oxo-2-pentyl-3, 6-dihydro-2*H*-pyran-3-yl acétate]

La réaction d'acétylation, réalisée avec succès, a un rendement de 39,82%. Le produit de réaction obtenu, le **(5*R*, 6*R*)-6-oxo-2-pentyl-3, 6-dihydro-2*H*-pyran-3-yl acétate** (Figure III.3.2.3) se présente sous forme d'une huile incolore. Les résultats des analyses RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de ce produit sont consignés dans le tableau III.3.2.3. Les résultats d'autres analyses physico-chimiques sont également donnés.

**Tableau III.3.2.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé APL2**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) |
|----------|-----------------------------------|------------------------------------------|
| 2        | 162,8                             | -                                        |
| 3        | 125,0                             | 6,18 (d ; 10)                            |
| 4        | 140,2                             | 6,94 (dd ; 10 ; 6)                       |
| 5        | 63,0                              | 5,16 (dd ; 6 ; 2.8)                      |
| 6        | 78,8                              | 4,43 (m)                                 |
| 7a, 7b   | 29,9                              | 1,50-1,66 (m) ; 1,79-1,88 (m)            |
| 8a, 8b   | 24,4                              | 1,28-1,33 (m) ; 1,50-1,66 (m)            |
| 9        | 31,3                              | 1,28-1,33 (m)                            |
| 10       | 22,3                              | 1,28-1,33 (m,)                           |
| 11       | 13,8                              | 0,87 (t ; 6.8)                           |
| 12       | 170,0                             | -                                        |
| 13       | 20,4                              | 2,08 (s)                                 |

Formule brute  $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_4$ , PM = 226

Masse = 9 mg

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 2960, 2853, 2161, 1722, 1633, 1372, 1254, 1220, 1080, 1063, 1023, 966, 823.

ESIHR  $m/z$  : 249,1111  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

$[\alpha]_D$  : -14 (C = 0.97,  $\text{CHCl}_3$ )

Rf = 0,804 dans  $\text{C}_6\text{H}_{12}/\text{AcOEt}$  (3 : 7)

### 3.3. Réduction de cycle-(Composé APL1)

L'objectif de cette réaction est de méthyle la fonction hydroxyle. Nous avons utilisé comme agent de méthylation l'iodure de méthyle.

#### 3.3.1. Mode opératoire

Dans un ballon de 50 mL muni d'un barreau magnétique sont introduits successivement 21,2 mg d'apoprunellelactone **APL** (1 éq ; 0,115 mmol), 1 mL de dichlorométhane, 24 mg d'hydru de sodium (5 éq ; 0,287 mmol) et 20  $\mu\text{L}$  d'iodure de méthyle (2,5 éq ; 0,323 mmol). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 24 heures. Le mélange est ensuite extrait avec du dichlorométhane (3x5 mL) puis lavé avec une solution d'acide chlorhydrique à 1% (3x2 mL). La phase organique est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et filtrée sur coton avant d'être évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 avec le système chloroforme/méthanol (2 : 1) comme éluant. 10 mg de produit **APL1** sont ainsi obtenus.

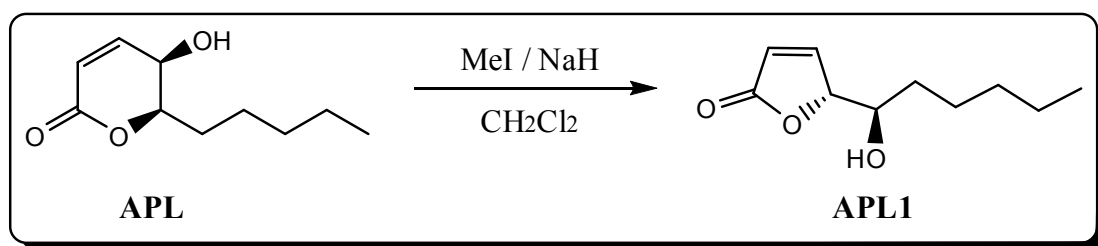


Figure III.3.3.1 : Réaction de réduction du cycle de l'apoprunellelactone

### 3.3.2. Mécanisme réactionnel

La réaction qui a lieu ici est un réarrangement intramoléculaire avec réduction de la taille du cycle. En effet, l'hydrure de sodium qui est une base forte déprotone la fonction hydroxyle de l'apoprunellelactone (Figure III.3.3.2). On assiste ensuite à l'attaque du carbonyle par l'oxygène de l'alcoolate formé, ce qui a pour conséquence la formation de cycle à cinq chaînons à l'intérieur du cycle à six chaînons. Le retour à l'état lactonique provoque l'ouverture du cycle à six membres, conduisant ainsi à la  $\gamma$ -lactone (produit APL1).

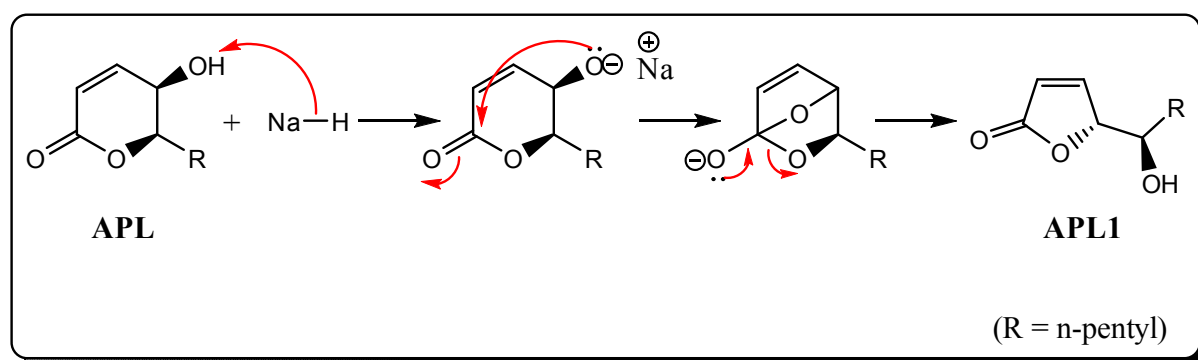


Figure III.3.3.2 : Mécanisme de la réaction de réduction de cycle de l'apoprunellelactone

### 3.3.3. Résultats

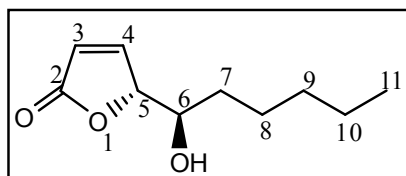


Figure III.3.3.3 : Structure du composé APL1  
[(*S*)-5-((*R*)-1-hydroxyhexyl) furan-2(*5H*)-one]

La réaction de méthylation de la fonction hydroxyle de l'apoprunellelactone avec l'iodure de méthyle comme agent de méthylation n'a pas donné le résultat escompté. Il s'est produit en lieu et place un réarrangement intramoléculaire avec une réduction de la taille du cycle lactonique. On est passé d'un cycle pyranne ( $\delta$ -lactone) à un cycle furane ( $\gamma$ -lactone). Cette réaction a été

effectuée avec un rendement de 47,16%. Le produit de réaction obtenu, le **(S)-5-((R)-1-hydroxyhexyl) furan-2(5H)-one** (Figure III.3.3.3) se présente sous forme d'une huile incolore. Les résultats des analyses RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de ce produit sont consignés dans le tableau III.3.3.3. Les résultats d'autres analyses physico-chimiques sont également donnés.

**Tableau III.3.3.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé APL1**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) |
|----------|-----------------------------------|------------------------------------------|
| 2        | 172,8                             | -                                        |
| 3        | 122,7                             | 6,18 (dd ; 5.6 ; 2)                      |
| 4        | 153,6                             | 7,45(dd ; 5.6 ; 1.6)                     |
| 5        | 86,1                              | 4,98 (m)                                 |
| 6        | 71,8                              | 3,75 (m)                                 |
| 7        | 33,1                              | 1,59 (m)                                 |
| 8        | 25,1                              | 1,30-1,33 (m)                            |
| 9        | 31,5                              |                                          |
| 10       | 22,4                              |                                          |
| 11       | 13,9                              | 0,89 (t ; 7.2)                           |

Formule brute  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_3$ , PM = 184

Masse = 10 mg

Spectre IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3435, 2945, 2930, 2849, 2359, 2342, 2328, 1756, 1714, 1445, 1181, 774.

ESIHR  $m/z$  : 185,1175  $[\text{M}+\text{H}]^+$

$[\alpha]_{\text{D}}$  : -7 (C = 0.89,  $\text{CHCl}_3$ )

Rf = 0,681 dans  $\text{C}_6\text{H}_{12}/\text{AcOEt}$  (3 : 7)

### 3.4. Oxydation par le tétr oxyde d'osmium ( $\text{OsO}_4$ )-(Composé APL7)

La molécule d'apoprunellelactone possède dans sa structure une double liaison éthylénique qui pourrait se prêter à une réaction d'oxydation. Nous avons choisi comme réactif d'oxydation le tétr oxyde d'osmium qui est connu pour son utilisation dans les réactions de formation de glycols *cis*.

#### 3.4.1. Mode opératoire

Dans un ballon de 50 mL muni d'un barreau magnétique sont introduits successivement 21,7 mg d'apoprunellelactone **APL** (1 éq ; 0,117 mmol), 2 mL de dioxane et 825  $\mu\text{L}$  de tétr oxyde d'osmium. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 5 heures. Après réaction le mélange est extrait avec du dichlorométhane (3x10 mL). La phase organique est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  puis évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié sur colonne de gel de silice avec le gradient  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}/\text{MeOH}$  comme éluant. 4 mg de produit **APL7** sont ainsi obtenus.

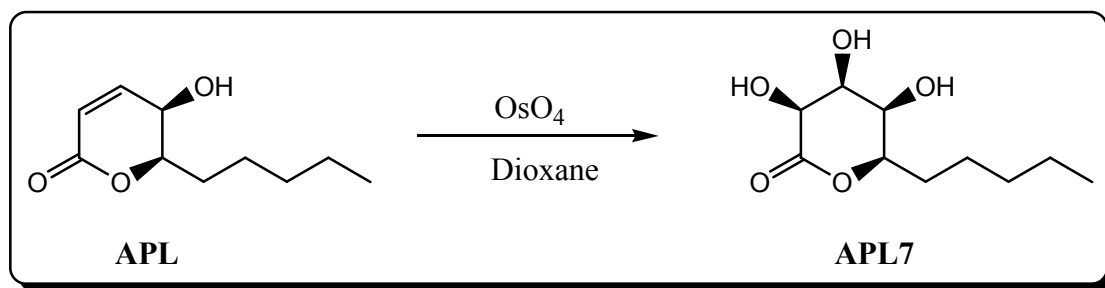


Figure III.3.4.1 : Réaction d'oxydation de l'apoprunellelactone par  $\text{OsO}_4$

### 3.4.2. Mécanisme réactionnel

La réaction d'oxydation par le tétr oxyde d'osmium est une réaction concertée à cinq centres comme indiquée sur la figure III.3.4.2. Il se forme un complexe intermédiaire qui par hydrolyse conduit au produit final APL7.

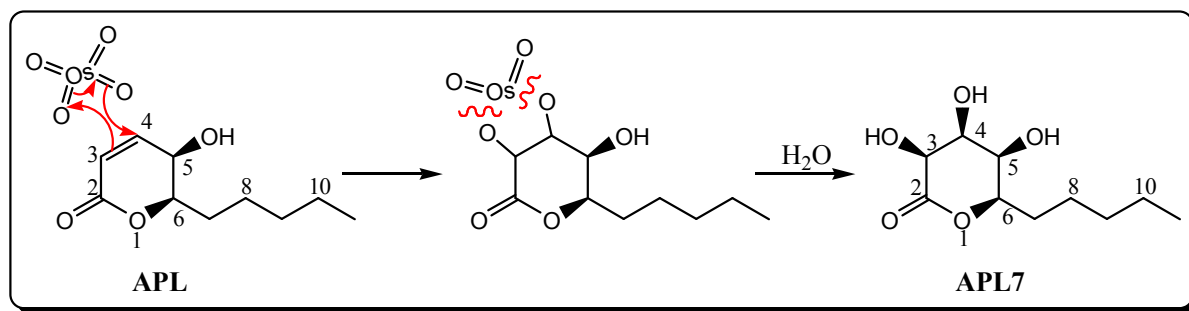


Figure III.3.4.2 : Mécanisme de la réaction d'oxydation de l'apoprunellelactone par  $\text{OsO}_4$

### 3.4.3. Résultats

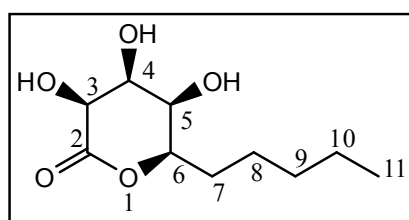


Figure III.3.4.3 : Structure du composé APL7  
[(3*S*, 4*S*, 5*S*, 6*R*)-3, 4, 5-trihydroxy-6-pentyl-tétrahydropyran-2-one]

La réaction d'oxydation de l'apoprunellelactone par le tétr oxyde d'osmium effectuée avec succès, a un rendement de 18,43%. Le produit de réaction obtenu, le **(3*S*, 4*S*, 5*S*, 6*R*)-3, 4, 5-trihydroxy-6-pentyl-tétrahydropyran-2-one** (Figure III.3.4.3) se présente sous forme d'une huile incolore. Les résultats des analyses RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de ce produit sont consignés dans le tableau III.3.4.3. Les résultats d'autres analyses physico-chimiques sont également donnés.

**Tableau III.3.4.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé APL7**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) |
|----------|-----------------------------------|------------------------------------------|
| 2        | 171,6                             | -                                        |
| 3        | 71,2                              | 3,62 (m)                                 |
| 4        | 81,7                              | 3,52 (t ; 6.8 ; 6.4)                     |
| 5        | 73,0                              |                                          |
| 6        | 73,3                              | 3,62 (m)                                 |
| 7        | 28,7                              | 1,99 (m)                                 |
| 8        | 27,6                              | 1,30 (m)                                 |
| 9        | 33,6                              |                                          |
| 10       | 24,3                              |                                          |
| 11       | 15,3                              | 0,88 (t ; 6.4)                           |

Formule brute  $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_5$ , PM = 218

Masse = 4 mg

Spectre IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3469, 3426, 3369, 2958, 2922, 2853, 2359, 2338, 1737, 1467, 1375, 1261, 1076, 1021.

ESI  $m/z$  : 241,2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

$[\alpha]_{\text{D}}$  : -3 (C = 0.49,  $\text{CHCl}_3$ )

### 3.5. Conclusion

Les réactions d'hémisynthèse réalisées sur l'apoprunellelactone, à savoir l'hydrogénation, l'acétylation, la réduction du cycle  $\delta$ -lactonique et l'oxydation par le tétr oxyde d'osmium nous ont permis d'obtenir quatre composés (**APL1**, **APL2**, **APL3** et **APL7**) avec des rendements respectifs de 97.08%, 39.82%, 47.16% et 18.43%. Si les réactions d'hydrogénation, d'acétylation et d'oxydation par le tétr oxyde d'osmium se sont déroulées avec succès, cela n'est pas le cas de la réaction de méthylation qui a conduit à la réduction du cycle  $\delta$ -lactonique.

## 4. Activités biologiques des analogues synthétisés de l'apoprunellelactone

Après l'obtention des quatre analogues structuraux (**APL1**, **APL2**, **APL3** et **APL7**) de l'apoprunellelactone (**APL**), l'étape suivante a été leur évaluation biologique. Ces composés ont été évalués pour leur activité léishmanicide sur *Leishmania donovani* et pour leur activité antifongique sur *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*.

#### 4.1. Activité leishmanicide en $CE_{50}$

Les résultats des tests leishmanicides sur *L. donovani* sont consignés dans le tableau III.4.1. L'analyse de ce tableau indique une forte activité leishmanicide du composé acétylé **APL2** qui est de 0,1 µg/mL (0,44 µM). Cette activité est plus de 23 fois supérieure (en µM) à celle du composé de départ, l'apoprunellelactone qui a montré une activité de 1,9 µg/mL (10,32 µM) et plus de 17 fois supérieure à celle du composé de référence, la pentamidine ( $CE_{50} = 7,7$  µM). Cette forte activité pourrait s'expliquer par la présence du groupement acétyle diminuant la polarité.

**Tableau III.4.1 : Activités leishmanicides en  $CE_{50}$  des dérivés hémisynthétiques de l'apoprunellelactone**

| Produits    | <i>Leishmania donovani</i> |                |
|-------------|----------------------------|----------------|
|             | $CE_{50}$ (µg/mL)          | $CE_{50}$ (µM) |
| APL         | 1,9                        | 10,32          |
| APL 1       | 29,0                       | 157,60         |
| APL 2       | 0,1                        | 0,44           |
| APL 3       | 7,8                        | 41,93          |
| APL 7       | 62,5                       | 286,69         |
| Pentamidine | 2,6                        | 7,7            |

Le tableau III.4.1 montre également une activité modérée du dérivé hydrogéné (**APL3**) de l'apoprunellelactone qui est de 7,8 µg/mL (41,93 µM) et une faible activité du dérivé à cycle réduit (**APL1**) ( $CE_{50} = 157,60$  µM). Par ailleurs, le dérivé oxydé (**APL7**) est inactif sur ce modèle parasitaire ( $CE_{50} = 286,69$  µM). Ces résultats suggèrent que ni l'augmentation du nombre de groupements hydroxyles, ni la réduction de la double liaison C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>, ni la réduction de la taille du cycle lactonique ne permettent l'accroissement de l'activité leishmanicide. La comparaison des valeurs d'activité antileishmanienne entre les trois composés les plus actifs **APL3** (LogP = 1,62), **APL** (LogP = 1,74) et **APL2** (LogP = 1,97) indique que cette activité augmente avec la lipophilie de la molécule.

#### 4.2. Activité antifongique en $CE_{90}$

Les résultats de l'évaluation biologique menée sur *C. albicans* et sur *A. fumigatus* consignés dans le tableau III.4.2 indiquent qu'en dehors du dérivé acétylé de l'apoprunellelactone (**APL2**) qui a montré une activité modeste ( $CE_{90} = 139,38$  et 103,98 µM respectivement), les autres composés sont inactifs sur ces champignons.

**Tableau III.4.2 : Activités antifongiques en  $CE_{90}$  des dérivés hémisynthétiques de l'apoprunellelactone**

| Produits      | <i>Candida albicans</i> |                | <i>Aspergillus fumigatus</i> |                |
|---------------|-------------------------|----------------|------------------------------|----------------|
|               | $CE_{90}$ (µg/mL)       | $CE_{90}$ (µM) | $CE_{90}$ (µg/mL)            | $CE_{90}$ (µM) |
| APL           | > 250                   | -              | > 250                        | -              |
| APL 1         | > 250                   | -              | > 250                        | -              |
| APL 2         | 31,5                    | 139,38         | 23,5                         | 103,98         |
| APL 3         | > 250                   | -              | > 250                        | -              |
| APL 7         | > 250                   | -              | > 250                        | -              |
| Amphotérine B | 0,064                   | -              | 0,064                        | -              |

### 4.3. Conclusion

L'évaluation biologique des dérivés hydrogéné, acétylé, oxydé et de cycle réduit de l'apoprunellelactone a montré une forte activité du dérivé acétylé sur les leishmanies avec une  $CE_{50}$  de 0,1  $\mu\text{g/mL}$  (0,44  $\mu\text{M}$ ), supérieure à celle du produit de départ, l'apoprunellelactone (10,32  $\mu\text{M}$ ) et de la pentamidine utilisée comme référence (7,7  $\mu\text{M}$ ). Ce composé a également montré une activité antifongique relativement modeste sur *Aspergillus fumigatus* ( $CE_{90}$  = 103,98  $\mu\text{M}$ ) et *Candida albicans* ( $CE_{90}$  = 139,38  $\mu\text{M}$ ). En outre les dérivés hydrogénés et de cycle réduit ont montré de faibles activités leishmanicides ( $CE_{90}$  = 41,93 et 157,6  $\mu\text{M}$  respectivement), le dérivé oxydé étant quasi-inactif ( $CE_{90}$  = 286,69  $\mu\text{M}$ ). Ces derniers composés sont inactifs sur *A. fumigatus* et *C. albicans*.

Ces essais biologiques nous ont permis non seulement de confirmer l'activité leishmanicide de l'apoprunellelactone décrite par T. OKPEKON en 2006 dans ses travaux de thèse mais de dégager une relation structure-activité. En effet, l'augmentation du nombre de groupements hydroxyles sur le cycle  $\delta$ -lactonique entraîne une régression de l'activité antiparasitaire tandis que la réduction de la taille du cycle ne permet pas non plus d'améliorer cette activité. Par ailleurs, l'absence de la double liaison éthylénique C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> ne favorise pas l'accroissement de l'activité antiparasitaire. En outre ces résultats nécessitent l'évaluation de la cytotoxicité ainsi que des essais *in vitro* sur amastigote intramacrophagique, puis *in vivo* du composé acétylé de l'apoprunellelactone.

# Conclusion générale

---

Notre étude a porté sur l'étude phytochimique de deux plantes utilisées comme antiparasitaires dans la pharmacopée traditionnelle ivoirienne : *Mallotus oppositifolius*, une Euphorbiaceae et *Isolona cooperi*, une Annonaceae. Pour chacune des plantes, l'étude a porté sur les feuilles, les écorces de tige et les racines. Les fruits de *M. oppositifolius* ont été également étudiés. L'étude bibliographique préalable réalisée sur ces deux espèces a montré que l'on disposait de peu d'information de nature chimique et/ou biologique. Au terme de ce travail, 74 composés ont été isolés et identifiés. Parmi ceux-ci, 14 sont décrits pour la première fois.

La purification de ces composés a été réalisée par combinaisons de techniques chromatographiques telles que la chromatographie sur colonne de gel de silice, la chromatographie sur couche mince, la chromatographie flash et la filtration sur gel de Sephadex® LH-20. Dans certains cas, la recristallisation dans un solvant approprié a été utilisée. Les résultats des tests biologiques conduits initialement sur les extraits a orienté les efforts d'isolement.

L'élucidation de la structure de ces composés a été effectuée par l'utilisation de techniques physico-chimiques et spectroscopiques incluant la spectroscopie ultraviolette (UV), infrarouge (IR), de masse (SM) et de résonance magnétique nucléaire (RMN).

L'étude phytochimique de *M. oppositifolius*, a permis d'isoler et de caractériser 52 molécules réparties en alcools et esters gras, composés phénoliques, terpéniques et stéroïdiques. Les phénols isolés sont principalement des phloroglucinols, des dérivés de l'acide gallique, un benzofurane et un analogue de la vitamine E. Au niveau des terpénoïdes, on distingue différents squelettes, en l'occurrence les squelettes friedelane et lupane. Par ailleurs, deux terpènes originaux de type indane ont été isolés. L'évaluation biologique de ces molécules sur divers parasites a montré dans l'ensemble des activités relativement modestes.

L'étude phytochimique d'*I. cooperi* a permis d'isoler 22 molécules réparties en stérols, acides et esters gras, lactone et composés azotés. Les composés azotés sont des alcaloïdes de type bisbenzyltétrahydroisoquinoléines, des amides, amine et indole, et un noyau de type xanthine. L'évaluation biologique des composés isolés de cette plante ont également montré dans l'ensemble des activités modestes.

En somme, seuls quelques métabolites isolés de ces deux plantes ont permis de justifier l'utilisation de ces plantes en tant qu'antiparasitaires. Chez *M. oppositifolius*, les composés phénoliques se sont montrés les plus actifs tandis que chez *I. cooperi* les composés actifs sont les alcaloïdes et la lactone. Les squelettes des phloroglucinols suggèrent de tester leurs propriétés anti-inflammatoires.

Les modulations structurales effectuées sur l'apoprunelelactone nous ont permis d'obtenir quatre dérivés de cette lactone par des réactions d'acétylation, d'hydrogénation et d'oxydation.

Les réactions de méthylation de la fonction hydroxyle mises en œuvre ne nous ont pas permis d'obtenir le produit désiré. En lieu et place nous avons observé la réduction de la taille du cycle  $\delta$ -lactonique. En outre les essais d'introduction de fonction azotée dans le cycle lactonique ont été voués à l'échec. Ces réactions montrent les difficultés qui existent pour la méthylation de la fonction hydroxyle et l'introduction d'atome d'azote dans le cycle lactonique, qui demeurent un challenge à relever.

L'évaluation biologique des produits synthétisés a montré une forte activité antiparasitaire sur les leishmanies du dérivé acétylé avec une activité supérieure à celles du produit de départ, l'apoprunellelactone et de la référence utilisée, la pentamidine. Par ailleurs, les autres dérivés de l'apoprunellelactone obtenus ont montré des activités relativement modestes dans l'ensemble. Ces résultats nous permettent d'émettre l'hypothèse que la présence de fonction acétyle pourrait être un facteur déterminant dans l'activité antiparasitaire.

L'étude de ces composés mérite d'être poursuivie afin de mettre en évidence d'autres potentialités biologiques plus importantes. Des tests anti-inflammatoires pourraient être effectués surtout avec les composés de type phloroglucinol qui ont montré des activités intéressantes sur de nombreuses lignées cancéreuses dans la littérature. Par ailleurs, la synthèse totale de l'apoprunellelactone pourrait être envisagée afin de disposer de quantité appréciable de produit pouvant permettre la synthèse de plus d'analogues de cette molécule. La synthèse totale du dérivé acétylé qui pourrait constituer une alternative thérapeutique à long terme mérite également d'être envisagée ainsi que l'évaluation de ce dernier sur d'autres souches parasitaires en même temps que sa cytotoxicité. En outre il nous apparaît opportun d'effectuer la synthèse d'autres stéréoisomères de ces composés afin de déterminer l'effet de la disposition spatiale des différents groupements sur l'activité antiparasitaire.

Nos travaux viennent ainsi contribuer à la caractérisation chimique et biologique de ces deux espèces. En outre ils apportent leur pierre à la valorisation de la pharmacopée ivoirienne.

# QUATRIEME PARTIE :

## PARTIE EXPERIMENTALE

---

# 1. Matériels et appareillages

## 1.1. Matériel chromatographique

### 1.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les chromatographies sur couche mince ont été réalisées sur des plaques de gel de silice de 0,2 mm d'épaisseur (10 x 20, 20 x 20 cm) sur support d'aluminium (Merck, TLC Gel de silice 60 F254). Après élution, les plaques ont été observées sous lumière ultra-violette (254 et 366 nm) puis révélées par trempage ou par pulvérisation avec un réactif adéquat.

### 1.1.2. Chromatographie sur couche mince préparative

Les chromatographies sur couche mince préparatives ont été mises en œuvre sur des plaques en verre recouvertes de silice Kieselgel 60F<sub>254</sub> Merck (250µm, 20 x 20 cm).

### 1.1.3. Chromatographie d'adsorption sur colonne ouverte

Les chromatographies sur colonne ouverte utilisent des colonnes en verre, de diamètre choisi selon le poids du produit à purifier et remplies de gel de silice Kieselgel Merck 60 ou de gel d'alumine (oxyde d'aluminium 90), de granulométrie comprise entre 63 et 200 µm. Pour une bonne séparation, on utilise 30-40 fois le poids de silice par rapport au poids du mélange à purifier.

### 1.1.4. Chromatographie flash

C'est une technique de fractionnement et de purification utilisant un système de pression fournie par une pompe incorporée à l'appareillage. La colonne de silice sous pression permet d'accélérer la purification par rapport à un système équivalent à pression atmosphérique avec un débit élevé et une amélioration dans la résolution de séparation. Dans cette technique, le support chromatographique, qui peut être de la silice normale ou de la silice en phase inverse, est conditionné dans des cartouches. Les cartouches que nous avons utilisées sont de type « GRACE » de différentes tailles (12g, 24g, 40g, 80g et 120g) en fonction de la masse de produit à purifier. Les échantillons à purifier sont également conditionnés dans des cartouches de silice ou de phase inverse, ou injectés manuellement à l'aide d'une seringue après dissolution dans un minimum de solvant. Ce système a l'avantage d'utiliser tous les types de solvants, depuis les moins polaires (hexane, cyclohexane, dichlorométhane, etc.) jusqu'aux plus polaires (alcools, eau, etc.). L'élution peut être réalisée aussi bien en mode isocratique qu'en mode gradient en fonction de la complexité du profil des composés à séparer. Outre le système de pression, l'appareillage est muni d'un détecteur UV, l'ensemble piloté par un ordinateur qui permet la mise au point de la méthode d'analyse.

#### 1.1.5. Chromatographie liquide sous vide ou vacuum liquid chromatography (VLC)

Cette technique permet de réaliser une première séparation d'extraits bruts. Le mélange à purifier adsorbé sur la silice (silice 60 F<sub>254</sub>) est déposé sur un entonnoir filtrant et élué sous vide par un gradient de solvants.

#### 1.1.6. Chromatographie liquide à haute pression (CLHP)

Les chromatographies liquides à haute pression à polarité de phase inverse analytiques ont été réalisées avec une chaîne constituée d'un injecteur à carrousel Auto sampler Waters 717 plus, d'une pompe Waters 600 controller, d'un détecteur UV à barrette de diode Waters 996 photodiode array detector, à l'aide du logiciel Empower<sup>®</sup>, avec une colonne Sunfire<sup>™</sup> C<sub>18</sub> (5 µm, 4,6×150 mm, Waters).

#### 1.1.7. Filtration sur gel de dextrane : Sephadex<sup>®</sup> LH-20

La filtration sur gel de dextrane est une technique de purification par tamisage moléculaire. Les grosses particules sont exclues de la phase stationnaire tandis que les petites particules incluses diffusent plus lentement dans les pores du gel. Le gel utilisé pour nos analyses est le Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (25-100µm).

#### 1.1.8. Révélateurs

Les révélateurs de CCM utilisés sont les suivants :

##### 1.1.8.1. Le réactif de Dagendorff pour les alcaloïdes et les composés azotés<sup>490,491,492</sup>

Ce réactif est préparé comme suit :

- Solution 1 : dissoudre 1,7g de nitrate de bismuth basique et 20g d'acide tartrique dans 80 mL d'eau.
- Solution 2 : dissoudre 16g d'iodure de potassium dans 40 mL d'eau.
- Solution de réserve : mélanger des volumes égaux des solutions 1 et 2. La solution de réserve se conserve plusieurs mois au réfrigérateur.
- Solution à vaporiser : dissoudre 10g d'acide tartrique dans 50 mL d'eau et ajouter cette solution à la solution de réserve.

Après vaporisation de ce réactif, la présence des alcaloïdes et des composés azotés est indiquée par la formation instantanée d'une tâche jaune-orangée.

<sup>490</sup> Munier RM. Caractérisation chimique des alcaloïdes, *Bull., Société chimique et Biologique*, 35, **1953**, 1225p.

<sup>491</sup> Kurt Randerath. Chromatographie sur couches minces. 2<sup>e</sup> Ed. GAUTHIER-VILLARS, 55, quai des Grands-Augustins, Paris 6<sup>e</sup>, **1971**, 399 p.

<sup>492</sup> Wagner H, Bladt S, Zgainski EM. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, **1984**, 320p.

#### 1.1.8.2. Le réactif de Mayer pour les alcaloïdes stéroïdiques<sup>493</sup>

La solution utilisée est celle de chlorure de mercure - iodure de potassium. Deux solutions sont préparées pour effectuer ce test.

- Solution 1 : dissoudre séparément 13,55g de chlorure de mercure (II) et 49,8g d'iode de potassium dans 20 mL d'eau. Mélanger puis compléter à 1L avec de l'eau distillée.

- Solution 2 : on prépare une solution d'acide chlorhydrique à 17%.

Les solutions à vaporiser sont les suivantes :

- Solution de vaporisation I : mélanger dix volumes de la solution 1 et un volume de la solution 2.

- Solution de vaporisation II : dissoudre 5g de chlorure de zinc dans 80 mL d'eau, puis ajouter 15 mL d'acide chlorhydrique concentré à 37%.

- Solution de vaporisation III : on prépare une solution d'hydroxyde d'ammonium à 15%.

Le mode opératoire est le suivant : après vaporisation avec la solution I, les substances apparaissent sous forme de tâches faiblement jaunes. Laver le chromatogramme pendant 10 minutes avec de l'eau ; après l'avoir égoutté, vaporiser les solutions II puis III.

La coloration des tâches en brun foncé ne persiste pas très longtemps après la révélation.

#### 1.1.8.3. Le réactif de Liebermann-Burchard<sup>492</sup>

La préparation du réactif et la réalisation de ce test se font comme suit : on prépare une première solution composée d'un mélange à volume égal (5 mL) d'acide sulfurique et d'anhydride acétique. A cette solution, on rajoute 50 mL d'éthanol absolu. La préparation est effectuée à froid dans de la glace. Après pulvérisation, la plaque est chauffée à 100°C pendant 10 minutes puis on observe à la lumière UV à 365 nm.

Ce test permet la mise en évidence des triterpènes de types oléane, ursane, lupane ainsi que les stéroïdes. Selon le type de composé testé, on observe des tâches de colorations diverses.

Ainsi :

- Coloration rouge pour les triterpènes de type oléane et ursane.
- Coloration jaune-orangée pour les triterpènes de type lupane.
- Coloration jaune / jaune-vert pour les stéroïdes.

#### 1.1.8.4. La vanilline sulfurique :

C'est un réactif à spectre large qui permet la détection des terpénoïdes, des dérivés de type phénylpropane et des phénols.

Il est obtenu comme suit :

Dissoudre 2g de vanilline dans 200 mL d'éthanol à 96% puis ajouter goutte à goutte 4 mL d'acide sulfurique commercial (acide sulfurique concentré) et homogénéiser. La dissolution de l'acide sulfurique concentré dans l'éthanol est exothermique ; il est donc nécessaire de refroidir le mélange au fur et à mesure que l'on ajoute l'acide sulfurique.

Après pulvérisation, la plaque est chauffée à environ 105°C pendant quelques minutes avant observation des tâches obtenues dans le visible.

---

<sup>493</sup> Tschesche R, Petersen. Alkaloids in plants, *Chemische Berichte*, 87, **1953**, 269p.

#### 1.1.8.5. L'acide phosphomolybdique pour les composés terpéniques

Ce réactif est obtenu par dissolution de 5g d'acide phosphomolybdique dans 100 mL d'éthanol. Après pulvérisation de la plaque, chauffer 5 à 10 minutes à 100-110°C puis observer dans le visible.

La présence de composés terpéniques est indiquée par la formation de tâches bleues sur fond jaune.

#### 1.1.8.6. Le réactif de Kedde<sup>492</sup>

Deux solutions A et B sont préparées pour effectuer ce test.

- Solution A : c'est une solution de 2 à 3% d'acide dinitro-3,5 benzoïque dans le méthanol.
- Solution B : on prépare une solution de soude (NaOH) de 1 à 2M.

Pulvériser d'abord la solution A et laisser évaporer le méthanol ; pulvériser ensuite la solution B.

On peut également mélanger A et B (v/v) et pulvériser.

Ce réactif est utilisé pour caractériser les cardénolides. L'apparition de tâches roses, parfois fugaces indique une réaction positive.

#### 1.1.8.7. Le chlorure de fer III pour les composés phénoliques et acides hydroxamiques<sup>494</sup>

La solution de vaporisation est celle de chlorure de fer (III) dont le pourcentage doit être situé entre 1 et 5% dans l'acide chlorhydrique 0,5 mol/L.

Pour préparer la solution à 3% dans l'acide chlorhydrique 0,5 mol/L, on procède comme suit :

- On prépare d'abord la solution d'acide chlorhydrique 0,5 mol/L en dissolvant 4,2 mL d'acide chlorhydrique commercial (12N) dans 50 mL d'eau distillée, le volume est ensuite complété à 100 mL.
- On introduit dans une fiole jaugée 3g de chlorure de fer (III) puis on ajoute la solution d'acide chlorhydrique 0,5 mol/L jusqu'à obtenir 100 mL de solution.

Les zones correspondant aux acides hydroxamiques se colorent en rouge, celles correspondant aux phénols en bleu ou virent sur le vert.

#### 1.1.8.8. Le Fast Blue Salt B (3,3'-diméthoxy-biphényl-4,4'-bis (diazonium dichloride))

C'est un réactif utilisé pour mettre en évidence les composés phénoliques.

Il est préparé en dissolvant 0,5g de sel bleu solide (fast blue B) dans 100 mL d'eau distillée suivi d'agitation jusqu'à dissolution totale. La solution est conservée au réfrigérateur.

Après pulvérisation du chromatogramme, ce dernier est séché puis observé dans le visible. Le test est positif lorsqu'on observe une coloration rouge. Pour intensifier la coloration des tâches, une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1M peut être pulvérisée après le séchage du chromatogramme et avant l'observation dans le visible

---

<sup>494</sup> Fink K, Fink RM. Process experimental in Biology and Medicine, 70, **1949**, 654p.

#### 1.1.8.9. Le test de Shinoda pour la caractérisation des flavonoïdes<sup>495</sup>

Ce test peut être réalisé en tube ou par pulvérisation sur plaque CCM.

A l'extrait à analyser contenu dans un tube à hémolyse, on ajoute 5 mL d'éthanol 95% et quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré. Après addition de 0,5g de copeaux de magnésium à la solution obtenue, la présence de flavonoïdes est indiquée par l'apparition d'une coloration rose.

Dans le cas d'une CCM, la pulvérisation de la plaque est faite par la solution éthanolique d'acide chlorhydrique concentrée.

#### 1.1.9. Solvants

Les solvants utilisés sont des solvants commerciaux de qualité RPE, Carlo Erba : éther de pétrole, cyclohexane, chloroforme, méthanol, acétate d'éthyle, acétonitrile, acide trifluoroacétique (TFA), etc.

### 1.2. Appareils

#### 1.2.1. Pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés avec un polarimètre de type polAAr32 comportant trois cellules : une cellule de plus grande précision A1 type 8mm x 200mm et deux cellules de longueur 100mm (2,5 x 100 mm et 4 x 100 mm). Ce polarimètre dispose de deux ports de type RS232 (connexion à une imprimante ou à un ordinateur) et d'un écran de lecture de la température, de la longueur d'onde et de la densité optique. Les mesures sont effectuées à  $\lambda=546\text{nm}$  et  $589\text{nm}$  et les concentrations des solutions et les solvants sont indiqués dans chaque cas.

#### 1.2.2. Point de fusion

Les points de fusion exprimés en degrés Celcius ( $^{\circ}\text{C}$ ) ont été mesurés sur des appareils de type BÜCHI B540 et de type Stuart<sup>®</sup> SMP10 Melting Points. Les mesures sont effectuées en microtube. L'ouverture du tube capillaire est plongée dans le solide finement pulvérisé ; on le retourne ensuite pour y faire descendre le produit sur une hauteur d'environ 3mm. Le tube capillaire contenant l'échantillon est ensuite introduit dans une ouverture de l'appareil réservée à cet effet où il est chauffé électriquement. La lecture se fait automatiquement.

Le modèle SMP10 permet la mesure simultanée des points de fusion de deux échantillons avec une élévation de la température d'environ  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Le Büchi B540 permet la mesure de point de fusion pouvant atteindre  $400^{\circ}\text{C}$ .

---

<sup>495</sup> Sahu VK, Irchhaiya R, Shashi A, Gurjar H. Phytochemical investigation and chromatographic evaluation of the ethanolic extract of whole plant extract of *Dendrophthoe falcate* (L.F) Ettingsh. *IJPSR*, **2010**, 1, 1, 39-45.

### 1.2.3. Lampe UV

Les plaques de CCM sont observées grâce aux lampes UV ; les observations sont faites à deux longueurs d'ondes :  $\lambda = 366 \text{ nm}$  et  $\lambda = 254 \text{ nm}$ . La lampe que nous avons utilisée est de marque CAMAG (220V,  $\lambda = 366, 254 \text{ nm}$ ).

### 1.2.4. Spectrométrie UV-Visible

Les spectres d'absorption ultraviolette (UV) ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre Philips PU8720 UV/VIS. Les longueurs d'onde d'absorption sont données en nanomètres (nm).

### 1.2.5. Spectrométrie infrarouge (IR)

Les spectres d'absorption infrarouge (IR) ont été enregistrés sur un spectromètre à transformée de Fourier Bruker Vector 22. Les bandes d'absorption ( $\nu$ ) sont exprimées en  $\text{cm}^{-1}$ .

### 1.2.6. Spectrométrie de masse (SM)

Les spectres de masse d'impact électronique (SMIE) ont été enregistrés sur un modèle Thermo scientifique, trace GC ultra, système équipé d'un spectromètre de masse mass detector ITQ900. Les spectres de masse haute résolution ont été enregistrés sur un spectromètre WATERS LCT Premier.

### 1.2.7. Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN  $^1\text{H}$ ) et du carbone treize ( $^{13}\text{C}$ ) ont été réalisés sur des appareils Bruker AM-400 à 400 MHz, Bruker AM-300 à 300 MHz et Bruker AC-200 à 200MHz. Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport au solvant deutéré. Les constantes de couplage  $J$  sont exprimées en Hertz (Hz).

Les solvants deutérés utilisés pour les analyses sont les suivants :

- Le chloroforme deutéré ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta = 7,27 \text{ ppm}$  en RMN  $^1\text{H}$  et  $77,0 \text{ ppm}$  en RMN  $^{13}\text{C}$
- Le méthanol deutéré ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta = 3,31 \text{ ppm}$  en RMN  $^1\text{H}$  et  $39,0 \text{ ppm}$  en RMN  $^{13}\text{C}$
- Le diméthylsulfoxyde deutéré ( $\text{DMSO-d}_6$ ) :  $2,50 \text{ ppm}$  en RMN  $^1\text{H}$  et  $39,52 \text{ ppm}$  en RMN  $^{13}\text{C}$ .

## 1.3. Matériel biologique

### 1.3.1. Activité trypanocide *in vitro*

Les essais ont été effectués au Laboratoire de chimiothérapie antiparasitaire de la faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry UMR CNRS 8076 BioCIS, en utilisant la souche GVR 35 (*Glasgow Veterinary Research*) de *Trypanosoma brucei brucei* obtenue auprès du Pr Jennings. La souche est maintenue chez une souris par repiquage à la seringue au moins trois jours avant le test. Les parasites, récupérés par prélèvement aseptique du sang à la veine de la queue d'une souris fortement infectée (en majorité par des formes longues), sont dilués de façon adéquate à

l'aide du milieu de culture<sup>496</sup> pour obtenir 200 000 trypomastigotes par mL. Les formes circulantes du parasite sont cultivées *in vitro* sans perte de leur pouvoir infectieux, pendant 24 heures à 37 °C dans une atmosphère d'air contenant 5 % de CO<sub>2</sub>. Le milieu de culture est composé de :

|                                          |          |
|------------------------------------------|----------|
| β-mercaptoéthanol (0,2 mM)               | 1,4 µL   |
| Hypoxanthine                             | 1,36 mg  |
| Thymidine                                | 0,387 mg |
| Sodium de pyruvate                       | 22 mg    |
| Hépès                                    | 650 mg   |
| Glucose                                  | 100 mg   |
| NaHCO <sub>3</sub>                       | 220 mg   |
| Sérum de cheval décomplémenté            | 15 mL    |
| Gentamicine                              | 5 mg     |
| MEM non essential amonoacids             | 1 mL     |
| MEM with Earle's salts + L-glutamine qsp | 100 mL   |

Les parasites sont répartis en plaque de 96 puits de 200 µL à raison de 200 000 par mL. Ensuite, 5 µL de la dilution adéquate, dans l'éthanol absolu (EtOH) ou le DMSO (diméthylsulfoxyde), des produits testés sont additionnés, chaque concentration étant testée trois fois. Les puits témoins reçoivent seulement le solvant de dissolution (5 µL, soit 2,5 %). Après 24 heures d'incubation, la viabilité des trypanosomes est estimée par observation directe à l'aide du microscope optique. Les essais sont répétés deux fois.

Les résultats des essais sont exprimés sous forme de *CL*<sub>100</sub>, concentration minimale tuant tous les parasites dans les puits après 24 heures. Le mélsarsoprol (Mel W) est utilisé comme substance de référence.

### 1.3.2. Activité leishmanicide *in vitro*

Les essais antileishmaniens ont été réalisés sur *Leishmania donovani*. Ce test a été réalisé en utilisant la souche LV9 (MHOM/ET/1967/L82) (Pr S. L. Croft, *London School of Tropical Medecine and Hygiene*, Londres, Angleterre). Les leishmanies au stade promastigote sont maintenues en culture dans des flacons de 25 mL contenant 5 mL de milieu complet. Le milieu nutritif est composé de :

|                                    |          |
|------------------------------------|----------|
| RPMI (10x)                         | 10 mL    |
| Sérum de Veau foetal décomplémenté | 10 mL    |
| Hépès                              | 2,5 mL   |
| Glutamine 2 mM                     | 1 mL     |
| Gentamicine 40 mg/mL               | 0,125 mL |
| Eau stérile non ionique qsp        | 100 mL.  |

<sup>496</sup> Loiseau PM, Lubert P, Wolf JG. Contribution of dithiol ligands to *in vitro* and *in vivo* trypanocidal activities of dithiaarsanes and investigation of ligand exchange in an aqueous solution. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2000**, 44, 2954-2961.

pH : ajusté à 7,4 (NaOH 1M).

Les échantillons à évaluer sont d'abord mis en solution dans le DMSO ou l'EtOH. Ceux-ci étant toxiques pour les leishmanies, ces solutions sont ensuite diluées dans du RPMI (1x) afin d'abaisser la concentration finale en solvant à moins de 2 % (v/v) lors des tests, un tel pourcentage n'affectant pas la viabilité des parasites. Les tests sont réalisés dans des plaques de 96 puits à fond plat. Les parasites sont pris en phase de croissance exponentielle (environ 72 heures après la mise en culture). Dans chaque puits, 195 µL de milieu de culture contenant 200 000 leishmanies au stade promastigote sont déposés. Les plaques sont ensuite placées à l'étuve à 27°C pendant 1 heure. Après cette incubation, les substances sont ajoutées à raison de 5 µL par puits. Trois puits sont réalisés pour chaque concentration. Les plaques sont placées à l'étuve pendant 72 heures à 27 °C et les essais sont répétés trois fois.

L'évaluation de l'activité antileishmanienne, exprimée sous forme de  $CI_{50}$ , est réalisée par deux méthodes :

- Lecture directe au microscope optique et par comparaison avec les témoins négatifs. Ce test qualitatif permet d'évaluer la vitalité des leishmanies dans chaque puits en se basant sur trois critères : le nombre de parasites présents dans chaque puits par rapport aux témoins, la mobilité des parasites et la forme des cellules.

- Dosage colorimétrique quantitatif par le MTT. Il permet de déterminer *in vitro* la viabilité cellulaire et la  $CI_{50}$  (concentration inhibant 50 % de la culture de promastigotes). Le principe de ce dosage repose sur la réduction d'un sel de tétrazolium en cristaux de formazan. Le MTT est un colorant jaune soluble en milieu aqueux qui, au contact des cellules vivantes, est réduit par les enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale (déshydrogénases), en cristaux de MTT-formazan pourpres insolubles dans l'eau.

Après l'évaluation au microscope, 5 µL de solution de MTT (Sigma) à 5 mg/mL d'eau stérile sont distribués dans chacun des puits et la plaque est mise à incuber 4 heures à 27°C. Au terme de ce temps, les cellules sont lysées et le MTT solubilisé par l'ajout de 50 µL d'un mélange HCl (concentré)/TritonX/H<sub>2</sub>O (3,2 : 20 : 76,8). La plaque est ensuite lue au spectrophotomètre à 570 nm. Le pourcentage de survie est exprimé par le rapport de la moyenne de l'absorbance mesurée dans les puits traités sur la moyenne de l'absorbance mesurée dans les puits témoins. La pentamidine est employée comme témoin positif.

### 1.3.3. Activité anthelminthique *in vitro*

L'activité anthelminthique sur *Caenorhabditis elegans* a été déterminée par la méthode décrite par **Ravina E et al.**<sup>497</sup> en 1993 dans le DMSO à une concentration de 1mg/100µL. La souche étudiée est un don de l'Institut Pasteur. Les tests sont réalisés sur plaque de 24 puits, chaque

---

<sup>497</sup> Ravina E, Sanchezalonso R, Fueyo J, Baltar MP, Bos J, Iglesias R, Sanmartin ML. Synthesis and potential anthelmintic activity of methyl-5-(4-salicyloyl-piperazin-1-yl)-benzimidazole-2-carbamates. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research*, **1993**, 43-1, 6, 689-694.

puits recevant 10 à 15 vers par 0,5ml. Trois ou quatre essais sont réalisés par concentration d'extrait ou de composé testé. Après 7 à 20 ± 1 jours d'incubation, la densité de chaque puits est mesurée. Les lectures sont effectuées à l'aide d'un microscope binoculaire. Les résultats sont exprimés en  $CE_{50}$  (concentration effective qui tue 50 % des vers). Le Mébendazole est utilisé comme témoin positif.

#### 1.3.4. Activité antifongique *in vitro*

Les souches utilisées pour ce test ont été *Aspergillus fumigatus* IP 2279.94 et *Candida albicans* UMIP, de l'Institut Pasteur.

Les  $CE_{90}$  ont été mesurées par la méthode de dilution en bouillon. Les conidies ont été récoltées à partir d'une culture d'*A. fumigatus* âgées de 7 jours sur gélose de malt à 35°C. Les conidies ont été purifiées par centrifugation à 1500 tours par minute et puis par un lavage avec du tampon PBS contenant 0,01 % de Tween 20®.

Pour les levures, des cultures à 48 heures de *C. albicans* sur Sabouraud Dextrose Agar ont été utilisées pour toutes les expériences.

La concentration finale dans chaque tube a été ajustée à  $10^3$ - $5 \times 10^3$  UFC /mL pour les deux souches. Les tests ont été effectués dans MOPS tamponné milieu RPMI 1640 avec de la L-glutamine, mais sans  $\text{NaHCO}_3$ , contenant de l'EtOH à une concentration finale de 0,2 % (v/v). Après agitation, les tubes ont été incubés à 35°C pour 48 h et ensuite évalués pour la présence ou l'absence de croissance des champignons.

## 2. Drogues végétales

Les plantes étudiées ont été récoltées dans différentes localités du Sud-est de la Côte d'Ivoire.

Les feuilles et les racines de *Mallotus oppositifolius* ont été récoltées en Mai 2007 à Akoupé (Département d'Adzopé). Les écorces de tige et les fruits ont été récoltés respectivement en Juillet 2009 et en Octobre 2012 dans la même localité.

Les organes d'*Isolona cooperi* (feuilles, tiges et racines) ont été récoltés dans la forêt de « Petit Yapo », dans le Département d'Agboville en Août 2010.

Les différentes plantes ont été identifiées par le professeur Aké ASSI du Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan. Elles ont été ensuite séchées à 25°C à l'abri de la lumière du soleil et broyées à la faculté de pharmacie d'Abidjan. Des échantillons d'herbier de ces espèces sont conservés au Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan.

### 3. Extraction, isolement et purification des composés

#### 3.1. Espèce *Mallotus oppositifolius*

##### 3.1.1. Feuilles de *Mallotus oppositifolius*

##### 3.1.1.1. Première extraction des feuilles

Les extractions ont été réalisées en milieu neutre avec divers solvants. Ainsi, trois kilogrammes (3 Kg) de feuilles pulvérisées ont été extraits, par macération à température ambiante, six fois de suite, par 9L d'éthanol pendant 48H, soit un rapport entre le matériel végétal à extraire et le volume de solvant utilisé de 1kg/16L. Après filtration et évaporation du solvant, 397 g d'un résidu noir cireux (**E**) a été obtenu. Ce résidu a été ensuite contre extrait successivement par l'hexane, le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle après dissolution dans un mélange Ethanol/Eau (50:50) (1,5L). Les phases organiques, après filtration et élimination du solvant à l'évaporateur rotatif, ont permis d'obtenir 116 g d'un extrait hexanique verdâtre et pâteux **H**, 48 g d'un extrait chlorométhylénique brunâtre **D** et 87 g d'un extrait d'acétate d'éthyle brunâtre **A** d'aspect visqueux. Les extraits obtenus sont ensuite stockés à basse température et à l'abri de la lumière jusqu'à leur exploitation.

L'extrait hexanique **H** (116 g) a été scindé en deux parties : **H<sub>A</sub>** (53 g) et **H<sub>B</sub>** (50 g). Nous avons donc effectué deux dégrossissements concernant cet extrait.

##### 3.1.1.1.1. Extrait hexanique H<sub>A</sub>

L'extrait hexanique **H<sub>A</sub>** a été fractionné sur colonne de gel de silice (Merck 60), sous pression normale (pression atmosphérique), en utilisant un gradient d'élution Hexane/Acétone. Après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques en CCM (révélées par l'acide phosphomolybdique), 21 fractions (**F1** à **F21**) ont été obtenues (Tableau C.1.1.1.1). Les fractions **F11** et **F12** de profils CCM peu complexes ont été purifiées.

Somme des masses des fractions obtenues = 45,694 g ; Masse de l'extrait = 53 g

$$\text{Rendement de la colonne (R)} = \frac{\text{Somme des masses des fractions obtenues}}{\text{Masse de l'extrait}}$$

$$R = \frac{45,6942}{53} = 0,8621 \text{ soit } \underline{R = 86,21\%}$$

**Tableau C.1.1.1.1 : Récapitulatif des différentes fractions issues du premier dégrossissement**

| Fraction | Masse (g) |
|----------|-----------|
| F1       | 0,194     |
| F2       | 0,027     |
| F3       | 0,021     |
| F4       | 0,003     |
| F5       | 0,130     |
| F6       | 1,014     |
| F7       | 0,288     |
| F8       | 3,927     |
| F9       | 5,343     |
| F10      | 4,610     |
| F11      | 1,236     |
| F12      | 1,642     |
| F13      | 2,694     |
| F14      | 3,286     |
| F15      | 2,256     |
| F16      | 3,524     |
| F17      | 3,593     |
| F18      | 1,201     |
| F19      | 4,374     |
| F20      | 1,920     |
| F21      | 4,284     |

- Purification de la fraction F11

L'isolement et la purification des composés à partir de cette fraction ont été réalisés par combinaison de chromatographies successives sur colonne de gel de silice et de gel de Sephadex® LH-20. D'autres méthodes de purification telles que la filtration et la recristallisation ont été également utilisées.

En effet, après la première colonne de gel de silice (Merck 60) sur l'extrait *H<sub>A</sub>*, nous avons obtenu des cristaux dans la fraction **F11**. Ces cristaux de masse 77 mg ont été ensuite séparés de la fraction par filtration puis lavés à l'éthanol afin de se débarrasser des impuretés solubles dans l'éthanol à froid. Pour éliminer les impuretés colorées, nous avons effectué une CC de gel de Sephadex® LH-20 en utilisant comme éluant le mélange Dichlorométhane/Ethanol (2:1). Une recristallisation dans l'éthanol du produit obtenu conduit à 59 mg de cristaux jaunâtres en aiguilles **1** (Méthylène bis-aspidinol).

- Purification de la fraction F12

La fraction **F12** (1,6 g) a subi successivement deux CC de gel de silice 60H (Hexane/AcOEt 75 :25 ; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt 95 :5) suivies d'une CC de gel de Sephadex® LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH 2 :1). Une ultime recristallisation dans l'acétate d'éthyle a permis d'obtenir 20 mg du mélange stigmastérol, clionastérol et campestérol (**17** + **18** + **19**).

#### 3.1.1.1.2. Extrait hexanique H<sub>B</sub>

L'extrait **H<sub>B</sub>** (50 g) a été chromatographié sur colonne de gel de silice (Merck 60), sous pression réduite (VLC), en utilisant un gradient d'élution Hexane/Acétate d'éthyle. Après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques en CCM, onze fractions (**H1** à **H11**) ont été obtenues (Tableau C.1.1.1.2). Les fractions **H4** et **H6** qui présentaient les meilleurs profils CCM, ont été purifiées.

**Tableau C.1.1.1.2 : Récapitulatif des différentes fractions issues du deuxième dégrossissement**

| Fraction | Masse (g) |
|----------|-----------|
| H1       | 0,277     |
| H2       | 1,109     |
| H3       | 0,102     |
| H4       | 2,134     |
| H5       | 1,669     |
| H6       | 3,404     |
| H7       | 7,564     |
| H8       | 4,624     |
| H9       | 1,050     |
| H10      | 3,670     |
| H11      | 2,786     |

Somme des masses des fractions obtenues = 28,392 g ; Masse de l'extrait = 50 g

Rendement = **56,79%**.

##### - Purification de la fraction H4

L'isolement et la purification des composés à partir de la fraction **H4** ont été réalisés par combinaison de chromatographies successives sur colonne (CC) de gel de silice, de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20, et par chromatographie sur couche mince préparative.

En effet, la fraction **H4** (2g) a été chromatographiée sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant le système Hexane/Acétate d'éthyle (95/5). Cette opération a permis d'obtenir quatre sous-fractions (**H4A** à **H4D**). La sous-fraction **H4C** (100 mg) qui présentait le meilleur profil chromatographique en CCM après pulvérisation par le Fast Blue Salt B qui permet de révéler les composés phénoliques, a été filtrée sur gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 en utilisant le système de solvants Dichlorométhane/Ethanol (2 :1). Cinq fractions (**H4C1** à **H4C5**) ont été par la suite constituées. La fraction **H4C5** (35,6 mg), digne d'intérêt car quasi pure, a subi une ultime purification sur CCM préparative. Le système d'éluants Ether de Pétrôle/Dichlorométhane/Acétate d'éthyle (98 :2 :5), qui permettait un meilleur profil chromatographique en CCM, a été utilisé pour la purification. Après élution, la détection des composés a été faite à la lampe UV à  $\lambda$  254 nm. Par grattage, les zones de la plaque chromatographique correspondant au composé recherché ont été récupérées puis lavées au dichlorométhane. Le 5-formylaspidinol (**5**) (5,7 mg) est obtenu après filtration et évaporation du solvant.

#### - Purification de la fraction H6

Deux composés (**2** et **6**) ont été isolés et purifiés de cette fraction. Leur obtention a nécessité une combinaison de chromatographies successives sur colonne (CC) de gel de silice et de gel de Sephadex® LH-20.

En effet, la fraction **H6** (3,4 g) a été chromatographiée sur colonne de gel de silice avec comme éluant le système de solvants Hexane/Ether de pétrole/Dichlorométhane (2 :1 :8). Six sous-fractions (**H6A** à **H6F**) ont été constituées selon les profils chromatographiques sur CCM.

Une ultime chromatographie sur colonne de gel de Sephadex® LH-20 avec le système Dichlorométhane/Ethanol (2 :1) a permis d'obtenir 20 mg de lupéol (**6**).

Le fractionnement sur colonne de gel de silice suivi de filtration sur gel de Sephadex® LH-20 utilisant respectivement comme éluants les systèmes de solvants Hexane/Ether de pétrole/Dichlorométhane (10 :10 :80) et Dichlorométhane/Ethanol (2 : 1) de la sous-fraction **H6C** a donné 6,6 mg de composé **2**.

#### 3.1.1.1.3. Extrait chlorométhylénique (D)

Le fractionnement de cet extrait (48g) s'est fait par chromatographie sur colonne de gel de silice (Merck 60) en utilisant un gradient d'élution Hexane/Acétate d'éthyle. Après collecte et rassemblement des éluats selon leur profil chromatographique sur CCM, trois fractions ont été constituées (**D1**, **D2** et **D3**) (Tableau C.1.1.1.3). La fraction **D1** présentant les meilleurs profils chromatographiques en CCM, a été purifiée.

**Tableau C.1.1.1.3 : Fractions issues du premier dégrossissement de l'extrait D**

| Fraction | Masse (g) |
|----------|-----------|
| D1       | 8,543     |
| D2       | 8,090     |
| D3       | 11,221    |

Somme des masses des fractions obtenues = 27,855 g ;      Masse de l'extrait = 48 g  
Rendement = **58,03%**

L'isolement et la purification des composés à partir de cette fraction (**D1**) ont été réalisés par combinaison de chromatographies successives sur colonne (CC) de gel de silice, de gel de Sephadex® LH-20, et par chromatographie sur couche mince préparative.

Le fractionnement de **D1** sur colonne de gel de silice utilisant comme éluant le mélange Hexane/Dichlorométhane (10/90) a permis d'obtenir deux sous-fractions (**D1A** et **D1B**).

Un solide gris formé dans la sous-fraction **D1B** a été lavé à l'hexane pour donner 46,7 mg de composé **4**.

La sous-fraction **D1A** a été purifiée successivement sur deux CC de gel de Sephadex® LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 2 :1 ; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH 2 :1) et par CCM préparative (EP/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt 5 :3 :1) pour donner l'aspidinol B (**3**) (9,6 mg).

#### 3.1.1.1.4. Extrait à l'acétate d'éthyle (A)

87g d'extrait à l'acétate d'éthyle **A** ont été chromatographiés sur colonne de gel de silice en utilisant le gradient d'élution Dichlorométhane/Méthanol. Après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques en CCM, deux fractions **F1** et **F2** ont été constituées (Tableau C.1.1.1.4).

**Tableau C.1.1.1.4 : Fractions issues du premier dégrossissement de l'extrait A**

| Fraction | Masse (g) |
|----------|-----------|
| F1       | 1,2       |
| F2       | 20        |

Somme des masses des fractions obtenues = 21,2 g ; Masse de l'extrait = 87 g

Rendement = **24,36%**

Des cristaux jaunâtres d'aspect poudreux ont été obtenus après filtration de la fraction **F1**. Ces derniers ont ensuite été successivement lavés à l'hexane, au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle pour conduire à 140,4 mg de bergénine (**7**).

La fraction **F2** a été chromatographiée sur colonne de gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt 50 :50), puis filtrée sur gel de Sephadex® LH-20 pour donner 9 mg de méthyl gallate (**8**). Deux chromatographies sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt 40 :60 ; gradient CHCl<sub>3</sub>/Acétone) suivies d'une ultime filtration sur colonne de gel de Sephadex® LH-20 permettent d'obtenir 7 mg de mélange (**20 + 21**).

#### 3.1.1.2. Deuxième extraction des feuilles

Cette deuxième extraction a été effectuée dans les mêmes conditions que la première sur les feuilles. Une masse de 4,8 kg de poudre de feuilles est mise à macérer à froid, à température ambiante, dans l'éthanol 96% (3 x 13,5L) pendant 48 heures. Cette opération a été réalisée trois fois de suite, soit un rapport entre la masse de drogue végétale et de solvant utilisé d'environ 1kg/8,5L. Les phases organiques, obtenues après filtration, ont été séchées à l'évaporateur rotatif pour donner 447 g d'extrait éthanolique (**Mof.E**). Cet extrait est ensuite dissous dans un mélange Ethanol/Eau (50:50). La phase hydro-éthanolique ainsi obtenue a été successivement extraite par l'hexane, le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle pour donner respectivement 5 g d'extrait hexanique (**Mof.H**), 49 g d'extrait chlorométhylénique (**Mof.D**) et 36 g d'extrait à l'acétate d'éthyle (**Mof.A**).

Les rendements des différentes extractions par rapport à la matière sèche pulvérisée (**R1**) et par rapport à l'extrait brut total éthanolique (**R2**) sont présentés dans le tableau C.1.1.2.

**Tableau C.1.1.2 : Rendements des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée (R1) et par rapport à l'extrait brut total éthanolique (R2)**

| Extrait      | Masse (g) | R1 (%) | R2 (%) |
|--------------|-----------|--------|--------|
| <i>Mof.E</i> | 447       | 09,31  | -      |
| <i>Mof.H</i> | 5         | 0,10   | 01,11  |
| <i>Mof.D</i> | 49        | 1,02   | 10,96  |
| <i>Mof.A</i> | 36        | 0,75   | 08,05  |

(Masse de matière sèche pulvérisée m = 4800g ; Extrait *Mof.E* m = 447g)

#### 3.1.1.2.1. Extrait hexanique (*Mof.H*)

L'extrait hexanique *Mof.H* (5 g) a été chromatographié deux fois de suite sur colonne de gel de silice (gradient Hexane/Chloroforme ; CHCl<sub>3</sub> 100%) pour donner 7 mg de squalène (**11**). Une ultime chromatographie sur couche mince préparative (CHCl<sub>3</sub> 100%) a permis d'obtenir 20 mg du mélange clionastérol (**18**) et (9Z, 12Z, 15Z)-octadéca-9, 12, 15-triénoate d'isopropyle (**33**).

#### 3.1.1.2.2. Extrait chlorométhylénique (*Mof.D*)

Cet extrait a été soumis à deux chromatographies successives sur colonne de gel de silice (gradient Cyclohexane/CHCl<sub>3</sub>/AcOEt ; CHCl<sub>3</sub> 100%). Après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques sur CCM, trois fractions **F1**, **F2**, et **F3** ont été constituées (Tableau C.1.1.2.2).

**Tableau C.1.1.2.2 : Fractions issues du premier dégrossissement de l'extrait *Mof.D***

| Fraction | Masse (g) |
|----------|-----------|
| F1       | 2,7       |
| F2       | 3         |
| F3       | 10,6      |

Somme des masses des fractions obtenues = 16,3 g ; Masse de l'extrait = 49 g  
Rendement = **33,26%**

#### - Purification de la fraction F1

La fraction **F1** (2,7 g) a été chromatographiée sur colonne de gel de silice avec le chloroforme comme éluant. Après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques sur CCM, deux sous-fractions **F1A** (20 mg) et **F1B** (500 mg) ont été constituées.

La filtration de **F1A** sur colonne de gel de Sephadex® LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH 2 :1) a donné le composé **54** (6 mg). Le fractionnement de **F1B** sur colonne de gel de silice (CHCl<sub>3</sub> 100%) a permis d'obtenir les composés (**60** + **61** + **62** + **63**) (3 mg) et **9** (4 mg).

### - Purification de la fraction F3

La purification de la fraction **F3** (10,6 g) s'est effectuée par chromatographie sur colonne de gel de silice ( $\text{CHCl}_3$  100%) suivie d'une filtration sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$  2 :1) pour donner le trans-phytol (**10**) (10 mg) et le composé **71** (6 mg).

#### 3.1.2. Ecorces de tige de *Mallotus oppositifolius*

Les extractions ont été réalisées en milieu neutre avec divers solvants. 4,5 Kg de poudre d'écorces de tige pulvérisées ont été extraits, par macération à température ambiante, trois fois de suite, par 13,5 L d'éthanol pendant 48H, soit un rapport entre le matériel végétal à extraire et le volume de solvant utilisé de 1kg/9L. Après filtration et évaporation du solvant, 150 g d'un résidu noir cireux (**Moet.E**) a été obtenu. Ce résidu a été ensuite contre extrait successivement par le cyclohexane, le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle après dissolution dans un mélange Ethanol/Eau (50:50) (550 mL). Les phases organiques, après filtration et élimination du solvant à l'évaporateur rotatif, ont permis d'obtenir respectivement 4 g et 30 g d'extraits cyclohexanique (**Moet.C**) et chlorométhylénique (**Moet.D**) visqueux, de couleur verdâtre, et 11 g d'extrait orangé à l'acétate d'éthyle (**Moet.A**).

Les rendements des différentes extractions par rapport à la matière sèche pulvérisée et par rapport à l'extrait brut total éthanolique sont présentés dans le tableau C.1.2.

**Tableau C.1.2 : Rendements des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée (R1) et par rapport à l'extrait brut total éthanolique (R2)**

| Extrait       | Masse (g) | R1 (%) | R2 (%) |
|---------------|-----------|--------|--------|
| <b>Moet.E</b> | 150       | 3,33   | -      |
| <b>Moet.C</b> | 4         | 0,09   | 2,67   |
| <b>Moet.D</b> | 30        | 0,67   | 20     |
| <b>Moet.A</b> | 11        | 0,24   | 7,33   |

(Masse de matière sèche pulvérisée m = 4500g ; Extrait **Moet.E** m = 150g)

##### 3.1.2.1. Extraits cyclohexanique (**Moet.C**) et chlorométhylénique (**Moet.D**)

Les extraits cyclohexanique (4 g) et chlorométhylénique (30 g) qui présentaient des profils chromatographiques sur CCM semblables ont été associés pour être purifié.

Le fractionnement de ces extraits a été effectué par chromatographie sur colonne de gel de silice avec le gradient chloroforme / Acétone. Quinze fractions (**F1** à **F15**) ont été constituées après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques sur CCM (Tableau C.1.2.1).

**Tableau C.1.2.1 : Fractions issues du dégrossissement des extraits *Moet.C* et *Moet.D***

| Fraction | Masse (g) |
|----------|-----------|
| F1       | 3,01      |
| F2       | 1,97      |
| F3       | 1,70      |
| F4       | 1,90      |
| F5       | 3,05      |
| F6       | 2,87      |
| F7       | 2,50      |
| F8       | 3,50      |
| F9       | 1,17      |
| F10      | 0,43      |
| F11      | 2,32      |
| F12      | 0,80      |
| F13      | 3,70      |
| F14      | 1,02      |
| F15      | 1,80      |

Masse totale = 31,74 g ; Masse des extraits *Moet.C* et *Moet.D* = 34g

Rendement = **93,35%**

- Purification de la fraction F2

L'isolement et la purification des composés à partir de cette fraction ont été réalisés par chromatographie sur colonne de gel de silice, chromatographie flash et par filtration sur colonne de gel de Sephadex® LH-20.

La fraction **F2** a été d'abord chromatographiée sur colonne de gel de silice avec comme éluant le système Cyclohexane/Chloroforme (10/90). Après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques sur CCM, trois fractions (**F2A**, **F2B** et **F2C**) ont été constituées. La fraction **F2A** quasi mono tache après élution dans différents systèmes de solvants en CCM, a subi une ultime filtration sur colonne de gel de Sephadex® LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 2 :1). 100 mg du mélange heptadécanoate de méthyle (**22**), (Z)-9, 12-octadécadiénoate d'éthyle (**23**) et (Z)-9-octadécaénoate d'éthyle (**24**) ont été obtenus.

Les fractions **F2B** et **F2C** ont été purifiées par flash chromatographie en mode gradient avec comme éluants les systèmes Cyclohexane/Acétate d'éthyle et Cyclohexane/Chloroforme respectivement. Ces opérations ont permis d'obtenir 800 mg et 23 mg de friedeline (**15**) et de composé **12** à partir de la fraction **F2B** et 8 mg d'acide 2,3-dihydroxybenzoïque (**13**) à partir de la fraction **F2C**.

- Purification des fractions F3 et F4

Les fractions **F3** et **F4** qui présentaient des profils chromatographiques CCM similaires ont été associées pour être purifiées. Leur purification s'est faite par chromatographies successives sur colonne de gel silice. Les éluants employés sont les systèmes Cyclohexane/Acétone (90 :10) (2 fois) et Chloroforme/Acétone (90 :10). Cette série de purifications a permis d'isoler 11 mg du mélange 3', 6'-dihydro-(3β, 5β, 6α, 22ξ, 23ξ)-cyclopropa [5, 6]-33-norgorgostan-3-ol (**25**), 24,

28-méthylène fucostérol (**26**), Citroster-7-en-3-ol (**27**) et 4 $\beta$ , 14 $\beta$ -diméthyl-9, 19-cyclocholestan-3-ol-7-one (**28**).

#### - Purification de la fraction F5

La purification de la fraction **F5** a été réalisée par chromatographie sur colonne de gel de silice avec le dichlorométhane comme éluant. Le (Z)-octadec-5-én-1-ol (**16**) (12 mg) est ainsi obtenu.

#### - Purification de la fraction F6

Cette fraction a été chromatographiée sur colonne de gel de silice avec le système Cyclohexane/Acétone (80 : 20) comme éluant. Après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques sur CCM, quatre sous-fractions (**F6A** à **F6D**) ont été constituées.

La sous fraction **F6B** (700 mg) a été chromatographiée sur colonne de gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100%) pour donner 4 mg du mélange campesterol, stigmasterol, clionastérol, ergostanol (**29**), 4,4-diméthylcholest-7-en-3-ol (**30**) et stigmasterol (**53**). Une ultime filtration de cette fraction sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH 2 :1) a fourni 3 mg du mélange (**31** + **32**).

La sous fraction **F6D** (300 mg) a été purifiée sur colonne de gel de silice (CHCl<sub>3</sub>/Acétone 90 :10) pour donner 13 mg de scopolétine (**14**).

#### - Purification des fractions F12 et F13

La purification de la fraction **F12+F13** (4,5 g) a été effectuée par chromatographie sur colonne de gel de silice (gradient CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt) et par filtration sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 2 :1). 11 mg de composé **59** et 25 mg de pentacosanoate d'éthyle (**64**) ont été obtenus.

#### 3.1.2.2. Extrait à l'acétate d'éthyle (Moet.A)

L'extrait **Moet.A** (11 g) a été chromatographié sur gel de silice en utilisant le gradient Chloroforme/Acétone/MeOH. Deux fractions **F1** et **F2** ont été constituées à partir des profils chromatographiques observés sur plaques CCM (Tableau C.1.2.2).

**Tableau C.1.2.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait Moet.A**

| Fraction  | Quantité (g) |
|-----------|--------------|
| <b>F1</b> | 0,6          |
| <b>F2</b> | 8            |

Masse des fractions = 8,6 g ; Masse de l'extrait *Moet.A* = 11 g

Rendement = **78,18%**

### - Purification de la fraction F2

La fraction **F2** qui contenait des cristaux a été également filtrée sur un entonnoir de type Büchner. Les cristaux obtenus ont été successivement lavés au cyclohexane et au chloroforme pour donner 80 mg de bergénine (7).

#### 3.1.3. Racines de *Mallotus oppositifolius*

Nous avons suivi le même protocole d'extraction que les feuilles et les écorces de tiges. Ainsi, 1,8 Kg de racines finement pulvérisées ont été extraites par macération à température ambiante, trois fois de suite, par 6 L d'éthanol pendant 48H, soit un rapport entre le matériel végétal à extraire et le volume de solvant utilisé de 1kg/10L. Après filtration et évaporation du solvant, 50 g d'un résidu brun (**Mor.E**) ont été obtenus. Ce résidu a été ensuite contre extrait successivement par le cyclohexane (200 mLx5), le dichlorométhane (200 mLx5) et l'acétate d'éthyle (200 mLx5) après dissolution dans un mélange Ethanol/Eau (50:50) (200 mL). Les phases organiques, après filtration et élimination du solvant à l'évaporateur rotatif, ont permis d'obtenir respectivement 5 g et 6 g d'extraits cyclohexanique (**Mor.C**) et chlorométhylénique (**Mor.D**) et 15 g d'extrait à l'acétate d'éthyle (**Mor.A**).

Les rendements des différentes extractions par rapport à la matière sèche pulvérisée et par rapport à l'extrait brut total éthanolique sont présentés dans le tableau C.1.3.

**Tableau C.1.3 : Rendements des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée (R1) et par rapport à l'extrait brut total éthanolique (R2)**

| Extrait      | Masse (g) | R1 (%) | R2 (%) |
|--------------|-----------|--------|--------|
| <b>Mor.E</b> | 50        | 2,78   | -      |
| <b>Mor.C</b> | 5         | 0,28   | 10     |
| <b>Mor.D</b> | 6         | 0,33   | 12     |
| <b>Mor.A</b> | 15        | 0,83   | 30     |

(Masse de matière sèche pulvérisée m = 1800g ; Extrait **Mor.E** m = 50g)

##### 3.1.3.1. Extraits cyclohexanique (**Mor.C**) et chlorométhylénique (**Mor.D**)

Les extraits cyclohexanique (**Mor.C**) et chlorométhylénique (**Mor.D**) qui présentaient des profils chromatographiques en CCM semblables ont été associés pour être purifiés.

11 g de ces extraits ont été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice avec un gradient Chloroforme/Acétate d'éthyle. Après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques sur CCM, trois fractions (**F1** à **F3**) ont été constituées (Tableau C.1.3.1).

**Tableau C.1.3.1 : Fractions issues du dégrossissement des extraits *Mor.C* et *Mor.D***

| Fraction | Quantité (g) |
|----------|--------------|
| F1       | 0,8          |
| F2       | 3            |
| F3       | 1,5          |

Masse des fractions = 5,3 g ; Masse des extraits *Moet.C* et *Moet.D* m = 11 g

Rendement = **48,18%**

- Purification de la fraction F2

La fraction **F2** (3 g) a été chromatographiée sur colonne de gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100%). Après collecte et rassemblement des éluats selon leur profil chromatographique sur CCM, deux sous-fractions **F2A** et **F2B** ont été constituées. La sous-fraction **F2B** a été ensuite filtrée sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH 2 :1) pour conduire à 7,5 mg de composé **70**.

- Purification de la fraction F3

La fraction **F3** (1,5 g) a été soumise à deux chromatographies successives sur colonne de gel de silice 60H avec les systèmes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100% et CHCl<sub>3</sub>/AcOEt (99 :1) comme phases mobiles. 15 mg de β-sitostérol (**39**) et 25 mg de cholestérol (**40**) ont été obtenus.

### 3.1.3.2. Extrait à l'acétate d'éthyle (*Mor.A*)

15 g d'extrait à l'acétate d'éthyle (*Mor.A*) ont été chromatographiés sur colonne de gel de silice (Merck 60) avec comme éluant le gradient Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol. 500 mg de bergénine (**7**) ont été obtenus par filtration des fractions obtenues. Deux fractions (**F1** et **F2**) ont été constituées selon les profils chromatographiques observés sur CCM (Tableau C.1.3.2).

**Tableau C.1.3.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Mor.A***

| Fraction | Quantité (g) |
|----------|--------------|
| F1       | 5            |
| F2       | 2,2          |

Masse des fractions = 7,2 g ; Masse initiale = 15 g

Rendement = **48%**

- Purification de la fraction F1

La chromatographie sur colonne de gel de silice 60H (AcOEt/MeOH 95 :5) de la fraction **F1** (5 g) a permis d'obtenir après une ultime filtration sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH 2 :1) 10 mg d'ombelliférone (**34**). Deux sous-fractions (**F1A** et **F1B**) ont été constituées en fonction des profils chromatographiques sur CCM obtenus.

La sous-fraction **F1A** (50 mg) a été filtrée sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH 2 :1) pour donner la quercétine (**35**) (11 mg).

Quant à la sous-fraction **F1B** (80 mg), elle a été chromatographiée sur colonne de gel de silice 60H (gradient CHCl<sub>3</sub>/MeOH) puis filtrée sur colonne de gel de Sephadex® LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH 2 :1) pour donner l'acide gallique (**37**) (8 mg).

#### - Purification de la fraction F2

La fraction **F2** (2,2 g) a été purifiée d'abord sur colonne de gel de silice 60H (AcOEt/MeOH 95 :5), puis sur gel de Sephadex® LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH 2 :1) pour fournir 15 mg de juglone (**38**) et 6 mg de vitexine (**36**).

#### 3.1.4. Fruits de *Mallotus oppositifolius*

Le protocole d'extraction est le même que celui utilisé pour les feuilles, les écorces de tiges et les racines.

850 g de poudre de fruits ont été extraits par macération à température ambiante, trois fois de suite, par 3 L d'éthanol pendant 48H, soit un rapport entre le matériel végétal à extraire et le volume de solvant utilisé de 1kg/10L. Après filtration et évaporation du solvant, 38 g d'un résidu vert (**Mog.E**) a été obtenu. Ce résidu a été ensuite contre extrait successivement par le cyclohexane (200 mLx3), le dichlorométhane (200 mLx3) et l'acétate d'éthyle (200 mLx3) après dissolution dans un mélange Ethanol/Eau (50:50) (150 mL). Les phases organiques, après filtration et élimination du solvant à l'évaporateur rotatif, ont permis d'obtenir respectivement 2 g et 3,5 g d'extraits cyclohexanique (**Mog.C**) et chlorométhylénique (**Mog.D**) et 8,7 g d'extrait à l'acétate d'éthyle (**Mog.A**).

Les rendements des différentes extractions par rapport à la matière sèche pulvérisée et par rapport à l'extrait brut total éthanolique sont présentés dans le tableau C.1.4.

**Tableau C.1.4 : Rendements des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée (R1) et par rapport à l'extrait brut total éthanolique (R2)**

| Extrait      | Masse (g) | R1 (%) | R2 (%) |
|--------------|-----------|--------|--------|
| <b>Mog.E</b> | 38        | 4,47   | -      |
| <b>Mog.C</b> | 2         | 0,23   | 5,26   |
| <b>Mog.D</b> | 3,5       | 0,41   | 9,21   |
| <b>Mog.A</b> | 8,7       | 1,02   | 22,89  |

(Masse de matière sèche pulvérisée m = 850g ; Extrait **Mog.E** m = 38g)

##### 3.1.4.1. Extrait cyclohexanique (**Mog.C**)

L'extrait cyclohexanique (2g) a été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice avec un gradient Cyclohexane/Dichlorométhane. Après collecte et rassemblement des éluats selon leur profil chromatographique sur CCM, deux fractions (**F1** et **F2**) ont été constituées (Tableau C.1.4.1).

**Tableau C.1.4.1 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Mog.C***

| Fraction | Quantité (g) |
|----------|--------------|
| F1       | 0,43         |
| F2       | 1,5          |

Masse des fractions  $m = 1,93$  g ; Masse de l'extrait *Mog.C*  $m = 2$  g

Rendement = **96,50%**

La fraction **F1** (0,43 g) qui présentait un profil chromatographique sur CCM peu complexe a été d'abord filtrée sur gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  2 :1), puis purifiée par chromatographie flash avec le gradient Cyclohexane/Chloroforme comme éluant pour fournir 8mg de squalène (**11**).

#### 3.1.4.2. Extrait chlorométhylénique (*Mog.D*)

3 g d'extrait chlorométhylénique ont été soumis à une chromatographie flash (gradient Ether de pétrole/Dichlorométhane) pour donner 10 mg de squalène (**11**), 7 mg de méthylène bis-aspidinol (**1**) et 20 mg de composé **55**. Deux fractions (**F1** et **F2**) ont été constituées suite à ce fractionnement (Tableau C.1.4.2).

**Tableau C.1.4.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Mog.D***

| Fraction | Quantité (g) |
|----------|--------------|
| F1       | 0,15         |
| F2       | 1,5          |

Masse des fractions  $m = 1,65$  g ; Masse de l'extrait *Mog.D*  $m = 3$  g

Rendement = **55%**

La filtration de la fraction **F1** (150 mg) sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  2 :1) a fourni 11 mg d'aspidinol B (**3**).

#### 3.1.4.3. Extrait à l'acétate d'éthyle (*Mog.A*)

8,7 g de cet extrait ont été chromatographiés sur colonne de gel de silice (gradient  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ ). Après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques sur CCM, deux fractions (**F1** et **F2**) ont été constituées (Tableau C.1.4.3).

**Tableau C.1.4.3 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Mog.A***

| Fraction | Quantité (g) |
|----------|--------------|
| F1       | 2            |
| F2       | 6            |

Masse des fractions  $m = 8$  g ; Masse de l'extrait *Mog.A*  $m = 8,7$  g

Rendement = **91,95%**

#### - Purification de la fraction F1

La fraction **F1** (2 g) a été purifiée par chromatographie flash avec comme éluant le gradient Ether de pétrole/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH pour fournir 20 mg d'acide tétratriacontanoïque (**56**).

#### - Purification de la fraction F2

La fraction **F2** (6 g) a été d'abord filtrée sur papier filtre. Le solide récupéré a été ensuite lavé successivement au cyclohexane et au dichlorométhane pour donner 30 mg de bergénine (**7**).

### 3.2. Espèce *Isolona cooperi*

#### 3.2.1. Feuilles d'*Isolona cooperi*

Les feuilles pulvérisées d'*Isolona cooperi* (1 kg) ont été mises à macérer à froid, à température ambiante, dans 3L de dichlorométhane pendant 48 heures, trois fois de suite, soit un rapport entre le matériel végétal à extraire et le volume de solvant utilisé de 1Kg/9L. Les phases organiques obtenues après filtration, ont été séchées à l'évaporateur rotatif pour donner 191 g d'extrait chlorométhylénique (**Icf.D**). Le marc séché, après alcalinisation par l'ammoniaque 28% a été successivement extrait au dichlorométhane puis au méthanol dans les mêmes conditions que précédemment pour donner 118 g d'extrait alcaloïdique (**Icf.A**). Le rendement des différentes extractions par rapport à la matière sèche pulvérisée est présenté dans le tableau C.2.1.

**Tableau C.2.1 : Rendement (R) des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée**

| Extrait      | Masse (g) | R (%) |
|--------------|-----------|-------|
| <b>Icf.D</b> | 191       | 19,1  |
| <b>Icf.A</b> | 118       | 11,8  |

##### 3.2.1.1. Extrait chlorométhylénique (Icf D)

10 g d'extrait chlorométhylénique (**Icf.D**) ont été purifiés par chromatographie flash avec le gradient Hexane/Chloroforme comme phase mobile. Cette opération a permis d'obtenir 5 mg de stigmastérol (**17**) et 6 mg du mélange palmitate de (*E*)-3, 7, 11, 15-tétraméthylhexadec-2-ényl (**68**) et stéarate de (*E*)-3, 7, 11, 15-tétraméthylhexadec-2-ényl (**69**).

##### 3.2.1.2. Extrait alcaloïdique (Icf A)

La purification de 118 g d'extrait alcaloïdique (**Icf A**) a été effectuée par combinaisons de chromatographies sur colonne de gel de silice, sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 et par chromatographie flash.

En effet, cet extrait a été fractionné sur colonne de gel de silice (gradient Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol) pour donner 20 mg du mélange oléate de 9-*Z*-octadécényl, palmitate de 9-*Z*-octadécényl, palmitate d'octadécyl, stéarate de 9-*Z*-octadécényl et heptacosane (**57** + **58** + **65**

+ **66** + **67**). Après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques sur CCM, quatre fractions (**F1** à **F4**) ont été constituées (Tableau C.2.1.2).

**Tableau C.2.1.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Icf A***

| Fraction | Masse (mg) |
|----------|------------|
| F1       | 500        |
| F2       | 100        |
| F3       | 50         |
| F4       | 80         |

Masse des fractions m = 730 mg ; Masse de l'extrait *Icf A* m = 118 g

Rendement = **0,61%**

- Purification de la fraction F1

La fraction **F1** (500 mg) a été purifiée par chromatographie flash (gradient Cyclohexane/Chloroforme) pour donner 15 mg du mélange oléate de méthyle et palmitate de méthyle (**45** + **46**), et 4 mg de palmitate de méthyle (**46**).

- Purification des fractions F2 et F3

Les fractions **F2** (100 mg) et **F3** (50 mg) qui donnaient une réaction positive au réactif de Dragendorff ont subi une ultime filtration sur colonne de gel de Sephadex® LH-20 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2 :1) pour fournir respectivement 55 mg d'hexadécanamide (**42**) et 30 mg du mélange (Z)-9-octadécénamide, hexadécanamide et 1-nonadécaneamine (**41** + **42** + **43**).

- Purification de la fraction F4

La fraction **F4** (80 mg) qui donnait également une réaction positive au réactif de Dragendorff a été purifiée par deux chromatographies successives sur colonne de gel de Sephadex® LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 2 :1 et CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2 :1) pour donner 20 mg de caféine (**44**).

### 3.2.2. Ecorces de tige d'*Isolona cooperi*

1,5 Kg d'écorces de tige pulvérisées d'*Isolona cooperi* ont été extraites en milieu neutre par macération à température ambiante, pendant 48 heures, trois fois de suite, par 3,5L de dichlorométhane. Le rapport entre le matériel végétal à extraire et le volume de solvant utilisé est de 1Kg/7L. Les phases organiques obtenues après filtration, ont été séchées à l'évaporateur rotatif pour donner 250 g d'extrait chlorométhylénique (**Ic ET.D**). Le marc séché, après alcalinisation par l'ammoniaque 28% a été successivement extrait au dichlorométhane puis au méthanol dans les mêmes conditions que précédemment pour donner 24,6 g d'extrait alcaloïdique (**Ic ET.A**). Le rendement des différentes extractions par rapport à la matière sèche pulvérisée est présenté dans le tableau C.2.2.

**Tableau C.2.2 : Rendement (R) des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée**

| Extrait        | Masse (g) | R (%) |
|----------------|-----------|-------|
| <i>Ic ET.D</i> | 250       | 16,66 |
| <i>Ic ET.A</i> | 24,6      | 1,64  |

### 3.2.2.1. Extrait chlorométhylénique (Ic ET D)

L'extrait chlorométhylénique (10 g) a été chromatographié sur colonne de gel de silice 60H avec comme éluant le gradient Cyclohexane/Chloroforme. Après collecte et rassemblement des éluats selon leur profil chromatographique sur CCM, deux fractions **F1** (1,2 g) et **F2** (800 mg) ont été constituées (Tableau C.2.2.1).

**Tableau C.2.2.1 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Ic ET D***

| Fraction | Masse (g) |
|----------|-----------|
| F1       | 1,2       |
| F2       | 0,8       |

Masse des fractions m = 2 g ; Masse de l'extrait *Ic ET D* m = 10 g  
Rendement = **20%**

#### - Purification de la fraction F2

La fraction **F2** (800 mg) a été purifiée par chromatographie flash avec le gradient Cyclohexane/Chloroforme pour conduire à 10 mg d'acide oléique (**47**) et 150 mg d'apoprunellelactone (**74**).

### 3.2.2.2. Extrait alcaloïdique (Ic ET A)

24 g d'extrait alcaloïdique *Ic ET A* ont été chromatographiés sur colonne de gel de silice avec le gradient Chloroforme/Méthanol (1% Triéthylamine) comme phase mobile. Après collecte et rassemblement des éluats selon leur profil chromatographique sur CCM, deux fractions **F1** (100 mg) et **F2** (3 g) ont été constituées (Tableau C.2.2.2).

**Tableau C.2.2.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Ic ET A***

| Fraction | Masse (g) |
|----------|-----------|
| F1       | 0,1       |
| F2       | 3         |

Masse des fractions m = 3,1 g ; Masse de l'extrait *Ic ET A* m = 24 g  
Rendement = **12,91%**

#### - Purification de la fraction F2

La fraction **F2** (3 g) a été soumise à une CC de gel de silice avec le gradient Chloroforme/Méthanol comme éluant. Après collecte et rassemblement des éluats selon leur

profil chromatographique sur CCM, trois sous-fractions **F<sub>2A</sub>** (100 mg), **F<sub>2B</sub>** (800 mg) et **F<sub>2C</sub>** (105 mg) ont été constituées.

La sous-fraction **F<sub>2A</sub>** a été filtrée sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2 :1) pour donner 80 mg d'isochondodendrine (**48**).

La purification de la sous-fraction **F<sub>2B</sub>** s'est effectuée par chromatographie flash (gradient CHCl<sub>3</sub>/AcOEt/MeOH) suivie de filtration sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2 :1) pour conduire à 20 mg de composé **72**.

### 3.2.3. Racines d'*Isolona cooperi*

700 g de racines pulvérisées d'*Isolona cooperi* ont été extraites dans les mêmes conditions que les feuilles et les écorces de tige (Section C.2.2). Le rapport entre le matériel végétal à extraire et le volume de solvant utilisé est de 1Kg/8,5L. Suite aux différentes extractions, 10,5 g d'extrait chlorométhylénique (**Icr.D**) et 50 g d'extrait alcaloïdique (**Icr.A**) ont été obtenus. Le rendement des différentes extractions par rapport à la matière sèche pulvérisée est présenté dans le tableau C.2.3.

**Tableau C.2.3 : Rendement (R) des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée**

| Extrait      | Masse (g) | R (%) |
|--------------|-----------|-------|
| <b>Icr.D</b> | 10,5      | 1,5   |
| <b>Icr.A</b> | 50        | 7,14  |

#### 3.2.3.1. Extrait chlorométhylénique (**Icr.D**)

L'extrait chlorométhylénique (10,5 g) a été chromatographié sur colonne de gel de silice 60H avec comme éluant le gradient Cyclohexane/Acétate d'éthyle. Après collecte et rassemblement des éluats selon leur profil chromatographique sur CCM, deux fractions **F1** (900 mg) et **F2** (3 g) ont été constituées (Tableau C.2.3.1).

**Tableau C.2.3.1 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait **Icr.D****

| Fraction | Masse (g) |
|----------|-----------|
| F1       | 0,9       |
| F2       | 3         |

Masse des fractions m = 3,9 g ; Masse de l'extrait **Icr.D** m = 10,5 g

Rendement = **37,14%**

#### - Purification de la fraction **F2**

Le fractionnement de **F2** (3 g) sur colonne de gel de silice (gradient C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt) suivi de filtration sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH) a permis d'obtenir 30 mg de composé **49**, 5 mg de stigmasterol (**17**) et 4 mg de 5-formylindole (**50**).

### 3.2.3.2. Extrait alcaloïdique (Icr.A)

L'extrait alcaloïdique (**Icr.A**) (50 g) a été fractionné sur colonne de gel d'alumine avec le gradient Acétate d'éthyle/Méthanol (1% Triéthylamine) comme phase mobile. Après collecte et rassemblement des éluats selon les profils chromatographiques observés sur CCM, deux fractions **F1** (8 g) et **F2** (13 g) ont été constituées (Tableau C.2.3.2).

**Tableau C.2.3.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait Icr.A**

| Fraction | Masse (g) |
|----------|-----------|
| F1       | 8         |
| F2       | 13        |

Masse des fractions  $m = 21$  g ; Masse de l'extrait *Icr.A*  $m = 50$  g

Rendement = **42%**

#### - Purification de la fraction F1

La purification de la fraction **F1** (8 g) a été réalisée par une suite de chromatographies sur colonne de gel de silice (gradient AcOEt/MeOH) et de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 2 : 1 ; CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2 : 1). Cette suite d'opérations a permis d'obtenir 20 mg de composé **73**.

#### - Purification de la fraction F2

Le fractionnement de **F2** (13 g) sur colonne de gel de silice 60H (gradient CHCl<sub>3</sub>/AcOEt/MeOH) suivi de filtration sur colonne de gel de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 2 : 1) et de chromatographies flash (gradients CHCl<sub>3</sub>/MeOH et AcOEt/MeOH) a fourni 6 mg de papavérine (**52**) et 10 mg d' $\alpha$ -tomatine (**51**).

## 4. Description des composés isolés

### • Composé 1 : Méthylène bis-aspidinol

Aspect : Solide jaunâtre en aiguilles

C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>O<sub>8</sub>, PM = 460

Spectre UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) nm (Log $\epsilon$ ) : 286 (3,441), 279 (3,354), 207 (3,457).

IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3256, 2964, 2876, 1615, 1598, 1135, 748, 667.

SMIE  $m/z$  (%) : 460 (3) [M]<sup>+</sup>, 237 (23), 236 (18), 224 (40), 222 (2), 221 (19), 207 (7), 193 (10), 181 (100), 166 (5), 149 (4).

ESIHR  $m/z$  : 461,2174 [M+H]<sup>+</sup> (Calculé 461,2175)

PF : 189°

R<sub>f</sub> = 0,50 dans C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30:70).

**Tableau I.3.3.2.1 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du composé 1**

| Atome N° | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) | COSY                                 | HMBC                                                    | NOESY                                    |
|----------|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 1/1'     | 108,8**                  | -                                 | -                                    | -                                                       | -                                        |
| 2/2'     | 156,8                    | -                                 | -                                    | -                                                       | -                                        |
| 3/3'     | 108,2**                  | -                                 | -                                    | -                                                       | -                                        |
| 4/4'     | 162,7                    | -                                 | -                                    | -                                                       | -                                        |
| 5/5'     | 109,9                    | -                                 | -                                    | -                                                       | -                                        |
| 6/6'     | 159,4                    | -                                 | -                                    | -                                                       | -                                        |
| 1''/1''' | 207,9                    | -                                 | -                                    | -                                                       | -                                        |
| 2''/2''' | 46,7                     | 3,12 (4H ; t ; 7,4)               | H <sub>3</sub> ''                    | C <sub>1</sub> '', C <sub>3</sub> '', C <sub>4</sub> '' | -                                        |
| 3''/3''' | 17,7*                    | 1,71 (4H ; sext ; 7,4)            | H <sub>2</sub> '', H <sub>4</sub> '' | C <sub>1</sub> '', C <sub>2</sub> '', C <sub>4</sub> '' | 2-OH, 4-OH                               |
| 4''/4''' | 13,9                     | 0,98 (6H ; t ; 7,4)               | H <sub>3</sub> ''                    | C <sub>2</sub> '', C <sub>3</sub> ''                    | -                                        |
| α        | 18,0*                    | 3,69 (2H, s)                      | -                                    | C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> , C <sub>6</sub>        | 2-OH                                     |
| 5/5'-Me  | 8,9                      | 2,14 (6H, s)                      | -                                    | C <sub>4</sub> , C <sub>5</sub> , C <sub>6</sub>        | 6-OMe                                    |
| 6/6'-OMe | 62,0                     | 4,00 (6H, s)                      | -                                    | C <sub>6</sub>                                          | 5-Me                                     |
| 2/2'-OH  | -                        | 8,98 (2H, s)                      | -                                    | C <sub>2</sub> , C <sub>1</sub> /C <sub>3</sub>         | H <sub>a</sub> , H <sub>3</sub> '', 4-OH |
| 4/4'-OH  | -                        | 13,71 (2H, s)                     | -                                    | C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub>                         | H <sub>3</sub> '', 2-OH                  |

\* Carbones interchangeables

● **Composé 2 : 1-[3-(3-acétyl-2,4-dihydroxy-6-méthoxy-5-méthylbenzyl)-2,6-dihydroxy-4-méthoxy-5-méthylphenyl] butan-1-one**

Aspect : Cristaux rougeâtres en paillettes

C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>8</sub>, PM = 432

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3271, 2961, 2361, 1625, 1601, 1419, 1280, 1134, 1101, 1021, 906, 726, 648.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau 3.3.2.2

ESI *m/z* : 431[M-H]<sup>-</sup>.

ESIHR *m/z* : 431,1715 [M-H]<sup>-</sup> (Calculé 431,1706).

R<sub>f</sub> = 0,50 dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100%

● **Composé 3 : Aspidinol B**

Aspect : Cristaux orangés en aiguilles.

C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>, PM = 224

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>): 3297, 2959, 2361, 2342, 1646, 1594, 1518, 1425, 1394, 1311, 1222, 1152, 1127, 1092, 790, 735, 669.

APCI *m/z* : 225,2 [M+H]<sup>+</sup>

APCI *m/z* : 223 [M-H]<sup>-</sup>

ESI *m/z* : 225 [M+H]<sup>+</sup>

ESI *m/z* : 223 [M-H]<sup>-</sup>

SMIE *m/z* (%): 224 [M]<sup>+</sup> (26), 196 [M-28]<sup>+</sup> (4), 182 (10), 181 (100).

ESIHR *m/z* : 225,1122 [M+H]<sup>+</sup> (Calculé 225,1127)

PF : 116°C

R<sub>f</sub> = 0,69 dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt (90:10)

**Tableau I.3.3.2.4 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule 3**

| Atome N° | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) | HMBC                                                | COSY                              | NOESY           |
|----------|--------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------|
| 1        | 104,7                    | -                                 | -                                                   | -                                 | -               |
| 2        | 159,7                    | -                                 | -                                                   | -                                 | -               |
| 3        | 103,4                    | -                                 | -                                                   | -                                 | -               |
| 4        | 163,1                    | -                                 | -                                                   | -                                 | -               |
| 5        | 91,4                     | 5,95 (1H, s)                      | C <sub>3</sub> , C <sub>6</sub> , C <sub>1</sub>    | -                                 | 4-OMe           |
| 6        | 161,1                    | -                                 | -                                                   | -                                 | -               |
| 1'       | 206,2                    | -                                 | -                                                   | -                                 | -               |
| 2'       | 46,1                     | 3,06 (2H ; t ; 7,4)               | C <sub>1'</sub> , C <sub>3'</sub> , C <sub>4'</sub> | H <sub>3'</sub>                   | -               |
| 3'       | 18,2                     | 1,73 (2H ; sext ; 7,6)            | C <sub>1'</sub> , C <sub>2'</sub> , C <sub>4'</sub> | H <sub>2'</sub> , H <sub>4'</sub> | 2/6-OH          |
| 4'       | 14,0                     | 0,99 (3H ; t ; 7,4)               | C <sub>2'</sub> , C <sub>3'</sub>                   | H <sub>3'</sub>                   | -               |
| 3-Me     | 7,1                      | 2,01 (3H, s)                      | C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub>    | -                                 | -               |
| 4-OMe    | 55,6                     | 3,82 (3H, s)                      | C <sub>4</sub>                                      | -                                 | H <sub>5</sub>  |
| 2/6-OH   | -                        | 9,74 (2H, s)                      | -                                                   | -                                 | H <sub>3'</sub> |

● **Composé 4 : 1-[6-(3-butyryl-2,4-dihydroxy-6-méthoxy-5-méthylphenoxy)-2-hydroxy-4-méthoxy-3-méthylphényl] butan-1-one**

Aspect : Solide blanchâtre poudreux.

C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>8</sub>, PM = 446

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3250, 2917, 2350, 1634, 1567, 1500, 1384, 1217, 1117, 784.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau I.3.3.2.3

APCI *m/z* : 447 [M+H]<sup>+</sup>

ESI *m/z* : 447 [M+H]<sup>+</sup>

ESI *m/z* : 445 [M-H]<sup>-</sup>

ESIHR *m/z* : 445,1887 [M-H]<sup>-</sup> (calculé 445,1863)

Rf = 0,45 dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100%

● **Composé 5 : 5-formylaspidinol**

Aspect : Solide blanchâtre en limailles

C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>, PM = 252

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3325, 2966, 2926, 2800, 1732, 1621, 1593, 1381, 1286, 1176, 1144, 752, 599.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau I.3.3.2.5

APCI *m/z* : 251,1 [M-H]<sup>-</sup>.

ESI *m/z* : 251 [M-H]<sup>-</sup>.

Rf = 0,63 dans EP/AcOEt (90:10)

● **Composé 6 : Lupéol**

Aspect : Solide blanc cotonneux

C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O, PM = 426

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3393, 2943, 2897, 2869, 2207, 1638, 1452, 1380, 1369, 1189, 1106, 1043, 1013, 983, 880.

SMIE  $m/z$  (%): 426  $[M]^+$ , 411  $[M-CH_3]^+$ , 408  $[M-H_2O]^+$ , 393  $[M-CH_3-H_2O]^+$ , 383, 370, 365, 357, 344, 323, 315, 313, 297, 272, 257, 247, 229, 218, 207, 204, 203, 201, 189, 175, 161, 147, 145, 135, 133, 131, 121, 119, 109, 107, 105, 95, 93, 91, 81, 79, 77, 67.

**Tableau I.3.1.2 : RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  dans le  $CDCl_3$  du lupéol**

| Atome N° | $^{13}C$ ( $\delta$ , ppm) | $^1H$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz)          | HMBC                         | COSY   |
|----------|----------------------------|--------------------------------------------|------------------------------|--------|
| 1        | 38,6                       | 0,89 (1H ; dd ; 4,4 ; 13,2) ; 1,64 (1H, m) | C2, C3, C10, C25             | H2     |
| 2        | 27,4*                      | 1,53 (1H, m) ; 1,64 (1H, m)                | -                            | H1, H3 |
| 3        | 78,9                       | 3,18 (1H ; dd ; 4,8 ; 11,2)                | C1, C2, C4, C23, C24         | H2     |
| 4        | 38,8                       | -                                          | -                            | -      |
| 5        | 55,2                       | 0,68 (1H ; d ; 9,2)                        | C1, C4, C6, C7, C25          | H6     |
| 6        | 18,3                       | 1,37 (3H, m) ; 1,54 (1H, m)                | C5, C7, C8                   | H5, H7 |
| 7        | 34,2                       | 1,37 (3H, m)                               | C5, C8, C26                  | H6     |
| 8        | 40,8                       | -                                          | -                            | -      |
| 9        | 50,4                       | 1,26 (1H, m)                               | C14, C25, C26                | -      |
| 10       | 37,1                       | -                                          | -                            | -      |
| 11       | 20,9                       | 1,36 (2H, m)                               | -                            | -      |
| 12       | 27,4*                      | 1,08 (1H, m) ; 1,63 (1H, m)                | C9, C14                      | -      |
| 13       | 38,0                       | 1,65 (1H, m)                               | C19, C27                     | -      |
| 14       | 42,8                       | -                                          | -                            | -      |
| 15       | 25,1                       | 1,60 (2H, m)                               | C14, C17, C27                | H16    |
| 16       | 35,5                       | 1,33 (1H, m) ; 1,50 (1H, m)                | C14, C17, C22, C28           | H15    |
| 17       | 42,9                       | -                                          | -                            | -      |
| 18       | 48,2                       | 1,38 (1H, m)                               | C16, C19, C20                | H19    |
| 19       | 47,9                       | 2,37 (1H ; ddd ; 6 ; 10,8 ; 11,2)          | C30, C21, C22, C18, C29, C20 | H18    |
| 20       | 150,9                      | -                                          | -                            | -      |
| 21       | 29,8                       | 1,22 (1H, m) ; 1,91 (1H, m)                | C22, C17, C18, C19, C20      | H22    |
| 22       | 39,9                       | 1,20 (1H, m) ; 1,42 (1H, m)                | C17, C18, C19                | H21    |
| 23       | 27,9                       | 0,96 (3H, s)                               | C3, C4, C5, C24              | -      |
| 24       | 15,3                       | 0,76 (3H, s)                               | C3, C4, C5, C23              | -      |
| 25       | 16,1                       | 0,83 (3H, s)                               | C1, C5, C9, C10              | -      |
| 26       | 15,9                       | 1,03 (3H, s)                               | C7, C9, C14                  | -      |
| 27       | 14,5                       | 0,94 (3H, s)                               | C8, C13, C14                 | -      |
| 28       | 17,9                       | 0,78 (3H, s)                               | C16, C17, C18, C22           | -      |
| 29       | 109,3                      | 4,56 (1H ; d ; 1,2) ; 4,68 (1H ; d ; 1,6)  | C19, C30                     | H29    |
| 30       | 19,2                       | 1,68 (3H, s)                               | C19, C29, C20                | -      |

\* Carbone interchangeables

#### ● Composé 7 : Bergénine

Aspect : Cristaux blancs

$C_{14}H_{16}O_9$ , PM = 328

UV ( $\lambda_{max}$ ) (MeOH) : 224, 272, 320

Spectre IR ( $\nu_{cm^{-1}}$ ) : 3385, 3333, 3243, 2897, 1699, 1612, 1528, 1463, 1374, 1348, 1333, 1293, 1126, 1090, 1069, 990, 963, 860.

ESI  $m/z$  : 329,2  $[M+H]^+$ , 351,1  $[M+Na]^+$ , 679,2  $[2M+Na]^+$ .

ESIHR  $m/z$  : 329,0873  $[M+H]^+$  (Calculé 329,0873)

PF : 236-238°C

$[\alpha]_D$  (22°C) : -39,1 (c 2,05 ; MeOH)

Rf = 0,56 dans  $CH_2Cl_2$ /MeOH (80:20)

**Tableau I.3.3.8.1 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le MeOD de la bergénine**

| Atome N° | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz)  | HMBC               | COSY     | NOESY    |
|----------|--------------------------|------------------------------------|--------------------|----------|----------|
| 2        | 75,6                     | 3,82 (1H ; dd ; 9,2 ; 8,8)         | C3                 | H3, H11  | H4, H10b |
| 3        | 71,9                     | 3,44 (1H ; t ; 8,8)                | C2, C11, C4a       | H2, H4   | H11      |
| 4        | 83,0                     | 3,66 (1H, m)                       | C4a                | H3, H4a  | H2, H10b |
| 4a       | 81,4                     | 4,03 (1H ; d ; 9,6)                | C3, C10a           | H4, H10b | H11      |
| 6        | 165,7                    | -                                  | -                  | -        | -        |
| 6a       | 119,4                    | -                                  | -                  | -        | -        |
| 7        | 111,0                    | 7,08 (1H, s)                       | C6,C8,C9,C6a,C10a  | -        | -        |
| 8        | 152,3                    | -                                  | -                  | -        | -        |
| 9        | 142,3                    | -                                  | -                  | -        | -        |
| 10       | 149,4                    | -                                  | -                  | -        | -        |
| 10a      | 117,3                    | -                                  | -                  | -        | -        |
| 10b      | 74,2                     | 4,95 (1H ; d ; 9,6)                | C2, C10, C4a, C10a | H4a      | H2, H4   |
| 11       | 62,7                     | 4,08 (1H ; d ; 9,6) ; 3,72 (1H, m) | -                  | H2       | H3, H4a  |
| 12       | 60,9                     | 3,91 (3H, s)                       | C9                 | -        | -        |

● **Composé 8 : Méthyl gallate**

Aspect : Aiguilles incolores

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>5</sub>, PM = 184

Spectre UV (λ<sub>max</sub>) (nm): 223, 271

Spectre IR (νcm<sup>-1</sup>) : 3460, 3382, 3054, 2555, 1694, 1678, 1607, 1538, 1425, 1323, 1307, 1269, 1194, 1023, 872, 722.

ESIHR *m/z* : 184,8652 [M]<sup>+</sup> (Calculé 184,8650)

ESI *m/z* : 169 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>

PF : 188-190°C

**Tableau I.3.3.7.2 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le MeOD du méthyl gallate**

| Atome N° | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) (m) | HMBC                   |
|----------|--------------------------|-----------------------------|------------------------|
| 1        | 122,0                    | -                           | -                      |
| 2/6      | 110,3                    | 7,06 (2H, s)                | C1, C2/6, C3/5, C4, C7 |
| 3/5      | 146,4                    | -                           | -                      |
| 4        | 139,5                    | -                           | -                      |
| 7        | 170,4                    | -                           | -                      |
| 8        | 49,8                     | 3,34 (3H, s)                | -                      |

● **Composé 9 : (R)-2, 5, 6, 8-tétraméthyl-2-((4R, 8R)-4, 8, 12-triméthyltridécy) chroman-7-ol**

Aspect : huile orange

C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>, PM = 430

Spectre IR (νcm<sup>-1</sup>): 3477, 2929, 2840, 2366, 2357, 2341, 2328, 1461, 1418, 1377, 1263, 1218, 1086, 742.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau I. 3.3.8.3

ESI *m/z* : 429 [M-H]<sup>-</sup>

ESIHR *m/z* : 430,3802 [M]<sup>+</sup> (Calculé 430,3811)

$[\alpha]_D$  (22°C) : -65 (c 0,08 CHCl<sub>3</sub>)

● **Composé 10 : Phytol**

Aspect : Liquide incolore

C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O, PM = 296

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3341, 2976, 2875, 1453, 1379, 1089, 1046, 880.

SMIE  $m/z$  (%): 278 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (6), 251 [M-H<sub>2</sub>O-27]<sup>+</sup> (2), 179 (2), 137 (5), 124 (6), 123 (21), 111 (5), 109 (16), 95 (51), 81 (63), 79 (54), 77 (42), 71 (5), 69 (14), 67 (100), 65 (21), 57, 55 (22).

$[\alpha]_D$  = +7 (c 0.03, CHCl<sub>3</sub>, 589 nm)

**Tableau I.3.1.8 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du phytol**

| Atome N° | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) | HMBC                 | COSY                  |
|----------|--------------------------|-----------------------------------|----------------------|-----------------------|
| 1        | 59,4                     | 4,15 (d ; 6,8)                    | C3, C2               | H2                    |
| 2        | 123,0                    | 5,40 (t ; 6,8)                    | C4, C20              | H1                    |
| 3        | 140,3                    | -                                 | -                    | -                     |
| 4        | 39,8                     | 1,91 (t ; 7,6)                    | C3, C2, C6           | -                     |
| 5        | 39,3                     | 1,11-1,15 (m)                     | -                    | -                     |
| 6        | 37,4*                    | 1,03-1,11 (m)                     | -                    | -                     |
| 7        | 32,7**                   | 1,49-1,60 (m)                     | C18/C19              | H19,<br>H6/H8/H10/H12 |
| 8        | 37,3*                    | 1,03-1,11 (m)                     | -                    | -                     |
| 9        | 25,1**                   | 1,12-1,31 (m)/ 1,11-1,15 (m)      | -                    | -                     |
| 10       | 37,2*                    | 1,03-1,11 (m)                     | -                    | -                     |
| 11       | 32,6**                   | 1,49-1,60 (m)                     | C18/C19              | H18,<br>H6/H8/H10/H12 |
| 12       | 36,6                     | 1,03-1,11 (m)                     | -                    | -                     |
| 13       | 24,4**                   | 1,12-1,31 (m)/ 1,11-1,15 (m)      | -                    | -                     |
| 14       | 29,6                     | 1,25 (m)                          | -                    | -                     |
| 15       | 27,9                     | 1,31-1,42 (m)                     | -                    | H16, H17              |
| 16       | 22,7***                  | 0,85 (d ; 6,4)                    | C17                  | H15                   |
| 17       | 22,6***                  | 0,85 (d ; 6,4)                    | C16                  | H15                   |
| 18       | 19,7*                    | 0,84 (d ; 6,4)                    | C7/C11/C6/C8/C10/C12 | H11                   |
| 19       | 19,7*                    | 0,84 (d ; 6,4)                    | C7/C11/C6/C8/C10/C12 | H7                    |
| 20       | 16,1                     | 1,66 (s)                          | C2, C3, C4           | -                     |

•, \* : Carbones interchangeables

● **Composé 11 : Squalène**

Aspect : Huile incolore visqueuse

C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>, PM = 410

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 2965, 2919, 2857, 2361, 1742, 1657, 1451, 1437, 1378, 1260, 1108, 1021, 888, 843, 799, 757.

ESIHR  $m/z$  : 411,3991 [M+H]<sup>+</sup> (Calculé 411,3991)

SMIE  $m/z$  (%): 410[M]<sup>+</sup> (6), 395 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (2), 367 [M-43]<sup>+</sup> (8), 341 (7), 299 (4), 259 (3), 231 (6), 215 (6), 203 (12), 191 (7), 189 (13), 175 (17), 161 (17), 149 (27), 147 (26), 137 (13), 135 (18), 133 (19), 123 (15), 121 (68), 119 (29), 109 (20), 107 (41), 105 (34), 95 (50), 93 (53), 91 (64), 81 (100), 79 (91), 77 (57), 69 (15), 67 (61), 65 (16).

**Tableau I.3.1.7 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du squalène**

| Atome N°  | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) (m)                  | HMBC                                                 | COSY             | NOESY                  |
|-----------|--------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------|------------------------|
| 1/24      | 25,6                     | 1,74 (6H, s)                                 | C25/C30, C3/C22, C2/C23                              | -                | H3/H22                 |
| 2/23      | 130,8                    | -                                            | -                                                    | -                | -                      |
| 3/22      | 124,4**                  | 5,18 (6H, m)                                 | C5/C20                                               | H4/H21           | H1/H24                 |
| 4/21      | 26,6•                    | 2,10 (20H, m)                                | C5/C20, C3/C22                                       | H3/H22, H5/H20   | H29/H30/H25/H26        |
| 5/9/16/20 | 39,7                     | 2,10 (20H, m)                                | C26/C29, C27/C28                                     | H4/H8/H17/H21    | H11/H14, H3/H7/H18/H22 |
| 6/19      | 134,6*                   | -                                            | -                                                    | -                | -                      |
| 7/18      | 124,3**                  | 5,18 (6H, m)                                 | C26/C29, C5/C20                                      | H8/H17           | H5/H9/H20/H16          |
| 8/17      | 26,7•                    | 2,10 (20H, m)                                | C9/C16                                               | H7/H18, H9/H16   | H26/H27/H28/H29        |
| 10/15     | 134,8*                   | -                                            | -                                                    | -                | -                      |
| 11/14     | 124,2**                  | 5,18 (6H, m)                                 | C12/C13                                              | H12/H13          | H9/H16                 |
| 12/13     | 28,2                     | 2,10 (20H, m)                                | -                                                    | H13/H12, H11/H14 | -                      |
| 25/30     | 17,5                     | 1,64 (6H, s) ; 1,65 (6H, s);<br>1,66 (6H, s) | C1/C24, C11/C14,<br>C5/C20/C9/C16,<br>C3/C22, C7/C18 | -                | H4/H21, H8/H17         |
| 26/29     | 15,9***                  |                                              |                                                      | -                |                        |
| 27/28     | 15,9***                  |                                              |                                                      | -                |                        |

•, \*, \*\*, \*\*\* Carbones interchangeables

● **Composé 12 : 2-heptyl-5-méthoxy-benzofuran-7-ol**

Aspect : Cire jaune

C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>, PM = 262

UV (λ<sub>max</sub>) (MeOH) : 239, 277, 290, 324

Spectre IR (νcm<sup>-1</sup>): 3431, 3397, 2921, 2851, 2362, 2343, 2327, 1738, 1714, 1437, 1011, 952, 757.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau I.3.3.8.4

APCI *m/z* : 263 [M+H]<sup>+</sup>

ESIHR *m/z* : 263,1287 [M+H]<sup>+</sup> (Calculé 263,1602); 285,1084 [M+Na]<sup>+</sup>

SMIE *m/z* (%): 263 [M+H]<sup>+</sup> (11), 262 [M]<sup>+</sup> (60), 244 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (18), 229 [M-H<sub>2</sub>O-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (22), 226 (13), 206 (50), 191 (9), 177 (19), 164 (100), 149 (14), 135 (24), 121 (3), 91 (4), 77 (9).

[α]<sub>D</sub>: -250 (λ=546 nm ; c=4,580 mmol/L ; T=25°C)

● **Composé 13 : Acide 2,3-dihydroxybenzoïque**

Aspect : Solide blanc

C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>, PM = 154

Spectre IR (νcm<sup>-1</sup>): 3277, 1671, 1600, 1517, 1453, 1403, 1368, 1273, 1251, 1208, 1186, 1130, 1096, 1011, 941, 877, 762.

ESI *m/z* : 153 [M-H]<sup>-</sup>, 177,2 [M+Na]<sup>+</sup>

ESIHR *m/z* : 153,0187 [M-H]<sup>-</sup> (Calculé 153,0188)

PF : 203-205°C

**Tableau I.3.3.7.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le MeOD de l'acide-2,3-dihydroxybenzoïque**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) | HMBC        | COSY | NOESY |
|----------|-----------------------------------|------------------------------------------|-------------|------|-------|
| 1        | 123,4                             | -                                        | -           | -    | -     |
| 2        | 151,3                             | -                                        | -           | -    | -     |
| 3        | 145,9                             | -                                        | -           | -    | -     |
| 4        | 115,7                             | 6,80 (1H ; d ; 8)                        | C2, C3, C6  | H5   | H5    |
| 5        | 117,5                             | 7,44 (1H ; dd ; 8 ; 2)                   | C1, C3      | H4   | H4    |
| 6        | 123,9                             | 7,42 (1H ; d ; 2)                        | C1,C2,C4,C7 | -    | -     |
| 7        | 170,7                             | -                                        | -           | -    | -     |

● **Composé 14 : Scopolétine**

Aspect : Solide incolore

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$ , PM = 192

UV ( $\lambda_{\text{max}}$ ) (MeOH) : 227,8, 296,2, 343,7

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 3437, 3372, 2369, 1715, 1611, 1566, 1514, 1466, 1294, 1263, 1141, 1021.

ESI  $m/z$  : 193,1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 215,1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 407,1  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$

ESIHR  $m/z$  : 215,0320  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (Calculé 215,0320)

SMIE  $m/z$  (%): 192  $[\text{M}]^+$  (100), 177  $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$  (51), 164  $[\text{M}-\text{CO}]^+$  (43), 149 (62), 121 (39), 69 (12).

PF : 203-205°C

**Tableau I.3.3.4.2 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la scopolétine**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) | HMBC        | COSY |
|----------|-----------------------------------|------------------------------------------|-------------|------|
| 2        | 161,4                             | -                                        | -           | -    |
| 3        | 113,3                             | 6,25 (1H ; d ; 9,6)                      | C2, C10     | H4   |
| 4        | 143,2                             | 7,59 (1H ; d ; 9,6)                      | C2, C5, C9  | H3   |
| 5        | 107,5                             | 6,84 (1H, s)                             | C4, C9      | -    |
| 6        | 144,0                             | -                                        | -           | -    |
| 7        | 149,7                             | -                                        | -           | -    |
| 8        | 103,1                             | 6,90 (1H, s)                             | C6, C9, C10 | -    |
| 9        | 150,2                             | -                                        | -           | -    |
| 10       | 111,4                             | -                                        | -           | -    |
| 11       | 56,4                              | 3,94 (3H, s)                             | C6          | -    |

● **Composé 15 : Friedeline**

Aspect : Solide blanc cotonneux

$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ , PM = 426

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ): 2973, 2925, 2870, 1714, 1462, 1390, 1387, 1356, 1109, 1074, 1051, 1004, 925.

Spectres RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : Tableau I.3.3.1.4

ESI  $m/z$  : 449  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

ESIHR  $m/z$  : 427,3942  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (Calculé 427,3940)

SMIE  $m/z$  (%) : 426  $[\text{M}]^+$  (34), 411  $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$  (44), 393 (3), 344 (8), 341 (29), 303 (9), 302 (18), 287 (24), 274 (32), 273 (83), 269 (18), 259 (19), 257 (29), 255 (36), 247 (15), 246 (65),

245 (45), 232 (36), 231 (100), 229 (29), 219 (13), 217 (41), 215 (66), 204 (50), 191 (69), 189 (77), 187 (33), 177 (27), 175 (41), 173 (39), 163 (61), 161 (56), 159 (45), 149 (47), 147 (55), 145 (49), 135 (58), 133 (64), 131 (24), 123 (67), 121 (74), 119 (67), 109 (78), 107 (64), 105 (75), 95 (70), 93 (54), 91 (100), 81 (71), 79 (81), 77 (78), 69 (19), 67 (96), 65 (31), 59 (10), 57 (24), 55 (5).

PF : 261-263°C

**Tableau I.3.1.6 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la friedeline**

| Atome N° | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz)             | HMBC                                                                                  | COSY                             |
|----------|--------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| 1        | 22,2                     | 1,96 (1H, m) ;<br>1,68 (1H ; dd ; 5,2 ; 12,8) | C <sub>3</sub> , C <sub>5</sub>                                                       | H <sub>2</sub> , H <sub>10</sub> |
| 2        | 41,5                     | 2,38 (1H; ddd ; 5,2 ; 2) ;<br>2,31 (1H, m)    | C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub>                                                       | H <sub>1</sub>                   |
| 3        | 213,1                    | -                                             | -                                                                                     | -                                |
| 4        | 58,2                     | 2,24 (1H, m)                                  | C <sub>3</sub> , C <sub>5</sub> , C <sub>10</sub> , C <sub>23</sub> , C <sub>24</sub> | H <sub>23</sub>                  |
| 5        | 42,1                     | -                                             | -                                                                                     | -                                |
| 6        | 41,2                     | 1,75 (2H, m)                                  | C <sub>5</sub> , C <sub>7</sub> , C <sub>8</sub>                                      | H <sub>7</sub>                   |
| 7        | 18,2                     | 1,50 (2H, m)                                  | C <sub>6</sub> , C <sub>9</sub>                                                       | H <sub>6</sub>                   |
| 8        | 53,0                     | 1,42 (1H, m)                                  | C <sub>7</sub> , C <sub>9</sub> , C <sub>14</sub> , C <sub>25</sub>                   | -                                |
| 9        | 37,4                     | -                                             | -                                                                                     | -                                |
| 10       | 59,4                     | 1,54 (1H, m)                                  | C <sub>11</sub>                                                                       | H <sub>1</sub>                   |
| 11       | 35,6                     | 1,56 (1H ; d ; 6) ;<br>1,38 (1H, m)           | C <sub>9</sub> , C <sub>12</sub> , C <sub>25</sub>                                    | -                                |
| 12       | 30,4                     | 1,34 (2H, m)                                  | C <sub>27</sub>                                                                       | -                                |
| 13       | 39,6                     | -                                             | -                                                                                     | -                                |
| 14       | 38,2                     | -                                             | -                                                                                     | -                                |
| 15       | 32,4                     | 1,48 (2H, m)                                  | C <sub>14</sub> , C <sub>17</sub>                                                     | -                                |
| 16       | 36,0                     | 1,25 (2H, m)                                  | C <sub>17</sub> , C <sub>18</sub>                                                     | -                                |
| 17       | 29,9                     | -                                             | -                                                                                     | -                                |
| 18       | 42,7                     | 1,59 (1H, m)                                  | C <sub>27</sub> , C <sub>20</sub> , C <sub>28</sub>                                   | -                                |
| 19       | 35,3                     | 1,22 (2H ; d ; 5,6)                           | C <sub>13</sub> , C <sub>18</sub> , C <sub>20</sub> , C <sub>29</sub>                 | -                                |
| 20       | 28,1                     | -                                             | -                                                                                     | -                                |
| 21       | 32,7                     | 1,28 (2H, m)                                  | C <sub>30</sub> , C <sub>19</sub>                                                     | -                                |
| 22       | 39,2                     | 1,40 (2H, m)                                  | C <sub>17</sub> , C <sub>28</sub>                                                     | -                                |
| 23       | 6,8                      | 0,87 (3H ; d ; 6,4)                           | C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub> , C <sub>5</sub>                                      | H <sub>4</sub>                   |
| 24       | 14,6                     | 0,72 (3H, s)                                  | C <sub>4</sub> , C <sub>5</sub> , C <sub>6</sub> , C <sub>10</sub>                    | -                                |
| 25       | 17,9                     | 0,86 (3H, s)                                  | C <sub>8</sub> , C <sub>9</sub> , C <sub>10</sub> , C <sub>11</sub>                   | -                                |
| 26       | 20,2                     | 1,00 (3H, s)                                  | C <sub>8</sub> , C <sub>14</sub> , C <sub>13</sub> , C <sub>15</sub>                  | -                                |
| 27       | 18,6                     | 1,04 (3H, s)                                  | C <sub>12</sub> , C <sub>13</sub> , C <sub>14</sub> , C <sub>18</sub>                 | -                                |
| 28       | 32,0                     | 1,17 (3H, s)                                  | C <sub>16</sub> , C <sub>17</sub> , C <sub>18</sub> , C <sub>22</sub>                 | -                                |
| 29       | 35,0                     | 0,94 (3H, s)                                  | C <sub>19</sub> , C <sub>20</sub> , C <sub>21</sub>                                   | -                                |
| 30       | 31,7                     | 0,99 (3H, s)                                  | C <sub>19</sub> , C <sub>20</sub> , C <sub>21</sub>                                   | -                                |

● **Composé 16 : (Z)-octadec-5-én-1-ol**

Aspect : Huile orange

C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O, PM = 268

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>): 3398, 2960, 2922, 2853, 2359, 1604, 1466, 1215, 1057, 667.

ESIHR *m/z* : 291,2659 [M+Na]<sup>+</sup> (calculé 291,2664)

SMIE *m/z* (%): 268 [M]<sup>+</sup> (2), 238 [M-30]<sup>+</sup> (2), 235 [M-(H<sub>2</sub>O+CH<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> (2), 166 [M-(H<sub>2</sub>O+C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>)]<sup>+</sup> (2), 111 [M-(H<sub>2</sub>O+C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>)+H]<sup>+</sup> (10), 110 [M-(H<sub>2</sub>O+C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>)]<sup>+</sup> (6), 97 [M-C<sub>12</sub>H<sub>27</sub>]<sup>+</sup> (19), 83 [M-(H<sub>2</sub>O+C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>)+H]<sup>+</sup> (20), 82 [M-(H<sub>2</sub>O+C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>)]<sup>+</sup> (20), 81[M-(H<sub>2</sub>O+C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>)-H]<sup>+</sup> (45), 67 [M-H<sub>2</sub>O-C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>]<sup>+</sup> (100), 54 [M-(H<sub>2</sub>O+C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>)]<sup>+</sup> (67).

**Tableau I.3.1.9 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule 16**

| Atome N°              | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) | HMBC                | COSY         |
|-----------------------|--------------------------|-----------------------------------|---------------------|--------------|
| 1                     | 63,0                     | 3,63 (2H ; t ; 6,8)               | C2, C3              | H2           |
| 2                     | 32,7                     | 1,56 (2H ; quint ; 6,8 ; 7,2)     | C1, C3              | H1, H3       |
| 3                     | 25,7                     | 1,25 (22H, s)                     | -                   | H2,H4        |
| 4/7                   | 27,1                     | 2,00 (4H ; q ; 5,6 ; 6,4)         | C8-C15, C5/C6       | H3,H8,H5/H6  |
| 5                     | 129,9                    | 5,34 (2H ; t ; 5,2)               | C4/C7               | H4/H7        |
| 6                     | 129,8                    | 5,34 (2H ; t ; 5,2)               | C4/C7               | H4/H7        |
| 8/9/10/11/12/13/14/15 | 29,2-29,6                | 1,25 (22H, s)                     | C2,C4/C7,C8-C15,C17 | H2,H4/H7,H18 |
| 16                    | 31,9                     | 1,25 (22H, s)                     | C2,C4/C7,C8-C15,C17 | -            |
| 17                    | 22,6                     | 1,25 (22H, s)                     | C2,C4/C7,C8-C15,C17 | H18          |
| 18                    | 14,0                     | 0,87 (t ; 6,8)                    | C16, C17            | H17          |

● **Composé 17 : Stigmastérol**

Aspect : Solide blanchâtre

C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O, PM = 412

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3392, 3271, 2962, 2933, 2867, 1650, 1467, 1441, 1381, 1366, 1063, 1051, 1023, 972, 957, 801.

SMIE *m/z* (%) : 413 [M+H]<sup>+</sup> (32), 412 [M]<sup>+</sup> (100), 394 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (40), 379 [M-CH<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (28), 351 [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (28), 327 [M-85]<sup>+</sup> (7), 314 (14), 301 [M-111]<sup>+</sup> (5), 300 [M-112]<sup>+</sup> (21), 273 [M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>]<sup>+</sup> (19), 271 [M-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>]<sup>+</sup> (40), 255 [M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (45), 231 [M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>-42]<sup>+</sup> (9), 229 (21), 213 [M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>-H<sub>2</sub>O-42]<sup>+</sup> (41), 199 (32), 187 (16), 173 (27), 161 (26), 159 (56), 145 (50), 133 (35), 119 (27), 105 (50), 95 (22), 91 (71), 83 [C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>]<sup>+</sup> (9), 81 (31), 79 (42), 67 (26).

PF = 163°C

**Tableau I.3.1.3 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du stigmasterol**

| Atome N° | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) | HMBC            | COSY         |
|----------|--------------------------|-----------------------------------|-----------------|--------------|
| 1        | 37,2                     | 1,44 (7H, m)                      | -               | -            |
| 2        | 31,6                     | 1,49 (2H, m)                      | C3              | H3           |
| 3        | 71,7                     | 3,48-3,56 (1H, m)                 | -               | H2, H4       |
| 4        | 42,3                     | 2,26 (2H, m)                      | C2,C3,C5,C6,C10 | H3           |
| 5        | 140,7                    | -                                 | -               | -            |
| 6        | 121,6                    | 5,35 (1H ; d ; 6,8)               | C4, C7, C8      | H7           |
| 7        | 33,9                     | 1,84 (2H, m)                      | C5, C9          | H6           |
| 8        | 31,8                     | 1,44 (7H, m)                      | -               | H9           |
| 9        | 50,1                     | 0,92 (1H, m)                      | -               | H8, H11      |
| 10       | 36,5                     | -                                 | -               | -            |
| 11       | 21,0                     | 1,44 (7H, m)                      | -               | H9           |
| 12       | 39,7                     | 1,44 (7H, m)                      | -               | -            |
| 13       | 42,2                     | -                                 | -               | -            |
| 14       | 56,7                     | 0,96 (1H, m)                      | C9, C16         | -            |
| 15       | 24,2                     | 1,56 (4H, m)                      | -               | -            |
| 16       | 28,9                     | 1,56 (4H, m)                      | -               | -            |
| 17       | 56,0                     | 1,09 (2H, m)                      | C14, C18, C21   | H20          |
| 18       | 12,0                     | 0,67 (3H ; d ; 7,2)               | C12,C13,C14,C17 | -            |
| 19       | 19,3                     | 0,82 (3H, s)                      | C9              | -            |
| 20       | 40,4                     | 1,99 (1H, m)                      | C17             | H17, H21,H22 |
| 21       | 21,2                     | 1,00 (3H ; d ; 8,4)               | C17, C20, C22   | H20          |
| 22       | 138,2                    | 5,15 (1H ; dd ; 11,2 ; 20)        | C20,C21,C23,C24 | H20, H23     |
| 23       | 129,2                    | 5,01 (1H ; dd ; 11,2 ; 20)        | C20, C22, C24   | H22, H24     |
| 24       | 51,2                     | 1,54 (1H, m)                      | C22             | H23,H28,H25  |
| 25       | 29,1                     | 1,09 (2H, m)                      | C26,C27,C28     | H26,H27,H24  |
| 26       | 19,0                     | 0,81 (3H ; d ; 7,2)               | C24,C25,C27     | H25          |
| 27       | 19,8                     | 0,83 (3H ; d ; 7,2)               | C24,C25,C26     | H25          |
| 28       | 25,3                     | 1,25 (2H, m)                      | C24,C29,C25     | H24,H29      |
| 29       | 12,2                     | 0,80 (t ; 3H ; 8,4 ; 7,2)         | C24, C28        | H28          |

● **Mélange de composés : Clionastérol (18) + (9Z, 12Z, 15Z)-octadéca-9, 12, 15-triénoate d'isopropyle (33)**

Aspect : Huile jaune visqueuse

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3478, 2925, 2855, 2366, 2341, 1726, 1450, 1377, 1215, 750, 669.

SMIE (Octadécatriénoate d'isopropyle) *m/z* : 278 [M-42]<sup>+</sup> (15), 277 [M-43]<sup>+</sup> (50), 207 (7), 161 (17), 159 (15), 149 (34), 135 (42), 123 (17), 121 (38), 115 (2), 107 (36), 95 (49), 93 (50), 91 (56), 81 (62), 79 (100), 77 (67), 69 (21), 67 (79), 65 (22), 55 (30).

**Tableau I.3.2.4 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule 33**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) |
|----------|-----------------------------------|------------------------------------------|
| 1        | 173,2                             | -                                        |
| 2        | 34,7                              | 2,28 (m)                                 |
| 3        | 25,0                              | 1,85 (m)                                 |
| 4        | 29,1                              | 1,59 (m)                                 |
| 5        |                                   |                                          |
| 6        |                                   |                                          |
| 7        |                                   |                                          |
| 8        | 27,8                              | 2,04 (m)                                 |
| 9        | 131,9                             | 5,36 (m)                                 |
| 10       | 122,5                             |                                          |
| 11       | 25,6*                             | 2,80 (t ; 6)                             |
| 12       | 130,2                             | 5,36 (m)                                 |
| 13       | 128,2                             |                                          |
| 14       | 25,5*                             | 2,80 (t ; 6)                             |
| 15       | 127,1                             | 5,36 (m)                                 |
| 16       | 127,7                             |                                          |
| 17       | 20,5                              | 2,04 (m)                                 |
| 18       | 14,2                              | 0,97 (t ; 7,4)                           |
| 19       | 73,6                              | 4,60 (m)                                 |
| 20       | 22,7**                            | 1,30 (m)                                 |
| 21       | 22,6**                            |                                          |

\* Carbones interchangeables

● **Mélange de composés : Stigmastérol (17) + Clionastérol (18) + Campestérol (19)**

Aspect : Solide blanchâtre

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 3392, 3271, 2962, 2933, 2867, 1659, 1467, 1441, 1381, 1366, 1063, 1051, 1023, 972, 957, 801.

Spectres RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : Tableau I.2.3.1.5

SMIE (**Stigmastérol**)  $m/z$  (%) : 412  $[\text{M}]^+$ , 394  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 379  $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 351  $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 327  $[\text{M}-85]^+$ , 314, 301  $[\text{M}-111]^+$ , 300  $[\text{M}-112]^+$ , 273  $[\text{M}-\text{C}_{10}\text{H}_{19}]^+$ , 271  $[\text{M}-\text{C}_{10}\text{H}_{21}]^+$ , 255  $[\text{M}-\text{C}_{10}\text{H}_{19}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 231  $[\text{M}-\text{C}_{10}\text{H}_{19}-42]^+$ , 229, 213  $[\text{M}-\text{C}_{10}\text{H}_{19}-\text{H}_2\text{O}-42]^+$ , 199, 187, 173, 161, 159, 145, 133, 119, 105, 95, 91, 83  $[\text{C}_6\text{H}_{13}]^+$ , 81, 79, 67.

SMIE (**Clionastérol**)  $m/z$  (%) : 414  $[\text{M}]^+$ , 399  $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ , 396  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 381  $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 354, 330, 329  $[\text{M}-85]^+$ , 303  $[\text{M}-111]^+$ , 273  $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{19}]^+$ , 255  $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{19}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 231  $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{19}-42]^+$ , 213  $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{19}-\text{H}_2\text{O}-42]^+$ , 199, 187, 173, 161, 159, 145, 143, 133, 131, 119, 105, 95, 91, 81, 79, 77, 67.

SMIE (**Campestérol**)  $m/z$  (%) : 400  $[\text{M}]^+$ , 385  $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ , 382  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 367  $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 340  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-42]^+$ , 315  $[\text{M}-85]^+$ , 289  $[\text{M}-111]^+$ , 273  $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{19}]^+$ , 255  $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{19}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 231  $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{19}-42]^+$ , 213  $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{19}-\text{H}_2\text{O}-42]^+$ , 199, 187, 173, 161, 159, 147, 145, 143, 133, 131, 119, 105, 91, 77, 67.

**Tableau I.3.2.1 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  des composés 18 et 19**

| Atome N° | 18              |                          | 19              |                          |
|----------|-----------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|
|          | $^{13}\text{C}$ | $^1\text{H}$ (m) (J, Hz) | $^{13}\text{C}$ | $^1\text{H}$ (m) (J, Hz) |
| 1        | 37,2            | 1,42-1,70 (m)            | 37,2            | 1,42-1,70 (m)            |
| 2        | 31,6            | 1,81-1,87 (m)            | 31,6            | 1,81-1,87 (m)            |
| 3        | 71,8            | 3,48-3,56 (m)            | 71,8            | 3,48-3,56 (m)            |
| 4        | 42,3            | 2,22 (m)                 | 42,3            | 2,22 (m)                 |
| 5        | 140,7           | -                        | 140,7           | -                        |
| 6        | 121,7           | 5,35 (d ; 4,8)           | 121,7           | 5,35 (d ; 4,8)           |
| 7        | 33,7            | 1,94-2,03 (m)            | 33,7            | 1,94-2,03 (m)            |
| 8        | 31,8            | 1,42-1,70 (m)            | 31,9            | 1,42-1,70 (m)            |
| 9        | 50,1            | 0,92 (m)                 | 50,1            | 0,92 (m)                 |
| 10       | 36,5            | -                        | 36,5            | -                        |
| 11       | 21,0            | 1,36-1,71 (m)            | 21,0            | 1,42-1,70 (m)            |
| 12       | 39,7            | 1,42-1,70 (m)            | 39,6            | 1,42-1,70 (m)            |
| 13       | 42,2            | -                        | 42,2            | -                        |
| 14       | 56,7            | 1,06-1,28 (m)            | 56,8            | 1,06-1,28 (m)            |
| 15       | 26,1            | 1,42-1,70 (m)            | 25,4            | 1,42-1,70 (m)            |
| 16       | 28,9            | 1,42-1,70 (m)            | 28,9            | 1,42-1,70 (m)            |
| 17       | 56,0            | 1,06-1,28 (m)            | 55,9            | 1,06-1,28 (m)            |
| 18       | 11,8            | 0,67 (s)                 | 12,0            | 0,69 (s)                 |
| 19       | 19,8            | 0,84 (s)                 | 19,8            | 0,84 (s)                 |
| 20       | 36,1            | 1,06-1,28 (m)            | 40,4            | 2,27 (m)                 |
| 21       | 21,2            | 1,00 (d ; 8,4)           | 21,2            | 1,00 (d ; 8,4)           |
| 22       | 33,9            | 1,06-1,28 (m)            | 138,3           | 5,15(dd;20;11,2)         |
| 23       | 28,2            | 1,06-1,28 (m)            | 129,2           | 5,01(dd;20 ;11,2)        |
| 24       | 45,8            | 0,92 (m)                 | 51,2            | 0,92 (m)                 |
| 25       | 29,1            | 1,42-1,70 (m)            | 29,1            | 1,06-1,28 (m)            |
| 26       | 19,0            | 0,82 (m)                 | 18,9            | 0,82 (m)                 |
| 27       | 19,3            | 0,82 (m)                 | 19,3            | 0,82 (m)                 |
| 28       | 24,3            | 1,06-1,28 (m)            | 23,0            | 1,06-1,28 (m)            |
| 29       | 11,9            | 0,80 (t ; 8,4 ; 7,2)     | 12,2            | 0,80 (t ; 8,4; 7,2)      |
| OH       | -               | 2,16 (s)                 | -               | 2,16 (s)                 |

● **Mélange de composés : Bis (6-méthylheptyl) phthalate (20) + Pentatriacont-1-ène (21)**

Aspect : Huile jaune

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 2966, 2922, 2852, 2369, 2340, 1728, 1500, 1486, 1465, 1376, 1356, 1290, 1273, 1205, 1169, 1121, 1080, 964, 758.

SMIE (Bis (6-méthylheptyl) phthalate)  $m/z$  (%) : 391  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (1), 279 (4), 167 (27), 149 (100), 121 (3), 104 (3), 55 (5).

ESI  $m/z$  : 413  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 803  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**Tableau I.3.2.5a : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du bis (6-méthylheptyl) phthalate**

| Atome N°        | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) |
|-----------------|-----------------------------------|------------------------------------------|
| 1/6             | 132,4                             | -                                        |
| 2/5             | 128,7                             | 7,70 (dd ; 5,6 ; 2)                      |
| 3/4             | 130,8                             | 7,52 (dd ; 5,6 ; 2)                      |
| 1'/1''          | 167,7                             | -                                        |
| 3'/3''          | 68,1                              | 4,21 (m)                                 |
| 4'/4''          | 29,3                              | 1,25 (m)                                 |
| 5'/5''          | 28,9                              |                                          |
| 6'/6''          | 29,1                              |                                          |
| 7'/7''          | 23,7                              |                                          |
| 8'/8''          | 38,7                              |                                          |
| 9'/9''/10'/10'' | 14,1                              | 0,90 (d ; 7)                             |

SMIE (Pentatriacont-1-ène)  $m/z$  : 462  $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4]^+$  (2), 193 (4), 165 (5), 151 (7), 137 (12), 125 (25), 111 (60), 97 (70), 83 (59), 81 (50), 69 (73), 67 (80), 57 (30), 55 (100).

**Tableau I.3.2.5b : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du pentatriacont-1-ène**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz)     |
|----------|-----------------------------------|----------------------------------------------|
| 1        | 114,0                             | 4,96 (dd ; 14 ; 5,2) ; 5,01 (dd ; 6,8 ; 5,2) |
| 2        | 139,2                             | 5,81 (ddd ; 14 ; 7,1 ; 6,8)                  |
| 3        | 33,8                              | 2,03 (dd ; 7,1 ; 6,8)                        |
| 4-32     | 29,5-29,6                         | 1,25 (m)                                     |
| 33       | 31,9                              |                                              |
| 34       | 22,6                              |                                              |
| 35       | 14,0                              | 0,90 (t ; 6,8)                               |

● **Mélange de composés 22 + 23 + 24 :**

Aspect : Huile jaune-pâle

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 2923, 2852, 1738, 1513, 1466, 1369, 1242, 1182, 1034, 970.

**Composé 22 : Heptadécanoate de méthyle**

$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ , PM=284

SMIE  $m/z$  (%) : 284  $[\text{M}]^+$  (20), 255  $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5]^+$  (25), 241  $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7]^+$  (68), 227  $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_9]^+$  (40), 213  $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{11}]^+$  (74), 199  $[\text{M}-\text{C}_6\text{H}_{13}]^+$  (66), 185  $[\text{M}-\text{C}_7\text{H}_{15}]^+$  (73), 171  $[\text{M}-\text{C}_8\text{H}_{17}]^+$  (43), 157  $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{19}]^+$  (82), 143  $[\text{M}-\text{C}_{10}\text{H}_{21}]^+$  (30), 129  $[\text{M}-\text{C}_{11}\text{H}_{23}]^+$  (42), 115  $[\text{M}-\text{C}_{12}\text{H}_{25}]^+$  (29), 101  $[\text{M}-\text{C}_{13}\text{H}_{27}]^+$  (24), 87  $[\text{M}-\text{C}_{14}\text{H}_{29}]^+$  (50), 73  $[\text{M}-\text{C}_{15}\text{H}_{31}]^+$  (75), 61 (54), 59  $[\text{M}-\text{C}_{16}\text{H}_{33}]^+$  (13), 55  $[\text{M}-\text{C}_{15}\text{H}_{31}-\text{H}_2\text{O}]^+$  (100).

**Composé 23 : (Z)-9,12-octadécadiénoate d'éthyle**

$\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_2$ , PM=308

SMIE  $m/z$  (%) : 308  $[\text{M}]^+$  (2), 263  $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5\text{O}]^+$  (7), 262  $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_6\text{O}]^+$  (15), 244  $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_6\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$  (1), 205  $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_6\text{O}-\text{H}_2\text{O}-39]^+$  (3), 191 (3), 178 (12), 150 (14), 149 (17), 135 (24), 123 (8), 122 (6), 109 (16), 107 (19), 95 (36), 91 (38), 81 (66), 80 (16), 79 (87), 77 (60), 67 (100), 65 (25), 55 (20).

**Composé 24 : (Z)-9-octadécaénoate d'éthyle**C<sub>20</sub>H<sub>38</sub>O<sub>2</sub>, PM=310

SMIE *m/z* (%) : 310 [M]<sup>+</sup> (6), 267 [M-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O]<sup>+</sup> (6), 265 [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup> (19), 264 [M-C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O]<sup>+</sup> (23), 237 [M-73]<sup>+</sup> (1), 235 (8), 222 [M-88]<sup>+</sup> (19), 221 (17), 220 (7), 213 (6), 207 (10), 193 (7), 180 [M-73-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup> (10), 175 (6), 166 (15), 165 (10), 155 [M-C<sub>11</sub>H<sub>23</sub>]<sup>+</sup> (29), 139 [C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>]<sup>+</sup> (6), 135 (20), 134 (16), 133 (22), 123 (17), 121 (22), 119 (22), 113 [C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>]<sup>+</sup> (3), 111 (22), 109 (25), 107 (23), 105 (16), 101 (11), 98 [C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>]<sup>+</sup> (28), 97 (36), 96 [C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>]<sup>+</sup> (39), 95 [C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup> (61), 91 (61), 83 (60), 81 (73), 79 (93), 77 (71), 73 (26), 69 (30), 67 [C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (100), 65 (24), 61 (15), 55 (79).

**Tableau I.3.2.7 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> des molécules 22, 23 et 24**

|          | 22              |                            | 23              |                            | 24              |                            |
|----------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|
| Atome N° | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H (m) (J, Hz) | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H (m) (J, Hz) | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H (m) (J, Hz) |
| 1        | 173,9           | -                          | 173,9           | -                          | 173,9           | -                          |
| 2        | 34,3            | 2,28 (t ; 7.4)             | 34,3            | 2,28 (t ; 7.4)             | 34,3            | 2,28 (t ; 7.4)             |
| 3        | 24,9            | 1,60 (m)                   | 24,9            | 1,60 (m)                   | 24,9            | 1,60 (m)                   |
| 4        | 29,2-29,6       | 1,25 (m)                   | 29,2-29,6       | 1,25 (m)                   | 29,2-29,6       | 1,25 (m)                   |
| 5        |                 |                            |                 |                            |                 |                            |
| 6        |                 |                            |                 |                            |                 |                            |
| 7        |                 |                            |                 |                            |                 |                            |
| 8        |                 |                            | 29,1            | 2,03 (m;6.4;6.8;9.2)       | 29,1            | 2,03(m;6.4;6.8;9.2)        |
| 9        |                 |                            | 130,0/130,1     | 5,29-5,41 (m)              | 129,7/129,9     | 5,29-5,41 (m)              |
| 10       |                 |                            | 127,8/128,0     | 5,29-5,41 (m)              |                 |                            |
| 11       |                 |                            | 27,1            | 2,76 (t ; 6.4 ; 6.8)       | 29,1            | 2,03(m;6.4;6.8;9.2)        |
| 12       |                 |                            | 127,8/128,0     | 5,29-5,41 (m)              | 29,2-29,6       | 1,25 (m)                   |
| 13       |                 |                            | 130,0/130,1     | 5,29-5,41 (m)              |                 |                            |
| 14       |                 |                            | 29,1            | 2,03 (m;6.4;6.8;9.2)       |                 |                            |
| 15       | 31,9            | 1,25 (m)                   | 29,2-29,6       | 1,25 (m)                   | 31,9            | 1,25 (m)                   |
| 16       | 22,6            | 1,25 (m)                   | 31,9            | 1,25 (m)                   |                 |                            |
| 17       | 14,1            | 0,87 (t ; 6.8)             | 22,6            | 1,25 (m)                   |                 |                            |
| 18       | 51,4            | 3,66 (s)                   | 14,1            | 0,87 (t ; 6.8)             |                 |                            |
| 19       | -               | -                          | 60,1            | 4,12 (q ; 6.8 ; 7.2)       | 60,1            | 4,12 (q ; 6.8 ; 7.2)       |
| 20       | -               | -                          | 14,2            | 1,25 (m)                   | 14,2            | 1,25 (m)                   |

**• Mélange de composés : 25 + 26 + 27 + 28**

Aspect : Huile verdâtre

Spectre IR (νcm<sup>-1</sup>) : 3465, 3384, 3312, 3277, 2960, 2917, 2890, 2853, 1711, 1685, 1663, 1572, 1465, 1384, 1264, 1072, 1053, 740.

**Composé 25 : 3', 6'-dihydro-(3β, 5β, 6α, 22ξ, 23ξ)-cyclopropa [5, 6]-33-norgorgostan-3-ol**C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O, PM=426

SMIE *m/z* (%) : 426 [M]<sup>+</sup> (30), 411 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (6), 397 [M-29]<sup>+</sup> (5), 384 [M-42]<sup>+</sup> (13), 383 [M-43]<sup>+</sup> (36), 365 [M-43-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (21), 355 (3), 354 (2), 347 (4), 328 (14), 315 (16), 314 (52), 313 (100), 299 (28), 296 (18), 287 (17), 286 (32), 285 (71), 269 (28), 267 (23), 259 (77), 251 (14), 245 (29), 231 (17), 229 (20), 217 (17), 215 (22), 213 (14), 199 (14), 189 (14), 185 (15), 177 (18), 173 (19), 163 (14), 161 (15), 149 (14), 147 (17), 137 (13), 134 (13), 131 (12), 123 (19),

121 (20), 111 (3), 107 (17), 105 (15), 98 (11), 95 (27), 93 (26), 91 (42), 81 (38), 79 (32), 77 (34), 69 (17), 67 (18), 65 (10), 55 (29).

**Composé 26 : 24, 28-méthylène fucostérol**

C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O, PM=426

SMIE *m/z* (%) : 426 [M]<sup>+</sup> (100), 411[M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (7), 408 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (7), 393 [M-CH<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (14), 383 [M-43]<sup>+</sup> (32), 365 [M-43-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (35), 348 (15), 347 (47), 328 (9), 315 (31), 314 (91), 299 (22), 295 (10), 287 (39), 286 (43), 285 (65), 281 (21), 272 (36), 271 (35), 260 (61), 253 (13), 246 (14), 232 (24), 213 (28), 205 (28), 191 (37), 187 (39), 175 (26), 173 (36), 163 (10), 159 (21), 145 (32), 133 (33), 121 (23), 107 (23), 105 (22), 95 (15), 91 (45), 77 (31), 65 (10), 55 (11).

**Composé 27 : Citroster-7-en-3-ol**

C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>O, PM=428

SMIE *m/z* (%) : 428 [M]<sup>+</sup> (100), 413 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (16), 410 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (3), 399 [M-29]<sup>+</sup> (7), 357 (4), 331 (6), 315 (3), 301 (3), 297 (4), 288 (7), 287 (25), 269 (8), 259 (7), 246 (19), 245 (87), 231 (19), 227 (10), 189 (11), 175 (17), 147 (12), 108 (11), 91 (16), 79 (18), 67 (12), 55 (5).

**Composé 28 : 4β, 14β-diméthyl-9, 19-cyclocholestan-3-ol-7-one**

C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub>, PM=428

SMIE *m/z* (%) : 428 [M]<sup>+</sup> (100), 413 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (8), 410 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (23), 395 [M-CH<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (87), 371 (14), 370 (11), 343 (3), 316 (7), 298 (15), 288 (9), 287 (30), 269 (18), 247 (17), 234 (19), 229 (11), 227 (16), 205 (35), 201 (11), 192 (83), 187 (52), 175 (29), 161 (36), 159 (44), 145 (21), 135 (52), 121 (15), 105 (15), 91 (28), 79 (21), 77 (18), 67 (8), 55 (4).

**Tableau I.3.2.2 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> des composés 25, 26, 27 et 28**

|          | 25              |                | 26              |                | 27              |                | 28              |                |
|----------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| Atome N° | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H |
| 1        | 31,6            | 1,48 (m)       | 31,6            | 1,48 (m)       | 31,6            | 1,48 (m)       | 31,6            | 1,48 (m)       |
| 2        | 32,7            | 1,55 (m)       | 32,7            | 1,55 (m)       | 32,7            | 1,55 (m)       | 32,7            | 1,55 (m)       |
| 3        | 71,7            | 3,51 (m)       | 71,7            | 3,51 (m)       | 71,7            | 3,51 (m)       | 71,7            | 3,51 (m)       |
| 4        | 42,2            | 1,67 (m)       | 42,2            | 2,31 (m)       | 40,4            | 1,48 (m)       | 40,4            | 1,48 (m)       |
| 5        | 25,7            | -              | 140,7           | -              | 51,2            | 1,24 (m)       | 51,2            | 1,24 (m)       |
| 6        | 21,2            | 1,42 (m)       | 121,6           | 5,33 (m)       | 31,6            | 2,02 (m)       | 42,2            | 2,26 (m)       |
| 7        | 30,1            | 1,52 (m)       | 31,6            | 2,02 (m)       | 121,6           | 5,33 (m)       | 211,4           | -              |
| 8        | 31,8            | 1,42 (m)       | 31,8            | 1,42 (m)       | 140,7           | -              | 56,8            | 2,26 (m)       |
| 9        | 50,1            | 1,42 (m)       | 50,1            | 1,48 (m)       | 50,1            | 1,98 (m)       | 21,0            | -              |
| 10       | 36,5            | -              | 36,5            | -              | 36,5            | -              | 29,3            | -              |
| 11       | 21,0            | 1,52 (m)       | 21,0            | 1,52 (m)       | 21,0            | 1,52 (m)       | 21,0            | 1,52 (m)       |
| 12       | 39,7            | 1,48 (m)       | 39,7            | 1,48 (m)       | 39,7            | 1,48 (m)       | 39,7            | 1,48 (m)       |
| 13       | 42,3            | -              | 42,3            | -              | 42,3            | -              | 42,3            | -              |
| 14       | 56,7            | 1,52 (m)       | 56,7            | 1,52 (m)       | 55,9            | 2,16 (m)       | 42,3            | -              |
| 15       | 24,2            | 1,82 (m)       | 24,2            | 1,82 (m)       | 24,2            | 1,82 (m)       | 24,2            | 1,82 (m)       |
| 16       | 28,2            | 1,84 (m)       | 28,2            | 1,84 (m)       | 28,2            | 1,84 (m)       | 28,2            | 1,84 (m)       |
| 17       | 56,0            | 1,48 (m)       | 56,0            | 1,48 (m)       | 56,0            | 1,48 (m)       | 56,0            | 1,48 (m)       |
| 18       | 11,8            | 0,69 (s)       | 11,8            | 0,69 (s)       | 11,8            | 0,69 (s)       | 11,8            | 0,69 (s)       |
| 19       | 19,3            | 1,00 (s)       | 19,3            | 1,00 (s)       | 19,3            | 1,00 (s)       | 22,6            | 0,67 (s)       |
| 20       | 36,1            | 1,98 (m)       | 36,1            | 1,98 (m)       | 36,1            | 1,98 (m)       | 36,1            | 1,98 (m)       |
| 21       | 18,7            | 0,94 (m)       | 18,7            | 0,94 (m)       | 18,7            | 0,94 (m)       | 18,7            | 0,94 (m)       |
| 22       | 14,0            | 0,67 (m)       | 33,9            | 1,24 (m)       | 36,5            | 1,24 (m)       | 36,5            | 1,24 (m)       |
| 23       | 12,2            | 0,67 (m)       | 37,2            | 1,24 (m)       | 26,8            | 1,24 (m)       | 24,2            | 1,02 (m)       |
| 24       | 45,8            | 0,95 (m)       | 39,6            | -              | 45,8            | 0,95 (m)       | 39,6            | 1,10 (m)       |
| 25       | 29,1            | 1,71 (m)       | 29,1            | 1,71 (m)       | 29,1            | 1,71 (m)       | 29,1            | 1,71 (m)       |
| 26       | 19,7            | 0,85 (m)       | 19,7            | 0,82 (m)       | 19,7            | 0,82 (m)       | 19,7            | 0,82 (m)       |
| 27       | 19,7            | 0,87 (m)       | 19,7            | 0,83 (m)       | 19,7            | 0,83 (m)       | 19,7            | 0,83 (m)       |
| 28       | 18,9            | 0,92 (m)       | 11,9            | 0,67 (m)       | 23,0            | 1,14 (m)       | 14,0            | 1,02 (m)       |
| 29       | 8,7             | 0,67 (m)       | 21,1            | 1,24 (m)       | 11,9            | 0,85 (m)       | 18,7            | 1,00 (s)       |
| 30       | 22,6            | 0,67 (m)       | 8,7             | 0,67 (m)       | 14,0            | 1,02 (m)       | -               | -              |

● **Mélange de composés : 29 + 30 + 53**

Aspect : Solide blanchâtre

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3237, 3193, 2940, 2915, 2849, 1601, 1466, 1381, 1042.

**Composé 29 : Ergostanol**

C<sub>28</sub>H<sub>50</sub>O, PM=402

SMIE *m/z* (%) : 402 [M]<sup>+</sup> (42), 387 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (84), 384 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (5), 369 [M-CH<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (30), 345 (4), 315 (3), 276 (18), 234 (25), 233 (66), 219 (7), 215 (100), 201 (13), 178 (4), 165 (6), 147 (13), 119 (11), 105 (9), 91 (14), 79 (8).

**Composé 30 : 4,4-diméthylcholest-7-en-3-ol**

C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O, PM=414

SMIE *m/z* (%) : 414 [M]<sup>+</sup> (100), 399 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (28), 371 (11), 354 (19), 353 (34), 316 (20), 302 (44), 301 (33), 287 (47), 274 (37), 273 (89), 260 (22), 257 (40), 255 (41), 247 (23), 232 (20), 229 (23), 213 (17), 201 (23), 175 (28), 161 (48), 147 (48), 135 (47), 119 (41), 105 (50), 95 (53), 91 (74), 81 (56), 79 (72), 77 (51), 67 (44), 55 (35).

**Composé 53 : Stigmastanol**C<sub>29</sub>H<sub>52</sub>O, PM=416

SMIE *m/z* (%) : 416 [M]<sup>+</sup> (44), 401 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (62), 398 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (5), 383 [M-CH<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (22), 329 (6), 303 (4), 290 (16), 275 (2), 257 (3), 255 (2), 234 (32), 233 (63), 215 (100), 201 (16), 177 (9), 165 (9), 161 (10), 159 (15), 147 (18), 119 (13), 105 (18), 91 (25), 79 (16), 77 (13), 67 (9).

**Tableau I.3.2.3 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> des molécules 29, 30 et 53**

| Atome N° | 29              |                            | 30              |                            | 53              |                            |
|----------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|
|          | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H (m) (J, Hz) | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H (m) (J, Hz) | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H (m) (J, Hz) |
| 1        | 31,6            | 1,48 (m)                   | 31,6            | 1,48 (m)                   | 31,6            | 1,48 (m)                   |
| 2        | 33,9            | 1,53 (m)                   | 33,9            | 1,53 (m)                   | 33,9            | 1,53 (m)                   |
| 3        | 71,7            | 3,51 (m)                   | 71,7            | 3,51 (m)                   | 71,7            | 3,51 (m)                   |
| 4        | 37,2            | 1,66 (m)                   | 42,2            | -                          | 37,2            | 1,66 (m)                   |
| 5        | 40,4            | 1,23 (m)                   | 51,2            | 1,23 (m)                   | 40,4            | 1,23 (m)                   |
| 6        | 28,2            | 1,23 (m); 1,52 (m)         | 31,6            | 2,01 (m)                   | 28,2            | 1,23 (m); 1,52 (m)         |
| 7        | 31,6            | 1,23 (m)                   | 121,6           | 5,33 (m)                   | 31,6            | 1,23 (m)                   |
| 8        | 31,8            | 1,43 (m)                   | 140,7           | -                          | 31,8            | 1,43 (m)                   |
| 9        | 50,1            | 1,42 (m)                   | 50,1            | 1,98 (m)                   | 50,1            | 1,42 (m)                   |
| 10       | 36,4            | -                          | 36,4            | -                          | 36,4            | -                          |
| 11       | 21,0            | 1,53 (m)                   | 21,0            | 1,53 (m)                   | 21,0            | 1,53 (m)                   |
| 12       | 39,7            | 1,46 (m)                   | 39,7            | 1,46 (m)                   | 39,7            | 1,46 (m)                   |
| 13       | 42,2            | -                          | 42,2            | -                          | 42,2            | -                          |
| 14       | 56,0            | 1,48 (m)                   | 56,0            | 2,01 (m)                   | 56,0            | 1,48 (m)                   |
| 15       | 24,2            | 1,83 (m)                   | 24,2            | 1,83 (m)                   | 24,2            | 1,83 (m)                   |
| 16       | 28,2            |                            | 28,2            |                            | 28,2            |                            |
| 17       | 56,7            | 1,48 (m)                   | 56,7            | 1,48 (m)                   | 56,7            | 1,48 (m)                   |
| 18       | 11,8            | 0,67 (s)                   | 11,8            | 0,67 (s)                   | 11,8            | 0,67 (s)                   |
| 19       | 19,3            | 1,00 (s)                   | 19,3            | 1,00 (s)                   | 19,3            | 1,00 (s)                   |
| 20       | 36,1            | 1,98 (m)                   | 36,1            | 1,98 (m)                   | 36,1            | 1,98 (m)                   |
| 21       | 18,7            | 0,91 (d ; 6.4)             | 18,7            | 0,91 (d ; 6.4)             | 18,7            | 0,91 (d ; 6.4)             |
| 22       | 36,4            | 1,24 (m)                   | 36,4            | 1,24 (m)                   | 36,4            | 1,24 (m)                   |
| 23       | 26,0            |                            | 24,2            | 1,04 (m)                   | 26,0            |                            |
| 24       | 45,8            | 0,95 (m)                   | 39,7            | 1,10 (m)                   | 45,8            | 0,95 (m)                   |
| 25       | 29,1            | 1,69 (m)                   | 29,1            | 1,69 (m)                   | 29,1            | 1,69 (m)                   |
| 26       | 19,3            | 0,82 (m)                   | 19,3            | 0,82 (m)                   | 19,3            | 0,82 (m)                   |
| 27       |                 |                            |                 |                            |                 |                            |
| 28       | 18,9            | 0,95 (m)                   | 19,7            | 1,00 (s)                   | 23,0            | 1,14 (m)                   |
| 29       | -               | -                          |                 |                            | 11,9            | 0,85 (m)                   |

● **Mélange de composés : 9-éthyl-5-méthoxy-ind-5-èn-7-one (31) + 9-éthyl-6-méthoxy-ind-5-èn-7-one (32)**

Aspect : Huile incolore

C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>, PM = 194

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 2952, 2922, 2858, 2369, 2363, 1734, 1718, 1640, 1465, 1377, 1241, 1176, 1039, 657.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau I.3.2.8

SMIE *m/z* (%) : 194 [M]<sup>+</sup> (37), 179 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (2), 165 [M-29]<sup>+</sup> (2), 152 [M-42]<sup>+</sup> (48), 138 (100), 137 (31), 123 (16), 110 (4), 109 (28), 107 (23), 95 (9), 91 (16), 81 (6), 79 (17), 77 (24), 65 (7).

● **Composé 34 : Ombelliférone**

Aspect : Solide blanc

$C_9H_6O_3$ , PM = 162

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ): 3113, 3069, 2373, 2352, 2306, 1710, 1678, 1664, 1620, 1601, 1587, 1554, 1509, 1411, 1352, 1303, 1234, 1131, 1010, 985, 899, 832, 751.

ESI  $m/z$  : 163  $[M+H]^+$ , 185  $[M+Na]^+$

ESI  $m/z$  : 161  $[M-H]^-$

ESIHR  $m/z$  : 163,0390  $[M+H]^+$  (Calculé 163,0395) ; 185,0208  $[M+Na]^+$  (Calculé 185,0215)

PF : 226-228°C

**Tableau I.3.3.4.1 : RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  dans le MeOD de l'ombelliférone**

| Atome N° | $^{13}C$ ( $\delta$ , ppm) | $^1H$ ( $\delta$ , ppm) m ( $J$ , Hz) | HMBC            | COSY |
|----------|----------------------------|---------------------------------------|-----------------|------|
| 2        | 163,6                      | -                                     | -               | -    |
| 3        | 112,3                      | 6,18 (1H ; d ; 9,6)                   | C2, C10         | H4   |
| 4        | 146,0                      | 7,84 (1H ; d ; 9,2)                   | C2, C5, C9      | H3   |
| 5        | 130,6                      | 7,45 (1H ; d ; 8,4)                   | C4, C7, C9      | H6   |
| 6        | 114,5                      | 6,79 (1H ; dd ; 8,4 ; 2,4)            | C8, C10         | H5   |
| 7        | 163,1                      | -                                     | -               | -    |
| 8        | 103,4                      | 6,71 (1H ; d ; 2,4)                   | C6, C7, C9, C10 | -    |
| 9        | 157,2                      | -                                     | -               | -    |
| 10       | 113,1                      | -                                     | -               | -    |

● **Composé 35 : Quercétine**

Aspect : Poudre jaune

$C_{15}H_{10}O_7$ , PM = 302

UV ( $\lambda_{\text{max}}$ ) (MeOH) : 210, 255, 366

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 3335, 3282, 3244, 2575, 1670, 1616, 1591, 1511, 1211, 1161, 999, 821, 771.

ESI  $m/z$  : 301  $[M-H]^-$

ESIHR  $m/z$  : 303,0503  $[M+H]^+$  (Calculé 303,0505)

PF : 315-317°C

**Tableau I.3.3.6.1 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CD<sub>3</sub>OD de la quercétine**

| Atome N° | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) | HMBC             | COSY |
|----------|--------------------------|-----------------------------------|------------------|------|
| 2        | 148,0*                   | -                                 | -                | -    |
| 3        | 137,2                    | -                                 | -                | -    |
| 4        | 177,3                    | -                                 | -                | -    |
| 5        | 162,5                    | -                                 | -                | -    |
| 6        | 99,2                     | 6,18 (1H ; d ; 2)                 | C10, C5, C7, C8  | -    |
| 7        | 165,6                    | -                                 | -                | -    |
| 8        | 94,4                     | 6,38 (1H ; d ; 2)                 | C7, C9, C10, C6  | -    |
| 9        | 158,2                    | -                                 | -                | -    |
| 10       | 104,5                    | -                                 | -                | -    |
| 1'       | 124,2                    | -                                 | -                | -    |
| 2'       | 116,0**                  | 7,73 (1H ; d ; 2)                 | C6', C3', C4'    | -    |
| 3'       | 146,2                    | -                                 | -                | -    |
| 4'       | 148,8*                   | -                                 | -                | -    |
| 5'       | 116,2**                  | 6,88 (1H ; d ; 8,4)               | C1', C3', C4'/C2 | H6'  |
| 6'       | 121,7                    | 7,63 (1H ; dd ; 8,4 ; 2)          | C5'/C2', C4'/C2  | H5'  |

\*, \*\* : Carbones interchangeables

● **Composé 36 : Vitexine**

Aspect : Poudre jaune

C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>, PM = 432

UV (λ<sub>max</sub>): 214, 268, 337

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3431, 3381, 3257, 1678, 1664, 1646, 1052, 1024, 1003, 991, 824, 761.

ESI m/z : 431 [M-H]<sup>-</sup>

ESIHR m/z : 433,1134 [M+H]<sup>+</sup> (Calculé 433,1135)

PF : 260°C

**Tableau I.3.3.6.2 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le DMSO de la vitexine**

| Atome N° | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz)                    | HMBC              | COSY       | NOESY                   |
|----------|--------------------------|------------------------------------------------------|-------------------|------------|-------------------------|
| 2        | 163,7                    | -                                                    | -                 | -          | -                       |
| 3        | 102,3                    | 6,75 (1H, s)                                         | C2, C4, C10, C1'  | -          | -                       |
| 4        | 181,8                    | -                                                    | -                 | -          | -                       |
| 5        | 160,3                    | -                                                    | -                 | -          | -                       |
| 6        | 98,2                     | 6,25 (1H, s)                                         | C5, C10           | -          | -                       |
| 7        | 155,9                    | -                                                    | -                 | -          | -                       |
| 8        | 104,5                    | -                                                    | -                 | -          | -                       |
| 9        | 162,0                    | -                                                    | -                 | -          | -                       |
| 10       | 103,6                    | -                                                    | -                 | -          | -                       |
| 1'       | 121,4                    | -                                                    | -                 | -          | -                       |
| 2',6'    | 128,8                    | 8,01 (2H ; d ; 7,6)                                  | C4'               | H3'/H5'    | H2'/H6'                 |
| 3',5'    | 115,7                    | 6,89 (2H ; d ; 8,4)                                  | C1', C5'/C3', C4' | H2'/H6'    | H3'/H5'                 |
| 4'       | 161,0                    | -                                                    | -                 | -          | -                       |
| 1''      | 73,3                     | 4,70 (1H ; d ; 9,2)                                  | -                 | H2''       | -                       |
| 2''      | 70,7                     | 3,84 (1H ; dd ; 9,2 ; 8,8)                           | C1'', C3''        | H1'', H3'' | -                       |
| 3''      | 78,5                     | 3,27 (1H ; dd ; 9,2 ; 8,8)                           | C2''              | H2'', H4'' | -                       |
| 4''      | 70,4                     | 3,35 (1H ; dd ; 9,2 ; 8,8)                           | -                 | H3'', H5'' | -                       |
| 5''      | 81,7                     | 3,16-3,26 (m, 1H)                                    | -                 | H4'', H6'' | -                       |
| 6''      | 61,1                     | 3,52 (1H ; dd ; 11,4 ; 6,4 )<br>3,75 (d ; 1H ; 10,8) | -                 | H5'', H6'' | -                       |
| 5-OH     | -                        | 13,15 (1H, s)                                        | C5, C6, C10       | -          | -                       |
| -OH      | -                        | 4,98 (2H, s)                                         | -                 | -          | H3''/H4''/<br>H5''/H6'' |
| -OH      | -                        | 4,59 (1H, s)                                         | -                 | -          |                         |

● **Composé 37 : Acide gallique**

Aspect : Solide blanc

$C_7H_6O_5$ , PM = 170

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ): 3389, 3359, 3296, 3215, 2360, 2328, 1698, 1613, 1322, 1266, 1197, 1029, 874, 724.

ESI  $m/z$  : 169  $[M-H]^-$

PF : 211°C

**Tableau I.I.3.3.7.1 : RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  dans le  $CD_3OD$  de la molécule 37**

| Atome N° | $^{13}C$ ( $\delta$ , ppm) | $^1H$ ( $\delta$ , ppm) (m) | HMBC                     |
|----------|----------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| 1        | 121,9                      | -                           | -                        |
| 2/6      | 110,3                      | 7,07 (s, 2H)                | C1, C2/C6, C3/C5, C4, C7 |
| 3/5      | 146,3                      | -                           | -                        |
| 4        | 139,5                      | -                           | -                        |
| 7        | 170,4                      | -                           | -                        |

● **Composé 38 : Juglone**

Aspect : solide jaune-orangé en aiguilles

$C_{10}H_6O_3$ , PM = 174

UV ( $\lambda_{\text{max}}$ ) (nm): 214, 250

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ): 2361, 2340, 2329, 2161, 2009, 1666, 1644, 1458, 1290, 855.

ESI  $m/z$  : 173  $[M-H]^-$

SMIE  $m/z$  (%): 174  $[M]^+$  (10), 173  $[M-H]^+$  (100), 172 (36), 145  $[M-H-CO]^+$  (16), 118 (32), 92 (12), 90 (11), 89 (19), 63 (23).

ESIHR  $m/z$  : 173,0237  $[M-H]^-$  (Calculé 173,0239)

PF : 156°C

**Tableau I.3.3.8.2 : RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  dans le  $CDCl_3$  de la juglone**

| Atome N° | $^{13}C$ ( $\delta$ , ppm) | $^1H$ ( $\delta$ , ppm) m ( $J$ , Hz) | HMBC        | COSY  |
|----------|----------------------------|---------------------------------------|-------------|-------|
| 1        | 184,2                      | -                                     | -           | -     |
| 2        | 138,6*                     | 6,95 (2H, s)                          | C1, C4      | -     |
| 3        | 139,5*                     |                                       |             | -     |
| 4        | 190,2                      | -                                     | -           | -     |
| 5        | 161,4                      | -                                     | -           | -     |
| 6        | 124,4                      | 7,28 (1H ; dd ; 7,4 ; 2)              | C8          | H7/H8 |
| 7        | 136,5                      | 7,60 (1H ; dd ; 7,4 ; 2)              | -           | H6    |
| 8        | 119,1                      | 7,62 (1H ; dd ; 7,4 ; 2)              | -           | H7    |
| 9        | 131,7                      | -                                     | -           | -     |
| 10       | 114,9                      | -                                     | -           | -     |
| 5-OH     | -                          | 11,89 (1H, s)                         | C5, C6, C10 | -     |

\* : Carbones interchangeables

• **Composé 39 :  $\beta$ -Sitostérol**

Aspect : Solide blanc

$C_{29}H_{50}O$ , PM = 414

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ): 3365, 2963, 2931, 2866, 2846, 1666, 1465, 1436, 1380, 1358, 1060, 958, 755.

SMIE  $m/z$  (%) : 414  $[M]^+$  (58), 399  $[M-CH_3]^+$  (26), 396  $[M-H_2O]^+$  (100), 381  $[M-CH_3-H_2O]^+$  (58), 354 (11), 330 (11), 329  $[M-85]^+$  (55), 303  $[M-111]^+$  (10), 288 (13), 275 (19), 273  $[M-C_{10}H_{21}]^+$  (22), 255  $[M-C_{10}H_{21}-H_2O]^+$  (61), 231  $[M-C_{10}H_{21}-42]^+$  (27), 213  $[M-C_{10}H_{21}-H_2O-42]^+$  (64), 199 (29), 187 (23), 173 (28), 163 (31), 161 (38), 160 (43), 159 (52), 147 (54), 145 (79), 143 (43), 133 (46), 131 (29), 119 (36), 105 (69), 95 (29), 93 (34), 91 (85), 81 (40), 79 (57), 77 (46), 67 (22).

PF : 139-141°C

**Tableau I.3.1.4 : RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  dans le  $CDCl_3$  du  $\beta$ -sitostérol**

| Atome N° | $^{13}C$ ( $\delta$ , ppm) | $^1H$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) | HMBC                 | COSY        | NOESY  |
|----------|----------------------------|-----------------------------------|----------------------|-------------|--------|
| 1        | 37,2                       | 1,47 (m, 2H)                      | -                    | H2          | -      |
| 2        | 31,6*                      | 1,56 (m, 2H)                      | C1, C3, C4           | H1, H3      | -      |
| 3        | 71,8                       | 3,52 (m, 1H)                      | -                    | H2, H4      | H4     |
| 4        | 42,2**                     | 2,26 (m, 2H)                      | C2,C3,C5,C6,C10      | H3          | H3, H6 |
| 5        | 140,7                      | -                                 | -                    | -           | -      |
| 6        | 121,6                      | 5,34 (m, 1H)                      | C4, C7, C8, C10      | H7          | H4, H7 |
| 7        | 31,6*                      | 1,99 (m, 2H)                      | C5, C6, C8, C9       | H6          | H6     |
| 8        | 32,4                       | 1,66 (m, 1H)                      | C15                  | H9          | -      |
| 9        | 50,1                       | 1,48 (m, 1H)                      | C7, C8, C10          | H8, H11     | -      |
| 10       | 36,5                       | -                                 | -                    | -           | -      |
| 11       | 21,0                       | 1,53 (m, 2H)                      | C8, C9, C12, C13     | H9          | -      |
| 12       | 39,7                       | 1,49 (m, 3H)                      | C9, C13, C14         | -           | -      |
| 13       | 42,2**                     | -                                 | -                    | -           | -      |
| 14       | 56,7                       | 1,50 (m, 1H)                      | C7,C8,C9,C12,C13,C17 | H15         | -      |
| 15       | 24,2                       | 1,61 (m, 2H)                      | C8,C13,C14,C16,C17   | H14, H16    | H16    |
| 16       | 28,2                       | 1,83 (m, 2H)                      | -                    | H15         | H15    |
| 17       | 56,0                       | 1,49 (m, 3H)                      | C12, C14, C22        | H20         | -      |
| 18       | 11,8                       | 0,67 (s, 3H)                      | C12,C13,C14,C17      | -           | -      |
| 19       | 19,3                       | 1,00 (s, 3H)                      | C1,C5,C9,C10         | -           | -      |
| 20       | 36,1                       | 1,63 (m, 1H)                      | C13, C16, C22        | H17, H21    | -      |
| 21       | 18,7                       | 0,92 (d ; 3H ; 6.4)               | C17, C20, C22        | H20         | -      |
| 22       | 33,9                       | 0,84 (m, 2H)                      | C17,C20,C21,C24      | H23         | -      |
| 23       | 26,1                       | 1,06-1,11 (m, 4H)                 | C20, C22, C24,C25    | H22, H24    | H24    |
| 24       | 45,8                       | 1,51 (m, 1H)                      | C22                  | H23,H28,H25 | H23    |
| 25       | 29,1                       | 1,65 (m, 2H)                      | C23,C26,C27,C28      | H26,H27,H24 | -      |
| 26       | 19,8                       | 0,80 (d ; 3H ; 6.8)               | C25, C27             | H25         | -      |
| 27       | 19,0                       | 0,81 (d ; 3H ; 6.4)               | C25, C26             | H25         | -      |
| 28       | 23,0                       | 1,06-1,11 (m, 4H)                 | C24, C29, C25        | H24,H29     | -      |
| 29       | 11,9                       | 0,85 (t ; 3H ; 7.2)               | C24, C28             | H28         | -      |

\*, \*\*: Carbones interchangeables

● **Composé 40 : Cholestérol**

Aspect : Solide blanc

C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O, PM = 386

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3412, 3383, 3336, 2958, 2935, 2872, 2333, 2282, 2155, 1995, 1722, 1468, 1382, 763, 752.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau I.4.3.1.2

SMIE *m/z* (%): 386 [M]<sup>+</sup> (25), 371 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (23), 368 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (70), 353 [M-CH<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (39), 326 [M-H<sub>2</sub>O-42]<sup>+</sup> (8), 301 [M-85]<sup>+</sup> (20), 275 [M-111]<sup>+</sup> (9), 273 [M-C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>]<sup>+</sup> (8), 255 [M-C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (40), 247 (28), 231 [M-C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>-42]<sup>+</sup> (11), 213 [M-C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>-H<sub>2</sub>O-42]<sup>+</sup> (42), 199 (20), 187 (16), 173 (21), 163 (23), 161 (20), 160 (26), 159 (41), 147 (41), 145 (65), 133 (42), 119 (37), 107 (25), 91 (100), 81 (27), 79 (51), 77 (47), 67 (26), 65 (18), 57 (10).

PF : 149-151°C

**Tableau I.3.1.5 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du cholestérol**

| Atome N° | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) |
|----------|--------------------------|-----------------------------------|
| 1        | 37,2                     | 1,47 (m, 2H)                      |
| 2        | 31,5*                    | 1,32 (m, 2H)                      |
| 3        | 71,8                     | 3,53 (m, 1H)                      |
| 4        | 42,2                     | 2,32 (m, 2H)                      |
| 5        | 140,7                    | -                                 |
| 6        | 121,7                    | 5,34 (m, 1H)                      |
| 7        | 31,5*                    | 2,00 (m, 2H)                      |
| 8        | 31,9                     | 1,43 (m, 1H)                      |
| 9        | 50,1                     | 1,48 (m, 1H)                      |
| 10       | 36,4                     | -                                 |
| 11       | 21,0                     | 1,53 (m, 2H)                      |
| 12       | 39,7                     | 1,49 (m, 3H)                      |
| 13       | 42,3                     | -                                 |
| 14       | 56,7                     | 1,51 (m, 1H)                      |
| 15       | 24,2                     | 1,82 (m, 2H)                      |
| 16       | 28,2                     | 1,85 (m, 2H)                      |
| 17       | 56,1                     | 1,49 (m, 3H)                      |
| 18       | 11,8                     | 0,67 (s, 3H)                      |
| 19       | 19,3                     | 1,00 (s, 3H)                      |
| 20       | 35,7                     | 1,99 (m, 1H)                      |
| 21       | 18,7                     | 0,91 (d ; 3H ; 6.4)               |
| 22       | 36,1                     | 1,11 (m, 2H)                      |
| 23       | 23,8                     | 1,07 (m, 2H)                      |
| 24       | 39,4                     | 1,15 (m, 2H)                      |
| 25       | 27,9                     | 1,34 (m, 1H)                      |
| 26       | 22,7                     | 0,85 (d ; 3H ; 6.8)               |
| 27       | 22,5                     | 0,86 (d ; 3H ; 6.8)               |

\*, \*\*: Carbones interchangeables

● **Composé 42 : Hexadécanamide**

Aspect : Poudre blanche

C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>NO, PM=255

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>): 3392, 3259, 2919, 2903, 2364, 2153, 1643, 1471, 1420, 1215, 755.

APCI *m/z* : 256 [M+H]<sup>+</sup>

ESI *m/z* : 278 [M+Na]<sup>+</sup>

SMIE  $m/z$  (%) : 256  $[M+H]^+$  (15), 255  $[M]^+$  (30), 238  $[M-NH_3]^+$  (5), 226  $[M-29]^+$  (35), 212 (52), 198 (20), 184 (30), 170 (40), 156 (35), 142 (25), 128 (48), 114 (25), 100 (25), 86 (30), 72 (60), 59 (97), 58 (10), 55 (100).  
 PF : 104-106°C

**Tableau II.3.2.1 : RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  dans le MeOD de l'hexadécaneamide**

| Atome N° | $^{13}C$ ( $\delta$ , ppm) | $^1H$ ( $\delta$ , ppm) m (J, Hz) | HMBC                | COSY      |
|----------|----------------------------|-----------------------------------|---------------------|-----------|
| 1        | 175,4                      | -                                 | -                   | -         |
| 2        | 36,5                       | 2,19 (2H ; t ; 7,6)               | C1, C3, C4          | H3        |
| 3        | 23,7                       | 1,60 (2H ; quint ; 7,2 ; 7,6)     | C1, C2, C4          | H2, H4-15 |
| 4-13     | 30,3-30,8                  | 1,29 (24H, m)                     | C3, C4-13, C14, C15 | H3, H16   |
| 14       | 33,1                       |                                   |                     |           |
| 15       | 26,9                       |                                   |                     |           |
| 16       | 14,4                       | 0,90 (3H ; t ; 7)                 | C14, C15            | H4-15     |
| NH       | -                          | 3,34 (2H, s)                      | -                   | -         |

● **Mélange de composés : (41 + 42 + 43)**

Aspect : Poudre rose-pâle

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 3377, 3196, 3182, 3150, 2919, 2849, 2357, 1664, 1647, 1470, 1420, 1212, 772, 689.

**Composé 41 : (Z)-9-octadécénamide**

$C_{18}H_{35}NO$ , PM=281

APCI  $m/z$  : 282  $[M+H]^+$

SMIE  $m/z$  (%) : 282  $[M+H]^+$  (6), 281  $[M]^+$  (33), 264  $[M-NH_3]^+$  (23), 256 (1), 238 (25), 224 (3), 210 (6), 207 (16), 182 (9), 168 (4), 154 (18), 140 (15), 137 (8), 128 (8), 126 (100), 112 (62), 107 (7), 97 (11), 95 (25), 79 (32), 72 (68), 69 (15), 67 (44), 59 (43), 55 (89).

**Composé 43 : 1-nonadécaneamine**

$C_{19}H_{41}N$ , PM=283

APCI  $m/z$  : 284  $[M+H]^+$

SMIE  $m/z$  (%) : 284  $[M+H]^+$  (15), 283  $[M]^+$  (53), 281 (15), 266  $[M-NH_3]^+$  (15), 254 (36), 240 (85), 226 (33), 212 (25), 198 (40), 184 (75), 170 (43), 156 (25), 142 (35), 128 (75), 114 (35), 100 (10), 98 (45), 84 (40), 72 (65), 70 (10), 59 (95), 55 (100).

**Tableau II.3.2.2 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> des molécules 41 et 43**

| Atome N°     | 41                       |                                   | 43                       |                                   |
|--------------|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
|              | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) |
| 1            | 178,0                    | -                                 | 34,1                     | 2,29 (t ; 7,6)                    |
| 2            | 35,9                     | 2,20 (t ; 7,6)                    | 24,8                     | 1,60 (m)                          |
| 3            | 25,4                     | 1,60 (m)                          | 22,6                     | 1,23 (m)                          |
| 4-7<br>12-15 | 29,0-29,6                | 1,23 (m)                          | -                        | -                                 |
| 4-16         | -                        | -                                 | 29,0-29,6                | 1,23 (m)                          |
| 8/11         | 27,1                     | 2,03 (dd ; 6,8 ; 5,6)             | -                        | -                                 |
| 9/10         | 129,6/129,9              | 5,33 (ddd ; 5,6 ; 4,8 ; 2,4)      | -                        | -                                 |
| 16           | 31,8                     | 1,23 (m)                          | -                        | -                                 |
| 17           | 22,6                     |                                   | 31,8                     | 1,23 (m)                          |
| 18           | 14,0                     | 0,86 (t ; 6,6)                    | 22,6                     |                                   |
| 19           | -                        | -                                 | 14,0                     | 0,86 (t ; 6,6)                    |
| NH           | -                        | 5,61 (s) ; 6,21 (s)               | -                        | 5,61 (s) ; 6,21 (s)               |

● **Composé 44 : Caféine**

Aspect : Cristaux blancs

C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>, PM = 194

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3441, 1703, 1650, 1602, 1553, 1489, 1452, 1430, 1358, 1239, 1025, 974, 743, 648.

ESI *m/z* : 195 [M+H]<sup>+</sup>, 217 [M+Na]<sup>+</sup>

ESIHR *m/z* : 195,0882 [M+H]<sup>+</sup> (Calculé 195,0882)

PF : 228-230°C

**Tableau II.3.2.3 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule 44**

| Atome N°          | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) (m) | HMBC                  |
|-------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| 1-CH <sub>3</sub> | 29,6                     | 3,54 (s, 3H)                | C2, C6                |
| 2                 | 151,6                    | -                           | -                     |
| 3-CH <sub>3</sub> | 27,8                     | 3,36 (s, 3H)                | C2, C4                |
| 4                 | 155,3                    | -                           | -                     |
| 5                 | 107,5                    | -                           | -                     |
| 6                 | 148,6                    | -                           | -                     |
| 7-CH <sub>3</sub> | 33,5                     | 3,96 (s, 3H)                | C5, C8                |
| 8                 | 141,3                    | 7,48 (s, 1H)                | C5, 7-CH <sub>3</sub> |

● **Composé 45 : Oléate de méthyle**

Aspect : Huile jaune-pâle

C<sub>19</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>, PM = 296

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>): 2960, 2924, 2853, 2359, 2341, 1742, 1466, 1435, 1363, 1246, 1196, 1170, 669.

ESI *m/z* : 297,3 [M+H]<sup>+</sup>, 319,3 [M+Na]<sup>+</sup>

SMIE *m/z* (%): 296 [M]<sup>+</sup> (11), 265 [M-CH<sub>3</sub>O]<sup>+</sup> (26), 264 (37), 246 (9), 235 (12), 222 (12), 221 (17), 220 (11), 213 (4), 207 (9), 193 (8), 180 (10), 175 (8), 166 (19), 165 (14), 152 (22), 151 (24), 149 (17), 148 (31), 147 (13), 141 (25), 139 (9), 138 (17), 137 (24), 135 (26), 134 (29), 133 (21), 123 (23), 121 (30), 119 (25), 113 (16), 111 (32), 109 (34), 107 (23), 105 (16), 101 (7), 98 (53), 97 (54), 96 (53), 95 (73), 91 (39), 83 (59), 81 (92), 79 (70), 77 (34), 69 (30), 67 (100), 65 (18), 55 (65).

ESIHR  $m/z$  : 319,2614  $[M+Na]^+$  (Calculé 319,2613)

**Tableau II.3.1.3 : RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  dans le  $CDCl_3$  de l'oléate de méthyle**

| Atome N°               | $^{13}C$ ( $\delta$ , ppm) | $^1H$ ( $\delta$ , ppm) $m$ ( $J$ , Hz) | HMBC                   | COSY                              | NOESY       |
|------------------------|----------------------------|-----------------------------------------|------------------------|-----------------------------------|-------------|
| 1                      | 174,1                      | -                                       | -                      | -                                 | -           |
| 2                      | 34,0                       | 2,27 (2H ; t ; 7.6)                     | C1, C3, C4             | H3                                | -           |
| 3                      | 24,9                       | 1,60 (2H ; q ; 7.2)                     | C1, C2, C4             | H2,<br>H4-7/H12-17                | H4-7/H12-17 |
| 4/5/6/7<br>12/13/14/15 | 29,0-29,7                  | 1,23-1,28 (20H, m)                      | C9/C10,<br>C4-7/C12-18 | H4-7/H12-17<br>H3, H18,<br>H8/H11 | H3, H8/H11  |
| 8/11                   | 27,1/27,2                  | 2,01 (4H ; dd ; 7 ; 5,6)                | C9/C10,<br>C4-7/C12-18 | H9/H10,<br>H4-7/H12-17            | H4-7/H12-17 |
| 9/10                   | 129,6/129,9                | 5,32 (2H, m)                            | C8/C11                 | H8/H11                            | -           |
| 16                     | 31,8                       | 1,23-1,28 (20H, m)                      | -                      | H18,                              | -           |
| 17                     | 22,6                       |                                         | -                      | H12-17                            | -           |
| 18                     | 14,0                       | 0,86 (3H ; t ; 6.8)                     | C16, C17               | H4-7/H12-17                       | -           |
| 19                     | 51,3                       | 3,64 (3H, s)                            | C1                     | -                                 | -           |

● **Composé 46 : Palmitate de méthyle**

$C_{17}H_{34}O_2$ , PM = 270

Spectre IR ( $cm^{-1}$ ): 2960, 2924, 2853, 2359, 2341, 1742, 1466, 1435, 1363, 1246, 1196, 1170, 669.

SMIE  $m/z$  (%): 270  $[M]^+$  (25), 255 (1), 241  $[M-29]^+$  (23), 227 (62), 213 (43), 199 (73), 185 (71), 171 (84), 157 (56), 143 (88), 129 (41), 115 (32), 101 (100), 87 (38), 73 (44), 59 (30), 55 (86).

● **Composé 47 : Acide oléique**

Aspect : Huile blanchâtre

$C_{18}H_{34}O_2$ , PM = 282

Spectre IR ( $cm^{-1}$ ): 2916, 2850, 2362, 1708, 1464, 1239, 691.

ESI  $m/z$  : 305,1  $[M+Na]^+$

SMIE  $m/z$  (%): 264  $[M-H_2O]^+$  (7), 237  $[M-45]^+$  (3), 221 (6), 208 (6), 185 (7), 165 (7), 157 (7), 148 (10), 134 (9), 109 (11), 105 (12), 98 (14), 97 (20), 96 (25), 95 (28), 91 (24), 87 (15), 83 (49), 81 (43), 79 (46), 77 (21), 73 (12), 69 (38), 67 (84), 65 (17), 55 (100).

ESIHR  $m/z$  : 281,2480  $[M-H]^-$  (calculé 281,2481)

**Tableau II.3.1.1 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de l'acide oléique**

| Atome N°               | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz)           | HMBC                   | COSY                              |
|------------------------|--------------------------|---------------------------------------------|------------------------|-----------------------------------|
| 1                      | 180,0                    | -                                           | -                      | -                                 |
| 2                      | 34,0                     | 2,34 (2H ; t ; 7,6)                         | C1, C3, C4             | H3                                |
| 3                      | 24,6                     | 1,63 (2H ; quint ; 7,2)                     | C1, C2, C4             | H2,<br>H4-7/H12-17                |
| 4/5/6/7<br>12/13/14/15 | 29,0-29,6                | 1,25-1,31 (20H, m)                          | C4-7/C12-18<br>C9/C10  | H4-7/H12-17<br>H3, H18,<br>H8/H11 |
| 8/11                   | 27,1/27,2                | 1,42 (2H, s) ;<br>2,01(2H ; q ; 6,4 ; 5,6 ) | C9/C10,<br>C4-7/C12-15 | H9/H10<br>H4-7/H12-17             |
| 9/10                   | 129,7/130,0              | 5,34 (2H ; ddd ; 5,6; 3,2; 2,4)             | C8/C11                 | H8/H11                            |
| 16                     | 31,9                     | 1,25-1,31 (m, 20H)                          | -                      | H12-17,                           |
| 17                     | 22,6                     |                                             | -                      | H18                               |
| 18                     | 14,1                     | 0,88 (3H ; t ; 6,8)                         | C16, C17               | H4-7/H12-17                       |

● **Composé 48 : Isochondodendrine**

Aspect : Poudre blanche

C<sub>36</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>, PM = 594

Spectre UV (λ<sub>max</sub>) (nm): 214, 275, 281

Spectre IR (ν<sub>cm<sup>-1</sup></sub>): 3273, 2925, 1614, 1505, 1448, 1299, 1215, 1115, 1064, 848, 743.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau II.3.2.7

ESI m/z : 595 [M+H]<sup>+</sup>, 298

APCIMS m/z : 595 [M+H]<sup>+</sup>, 578, 564, 552, 533, 521, 471, 442, 413, 386, 373, 355, 343, 310, 298, 281, 267, 255, 240, 223, 190, 176, 165.

ESIHR m/z : 595,2808 [M+H]<sup>+</sup> (Calculé 595,2808)

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -8,7 (C=0.269, CHCl<sub>3</sub>, 546 nm)

● **Composé 49 : Acide 6-Z-octadécénoïque**

Aspect : Huile visqueuse violette

C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>, PM = 282

Spectre IR (ν<sub>cm<sup>-1</sup></sub>) : 3350, 2975, 2926, 2901, 2854, 2360, 2341, 1715, 1650, 1487, 1380, 1274, 1087, 1045, 879.

ESI m/z : 281 [M-H]<sup>-</sup>

SMIE m/z (%) : 282 [M]<sup>+</sup> (1), 265 [M-OH]<sup>+</sup> (6), 264 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (15), 246 (3), 235 (7), 222 (9), 221 (11), 207 (7), 195 (6), 193 (6), 166 (10), 148 (14), 142 (3), 134 (9), 124 (9), 123 (10), 110 (13), 95 (29), 81 (44), 79 (45), 69 (33), 67 (94), 60 (6), 55 (100).

ESIHR m/z : 281,2487 [M-H]<sup>-</sup> (Calculé 281,2486)

**Tableau II.3.1.2 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de l'acide 6-octadécénoïque**

| Atome N°                 | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m ( <i>J</i> , Hz) |
|--------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------|
| 1                        | 180,3                             | -                                                 |
| 2                        | 34,1                              | 2,34 (t ; 7,6)                                    |
| 3                        | 24,6                              | 1,63 (quint ; 7,6)                                |
| 4/9/10/11<br>12/13/14/15 | 29,0-29,7                         | 1,25-1,31 (m)                                     |
| 5/8                      | 27,1                              | 2,03 (sext ; 8,4 ; 6,8 ; 6,4)                     |
| 6/7                      | 129,6/129,9                       | 5,34 (ddd ; 6,8 ; 6,4 ; 4)                        |
| 16                       | 31,9                              | 1,25-1,31 (m)                                     |
| 17                       | 22,6                              |                                                   |
| 18                       | 14,0                              | 0,88 (t ; 6,8)                                    |
| OH                       | -                                 | 10,23 (s)                                         |

● **Composé 50 : 5-formylindole**

Aspect : Poudre blanchâtre

$\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$ , PM = 145

UV  $\lambda_{\text{max}}$  (nm) (MeOH) : 206, 248, 296.

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ): 3454, 3408, 3263, 1681, 1669, 1610, 1576, 1424, 1353, 1327, 1299, 1228, 1118, 1093, 895, 770, 730.

ESI  $m/z$  : 146,1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 168,1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 313,1  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$

ESIHR  $m/z$  : 146,0610  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (Calculé 146,0606) ; 168,0429  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (Calculé 168,0425)

Rf = 0,32 dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  100%

**Tableau II.3.2.5 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule 50**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) m ( <i>J</i> , Hz) | HMBC            | COSY |
|----------|-----------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------|------|
| 1        | -                                 | 8,55 (1H, s)                                      | -               | -    |
| 2        | 125,9                             | 7,32 (1H ; t ; 2,4)                               | C3, C3a, C7a    | H3   |
| 3        | 104,5                             | 6,71 (1H ; t ; 2,4)                               | C2, C4, C7a     | H2   |
| 3a       | 127,7                             | -                                                 | -               | -    |
| 4        | 126,2                             | 8,18 (1H, s)                                      | C3, C6, C7a, C8 | -    |
| 5        | 129,8                             | -                                                 | -               | -    |
| 6        | 122,3                             | 7,78 (1H ; dd ; 8,4 ; 1,4)                        | C4, C7a, C8     | H7   |
| 7        | 111,6                             | 7,48 (1H ; d ; 8,4)                               | C5, C3a         | H6   |
| 7a       | 139,2                             | -                                                 | -               | -    |
| 8        | 192,5                             | 10,04 (1H, s)                                     | C4, C5, C6      | -    |

● **Composé 51 :  $\alpha$ -Tomatine**

Aspect : Solide blanc

$\text{C}_{50}\text{H}_{83}\text{NO}_{21}$ , PM = 1033

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ): 3469, 3436, 3402, 3311, 3280, 3229, 2903, 2869, 1448, 1345, 1156, 1071, 1036, 1012, 893.

ESI  $m/z$  : 1034  $[\text{M}+\text{H}]^+$

ESIHR  $m/z$  : 1034,5521  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (Calculé 1034,5536)

PF : 265-267°C

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -23,1$  (C=1.02, MeOH, 546 nm)

**Tableau II.3.2.4 : RMN  $^{13}\text{C}$  dans le MeOD de l' $\alpha$ -tomatine**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) |
|----------|-----------------------------------|----------|-----------------------------------|
| 1        | 38,2                              | 1'       | 104,7                             |
| 2        | 30,4                              | 2'       | 70,9                              |
| 3        | 77,4                              | 3'       | 71,5                              |
| 4        | 36,8                              | 4'       | 81,0                              |
| 5        | 43,5                              | 5'       | 79,4                              |
| 6        | 29,4                              | 6'       | 61,0                              |
| 7        | 33,5                              | 1''      | 102,6                             |
| 8        | 36,4                              | 2''      | 87,9                              |
| 9        | 55,8                              | 3''      | 75,5                              |
| 10       | 36,8                              | 4''      | 67,2                              |
| 11       | 22,2                              | 5''      | 75,8                              |
| 12       | 41,4                              | 6''      | 62,7                              |
| 13       | 42,1                              | 1'''     | 104,2                             |
| 14       | 55,8                              | 2'''     | 75,2                              |
| 15       | 33,5                              | 3'''     | 78,4                              |
| 16       | 80,2                              | 4'''     | 71,5                              |
| 17       | 62,7                              | 5'''     | 78,2                              |
| 18       | 17,5                              | 6'''     | 63,1                              |
| 19       | 12,8                              | 1''''    | 104,9                             |
| 20       | 43,5                              | 2''''    | 73,1                              |
| 21       | 16,0                              | 3''''    | 77,9                              |
| 22       | 99,9                              | 4''''    | 70,5                              |
| 23       | 27,6                              | 5''''    | 67,2                              |
| 24       | 29,9                              | -        | -                                 |
| 25       | 31,6                              | -        | -                                 |
| 26       | 50,7                              | -        | -                                 |
| 27       | 19,8                              | -        | -                                 |

● **Composé 52 : Papavérine**

Aspect : Huile orange pâle

$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ , PM = 339

UV ( $\lambda_{\text{max}}$ ) (MeOH): 240, 290, 320, 340.

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ): 3452, 3426, 2563, 2548, 2493, 1634, 1612, 1591, 1509, 1486, 1462, 1434, 1410, 1279, 1260, 1233, 1167, 1142, 1050, 1023, 982, 857, 729.

ESI  $m/z$  : 340  $[\text{M}+\text{H}]^+$

ESIHR  $m/z$  : 340,1550  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (Calculé 340,1549)

**Tableau II.3.2.6 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la papavérine**

| Atome N°            | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) | HMBC              | COSY | NOESY                                          |
|---------------------|--------------------------|-----------------------------------|-------------------|------|------------------------------------------------|
| 1                   | 156,8                    | -                                 | -                 | -    | -                                              |
| 3                   | 129,0                    | 8,19 (1H ; d ; 6.4)               | C1, C4, C4a       | H4   | H4                                             |
| 4                   | 120,6                    | 7,84 (1H ; d ; 6.4)               | C3, C5, C8a       | H3   | H3, H5                                         |
| 4a                  | 136,7                    | -                                 | -                 | -    | -                                              |
| 5                   | 105,9                    | 7,26 (1H, s)                      | C6, C7, C8a       | -    | H4, H <sub>6</sub> -OMe                        |
| 6                   | 153,8                    | -                                 | -                 | -    | -                                              |
| 7                   | 152,4                    | -                                 | -                 | -    | -                                              |
| 8                   | 104,8                    | 7,56 (1H, s)                      | C6, C7, C4a       | -    | H2', H6', H <sub>α</sub> , H <sub>7</sub> -OMe |
| 8a                  | 122,3                    | -                                 | -                 | -    | -                                              |
| α                   | 36,3                     | 4,90 (2H, s)                      | C1', C2', C6', C1 | -    | H2', H6', H8                                   |
| 1'                  | 127,8                    | -                                 | -                 | -    | -                                              |
| 2'                  | 112,3                    | 7,14 (1H ; d ; 1.2)               | C3', C4', C6', Cα | -    | H8, H <sub>α</sub> , H <sub>3'</sub> -OMe      |
| 3'                  | 149,2                    | -                                 | -                 | -    | -                                              |
| 4'                  | 148,1                    | -                                 | -                 | -    | -                                              |
| 5'                  | 111,2                    | 6,65 (1H ; d ; 8.4)               | C1', C3'          | H6'  | H6', H <sub>4'</sub> -OMe                      |
| 6'                  | 121,4                    | 6,85 (1H ; dd ; 8.4 ; 1.2)        | C2', C4', Cα      | H5'  | H5', H <sub>α</sub>                            |
| 6-OCH <sub>3</sub>  | 56,7                     | 4,03 (s, 3H)                      | C6                | -    | H5                                             |
| 7-OCH <sub>3</sub>  | 56,4                     | 3,96 (s, 3H)                      | C7                | -    | H8                                             |
| 3'-OCH <sub>3</sub> | 56,0                     | 3,75 (s, 3H)                      | C3'               | -    | H2'                                            |
| 4'-OCH <sub>3</sub> | 55,6                     | 3,71 (s, 3H)                      | C4'               | -    | H5'                                            |

● **Composé 54 : (R, 2E)-3,7,11,15,19,23-hexaméthyltétracos-2,6,10,14-tétraen-1-ol**

Aspect : Huile jaune

C<sub>30</sub>H<sub>54</sub>O, PM = 430

Spectre IR (νcm<sup>-1</sup>): 3219, 2935, 2920, 1738, 1616, 1468, 1447, 1377, 1104, 1082, 1024, 800, 684.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau I.3.1.10

SMIE *m/z* (%) : 431 [M+H]<sup>+</sup> (32), 430 [M]<sup>+</sup> (100), 387 (2), 302 (2), 205 (19), 177 (3), 165 (71), 164 (38), 137 (7), 121 (7), 91 (4), 67 (3).

α<sub>D</sub> = +18° (C 0.01, CHCl<sub>3</sub>, 589 nm)

● **Composé 55 : Acide (9Z, 16Z, 23Z)-hentriaconta-9,16,23-trienoïque**

Aspect : Huile incolore

C<sub>31</sub>H<sub>56</sub>O<sub>2</sub>, PM = 460

Spectre IR (νcm<sup>-1</sup>) : 3356, 2976, 2917, 2850, 2362, 1711, 1704, 1622, 1467, 1413, 1379, 1273, 1088, 1046, 879, 721.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau I.5.3.1.1

ESI *m/z* : 459,2 [M-H]<sup>-</sup>

ESI *m/z* : 483,4 [M+Na]<sup>+</sup>

● **Composé 56 : Acide tétratriacontanoïque**

Aspect : Poudre blanche

C<sub>34</sub>H<sub>68</sub>O<sub>2</sub>, PM = 508

Spectre IR (νcm<sup>-1</sup>) : 3059, 2360, 1711, 1440, 1360, 1270, 1221, 1091, 900, 734, 702.

APCI  $m/z$  : 507,2 [M-H]<sup>-</sup>, 479.2, 465.2, 451.2, 437.1, 423.2, 409.2, 395.1, 381.1, 367.1, 353.3, 339.4, 325.6, 311.6.

PF = 94-96°C

**Tableau I.3.1.11 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de l'acide tétratriacontanoïque**

| Atome N° | <sup>13</sup> C (δ, ppm) | <sup>1</sup> H (δ, ppm) m (J, Hz) |
|----------|--------------------------|-----------------------------------|
| 1        | 179,6                    | -                                 |
| 2        | 33,9                     | 2,34 (t ; 7.4)                    |
| 3        | 24,6                     | 1,63 (quint ; 7.6 ; 7.2)          |
| 4-31     | 29,0-29,6                | 1,25 (m)                          |
| 32       | 31,9                     |                                   |
| 33       | 22,6                     |                                   |
| 34       | 14,1                     | 0,88 (t ; 6.8)                    |
| OH       | -                        | 13,70 (s)                         |

● **Mélange de composés : 57 + 58 + 65 + 66 + 67**

Aspect : Huile jaune

Spectre IR (ν<sub>cm<sup>-1</sup></sub>) : 2958, 2925, 2854, 2361, 2340, 1731, 1467, 1264, 736, 704.

**Composé 57 : Oléate de 9-Z-octadécényl**

C<sub>36</sub>H<sub>68</sub>O<sub>2</sub>, PM=532

SMIE  $m/z$  (%) : 533 [M+H]<sup>+</sup> (3), 460 (5), 281 (5), 265 (9), 263 (2), 262 (9), 250 (4), 248 (7), 235 (4), 222 (4), 207 (13), 193 (5), 178 (9), 151 (10), 138 (10), 135 (16), 121 (18), 110 (16), 96 (26), 95 (37), 81 (75), 67 (100), 55 (50).

**Composé 58 : Palmitate de 9-Z-octadécényl**

C<sub>34</sub>H<sub>66</sub>O<sub>2</sub>, PM=506

SMIE  $m/z$  (%) : 507 [M+H]<sup>+</sup> (1), 310 (1), 257 (6), 250 (12), 194 (9), 180 (3), 166 (4), 152 (7), 138 (20), 124 (25), 110 (12), 109 (13), 96 (35), 95 (30), 81 (80), 67 (100), 55 (30).

**Composé 65 : Palmitate d'octadécyl**

C<sub>34</sub>H<sub>68</sub>O<sub>2</sub>, PM=508

SMIE  $m/z$  (%) : 509 [M+H]<sup>+</sup> (19), 257 (52), 256 (32), 250 (14), 239 (7), 213 (7), 194 (13), 180 (4), 166 (8), 152 (9), 138 (24), 124 (28), 110 (17), 97 (26), 96 (37), 95 (35), 82 (35), 81 (67), 67 (100), 55 (52).

**Composé 66 : Stéarate de 9-Z-octadécényl**

C<sub>36</sub>H<sub>70</sub>O<sub>2</sub>, PM=534

SMIE  $m/z$  (%) : 534 [M]<sup>+</sup> (1), 533 (2), 283 (2), 265 (7), 250 (12), 236 (2), 222 (4), 221 (5), 208 (4), 207 (7), 194 (10), 180 (5), 166 (5), 152 (9), 138, 124, 123, 110, 109, 97, 95, 81, 79, 69, 67, 55.

### Composé 67 : Heptacosane

C<sub>27</sub>H<sub>56</sub>, PM=380

SMIE *m/z* (%) : 380 [M]<sup>+</sup> (1), 379 (2), 365 (1), 351 (1), 337 (2), 323 (2), 309 (2), 295 (2), 281 (5), 267 (4), 253 (5), 239 (6), 225 (6), 211 (8), 197 (11), 183 (12), 169 (12), 155 (14), 141 (18), 127 (24), 113 (28), 99 (34), 85 (54), 71 (68), 57 (100), 55 (42).

**Tableau II.3.1.6 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> des composés 57, 58, 65, 66 et 67**

|                         | 57              |                            | 58              |                            | 65              |                            | 66              |                            | 67              |                            |
|-------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|
| Atome N°                | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H (m) (J, Hz) | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H (m) (J, Hz) | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H (m) (J, Hz) | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H (m) (J, Hz) | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H (m) (J, Hz) |
| 1                       | 173,9           | -                          | 173,9           | -                          | 173,9           | -                          | 173,9           | -                          | -               | -                          |
| 1/27                    | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | 14,1            | 0,88 (t ; 6.6)             |
| 2                       | 34,4            | 2,28 (q;7.2;6)             | 34,4            | 2,28 (q;7.2 ;6)            | 34,4            | 2,28 (q;7.2 ;6)            | 34,4            | 2,28 (q;7.2 ;6)            | -               | -                          |
| 2/26                    | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | 22,6            | 1,30 (m)                   |
| 3                       | 25,0            | 1,68 (m)                   | 25,0            | 1,68 (m)                   | 25,0            | 1,68 (m)                   | 25,0            | 1,68 (m)                   | -               | -                          |
| 3/25                    | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | 31,9            | 1,25 (m)                   |
| 4-24                    | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | 29,1-29,7       | 1,25 (m)                   |
| 4-13/4'-6'/13'-15'      | -               | -                          | 29,1-29,7       | 1,25 (m)                   | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          |
| 4-13/4'-15'             | -               | -                          | -               | -                          | 29,1-29,7       | 1,25 (m)                   | -               | -                          | -               | -                          |
| 4-15/4'-6'/13'-15'      |                 |                            |                 |                            |                 |                            | 29,1-29,7       | 1,25 (m)                   | -               | -                          |
| 4-6/13-15/4'-6'/13'-15' | 29,1-29,7       | 1,25 (m)                   | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          |
| 7/12/7'/12'             |                 | 1,30 (m)                   | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          |
| 8/11/8'/11'             | 27,2            | 2,02 (dd;9.2;5.6)          | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          |
| 9/10/9'/10'             | 129,7-129,9     | 5,34 (t;5.6;4.8)           | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          | -               | -                          |
| 14/16'                  | -               | -                          | 31,9            | 1,25 (m)                   | 31,9            | 1,25 (m)                   | -               | -                          | -               | -                          |
| 15/17'                  | -               | -                          | 22,6            | 1,30 (m)                   | 22,6            | 1,30 (m)                   | -               | -                          | -               | -                          |
| 16/18'                  | -               | -                          | 14,1            | 0,88 (t ; 6.6)             | 14,1            | 0,88 (t ; 6.6)             | -               | -                          | -               | -                          |
| 16/16'                  | 31,9            | 1,25 (m)                   | -               | -                          | -               | -                          | 31,9            | 1,25 (m)                   | -               | -                          |
| 17/17'                  | 22,6            | 1,30 (m)                   | -               | -                          | -               | -                          | 22,6            | 1,30 (m)                   | -               | -                          |
| 18/18'                  | 14,1            | 0,88 (t ; 6.6)             | -               | -                          | -               | -                          | 14,1            | 0,88 (t ; 6.6)             | -               | -                          |
| 1'                      | 64,3            | 4,05 (t ; 6.6)             | 64,3            | 4,05 (t ; 6.6)             | 64,3            | 4,05 (t ; 6.6)             | 64,3            | 4,05 (t ; 6.6)             | -               | -                          |
| 2'                      | 29,1-29,7       | 1,59 (m)                   | 29,1-29,7       | 1,59 (m)                   | 29,1-29,7       | 1,59 (m)                   | 29,1-29,7       | 1,59 (m)                   | -               | -                          |
| 3'                      | 25,9            | 1,25 (m)                   | 25,9            | 1,25 (m)                   | 25,9            | 1,25 (m)                   | 25,9            | 1,25 (m)                   | -               | -                          |
| 7'/12'                  | -               | -                          | 29,1-29,7       | 1,30 (m)                   | -               | -                          | 29,1-29,7       | 1,30 (m)                   | -               | -                          |
| 8'/11'                  | -               | -                          | 27,2            | 2,02 (dd ;9.2 ;5.6)        | -               | -                          | 27,2            | 2,02 (dd ;9.2 ;5.6)        | -               | -                          |
| 9'/10'                  | -               | -                          | 129,7-129,9     | 5,34 (t ;5.6 ;4.8)         | -               | -                          | 129,7-129,9     | 5,34 (t ;5.6 ;4.8)         | -               | -                          |

### ● Composé 59 : 9,9,13,13-tétraméthyl-5,8,14,17-tétraoxahénicosan-11-one

Aspect : Huile jaune

C<sub>21</sub>H<sub>42</sub>O<sub>5</sub>, PM = 374

Spectre IR (ν<sub>cm<sup>-1</sup></sub>): 3305, 2963, 2929, 2872, 2360, 2341, 1700, 1362, 1120, 1072, 893.

Spectres RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : Tableau I.3.1.14

● **Mélange de composés : 60 + 61 + 62 + 63**

Aspect : Huile jaune

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 3528, 3423, 3347, 3202, 2916, 2853, 1738, 1704, 1648, 1466, 1454, 1376, 1262, 1012, 665.

**Composé 60 : 2, 10-diméthyl-9-undécénol**

$\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}$ , PM=198

SMIE  $m/z$  (%) : 180  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  (2), 179 (7), 165 (17), 151 (6), 138 (9), 137 (12), 125 (10), 124 (23), 123 (22), 113 (4), 111 (15), 110 (30), 109 (79), 99 (8), 97 (9), 96 (24), 95 (100), 93 (9), 91 (9), 85 (12), 83 (15), 81 (63), 79 (21), 77 (14), 71 (13), 69 (19), 67 (72), 65 (12), 59 (17), 57 (12), 55 (28).

**Composé 61 : 1-éthoxyanthraquinone**

$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_3$ , PM=252

SMIE  $m/z$  (%) : 253  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (3), 252  $[\text{M}]^+$  (24), 238 (6), 237 (42), 235 (9), 234 (29), 233 (3), 224 (3), 219 (9), 217 (9), 210 (9), 209 (100), 207 (52), 206 (9), 191 (8), 181 (43), 177 (6), 166 (4), 135 (3), 121 (3), 77 (4).

**Composé 62 : (3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 7 $\alpha$ )-cholestan-3, 6, 7-triol**

$\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{O}_3$ , PM=420

SMIE  $m/z$  (%) : 420  $[\text{M}]^+$  (12), 419 (32), 417 (7), 402 (16), 306 (2), 237 (24), 219 (30), 207 (4), 205 (8), 195 (15), 194 (20), 191 (21), 177 (36), 167 (100), 151 (24), 149 (30), 139 (25), 137 (20), 124 (11), 111 (6), 109 (13), 99 (18), 95 (18), 91 (16), 81 (15), 67 (16), 55 (10).

**Composé 63 :  $\alpha$ -tocophéroquinone**

$\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_3$ , PM=446

SMIE  $m/z$  (%) : 447  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (3), 446  $[\text{M}]^+$  (11), 428  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  (39), 402 (5), 332 (2), 245 (6), 222 (17), 221 (84), 217 (10), 203 (100), 193 (15), 180 (40), 179 (56), 178 (53), 175 (17), 165 (66), 161 (29), 150 (51), 138 (38), 135 (35), 121 (15), 107 (13), 91 (17), 77 (12), 67 (7), 55 (6).

● **Composé 64 : Pentacosanoate d'éthyle**

Aspect : Huile incolore

$\text{C}_{27}\text{H}_{54}\text{O}_2$ , PM = 410

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 2957, 2915, 2848, 1711, 1473, 1462, 1323, 731, 718.

APCI  $m/z$  : 411,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$

**Tableau I.3.1.13 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du pentacosanoate d'éthyle**

| Atome N° | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , ppm) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm) ( $J$ , Hz) |
|----------|-----------------------------------|--------------------------------------------|
| 1        | 177,8                             | -                                          |
| 2        | 33,4                              | 2,18 (t ; 7,4)                             |
| 3        | 24,1                              | 1,49 (quint ; 7,2)                         |
| 4-22     | 28,2-28,6                         | 1,24 (m)                                   |
| 23       | 30,9                              |                                            |
| 24       | 21,7                              |                                            |
| 25       | 13,5                              | 0,86 (t ; 6,6)                             |
| 1'       | 55,7                              | 3,45 (m)                                   |
| 2'       | 18,2                              | 1,06 (t ; 7)                               |

● **Mélange de composés : 68 + 69**

Aspect : Huile blanchâtre

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 2917, 2849, 1736, 1698, 1462, 1378, 1170, 672.

$\alpha_D = +18$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ , 589 nm)

**Composé 68 : Palmitate de (*E*)-3, 7, 11, 15-tétraméthylhexadec-2-ényl**

$\text{C}_{36}\text{H}_{70}\text{O}_2$ , PM=534

SMIE  $m/z$  (%) : 535  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (7), 351 (2), 278 (21), 256 (4), 195 (6), 179 (8), 165 (8), 152 (12), 137 (12), 123 (35), 109 (23), 95 (60), 81 (66), 79 (31), 67 (100), 55 (37).

**Composé 69 : Stéarate de (*E*)-3, 7, 11, 15-tétraméthylhexadec-2-ényl**

$\text{C}_{38}\text{H}_{74}\text{O}_2$ , PM=562

SMIE  $m/z$  (%) : 563  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (4), 284 (4), 278 (17), 224 (4), 207 (20), 193 (10), 179 (8), 165 (9), 151 (8), 137 (11), 123 (35), 109 (25), 95 (71), 81 (64), 79 (35), 67 (100), 55 (39).

**Tableau II.3.1.5 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  des molécules 68 et 69**

| Atome N°      | 68              |                          | 69              |                          |
|---------------|-----------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|
|               | $^{13}\text{C}$ | $^1\text{H}$ (m) (J, Hz) | $^{13}\text{C}$ | $^1\text{H}$ (m) (J, Hz) |
| 1             | 174.0           | -                        | 174,0           | -                        |
| 2             | 34.4            | 2,28 (t ; 7,4)           | 34.4            | 2,28 (t ; 7,4)           |
| 3             | 26.9*           | 1,61 (m)                 | 26,9*           | 1,61 (m)                 |
| 4-13          | 29.1-29.6       | 1.25 (m)                 | -               | -                        |
| 4-15          | -               | -                        | 29.1-29.6       | 1.25 (m)                 |
| 14            | 31.9            | 1.25 (m)                 | -               | -                        |
| 15            | 22.6            |                          | -               | -                        |
| 16            | 14.1            | 0.85 (t ; 7,4)           | 31.9            | 1.25 (m)                 |
| 17            | -               | -                        | 22.6            | 1.25 (m)                 |
| 18            | -               | -                        | 14.1            | 0.85 (t ; 7,4)           |
| 1'            | 61.1            | 4.58 (d ; 7,2)           | 61.1            | 4.58 (d ; 7,2)           |
| 2'            | 122.5           | 5.35 (t ; 7,2)           | 122.5           | 5.35 (t ; 7,2)           |
| 3'            | 139.7           | -                        | 139.7           | -                        |
| 4'            | 39.3            | 2.00 (t ; 6,4)           | 39.3            | 2.00 (t ; 6,4)           |
| 5'            | 26.9*           | 1.42 (m)                 | 26.9*           | 1.42 (m)                 |
| 6'/8'/10'/12' | 37.3            | 1.25 (m)                 | 37.3            | 1.25 (m)                 |
| 7'/11'        | 32.6/32.7       | 1.61 (m)                 | 32.6/32.7       | 1.61 (m)                 |
| 9'/13'        | 25.0            | 1.25 (m)                 | 25.0            | 1.25 (m)                 |
| 14'           | 39.8            |                          | 39.8            |                          |
| 15'           | 27.9            | 1,83 (m)                 | 27.9            | 1.83 (m)                 |
| 16'/17'       | 19.7            | 0,88 (d ; 6,4)           | 19.7            | 0,88 (d ; 6,4)           |
| 18'/19'       | 19,0/19,3       |                          | 19,0/19,3       |                          |
| 20'           | 16.3            | 1,68 (s)                 | 16.3            | 1.68 (s)                 |

\* : carbones interchangeables

● **Composé 70 : Octacosanoate de 6-méthoxy-2-oxo-2H-chromen-7-yl**

Aspect : Cire jaune

$\text{C}_{38}\text{H}_{62}\text{O}_5$ , PM = 598

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 2931, 2918, 2850, 1707, 1609, 1566, 1512, 1465, 1375, 1293, 1262, 1217, 1190, 1141, 1019, 755.

Spectres RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : Tableau I.3.3.4.3

APCI/MS/MS (Mode négatif) : 423, 409, 395, 381, 367, 353, 339, 325, 311, 297, 283, 269, 255, 241.

● **Composé 71 : (1Z, 5Z)-1,5-diméthylcycloocta-1,5-diène**

Aspect : Huile jaune

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ , PM = 136

Spectre IR ( $\text{vcm}^{-1}$ ) : 2961, 2925, 2852, 2370, 2358, 1737, 1466, 1448, 1377, 1260, 1095, 1018, 801, 757.

Spectres RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : Tableau I.3.1.15

SMIE  $m/z$  : 135  $[\text{M}-\text{H}]^-$  (5), 115 (15), 103 (22), 91 (53), 81 (29), 79 (48), 78 (100), 77 (96), 67 (45).

● **Composé 72 : Phénol, 4-[[[(1S)-1,2,3,4-tétrahydro-5-hydroxy-6-méthoxy-7-[2-méthoxy-5-[[[(1S)-1,2,3,4-tétrahydro-7-hydroxy-6-méthoxy-2-méthyl-1-isoquinoliny]]méthyl]phényl]-2-méthyl-1-isoquinoliny]]méthyl]**

Aspect : Huile verdâtre

$C_{36}H_{40}N_2O_6$ , PM = 596

UV ( $\lambda_{max}$ ) (nm): 285

Spectre IR ( $\nu_{cm^{-1}}$ ): 3456, 2910, 2201, 1712, 1615, 1505, 1293, 1219, 1117, 1021, 760, 741, 663.

Spectres RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) et  $^{13}C$  (100 MHz,  $CDCl_3$ ) : Tableau II.3.2.8

APCIMS  $m/z$  : 597  $[M+H]^+$ , 579  $[M+H-H_2O]^+$ , 566, 552, 538, 523, 503, 489  $[M-107]^+$ , 460, 446, 403, 389, 314, 298, 267, 219, 192, 178, 107.

ESIHR  $m/z$  : 597,2973  $[M+H]^+$  (Calculé 597,2965)

$[\alpha]_D^{22} = +67$  (C=1,00,  $CHCl_3$ , 546 nm)

● **Composé 73 : Phénol, 4-[[[(1R)-1,2,3,4-tétrahydro-6-méthoxy-7-[2-méthoxy-5-[[[(1S)-1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-2-méthyl-1-isoquinoliny]]méthyl]phenoxy]-2-méthyl-1-isoquinoliny]]méthyl]**

Aspect: Gomme jaune-orangée

$C_{38}H_{44}N_2O_6$ , PM = 624

UV ( $\lambda_{max}$ ) (MeOH): 230, 280

Spectre IR ( $\nu_{cm^{-1}}$ ) : 3021, 2952, 1612, 1517, 1504, 1465, 1442, 1374, 1253, 1214, 1136, 1116, 1099, 1014, 760, 744, 665.

Spectres RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) et  $^{13}C$  (100 MHz,  $CDCl_3$ ) : Tableau II.3.2.9

ESIHR  $m/z$  : 625,3279  $[M+H]^+$  (Calculé 625,3278)

$[\alpha]_D^{22} = -40,3$  (C=0,25,  $CHCl_3$ , 546 nm)

● **Composé 74 : Apoprunellelactone (APL)**

Aspect : Cire jaunâtre.

$C_{10}H_{16}O_3$  : PM = 184.

Spectre UV  $\lambda_{max}$  (MeOH) : 217.

Spectre IR ( $\nu_{cm^{-1}}$ ) : 3361, 2956, 2929, 2859, 2360, 2341, 1698, 1629, 1381, 1198, 1055.

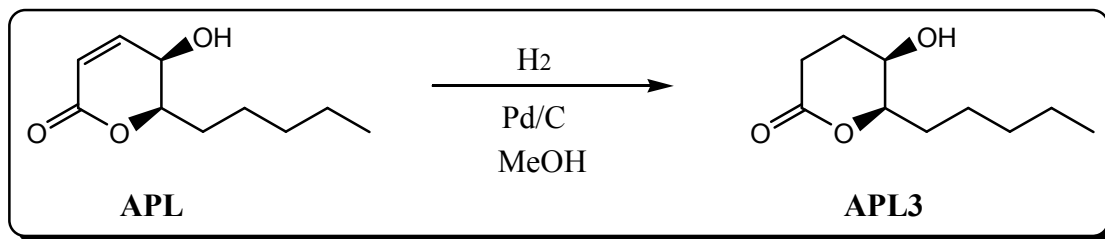
Spectre RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) et  $^{13}C$  (100 MHz,  $CDCl_3$ ) : Tableau II.3.1.7

ESIHR  $m/z$  : 185,1172  $[M+H]^+$  (calculé 185,1178).

$[\alpha]_D = -159$  (C = 1,000,  $CHCl_3$ ).

## 5. Modulation structurale

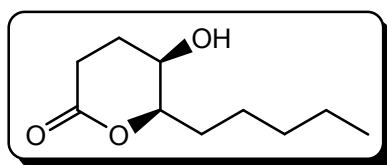
### 5.1. Réaction d'hydrogénation



#### 5.1.1. Mode opératoire

Dans un ballon de 50 mL muni d'un barreau magnétique sont dissous 20,6 mg d'apoprunellelactone **APL** (1 éq ; 0,111 mmol) dans 10 mL de méthanol. La solution obtenue est mise sous argon afin de chasser l'air à l'intérieur du ballon, puis sous hydrogène. Le milieu réactionnel est ensuite laissé sous agitation, à température ambiante, pendant 24 heures. Après réaction, le milieu réactionnel est à nouveau mis sous argon ; il est ensuite filtré sur célite<sup>®</sup> 545 puis le solvant évaporé sous pression réduite. 20 mg d'huile incolore d'odeur agréable (**APL3**) sont obtenus.

#### 5.1.2. Résultats



Composé **APL3** : **(5*R*, 6*R*)-5-hydroxy-6-pentyl-tétrahydropyran-2-one**

Aspect : Huile incolore d'odeur agréable

C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>, PM = 186

Masse = 20 mg

Rendement = 97,08%

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>) : 3420, 2960, 2932, 2867, 2853, 2358, 1757, 1460, 1190, 1160, 1133, 1084, 1027, 927, 648.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau III.3.1.3

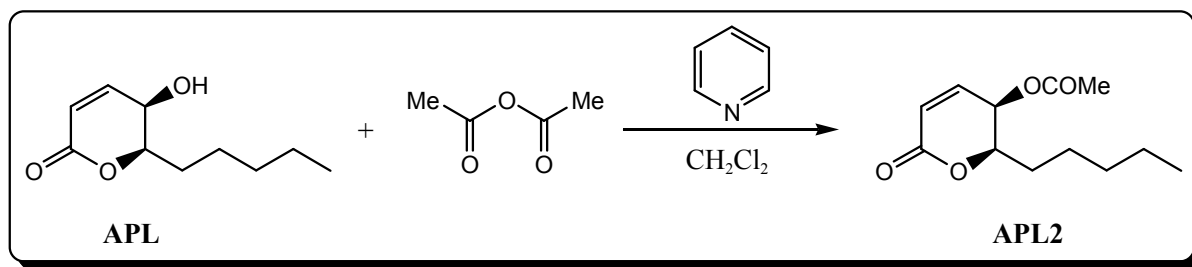
ESI *m/z* : 209,2 [M+Na]<sup>+</sup>, 395,2 [2M+Na]<sup>+</sup>

ESIHR *m/z* : 187,1334 [M+H]<sup>+</sup> (Calculé 187,1334)

R<sub>f</sub> = 0,627 dans C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>/AcOEt (30 : 70)

[α]<sub>D</sub> = - 87 (C = 1.03, CHCl<sub>3</sub>).

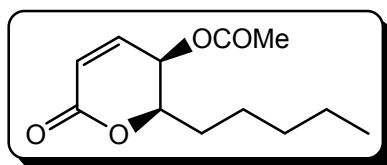
## 5.2. Réaction d'acétylation



### 5.2.1. Mode opératoire

Dans un ballon de 50 mL muni d'un barreau magnétique sont introduits 22,6 mg d'apoprunellelactone **APL** (1 éq ; 0,122 mmol), 800  $\mu\text{L}$  de dichlorométhane, 200  $\mu\text{L}$  de pyridine et 30  $\mu\text{L}$  d'anhydride acétique (2,5 éq ; 0,307 mmol). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 24 heures. Le mélange est ensuite extrait avec du dichlorométhane (3x5 mL) puis lavé avec une solution d'acide chlorhydrique à 1% (3x2 mL). La phase organique est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et filtrée sur coton avant d'être évaporée sous pression réduite. 9 mg d'une huile incolore (**APL2**) sont ainsi obtenus.

### 5.2.2. Résultats



Composé **APL2** : **(5R, 6R)-6-oxo-2-pentyl-3, 6-dihydro-2H-pyran-3-yl acétate**

Aspect : Huile incolore

$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_4$ , PM = 226

Masse = 9 mg

Rendement = 39,82%

Spectre IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2960, 2853, 2161, 1722, 1633, 1372, 1254, 1220, 1080, 1063, 1023, 966, 823.

Spectres RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : Tableau III.3.2.3

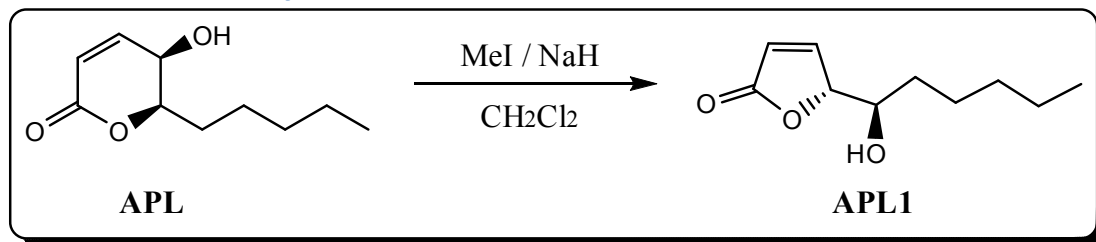
ESI  $m/z$  : 249,2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 475,2  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$

ESIHR  $m/z$  : 249,1111  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (Calculé 249,1103)

$R_f$  = 0,804 dans  $\text{C}_6\text{H}_{12}/\text{AcOEt}$  (3 : 7)

$[\alpha]_D = -14$  ( $C = 0.97$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

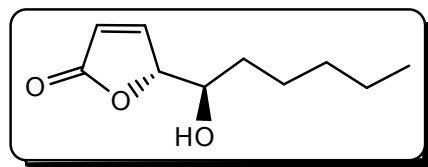
### 5.3. Réduction de cycle



#### 5.3.1. Mode opératoire

Dans un ballon de 50 mL muni d'un barreau magnétique sont introduits successivement 21,2 mg d'apoprunellelactone **APL** (1 éq ; 0,115 mmol), 1 mL de dichlorométhane, 24 mg d'hydruure de sodium (5 éq ; 0,287 mmol) et 20  $\mu$ L d'iodure de méthyle (2,5 éq ; 0,323 mmol). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 24 heures. Le mélange est ensuite extrait avec du dichlorométhane (3x5 mL) puis lavé avec une solution d'acide chlorhydrique à 1% (3x2 mL). La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et filtrée sur coton avant d'être évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié sur colonne de gel de séphadex<sup>®</sup> LH-20 avec le système chloroforme/méthanol (2 : 1) comme éluant. 10 mg d'une huile incolore (**APL1**) sont ainsi obtenus.

#### 5.3.2. Résultats



Composé **APL1**: (*S*)-5-((*R*)-1-hydroxyhexyl) furan-2(*5H*)-one

Aspect : Huile incolore

C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>, PM = 184

Masse = 10 mg

Rendement = 47,16%

Spectre IR (vcm<sup>-1</sup>): 3435, 2945, 2930, 2849, 2359, 2342, 2328, 1756, 1714, 1445, 1181, 774.

Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : Tableau III.3.3.3

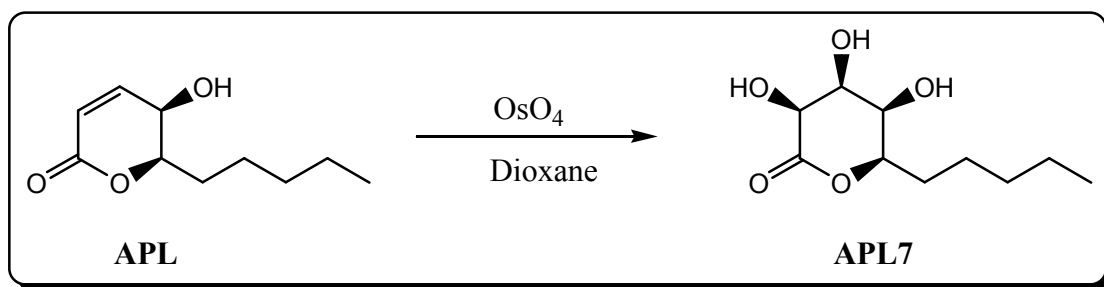
ESI *m/z* : 207,2 [M+Na]<sup>+</sup>, 391,3 [2M+Na]<sup>+</sup>, 759,6 [4M+Na]<sup>+</sup>

ESIHR *m/z* : 185,1175 [M+H]<sup>+</sup> (Calculé 185,1178)

R<sub>f</sub> = 0,681 dans C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>/AcOEt (3 : 7)

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = - 7 (C = 0.89, CHCl<sub>3</sub>).

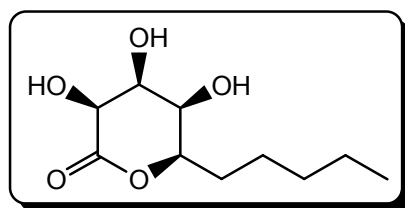
## 5.4. Oxydation par le tétr oxyde d'osmium ( $\text{OsO}_4$ )



### 5.4.1. Mode opératoire

Dans un ballon de 50 mL muni d'un barreau magnétique sont introduits successivement 21,7 mg d'apoprunellelactone **APL** (1 éq ; 0,117 mmol), 2 mL de dioxane et 825  $\mu\text{L}$  de tétr oxyde d'osmium. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 5 heures. Après réaction le mélange est extrait avec du dichlorométhane (3x10 mL). La phase organique est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  puis évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié sur colonne de gel de silice avec le gradient  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}/\text{MeOH}$  comme éluant. 4 mg de produit **APL7** sont ainsi obtenus.

### 5.4.2. Résultats



Composé **APL7** : (3*S*, 4*S*, 5*S*, 6*R*)-3, 4, 5-trihydroxy-6-pentyl-tétrahydropyran-2-one

Aspect : Huile incolore

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_5$ , PM = 218

Masse = 4 mg

Spectre IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3469, 3426, 3369, 2958, 2922, 2853, 2359, 2338, 1737, 1467, 1375, 1261, 1076, 1021.

Spectres RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : Tableau III.3.4.3

ESI  $m/z$  : 241,2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

$[\alpha]_D = -3$  ( $C = 0.49$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- <sup>1</sup> Atawodi SE. Antioxidant potential of African medicinal plants. *Afr. J. Biotechnol.*, **2005**, 4, 2, 128-133.
- <sup>2</sup> Farombi EO, Ogundipe O, Moody JO. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Mallotus oppositifolium* in model systems. *Afr. J. Med. Sci.*, **2001**, 30, 3, 213-215.
- <sup>3</sup> Adekunle AA, Ikumapayi AM. Antifungal property and phytochemical screening of the crude extracts of *Funtumia elastica* and *Mallotus oppositifolius*. *West Indian Med. J.*, **2006**, 55, 4, 219-223.
- <sup>4</sup> Kamanzi AK, Schmid C, Brun R, Kone MW, Traore D. Antitrypanosomal and antiplasmodial activity of medicinal plants from Côte d'Ivoire. *J. Ethnopharmacol.*, **2004**, 90, 221-227.
- <sup>5</sup> Okpekon T. Etude chimique et biologique de plantes ivoiriennes utilisées en médecine traditionnelle en tant qu'antiparasitaire : *Aframomum sceptrum* K. Schum. (Zingiberaceae), *Bridelia ferruginea* Benth. (Euphorbiaceae), *Isolona cooperi* Hutch. & Dalz. et *Uvaria afzelii* Sc. Elliot (Annonaceae). Doctorat de l'Université Paris XI, Paris, **2006**.
- <sup>6</sup> Kamgang R, Kamgne EVP, Fonkoua M C, Beng VPN, Sida MB. Activities of aqueous extracts of *Mallotus oppositifolium* on *Shigella dysenteriae* A1-induced diarrhoea in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **2006**, 33 (1/2), 89-94.
- <sup>7</sup> Boti JB, Koukoua G, N'guessan TY, Muselli A, Bernardini A-F, Casanova J. Composition of the leaf, stem bark and root bark oils of *Isolona cooperi* investigated by GC (retention index), GC-MS and <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy. *Phytochem. Anal.*, **2005**, 16, 357-363.
- <sup>8</sup> Webster GL. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, **1994**, 81, 1, 33-144.
- <sup>9</sup> [http : //www.cactuspro.com/encyclo/Euphorbiaceae](http://www.cactuspro.com/encyclo/Euphorbiaceae) (consulté le 30/10/13)
- <sup>10</sup> [http : //www.afleurdepau.com/Flore/euphorbiaceae/f.htm](http://www.afleurdepau.com/Flore/euphorbiaceae/f.htm) (consulté le 30/10/13)
- <sup>11</sup> Watson L, Dallwitz MJ, (1992 onwards). The Families of Flowering Plants: Descriptions, Illustrations, Identification and Information Retrieval. Version: 14<sup>th</sup> December 2000. [En ligne] <http://biodiversity.uno.edu/delta/>. (consulté le 16/06/2013).
- <sup>12</sup> De Jussieu AL. *Genera Plantarum*, 283, **1789**
- <sup>13</sup> Mayworm MAS, Do Nascimento AS, Salatino A. Seeds of species from the “caatinga”: proteins, oils and fatty acid contents. *Rev. Bras. de Bot.*, **1998**, 21, 3.
- <sup>14</sup> Kleiman R, Smith CR, Yates SG, Jones Q. Search for new industrial oils. XII. Fifty-eight Euphorbiaceae oils, including one rich in vernolic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1965**, 42, 169-172.
- <sup>15</sup> Aranda-Rickert A, Morzán L, Fracchia S. Seed oil content and fatty acid profiles of five Euphorbiaceae species from arid regions in Argentina with potential as biodiesel source. *Seed Sci. Res.*, **2011**, 21, 63-68.
- <sup>16</sup> King AJ, HE W, Cuevas JA, Freudenberger M, Ramiramanana D, Graham IA. Potential of *Jatropha curcas* as a source of renewable oil and animal feed. *J. Exp. Bot.*, **2009**, 60, 2897-2905.
- <sup>17</sup> Francis G, Edinger R, Becker K. A concept for simultaneous wasteland reclamation, fuel production, and socio-economic development in degraded areas in India: need, potential and perspectives of *Jatropha* plantations. *Natural Resources Forum*, **2005**, 29, 12-24.
- <sup>18</sup> Kandpal JB, Madan M. *Jatropha curcas* : a renewable source of energy for meeting future energy needs. *Renew. Energ.*, **1995**, 6, 159-160.
- <sup>19</sup> Hernández T, Canales M, Avila JG, Duran A, Caballero J, Romo de Vivar A and Lira R. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (Mexico). *J. Ethnopharmacol.*, **2003**, 88 (2-3), 181-188.
- <sup>20</sup> Beutler JA, McCall KL, Boyd MR. A novel geranylfavone from *Macaranga schweinfurthii*. *Nat. Prod. Lett.*, **1999**, 13, 29-32.

- <sup>21</sup> De Almeida ABA, Melo PS, Hiruma-Lima CA, Gracioso JS, Carli L, Nunes DS, Haun M and Souza Brito ARM. Antiulcerogenic effect and cytotoxic activity of semi-synthetic crotonin obtained from *Croton cajucara* Benth. *European Journal of Pharmacology*, **2003**, 472, 3, 205-212.
- <sup>22</sup> Lopes MI, Saffi J, Echeverrigaray S, Pêgas Henriques JA and Salvador M. Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. *J. Ethnopharmacol.*, **2004**, 95 (2-3), 437-445.
- <sup>23</sup> Frankel F, Boyd LC. Inhibition of oxidation of human low density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet*, **1993**, pp.341.
- <sup>24</sup> Oliver B. Medicinal plants in Nigeria. Nigerian College of Arts, *Science and Technology*, **1960**, Lagos.
- <sup>25</sup> Mampane KJ, Joubert PH, Hay IT. *Jatropha curcas*: use as a traditional Tswana medicine and its role as a cause of acute poisoning. *Phytother. Res.*, **1987**, 1, 50-51.
- <sup>26</sup> Esmeraldino LE, Souza AM, Sampa SV. Evaluation of the effect of aqueous extract of *Croton urucurana* Baillon (*Euphorbiaceae*) on the hemorrhagic activity induced by the venom of *Bothrops jararaca*, using new techniques to quantify hemorrhagic activity in rat skin. *Phytomedicine*, **2005**, 12, 8, 570-576.
- <sup>27</sup> Seigler DS. Phytochemistry and systematic of the Euphorbiaceae. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, **1994**, 81, 2, 380-401.
- <sup>28</sup> Chhabra SC, Mahunnah RLA, Mshiu EN. Plants used in traditional medicine in eastern Tanzania. III. Angiosperms (Euphorbiaceae to Menispermaceae). *J.Ethnopharmacol.*, **1990**, 28, 255-283.
- <sup>29</sup> Noachovitch G. Nourrir pertinemment tous les hommes. *R. Tiers Monde*, **1979**, 20, 80, 795-819.
- <sup>30</sup> Busson F, Bergeret B. Contribution à l'étude chimique des feuilles de manioc *Manihot ultissima* POHL Euphorbiacées. *Médecine tropicale*, **1958**, Vol. 18, N°1.
- <sup>31</sup> Sabandar CW, Ahmat N, Jaafar FM, Sahidin I. Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): A review. *Phytochem.*, **2013**, 85, 7-29.
- <sup>32</sup> Anoliefo GO, Ikhajiagbe B, Okonofhua BO, Diafe FV. Eco-taxonomic distribution of plant species around motor mechanic workshops in Asaba and Benin City, Nigeria : Identification of oil tolerant plant species. *African Journal of Biotechnology*, **2006**, Vol. 5, 19, 1757-1762.
- <sup>33</sup> Gibson JP, Pollard AJ. Zn tolerance in *Panicum virgatum* L. (Switch grass) from the pitcher mine area. *Proc. Oklahoma Academy Sci.*, **1988**, 68, 45-48.
- <sup>34</sup> Prasad MNV, Freitas H. Metal hyperaccumulation in plants- Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electron J. Biotechnol.*, **2003**, 3, 6.
- <sup>35</sup> Cunningham SD, Lee CR. Phytoremediation: Plant-based remediation of contaminated soils and sediments. Bioremediation: Science, Application, Regulation and Technology. *Soil Science Society of America Special Publication*, Madison, **1995**, 145-156.
- <sup>36</sup> Guy BK, Akhanovna MJB, Odette DD, Jonathan GS, Yves-Alain B. Sur la composition phytochimique qualitative des extraits bruts hydrométhanoliques des feuilles de 6 cultivars de *Manihot esculenta* Crantz de Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, **2010**, 45, 2, 200-211.
- <sup>37</sup> Sierra SEC, Van Welzen PC et Suk JWF. A taxonomic revision of *Mallotus* section Philippinenses (Former section Rottlera-Euphorbiaceae) in Malesia and Thailand. *Blumea*, **2005**, 50, 221-248.
- <sup>38</sup> Nowicke JW, Takahashi M. Pollen morphology, exine structure, and systematics of Acaphyloideae (Euphorbiaceae), Part 4, *Rev Paleobot Palynol*, **2002**, 121:231-336.
- <sup>39</sup> Schatz GE. Flore générique des arbres de Madagascar. *Royal Botanic gardens, Kew & Missouri Botanical Gardens, Saint-Louis*, **2001**, 503p.
- <sup>40</sup> Rivière C, Nguyen Thi Hong V, Tran Hong Q, Chataigné G, Nguyen Hoai N, Dejaegher B, Tistaert C, Nguyen Thi Kim T, Vander Heyden Y, Chau Van M, Quetin-Leclercq. *Mallotus* species from Vietnamese mountainous areas: phytochemistry and pharmacological activities, *Phytochem Rev*, **2010**, 9, 2, 217-253.
- <sup>41</sup> Arisawa M. Chemical constituents and biological activity of genus *Mallotus* (Euphorbiaceae). *Foods Food Ingredients J. Jpn*, **1997**, 171, 68-75.
- <sup>42</sup> Thin NN. *Euphorbiaceae* Juss., 1789-Thau dau (Dai kich) family. In: Ban NT (ed) The appendix of Vietnamese plant species, vol II. *Agriculture Publishing House, Hanoi*, **2003**, 626-633.

- <sup>43</sup> Kulju KKM, Sierra SEC, Draisma SGA, Samuel R, Van Welzen PC. Molecular phylogeny of *Macaranga*, *Mallotus* and related genera (Euphorbiaceae s.s): Insights from plastid and nuclear DNA sequence data. *Am. J. Bot.*, **2007**, 94, 1726-1743.
- <sup>44</sup> Sierra SEC, Aparicio M, Kulju KKM, Fiser ZR-S. *Mallotus*. Part I : Expanded circumscription and revision of the genus *Cordemoya* (Euphorbiaceae). *Blumea*, **2006**, 51, 519-540.
- <sup>45</sup> Ishii R, Horie M, Saito K, Arisawa M, Kitanaka S. Inhibitory effects of phloroglucinol derivatives from *Mallotus japonicus* on nitric oxide production by a murine macrophage-like cell line, RAW 264.7, activated by lipopolysaccharide and interferon- $\gamma$ . *Biochim. Biophys. Acta*, **2001**, 1568, 74-82.
- <sup>46</sup> Iqbal Z, Jabbar A, Akhtar MS, Muhammad G, Lateef M. Possible role of ethnoveterinary medicine in poverty reduction in Pakistan: Use of botanical anthelmintics as an example. *J. Agri. Soc. Sci.*, **2005**, 1, 2, 187-195.
- <sup>47</sup> Sutthivaiyakit S, Thongtan J, Pisutjaroenpong S, Jiaranantanont K, Kongsaree P. D:A Friedo-oleanane Lactones from the stems of *Mallotus repandus*. *J. Nat. Prod.*, **2001**, 64, 569-571.
- <sup>48</sup> Huang PL, Wang LW, Lin CN. New triterpenoids of *Mallotus repandus*. *J. Nat. Prod.*, **1999**, 62, 891-892.
- <sup>49</sup> Chattopadhyay D, Arunachalam G, Mandal AB, Sur TK, Mandal SC, Bhattacharya SK. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of folklore *Mallotus peltatus* leaf extract. *J. Ethnopharmacol.*, **2002a**, 82, 229-237.
- <sup>50</sup> Kim HS, Lim HK, Chung MW, Kim YC. Antihepatotoxic activity of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride-intoxicated hepatocytes. *J. Ethnopharmacol.*, **2000**, 69, 79-83.
- <sup>51</sup> Rivière C, Nguyen VTH, Pieters L, Dejaegher B, Vander HY, Chau VM, Quetin-Leclercq J. Polyphenols isolated from antiradical extracts of *Mallotus metcalfianus*. *Phytochem.*, **2009**, 70, 1, 86-94.
- <sup>52</sup> Arfan M, Amin H, Karama  M, Kosi nska A, Amarowicz R, Shahidi F. Antioxidant activity of extracts of *Mallotus philipensis* fruits and bark. *Journal of food lipids*, **2007**, 14, 280-297.
- <sup>53</sup> Kumar VP, Chauhan NS, Padh H, Rajani M. Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, **2006**, 107, 182-188.
- <sup>54</sup> Arisawa M. Constituents of the pericarps of *Mallotus japonicus* (Euphorbiaceae). *Toyama Japan Yakugaku Zasshi*, **2003**, 123, 4, 217-224.
- <sup>55</sup> Cheng XF, Chen ZL. Chemical study on *Mallotus apelta*. 223<sup>rd</sup> ACS National Meeting, Orlando, United States, April 7-11, **2002**.
- <sup>56</sup> Rana VS, Rawat MSM, Pant G, Nagatsu A. Chemical constituents and antioxidant activity of *Mallotus roxburghianus*. *Chem. Biodivers.*, **2005**, 2, 6, 792-798.
- <sup>57</sup> Rastogi S, Mehrotra BN, Kulshreshtha DK. Constituents of *Mallotus nepalensis* Muell. Arg.: A mild CNS depressant. *Nat. Prod. Sci.*, **2004**, 10, 5, 237-239.
- <sup>58</sup> Carneiro VA, Santos HS, Arruda FVS, Bandeira PN, Albuquerque MRJR, Pereira MO, Henriques M, Cavada BS, Teixeira EH. Casbane Diterpene as a Promising Natural Antimicrobial Agent against Biofilm-Associated Infections. *Molecules*, **2011**, 16, 190-201.
- <sup>59</sup> Bruneton J. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 4<sup> me</sup>  dition.  d. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, **2009**, 1120 p.
- <sup>60</sup> Souza AB, Martins CH, Souza MG, Furtado NA, Heleno VC, de Sousa JP, Rocha EM, Bastos JK, Cunha WR, Veneziani RC, Ambrósio SR. Antimicrobial activity of terpenoids from *Copaifera langsdorffii* Desf. against cariogenic bacteria. *Phytother. Res.*, **2011**, 25, 2, 215-220.
- <sup>61</sup> Sarikahya NB, Kirmizig l. Antimicrobial triterpenoid glycosides from *Cephalaria scoparia*. *J. Nat. Prod.*, **2010**, 73, 825-830.
- <sup>62</sup> Griffin SG, Wyllie SG, Markham JL, Leach DN. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour Frag. J.*, **1999**, 14, 322-332.
- <sup>63</sup> Han Y. Ginkgo terpene component has an anti-inflammatory effect on *Candida albicans*-caused arthritic inflammation. *Int. Immunopharmacol.*, **2005**, 5, 1049-1056.
- <sup>64</sup> Houghton PJ, Mensah AY, Iessa N, Hong LY. Terpenoids in *Buddleja*: relevance to chemosystematics, chemical ecology and biological activity. *Phytochemistry*, **2003**, 64, 385-393.
- <sup>65</sup> Lage H, Duarte N, Coburger C, Hilgeroth A, Ferreira MJU. Antitumor activity of terpenoids against classical and atypical multidrug resistant cancer cells. *Phytomedicine*, **2010**, 17, 441-448.

- <sup>66</sup> Murakami A, Tanaka T, Lee J-Y, Surh Y-J, Kim HW, Kawabata K, Nakamura Y, Jiwajinda S, Ohigashi H. Zerumbone, a sesquiterpene in subtropical ginger, suppresses skin tumor initiation and promotion stages in ICR mice. *International Journal of Cancer*, **2004**, 110, 481-490.
- <sup>67</sup> Grodnitzky JA, Coats JR. QSAR evaluation of monoterpenoids' insecticidal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, 50, 4576-4580.
- <sup>68</sup> Chang H-J, Kim HJ, Chun HS. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) for neuroprotective activity of terpenoids. *Life Sciences*, **2007**, 80, 835-841.
- <sup>69</sup> Ramalakshmi S, Muthuchelian K. Analysis of bioactive constituents from the leaves of *Mallotus tetracoccus* (Roxb.) KURZ, by gas chromatography-mass spectrometry. *IJPSR*, **2011**, 2, 6, 1449-1454.
- <sup>70</sup> Qi X, Yang Y, Ye Y. Study on chemical constituents from stem of *Mallotus apelta*. *J. Chin. Med. Mater.*, **2005**, 28, 765-766.
- <sup>71</sup> Kizil M, Kizil G, Yavuz M, Ayetekin C. Antimicrobial Activity of Resins Obtained from the Roots and Stems of *Cedrus libani* and *Abies Cilicia*. *Appl. Biochem. Micro.*, **2002**, 38, 2, 144-146.
- <sup>72</sup> Guo W-X, Yang Q-D, Liu Y-H, Xie X-Y, Wang-Miao, Niu R-C. Palmitic and Linoleic Acids Impair Endothelial Progenitor Cells by Inhibition of Akt/eNOS Pathway. *Arch. Med. Res.*, **2008**, 39, 434-442.
- <sup>73</sup> Yang Y, Tang Z, Feng S, Xu R, Zhong Q, Zhong Y. Studies on the chemical constituents of *Mallotus anomalus*. III. Structure of new rosane-type diterpenoids. *Huaxue Xuebao*, **1992**, 50, 2, 200-204.
- <sup>74</sup> Cheng XF, Chen ZL, Meng ZM. Two new diterpenoids from *Mallotus apelta* Muell. *Arg. J. Asian Nat. Prod. Res.*, **1999**, 1, 163-168.
- <sup>75</sup> Nakatsu T, Ito S, Kawashima T. Mallotucin C and D, two diterpenic lactones from *Mallotus repandus*. *Heterocycles*, **1981**, 15, 241-244.
- <sup>76</sup> Kawashima T, Nakatsu T, Fukazawa Y, Ito S. Diterpenic lactones of *Mallotus repandus*. *Heterocycles*, **1976**, 5, 227-232.
- <sup>77</sup> Duh CY, Wang SK, Weng YL, Chiang MY, Dai CF. Cytotoxic terpenoids from the Formosan soft coral *Nephthea brassica*. *J. Nat. Prod.*, **1999**, 62, 1518-1521.
- <sup>78</sup> Mattern DL, Scott WD, McDaniel CA, Weldon PJ, Graves DE. Cembrene A and a congeneric ketone isolated from the paracloacal glands of the Chinese alligator (*Alligator sinensis*). *J. Nat. Prod.*, **1997**, 60, 828-831.
- <sup>79</sup> Edwards JP, Chambers J. Identification and source of a queen-specific chemical in the Pharaoh's ant, *Monomorium pharaonis* (L.). *J. Chem. Ecol.*, **1984**, 10, 1731-1747.
- <sup>80</sup> Wiemer DF, Meinwald J, Prestwich GD, Miura I. Cembrene A and (3Z)-cembrene A: Diterpenes from a termite soldier (*Isoptera Termitidae Termitinae*). *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, 3950-3952.
- <sup>81</sup> Vanderah DJ, Rutledge N, Schmitz FJ, Ciereszko LS. Marine natural products: Cembrene-A and cembrene-C from a soft coral, *Nephthea sp.* *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 1614-1616.
- <sup>82</sup> Birch AJ, Brown WV, Corrie JET and Moore BP. Neocembrene-A, a termite train pheromone. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1972**, 2653-2658.
- <sup>83</sup> Villanueva HE, Setzer WN. Cembrene Diterpenoids: Conformational Studies and Molecular Docking to Tubulin. *Rec. Nat. Prod.*, **2010**, 4, 2, 115-123.
- <sup>84</sup> Yan Li, Carbone M, Vitale RM, Amodeo P, Castelluccio F, Sicilia G, Mollo E, Nappo M, Cimino G, Guo YW, Gavagnin M. Rare Casbane Diterpenoids from the Hainan Soft Coral *Sinularia depressa*. *J. Nat. Prod.*, **2010**, 73, 133-138.
- <sup>85</sup> Choi YH, Pezzuto JM, Kinghorn AD, Farnsworth NR. Plant anticancer agents, XLVI. Cytotoxic casbane-type constituents of *Agrostistachys hookeri*. *J. Nat. Prod.*, **1988**, 51, 1, 110-116.
- <sup>86</sup> Moura VLA, Monte FJO, Filho RB. A new casbane-type diterpenoid from *Croton nepetaefolius*. *J. Nat. Prod.*, **1990**, 53, 6, 1566-1571.
- <sup>87</sup> Choi YH, Kim J, Pezzuto JM, Kinghorn AD, Farnsworth NR, Lotter H, Wagner H. Agrostistachin, a novel cytotoxic macrocyclic diterpene from *Agrostistachys hookeri*. *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 48, 5795-5798.
- <sup>88</sup> Burke BA, Chan WR, Pascoe KO, Blount JF, Manchand PS. The structure of crotonitenone, a novel casbane diterpene from *Croton nitens*. *J. Chem. Soc.*, **1981**, 1, 2666.

- <sup>89</sup> Liang QL, Dai CC, Jiang JH, Tang YP, Duan JA. A new cytotoxic casbane diterpene from *Euphorbia pekinensis*. *Fitoterapia*, **2009**, 80, 8, 514-516.
- <sup>90</sup> Bai Y, Yang YP, Ye Y. Hookerianolides A-C: Three novel casbane-type diterpenoid lactones from *Mallotus hookerianus*. *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 37, 6637-6640.
- <sup>91</sup> Nonita P.P., Mylene M.U. Antioxidant and cytotoxic activities and phytochemical screening of four Philippine medicinal plants. *J. Med. Plant. Res*, **2010**, 4, 5, 407-414.
- <sup>92</sup> Kaur K, Jain M, Kaur T, Jain R. Antimalarials from nature. *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, 17, 3229-3256.
- <sup>93</sup> Van Kiem P, Minh CV, Huong HT. Pentacyclic triterpenoids from *Mallotus apelta*. *Archiv Pharm Res.*, **2004**, 27, 1109-1113.
- <sup>94</sup> Shan X, Feng L, Wu C. Chemical constituents of the roots of *Mallotus apelta* (Lour.) Müell.-Arg. *Zhiwu Xuebao*, **1985**, 27, 192-195.
- <sup>95</sup> Bandopadhyay M, Dhingra VK, Mukerjee SK, Pardeshi NP, Seshadri TR. Triterpenoid and other components of *Mallotus philippinensis*. *Phytochemistry*, **1972**, 11, 1511.
- <sup>96</sup> Hui WH, Li MM. An examination of the Euphorbiaceae of Hong Kong. Part 14. Triterpenoids from *Mallotus repandus*: three new  $\delta$ -lactones. *Phytochemistry*, **1977**, 16, 113-115.
- <sup>97</sup> Chattopadhyay D, Arunachalam G, Mandal AB, Bhadra R, Mandal Subhash C. (2003). CNS activity of the methanol extract of leaf of *Mallotus peltatus* (Geist) Muell. Arg. Leaf : An ethnomedicine of Onge. *J. Ethnopharmacol*, **2003**, 85, 1, 99-105.
- <sup>98</sup> Wu GF, Wei S, Lan SB. Isopentenyl flavanone from *Mallotus apelta*. *Zhongcaoyao*, **2006**, 37, 126-128.
- <sup>99</sup> Van Chau M, Phan VK, Nguyen HN. Chemical investigations and biological studies of *Mallotus apelta*. IV. Constituents with inhibitory activity against NFAT transcription and NF- $\kappa$ B activation from *Mallotus apelta*. *Tap Chi Hoa Hoc*, **2005d**, 43, 773-777.
- <sup>100</sup> Hui WH, Li MM. An examination of the Euphorbiaceae of Hong Kong. Part 13. Triterpenoids from two *Mallotus* species: a nor-triterpene and two new acids. *Phytochemistry*, **1976**, 15, 985-986.
- <sup>101</sup> Hui WH, Chan CK, Chow LC. Examination of the Euphorbiaceae of Hong Kong. IV. Triterpenoids and sterols of *Aporosa chinensis* and *Mallotus paniculatus*. *Phytochemistry*, **1969**, 8, 519.
- <sup>102</sup> Nair SP, Rao JM. Kamaladiol-3-acetate from the stem bark of *Mallotus philippinensis*. *Phytochemistry*, **1993**, 32, 407-409.
- <sup>103</sup> Van Chau M, Phan VK, Hoang TH. Chemical investigations and biological studies of *Mallotus apelta*. I. Pentacyclic triterpenoids from *Mallotus apelta*. *Tap Chi Hoa Hoc*, **2005b**, 43, 235-239.
- <sup>104</sup> Tanaka Y. Structure and biosynthesis mechanism of natural polyisoprene. *Prog. Polym. Sci.*, **1989**, 14, 339-371.
- <sup>105</sup> Kulcitsky V, Hertel J, Skoczylas E, Świeżewska E, Chojnacki T. The occurrence of long-chain polyprenols in leaves of plants of Combretaceae family. *Acta Biochim. Pol.*, **1996**, 43, 4, 707-712.
- <sup>106</sup> Chouda M, Jankowski W. The occurrence of polyprenols in seeds and leaves of woody plants. *Acta Biochim. Pol.*, **2005**, 52, 243-53.
- <sup>107</sup> Kuznecovs S, Jegina K, Kuznecovs I. Inhibition of P-glycoprotein by polyprenol in human breast cancer cells. *Breast*, **2007**, 16, Suppl. 1, S15, 3.
- <sup>108</sup> Singh G, Gupta P, Rawat P, Puri A, Bhatia G, Maurya R. Antidyslipidemic activity of polyprenol from *Coccinia grandis* in high-fat-diet-fed hamster model. *Phytomedicine*, **2007**, 14, 792-8.
- <sup>109</sup> Walinska K, Iwan A, Gorna K, Gogolewski S. The use of long-chain plant polyprenols as a means to modify the biological properties of new biodegradable polyurethane scaffolds for tissue engineering. A pilot study. *J. Mater Sci. Mater Med.*, **2008**, 19, 129-35.
- <sup>110</sup> Safatov AS, Boldyrev AN, Bulychiev LE, Buryak GA, Kukina TP, Poryvaev VD. A prototype prophylactic anti-influenza preparation in aerosol form on the basis of *Abies sibirica* polyprenols. *J. Aerosol Med.*, **2005**, 18, 1, 55-62.
- <sup>111</sup> Yang L, Wang CZ, Ye JZ, Li HT. Hepatoprotective effects of polyprenols from *Ginkgo biloba* L. leaves on CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia*, **2011**, 82, 834-40.

- <sup>112</sup> Golovanova EV, Vinnitskaia EV, Shaposhnikova NA, Petrakov AV, Mel’Kina ES. Effectiveness of the new plant hepatoprotector-Ropren in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Eksp Klin Gastroenterol*, **2010**, 97-102.
- <sup>113</sup> SasakW, Chojnacki T. Long-chain polyprenols of tropical and subtropical plants. *Acta Biochim. Pol.*, **1973**, 20, 343-350.
- <sup>114</sup> Ranjan R, Marczewski A, Chojnacki T, Hertel J, Swiezewska E. Search for polyprenols in leaves of evergreen and deciduous Ericaceae plants. *Acta Biochim Pol*, **2001**, 48, 2, 579-584.
- <sup>115</sup> Van Chau M, Phan VK, N’guyen HN, Hoang TH, Lee JJ, Kim YH. Chemical investigations and biological studies of *Mallotus apelta*. V. Flavonoids and other compounds from *Mallotus apelta*. *Tap Chi Hoa Hoc*, **2004**, 42, ii-iii.
- <sup>116</sup> Roberts KD, Weiss E, Reichstein T. Glycosides and aglycons. CCLII. Cardenolides of the seed of *Mallotus philippinensis*. *Helv. Chim. Acta*, **1963**, 46, 2886-2893.
- <sup>117</sup> Roberts KD, Weiss E, Reichstein T. Glycosides and aglycons. CCLXXII. The cardenolides of the seeds of *Mallotus paniculatus*. *Helv. Chim. Acta*, **1966**, 49, 316-329.
- <sup>118</sup> Roberts KD, Weiss E, Reichstein T. Glycosides and aglycons. CCXCV. Cardenolides from seeds of *Mallotus paniculatus*. 2. Structural proof. *Helv. Chim. Acta*, **1967**, 50, 1645-1664.
- <sup>119</sup> Okabe H, Yamouchi T. Studies on the constituents of *Mallotus japonicus* Muell.-Arg. II. A corotoxigenin trioside from the seeds. *Chem. Pharm. Bull.*, **1976**, 24, 11, 2886-2888.
- <sup>120</sup> Chattopadhyay D, Arunachalam G, Mandal AB, Bhattacharya SK. Dose-Dependent Therapeutic Anti-infective from Ethno medicines of Bay Islands. *Chemotherapy*, **2006**, 52, 3, 151-157.
- <sup>121</sup> Yu X, Wang H, Zhang J. Structural determination of fatty acid components in the seeds oils of five species of Euphorbiaceae. *Zhiwu Xuebao*, **1991**, 33, 199-205.
- <sup>122</sup> Gupta SC, Gupta SS, Aggarwal JS. Chemical examination of the seeds of *Mallotus philippinensis*. III. Constitution of kamlolenic acid isolated from the oil. *J. Sci. Ind. Res*, **1953**, 12, 240-242.
- <sup>123</sup> Groweiss A, Cardellina JH II, Gray GN, Boyd MR. A novel furanocarboxamide from *Mallotus cuneatus*. *Nat. Prod. Lett.*, **1994**, 5,3, 175-178.
- <sup>124</sup> Hikino H, Tamada M, Yen KY. Mallorepine, cyano- $\delta$ -pyridone from *Mallotus repandus*. *Planta Med.*, **1978**, 33, 4, 385-388.
- <sup>125</sup> Cheng XF, Meng ZM, Chen ZL. A pyridine-type alkaloid from *Mallotus apelta*. *Phytochemistry*, **1998**, 49, 2193-2194.
- <sup>126</sup> Duc N, Dung N, Lyun HL, Hyang-Bok L, Dongman K, Junghyun S, Eunki K. Isolation of dioctyl phthalate with high depigmenting effect from Chinese herb *Nigella glandulifera* Freyn. *Journal of Biotechnology*, **2007**, 131, 2, S43.
- <sup>127</sup> Graham PR. Phthalates ester plasticizers-Why and how they are used. *Environ. Health Persp.*, **1973**, 3, 3-12.
- <sup>128</sup> Perkins EG. Characterisation of the non-volatile compounds formed during the thermal oxidation of corn oil. II. Phthalate esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1967**, 44, 3, 197-199.
- <sup>129</sup> Al-Bari MAA, Bhuiyan MSA, Flores ME, Petrosyan P, Garcia-Varela M, Ul Islam MA. *Streptomyces bangladeshensis* sp nov., isolated from soil, which produces bis-(2-ethylhexyl) phthalate. *Int. J. Syst. Evol. Micr.*, **2005**, 55, 1973-1977.
- <sup>130</sup> Al-Bari MAA, Sayeed MA, Rahman MS, Mossadik MA. Characterization and antimicrobial activities of a phthalic acid derivative produced by *Streptomyces bangladeshiensis*- A novel species in Bangladesh. *Res. J. Med. and Medical Sci.*, **2006**, 1, 77-81.
- <sup>131</sup> Witzell J, Martín JA. Phenolic metabolites in the resistance of northern forest trees to pathogens- past experiences and future prospects. *Can. J. For. Res.*, **2008**, 38, 2711-2727.
- <sup>132</sup> Lateur M. Perspectives de lutte contre les maladies des arbres fruitiers à pépins au moyen de substances naturelles inductrices d’une résistance systémique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **2002**, 6, 2, 67-77.
- <sup>133</sup> Nicholson RL, Hammerschmidt R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **1992**, 30, 369-389.

- <sup>134</sup> Nefzaoui A. Valorisation des sous-produits de l'olivier. *Options Méditerranéennes*, Séries Séminaires, 16, **1991**, 101-108.
- <sup>135</sup> Holowezak J, Kuc J, Williams EB. Metabolism of DL- and L- phenylalanine in *Malus* related to susceptibility and resistance to *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, **1962**, 52, 699-703.
- <sup>136</sup> Vazquez RA, Graciani CE, Maestro DR. Componentes fenólicos de la aceituna I. Polifenoles de la pulpa. *Grasas y Aceites*, **1970**, 25, 5, 269.
- <sup>137</sup> Treutter D, Feuch W. The pattern of flavan-3-ols in relation to scab resistance of apple cultivars. *J. Hort. Sci.*, **1990**, 65, 511-517.
- <sup>138</sup> Mayr U, Michalek S, Treutter D, Feuch W. Phenolic compounds of apple and their relationship to scab resistance. *J. Phytopathol.*, **1997**, 145 (2-3), 69-75.
- <sup>139</sup> Rademacher W, Speakman JB, Römmelt S, Treutter D. Induction of resistance against bacterial and fungal pathogens in apple by prohexadione-Ca. *Phytopathology*, **1999**, 89, S63.
- <sup>140</sup> McNally DJ, Wurms K, Labbé C, Bélanger RR. A standardized methodology for the study of induced glycosylated plant phenolics. *Can. J. Plant. Pathol.*, **2002**, 24, 429-436.
- <sup>141</sup> Bailey JA, Mansfield JW. Phytoalexins. *John Wiley & Sons*, New York, **1982**.
- <sup>142</sup> De Sotillo DR, Hadley M, Holm ET. Potato peel waste : stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract. *J. Food. Sci.*, **1994**, 59, 1031-1033.
- <sup>143</sup> Merken HM, Merken CD Beecher GR. Kinetics method for the quantitation of anthocyanins , flavonols and flavones in foods. *J. Agric. Food. Chem.*, **2001**, 49, 2727-2732.
- <sup>144</sup> Baxter NJ, Lilley TH, Haslam E, Williamson MP. Multiple interactions between polyphenols and a salivary praline-rich protein repeat result in complexation and precipitation. *Biochemistry*, **1997**, 36, 5566-5577.
- <sup>145</sup> Siebert KJ, Troukhanova NV, Lynn PY. Nature of polyphenol-protein interactions. *J. Agric. Food. Chem.*, **1996**, 44, 80-85.
- <sup>146</sup> Ioku K, Tsushida T, Takei Y, Nakatani N, Terao J. Antioxidative activity of quercetin monoglucosides in solution and phospholipids bilayers. *Biochim. Biophys. Acta*, **1995**, 1234, 99-104.
- <sup>147</sup> Razavi SM, Nazemiyeh H, Hajiboland R, Kumarasamy Y, Delazar A, Nahar L, Sarker SD. Coumarins from the aerial parts of *Prangos uloptera* (Apiaceae). *Braz. J. Pharmacogn.*, **2008**, 18, 1-5.
- <sup>148</sup> Ribeiro CVC, Kaplan MAC. Tendências evolutivas de famílias produtoras de cumarinas em angiospermae. *Quim. Nova*, **2002**, 25, 533-538.
- <sup>149</sup> Leal LKAM, Ferreira AAG, Bezerra GA, Matos FJA, Viana GSB. Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study. *J. Ethnopharmacol.*, **2000**, 70, 151-159.
- <sup>150</sup> Kostova I. Synthetic and Natural Coumarins as Cytotoxic Agents. *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents*, **2005**, 5, 1, 29-46.
- <sup>151</sup> Kostova I, Monolov I, Karaivonova M. Synthesis, physicochemical characterization, and cytotoxic screening of new zirconium complexes with coumarin derivatives. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **2001**, 334, 157-162.
- <sup>152</sup> Ma J, Jones SH, Hecht SM. A coumarin from *Mallotus resinousus* that mediates DNA cleavage. *J. Nat. Prod.*, **2004**, 67, 1614-1616.
- <sup>153</sup> Lim HK, Kim HS, Choi HS, Oh S, Choi J. Hepatoprotective effects of bergenin, a major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride-intoxicated rats. *J. Ethnopharmacol.*, **2000a**, 72, 3, 469-474.
- <sup>154</sup> Tomizawa S, Asuke K, Suguro N. Bergenin: isocoumarin from the stems of *Mallotus repandus*. *Phytochemistry*, **1976**, 15, 328.
- <sup>155</sup> Lim HK, Kim HS, Chung MW, Kim YC. Protective effects of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on D-galactosamine-intoxicated rat hepatocytes. *J. Ethnopharmacol.*, **2000b**, 70, 69-72.
- <sup>156</sup> Zhang YH, Fang LH, Lee MK, Ku BS. *In vitro* inhibitory effects of bergenin and norbergenin on bovine Adrenal tyrosine hydroxylase. *Phytother. Res.*, **2003**, 17, 967-969.
- <sup>157</sup> Xu JF, Feng ZM, Liu J, Zhang PC. New hepatoprotective coumarinolignoids from *Mallotus apelta*. *Chem Biodivers*, **2008**, 5, 591-597.

- <sup>158</sup> Cheng XF, Chen ZL. Coumarinolignoids of *Mallotus apelta*. *Fitoterapia*, **2000**, 71, 341-342.
- <sup>159</sup> Lounasmaa M, Karjalainen A, Widén CJ, Huhtikangas A. Mass spectral studies on some naturally occurring phloroglucinol derivatives. Part III. The mass spectra of some mono- and bicyclic phloroglucinol derivatives from rhizomes of different *Dryopteris* species. *Acta Chem. Scand.*, **1972**, 26, 1, 89-101.
- <sup>160</sup> Gamal AM et Sabrin RMI. Eucalyptone G, a new phloroglucinol derivative and other constituents from *Eucalyptus globulus* Labill. *Arkivoc*, **2007**, 15, 281-291.
- <sup>161</sup> Na M, Jang J, Min BS, Lee SJ, Lee MS, Kim BY, Oh WK, Ahn JS. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 4738-4742.
- <sup>162</sup> Umehara K, Singh IP, Etoh H, Takasaki M, Konoshima T. Five euglobals, phloroglucinol-monoterpene adducts from *Eucalyptus grandis*, *Phytochemistry*, **1998**, 49, 1699-1704.
- <sup>163</sup> Singh IP, Bharate SB. Phloroglucinol compounds of natural origin. *Nat. Prod. Rep.*, **2006**, 23, 558-591.
- <sup>164</sup> Daikonya A, Katsuki S, Kitanaka S. Anti-allergic agents from natural sources 9. Inhibition of nitric oxide production by novel chalcone derivatives from *Mallotus philippinensis* (Euphorbiaceae). *Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, 52, 11, 1326-1329.
- <sup>165</sup> Daikonya A, Shigeki K, Jin-Bin Wu, Susumu K. Anti-allergic agents from natural sources (4<sup>1</sup>): Anti-allergic activity of new phloroglucinol derivatives from *Mallotus philippensis* (Euphorbiaceae). *Chem. Pharm. Bull.*, **2002**, 50, 12, 1566-1659.
- <sup>166</sup> Li Y, Luo Y, Huang W, Wang LWJ. Total synthesis of mallotophilippen C. *Tetrahedron Lett*, **2006**, 47, 4153-4155.
- <sup>167</sup> Furusawa M, Ido Y, Tanaka T, Ito T, Nakaya KI, Ibrahim I, Ohyama M, Linuma M, Shirataka Y, Takahashi Y. Novel, complex flavonoids from *Mallotus philippensis* (Kamala tree). *Helv. Chim. Acta*, **2005**, 88, 5, 1048-1058.
- <sup>168</sup> Tanaka T, Ito T, Linuma M, Takahashi Y, Naganawa H. Dimeric chalcone derivatives from *Mallotus philippinensis*. *Phytochemistry*, **1998**, 48, 8, 1423-1427.
- <sup>169</sup> Kuc J. Concept and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *Eur. J. Plant. Pathol.*, **2001**, 107, 7-12.
- <sup>170</sup> Lyon GD, Reglinski T, Newton AC. Novel disease control compounds: the potential to “immunize” plants against infection. *Plant. Pathol.*, **1995**, 44, 407-427.
- <sup>171</sup> Kessmann H, Staub T, Hofmann C, Maetzke T, Herzog J. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **1994**, 32, 439-459.
- <sup>172</sup> Wei K, Li W, Koike K, Liu L, Fu X, Lin L, Chen Y, Nikaido T. Two new galloylglucosides from the leaves of *Mallotus furetianus*. *Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, 52, 6, 776-779.
- <sup>173</sup> Saijo R, Nonaka G, Nishioka I. Tannins and related compounds. LXXXVII. Isolation and characterization of four new hydrolyzable tannins from the leaves of *Mallotus repandus*. *Chem. Pharm. Bull.*, **1989**, 37, 2624-2630.
- <sup>174</sup> Ebehardt MV, Lee CY, Liu RH. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, **2000**, 405, 903-904.
- <sup>175</sup> King A, Young G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. Am. Diet. Assoc.*, **1999**, 99, 2, 213-218.
- <sup>176</sup> Wang H, Cao G, Prior R. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.*, **1996**, 44, 701-705.
- <sup>177</sup> Zhu B, Bai G, Jiang S. Studies on chemical constituent and quantitative determination of *Mallotus apelta*. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, **2007**, 32, 932-934.
- <sup>178</sup> Kang F, Lu H. Separation and analysis of the chemical constituents of *Mallotus apelta*. *Guangdong Yaoxueyuan Xuebao*, **2007**, 23, 121-123.
- <sup>179</sup> Schmelzer GH, Gurib-Fakim A. Ressources végétales de l’Afrique tropicale Vol.11 (1) : Plantes médicinales 1. Fondation PROTA/Backhuys Publishers/CTA, Wageningen, Pays-bas, **2008**, 869p.
- <sup>180</sup> Kayode J, Omotoyinbo AM. Conservation of botanicals used for dental and oral healthcare in ekiti State, Nigeria. *Ethnobotanical Leaflets*, Article 2, **2008**, Vol. 2008, Issue 1.
- <sup>181</sup> Farombi EO. African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents. *Afr. J. Biotechnol.*, **2003**, 2, 12, 662-671.

- <sup>182</sup> Hauser S, Ngoumbe S, Nkongmeneck AB. Effects on plant species composition of glyphosate application in a plantain system after secondary forest clearing. Conference on International Agricultural Research for Development, University of Bonn, *Tropentag*, October 11-13, **2006**.
- <sup>183</sup> Kamgang R, Zintchem R, Dimo T, Panjo Yewa M. Effets des extraits totaux aqueux de *Mallotus oppositifolius* et de *Euphorbia hirta* (Euphorbiaceae) sur l'activité contractile intestinale du rat. *AJST*, **2001**, 2, 2, 8-11.
- <sup>184</sup> Akoegninou A, Tossou MG, Yedomonhan H, Fohounfo TH, Traore D. Etude des plantes mellifères de la petite saison des pluies et de quelques aspects du comportement des abeilles au Bénin, **2006**.
- <sup>185</sup> Aschfalk A, Steingass H, Muller W, Drochner W. Acceptance and digestibility of some selected browse feeds with varying tannin content as supplements in sheep nutrition in West Africa. *J. Vet. Med.*, **2000**, A 47, 513-524.
- <sup>186</sup> Lock JM, Hall JB. Floral biology of *Mallotus oppositifolius* (Euphorbiaceae). *Biotropica*, **1982**, 14, 2, 153-155.
- <sup>187</sup> Kouassi RH, Tiébré MS, N'Guessan KE. Aperçu de la végétation des Inselbergs Brafoyé et Mafa-Mafou (Sud-Est de la Côte d'Ivoire). *European Journal of Scientific Research*, **2009**, 28, 1, 92-123.
- <sup>188</sup> Bouquet A, Debray M. Plantes médicinales de la Côte d'Ivoire. Travaux et documents de l'ORSTOM, N°32. Éd. ORSTOM, Paris, **1974**, 232 p.
- <sup>189</sup> Mosango, D.M. *Mallotus oppositifolius* (Geiseler) Müll.Arg. Fiche de Protabase. Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A. (Editeurs). PROTA <<http://database.prota.org/recherche.htm>>. Consulté le 10 juillet 2012.
- <sup>190</sup> Kabran GR, Ambeu NC, Mamyrbékova-Békro JA, Békro YA. CCM d'extraits sélectifs de 10 Plantes utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein en Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, **2011**, 63, 4, 592-603.
- <sup>191</sup> Okpekon T, Yolou S, Gleye C, Roblot F, Loiseau P, Bories C, Grellier P, Frappier F, Laurens A, Hocquemiller R. Antiparasitic activities of medicinal plants used in Ivory Coast. *J. Ethnopharmacol.*, **2004**, 90, 91-97.
- <sup>192</sup> Goetz P. Traitement des troubles de la libido masculine. *Phytothérapie*, **2006**, 1, 9-14.
- <sup>193</sup> Okwu DE, Ekei O. Phytochemical screening and mineral composition of chewing sticks in South Eastern Nigeria. *Global J. Pure Appl. Sci.*, **2003**, 9, 2, 235-238.
- <sup>194</sup> Ogundipe O, Moody JO, Fakeye TO, Ladipo OB. Antimicrobial activity of *Mallotus oppositifolium* extractives. *Afr. J. Med. Me Sci.*, **2000**, 29 (3-4), 281-283.
- <sup>195</sup> Nwaehujor CO, Ezeigbo II, Nwinyi FC. Evaluation of *Mallotus oppositifolius* methanol leaf extract on the glycaemia and lipid peroxidation in alloxan-induced diabetic rats: a preliminary study. *Biochemistry Research International*, **2013**, 2013, 1-6.
- <sup>196</sup> Nwaehujor CO, Ezeja MI, Udeh NE, Okoye DN, Udegbonam RI. Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of *Mallotus oppositifolius* (Geisel) methanol leaf extracts. *Arabian Journal of Chemistry*, **2012**, In press.
- <sup>197</sup> Harinantenaina L, Bowman JD, Brodie PJ, Slebodnick C, Callmander MW, Rakotobe E, Randrianaiwo R, Rasamison VE, Gorka A, Roepe PD, Cassera MB, Kingston DGI. Antiproliferative and antiplasmodial dimeric phloroglucinols from *Mallotus oppositifolius* from the Madagascar dry forest. *J. Nat. Prod.*, **2013**, 76, 388-393.
- <sup>198</sup> Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ. Spectrometric identification of organic compounds. 7<sup>th</sup> edition, John Wiley & Sons, Inc, **2005**, 502p.
- <sup>199</sup> Siddiqui BS, Ilyas F, Rasheed M, Begum S. Chemical constituents of leaves and stem bark of *Plumeria obtusa*. *Phytochemistry*, **2004**, 65, 2077-2084.
- <sup>200</sup> Gallo MBC, Sarachine MJ. Biological activities of lupeol. *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, **2009**, 3, 1, 46-66.
- <sup>201</sup> Lutta KP, Christine B, Teresa AA, Cornelius WW. Antimicrobial marine natural products from the sponge *Axinella infundibuliformis*. *Rec. Nat. Prod.*, **2008**, 2: 4, 116-127.
- <sup>202</sup> Fotie J, Bohle DS, Leimanis ML, Georges E, Rukunga G, Nkengfack E. Lupeol longchain fatty acid esters with antimalarial activity from *Holarrhena floribunda*. *J. Nat. Prod.*, **2006**, 69, 62-67.
- <sup>203</sup> Surendra K, Corey EJ. A Short Enantioselective Total Synthesis of the Fundamental Pentacyclic Triterpene Lupeol. *Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 13928-13929.
- <sup>204</sup> Harborne JB. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. 3<sup>rd</sup> Ed., Chapman and Hall: London, **1998**, 302p.

- 205 Mehta GN, Makhija IK, Vignesh H, Chandrashekar KS, Richard L, Prasanna KS. Isolation of 3 $\beta$ -16 $\alpha$ -dihydroxy-5-cholesten-21-al, n-Docosanoic acid and Stigmasterol from petroleum ether extract of stem bark of *Michelia champaca*. *Arch. Appl. Sci. Res.*, **2010**, 2, 6, 344-348.
- 206 Gangwal A, Parmar SK, Sheth NR. Triterpenoid, flavonoids and sterols from *Lagenaria siceraria* fruits. *Der Pharmacia Lettre*, **2010**, 2, 1, 307-317.
- 207 Kamboj A, Saluja AK. Isolation of stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* (Asteraceae). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, **2011**, 3, 1, 94-96.
- 208 Cui E-J, Park H-J, Wu Q, Chung I-S, Kim J-Y, Baek N-I. Sterols from the seed of Cowpea (*Vigna sinensis* K.). *J. Appl. Biol. Chem.*, **2010**, 53, 2, 77-81.
- 209 Makhija IK, Vignesh H, Chandrashekar KS, Richard L, Prasanna KS. Isolation of 3 $\beta$ -16 $\alpha$ -dihydroxy-5-cholesten-21-al, n-Docosanoic acid and Stigmasterol from petroleum ether extract of stem bark of *Michelia champaca*. *Arch. Appl. Sci. Res.*, **2010**, 2 (6), 344-348.
- 210 Kongduang D, Wungsintaweekul J, De-Eknamkul W. Biosynthesis of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol proceeds exclusively via the mevalonate pathway in cell suspension cultures of *Croton stellatopilosus*. *Tetrahedron Letters*, **2008**, 49, 4067-4072.
- 211 Patra A, Jha S, Murthy PN, Manik, Sharone A. Isolation and characterization of stigmasterol-5-en-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -sitosterol) from the leaves of *Hygrophila spinosa* T. Anders. *IJPSR*, **2010**, 1, 2, 95-100.
- 212 Holland GP, Alam TM. Multi-dimensional <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HETCOR and FSLG-HETCOR NMR study of sphingomyelin bilayers containing cholesterol in the gel and liquid crystalline states. *Journal of Magnetic Resonance*, **2006**, 181, 316-326.
- 213 Mann A, Ibrahim K, Oyewale AO, Amupitan JO, Fatope MO, Okogun JI. Antimycobacterial Friedelane-terpenoid from the Root Bark of *Terminalia Avicennioides*. *American Journal of Chemistry*, **2011**, 1, 2, 52-55.
- 214 Ghosh P, Mandal A, Chakraborty M, Saha A. Triterpenoids from *Quercus suber* and their antimicrobial and phytotoxic activities. *J. Chem. Pharm. Res.*, **2010**, 2, 4, 714-721.
- 215 Queiroga CL, Silva GF, Dias PC, Possenti A, Carvalho JE. Evaluation of the antiulcerogenic activity of friedelan-3 $\beta$ -ol and friedelin isolated from *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **2000**, 72, 465-468.
- 216 Altun A, Ok S. NMR analyses and diffusion coefficient determination of minor constituents of olive oil: combined experimental and theoretical studies. *J. Chem. Eng. Data*, **2012**, 57, 2619-2624.
- 217 Kuo Y-H, Chu P-H. Studies on the constituents from the bark of *Bauhinia purpurea*. *J. Chin. Chem.Soc.*, **2002**, 49, 2, 269-274.
- 218 Kalinowski H-O, Berger S, Braun S. Carbon-13 NMR spectroscopy. Ed. John Wiley & Sons Ltd., **1988**, 776p.
- 219 Alarif WM, Ayyad SN, Al-Lihaibi SS. Acyclic diterpenoid from the red alga *Gracilaria foliifera*. *Rev. Latinoamer. Quím.*, **2010**, 38, 1, 52-57.
- 220 Park B-Y, Min B-S, Oh S-R, Kim J-H, Kim T-J, Kim D-H, Bae K-H, Lee H-K. Isolation and anticomplement activity of compounds from *Dendropanax moribifera*. *Journal of Ethnopharmacology*, **2004**, 90, 403-408.
- 221 Mahmood U, Shukla YN, Thakur RS. Non-alkaloidal constituents from *Solanum torvum* leaves. *Phytochemistry*, **1983**, 22, 1, 167-169.
- 222 Drake NL, Melamed S. Tetratriacontanoic acid and related compounds. Contribution from the Chemistry Department of the University of Maryland, **1968**, Vol. 70, 364-367.
- 223 Schuette HA, Maylott AO, Roth DA. Solidification point curve of binary acid mixtures. VI. Tetratriacontanoic-Hexatriacontanoic acids. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, **1948**, 64-65.
- 224 Furnis BS, Hannaford AJ, Smith PWG. Vogel's textbook of practical organic chemistry. 5<sup>th</sup> Ed., **1989**, 1540p.
- 225 Pretsch E, Bühlmann P, Affolter C. Structure determination of organic compounds: Tables of spectral data. Éd. Springer, Berlin, Heidelberg, **2000**, 421 p.
- 226 Harborne JB. Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Ed., Chapman and Hall, **1973**, 278p.

- <sup>227</sup> Coskun M, Sakushima A, Nishibe S, Hisada S. Phloroglucinol derivatives of *Dryopteris abbreviata*. *Chem. Pharm. Bull.*, **1982**, 30, 11, 4102-4106.
- <sup>228</sup> Widén CJ, Vida G, Von Euw J, Reichstein T. Die phloroglucide von *Dryopteris villarii* (Bell.) woynar und anderer farne der gattung *Dryopteris* sowie die mögliche. *Helv. Chim. Acta*, **1971**, 54, 8, 2824-2850.
- <sup>229</sup> Supudompol B, Likhitwitawuid K, Houghton PJ. Phloroglucinol derivatives from *Mallotus pallidus*. *Phytochemistry*, **2004**, 65, 2589-2594.
- <sup>230</sup> Wollenweber E, Stevens JF, Ivanic M, Deinzer ML. Acylphloroglucinols and flavonoid aglycones produced by external glands on the leaves of two *Dryopteris* ferns and *Currantia robertiana*. *Phytochemistry*, **1998**, 48, 6, 931-939.
- <sup>231</sup> Ito H, Muranaka T, Mori K, Jin Z-X, Tokuda H, Nishino H, Yoshida T. Ichthyotoxic phloroglucinol derivatives from *Dryopteris fragrans* and their anti-tumor promoting activity. *Chem. Pharm. Bull.*, **2000**, 48, 8, 1190-1195.
- <sup>232</sup> Patama TT, Widén CJ. Phloroglucinol derivatives from *Dryopteris fusco-atra* and *D. hawaiiensis*. *Phytochemistry*, **1991**, 30, 10, 3305-3310.
- <sup>233</sup> Hesse M, Meier H, Zeeh B. Méthodes spectroscopiques pour la chimie organique. Éd. Masson, Paris, **1997**, 417 p.
- <sup>234</sup> Beaudoin GJ, Flamand E, Chavanne M, Jullien A. Chimie organique expérimentale. 2<sup>ème</sup> Édition. Éd. Belin, Paris, **1991**, 901 p.
- <sup>235</sup> Widén CJ, Puri HS. Phloroglucinol derivatives in *Ctenitis apiciflora* and *C. nidus*. *Planta Med.*, **1979**, 36, 343-349.
- <sup>236</sup> Lobo-Echeverri T, Rivero-Cruz JF, Su BN, Chai HB, Cordell GA, Pezzuto JM, Swanson SM, Soejarto DD, Kinghorn AD. Constituents of the leaves and twigs of *Calyptranthes pallens* collected from an experimental plot in southern Florida. *J. Nat. Prod.*, **2005**, 68, 4, 577-580.
- <sup>237</sup> Widén CJ, Fraser-Jenkins CR, Reichsteins T, Sarvela J. A survey of phenolic compounds in *Dryopteris* and related fern genera. Part III. Phloroglucinol derivatives in subgenera *Erythrovaria* and *Nephrocystis* and related genera (Pteridophyta, Dryopteridaceae). *Ann. Bot. Fennici*, **2001**, 38, 99-138.
- <sup>238</sup> Socolsky C, Salvatore A, Asakawa Y, Bardón A. Bioactive new bitter-tasting *p*-hydroxystyrene glycoside and other constituents from *Elaphoglossum spathulatum*. Issue in honor of Prof. R. Rossi and Prof. E. Rúveda, *ARKIVOC*, **2003**, x, 347-355.
- <sup>239</sup> Penttilä A, Govind JK. Isolation, structure, and synthesis of margaspidin, a new dryopteris phloroglucinol derivative. *J. Pharm.Sci.*, **1965**, 54, 9, 1362-1364.
- <sup>240</sup> Ishii H, Okada Y, Baba M, Okuyama T. Studies of coumarins from the Chinese drug Qianhu, XXVII: structure of a new simple coumarin glycoside from Bai-Hua Qianhu, *Peucedanum praeruptorum*. *Chem. Pharm. Bull.*, **2008**, 56, 9, 1349-1351.
- <sup>241</sup> Nakamori T, Taniguchi M, Shibano M, Wang N-H, Baba K. Chemical studies on the root of *Heracleum candicans* WALL., *J. Nat. Med.*, **2008**, 62, 403-412.
- <sup>242</sup> Kassim NK, Rahmani M, Ismail A, Sukari MA, Lian Ee GC, Nasir NM, Awang K. Antioxidant activity-guided separation of coumarins and lignan from *Melicope glabra* (Rutaceae). *Food Chemistry*, **2013**, 139, 87-92.
- <sup>243</sup> Singh R, Singh B, Singh S, Kumar N, Kumar S, Arora S. Umbelliferone-An antioxidant isolated from *Acacia nilotica* (L.) Willd. Ex. Del. *Food Chemistry*, **2010**, 120, 825-830.
- <sup>244</sup> Hu X-J, Jin H-Z, Su J, Zhang W, Xu W-Z, Yan S-K, Liu R-H, Li J-Q, Zhang W-D. Coumarins from *Daphne retusa*. *Chin. J. Nat. Med.*, **2009**, 7, 1, 34-36.
- <sup>245</sup> Shi XH, Chen HH, Kong LY. Studies on chemical constituents in *Chrozophora sabulosa* Kar [J]. *Chin. Pharm. J.*, **2007**, 42, 4, 252-256.
- <sup>246</sup> Zhang H-L, Zhang Q-W, Zhang X-Q, Ye W-C, Wang Y-T. Chemical constituents from the roots of *Morinda officinalis*. *Chin. J. Nat. Med.*, **2010**, 8, 3, 192-195.
- <sup>247</sup> Siddiqui BS, Sattar FA, Ahmad F. Isolation and structural elucidation of chemical constituents from the fruits of *Morinda citrifolia* Linn.[J]. *Arch. Pharm Res.*, **2007**, 30, 8, 919-923.
- <sup>248</sup> Morand C, Crespy V, Manach C, Besson C, Demigne C, Remesy C. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **1998**, 275, 212-219.

- <sup>249</sup> Kühnau J. The flavonoids: A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.*, **1976**, 24, 117-191.
- <sup>250</sup> Grayer RJ. Plant phenolics. In *Flavonoids*, Ed. Harborne JB, **1989**, San Diego, Academic Press, 283-323.
- <sup>251</sup> Huang L, Cao Y, Chen G. Purification of quercetin in *Anoectochilu roxburghii* (wall) Linl using UMAE by high-speed counter-current chromatography and subsequent structure identification. *Separation and Purification Technology*, **2008**, 64, 101-107.
- <sup>252</sup> Gonnet JF, Kozjek F, Favre-Bonvin J. Les flavonols d'*Asclepias syriaca*. *Phytochemistry*, **1973**, 12, 2773-2775.
- <sup>253</sup> Kang J, Li Z, Wu T, Jensen GS, Schauss AG, Wu X. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). *Food Chemistry*, **2010**, 122, 610-617.
- <sup>254</sup> Awaad AS, Maitland DJ, Soliman GA. Hepatoprotective activity of *Schouwia thebica* Webb. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2006**, 16, 10, 4624-4628.
- <sup>255</sup> Wawer I, Zielinska A. <sup>13</sup>C-CP-MAS-NMR studies of flavonoids. I. Solid-state conformation of quercetin, quercetin 5'-sulphonic acid and some simple polyphenols. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, **1997**, 10, 33-38.
- <sup>256</sup> Li H, Cao D, Yi J, Cao J, Jiang W. Identification of the flavonoids in mungbean (*Phaseolus radiatus* L.) soup and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, **2012**, 135, 2942-2946.
- <sup>257</sup> Leong ACN, Kinjo Y, Tako M, Iwasaki H, Oku H, Tamaki H. Flavonoid glycosides in the shoot system of *Okinawa Taumu* (*Colocasia esculenta* S.). *Food Chemistry*, **2010**, 119, 2, 630-635.
- <sup>258</sup> Vázquez E, Martínez EM, Cogordán JA, Delgado G. Triterpenes, phenols, and other constituents from the leaves of *Ochroma pyramidale* (Balsa Wood, Bombacaceae). Preferred conformations of 8-C-β-D-Glucopyranosyl-apigenin (vitexin). *Rev. Soc. Quím. Méx.*, **2001**, 45, 4, 254-258.
- <sup>259</sup> Tillequin F, Paris M, Jacquemin H, Paris RR. Flavonoïdes de *Piper marginatum*. Isolement d'un nouvel hétéroside flavonique : le marginatoside. *Planta Med.*, **1978**, 33, 46-52.
- <sup>260</sup> Latha RCR, Daisy P. Insulin-secretagogue, antihyperlipidemic and other protective effects of gallic acid isolated from *Terminalia bellerica* Roxb. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, **2011**, 189, 112-118.
- <sup>261</sup> Banday JA, Mir FA, Farooq S, Qurishi MA, Koul S, Razdan TK. Salicylic acid and methyl gallate from the roots of *Conyza canadensis*. *IJCAS*, **2012**, 3, 2, 1305-1308.
- <sup>262</sup> Teke GN, Lunga PK, Wabo HK, Kuiaite J-R, Vilarem G, Giacinti G, Kikuchi H, Oshima Y. Antimicrobial and antioxidant properties of methanol extract, fractions and compounds from the stem bark of *Entada abyssinica* Stend ex A. Satabie. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **2011**, 11-57.
- <sup>263</sup> Hayat S, Atta-ur-Rahman, Choudhary MI, Khan KM, Abbaskhan A. Two new cinnamic acid esters from marine brown alga *Spatoglossum variabile*. *Chem. Pharm. Bull.*, **2002**, 50, 9, 1297-1299.
- <sup>264</sup> Silva SL, Oliveira VG, Yano T, Nunomura R. Antimicrobial activity of bergenin from *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. *Acta amazonica*, **2009**, 39, 1, 187-192.
- <sup>265</sup> De Abreu HA, Lago IAS, Souza GP, Piló-Veloso D, Duarte HA, AlcântaraAFC. Antioxidant activity of (+)-bergenin-a phytoconstituent isolated from the bark of *Sacoglottis uchi* (Humireaceae). *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, 6, 2713-2718.
- <sup>266</sup> Wang G-C, Liang J-P, Wang Y, Li Q, Ye W-C. Chemical constituents from *Flueggea virosa*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **2008**, 6, 4, 251-253.
- <sup>267</sup> Saijo R, Nonaka G-I, Nishioka I. Gallic acid esters of bergenin and norbergenin from *Mallotus japonicas*. *Phytochemistry*, **1990**, 29, 1, 267-270.
- <sup>268</sup> Franz G, Grün M. Chemistry, occurrence and biosynthesis of C-glycosyl compounds in plants. *Planta Med.*, **1983**, 47, 131-140.
- <sup>269</sup> Montenegro RC, Araújo AJ, Molina MT, Filho JDBM, Rocha DD, López-Montero E, Goulart MOF, Bento ES, Alves APNN, Pessoa C, Moraes MO, Costa-Lotufo LV. Cytotoxic activity of naphthoquinones with special emphasis on juglone and its 5-O-methyl derivative. *Chemico-Biological Interactions*, **2010**, 184, 439-448.

- <sup>270</sup> Bruce BF, Donald CW, Maxwell CJ, Geoffrey FI, Peter GG, David KP. Carbon-13 N.M.R Studies of 1,4-Naphthoquinones and 9,10-Antraquinones. *Aust. J. Chem.*, **1979**, 32, 769-77.
- <sup>271</sup> Masaaki K, Yoshihiro T, Kazuo T, Naoki T. Carbon-13 NMR spectra of juglone, naphthazarin and their derivatives. *Tetrahedron Letters*, **1976**, N°8, 619-620.
- <sup>272</sup> Moore RE, Scheuer PJ. Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Substituted Naphthoquinones. Influence of Substituents on Tautomerism, Anisotropy, and Stereochemistry in the Naphthazarin System. *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, 88, 3272-3283.
- <sup>273</sup> Stierle AA, Upadhyay R, Hershenhorn J, Strobel G, Molina G. The phytotoxins of *Mycosphaerella fijiensis*, the causative agent of Black Sigatoka disease of bananas and plantains. *Experientia*, **1991**, 47, 853-859.
- <sup>274</sup> Müller W-U, Leistner E. Metabolic relation between naphthalene derivatives in *Juglans*. *Phytochem*, **1978**, 17, 1735-1738.
- <sup>275</sup> Wheeler MH, Stipanovic RD. Melanin biosynthesis and the metabolism of flaviolin and 2-hydroxyjuglone in *Wangiella dermatitidis*. *Arch Microbiol*, **1985**, 142, 234-241.
- <sup>276</sup> Chen C-R, Chao L-H, Pan M-H, Liao Y-W, C-I. Tocopherols and Triterpenoids from *Sida acuta*. *J. Chin. Chem. Soc.*, **2007**, 54, 1, 41-45.
- <sup>277</sup> Lee CK, Chang MH. The chemical constituents from the heartwood of *Eucalyptus citriodora*. *J. Chin. Chem. Soc.*, **2000**, 47, 3, 555-560.
- <sup>278</sup> Ekiel IH, L. Hughes, G.W. Burton P.A. Jovall, K.U. Ingold ICP. Smith. "Structure and dynamics of alpha-tocopherol in model membranes and in solution: a broad-line and high-resolution NMR study". *Biochemistry*, **1988**, 27: 1432-1440.
- <sup>279</sup> Hranjec M, Sović I, Ratkaj I, Pavlović G, Ilić N, Valjalo L, Pavelić K, Pavelić SK, Karminski-Zamola G. Antiproliferative potency of novel benzofuran-2-carboxamides on tumour cell lines: Cell death mechanisms and determination of crystal structure. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2013**, 59, 111-119.
- <sup>280</sup> Sudharsan PT, Mythili Y, Selvakumar E, Varalakshmi P. Cardioprotective effect of pentacyclic triterpene, lupeol and its ester on cyclophosphamide-induced oxidative stress. *Human and Experimental Toxicology*, **2005**, 24, 313-318.
- <sup>281</sup> Andrikopoulos NK, kaliora AC, Assimopoulou AN, Papapeorgiou VP. Biological activity of some naturally occurring resins, gums, and pigments against *in vitro* LDL oxidation. *Phytotherapy Res.*, **2003**, 17, 501-507.
- <sup>282</sup> Saleem R, Ahmad SI, Ahmed M, Faizi Z, Zikr-ur-Rehman S, Ali M, Faizi S. Hypotensive activity and toxicology of constituents from *Bombax ceiba* stem bark. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **2003**, 26, 41-46.
- <sup>283</sup> Vasconcelos JF, Teixeira MM, Barbosa-Filho JM, Lúcio ASSC, Almeida JRGS, Queiroz LP, Ribeiro-dos-Santos R, Soares MBP. The triterpenoid lupeol attenuates allergic airway inflammation in a murine model. *International Immunopharmacology*, **2008**, 8, 1216-1221.
- <sup>284</sup> Patočka J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification. *J. Appl. Biomed.*, **2003**, 1, 7-12.
- <sup>285</sup> Agarwal RB, Rangari VD. Antiinflammatory and antiarthritic activities of lupeol and 19 $\alpha$ -H lupeol isolated from *Strobilanthes callosus* and *Strobilanthes ixiocephala* Roots. *Indian J. Pharmacol.*, **2003**, 35, 384-387.
- <sup>286</sup> Geetha T, Varalakshmi P. Anti-inflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in rats. *J. Ethnopharmacol.*, **2001**, 76, 77-80.
- <sup>287</sup> Geetha T, Varalakshmi P. Anti-inflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in adjuvant-induced arthritis. *Fitoterapia*, **1998**, 69, 1, 13-19.
- <sup>288</sup> Malini MM, Lenin M, Varalakshmi P. Protective effect of triterpenes on calcium oxalate crystal-induced peroxidative changes in experimental urolithiasis. *Pharmacol. Res.*, **2000**, 41, 413-418.
- <sup>289</sup> Vidya L, Varalakshmi P. Control of urinary risk factors of stones by betulin and lupeol in experimental hyperoxaluria. *Fitoterapia*, **2000**, 71, 535-543.
- <sup>290</sup> De Almeida Alves TM, Nagem TJ, De Carvalho LH, Krettli AU, Zani CL. Antiplasmodial triterpene from *Vernonia brasiliensis*. *Planta Med.*, **1997**, 63, 554-555.

- <sup>291</sup> Ahamed BKM, Krishna V, Gowdru HB, Rajanaika H, Kumaraswamy HM, Rajshekarappa S, Dandin CJ, Mahadevan KM. Isolation of bactericidal constituents from the steam bark extract of *Grewia tiliaefolia* Vahl. *Research Journal of Medicinal Plant*, **2007**, 1, 72-82.
- <sup>292</sup> Chaturvedula VSP, Schilling JK, Miller JS, Andriantsiferana R, Rasamison VE, Kingston DGI. New cytotoxic terpenoids from the wood of *Vepris ponctata* from the Madagascar rainforest. *J. Nat. Prod.*, **2004**, 67, 895-898.
- <sup>293</sup> Moriarity DM, Huang J, Yancey CA, Zhang P, Setzer WN, Lawton RO, Bates RB, Caldera S. Lupeol is the cytotoxic principle in the leaf extract of *Dendropanax cf. querceti*. *Planta Med.*, **1998**, 64, 370-372.
- <sup>294</sup> Miles DH, Kokpol U. Tumor inhibitors II: constituents and antitumor activity of *Sarracenia flava*. *J. Pharm. Sci.*, **1976**, 65, 284-285.
- <sup>295</sup> Miles DH, Kokpol U, Zalkow LH, Steindel SJ, Nabors JB. Tumor inhibitors I: preliminary investigation of antitumor activity of *Sarracenia flava*. *J. Pharm. Sci.*, **1974**, 63, 613-615.
- <sup>296</sup> Aratanechemuge Y, Hibasami H, Sanpin K, Katsuzaki H, Imai K, Komiya T. Induction of apoptosis by lupeol isolated from mokumen (*Gossampinus malabarica* L. Merr) in human promyelotic leukemia HL-60 cells. *Oncology Reports*, **2004**, 11, 2, 289-292.
- <sup>297</sup> Nigam N, Prasad S, Shukla Y. "Preventive effects of lupeol on DMBA induced DNA alkylation damage in mouse skin". *Food. Chem. Toxicol*, **2007**, 45, 11, 2331-5.
- <sup>298</sup> Saleem M, Afaq F, Adhami VM, Mukhtar H.. "Lupeol modulates NF-kappaB and PI3K/Akt pathways and inhibits skin cancer in CD-1 mice". *Oncogene*, **2004**, 23, 30, 5203-14.
- <sup>299</sup> Saleem M, Kaur S, Kweon M-H, Adhami VM, Afaq F, Mukhtar H. Lupeol, a fruit and vegetable based triterpene, induces apoptotic death of human pancreatic adenocarcinoma cells via inhibition of ras signalling pathway. *Carcinogenesis*, **2005a**, 26, 1956-1964.
- <sup>300</sup> Saleem M, Kweon M-H, Yun J-M, Adhami VM, Khan N, Syed DN, Mukhtar H. A novel dietary triterpene lupeol induces fas-mediated apoptotic death of androgen-sensitive prostate cancer cells and inhibits tumor growth in xenograft model. *Cancer Res.*, **2005b**, 65, 11203-11213.
- <sup>301</sup> Prasad S, Kalra N, Singh M, Shukla Y. Protective effects of lupeol and mango extract against androgen induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Asian J. Androl.*, **2008**, 10, 2, 313-318.
- <sup>302</sup> Zhang L, Zhang Y, Zhang L, Yang X, Lv Z. Lupeol, a dietary triterpene, inhibited growth, and induced apoptosis through down-regulation of DR3 in SMMC7721 cells. *Cancer Investigation*, **2009**, 27, 163-170.
- <sup>303</sup> Saleem M, Alam A, Arifin S, Shah MS, Ahmed B, Sultana S. Lupeol, a triterpene, inhibits early responses of tumor promotion induced by benzoyl peroxide in murine skin. *Pharmacol. Res.*, **2001**, 43, 127-134.
- <sup>304</sup> Dzubak P, Hajdich M, Vydra D, Hustova A, Kvasnica M, Biedermann D, Markova L, Urban M, Sarek J. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Nat. Prod. Rep.*, **2006**, 23, 394-411.
- <sup>305</sup> Sunitha S, Nagaraj M, Varalakshmi P. Hepatoprotective effect of lupeol and lupeol linoleate on tissue antioxidant defence system in cadmium-induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia*, **2001**, 72, 516-523.
- <sup>306</sup> Tane P, Tsopmo A, Ngnokam D, Ayafor FJ, Sterner O. New friedelane triterpenes from *Lepidobotrys staudtii*. *Tetrahedron*, **1996**, 52, 47, 14989-14994.
- <sup>307</sup> Viswanathan MB, Ananthi JDJ, Kumar PS. Antimicrobial activity of bioactive compounds and leaf extracts in *Jatropha tanjorensis*. *Fitoterapia*, **2012**, 83, 1153-1159.
- <sup>308</sup> Gershbein LL, Singh EJ. Hydrocarbons of dogfish and cod liver and herring oil. *J. Am Oil. Chem. Soc.*, **1969**, 46, 554-557.
- <sup>309</sup> Huang Z-R, Lin Y-K, Fang J-Y. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds : Potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules*, **2009**, 14, 540-554.
- <sup>310</sup> Auffray B. Protection against singlet oxygen, the main actor of sebum squalene peroxidation during sun exposure, using *Commiphora myrrha* essential oil. *Int. J. Cosmet. Sci.*, **2007**, 29, 23-29.

- <sup>311</sup> Passi S, De Pità O, Puddu P, Littarru GP. Lipophilic antioxidants in human sebum and aging. *Free Radic. Res.*, **2002**, 36, 471-477.
- <sup>312</sup> Pragst, F, Auwärter V, Kiessling B, Dyes C. Wipe-test and patch-test for alcohol misuse based on the concentration ratio of fatty acid ethyl esters and squalene CFAEE/CSQ in skin surface lipids. *Forensic Sci. Int.*, **2004**, 143, 77-86.
- <sup>313</sup> De Luca C, Valacchi G. Surface Lipids as Multifunctional Mediators of Skin Responses to Environmental Stimuli. *Mediators of Inflammation*, **2010**, Review Article, 11 p.
- <sup>314</sup> Kelly GS. Squalene and its potential clinical uses. *Altern. Med. Rev.*, **1999**, 4, 29-36.
- <sup>315</sup> Smith, T.J. Squalene: potential chemopreventive agent. *Expert Opin. Invest. Drugs*, **2000**, 9, 1841-1848.
- <sup>316</sup> Costa JP, Ferreira PB, De Sousa DP, Jordan J, Freitas RM. Anticonvulsant effect of phytol in a pilocarpine model in mice. *Neuroscience Letters*, **2012**, 523, 115-118.
- <sup>317</sup> Goto T, Takahashi N, Kato S, Egawa K, Ebisu S, Moriyama T, Fushiki T, Kawada T. Phytol directly activates peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR  $\alpha$ ) and regulates gene expression involved in lipid metabolism in PPAR $\alpha$ -expressing HepG2 hepatocytes. *B.B.R.C*, **2005**, 337, 440-445.
- <sup>318</sup> Bernhard VK, Maier R, Ritzel G. Effect of phytol on liver lipids. *Hoppeseyler's Z. Physiology and Chemistry*, **1967**, 348, 7, 759-764.
- <sup>319</sup> Saludes JP, Garson MJ, Franzblau SG, Aguinaldo AM. Antitubercular constituents from the hexane fraction of *Morinda citrifolia* Linn. (Rubiaceae). *Phytother. Res.*, **2002**, 16, 7, 683-685.
- <sup>320</sup> Rajab MS, Cantrell CL, Franzblau SG, Fischer NH. Antimycobacterial activity of (E)-phytol and derivatives: a preliminary structure-activity study. *Planta Med.*, **1998**, 64, 2.
- <sup>321</sup> Saikia D, Parihar S, Chanda D, Ojha S, Kumar JK, Chanotiya CS, Shanker K, Negi AS. Antitubercular potential of some semisynthetic analogues of phytol. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, 20, 508-512.
- <sup>322</sup> Kagoura M, Matsui C, Morohashi M. Carcinogenicity study of phytol (3, 7, 11, 15-tetramethyl -2-hexadecen-1-ol) in ICR mice. *Journal of Investigative Dermatology*, **1993**, 101, 3, 460.
- <sup>323</sup> Choi Y-H, Ahn S-J, Park K-Y, Yoo M-A, Lee W-H. Effects of phytol on the mutagenicity of UV and EMS in salmonella and drosophila mutation assaying systems. *Environmental Mutagens and Carcinogens*, **1993**, 13, 2, 92-100.
- <sup>324</sup> Arnhold T, Elmazar MMA, Nau H. Prevention of vitamin A teratogenesis by phytol or phytanic acid results from reduced metabolism of retinol to the teratogenic metabolite, all-trans-retinoic acid. *Toxicological Sciences*, **2002**, 66, 2, 274-282.
- <sup>325</sup> McGinty D, Letizia CS, Api AM. Fragrance material review on phytol. *Food Chem. Toxicol.*, **2010**, 48, S59-S63.
- <sup>326</sup> Aachoui Y, Chowdhury RY, Fitch RW, Ghosh SK. Molecular signatures of phytol-derived immunostimulants in the context of chemokine-cytokine microenvironment and enhanced immune response, *Cellular Immunology*, **2011**, 271, 227-238.
- <sup>327</sup> Batta AK, Xu G, Honda A, Miyazaki T, Salen G. Stigmasterol reduces plasma cholesterol levels and inhibits hepatic synthesis and intestinal absorption in the rat. *Metabolism Clinical and Experimental*, **2006**, 55, 292-299.
- <sup>328</sup> Tabata T, Tanaka M, Lio T. Hypocholesterolemic activity of phytosterol II. *Yakugaku Zasshi*, **1980**, 100, 5, 546-52.
- <sup>329</sup> Chandler RF, Hooper SN, Ismail HA. Antihypercholesterolemic studies with sterols:  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol. *J. Pharma. Sci.*, **1979**, 68, 2, 245-247.
- <sup>330</sup> Gabay O, Sanchez C, Salvat C, Chevy F, Breton M, Nourissat G, Wolf C, Jacques C, Berenbaum F. Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. *Osteoarthritis and Cartilage*, **2010**, 18, 1, 106-116.
- <sup>331</sup> Panda S, Jafri M, Kar A, Meheta BK. Thyroid inhibitory, antiperoxidative and hypoglycemic effects of stigmasterol isolated from *Butea monosperma*. *Fitoterapia*, **2009**, 80, 123-126.
- <sup>332</sup> Marsan M-P, Muller I, Milon A. Ability of clionasterol and poriferasterol (24-epimers of sitosterol and stigmasterol) to regulate membrane lipid dynamics. *Chemistry and Physics of Lipids*, **1996**, 84, 117-121.

- <sup>333</sup> Awad AB, Chinnam M, Fink CS, Bradford PG.  $\beta$ -sitosterol activates Fas signalling in human breast cancer cells. *Phytomedicine*, **2007**, 14, 747-754.
- <sup>334</sup> Davis WW. The physical chemistry of cholesterol and  $\beta$ -sitosterol related to the intestinal absorption of cholesterol. *N. Y. Acad. Sci.*, **1955**, 18, 123-155.
- <sup>335</sup> Berger A, Jones PJH, Abimweis SS. Plant sterols: Factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids Health Dis.*, **2004**, 3, 1-19.
- <sup>336</sup> Ikeda I, Tanaka K, Sugano M, Vahouny GVGallo LL. Inhibition of cholesterol absorption in rats by plant sterols. *J. Lipid Res.*, **1988**, 29, 1573-1582.
- <sup>337</sup> Park D-S, Choi SZ, Kim KR, Lee SM, Lee KR, Pyo S. Immunomodulatory activity of triterpenes and phenolic compounds from *Viscum album* L. *J. Appl. Pharmacol.*, **2004**, 11, 1-4.
- <sup>338</sup> Park K-Y, Jung K-O, Rhee S-H, Choi YH. Antimutagenic effects of Doenjang (Korean fermented soypaste) and its active compounds. *Mutation Res.*, **2003**, 523-524.
- <sup>339</sup> Moreno JJ. Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. *Free Radic. Biol. Med.*, **2003**, 35, 1073-1081.
- <sup>340</sup> Vivancos M, Moreno JJ.  $\beta$ -sitosterol modulates antioxidant enzyme response in RAW 264.7 macrophages. *Free Radical Biol. Med.*, **2005**, 39, 1, 91-97.
- <sup>341</sup> Jayaprakasha GK, Mandadi KK, Poulouse SM, Jadegoud Y, Gowda NGA, Patil BS. Inhibition of colon cancer cell growth and antioxidant activity of bioactive compounds from *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 4923-4932.
- <sup>342</sup> Gomes A, Saha A, Chatterjee I, Chakravarty AK. Viper and cobra venom neutralization by  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol isolated from the root extract of *Pluchea indica* Less. (Asteraceae). *Phytomedicine*, **2007**, 14, 637-643.
- <sup>343</sup> Delaporte RH, Sarragiotto MH, Takemura OS, Sanchez GM, Filho BP, Nakamura CV. Evaluation of the antioedematogenic, free radical scavenging and antimicrobial activities of aerial parts of *Tillandsia streptocarpa* Baker-Bromeliaceae. *J. Ethnopharmacol.*, **2004**, 95 (2-3), 229-233.
- <sup>344</sup> Kapadia GJ. Antimalarial agents. *US Patent Issued*, **1998**, 4. (Disponible au <http://www.patentstorm.us/patents/5684035/fulltext.html>) (consulté le 27/06/2013).
- <sup>345</sup> Kapadia GJ, Tokuda H, Konoshima T, Takasaki M, Takayasu J, Nishino H. Anti-tumor promoting activity of *Dryopteris* phlorophenone derivatives. *Cancer Letters*, **1996**, 105, 161-165.
- <sup>346</sup> Murakami T, Tanaka N. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, 54, *Springer*, Vienna, **1988**.
- <sup>347</sup> Zamarrud, Iftikhar A, Hidayat H, Viqar UA, Muhammad Q, Afroze A, Faryal VM. Two new antioxidant bergenin derivatives from the stem of *Rivea hypocrateriformis*. *Fitoterapia*, **2011**, 82, 722-725.
- <sup>348</sup> Wang D, Zhu H, Zhang Y, Yang C. A carbon-carbon-coupled dimeric bergenin derivative biotransformed by *Pleurotus ostreatus*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 18, 4073-4075.
- <sup>349</sup> Hikino H, Kiso Y, Hatano T, Yoshida T, Okuda T. Antihepatotoxic actions of tannins. *J. Ethnopharmacol.*, **1985**, 14, 19-29.
- <sup>350</sup> Piacente S, Pizza C, De Tommasi N, Mahmood N. Constituents of *Ardisia japonica* and their *in vitro* anti-HIV activity. *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 565-569.
- <sup>351</sup> Piegen X. Traditional experience of chinese herb medicine. Its application in drug research and new drug searching. In: Beal, J.L., Reinhard, E. (Eds.). Natural Products as Medicinal Agents. *Hippokrates Veriag*, **1980**, Stuttgart.
- <sup>352</sup> Swarnalakshmi T, Sethuraman MG, Sulochana N, Arivudainambi R. A note on the anti-inflammatory activity of bergenin. *Current Science*, **1984**, 53, 7, 917.
- <sup>353</sup> Jahromi MAF, Chansouria JPN, Ray AB. Hypolipidaemic activity in rats of bergenin, the major constituent of *Flueggea microcarpa*. *Phytother. Res.*, **1992**, 6, 180-183.
- <sup>354</sup> Noor W, Gul R, Ali I, Choudhary MI. Isolation and antibacterial activity of the compounds from *Ranunculus repens* L. *Jour. Chem. Soc. Pak.*, **2006**, 28, 3, 271-274.

- <sup>355</sup> Penna C, Marino S, Vivot E, Cruaños MC, Muños J. de D, Cruaños J, Ferraro G, Gutkind G, Martino V. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. *J. Ethnopharmacol.*, **2001**, 77, 37-40.
- <sup>356</sup> Fang S-H, Rao YK, Tzeng Y-M. Anti-oxidant and inflammatory mediator's growth inhibitory effects of compounds isolated from *Phyllanthus urinaria*. *J. Ethnopharmacol.*, **2008**, 116, 333-340.
- <sup>357</sup> Thuong PT, Kang HJ, Na M, Jin W, Youn UJ, Seong YH, Song K-S, Min B-S, Bae K. Anti-oxidant constituents from *Sedum takesimense*. *Phytochemistry*, **2007**, 68, 2432-2438.
- <sup>358</sup> Niemetz R, Gross GG. Enzymology of gallotannin and ellagitannin biosynthesis. *Phytochemistry*, **2005**, 66, 2001-2011.
- <sup>359</sup> Li Dan, Liu Z, Zhao W, Xi Y, Niu F. A straightforward method to determine the cytotoxic and cytopathic effects of the functional groups of gallic acid. *Process Biochemistry*, **2011**, 46, 2210-2214.
- <sup>360</sup> You BR, Park WH. Gallic acid-induced lung cancer cell death is related to glutathione depletion as well as reactive oxygen species increase. *Toxicology in Vitro*, **2010**, 24, 1356-1362.
- <sup>361</sup> Naghibi B, Ghafghazi T, Hajhashemi V, Talebi A, Taheri D. The effect of 2,3-dihydroxybenzoic acid and tempol in prevention of vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. *Toxicology*, **2007**, 232, 192-199.
- <sup>362</sup> Severinsen SA, Kirkegaard M, Nyengaard JR. 2,3-Dihydroxybenzoic acid attenuates kanamycin-induced volume reduction in mouse utricular type I hair cells. *Hearing Research*, **2006**, 212, 99-108.
- <sup>363</sup> Chiang C-C, Cheng M-J, Peng C-F, Huang H-Y, Chen I-S. A novel dimeric coumarin analog and antimycobacterial constituents from *Fatoua pilosa*. *Chemistry and Biodiversity*, **2010**, 7, 1728-1736.
- <sup>364</sup> Toyama DO, Marangoni S, Diz-Filho EBS, Oliveira SCB, Toyama MH. Effect of umbelliferone (7-hydroxycoumarin, 7-HOC) on the enzymatic, edematogenic and necrotic activities of secretory phospholipase A2 (sPLA2) isolated from *Crotalus durissus collilineatus* venom. *Toxicon*, **2009**, 53, 417-426.
- <sup>365</sup> Ramalingam R, Vaiyapuri M. The effects of umbelliferone on lipid peroxidation and antioxidant status in diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma. *Journal of Acute Medicine*, **2013**, 1-10 (in press).
- <sup>366</sup> Ramesh B, Pugalendi KV. Antihyperlipidemic and antidiabetic effects of Umbelliferone in streptozotocin diabetic rats. *Yale J. Biol.Med.*, **2005a**, 78, 189-196.
- <sup>367</sup> Ramesh B, Pugalendi KV. Effect of Umbelliferone on cellular redox status in STZ-diabetic rats. *W. W. J. Biol.*, **2005c**, 9, 1.
- <sup>368</sup> Kanimozhi G, Prasad NR, Ramachandran S, Pugalendi KV. Umbelliferone modulates gamma-radiation induced reactive oxygen species generation and subsequent oxidative damage in human blood lymphocytes. *European Journal of Pharmacology*, **2011**, 672, 20-29.
- <sup>369</sup> Ramesh B, Viswanathan P, Pugalendi KV. Protective effect of Umbelliferone on membranous fatty acid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, **2007**, 566, 231-239.
- <sup>370</sup> Muthu R, Thangavel P, Selvaraj N, Ramalingam R, Vaiyapuri M. Synergistic and individual effects of umbelliferone with 5-fluorouracil on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against 1,2-dimethylhydrazine induced rat colon carcinogenesis. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, **2013**, 3, 74-82.
- <sup>371</sup> Torres R, Faini F, Modak B, Urbina F, Labbe C, Guerrero J. Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry*, **2006**, 67, 984-987.
- <sup>372</sup> Choi EJ, Chee K-M, Lee BH. Anti-and prooxidant effects of chronic quercetin administration in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **2003**, 482, 281-285.
- <sup>373</sup> Choi EJ, Lee BH, Lee K, Chee K-M. Long-term combined administration of quercetin and daidzein inhibits quercetin-induced suppression of glutathione antioxidant defenses. *Food Chem. Toxicol.*, **2005**, 43, 793-798.
- <sup>374</sup> Ahmedova A, Paradowska K, Wawer I. <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C MAS NMR and DFT GIAO study of quercetin and its complex with Al (III) in solid state. *J. Inorg. Biochem.*, **2012**, 110, 27-35.
- <sup>375</sup> Rietjens IM, Boersma MG, van der Woude H, Jeurissen SM, Schutte ME, Alink GM. Flavonoids and alkenylbenzenes : Mechanisms of mutagenic action and carcinogenic risk. *Mutat. Res.*, **2005**, 574, 124-138.
- <sup>376</sup> Loa J, Chow P, Zhang K. Studies of structure-activity relationship on plant polyphenol-induced suppression of human liver cancer cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2009**, 63, 6, 1007-1016.

- <sup>377</sup> Chen W, Wang X, Zhuang J, Zhang L, Lin Y. Induction of death receptor 5 and suppression of surviving contribute to sensitization of TRAIL-induced cytotoxicity by quercetin in non-small cell lung cancer cells. *Carcinogenesis*, **2007**, 28, 10, 2114-2121.
- <sup>378</sup> Volate SR, Davenport DM, Muga SJ, Wargovich MJ. Modulation of aberrant crypt foci and apoptosis by dietary herbal supplements (quercetin, curcumin, silymarin, ginseng and rutin). *Carcinogenesis*, **2005**, 26, 8, 1450-1456.
- <sup>379</sup> Xing N, Chen Y, Mitchell SH, Young CY. Quercetin inhibits expression and function of the androgen receptor in LNCaP prostate cancer cells. *Carcinogenesis*, **2001**, 22, 3, 409-414.
- <sup>380</sup> Ferry DR, Smith A, Malkhandi J, Fyfe DW, de Takats PG, Anderson D, Baker J, Kerr DJ. Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. *Clinical Cancer Research*, **1996**, 2, 4, 659-668.
- <sup>381</sup> Middleton Jr.E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plants flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol. Rev.*, **2000**, 42, 4, 673-751.
- <sup>382</sup> Han XH, Hong SS, Hwang JS, Lee MK, Hwang BY, Ro JS. Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. *Arch. Pharm. Res.*, **2007**, 30, 1, 13-17.
- <sup>383</sup> Caria H, Chaveca T, Laires A, Rueff J. Genotoxicity of quercetin in the micronucleus assay in mouse bone marrow erythrocytes, human lymphocytes, V79 cell line and identification of kinetochore-containing (crest staining) micronuclei in human lymphocytes. *Mutat. Res.*, **1995**, 343, 85-94.
- <sup>384</sup> Gasper J, Rodrigues A, Laires A, Silva F, Costa S, Monteiro MJ, Monterio C, Rueff J. On the metabolisms of genotoxicity and metabolism of quercetin. *Mutagenesis*, **1994**, 9, 445-449.
- <sup>385</sup> Czczot H, Tudek B, Kusztelak J, Szymczyk T, Dobrowolska B, Glinkowska G, Malinowski J, Strzelecka H. Isolation and studies of the mutagenic activity in the Ames test of flavonoids naturally occurring in medical herbs. *Mutat. Res.*, **1990**, 240, 209-216.
- <sup>386</sup> Kamei H, Koide T, Hashimoto Y, Hasegawa M. Inhibition of cell growth in culture by quinones. *Cancer Biother. Radiopharm.*, **1998**, 13, 185-188.
- <sup>387</sup> Cenas N, Prast S, Nivinskas H, Sarlauskas J, Arnér ESJ. Interactions of nitroaromatic compounds with the mammalian selenoprotein thioredoxin reductase and the relation to induction of apoptosis in human cancer cells. *J. Biol. Chem.*, **2006**, 281, 5593-5603.
- <sup>388</sup> Babula P, Adam V, Kizek R, Sladky Z, Havel L. Naphthoquinones as allelochemical triggers of programmed cell death. *Environ. Exp. Bot.*, **2009**, 65, 330-337.
- <sup>389</sup> Omar S, Lemonnier B, Jones N, Ficker C, Smith ML, Neema C, Towers GH, Goel K, Arnason JT. Antimicrobial activity of extracts of eastern North American hardwood trees and relation to traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.*, **2000**, 73, 161-170.
- <sup>390</sup> Sugie S, Okamoto K, Rahman KMW, Tanaka T, Kawai K, Yamahara J, Mori H. Inhibitory effects of plumbagin and juglone on azoxymethane-induced intestinal carcinogenesis in rats. *Cancer Lett.*, **1998**, 127, 177-183.
- <sup>391</sup> Ji Y-B, Qu Z-Y, Zou X. Juglone-induced apoptosis in human gastric cancer SGC-7901 cells via the mitochondrial pathway. *Exp. Toxicol. Pathol.*, **2011**, 63, 69-78.
- <sup>392</sup> Kwiecinski MR, Pedrosa RC, Felipe KB, Farias MS, Glorieux C, Valenzuela M, Sid B, Benites J, Valderrama JA, Verrax J, Calderon PB. Inhibition of cell proliferation and migration by oxidative stress from ascorbate-driven juglone redox cycling in human bladder-derived T24 cells. *BBRC*, **2012**, 421, 268-273.
- <sup>393</sup> Santos DYAC, Salatino MLF. Foliar flavonoids of Annonaceae from Brazil: taxonomic significance. *Phytochemistry*, **2000**, 55, 567-573.
- <sup>394</sup> Leboeuf M, Cavé A, Bhaumik PK, Mukherjee B, Mukherjee R. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry*, **1982**, 21, 12, 2783-2813.
- <sup>395</sup> Cronquist A. The evolution and classification of flowering plants. *The New York Botanical Garden*, **1988**, New York.
- <sup>396</sup> Hutchinson J. The Genera of Flowering Plants. Dicotyledones. *Clarendon Press*, **1964**, 1, Oxford.
- <sup>397</sup> Heywood VH. Flowering Plants of the World. *University Press*, **1978**, Oxford.

- <sup>398</sup> <http://fr.wikitranslation.com/en/Annonaceae> (consulté le 30/10/2013)
- <sup>399</sup> Leboeuf M, Cavé A, Bhaumik PK, Mukherjee B, Mukherjee R. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry*, **1982**, 21, 12, 2783-2813.
- <sup>400</sup> Le Thomas A. Annonacées. In : Flore du Gabon, Aubréville A., Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, **1969**, 16, 1-371.
- <sup>401</sup> Hutchinson J. The Families of Flowering plants. *University Press*, **1973**, Oxford.
- <sup>402</sup> Keay RWJ, Annonaceae in Flora of West Tropical Africa, **1954**, 2<sup>nd</sup> Ed, Vol.1, London.
- <sup>403</sup> Janick J, Paull RE. The Encyclopedia of Fruit & Nuts. *Cambridge University Press*, **2006**, Cambridge, 180p.
- <sup>404</sup> Castaneda RR. Frutas silvestres de Colombia. Vol.II, **1969**, p.58-63, Bogota.
- <sup>405</sup> Kerharo J, Adam JG. La Pharmacopée sénégalaise traditionnelle, plantes médicinales et toxiques. Ed. Vigot Frères, Paris, **1974**, 1011 p.
- <sup>406</sup> Von Reis S, Lipp FJ. New plant sources for drugs and foods from the New York botanical garden herbarium. *Havard University Press*, **1982**, Cambridge, Massachusetts.
- <sup>407</sup> Walker A, Sillans R. Les plantes utiles du Gabon. *P. Lechevalier*, **1961**, Paris.
- <sup>408</sup> Leboeuf M, Streith J, Cavé A. Alcaloïdes des Annonacées: alcaloïdes des écorces de *Cananga odorata* Hook. F. et Thomson. *Ann. Pharm. Fr.*, **1975**, 33, 1, 43-47.
- <sup>409</sup> Mishra A, Dogra JVV, Singh JN, Jha OP. Post Coital Antifertility Activity of *Annona squamosa* and *Ipomoea fistula*. *Planta Med.*, **1979**, 35, 3, 283-285.
- <sup>411</sup> Naidu NB, Saletore SA. *Annona squamosa* (custard apple) seed. IV. Soapmaking properties. *Indian Soap J.*, **1954**, 20, 141-147.
- <sup>410</sup> Fatope MO, Audu OT, Takeda Y, Zeng L, Shi G, Shimada H, McLaughlin JL. Bioactive ent-kaurene diterpenoids from *Annona senegalensis*. *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 301-303.
- <sup>412</sup> Sahpaz S, Bories C, Loiseau PM, Cortes D, Hocquemiller R, Laurens A, Cave A. Cytotoxic and antiparasitic activity from *Annona senegalensis* seeds. *Planta Med.*, **1994**, 60, 538-540.
- <sup>413</sup> Freiburghaus F, Kaminsky R, Nkunya MH, Brun R. Evaluation of African medicinal plants for their *in vitro* trypanocidal activity. *J. Ethnopharmacol.*, **1996**, 55, 1-11.
- <sup>414</sup> Durodola JJ. Antitumor effects against sarcoma 180 ascites of fractions of *Annona senegalensis*. *Planta Med.*, **1975**, 28, 32-36.
- <sup>415</sup> Enweani IB, Esebelahie NO, Obroku J, Obi LC. Use of soursop and sweetsop juice in the management of diarrhoea in children. *J. Diarrhoeal Dis. Res.*, **1998**, 16, 252-253.
- <sup>416</sup> Anjaria JV. "Herbal Drugs: Potential for Industry and Cash". In: *New Crops for Food and Industry*. Ed. G. Wickens Haq N. and Day P. *Chapman and Hall*, London, UK, **1989**, pp.84-92.
- <sup>417</sup> Hopp DC, Zeng L, Gu Z, McLaughlin JL. Squamotacin: an annonaceous acetogenin with cytotoxic selectivity for the human prostate tumor cell line (PC-3). *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 97-99.
- <sup>418</sup> Nkunya MHH, Weenen H, Bray DH, Mgani QA, Mwasumbi LB. Antimalarial activity of Tanzanian plants and their active constituents: the genus *Uvaria* (Annonaceae). *Planta Med.*, **1991**, 57, 341-343.
- <sup>419</sup> Kokwaro JO. Medicinal Plants of East Africa. 3<sup>rd</sup> Ed., **2009**, Nairobi: University of Nairobi Press, 478p.
- <sup>420</sup> Peigen X. Recent developments on medicinal plants in China. *J. Ethnopharm.*, **1983**, 7, 95-109.
- <sup>421</sup> Bouquet A. Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville). Mémoire N°36, O.R.S.T.O.M, **1969**, Paris.
- <sup>422</sup> Hirschhorn HH. Botanical remedies of the former Dutch East Indies (Indonesia). Part II: Dicotyledones up to and including *leguminosae*. *J. Ethnopharm.*, **1983**, 8, 65-96.
- <sup>423</sup> Prakash AO. Effect of *Artabotrys odoratissimus* extracts on rat uterine glycogen, protein and non protein nitrogen. *Planta Med.*, **1980**, 38, 54-61.
- <sup>424</sup> Prakash AO. Antiestrogenic mode of action of leaf extracts of *Artabotrys odoratissimus*. *Indian J. Exp. Biol.*, **1978**, 16, 1214-1215.

- <sup>425</sup> Shamma M, Moniot JL. Isoquinoline alkaloids research, 1972-1977. *Plenum Press*, **1978**, New York, 425 p.
- <sup>426</sup> Shamma M. The isoquinoline alkaloids, chemistry and pharmacology. *Academic Press*, **1972**, New York, 594 p.
- <sup>427</sup> Boti JB, Yao PA, Koukoua G, N'guessan TY, Casanova J. Components and chemical variability of *Isolona campanulata* Engler & Diels leaf oil. *Flavour Fragr. J.*, **2006**, 21, 166-170.
- <sup>428</sup> Achenbach H, Löwel M. Constituents of *Isolona maitlandii*. *Phytochemistry*, **1995**, 40, 3, 967-973.
- <sup>429</sup> Achenbach H. Investigations on west African medicinal plants. *Pure Applied Chemistry*, **1986**, 58, 5, 653-662.
- <sup>430</sup> [http://www.plantes-botanique.org/genre\\_isolona](http://www.plantes-botanique.org/genre_isolona) (consulté le 30/10/2013)
- <sup>431</sup> Kerharo J, Bouquet A. Plantes médicinales et toxiques de la Côte d'Ivoire et Haute-Volta. Ed. Vigot Frères, Paris, **1950**, 295 p.
- <sup>432</sup> Adjanohoun EJ, Aké Assi L. Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Éd. Centre National de Floristique, Abidjan, **1979**, 250 p.
- <sup>433</sup> Cabalion P, Fournet A, Mangenet P, Bouquet A. Preliminary chemical studies on plants of the Congo. *Fitoterapia*, **1980**, 51, 2, 89-111.
- <sup>434</sup> Hocquemiller R, Cabalion P, Bruneton J, Cavé A. Alcaloïdes des Annonacées : 23. Alcaloïdes des écorces d'*Isolona campanulata* Engler et Diels. *Pl. Med. Phytoth*, **1978**, 12, 3, 230-234.
- <sup>435</sup> Odebiyi OO, Sofowora EA. Phytochemical screening of Nigerian medicinal plants II. *Llodia*, **1978**, 41, 3, 234-246.
- <sup>436</sup> Barbosa-Filho JM, Ca-Cunha EVL, Gray AI. In: Cordell GA, Editor. Alkaloids of the Menispermaceae. *The alkaloids*, **2000**, 54, 1-190.
- <sup>437</sup> Cometa MF, Fortuna S, Palazzino G, Volpe MT, Salgado ER, Nicoletti M, Tomassini L. New cholinesterase inhibiting bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Abuta grandifolia*. *Fitoterapia*, **2012**, 83, 476-480.
- <sup>438</sup> Otshudi AL, Apers S, Pieters L, Claeys M, Pannecouque C, De Clercq E, Van Zeebroeck A, Lauwers S, Frédérick M, Foriers A. Biologically active bisbenzylisoquinoline alkaloids from the root bark of *Epinerum villosum*. *J. Ethnopharmacol.*, **2005**, 102, 89-94.
- <sup>439</sup> Mambu L, Martin M-T, Razafimahefa D, Ramanitrahambola D, Rasoanaivo P, Frappier F. Spectral characterisation and antiplasmodial activity of bisbenzylisoquinolines from *Isolona ghesquiereina*. *Planta Med.*, **2000**, 66, 537-540.
- <sup>440</sup> Hocquemiller R, Cabalion P, Bouquet A, Cavé A. *C. R. Acad. Sci. Paris, Série C*, **1977**, 285, 447.
- <sup>441</sup> Leboeuf M, Cavé A, Forgacs P, Tiberghien R, Provost J, Touché A, Jacquemin H. Alcaloïdes des Annonacées XL : étude chimique et pharmacologique des alcaloïdes de l'*Annona montana* MACF. *Plantes médicinales et phytothérapie*, Tome XVI, **1982b**, 3, 169-184.
- <sup>442</sup> Borup-Grochtmann I, Kingston DGI. Aporphine Alkaloids from *Annona acuminata*. *J. Nat. Prod.*, **1982**, 45, 102.
- <sup>443</sup> Sheppard H, Brughardt CR. The dopamine-sensitive adenylate cyclase of the rat caudate nucleus-3. The effect of aporphines and protoberberines. *Biochem. Pharmacol.*, **1978**, 27, 8, 1113-1116.
- <sup>444</sup> Chen CR, Beal JL, Duskotch RW, Mitscher LA, Svoboda GH. A phytochemical study of *Doryphora sassafras*. II. Isolation of eleven crystalline alkaloids from the bark. *Lloydia*, **1974**, 37, 3, 493-500.
- <sup>445</sup> Makangara JJ, Henry L, Jonker SA, Nkunya MHH. The caulindoles: dimeric prenylindoles from *Isolona cauliflora*. *Phytochemistry*, **2004**, 65, 227-232.
- <sup>446</sup> Achenbach H. Investigations on West African medicinal plants. *Pure Appl. Chem.*, **1986**, 58, 5, 653-662.
- <sup>447</sup> Hutchinson J, Dalziel JM. Flora of West Tropical Africa. *HMSO*, **1954**, Vol.1, part 1, 2<sup>nd</sup> Ed., London.
- <sup>448</sup> Irvine FR. Woody Plants of Ghana. *Oxford University Press*, Oxford, London, **1961**, 868 p.
- <sup>449</sup> Djama AAD, Kouassi Goffri MC, Koua AA, Ofosu FG, Aboh IJK. Trace Element Analysis of some Antiparasitic Medicinal Plants in Côte d'Ivoire Using Energy-Dispersive X-ray Fluorescence (EDXRF) Technique. *Curr. Res. J. Biol. Sci.*, **2011**, 3, 3, 209-215.

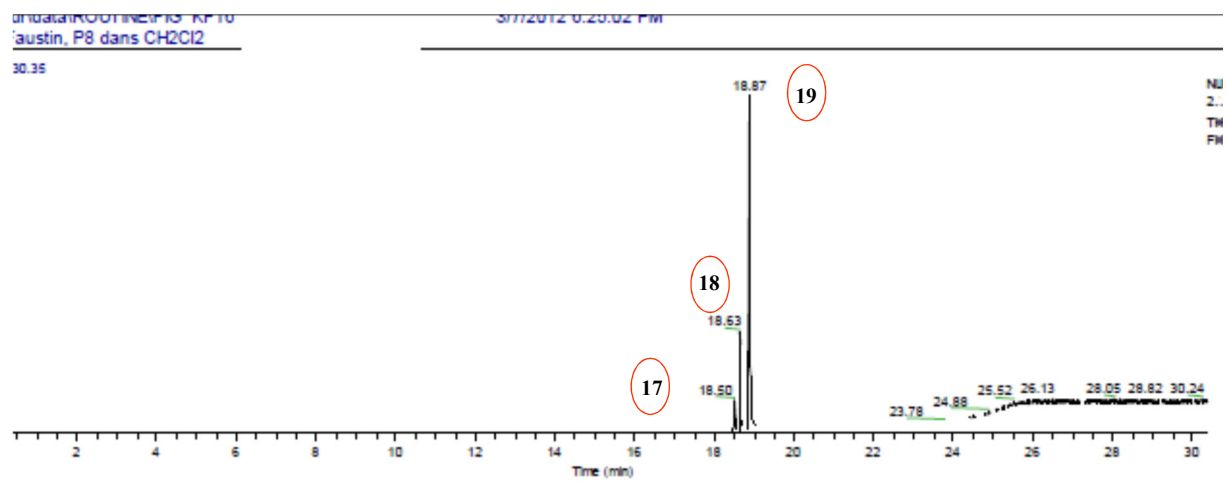
- <sup>450</sup> Islam MK, Sohrab MH, Jabbar A. Caffeine and *P*-anisaldehyde from the fruits of *Enterolobium saman* prain. *IJPSR*, **2012**, 3, 1, 168-170.
- <sup>451</sup> Weston RJ, Gottlieb HE, Hagaman EW, Wenkert E. Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Naturally Occurring Substances. LI\* *Solanum* Glycoalkaloids. *Aust. J. Chem.*, **1977**, 30, 917-921.
- <sup>452</sup> Roddick JG. The steroidal glycoalkaloid  $\alpha$ -tomatine. *Phytochemistry*, **1974**, 13, 9-25.
- <sup>453</sup> Bruneton J, Bouquet A, Cavé A. Alcaloides des feuilles du *Crioceras dipladeniiflorus*. *Phytochemistry*, **1974**, 13, 1963-1967.
- <sup>454</sup> Montagnac A, Hamid A, Hadi A, Remy F, Païs M. Isoquinoline alkaloids from *Ancistrocladus tectorius*. *Phytochemistry*, **1995**, 39, 3, 701-704.
- <sup>455</sup> Leopold N, Baena JR, Bolboacă M, Cozar O, Kiefer W, Lendl B. Raman, IR, and surface-enhanced Raman spectroscopy of papaverine An automated setup for in situ synthesis of the silver substrate and recording of the SER spectra. *Vib. Spectrosc.*, **2004**, 36, 47-55.
- <sup>456</sup> Marsailoli AJ, Rúveda EA, Reis FAM. <sup>13</sup>C NMR spectral analysis of some isoquinoline alkaloids. *Phytochemistry*, **1978**, 17, 1655-1658.
- <sup>457</sup> Janssen RHAM, Lousberg RJJ, Wijkens P, Kruk C, Theuns HG. Assignment of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR resonances of some isoquinoline alkaloids. *Phytochemistry*, **1989**, 28, 10, 2833-2839.
- <sup>458</sup> Baldas J, Bick IRC, Ibuka T, Falco MR, de Vries JX, Porter QN. Mass spectroscopy of bisbenzylisoquinoline alkaloids. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1972**, 592-601.
- <sup>459</sup> Schiff PL Jr. Bisbenzylisoquinoline alkaloids. *J. Nat. Prod.*, **1987**, 50, 529 -599.
- <sup>460</sup> Dwuma-Badu D, Ayim JSK, Mingle CA, Tackie AN, Slatkin DJ, Knapp JE, Schiff PL Jr. Alkaloids of *Cissampelos pareira*. *Phytochemistry*, **1975**, 2520-2521.
- <sup>461</sup> Kanyinda B, Vanahaelen-Fastré R, Vanaelen M. Two new isochondodendrine-type alkaloids from the roots of *Anisocycla jollyana*. *J. Nat. Prod.*, **1997**, 60, 1121-1124.
- <sup>462</sup> Faltis F, Neumann F. Alkaloids the pareira root. II. Isochondodendrine. *Monatshefte fuer Chemie*, **1922**, 42, 311-376.
- <sup>463</sup> Wang X-K, Zhao T-F, Lai S, Shizuri Y, Yamamura S. Head-to-tail bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Cyclea sutchuenensis*. *Phytochemistry*, **1993**, 33, 5, 1253-1256.
- <sup>464</sup> Yang J, Zhou K. Spectral assignments and reference data. NMR spectroscopic analysis of neferine and isoliensinine. *Magn. Res. Chem.*, **2004**, 42, 994-997.
- <sup>465</sup> Mukherjee R, Keifer PA. Spectral assignments and reference data. Warifteine and methylwarifteine: <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C assignments by two-dimensional NMR spectroscopy. *Magn. Res. Chem.*, **2003**, 41, 213-218.
- <sup>466</sup> De Lacruz JP, Villalobos MA, Carmona JA, Martin-Romero M, Smith-Agreda JM, de la Cuesta FS. Antithrombotic potential of olive oil administration in rabbits with elevated cholesterol. *Thromb. Res.*, **2000**, 100, 305-315.
- <sup>467</sup> Edwards VJ, Howley P, Davis R, Mashchak A, Goheen SC. Protease inhibition by oleic acid transfer from chronic wound dressings to albumin. *International Journal of Pharmaceutics*, **2007**, 340, 42-51.
- <sup>468</sup> Namikoshi M, Suzuki S, Meguro S, Kobayashi H, Mine Y, Kasuga I. Inhibitors of microtubule assembly produced by marine fungus strain TUF 98F139 collected in Palau. *J. Tokyo Univ. Fish.*, **2002**, 88, 1-6.
- <sup>469</sup> Yuan Q, Zhao S, Wang F, Zhang H, Chen Z-J, Wang J, Wang Z, Du Z, Ling E-A, Liu Q, Hao A. Palmitic acid increases apoptosis of neural stem cell *via* activating c-Jun N-terminal kinase. *Stem Cell Research*, **2013**, 10, 257-266.
- <sup>470</sup> Jiang H, Liang C, Liu X, Jiang Q, He Z, Wu J, Pan X, Ren Y, Fan M, Li M, Wu Z. Palmitic acid promotes endothelial progenitor cells apoptosis via p38 and JNK mitogen-activated protein kinase pathways. *Atherosclerosis*, **2010**, 210, 71-77.
- <sup>471</sup> Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A, Huang Y. High-density lipoprotein cholesterol as a predictor of coronary heart disease risk: the PROCAM experience and pathophysiological implications for reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*, **1996**, 124, S11-20.

- <sup>472</sup> Ishiyama J, Taguchi R, Yamamoto A, Murakami K. Palmitic acid enhances lectin-like oxidized LDL receptor (LOX-1) expression and promotes uptake of oxidized LDL in macrophage cells. *Atherosclerosis*, **2010**, 209, 118-124.
- <sup>473</sup> Nadathur SR, Carney JR, Gould SJ, Bakalinsky AT. Palmitic acid is the major fatty acid responsible for significant anti-*N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) activity in yogurt. *Mutation Res.*, **1996**, 359, 179-189.
- <sup>474</sup> Bodana AR, Rao DR. Antimutagenic activity of milk fermented by *Streptococcus thermophiles* and *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Dairy Sci.*, **1990**, 73, 3379-3384.
- <sup>475</sup> Marambe B, Nagaoka T, Ando T. Identification and biological activity of germination-inhibiting long-chain fatty acids in animal-waste composts. *Plant Cell Physiol.*, **1993**, 34, 605-612.
- <sup>476</sup> Fournet A, Monjon AM, Muñoz V, Angelo A, Bruneton J, Hocquemiller R, Cortes D, Cavé A. Activité antiparasitaire d'alcaloïdes bisbenzylisoquinoléines. I. Activité *in vitro* sur des promastigotes de trois souches de *Leishmania*. *J. Ethnopharmacol.*, **1988a**, 24, 327-335.
- <sup>477</sup> Fournet A, Monjon AM, Muñoz V, Angelo A, Bruneton J, Hocquemiller R, Cortes D, Cavé A. Activité antiparasitaire d'alcaloïdes bisbenzylisoquinoléines. II. Activité *in vitro* sur des épimastigotes de trois souches typifiées de *Trypanosoma cruzi*. *J. Ethnopharmacol.*, **1988b**, 24, 337-343.
- <sup>478</sup> Marshall SJ, Russell PF, Wright CW, Anderson MM, Phillipson JD, Kirby GC, Warhurst DC, Schiff Jr PL. *In vitro* antiplasmodial, antiamoebic, and cytotoxic activities of a series of bisbenzylisoquinoline alkaloids. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1994**, 38, 96-103.
- <sup>479</sup> Harley KLS, Thorsteinson AJ. The influence of plant chemicals on the feeding behavior, development, and survival of the two-striped grasshopper, *Melonoplus bivittatus* (Say), Acrididae: Orthoptera. *Can. J. Zool.*, **1967**, 45, 305-319.
- <sup>480</sup> Harley KLS. A note on the influence of a range of plant chemicals on the growth and survival of *Aedes aegyptii* L. Larvae. *Can. J. Zool.*, **1967**, 45, 1297-1300.
- <sup>481</sup> Forsyth AA. British poisonous plants. HMSO, London, **1968**, 2<sup>nd</sup> Ed., 131p.
- <sup>482</sup> Fraenkel G. The raison d'être of secondary plant substances. *Science*, **1959**, 129, 1466-1470.
- <sup>483</sup> Cayen MN. Effect of dietary tomatine on cholesterol metabolism in the rat. *J. Lipid Res.*, **1971**, 12, 4, 482-490.
- <sup>484</sup> Camacho MR, Phillipson JD, Croft SL, Rock P, Marshall SL, Schiff Jr PL. *In vitro* activity of *Triclisia patens* and some bisbenzylisoquinoline alkaloids against *Leishmania donovani* and *Trypanosoma brucei brucei*. *Phytother. Res.*, **2002**, 16, 432-436.
- <sup>485</sup> Mosher HS, Dale JA. Nuclear magnetic resonance enantiomer reagents. Configurational correlations via nuclear magnetic resonance chemical shifts of diastereomeric mandelate, o-methylmandelate, and  $\alpha$ -methoxy- $\alpha$ -trifluoromethylphenylacetate (MTPA) esters. *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, 95, 512-518.
- <sup>486</sup> Kumar RN, Meshram HM. Total synthesis of (-)-diospongin A and (+)-cryptofolione via asymmetric aldol reaction. *Tetrahedron Letters*, **2011**, 52, 9, 1003-1007.
- <sup>487</sup> Touati R, Ratovelomanana-Vidal V, Hassine BB, Genêt J-P. Synthesis of enantiopure (*R*)-(-)-massoialactone through ruthenium-SYNPHOS® asymmetric hydrogenation. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, 17, 24, 3400-3405.
- <sup>488</sup> de Oliveira CMA, Silva MRR, Kato L, da Silva CC, Ferreira HD, Souza LKH. Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of *Hyptis ovalifolia* Benth. (Lamiaceae). *J. Braz. Chem. Soc.*, **2004**, 15, 5, 756-759
- <sup>489</sup> Arnaud P. Cours de chimie organique. 2<sup>e</sup> tirage, **1990**, 15<sup>e</sup> Ed., Ed. Dunod, 522p.
- <sup>490</sup> Munier RM. Caractérisation chimique des alcaloïdes, *Bull., Société chimique et Biologique*, 35, **1953**, 1225p.
- <sup>491</sup> Kurt Randerath. Chromatographie sur couches minces. 2<sup>e</sup> Ed. GAUTHIER-VILLARS, 55, quai des Grands-Augustins, Paris 6<sup>e</sup>, **1971**, 399 p.
- <sup>492</sup> Wagner H, Bladt S, Zgainski EM. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, **1984**, 320p.
- <sup>493</sup> Tschesche R, Petersen. Alkaloids in plants, *Chemische Berichte*, 87, **1953**, 269p.
- <sup>494</sup> Fink K, Fink RM. Process experimental in Biology and Medicine, 70, **1949**, 654p.

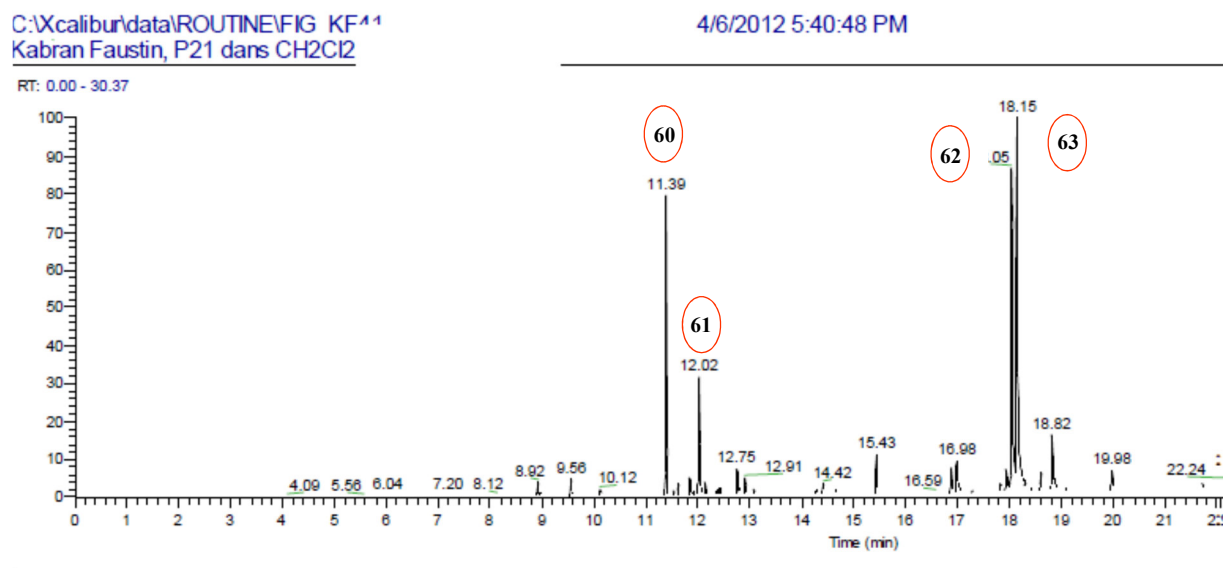
- <sup>495</sup> Sahu VK, Irchhaiya R, Shashi A, Gurjar H. Phytochemical investigation and chromatographic evaluation of the ethanolic extract of whole plant extract of *Dendrophthoe falcate* (L.F) Ettingsh. *IJPSR*, **2010**, 1, 1, 39-45.
- <sup>496</sup> Loiseau PM, Lubert P, Wolf JG. Contribution of dithiol ligands to *in vitro* and *in vivo* trypanocidal activities of dithiaarsanes and investigation of ligand exchange in an aqueous solution. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2000**, 44, 2954-2961.
- <sup>497</sup> Ravina E, Sanchezalonso R, Fueyo J, Baltar MP, Bos J, Iglesias R, Sanmartin ML. Synthesis and potential anthelmintic activity of methyl-5-(4-salicyloyl-piperazin-1-yl)-benzimidazole-2-carbamates. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research*, **1993**, 43-1, 6, 689-694.

# ANNEXES

## Annexe 1 : Chromatogramme en SMIE des composés 17, 18, 19



## Annexe 2 : Chromatogramme en SMIE des composés 60, 61, 62 et 63



# LISTES

---

## Légende :

I : Première partie

II : Deuxième partie

III : Troisième partie

C : Partie expérimentale

## 1. Liste des figures

Figure I.1.1.1 : Répartition des Euphorbiaceae dans le monde

Figure I.1.2.3.1a : Structure de la mussaenoside isolée de *Mallotus apelta*

Figure I.1.2.3.1b : Structure du longibornéol

Figure I.1.2.3.1c1a : Squelette rosane

Figure I.1.2.3.1c1b : Rosanes isolés de *Mallotus anomalus*

Figure I.1.2.3.1c2 : Diterpènes de type dolabradane isolés de *Mallotus apelta*

Figure I.1.2.3.1c3 : Diterpènes lactones isolés de *Mallotus repandus*

Figure I.1.2.3.1c4a : Squelette casbène

Figure I.1.2.3.1c4b : Cembrènes isolés de *Mallotus apelta*

Figure I.1.2.3.1c4c : Casbènes isolés de *Mallotus hookerianus*

Figure I.1.2.3.1d1 : Triterpènes de type 6/6/6/6/5 isolés des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.1d2a : Triterpènes de type ursane isolés des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.1d2b : Triterpènes de types friedelane et oleanane isolés des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.1e : Caroténoïdes isolés de *Mallotus apelta*

Figure I.1.2.3.1f : Structure du betulaprénil

Figure I.1.2.3.1g : Squalène et *trans*-phytol isolés de *Mallotus apelta*

Figure I.1.2.3.2 : Stéroïdes isolés des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.3 : Acides gras isolés des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.4 : Amide et polyamides isolés des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.5 : Alcaloïdes isolés des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.6 : Phtalates isolés des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.7a : Coumarines, isocoumarines et coumarinolignoïdes isolées des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.7b : Noyau de base des phloroglucinols

Figure I.1.2.3.7b1 : Phloroglucinols simples extraits des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.7b2a : Phloroglucinols dimériques des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.7b2b : Phlorotanins isolés de *Mallotus philippinensis*

Figure I.1.2.3.7c : Acide gallique et dérivés des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.7d : Exemples de flavones, flavonols et flavonolignanes isolés des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.7f : Quinone et acide-phénol isolés des *Mallotus*

Figure I.1.2.3.8 : Composés isolés de *Mallotus apelta* et de *M. metcalfianus*

Figure I.1.3.5 : Phloroglucinols isolés de *M. oppositifolius*

Figure I.2.1 Extractions de *Mallotus oppositifolius*

Figure I.2.2.1a : Purification de l'extrait hexanique des feuilles de *Mallotus oppositifolius*

Figure I.2.2.1b : Purification de l'extrait chlorométhylénique des feuilles de *Mallotus oppositifolius*

Figure I.2.2.1c : Purification de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Mallotus oppositifolius*

Figure I.2.2.2 : Purification des extraits cyclohexanique, chlorométhylénique et à l'acétate d'éthyle des écorces de tige de *Mallotus oppositifolius*

Figure I.2.2.3 : Purification des extraits cyclohexanique, chlorométhylénique et à l'acétate d'éthyle des racines de *Mallotus oppositifolius*

Figure I.2.2.4 : Purification des extraits cyclohexanique, chlorométhylénique et à l'acétate d'éthyle des fruits de *Mallotus oppositifolius*

Figure I.3.1.2a : Corrélations importantes en COSY et en HMBC du lupéol

Figure I.3.1.2b : Fragments importants en SMIE du lupéol

Figure I.3.1.7 : Quelques corrélations en COSY et en NOESY du squalène

Figure I.3.1.8a : Quelques corrélations en COSY et en HMBC du phytol

Figure I.3.1.8b : Fragments importants en SMIE du phytol

Figure I.3.1.3a : Corrélations importantes en COSY et en HMBC du stigmastérol

Figure I.3.1.3b : Fragments caractéristiques en SMIE du stigmastérol

Figure I.3.2.5a : Structure du pentatriacont-1-ène

Figure I.3.2.5b : Fragments en SMIE du bis (6-méthylheptyl) phtalate

Figure I.3.2.4 : Fragments importants en SMIE du composé **33**

Figure I.3.1.10a : Structure du composé **54**

Figure I.3.1.10b : Quelques fragments importants en SMIE du composé **54**

Figure I.3.2.6 : Fragments importants en SMIE des composés **60**, **61**, **62** et **63**

Figure I.3.1.15a : Structure du composé **71**

Figure I.3.1.15b : Corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé **71**

Figure I.3.3.11 : Quelques réactifs de caractérisation des composés phénoliques

Figure I.3.3.12a : Fragments caractéristiques des dimères à pont méthylène

Figure I.3.3.12b : Fragments caractéristiques des dimères benzopyraniques

Figure I.3.3.12c : Acide filicinique

Figure I.3.3.3 : Formation de la coumarine à partir de l'acide ortho-hydroxy-Z-cinnamique

Figure I.3.3.5 : Quelques classes de flavonoïdes

Figure I.3.3.5.2 : Fragmentation par rétro Diels-Alder des flavones

Figure I.3.3.2.1a : Quelques corrélations importantes en HMBC du composé **1**

Figure I.3.3.2.1b : Fragments importants en SMIE du composé **1**

Figure I.3.3.2.1c : Corrélations en NOESY du composé **1**

Figure I.3.3.2.2a : Structure du composé **2**

Figure I.3.3.2.2b : Corrélations importantes en HMBC, COSY et NOESY de **2**

Figure I.3.3.2.2c : Fragments en ESI du composé **2**

Figure I.3.3.2.3a : Structure du composé **4**

Figure I.3.3.2.3b : Corrélations importantes en HMBC et COSY du composé **4**

Figure I.3.3.2.3c : Corrélations importantes en NOESY du composé **4**

Figure I.3.3.2.3d : Hypothèse biogénétique des molécules **2** et **4**

Figure I.3.3.2.4 : Quelques corrélations importantes en COSY, en HMBC et en NOESY de la molécule **3**

Figure I.3.3.2.5 : Structure du composé **5**

Figure I.3.3.7.2 : Quelques corrélations importantes en HMBC du méthyl gallate

Figure I.3.3.8.1 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC de l'acide-2,3-dihydroxybenzoïque

Figure I.3.3.8.1 : Corrélations importantes en COSY et en HMBC de la bergénine

Figure I.3.3.8.3a : Structure du composé **9**

Figure I.3.3.8.3b : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé **9**

Figure I.3.3.8.3c : Structures du composé **9** et de l' $\alpha$ -tocophérol

Figure I.3.2.7 : Fragments en SMIE des composés **22**, **23** et **24**

Figure I.3.1.9 : Quelques corrélations en COSY et en HMBC de la molécule **16**

Figure I.3.2.8a : Structure des molécules **31** et **32**

Figure I.3.2.8b : Fragments en SMIE des composés **31** et **32**

Figure I.3.1.6a : Corrélations importantes en COSY et en HMBC de la friedeline

Figure I.3.1.6b : Fragments importants en SMIE de la friedeline

Figure I.3.1.3a : Corrélations importantes en COSY et en HMBC du stigmastérol

Figure I.3.1.3b : Fragments caractéristiques en SMIE du stigmastérol

Figure I.3.2.1 : Fragments caractéristiques en SMIE du campestérol

Figure I.3.2.2 : Fragments importants en SMIE des composés **25**, **26**, **27** et **28**

Figure I.3.2.3 : Fragments importants en SMIE des composés **29**, **30** et **53**

Figure I.3.1.14a : Structure du composé **59**

Figure I.3.1.14b : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé **59**

Figure I.3.3.1.9a : Structure du composé **64**

Figure I.3.1.13 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du pentacosanoate d'éthyle

Figure I.3.3.8.4a : Structure du composé **12**

Figure I.3.3.8.4b : Corrélations en COSY et en HMBC du composé **12**

Figure I.3.3.8.4c : Quelques fragments importants en SMIE du composé **12**

Figure I.3.3.4.2 : Quelques corrélations en COSY et en HMBC de la scopolétine

Figure I.3.1.4 : Fragments caractéristiques en SMIE du  $\beta$ -sitostérol

Figures I.3.1.5 : Fragments caractéristiques en SMIE du cholestérol

Figure I.3.3.4.1 : Quelques corrélations en COSY et en HMBC de l'ombelliférone

Figure I.3.3.4.3a : Structure de la molécule **70**

Figure I.3.3.4.3b : Fragments en APCI/MS/MS du composé **70**

Figure I.3.3.4.3c : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé **70**

Figure I.3.3.6.1 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC de la quercétine

Figure I.3.3.6.2 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC de la vitexine

Figure I.3.3.7.1 : Quelques corrélations importantes en HMBC de l'acide gallique

Figure I.3.3.8.2 : Corrélations en COSY et en HMBC de la juglone

Figure I.3.1.12a : Structure de la molécule **55**

Figure I.3.1.12b : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé **55**

Figure I.3.1.11 : Structure de l'acide tétratriacontanoïque

Figure II.1.2.3.1 : Polycarpol

Figure II.1.2.3.2a : Bisbenzyltétrahydroisoquinoléines des *Isolona*

Figure II.1.2.3.2b : Aporphinoïdes des *Isolona*

Figure II.1.2.3.3 : Indoles prénylés isolés des *Isolona*

Figure II.1.3.4 : Molécules d'*Isolona cooperi*

Figure II.2.1 : Extractions d'*Isolona cooperi*

Figure II.2.2.1 : Purification des extraits chlorométhylénique et alcaloïdique des feuilles d'*Isolona cooperi*

Figure II.2.2.2 : Purification des extraits chlorométhylénique et alcaloïdique des écorces de tige d'*Isolona cooperi*

Figure II.2.2.3 : Purification des extraits chlorométhylénique et alcaloïdique des racines d'*Isolona cooperi*

Figures II.3.1.3 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC de l'oléate de méthyle

Figure II.3.1.4 : Fragments en SMIE du palmitate de méthyle

Figure II.3.1.5 : Quelques fragments importants en SMIE des composés **68** et **69**

Figure II.3.1.6 : Quelques fragments importants en SMIE des composés **57**, **58**, **65**, **66** et **67**

Figure II.3.2.1 : Quelques fragments importants en SMIE de l'hexadécanamide

Figure II.3.2.2 : Fragments importants en SMIE des composés **41** et **43**

Figure II.3.2.3 : Corrélations en HMBC de la caféine

Figure II.3.1.1 : Quelques corrélations en COSY et en HMBC de l'acide oléique

Figure II.3.1.7a : Structure du composé **74**

Figure II.3.1.7b : Corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé **74**

Figure II.3.2.7a : Structure du composé **48**

Figure II.3.2.7b : Quelques corrélations importantes en HMBC et en COSY du composé **48**

Figure II.3.2.8a : Structures de la sutchuenenine et du composé **72**

Figure II.3.2.8b : Quelques corrélations importantes en HMBC et en COSY du composé **72**

Figure II.3.1.2 : Quelques fragments importants en SMIE de l'acide 6-octadécénoïque.

Figure II.3.2.5 : Quelques corrélations importantes en COSY et en HMBC du composé **50**

Figure II.3.2.4 : Structure de l' $\alpha$ -tomatine

Figure II.3.2.6 : Corrélations importantes en COSY, NOESY et en HMBC de la papavérine  
 Figure II.3.2.9a : Structures du composé **73** et de la néférine  
 Figure II.3.2.9b : Corrélations importantes en HMBC et en COSY du composé **73**  
 Figure II.3.2.9c : Hypothèse biogénétique de la molécule **73**  
 Figure III.1 : Structure de l'apoprunellelactone  
 Figure III.3a : Quelques  $\delta$ -lactones  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturées d'intérêt biologique  
 Figure III.3b : Sites réactifs de l'apoprunellelactone  
 Figure III.3.1.1 : Réaction d'hydrogénation de l'apoprunellelactone  
 Figure III.3.1.3 : Structure du composé APL3  
 Figure III.3.2.1 : Réaction d'acétylation de l'apoprunellelactone  
 Figure III.3.2.3 : Structure du composé APL2  
 Figure III.3.3.1 : Réaction de réduction du cycle de l'apoprunellelactone  
 Figure III.3.3.2 : Mécanisme de la réaction de réduction de cycle de l'apoprunellelactone  
 Figure III.3.3.3 : Structure du composé APL1  
 Figure III.3.4.1 : Réaction d'oxydation de l'apoprunellelactone par OsO<sub>4</sub>  
 Figure III.3.4.2 : Mécanisme de la réaction d'oxydation de l'apoprunellelactone par OsO<sub>4</sub>  
 Figure III.3.4.3 : Structure du composé APL7

## 2. Liste des tableaux

Tableau I.3.1.2 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du lupéol  
 Tableau I.3.1.3 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du stigmastérol  
 Tableau I.3.1.4 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du  $\beta$ -sitostérol  
 Tableau I.3.1.5 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du cholestérol  
 Tableau I.3.1.6 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la friedeline  
 Tableau I.3.1.7 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du squalène  
 Tableau I.3.1.8 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du (*E*)-phytol  
 Tableau I.3.1.9 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule **16**  
 Tableau I.3.1.10 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule **54**  
 Tableau I.3.1.11 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de l'acide tétratriacontanoïque  
 Tableau I.3.1.12 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule **55**  
 Tableau I.3.1.13 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du pentacosanoate d'éthyle  
 Tableau I.3.1.14 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule **59**  
 Tableau I.3.1.15 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule **71**  
 Tableau I.3.2.1 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> des composés **18** et **19**  
 Tableau I.3.2.2 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> des composés **25**, **26**, **27** et **28**  
 Tableau I.3.2.4 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule **33**  
 Tableau I.3.2.5a : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du bis (6-méthylheptyl) phtalate  
 Tableau I.3.2.5b : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du pentatriacont-1-ène  
 Tableau I.3.2.7 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> des molécules **22**, **23** et **24**  
 Tableau I.3.2.8 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> des molécules **31** et **32**  
 Tableau I.3.3.2.1 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du composé **1**  
 Tableau I.3.3.2.2 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du composé **2**  
 Tableau I.3.3.2.3 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du composé **4**  
 Tableau I.3.3.2.4 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule **3**  
 Tableau I.3.3.2.5 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> du composé **5**  
 Tableau I.3.3.4.1 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le MeOD de l'ombelliférone  
 Tableau I.3.3.4.2 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la scopolétine  
 Tableau I.3.3.4.3 : RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C dans le CDCl<sub>3</sub> de la molécule **70**

Tableau I.3.3.6.1: RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$  de la quercétine

Tableau I.3.3.6.2 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le DMSO de la vitexine

Tableau I.3.3.7.1 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$  de l'acide gallique

Tableau I.3.3.7.2 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le MeOD du méthyl gallate

Tableau I.3.3.7.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le MeOD de l'acide-2,3-dihydroxybenzoïque

Tableau I.3.3.8.1 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le MeOD de la bergénine

Tableau I.3.3.8.2 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la juglone

Tableau I.3.3.8.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **9**

Tableau I.3.3.8.4 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **12**

Tableau I.3.3.1.7 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  des molécules **29**, **30** et **53**

Tableau I.4.2.1 : Activités trypanocides (en  $\text{CL}_{100}$ ), leishmanicides (en  $\text{CE}_{50}$ ) et anthelminthiques (en  $\text{CE}_{50}$ ) des extraits et produits des feuilles de *M. oppositifolius*

Tableau I.4.2.2 : Activités trypanocides (en  $\text{CL}_{100}$ ) et leishmanicides (en  $\text{CE}_{50}$ ) des extraits et produits des écorces de tige de *M. oppositifolius*

Tableau I.4.2.3 : Activités trypanocides (en  $\text{CL}_{100}$ ) et leishmanicides (en  $\text{CE}_{50}$ ) des extraits et produits des racines de *M. oppositifolius*

Tableau II.3.1.1 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de l'acide oléique

Tableau II.3.1.2 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de l'acide 6-octadécénoïque

Tableau II.3.1.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de l'oléate de méthyle

Tableau II.3.1.6 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  des composés **57**, **58**, **65**, **66** et **67**

Tableau II.3.1.7 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **74**

Tableau II.3.2.1 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le MeOD de l'hexadécanamide

Tableau II.3.2.2 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  des molécules **41** et **43**

Tableau II.3.2.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la caféine

Tableau II.3.2.4 : RMN  $^{13}\text{C}$  dans MeOD de l' $\alpha$ -tomatine

Tableau II.3.2.7 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **48**

Tableau II.3.2.8 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$  de la molécule **72**

Tableau II.3.2.8 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **73**

Tableau I.3.3.1.4 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la Friedeline

Tableau II.2.3.1.4 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  des composés **68** et **69**

Tableau II.3.2.5 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **50**

Tableau II.4.3.2.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  de la molécule **52**

Tableau II.4.2.1.2 : Activités leishmanicides en  $\text{CE}_{50}$  des extraits et produits des feuilles d'*I. cooperi*

Tableau II.4.2.2 : Activités trypanocides (en  $\text{CL}_{100}$ ) et leishmanicides (en  $\text{CE}_{50}$ ) des extraits et produits des écorces de tige d'*I. cooperi*

Tableau II.4.2.3 : Activités trypanocides (en  $\text{CL}_{100}$ ), leishmanicides (en  $\text{CE}_{50}$ ), anthelminthiques (en  $\text{CE}_{50}$ ) et antifongiques (en  $\text{CE}_{90}$ ) des extraits et produits des écorces de tige d'*I. cooperi*

Tableau III.2 : Activités trypanocide, leishmanicide et cytotoxique, *in vitro*, de l'apoprunellelactone

Tableau III.3.1.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé APL3

Tableau III.3.2.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé APL2

Tableau III.3.3.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé APL1

Tableau III.3.4.3 : RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé APL7

Tableau III.4.1 : Activités leishmanicides des dérivés hémisynthétiques de l'apoprunellelactone

Tableau III.4.2 : Activités antifongiques des dérivés hémisynthétiques de l'apoprunellelactone

Tableau C.1.1.1.1 : Récapitulatif des différentes fractions issues du premier dégrossissement

Tableau C.1.1.1.2 : Récapitulatif des différentes fractions issues du deuxième dégrossissement

Tableau C.1.1.1.3 : Fractions issues du premier dégrossissement de l'extrait *D*

Tableau C.1.1.1.4 : Fractions issues du premier dégrossissement de l'extrait *A*

Tableau C.1.1.2 : Rendements des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée (R1) et par rapport à l'extrait brut total éthanolique (R2)

Tableau C.1.1.2.2 : Fractions issues du premier dégrossissement de l'extrait *Mof.D*

Tableau C.1.2 : Rendements des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée (R1) et par rapport à l'extrait brut total éthanolique (R2)

Tableau C.1.2.1 : Fractions issues du dégrossissement des extraits *Moet.C* et *Moet.D*  
 Tableau C.1.2.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Moet.A*  
 Tableau C.1.3 : Rendements des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée (R1) et par rapport à l'extrait brut total éthanolique (R2)  
 Tableau C.1.3.1 : Fractions issues du dégrossissement des extraits *Mor.C* et *Mor.D*  
 Tableau C.1.3.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Mor.A*  
 Tableau C.1.4 : Rendements des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée (R1) et par rapport à l'extrait brut total éthanolique (R2)  
 Tableau C.1.4.1 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Mog.C*  
 Tableau C.1.4.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Mog.D*  
 Tableau C.1.4.3 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Mog.A*  
 Tableau C.2.1 : Rendement (R) des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée  
 Tableau C.2.1.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Icf.A*  
 Tableau C.2.2 : Rendement (R) des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée  
 Tableau C.2.2.1 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Ic ET D*  
 Tableau C.2.2.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Ic ET A*  
 Tableau C.2.3 : Rendement (R) des différents extraits par rapport à la matière sèche pulvérisée  
 Tableau C.2.3.1 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Icr.D*  
 Tableau C.2.3.2 : Fractions issues du dégrossissement de l'extrait *Icr.A*

### 3. Liste des photos

Photo I.1.1 : Quelques espèces des Euphorbiaceae  
 Photo I.1.2 : Quelques espèces du genre *Mallotus*  
 Photo I.1.3.2 : *Mallotus oppositifolius*  
 Photo II.1.1 : Quelques espèces des Annonaceae  
 Photo II.1.2 : Quelques espèces du genre *Isolona*  
 Photo II.1.3.2 : *Isolona cooperi* Hutch. & Dalz. ex Cooper

# Abréviations

---

|                                     |                                                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| <b>AcOEt</b>                        | <b>Acétate d'éthyle</b>                               |
| <b>AcOH</b>                         | Acide acétique                                        |
| <b>ADN</b>                          | Acide Désoxyribonucléique                             |
| <b>AMPc</b>                         | Adénosine Monophosphate Cyclique                      |
| <b>APCI</b>                         | Ionisation chimique à pression atmosphérique          |
| <b>APG</b>                          | Angiosperms Phylogeny Group                           |
| <b>APL</b>                          | Apoprunellelactone                                    |
| <b>BBTHIQ</b>                       | Bis-benzyltétrahydroisoquinoléine                     |
| <b>CC</b>                           | Chromatographie sur colonne                           |
| <b>CCM</b>                          | Chromatographie sur couche mince                      |
| <b>CDCl<sub>3</sub></b>             | Chloroforme deutéré                                   |
| <b>CD<sub>3</sub>OD</b>             | Méthanol deutéré                                      |
| <b>CHCl<sub>3</sub></b>             | Chloroforme                                           |
| <b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b> | Dichlorométhane                                       |
| <b>C<sub>6</sub>H<sub>14</sub></b>  | Hexane                                                |
| <b>COSY</b>                         | <i>Correlated Spectroscopy</i>                        |
| <b>CE<sub>50</sub></b>              | Concentration efficace provoquant 50% d'inhibition    |
| <b>CI<sub>50</sub></b>              | Concentration provoquant 50% d'inhibition             |
| <b>CE<sub>90</sub></b>              | Concentration efficace provoquant 90% d'inhibition    |
| <b>CL<sub>100</sub></b>             | Concentration létale provoquant 100% de mort          |
| <b>CLHP</b>                         | Chromatographie Liquide Haute Performance             |
| <b>CMF</b>                          | Concentration minimale fongique                       |
| <b>CuCl<sub>2</sub></b>             | Chlorure de cuivre II                                 |
| <b>CNF</b>                          | Centre National de Floristiques (ex-Jardin Botanique) |
| <b>DMSO</b>                         | Diméthyl Sulfoxyde                                    |
| <b>D<sub>2</sub>O</b>               | Eau deutérée                                          |
| <b>d</b>                            | Doublet                                               |
| <b>dd</b>                           | Doublet de doublet                                    |
| <b>DMBA</b>                         | 7,12-diméthylbenz (a) anthracène                      |
| <b>EP</b>                           | Ether de pétrole                                      |
| <b>EtOH</b>                         | Ethanol                                               |
| <b>FBS B</b>                        | Fast Blue Salt B                                      |
| <b>GVR</b>                          | <i>Glasgow Veterinary Research</i>                    |
| <b>HMBC</b>                         | <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>        |
| <b>HSQC</b>                         | <i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>       |
| <b>Hz</b>                           | Hertz                                                 |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>               | Eau                                                   |
| <b>IR</b>                           | Infrarouge                                            |
| <b>J</b>                            | Constante de couplage                                 |
| <b>J-mod</b>                        | J-modulated spin-echo                                 |
| <b>MEM</b>                          | <i>Minimum Essential Medium</i>                       |
| <b>MeOH</b>                         | Méthanol                                              |
| <b>min</b>                          | Minute                                                |
| <b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> | Sulfate de sodium                                     |
| <b>NaHCO<sub>3</sub></b>            | Hydrogénocarbonate de sodium                          |
| <b>NOESY</b>                        | <i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>         |
| <b>Pa</b>                           | Pascal                                                |

|                           |                                               |
|---------------------------|-----------------------------------------------|
| <b>Pd</b>                 | Palladium                                     |
| <b>Pf</b>                 | Point de fusion                               |
| <b>ppm</b>                | Partie par million                            |
| <b>q</b>                  | Quadruplet                                    |
| <b>quint</b>              | Quintuplet                                    |
| <b>RDA</b>                | Retro-Diels-Alder                             |
| <b>R<sub>f</sub></b>      | Rapport Frontal                               |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b>  | Résonance Magnétique Nucléaire du proton      |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> | Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13  |
| <b>s</b>                  | Singulet                                      |
| <b>SAM</b>                | Méthyltransférase                             |
| <b>sext</b>               | Sextuplet                                     |
| <b>SM</b>                 | Spectrométrie de Masse                        |
| <b>SMIE</b>               | Spectrométrie de Masse en Impact Electronique |
| <b>t</b>                  | Triplet                                       |
| <b>TEA</b>                | Triéthylamine                                 |
| <b>THF</b>                | Tétra Hydro Furanne                           |
| <b>TMS</b>                | Tétra Méthyle Silane                          |
| <b>Tr</b>                 | Temps de rétention                            |
| <b>UV</b>                 | Ultra-violet                                  |
| <b>VIH</b>                | Virus de l'Immunodéficience Humaine           |
| <b>VLC</b>                | Vacuum Liquid Chromatography                  |
| <b>μL</b>                 | Microlitre                                    |
| <b>δ</b>                  | Déplacement chimique exprimé en ppm           |

# Résumé

---

Ce document présente l'isolement et l'identification de 74 molécules, dont 14 décrites pour la première fois, à partir de deux plantes de la pharmacopée ivoirienne, *Mallotus oppositifolius* et *Isolona cooperi*. L'évaluation biologique de ces composés, menée notamment sur *Leishmania* et *Trypanosoma* valide l'usage traditionnel de ces plantes. À partir de différents organes de *M. oppositifolius*, 52 molécules de type phénols, stéroïdes et terpénoïdes ont été isolées. Les composés phénoliques, particulièrement les phloroglucinols, se sont avérés les plus actifs. À partir de différents organes d'*I. cooperi*, 22 molécules de type alcaloïdes, xanthines, lactones, indanes, amides, amines, stéroïde, esters gras et acides gras ont été isolées. L'évaluation biologique de certaines de ces molécules sur les mêmes parasites a montré des activités généralement modestes. Enfin, des modifications hémi-synthétiques réalisées sur l'apoprunellelactone isolée d'*I. cooperi* ont permis d'obtenir de nouveaux dérivés réduits, acétylés ou oxydés. Leur évaluation biologique montre une augmentation de l'activité antiparasitaire, en particulier pour le composé acétylé.

Mots clés : *Mallotus oppositifolius*, *Isolona cooperi*, *Leishmania*, *Trypanosoma*, extraction, isolement, détermination structurale, hémisynthèse, antiparasitaire.

# Summary

---

This document describes the isolation and the identification of 74 molecules, among them 14 newly described, from two medicinal plants of Ivory Coast: *Mallotus oppositifolius* and *Isolona cooperi*. The biological evaluation of these compounds, mainly on *Leishmania* and *Trypanosoma* validate the traditional use of these plants. From different organs of *I. cooperi*, 22 compounds were isolated and identified as phenols, steroids and terpenoids. Phenolic compounds and especially phloroglucinols were the most active. From different organs of *M. oppositifolius*, 52 compounds were isolated and identified as alkaloids, xanthines, lactones, indanes, amides, amines, steroids, fatty acids and esters. The biological assessment of some of these compounds show moderate activities. Hemi-synthetic modifications made on apoprunellelactone isolated from *I. cooperi* led to reduced, acetylated or oxydated analogs characterized by an significant increase of their antiparasitic activity, especially the acetylated derivative.

**Keywords:** *Mallotus oppositifolius*, *Isolona cooperi*, *Leishmania*, *Trypanosoma*, extraction, isolation, structural determination, hemisynthesis, antiparasitic.