

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

PAIX-TRAVAIL-PATRIE

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ

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



REPUBLIC OF CAMEROON

PEACE-WORK-FATHERLAND

UNIVERSITY OF YAOUNDÉ I

POST GRADUATE SCHOOL OF
SCIENCE, TECHNOLOGY AND
GEOSCIENCE

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

LABORATOIRE DE SUBSTANCES NATURELLES ET SYNTHÈSE ORGANIQUE
APPLIQUÉE

LABORATORY OF NATURAL PRODUCTS AND APPLIED ORGANIC SYNTHESIS

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE L'EXTRAIT AU
METHANOL DES ECORCES DU TRONC DE
SAPIUM CORNUTUM Pax (EUPHORBIACEAE)**

Mémoire rédigé et présenté en vue de l'accomplissement partiel d'obtention du diplôme
de Master en CHIMIE

Option: CHIMIE ORGANIQUE

PAR:

ASSOUMOU Junior

Matricule: 19H2269

Licencié en chimie



Sous la direction de:

SIPOWO Viviane

Chargée de Cours

Sous la supervision de:

OUAHOUB Blandine

Maître de Conférences

Année académique: 2023-2024

DEDICACE

Je dédie ce mémoire à mes parents:

✚ Monsieur **ZILLY Richard**

✚ Madame **MEBUA MBA Paulette Epse ZILLY**

REMERCIEMENTS

Loin d'être une simple formalité académique, j'ai l'obligation intellectuelle de m'acquitter d'un devoir du cœur en exprimant ma reconnaissance à tous ceux qui de près ou de loin, d'une manière directe ou indirecte, ont contribué à la réalisation de ce travail. Il s'est effectué au Laboratoire des Substances Naturelles et de Synthèse Organique appliquée (**LANAPOS**) du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I. Je pense plus particulièrement:

Au Professeur **Dieudonné PEGNYEMB**, Recteur de l'Université de Bertoua et Chef de Département de Chimie Organique à l'Université de Yaoundé I, qui, malgré ses multiples occupations, continu d'assurer le bon fonctionnement du Département.

Au Professeur émérite, **Augustin Ephrem NKENGFACK**, pour cette grande équipe de recherche forte et dynamique que vous avez bâtie et dans laquelle j'ai eu le privilège d'être accueilli pour réaliser mes travaux de Master II. Je vous suis également reconnaissant pour les nombreux enseignements. Vous êtes une icône de la Chimie Organique, une source d'inspiration grâce à la rigueur scientifique, l'esprit critique et l'amour du travail bien fait qui vous caractérisent et qui sont des valeurs que nous garderons comme héritage

Au Professeur **Blandine Marlyse OUAHOUE**, *Maître de Conférences*, pour son encadrement, son sens de l'organisation, sa disponibilité, ses précieux conseils et son aide au quotidien. Je vous dis une fois de plus merci de m'avoir accordé votre confiance tout au long de ce travail recherche académique. Grace à vos compétences, votre amour du travail, et vos qualités humaines remarquables, la réalisation de ce mémoire n'est plus qu'un souvenir. Je tiens à vous exprimer mon respect et ma profonde admiration.

Au Docteur **Raïssa Viviane TALA SIPOWO**, *Chargée de Cours* à l'Université des Montagnes à Bangangté, pour son encadrement, ses conseils précieux je vous suis infiniment reconnaissant de m'avoir accordé votre temps afin que ce travail soit mis sur pied.

Au Professeur **Pierre MKOUNGA**, qui m'a fait l'honneur en m'acceptant au sein de son équipe de recherche et m'a donné la possibilité de mener à bien mes travaux de recherche, je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude.

Au Professeur **Carine MVOT AKAK**, *Maitre de Conférences*, pour les enseignements reçus et les conseils prodigués tout au long de mon séjour au laboratoire.

Au Docteur **Armelle TSAMO** qui a toujours laissé la porte ouverte à tout étudiant dans le cadre des travaux académiques. Le travail que vous abattez dans cette équipe de recherche est admirable. Je vous dis grandement merci.

Au Docteur **Julio PAGNA** pour sa disponibilité, ses conseils et les techniques de recherche qu'il m'a transmis pendant mes travaux sur la paillasse, qui m'ont été d'une grande utilité. Je vous suis infiniment reconnaissant.

Au projet **YaBiNaPA** (Yaoundé-Bielefeld Bilateral Graduate School Natural Product with Antiparasitic and Antibacterial Activity), pour m'avoir facilité la tâche dans mes travaux de recherche à travers l'utilisation de ses équipements présents dans notre laboratoire.

A tous les enseignants du laboratoire des Substances Naturelles et de Synthèse Organique Appliquée, je pense aux Docteurs **Maurice TSAFFACK**, **Valerie SIELINO**, **Eric NONO**, **Joseph TSEUMEGNE** et **Aristide MUNVERA** pour l'encadrement et les différentes contributions au cours de la réalisation de ce travail.

A monsieur **Martial Lamere LITCHANG** pour les encouragements, les conseils, son aide précieux tant intellectuelle et matériel et le bon suivi de ce travail. Votre détermination dans ce travail ne peut aucunement me laisser indifférent. Je vous adresse ici ma profonde gratitude.

A monsieur **Paul MBARGA** pour l'accueil chaleureux, les conseils, les orientations, et surtout pour les connaissances transmises lors de la rédaction de ce mémoire. Je vous dis également merci de m'avoir pris comme un petit frère, même quand tout allait mal. Merci grand frère.

A tous mes aînés de laboratoire et plus particulièrement à **M. Carlain TCHAPO**, **Mme Sandra KAMTCHOUM**, **Mme Beauvarine DZEFFO**, **Mme Clarisse LIBOMANE**, **Mme Christelle TOUKAM**, **M. Albert KOSMA**, **M. Espoir DAKSANA** et **M. Abel KOMISSOU** pour les différentes contributions.

A mes camarades et amis **OUMAROU Moubarak** et **Marion Armel TCHOYI**, pour les bonnes relations et les moments que nous passons ensemble aussi bien dans le cadre scolaire et extrascolaire depuis des années.

A mes camarades de laboratoire, je pense à **Forest Didier DJOSSU, Kevine Blondelle NOBE, Varelle NZOGOUNG, Soumeya Adam NFANGAM, Glwadys JOUMESSI, Rolande NGONO, Accange MEKIAGE, Lesly Carelle KENFACK, Larissa MBOGBA, Pierre Junior BOUMTJE, Elvine SOKOUDJOU** pour l'esprit d'équipe et la solidarité qui règne dans le groupe.

A mes promotionnaires, particulièrement à **Owen Schopper TEDJONG, Yann Taylor BASSECK, Yves AMBOUGUI, Yvan Gaël SENI, Eli KENGNE, Romarique KUETE.**

J'adresse également mes remerciements à l'endroit de mes proches, qui ont d'une manière ou d'une autre mis la main pour que ce travail voit le jour. Dans ce sens, je remercie :

Mes oncles **Gervais ESIANE, Eugene Bertin ANDJEMBE et Léopold NNANGA** pour les encouragements quotidiens et les orientations qui m'ont souvent permis de faire les bons choix.

Ma grande sœur **Laurene ANDEME** pour ses efforts et le soutien qu'elle ne cesse de m'apporter dans mes études depuis des années.

Mon grand frère **Ernest Fabrice MBA** pour ses efforts et ses encouragements qui m'ont permis de garder mon moral très haut.

Mon frère et ami **Floresse LAMY**, qui a toujours cru en moi, m'encourage au quotidien et avec qui je trouve toujours la bonne humeur.

Tous les membres de ma famille, je pense à **Rosalie ATOUBA, Jeanne OYE Samson TCHOUFOUEN, Christian FOUTA ZILLY, Deny MENDO, Marie Yrence EDIMA, Mexant EDOU, Hilaire EDJE'E, Nicaise BILO'O, Bernice OYANE, Brayane NNANGA, Chérolle MENGUE.**

Mes amis **Fernand MENDOMO, Dylane EBIANGONO, Joseph MEFIRE, Frédérique NNANGA, Maïva Merveille NGUEFACK, Joseph DJORWE, Ginaud EDJE'E, Terence LOE** pour leurs soutiens.

SOMMAIRE

DEDICACE.....	I
REMERCIEMENTS	II
SOMMAIRE	V
LISTE DES ABREVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES	VII
LISTE DES FIGURES.....	IX
LISTE DES SCHEMAS.....	X
LISTE DES TABLEAUX	XI
RESUME.....	XII
ABSTRACT	XIII
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE	4
I.1. La famille des Euphorbiaceae	5
I.2. Le genre <i>Sapium</i>	6
I.3. <i>Sapium cornutum</i>	7
I.3.1. Aperçu botanique	7
I.4. Usages des espèces du genre <i>Sapium</i>	8
I.4.1. Usages économiques et alimentaires	8
I.4.2. Usages thérapeutiques.....	9
I.5. Travaux chimiques et pharmacologiques antérieurs sur le genre <i>Sapium</i>	10
I.5.1. Travaux chimiques antérieures	10
I.5.2. L'acide ellagique et les ellagiques tanins.....	15
I.5.2. Travaux pharmacologiques antérieures sur le genre <i>Sapium</i>	19
CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION.....	21

II.1. Extraction et isolement des composés	22
II.2. Elucidations structurales des composés isolés.....	23
II.2.1. Identification du composé SCE5: Acide 3,3'-di-O-méthyl-ellagique-4'-O- α -L-rhamnose	24
II.2.2 Identification du composé SCE4 (Acide 3,3'-di-O-méthylellagique)	31
II.2.3 Identification du composé SCE3 (Acide ellagique)	35
II.3. Discussion.....	38
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	40
CHAPITRE III: PARTIE EXPERIMENTALE	42
III.1. Appareillage	43
III.2. Matériel végétal.....	43
III.3. Extraction	44
III.4. Isolement et purification des composés	44
III.5. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés.....	48
III.6. Tests de caractérisation des composés isolés	50
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	51

LISTE DES ABREVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES

1D	: Unidimensionnelle
δ	: Echelle de déplacement chimique en <i>ppm</i>
δ_C	: Déplacement chimique du carbone
δ_H	: Déplacement chimique du proton
[α]	: Pouvoir rotatoire
^{13}C	: Carbone 13
^1H	: Proton
2D	: Bidimensionnelle
AcOEt	: Acétate d'éthyle
ATBS	: Acide 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)
al	: Collaborateurs
CC	: Chromatographie sur Colonne
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
CD	: Dichroïsme circulaire
CDCl₃	: Chloroforme deutéré
CH₂Cl₂	: Dichlorométhane
COSY	: <i>Correlation Spectroscopy</i>
d	: Doublet
DCM	: Dichlorométhane
dd	: Doublet de doublets
DMSO	: Diméthylsulfoxyde
dq	: Doublet de quadruplets
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
ESI	: Electro Spray Ionisation
Glc	: Glucose

Hex	: Hexane
HMBC	: <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HNC	: Herbier National du Cameroun
HSQC	: <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy</i>
Hz	: Hertz
CI₅₀	: <i>Concentration inhibitrice de 50% du substrat</i>
IR	: Infra-rouge
<i>J</i>	: Constante de couplage
m	: Multiplet
MeOH	: Méthanol
MHz	: Mégahertz
<i>n</i>-BuOH	: Butanol à chaîne linéaire
<i>n</i>-Hex	: Hexane à chaîne linéaire
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
<i>ppm</i>	: Partie par million
<i>Rha</i>	: Rhamnose
RMN ¹³C	: Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
RMN ¹H	: Résonance Magnétique Nucléaire du proton
s	: Singulet
<i>S</i>	: <i>Sapium</i>
SiO₂	: Silice
SM	: Spectrométrie de masse
UV	: Ultraviolet
µm	: Micromètre

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Classement taxonomique de l'espèce <i>Sapium cornutum</i>	5
Figure 2: Distribution géographique des Euphorbiaceae dans le monde (Jussieu, 1789).....	6
Figure 3: Arbre de <i>Sapium sebiferum</i> (a) et écorce du tronc de <i>Sapium cornutum</i> (b)	6
Figure 4: Feuilles de <i>Sapium cornutum</i>	7
Figure 5: Fruits de <i>Sapium cornutum</i>	7
Figure 6: Structures de base des flavonoïdes	10
Figure 7: Squelettes de base des différents flavonoïdes (Morreel et al., 2006).....	12
Figure 8: Squelettes de base des différents isoflavonoïdes (Depeint et al., 2002).....	13
Figure 9: Structures du glucose (<i>Glc</i>) a et du rhamnose (<i>Rha</i>) b.....	15
Figure 10: Spectre de masse ESI à haute résolution de SCE5	24
Figure 11: Spectre RMN ¹ H (DMSO, 400 MHz) de SCE5.....	25
Figure 12: Spectre élargi R MN ¹ H (DMSO, 400 MHz) de SCE5	26
Figure 13 : Spectre HSQC (DMSO, 100 MHz) de SCE5	27
Figure 14: Spectre RMN ¹³ C (DMSO, 100 MHz) de SCE5	28
Figure 15: Spectre HMBC (DMSO) du composé SCE5.....	29
Figure 16: Spectre de masse ESI à haute résolution du composé SCE4.....	32
Figure 17: Spectre RMN ¹ H (DMSO, 400 MHz) du composé SCE4.....	32
Figure 18: Spectre RMN ¹³ (DMSO) du composé SCE4.....	33
Figure 19: Spectre HMBC (DMSO) du composé SCE4.....	34
Figure 20: Spectre de masse ESI à haute résolution du composé SCE3.....	36
Figure 21: Spectre RMN ¹ H (DMSO, 400 MHz) du composé SCE3	36
Figure 22: Spectre RMN ¹³ C du composé SCE3	37

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1: Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Milane, 2004).....	11
Schéma 2: Voie de biosynthèse des acides éllagiques (Ishikura et <i>al.</i> , 1984)	16
Schéma 3: Protocole expérimental d'extraction et d'isolement des composées des écorces du tronc de <i>Sapium cornutum</i>	23
Schéma 4: Corrélations HMBC du composé SCE5	29
Schéma 5: Corrélations HMBC de SCE4.....	34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Répartition géographique de <i>Sapium cornutum</i> (Euphorbiaceae) au Cameroun	8
Tableau 2: Structures de quelques flavonoïdes du genre <i>Sapium</i>	14
Tableau 3: Dérivés d'acide ellagique isolés du genre <i>Sapium</i>	17
Tableau 4: Triterpènes et coumarines du genre <i>Sapium</i>	18
Tableau 5: Données spectrales de RMN ¹ H (DMSO, 400 MHz) et RMN ¹³ C (DMSO) de SCE5 et de l'acide 3,3'-di-O-méthylellagique-4'-O-α-L-rhamnose	31
Tableau 6: Données spectrales de RMN ¹ H (DMSO, 400 MHz) et RMN ¹³ C de SCE4 et de l'acide 3,3'-di-O-méthylellagique	35
Tableau 7: Données spectrales de RMN ¹ H (DMSO, 400 MHz) et RMN ¹³ C (DMSO, 100 MHz) de SCE3 et de l'Acide ellagique	38
Tableau 8: Partitionnement de l'extrait brut au méthanol des écorces du tronc de <i>Sapium cornutum</i>	44
Tableau 9: Chromatogramme de la fraction à l'acétate d'éthyle F1	46
Tableau 10: Chromatogramme de la sous-fraction S ₁₈	48

RESUME

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique de l'extrait au méthanol des écorces du tronc de *Sapium cornutum*, une plante de la famille des Euphorbiaceae, utilisée en pharmacopée traditionnelle.

Les écorces du tronc de *Sapium cornutum* (Euphorbiaceae) ont été récoltées dans la région du Centre au Cameroun, plus précisément dans la ville de Soa située dans le Département de la Mefou Afamba. Ces écorces ont été découpées, séchées puis broyées pour donner une poudre de 2,4 kg qui a été extraite par macération au méthanol à température ambiante pendant 48h. Après filtration et évaporation, 240,8 g d'extrait ont été obtenus. 3 g ont été prélevés pour les tests biologiques et 237,8 g a subi une extraction liquide-liquide en utilisant comme solvant l'acétate d'éthyle et le *n*-butanol. Suite à cette extraction, nous avons obtenu deux (2) fractions indexées F1 et F2 respectivement. La fraction F1 a donc subi une chromatographie sur colonne de gel de silice et éluee avec le système *n*-Hex/AcOEt de polarité croissante.

De cette fraction F1, ont été isolés au moyen de méthodes chromatographiques usuelles, cinq (05) composés dont trois (03) ont été entièrement caractérisés et identifiés comme étant les dérivés de l'acide ellagique, plus spécifiquement, il s'agit de l'acide 3,3'-di-*O*-méthyl-ellagique-4'-*O*- α -L-rhamnose **75** (SCE5); l'acide 3,3'-di-*O*-méthylellagique **54** (SCE4) et l'acide ellagique **53** (SCE3).

L'élucidation des structures de ces composés a été rendue possible grâce à une analyse rigoureuse de leurs données spectrales notamment la résonance magnétique nucléaire (RMN) à une dimension (^{13}C et ^1H) et à deux dimensions (COSY, HSQC et HMBC), associée à la spectrométrie de masse faisant appel à la méthode d'ionisation douce (ESI) à haute résolution, et par comparaison de leurs données spectrales avec celles décrites dans la littérature

Mots clés: Euphorbiaceae, *Sapium cornutum*, acide ellagique, dérivés, RMN.

ABSTRACT

The present work report the phytochemical study of the methanolic extract of the stem barks of *Sapium cornutum*, a Cameroonian medicinal plant, belonging to the Euphorbiaceae family, widely used in traditional pharmacopoeia.

The stem barks of *Sapium cornutum* (Euphorbiaceae) was harvested at Soa, a locality in the Centre region of Cameroon, The stem barks were cut, dried and then pulverized to give a powder of 2.4 kg, which was extracted by maceration in methanol at room temperature for 48 hours. After filtration and evaporation, a crude extract 240.8 g was obtained. 3 g was reserved for biological tests and 237.8 g was subjected to liquid-liquid partition extraction using ethyl acetate and *n*-butanol as solvent. This extraction afforded two (2) fractions indexed F1 and F2 respectively. Fraction F1 was purified using usual column chromatography on a silica gel column and a solvent system of *n*-Hex/AcOEt in an increasing polarity.

The purification of this fraction of this fraction F1, led to the isolation of five (05) compounds. Three (03) of which were fully characterized and identified as derivatives of ellagic acid, more specifically, these are 3,3'-di-O-methyl-ellagic-4'-O- α -L-rhamnose acid **75** (SCE5); 3,3'-di-O-methylellagic acid **54** (SCE4) and ellagic acid **53** (SCE3).

The structures of these compounds have been elucidated with the help of spectroscopic techniques that is, one-dimensional (^1H and ^{13}C) and two-dimensional (COSY, HSQC and HMBC) nuclear magnetic resonance (NMR), and spectrometry technique using high-resolution (ESI) methods, and by comparison of their spectral data with relevant data from the literature.

Keywords: Euphorbiaceae, *Sapium cornutum*, ellagic acid, derivatives, NMR.

INTRODUCTION GENERALE

La flore tropicale, reconnue pour sa biodiversité exceptionnelle, abrite une multitude de micro-organismes, de champignons et de plantes, parmi lesquelles figurent des arbres, arbustes, herbes et algues. Ces ressources naturelles jouent un rôle central dans la médecine traditionnelle, où elles sont utilisées sous diverses formes, telles que les décoctions et les infusions, pour traiter de nombreuses maladies. Ces pratiques, profondément enracinées dans les cultures locales, témoignent de la richesse et de l'importance des savoirs traditionnels en matière de santé.

Cependant, de nombreuses plantes utilisées en médecine traditionnelle demeurent encore sous-explorées, tant sur le plan chimique que pharmacologique. Cette lacune limite leur valorisation scientifique et leur utilisation optimale dans un cadre médical sûr et efficace. C'est le cas de *Sapium cornutum*, une espèce de la famille des Euphorbiaceae, largement employée en médecine traditionnelle camerounaise pour le traitement de nombreuses maladies. Bien que les plantes du genre *Sapium* soient reconnues pour leurs usages dans le traitement de maladies telles que le paludisme, les douleurs abdominales, le surmenage, la constipation et la hernie, les données spécifiques sur *Sapium cornutum* restent quasi inexistantes.

Face à cette situation, la nécessité d'investiguer les potentiels chimique et pharmacologique de cette espèce devient évidente. Une telle étude permettrait non seulement d'élargir les connaissances scientifiques sur cette plante, mais également de contribuer à son exploitation rationnelle en médecine. Dans ce contexte, une question centrale se pose: quels métabolites secondaires bioactifs sont-ils présents dans les écorces du tronc de *Sapium cornutum*, et quelles activités biologiques pourraient-elles expliquer son usage en médecine traditionnelle ?

Pour répondre à cette question, nous formulons l'hypothèse selon laquelle *Sapium cornutum* contient des métabolites secondaires dotés d'activités biologiques significatives, capables de justifier ses usages traditionnels et de révéler un potentiel thérapeutique prometteur.

Ainsi, l'objectif général de cette étude est de contribuer à une meilleure connaissance chimique de *Sapium cornutum* afin de favoriser son utilisation efficace et sécurisée en médecine. Plus précisément, il s'agira:

1. D'extraire efficacement les composés bioactifs à partir de l'extrait méthanolique des écorces de tronc de *Sapium cornutum*.
2. D'isoler, d'identifier et de caractériser les composés purs obtenus.

Ce mémoire est structuré en trois chapitres principaux:

- Chapitre I: Une revue de la littérature sur le genre *Sapium*, ses usages traditionnels, et les études chimiques et pharmacologiques disponibles.
- Chapitre II: Présentation et discussion des résultats obtenus à travers les travaux réalisés en laboratoire.
- Chapitre III: Description détaillée des méthodes expérimentales utilisées, suivie de conclusions générales et de perspectives pour la poursuite du projet.

Enfin, une liste de références bibliographiques conclura ce document, mettant en lumière les sources consultées pour cette étude.

CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1. La famille des Euphorbiaceae

I.1.1. Généralités sur la famille des Euphorbiaceae

La famille des Euphorbiaceae, également connue sous le nom de famille des euphorbes, est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs. Elle compte plus de 8000 espèces réparties en 300 genres. La famille est très diversifiée en termes de morphologie et est composée de diverses espèces qui poussent sur les terres continentales sous forme d'arbustes, d'herbes et d'arbres grands/ligneux, ou de lianes grimpantes. Le genre *Euphorbia* représente numériquement l'un des plus grands de cette famille des Euphorbiaceae et contient plus de 2000 espèces. Les plantes de cette famille se caractérisent généralement par la production dans leurs tissus d'une substance laiteuse (Kemboi et al., 2020).

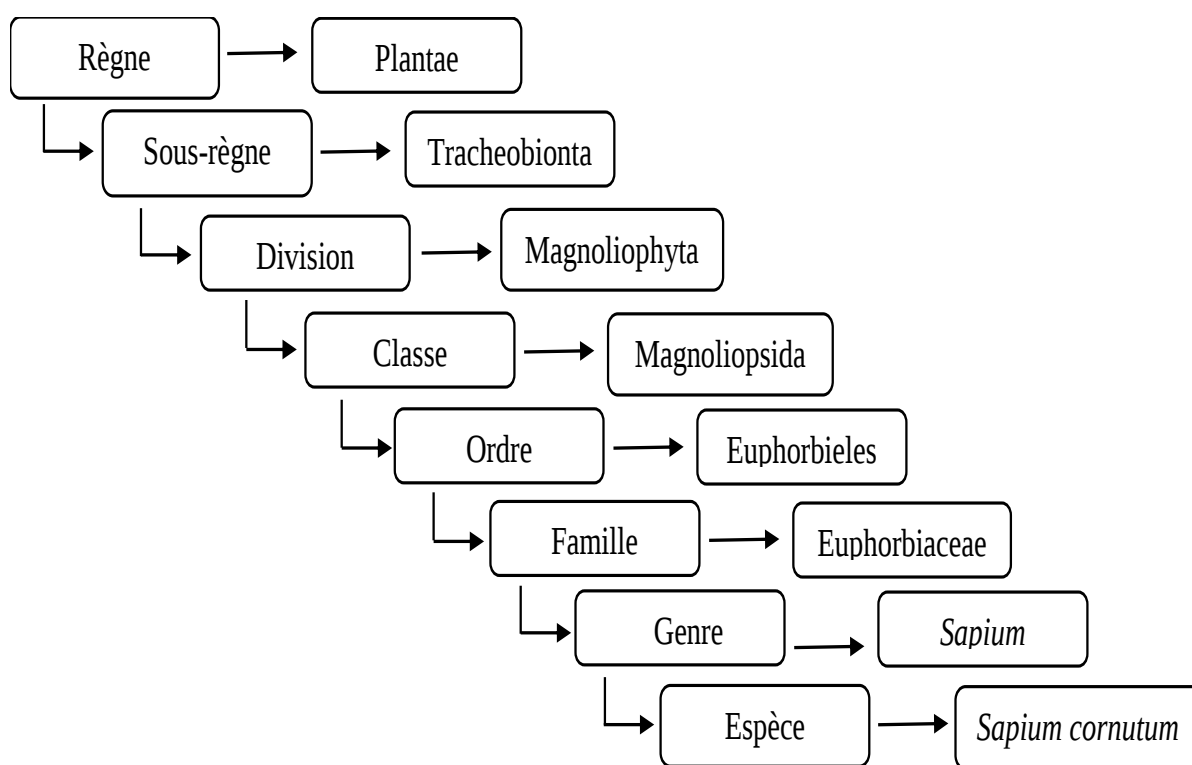


Figure 1: Classement taxonomique de l'espèce *Sapium cornutum*

I.1.2. Distribution géographique des Euphorbiaceae

La famille des Euphorbiaceae est presque cosmopolite bien que principalement tropicale. Il existe cependant des concentrations locales, notamment le genre *Euphorbia* dans le sud de l'Amérique du nord, le bassin méditerranéen, le Moyen Orient et le sud de l'Afrique. Bien que très présente en Afrique, la famille n'y est pas aussi riche et variée que dans les deux autres régions tropicales. De même, elle est bien moins représentée dans les régions tempérées où les espèces du genre *Euphorbia* sont les seules représentées (Jussieu, 1789).



Figure 2: Distribution géographique des Euphorbiaceae dans le monde (Jussieu, 1789)

I.2. Le genre *Sapium*

I.2.1. Description du genre *Sapium*

Le genre *Sapium* appartient à la famille des Euphorbiaceae, ses espèces sont réparties en Inde, au Vietnam, en Chine, en Malaisie et en Afrique (Esser et Welzen, 2005; Mwine et Damme, 2011). De plus, certaines espèces du genre sont également distribuées au Mexique, en Amérique centrale, dans les Caraïbes, en Amérique du Sud et au Sud du Brésil (Richter et Dallwitz, 2000). Au Cameroun, ce genre est réparti uniquement en deux espèces parmi lesquelles *Sapium ellipticum* et *Sapium cornutum* (Nana et al., 2023; HNC, 2024).

Les plantes du genre *Sapium* sont généralement des arbres de taille moyenne (entre 12 à 25 m de hauteur) pouvant atteindre une taille maximale de 35 m. Les écorces brun clair, parfois très foncées (presque noires) et rugueuses; les rameaux sont lisses et ont tendance à tomber. Les jeunes parties dégagent du latex blanc lorsqu'elles sont coupées (Orwa et al., 2009).



Figure 3: Arbre de *Sapium sebiferum* (a) et écorce du tronc de *Sapium cornutum* (b)

Les feuilles sont généralement caduques ou semi caduques, simples, 6-15 x 2,5-4 cm, vert foncé, brillantes, alternées; bases effilées et presque arrondies; bords irrégulièrement dentés, 1 à 2 glandes de chaque côté de la base, portées par de courtes tiges; nervures médianes et nervures surélevées en dessous avec environ 10 paires de nervures latérales atteignant 10 mm de long (Orwa et al., 2009).



Figure 4: Feuilles de *Sapium cornutum*

I.3. *Sapium cornutum*

I.3.1. Aperçu botanique

Les parties de *Sapium cornutum* sont très variées. Ainsi, ses fleurs sont jaunes et pouvant mesurer entre 5 à 10 cm de long, pas de pétales ni de sépales. Elle contient de nombreuses fleurs mâles et 1 à 5 fleurs femelles arrondies à la base. Les fleurs mâles sont plus longues que les femelles.

Ses fruits sont en forme de capsules à trois lobes, de 0,95 à 1,7 cm de diamètre avec trois graines, dont une dans chaque lobe et recouvertes d'une cire blanche. Les graines sont semi-ovales, ressemblant à du pop-corn, de 0,6 à 1,0 cm de long et dont la largeur est comprise entre 0,43 et 0,6 cm. Son épaisseur quant à elle comprise entre 0,5 et 0,77 cm (Orwa et al., 2009).



Figure 5: Fruits de *Sapium cornutum*

I.3.2. Répartition géographique de l'espèce *Sapium cornutum* au Cameroun

D'après l'Herbier National du Cameroun (HNC) en 2024, l'espèce *Sapium cornutum* se trouve principalement dans les régions du grand Sud et dans le Littoral du pays selon le tableau ci-après.

Tableau 1: Répartition géographique de *Sapium cornutum* (Euphorbiaceae) au Cameroun

Espèce	Régions	Localités	Reference
<i>Sapium cornutum</i>	Centre	Akonolinga Makak NdikiniMéki Nnanga-Eboko Yaoundé	HNC, 2024
	Est	Along Batouri Bertoua Lomié Moloundou	
	Littoral	Mouanko	
	Sud	Akonétyé Ambam Djoum	

I.4. Usages des espèces du genre *Sapium*

Les plantes du genre *Sapium* sont utilisées sur plusieurs plans tant économique, alimentaire que sur le plan thérapeutique.

I.4.1. Usages économiques et alimentaires

Les plantes du genre *Sapium* peuvent être utilisées pour la fabrication du papier, le carton et les meubles, C'est le cas de l'espèce *Sapium sebiferum* (Liu et Zou, 1981). Le bois est utilisé comme combustible pour le chauffage.

Les fruits sont comestibles aussi bien par les oiseaux que par les volailles domestiques (Orwa et al., 2009).

I.4.2. Usages thérapeutiques

Plusieurs espèces du genre *Sapium* possèdent une large gamme de propriétés médicinales et elles ont été utilisées comme médicaments traditionnels par des groupes autochtones dans plusieurs pays tels que la Malaisie, l'Afrique du Sud, la Chine et le Cameroun (Wansi et al., 2014; Nana et al., 2023). Ainsi, dans le sud de la Chine, les espèces telles que *Sapium chihsonianum*, *Sapium discolor*, *Sapium rotundifolium* et *Sapium sebiferum* ont été utilisées pour le traitement des maladies liées à la peau telles que l'eczéma, la gale et l'herpès. Ces espèces sont également utilisées dans les cas de surmenage, le lumbago, la constipation et la hernie (Hajdu et Hohmann, 2012).

Les plantes de ce genre sont aussi utilisées pour traiter les plaies et les morsures de serpents. De plus, les sucs/latex de *Sapium glandulosum*, *Sapium indicum* et *Sapium sebiferum* ont des effets toxiques et sont utilisés comme poisons pour les oiseaux et les poissons.

L'écorce des racines et les feuilles de *Sapium japonicum* ont été trouvés être efficaces pour traiter le surmenage, le lumbago et les douleurs des genoux. Il a été signalé que les écorces, les graines et les racines de *Sapium sebiferum* ont un potentiel médicinal pour les troubles digestifs et excréteurs, tels que la constipation, l'ascite, la dysurie et l'urine trouble (lai et al., 2004; Shimizu et al., 2007). La résine de *Sapium glandulosum* a été utilisée pour traiter la hernie en Bolivie (Hajdu et Hohmann., 2012).

De même, le jus d'écorce de *Sapium insigne* est utilisé traditionnellement au Népal pour aider à la cicatrisation des plaies en tuant les germes (Manandhar, 2002).

Sapium ellipticum est largement utilisé dans différentes régions d'Afrique dans le traitement de certaines maladies. En effet, sa décoction est utilisée pour traiter la toux au Kenya. Par contre, en Tanzanie, la tige séchée est réduite en poudre et mélangée à de l'eau est appliqué sur les blessures, les douleurs de la poitrine et de la tête (Neuwinger, 1994; Mwine et Damme, 2011).

Au Cameroun, les populations utilisent les décoctions de *Sapium ellipticum* pour traiter le paludisme et les douleurs abdominales (Nana et al., 2023). De plus, ces décoctions sont également utilisées pour traiter les troubles gastro-intestinaux, plus précisément la diarrhée (Wansi et al., 2014).

La décoction de racine est utilisée contre le paludisme. Les guérisseurs traditionnels de la Zambie et le Burundi prescrivent la décoction d'écorce de tige contre l'anémie, fièvre, l'éléphantiasis et les problèmes de rhumatisme.

Grâce à ces différentes utilisations en médecine traditionnelle, les chercheurs ont entrepris des travaux chimiques et pharmacologiques pour trouver les métabolites secondaires responsables de ces activités observées en médecine traditionnelle.

I.5. Travaux chimiques et pharmacologiques antérieurs sur le genre *Sapium*

I.5.1. Travaux chimiques antérieures

De par leurs intérêts économiques, nutritionnels et thérapeutiques, les plantes de la famille des Euphorbiaceae en général et celles du genre *Sapium* en particulier ont fait l'objet de nombreuses études phytochimiques, études ayant conduit à l'isolement de plusieurs métabolites secondaires dont les plus représentatifs sont les flavonoïdes. On y retrouve également un bon nombre d'acides ellagiques (Al Muqarrabun et al., 2014).

I.5.1.1. Les flavonoïdes

I.5.1.1.1. Généralités sur les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux représentant l'une des plus grandes classes de métabolites secondaires et sont impliqués dans une multitude de fonctions physiologiques telles que la protection contre les rayons UV, l'attraction des insectes, défense contre les agents pathogènes, la symbiose et la variation de couleur des fruits et fleurs (Winkel-Shirley, 2001).

Du point de vue structural, les flavonoïdes sont des composés aromatiques dont le squelette carboné en C₁₅ est caractérisé par un enchainement en C₆-C₃-C₆ et présentant trois (03) isomères. L'isomère 1 est un 1,3-diphénylpropane qui correspond à un flavonoïde tandis que l'isomère 2 est le 1,2-diphénylpropane qui est un isoflavonoïde (Harbon et Williams, 2000). L'isomère 3 représente les néoflavonoïdes.

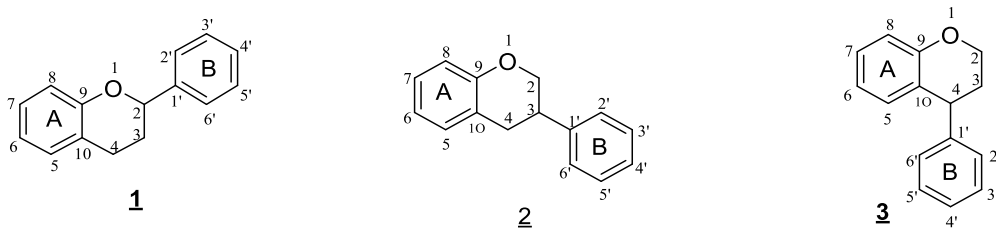


Figure 6: Structures de base des flavonoïdes

I.5.1.1.2. Biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont synthétisées dans les plantes au niveau des chloroplastes, ces métabolites secondaires dérivent de la phénylalanine **6** et du malonyl-coenzyme (noyau A) **(Paris et Hurabielle, 1981)**. Leur biosynthèse se fait à partir d'un précurseur commun la 4, 2', 4', 6'- tétrahydroxychalone (**13**)

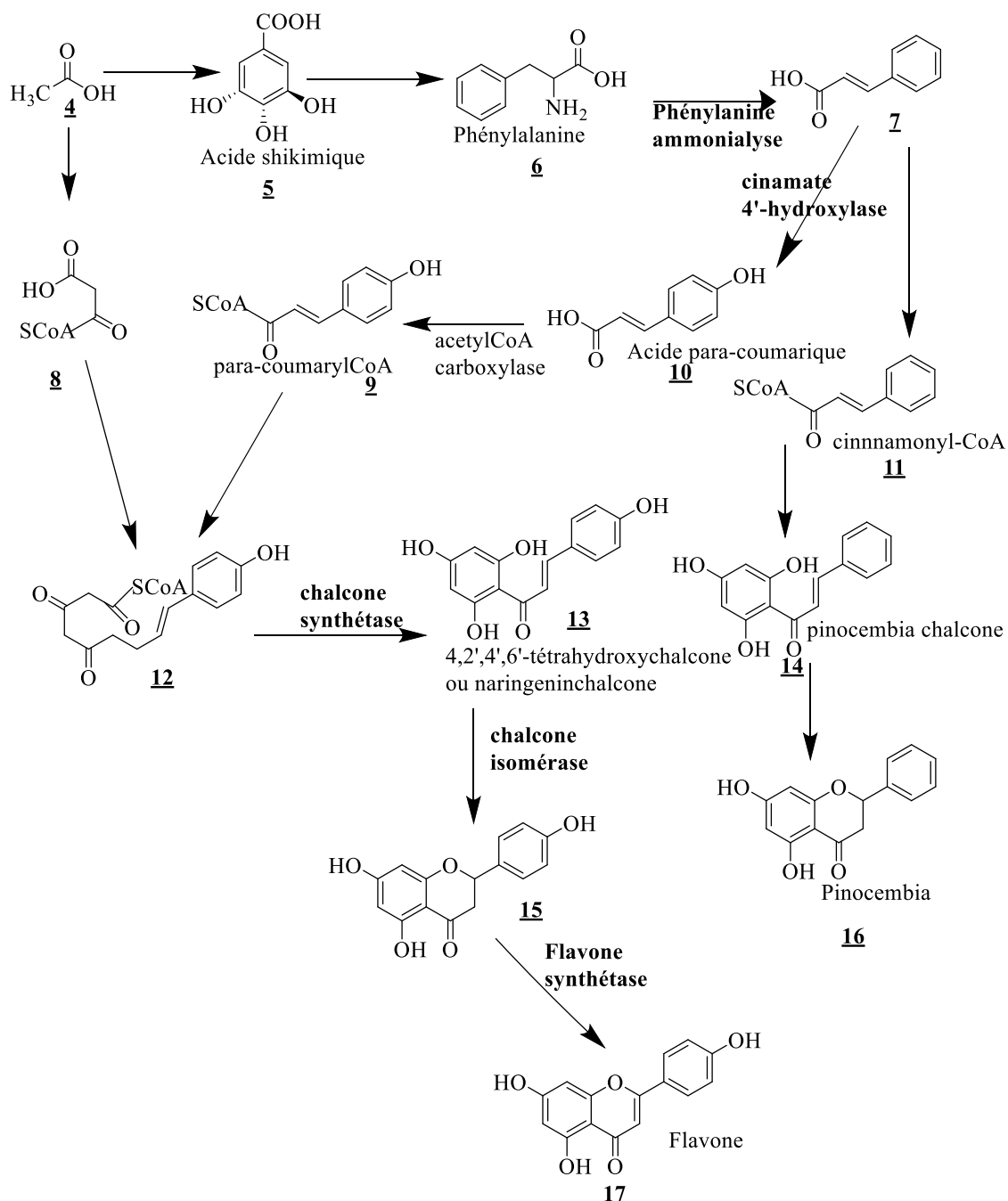


Schéma 1: Voie de biosynthèse des flavonoïdes **(Milane, 2004)**

I.5.1.1.3. Classification des flavonoïdes

Selon le mode d'enchaînement précédent, la classe des flavonoïdes comprend deux sous classes principales parmi lesquelles les flavonoïdes et les isoflavonoïdes qui sont réparties dans les figures 7 et 8.

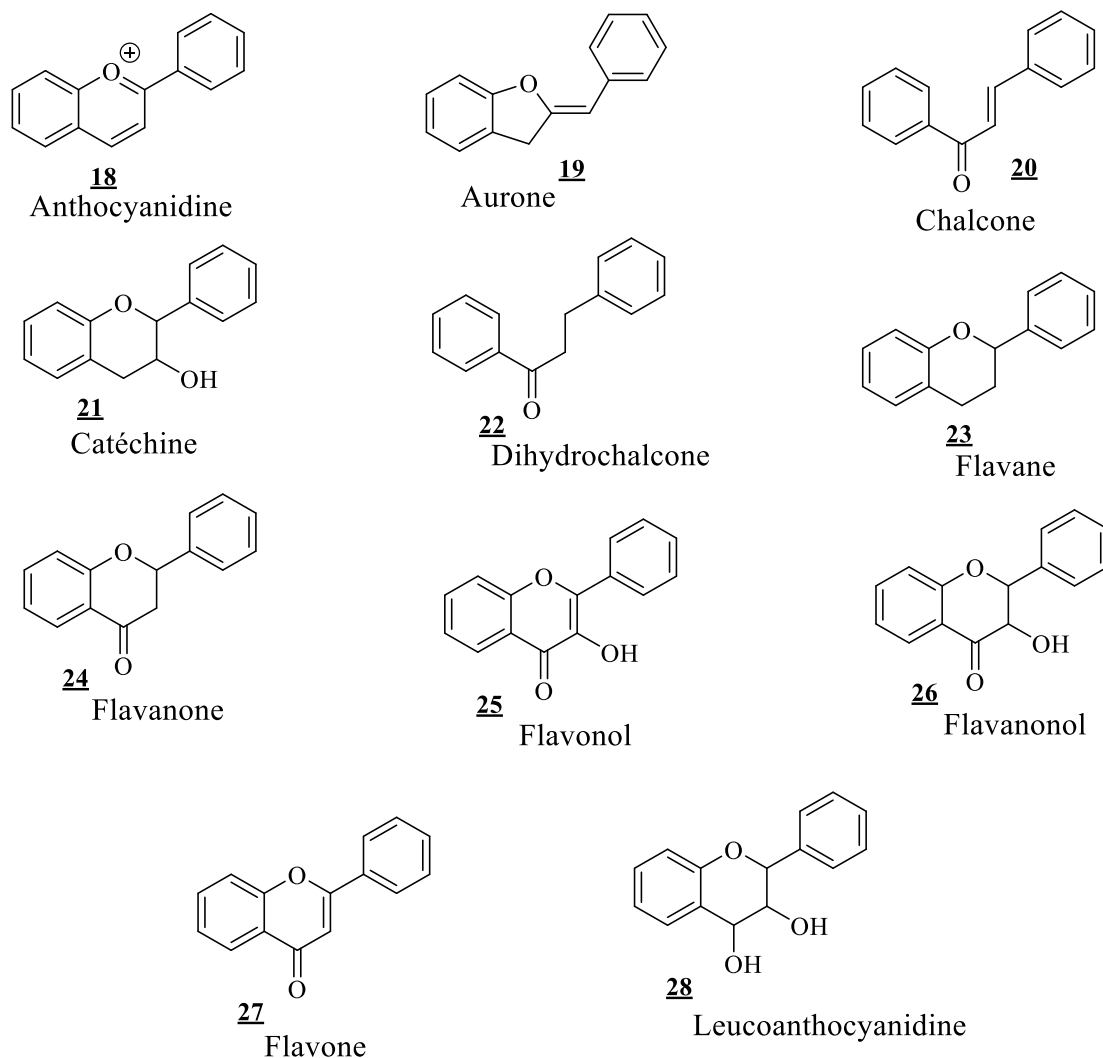


Figure 7: Squelettes de base des différents flavonoïdes (Morreel *et al.*, 2006)

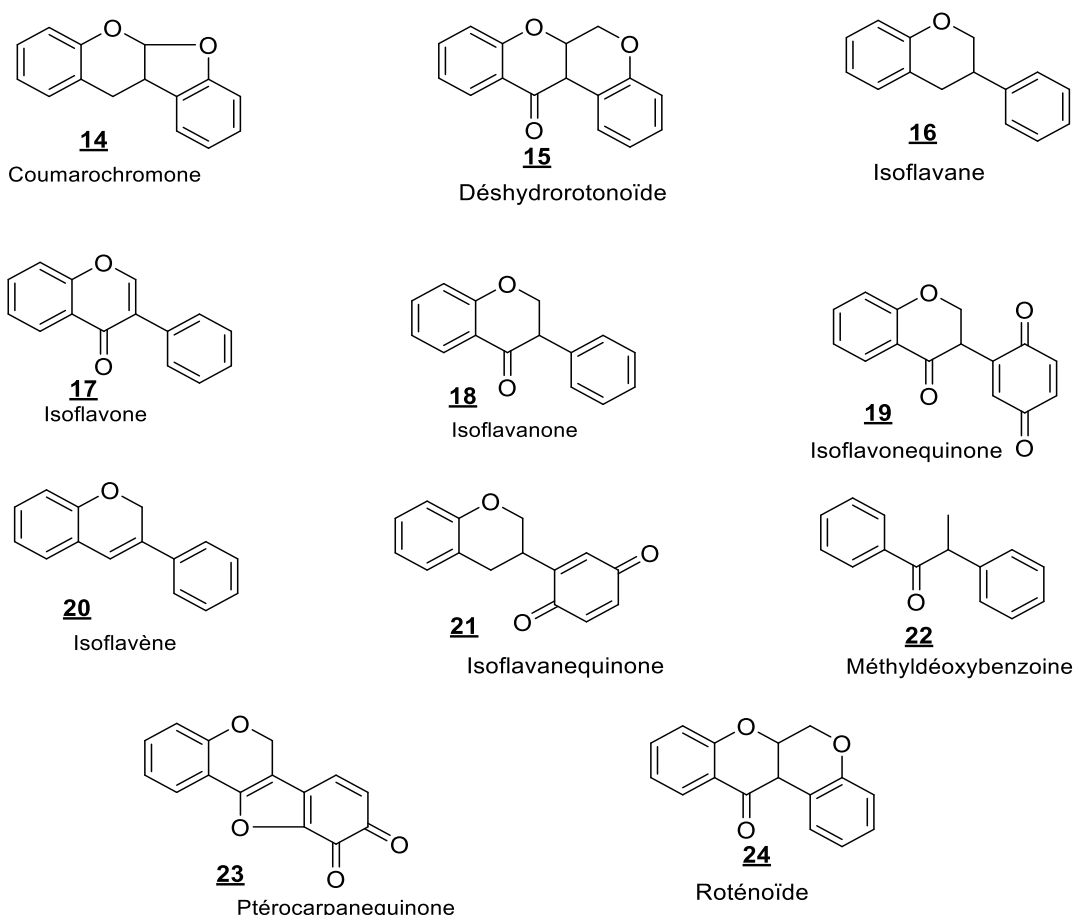


Figure 8: Squelettes de base des différents isoflavonoïdes (Depeint et al., 2002)

Les travaux phytochimiques antérieurs sur les plantes du genre *Sapium* ont permis d'isoler plusieurs composés dont l'élucidation structurale s'est fait au moyen de quelques techniques d'analyses incluant différentes méthodes spectroscopiques d'analyse.

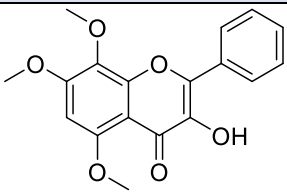
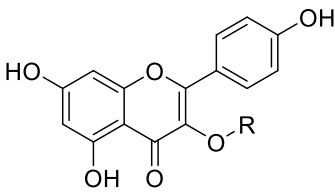
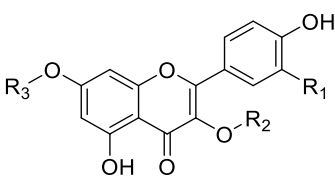
I.5.1.1.4. Détermination structurale des flavonoïdes

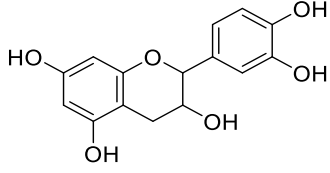
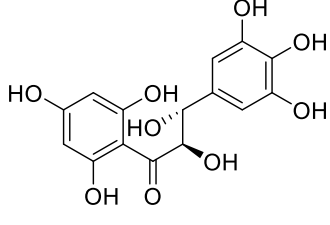
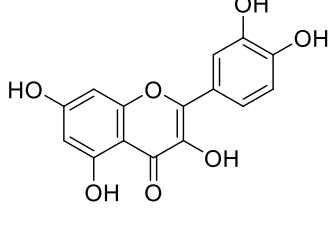
La caractérisation de la structure des flavonoïdes est liée à l'élucidation de leurs spectres spectroscopiques et spectrométriques obtenus par des techniques telles que la résonance magnétique nucléaire (RMN), la spectrométrie de masse (MS), les spectrophotométries ultraviolette (UV) et infrarouge (IR). Les propriétés physiques des flavonoïdes telles que le point de fusion, le dichroïsme circulaire (CD) et le pouvoir rotatoire optique ($[\alpha]$) sont également utiles pour la caractérisation complète du flavonoïde isolé, en particulier lorsqu'il contient un stéréocentre pour CD et $[\alpha]$ (Awouafack et al., 2017). L'utilisation de ces différentes méthodes d'analyse a conduit à la caractérisation de plusieurs flavonoïdes.

I.5.1.1.5. Les flavonoïdes isolés du genre *Sapium*

Les investigations menées sur les plantes du genre *Sapium* ont conduit à l'isolement de plusieurs flavonoïdes. L'on dénombre près de trente et une (31) flavonoïdes isolés de *S. insigne*, *S. sebiferum*, *S. japonicum* et *S. haemospermum* (He et al., 2021). Quelques structures des flavonoïdes sont représentées dans le tableau 2 suivant.

Tableau 2: Structures de quelques flavonoïdes du genre *Sapium*

Composés	Noms	Parties et espèces	Références
	3-Hydroxy-5,7,8-triméthoxyflavone <u>40</u>	Racine <i>S. insigne</i>	Saxena et al., 1986
	R= Glu-Rha Nicotiflorin <u>41</u>	Feuille <i>S. insigne</i>	Devkota et al., 2009
	R=galactose Trifolin <u>42</u>	Feuilles <i>S. japonicum</i>	Ahn et al., 1996
	R=Glu Astragalin <u>43</u>	Feuilles <i>S. japonicum</i>	
	R=Rha Afzelin <u>44</u>	Feuilles <i>S. japonicum</i>	
	R ₁ = H; R ₂ = Glc; R ₃ = H <u>45</u> Kaempferol-3-O-β-D-glucose	Feuilles <i>S. sebiferum</i>	Wang et al., 2013
	R ₁ = H; R ₂ = Rha; R ₃ = rha <u>46</u> Kaempferitrin	<i>S. sebiferum</i> Leaves, latex	Gu et al., 2013
	R ₁ = OH R ₂ = (2'' - galloyl) - Glc; R ₃ = H Quercetin-3-O-(2''-O-galloyl) -β-D- glucose <u>47</u>	Feuilles <i>S. sebiferum</i>	Liu et Kong., 2005

	Catechin <u>48</u>	Latex, Feuilles <i>S. sebiferum</i> ,	Gu et al., 2013
	<u>49</u> α -(R), β -(S),3,4,5,2',4',6'- Octahydroxydihydrochalcone	Plante entière <i>S. haematospermum</i>	Woldemichael et al., 2004
	Kaempferol <u>50</u>	Feuilles et serve <i>S. sebiferum</i>	Gao et al. 2015

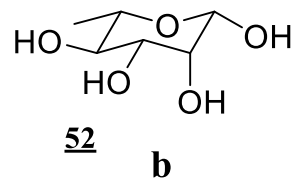
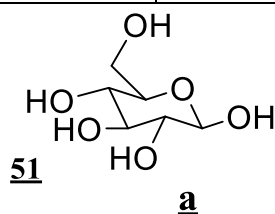


Figure 9: Structures du glucose (Glc) **a** et du rhamnose (Rha) **b**

Outre les flavonoïdes, d'autres composés polyphénoliques ont été isolés des plantes de ce genre, c'est le cas des acides ellagiques. On dénombre près de vingt-un (21) composés élucidés (**He et al., 2021**).

I.5.2. L'acide ellagique et les ellagiques tanins

Les ellagitanins et les acides ellagiques sont des polyphénols principalement présents dans certains fruits, les noix et les graines. Les ellagiques tanins peuvent être hydrolysés en acide ellagique dans des conditions physiologiques *in vivo*, l'acide ellagique obtenu est ensuite métabolisé progressivement par le microbiote intestinal pour produire différents types d'urolithines. La consommation d'aliments riches en ellagique tanin et en acide ellagique peut avoir un effet protecteur contre certaines maladies chroniques (**Landete, 2011**).

Il faut noter qu'il existe des ellagiques tanins qui ne sont pas hydrolysables, mais ils sont toutefois classés comme tanins hydrolysables, c'est le cas de la vescalagine ([Khanbabaee et van Ree, 2001](#)).

I.5.2.1. Biosynthèse des acides ellagiques

La biosynthèse de l'acide ellagique est un processus complexe qui implique plusieurs étapes et voies métaboliques, qui passent toutes par la formation de l'acide gallique. La voie principale de biosynthèse de l'acide gallique (voie **A**) est la déshydrogénation directe de l'acide shikimique **56**. Cette voie est catalysée par l'enzyme shikimate déshydrogénase. La voie (B) est l'hydroxylation de l'acide protocatéchuique, qui est formé par oxydation de l'acide caféique **55** ou la déshydratation de l'acide 3-déhydro-shikimique **60**. Cette voie est catalysée par l'enzyme protocatéchuique hydroxylase. La voie (C) est la β -oxydation de l'acide 3,4,5-trihydroxycinnamique **54**, qui n'a jamais été trouvé dans les plantes. Cette voie est catalysée par l'enzyme cinnamate β -oxydase ([Ishikura et al., 1984](#)).

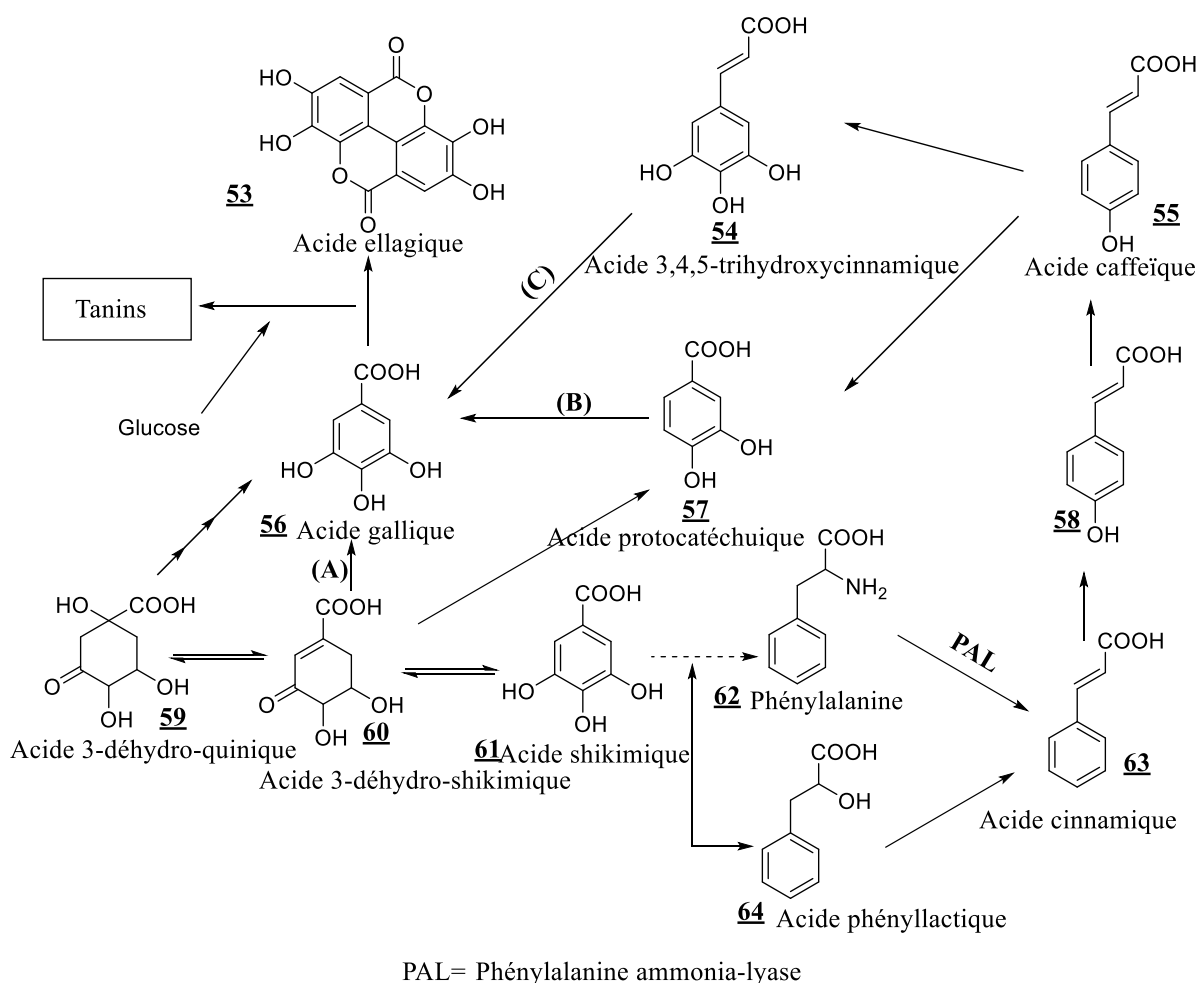
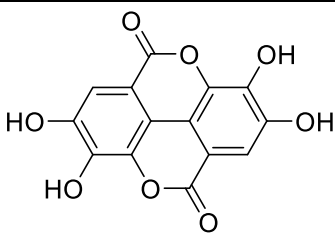
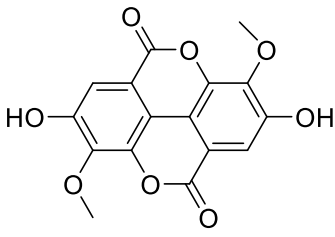
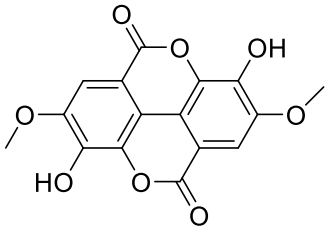
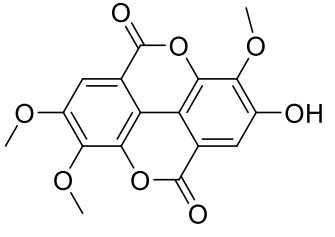
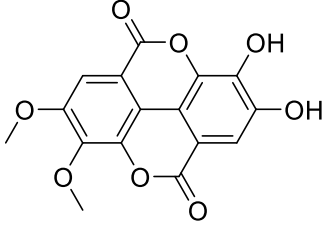


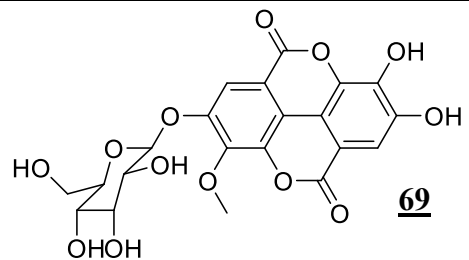
Schéma 2: Voie de biosynthèse des acides ellagiques ([Ishikura et al., 1984](#))

I.4.1.4. Ellagiques tanins isolés du genre *Sapium*

Plus de vingt ellagiques tanins ont été isolés dans les plantes du genre *Sapium*. Quelques structures sont représentées dans le tableau ci-dessous (He et al., 2021).

Tableau 3: Dérivés d'acide ellagique isolés du genre *Sapium*

Structures	Noms	Parties et espèces	Références
 53	Acide ellagique	Feuilles, écorces du tronc <i>S. sebiferum</i>	Fu et al., 2015
 65	Acide 3,3'-di-O-méthylellagique	Ecorces du tronc <i>S. baccatum</i>	Li et al., 2019
 66	Acide 4,4' -di-O-méthylellagique	Tiges <i>S. chihsinianum</i>	Qi et al., 2003
 67	Acide 3,4,3' -tri-O-méthylellagique	Tiges <i>S. discolor</i>	Jia et al., 2007
 68	Acide 3,4-di-O-méthylellagique	Ecore du tronc <i>S. sebiferum</i>	Pradhan et Khastgir, 1973

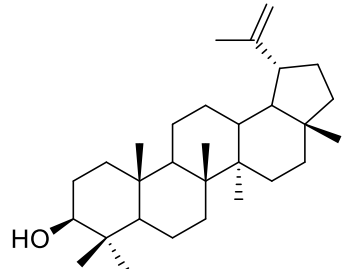
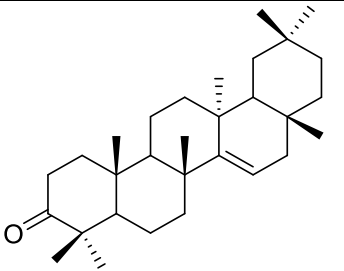
 69	Acide ellagique-4- β-D-glucose	Feuilles <i>S. chihsinianum</i>	Xu et al., 2004
--	-----------------------------------	------------------------------------	---------------------------------

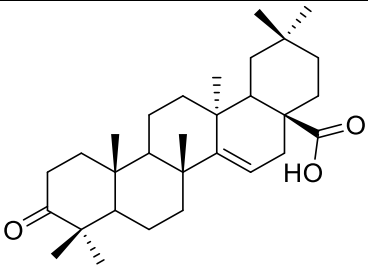
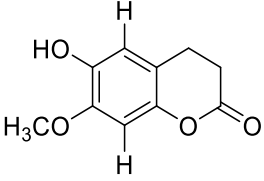
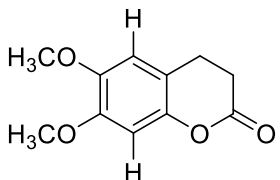
De par la diversité chimique des plantes de ce genre, d'autres classes de métabolites secondaires ont été isolés des plantes du genre *Sapium* à l'instar de tritépènes et les coumarines.

I.5.1.4. Triterpènes et autres composés isolés du genre *Sapium*

Comme les flavonoïdes et les acides ellagiques, d'autres classes de composés ont également été isolés des plantes de ce genre: c'est le cas des tritépènes, et les coumarines ([He et al., 2021](#)).

Tableau 4: Triterpènes et coumarines du genre *Sapium*

Classes	Noms et structures	Sources	Parties	Références
Triterpènes	 70 Lupéol	<i>Sapium baccatum</i>	Feuilles	Ahmed et al., 2010
	 71 Téraxerone	<i>Sapium baccatum</i>	Feuilles	Al Muqarrabun et al., 2014

	 72 Acide leuritonique	<i>Sapium discolor</i>	Tiges et feuilles	Zhang et al., 2018
Coumarines	 73 Isoscapoletin	<i>Sapium discolor</i>	Tiges et branches	Jia et Min., 2005
	 74 6,7-Dimethoxy-coumarin	<i>Sapium discolor</i>	Brindilles et feuilles	Liu et al., 2016

I.5.2. Travaux pharmacologiques antérieures sur le genre *Sapium*

Depuis des millénaires, l'homme s'est toujours servi des éléments de son environnement, en particulier les plantes, pour lutter contre plusieurs maladies ([Manzo et al., 2016](#)). Grâce à ses diverses vertus thérapeutiques en médecine traditionnelle, les espèces du genre *Sapium* ont attirés la curiosité des chercheurs qui ont ainsi fait de nombreuses études pharmacologiques.

- ❖ **Antiplasmodiale:** l'extrait méthanolique brute des écorces des tiges de *Sapium cornutum* Pax présente une activité antiplasmodiale prononcée contre la souche sensible du *Plasmodium falciparum* avec une IC_{50} de $2,0 \pm 0,3$ $\mu\text{g/mL}$. La référence utilisée était la chloroquine $2H_3PO_4$ avec une CI_{50} de $0,08 \pm 0,01$ $\mu\text{g/mL}$ ([Mesia et al., 2008](#)).
- ❖ **Cytotoxique:** L'extrait éthanolique des feuilles de *Sapium ellipticum* qui a révélé une bonne activité cytotoxique contre les lignées cellulaires *Hela* provoquant une inhibition de plus de 50 %. Les standards utilisés étaient la cisplatine à 10 et 100 μM , ([Sowemimo et al., 2009](#)).

- ❖ **Antioxydant:** l'extrait éthanolique brute des feuilles de *Sapium glandulosum* présente une bonne activité antioxydante avec IC₅₀ de 58,55 ± 6.35 µg/mL (Silva et al., 2011; Fu et al., 2013).

CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. Extraction et isolement des composés

Les écorces du tronc de *Sapium cornutum* (Euphorbiaceae) ont été récoltées dans la ville de Soa, région du Centre Cameroun. L'identification a été faite à l'Herbier National du Cameroun (HNC) où un échantillon avait été déposé sous le numéro 6681/SRF/Cam.

Après la récolte, les écorces du tronc de *Sapium cornutum* ont été découpées séchées et broyées pour donner une poudre de 2,4 kg. L'extraction s'est faite par macération à température ambiante dans 15 L de Méthanol pendant 48 h. Après filtration, la solution résultante a été concentrée sur évaporateur rotatif pour donner un extrait brut de 240,8 g. De cet extrait brut, 3 g ont été prélevés pour les tests biologiques tandis que les 237,8 g restant ont été soumis à la partition liquide-liquide. Pour cela, nous avons utilisé deux solvants organiques notamment acétate d'éthyle et n-butanol, ce qui a conduit à l'obtention de deux fractions indexées F1 et F2 respectivement. Le traitement dans une colonne chromatographique sur gel de silice de la fraction à l'acétate d'éthyle en phase normale, élué avec les systèmes Hex/AcOEt et AcOEt/MeOH de polarité croissante. De cette colonne chromatographique, nous avons obtenu cinq composés indexés de SCE1 à SCE5 dont trois ont été entièrement caractérisés sur la base de leurs données spectrales et comparée à celles décrite dans la littérature. Le schéma 3 ci-dessous résume l'ensemble de notre protocole expérimental.

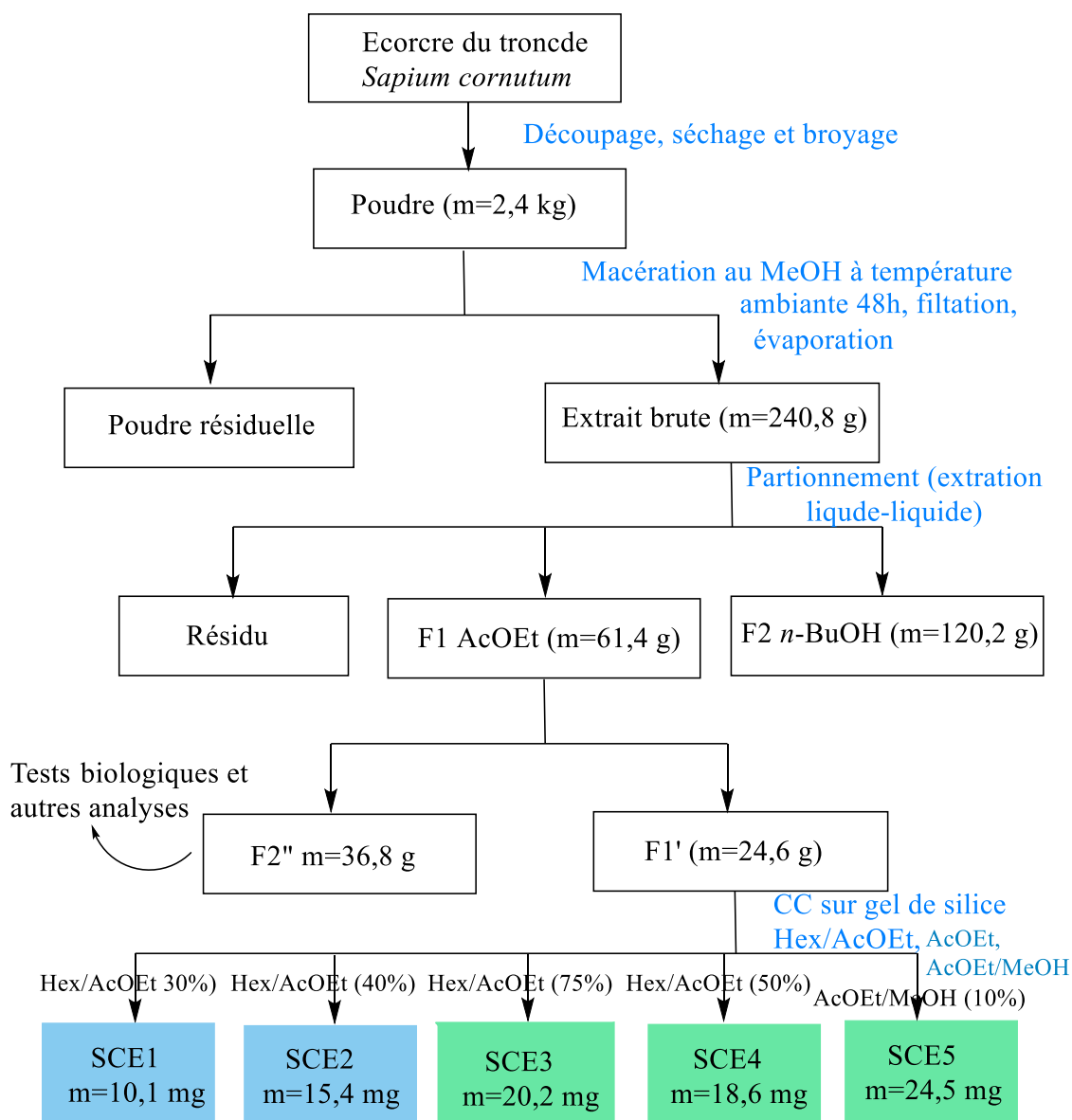


Schéma 3: Protocole expérimental d'extraction et d'isolement des composées des écorces du tronc de *Sapium cornutum*

II.2. Elucidations structurales des composés isolés

Des cinq composés isolés, trois ont été entièrement identifiés notamment **SCE5**, **SCE4** et **SCE3**.

II.2.1. Identification du composé SCE5: Acide 3,3'-di-O-méthyl-ellagique-4'-O- α -L-rhamnose

Le composé SCE5 a été obtenu sous forme de poudre jaune dans le système Hex/AcOEt (25:75). Il est soluble dans le DMSO et répond positivement au test au chlorure ferrique (FeCl_3) et donne une coloration violette, traduisant le caractère phénolique du composé, par addition il répond positivement au test de Molisch suggérant ainsi la présence d'une unité osidique dans sa structure.

Sa formule brute $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ a été déduite de l'analyse de son spectre ESI en haute résolution qui montre le pic de l'ion moléculaire déprotoné $[\text{M}-\text{H}]^-$ à m/z 475,0515 (calculé pour 475,0870), renfermant 13 degrés d'insaturation, suggérant une molécule fortement conjuguée.

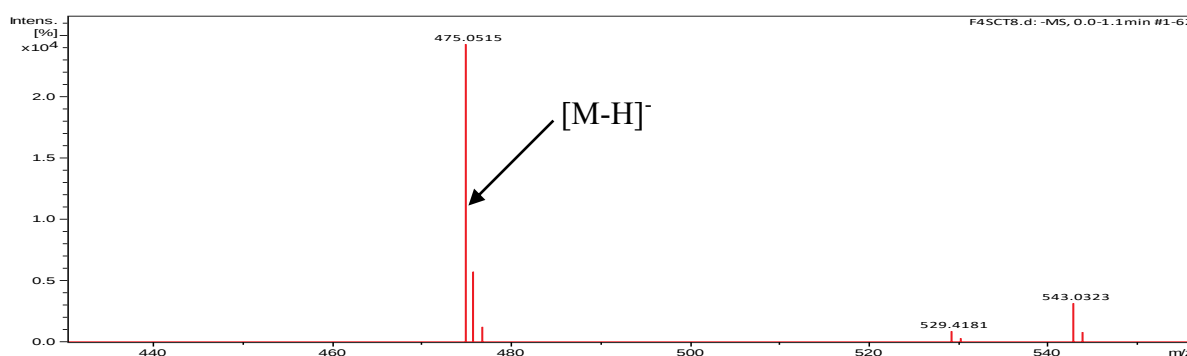
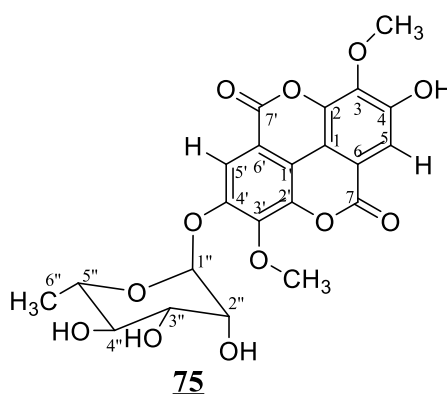


Figure 10: Spectre de masse ESI à haute résolution de SCE5

L'ensemble des données spectrales couplés à celles de la littérature nous ont permis d'attribuer au composé SCE5 la structure **75** suivante, un ellagique tannin isolé déjà du genre *Sapium* (He et al., 2021).



En effet, l'analyse de son spectre RMN ^1H (DMSO, 400 MHz, **Figure 11 et 12**) couplé à son spectre HSQC (**Figure 13**) qui montre les corrélations hétéronucléaires ^1H - ^{13}C en 1J , présente un ensemble des signaux allant des champs forts aux champs faibles. Ainsi on observe

dans les champs faibles un ensemble de deux signaux singulets aromatiques intégrant pour un proton chacun à δ_H 7,78 (1H, s, H-5')/ δ_C 111,8 et 7,51 (1H, s, H-5)/ δ_C 111,7 caractéristiques des protons des acides ellagiques en position 5 et 5' respectivement (Da Silva et al., 2008). Dans les champs forts on observe un ensemble des cinq signaux de proton des méthines oxygénés parmi lesquels:

- Un doublet d'un proton à δ_H 5.57 (1H, d, $J = 1.3$ Hz, H-1'')/ δ_C 99,9 caractéristique du proton anomérique d'un sucre.
- Un multiplet d'un proton à δ_H 3,36 (1H, m)/ δ_C 70,6
- Un doublet à δ_H 3,74 (1H, dq; 3,4; 9,3)/ δ_C 71,6
- Un doublet dédoublé à δ_H 3,98 (1H, dd; 3,5; 1,8)/ δ_C 70,1
- Un doublet dédoublé 3,53 (1H; dd; $J=1,7$; 3,1)/ δ_C 70,3

Ces signaux sont ceux appartenant aux protons de l'unité osidique.

La nature du sucre qui est celle du L-rhamnose a été aisément établi grâce au signal du proton d'un méthyle résonnant sous forme de doublet à δ_H 1,14 (3H, d; $J = 6,1$ Hz; H-6''), La configuration du sucre a été établit grâce au proton anomérique ayant une constante de couplage de $J = 1,3$ Hz confirmant ainsi que le sucre est un α (Da Silva et al., 2008).

Nous observons également sur ce spectre deux signaux singulets intégrant pour trois protons chacun à δ_H 4,07 (3H, s, H-3) et 4,05 (3H, s, H-3') attribuables aux protons des méthoxyles.

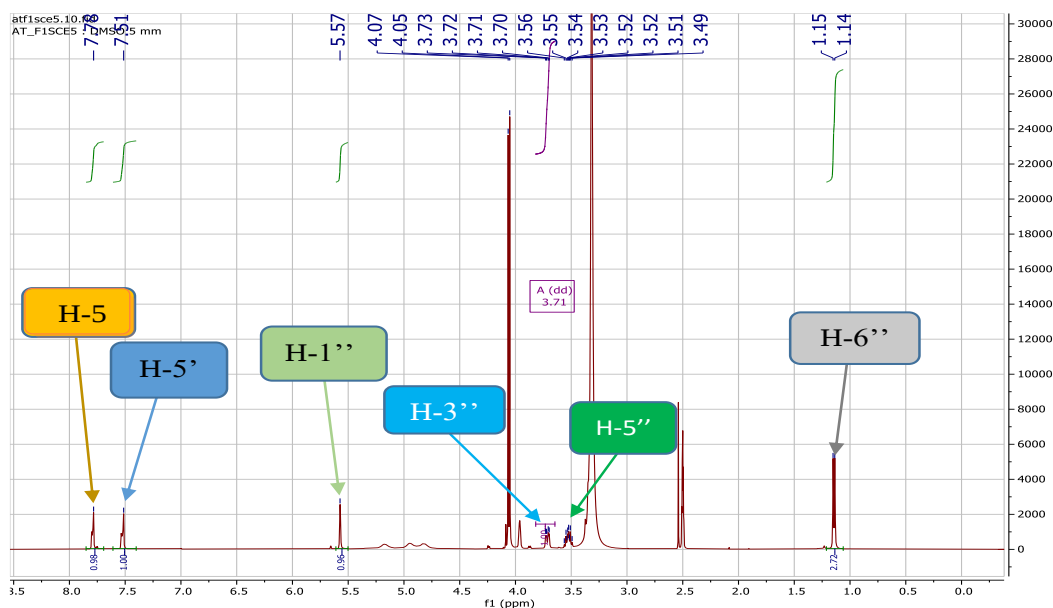


Figure 11: Spectre RMN 1H (DMSO, 400 MHz) de SCE5

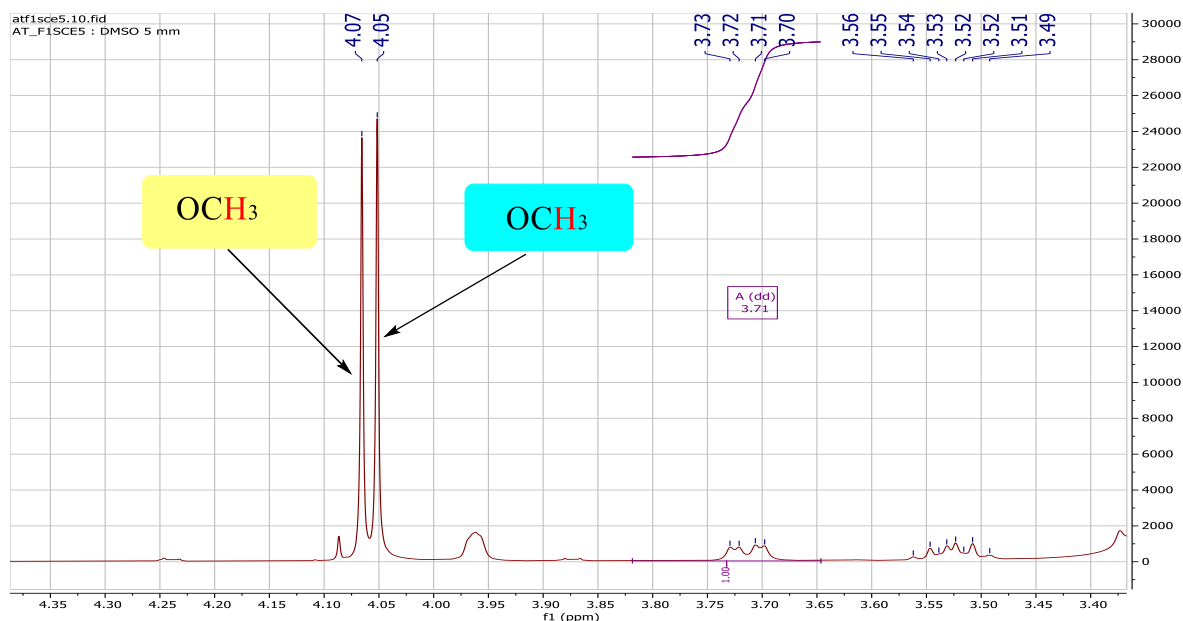


Figure 12: Spectre élargi R MN ^1H (DMSO, 400 MHz) de SCE5

Sur son spectre HSQC (**Figure 13**) on observe 11 taches de corrélations hétéronucléaires ^1H - ^{13}C , indiquant ainsi que la structure de SCE5 compte 11 carbones quaternaires. Les différentes corrélations observées sont entre le proton à δ_{H} 7,78 (1H, s) et le carbone à δ_{C} 111,8 (C-5);

- ^1H à δ_{H} 7,51 (1H; s) et le carbone à δ_{C} 111,7 (C-5');
- ^1H à δ_{H} 5,57 (1H; d; 1,3 Hz) et le carbone à δ_{C} 99,9 (C-1'');
- ^1H à δ_{H} 3,72 (1H; dd; 1,7 et 3,1 Hz) et le carbone à δ_{C} 70,-6 (C-2'');
- ^1H à δ_{H} 3,98 (1H; dd; 3,5 et 9,6 Hz) et le carbone à δ_{C} 70,3 (C-3'');
- ^1H à δ_{H} 3,36 (1H; m) et le carbone à δ_{C} 71,8 (C-4'');
- ^1H à δ_{H} 3,52 (1H; dq; 3,4 et 9,3 Hz) et le carbone à δ_{C} 70,6 (C-5'');
- ^1H à δ_{H} 1,14 (3H; d; 6,1 Hz) et le carbone à δ_{C} 17,8 (C-6'')

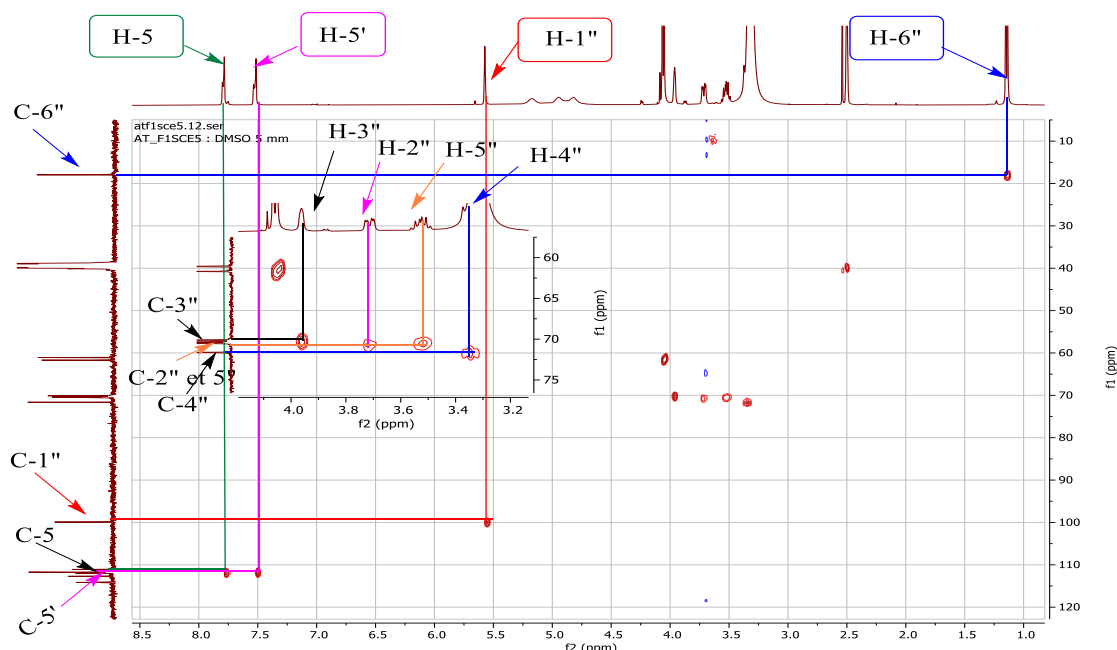


Figure 13 : Spectre HSQC (DMSO, 100 MHz) de SCE5

L'analyse de son spectre RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz ; **Figure 14**) totalement découplé et large bande, montre la présence de 22 signaux de carbone correspondant aux 22 atomes de carbones de la formule brute parmi lesquels :

- ❖ Douze (12) carbones hybridés sp^2 quaternaires dont huit (08) oxygénés parmi lesquels deux signaux résonnant à δ_{C} 158.3 (C-7) et 158.4 (C-7') attribuables aux carbonyles des lactones des acides ellagiques de types α , β insaturés (**Djoukeng et al., 2007**).
- Six (06) carbones oxygénés apparaissant à δ_{C} 141,6 (C-2), 141,0 (C-3), 152,8 (C-4), 140,2 (C-2'), 141,9 (C-3') et 150,3 (C-4').
- Quatre (04) carbones non oxygénés résonnent à δ_{C} 112,7 (C-1), 112,0 (C-6), 111,0 (C-1') et 114,1 (C-6').
- Deux (02) signaux de méthine aromatiques à δ_{C} 111,7 (C-5) et 111,8 (C-5') caractéristiques des méthines des acides ellagiques.
- ❖ L'ensemble des signaux du rhamnose, tous hybridés sp^3 parmi lesquels cinq oxygénés dont un signal à δ_{C} 99,9 (C-1') attribuables au carbone anomérique du rhamnose, les autres résonnant à δ_{C} 70,3 (C-2''), 70,1 (C-3''), 71,6 (C-4''), 70,6 (C-5''), mais également un signal d'un méthyle à δ_{C} 17,9 (C-6'').
- ❖ Les deux autres signaux restants sont attribuables aux signaux méthoxyles résonant à δ_{C} 61,9 (OCH_3) et 61,0 (OCH_3).

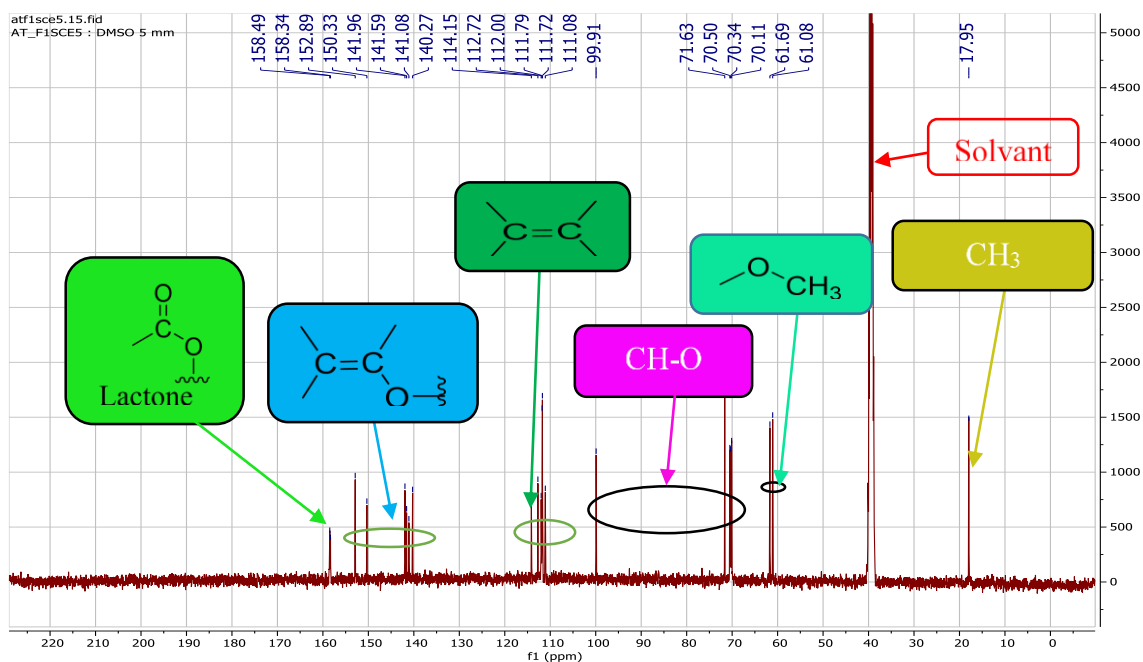
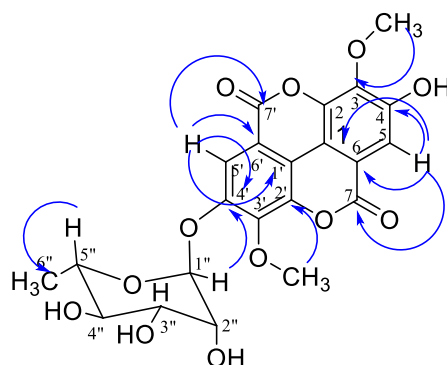


Figure 14: Spectre RMN ^{13}C (DMSO) du composé SCE5

Cette structure a été confortée grâce à l'analyse de son spectre HMBC (**Figure 15**), montrant ainsi les corrélations hétéronucléaires ^1H - ^{13}C à 2J et 3J ainsi, on observe les corrélations entre:

- Le proton aromatique à δ_{H} 7,51 (H-5) et le carbonyle de la lactone à δ_{C} 158,3 (C-7), de même avec les carbones à δ_{C} 112,7 (C-1), 141,9 (C-3).
- Le proton aromatique à δ_{H} 7,71 (H-5') et le carbonyle de la lactone à δ_{C} 158,4 (C-7'), de plus avec les carbones à δ_{C} 111,0 (C-1') et 141,9 (C-3').
- Le proton anomérique à δ_{H} 5,57 (H-1'') et le carbone à δ_{C} 150.3 (C-4') confirmant ainsi que le sucre est attaché en position C-4'-O à l'aglycone.
- Les protons à δ_{H} 4,07 (3-OCH₃) et 4,05 (3'-OCH₃) et les carbones à δ_{C} 141,0 (C-3) et 141,9 (C-3') respectivement confirmant ainsi la position des deux méthoxyles en C-3 et C-3'.



↷ : Corrélations HMBC

Schéma 4: Corrélations HMBC du composé SCE5

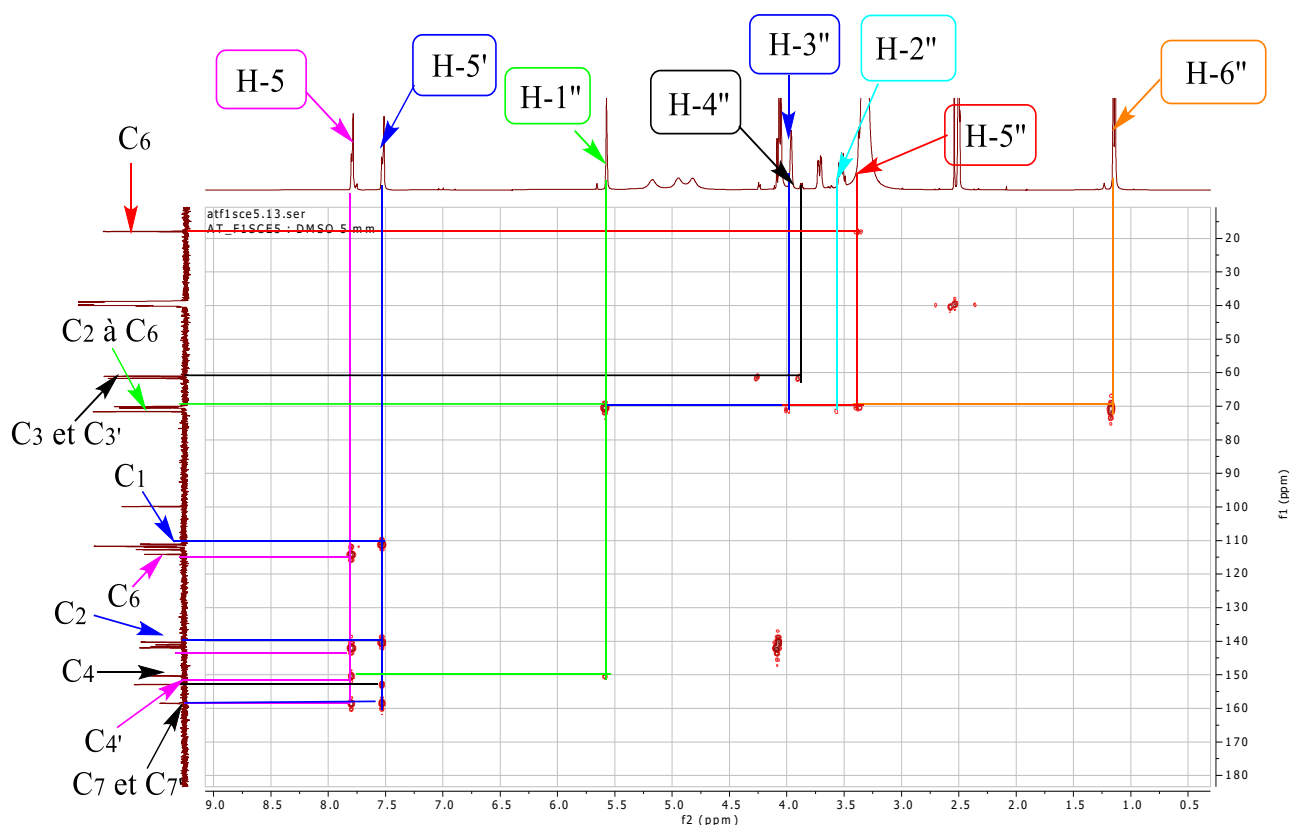


Figure 15: Spectre HMBC (DMSO) du composé SCE5

L'ensemble des tous ses données spectrales sont en accord avec celles décrites dans la littérature qui est celle l'acide 3,3'-di-O-méthyl-ellagique-4'-O- α -L-rhamnose composé connu précédemment isolé de *Dipentodon sinicus* par (Ye et al., 2007). Ce composé a présenté une

activité antioxydante modérée lors du test au DPPH avec une CI_{50} de $10,99 \mu M$, la référence utilisée étant la quercetine CI_{50} $4.3 \mu M$ (Sritularak et al., 2013).

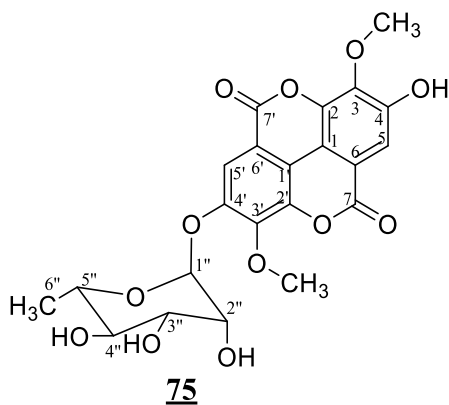


Tableau 5: Données spectrales de RMN ¹H (DMSO, 400 MHz) et RMN ¹³C (DMSO) de SCE5 et de l'acide 3,3'-di-O-méthylellagique-4'-O-α-L-rhamnose

SCE5			Acide 3,3'-di-O-méthylellagique-4'-O-α-L-rhamnose (Ye et al., 2007)	
N°	δ _C (ppm)	δ _H ppm (nH, m, J Hz)	δ _C (ppm)	δ _H (nH, m, J Hz)
1	112,7 (C)	-	111,0	-
2	141,6 (C)	-	140,9	-
3	141,0 (C)	-	140,1	-
4	152,8 (C)	-	150,2	-
5	111,7(CH)	7,51 (1H, s)	111,6	7.53 (1H, s)
6	112,0 (C)	-	111,9	-
7	158,3 (C)	-	158,2	-
1'	111,0 (C)	-	114,0	-
2'	140,2 (C)	-	141,5	-
3'	141,9 (C)	-	141,8	-
4'	150,3 (C)	-	152,8	-
5'	111,8(CH)	7, 78 (1H, s)	111,7	7,78 (1H, s)
6'	114,1 (C)	-	112,6	-
7'	158,4 (C)	-	158,3	-
1''	99,9 (CH)	5,57 (1H; d; 1,3)	99,8	5,57 (1H; d; 1,4)
2''	70,6 (CH)	3,72 (1H; dd; 1,7 et 3,1)	70,4	4,00 (1H; dd; 1,8 et 3,2)
3''	70,3 (CH)	3,98 (1H; dd; 3,5 et 9,6)	70,2	3,84 (1H; dd; 3.6 et 9.8)
4''	71,8 (CH)	3,36 (1H; m)	71,5	3,32 (1H; m)
5''	70,6 (CH)	3,52 (1H; dq; 3,4 et 9,3)	70,0	3,55 (1H; dq)
6''	17,9 (CH ₃)	1,14(3H; d; 1,6)	17,9	1,13 (3H; d; 1,6)
OCH ₃	61,0	4,05 (3H; s)	60,9	4,06(3H; s)
OCH ₃	61,9	4,07 (3H; s)	61,8	4,03 (3H; s)

II.2.2 Identification du composé SCE4 (Acide 3,3'-di-O-méthylellagique)

Le composé SCE4 obtenu sous forme de poudre blanche dans le système Hex/AcOEt (40:60). Il est soluble dans le DMSO et répond positivement au test au chlorure ferrique (FeCl₃) et donne une coloration violette, traduisant le caractère phénolique du composé.

Sa formule brute $C_{16}H_{10}O_8$ a été déduite de l'analyse de son spectre ESI à haute résolution qui montre le pic de l'ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ à m/z 331,0447 (calculé pour 331,0450), couplé à l'analyse de son spectre RMN ^{13}C (**Figure 18**). Cet ensemble d'informations nous permet de dire que le composé SCE4 renferme 12 degrés d'insaturation, suggérant une molécule fortement conjuguée.

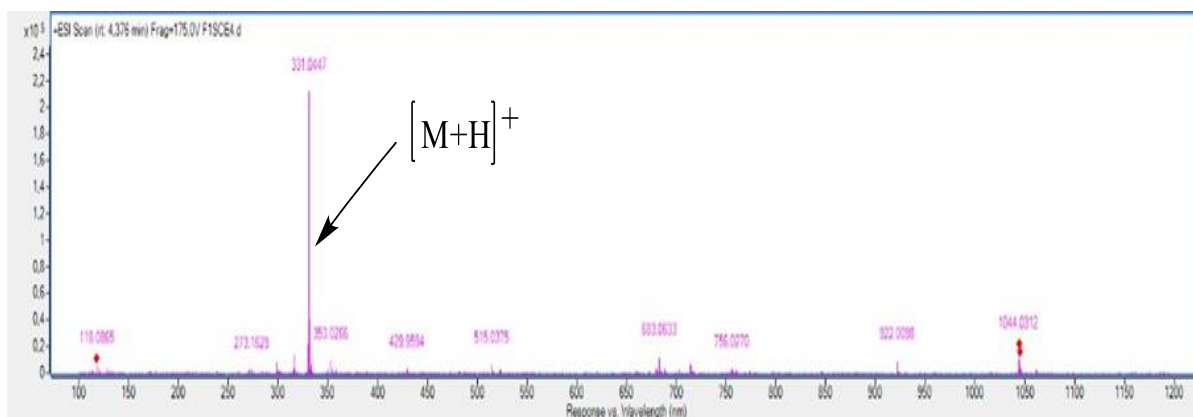


Figure 16: Spectre de masse ESI à haute résolution du composé SCE4

L'analyse de son spectre RMN 1H (DMSO, 400 MHz, **Figure 17**) couplé au HSQC présente un signal dans les champs faibles un signal aromatique singulet, intégrant pour deux protons à δ_H 7,78 (2H; s; H-5; H-5'), caractéristique des protons des acides ellagiques en position 5 et 5' respectivement ([Da silva et al., 2008](#)).

Un (01) signal singulet intégrant pour six (06) protons, raisonnant à δ_H : 4,07 (6H, s) attribuable aux protons des groupements méthoxyles (O-CH₃).

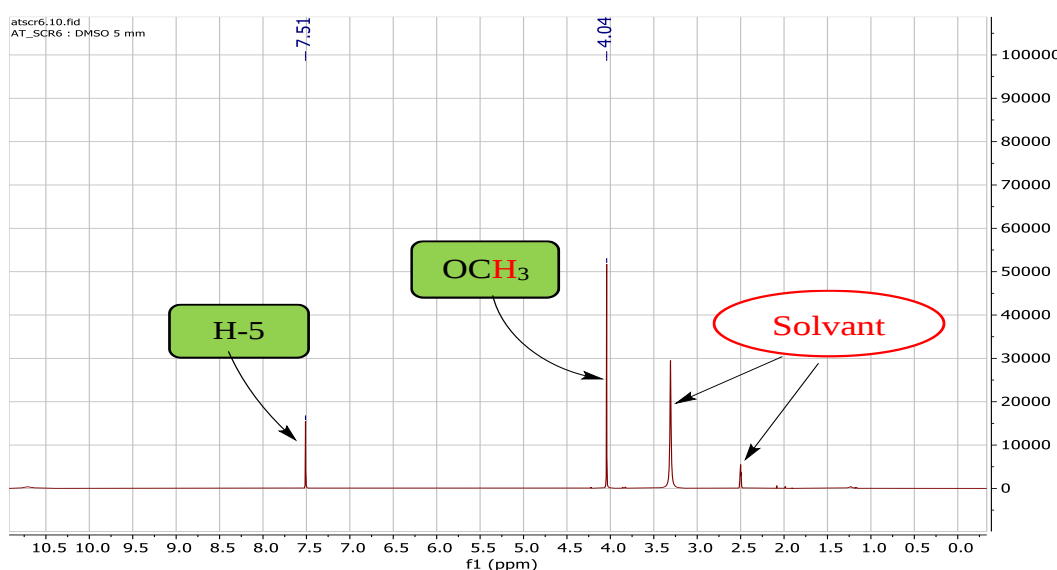


Figure 17 : Spectre RMN 1H (DMSO, 400 MHz) du composé SCE4

L'analyse de son spectre RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz ; **Figure 18**) totalement découplé et large bande, montre la présence de 08 signaux de ^{13}C au lieu de 16 comme indiqué dans sa formule brute suggérant un élément de symétrie au sein de cette molécule. Parmi ces 8 signaux on distingue sept (07) sont sp^2 parmi lesquels:

- Un (01) signal raisonnant $\delta_{\text{C}} 158,4$ (C-7 et C-7') caractéristique de la fonction lactone des acides ellagiques.
- Cinq (05) signaux de carbones oxygénés raisonnant à δ_{C} 140,2 (C-3 et C-3'); 141,2 (C-2 et C-2'); 152,1 (C-4 et C-4'); 111,6 (C-1 et C-1') et 112,1 (C-6 et C-6').
- Un (01) signal de méthine (CH) non oxygéné raisonnant à δ_{C} 111,4 (C-5 et C-5').

On note également la présence du signal d'un méthyle oxygéné raisonnant à 60,9.

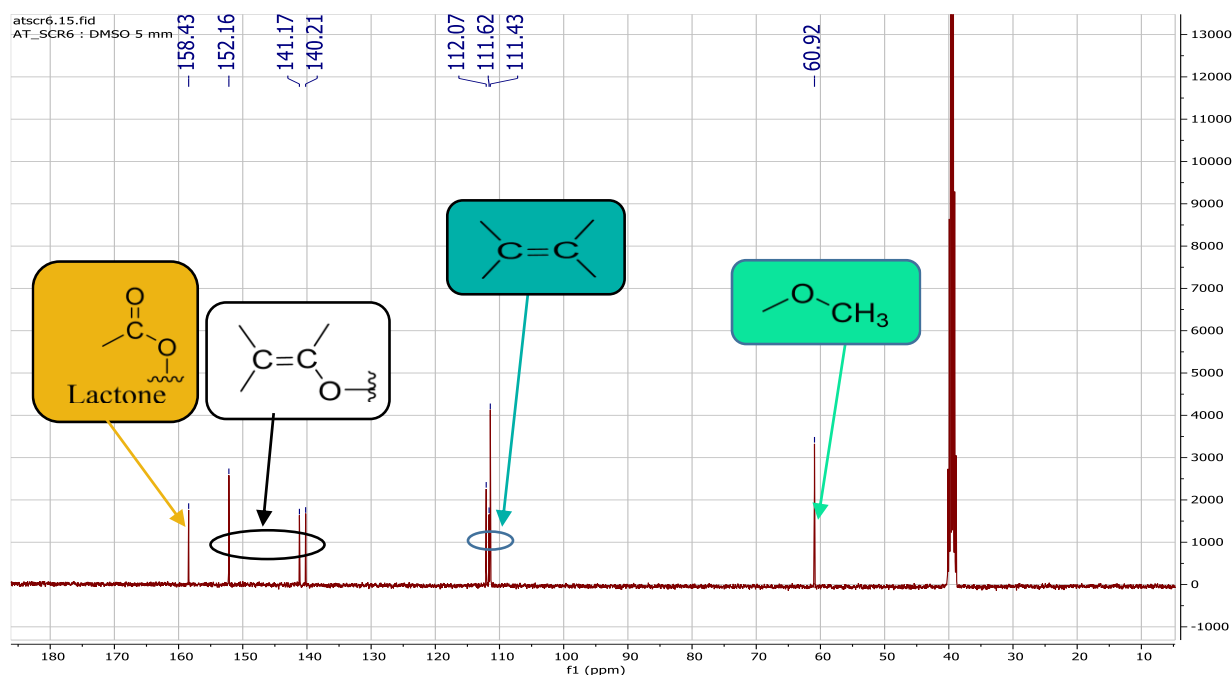


Figure 18: Spectre RMN ^{13}C (DMSO) du composé SCE4

Par ailleurs, l'analyse de son spectre HMBC (DMSO, **Figure 19**), présente des corrélations entre le ^1H à δ_{H} 7,51 et les atomes de carbone à δ_{C} 111,6; 140,2; 152,1 et 158,4.

La structure de SCE4 a été confortée grâce à l'analyse de son spectre HMBC (**Figure 19**), montrant ainsi les corrélations hétéro nucléaires ^1H - ^{13}C en 2J et 3J majoritairement. Ainsi on observe les corrélations entre le ^1H à δ_{H} 7,51 et les atomes de carbone à δ_{C} 111,6; 140,2;

152,2 et 158 d'une part, et les corrélations entre le ^1H à δ_{H} 4,04 et l'atome de carbone à δ_{C} 140,2 (C-3).

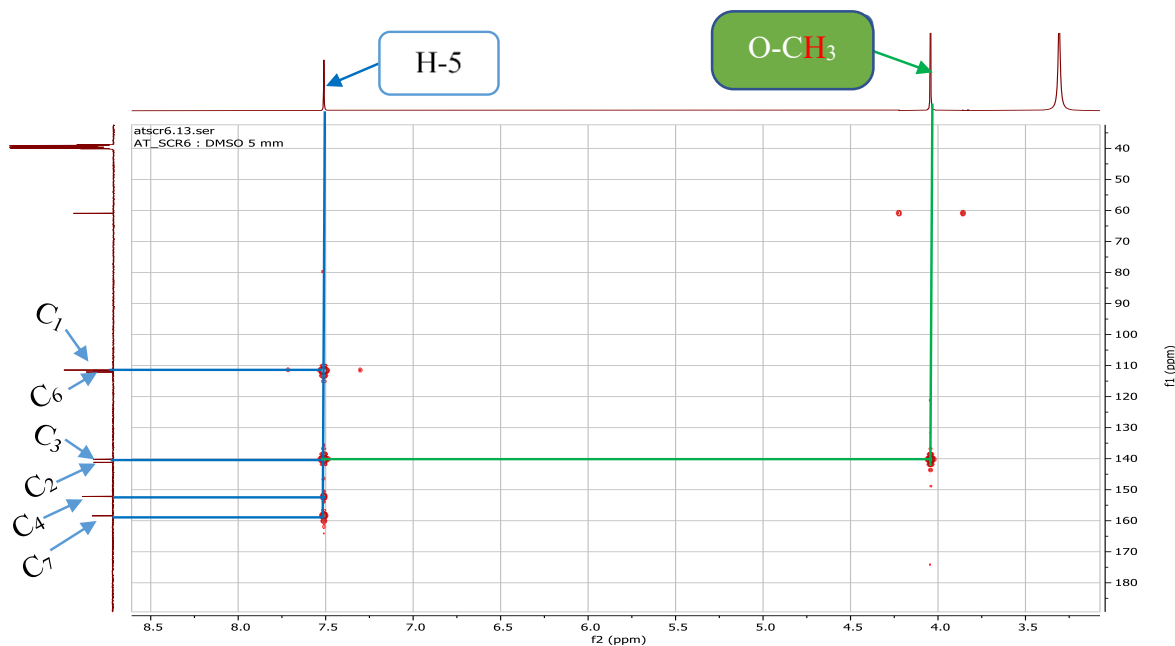


Figure 19: Spectre HMBC (DMSO) du composé SCE4

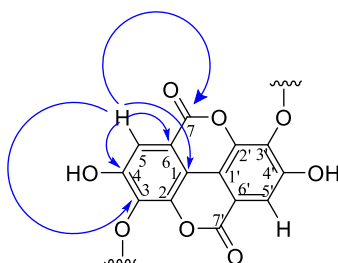
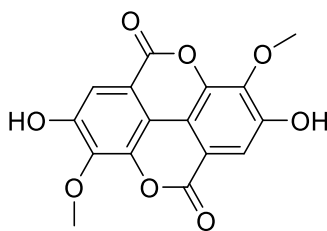


Schéma 5: Corrélations HMBC de SCE4

L'ensemble de toutes ces données spectrales en comparaison avec celles de la littérature nous a permis d'attribuer à **SCE4** la structure **54** qui est celle de l'acide 3,3'-di-O-méthylellagique, précédemment isolé par [Aljubiri et al, \(2021\)](#). Ce composé (acide 3,3'-di-O-méthylellagique) a montré des activités antioxydantes significatives dans les tests de piégeage de radicaux libres ABTS et DPPH avec des valeurs de CI_{50} de $5,76 \pm 0,06$ et $6,64 \pm 0,42$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement ([Runde et al 2023](#)).



54

Acide 3,3'-di-O-méthylellagique

Tableau 6: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) et RMN ^{13}C de SCE4 et de l'acide 3,3'-di-O-méthylellagique

N°	SCE4		Acide 3,3'-di-O-méthylellagique (Aljubiri et al.,2021)	
	δ_C (ppm)	δ_H ppm (nH, m, J Hz)	δ_C (ppm)	δ_H (nH, m, J Hz)
1/1'	111,6 (C)	-	111,6	-
2/2'	141,2 (C)	-	141,3	-
3/3'	140,2 (C)	-	140,3	-
4/4'	152,1 (C)	-	152,3	-
5/5'	111,4 (CH)	7,51 (1H; s)	111,5	7,49 (1H; s)
6/6'	112,1 (C)	-	112,2	-
7/7'	158,4 (C)	-	158,6	-
3/3'-O-CH ₃	60,9	4,04 (3H; s)	61,1	4,02 (3H; s)

II.2.3 Identification du composé SCE3 (Acide ellagique)

Le composé SCE3 a été obtenu sous forme de poudre blanche dans le système Hexane/Acétate (50:50). Il est soluble dans le DMSO et répond positivement au test au chlorure ferrique (FeCl_3) caractéristique des composés phénoliques.

Sa formule brute $\text{C}_{14}\text{H}_6\text{O}_8$ a été déduite de l'analyse de son spectre ESI à haute résolution qui montre le pic de l'ion moléculaire déprotoné $[\text{M}-\text{H}]^-$ à m/z 301,0630 (calculé pour 300,9982), couplé à l'analyse de son spectre RMN ^{13}C (**Figure 22**). Cet ensemble

d'informations nous permet de dire que le composé SCE3 renferme 12 degrés d'insaturation, suggérant une molécule fortement conjuguée.

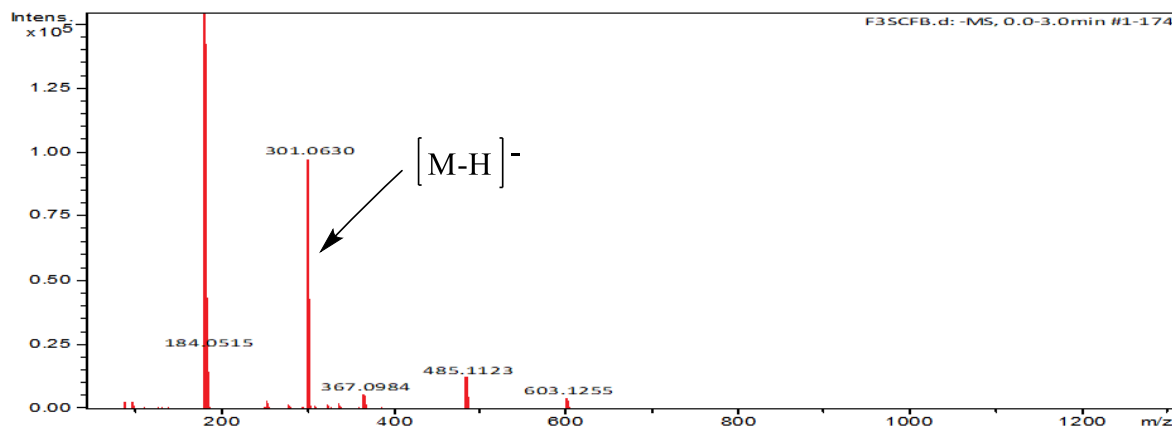


Figure 20: Spectre de masse ESI à haute résolution du composé SCE3

L'analyse de son spectre RMN ^1H (DMSO, 400 MHz **Figure 21**) montre la présence d'un signal de proton aromatique singulet, intégrant pour deux (02) protons, caractéristique des acides ellagiques raisonnant à 7,45.

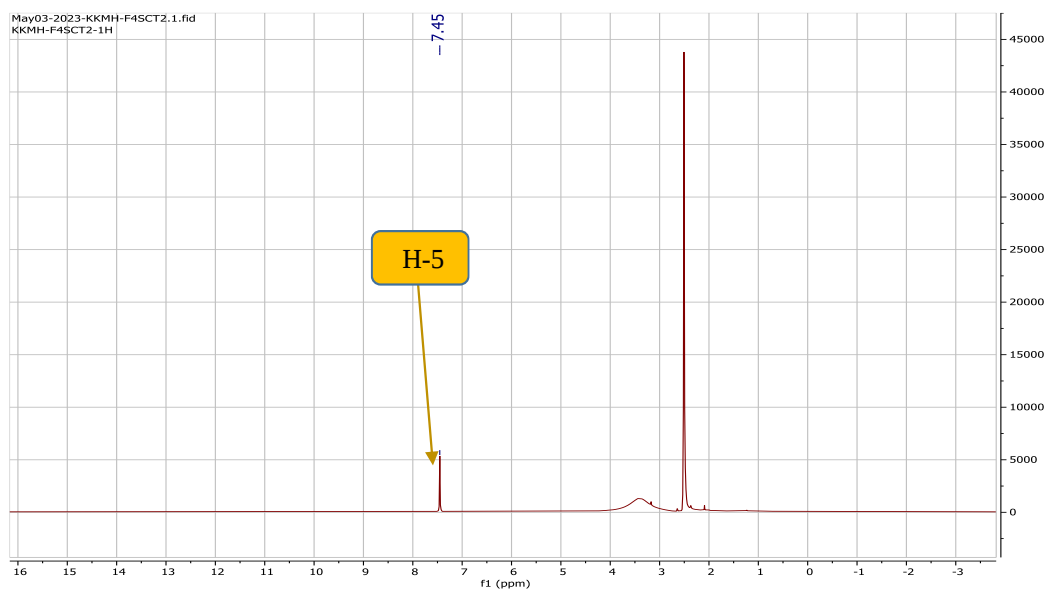


Figure 21: Spectre RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) du composé SCE3

L'analyse de son spectre RMN ^{13}C (DMSO, **Figure 22**), permet d'observer la présence de sept (07) signaux de ^{13}C tous hybridés sp^2 au lieu de 14 comme indiqué dans sa formule

brute, ce qui traduit la présence d'un élément de symétrie au sein de la molécule. Parmi ces carbones on a:

- Un (01) signal raisonnant à δ_C 159,6 (C-7 et C-7') caractéristique de la fonction lactone des acides ellagiques.
- Cinq (05) signaux de carbones quaternaires raisonnant à δ_C 140,5 (C-2 et C-2'); 148,6 (C-4 et C-4'); 136,8 (C-3 et C-3'); 112,8 (C-6 et C-6') et 110,5 (C-1 et C-1').
- Un (01) signal de méthine (CH) raisonnant à δ_C 107,7 (C-5 et C-5').

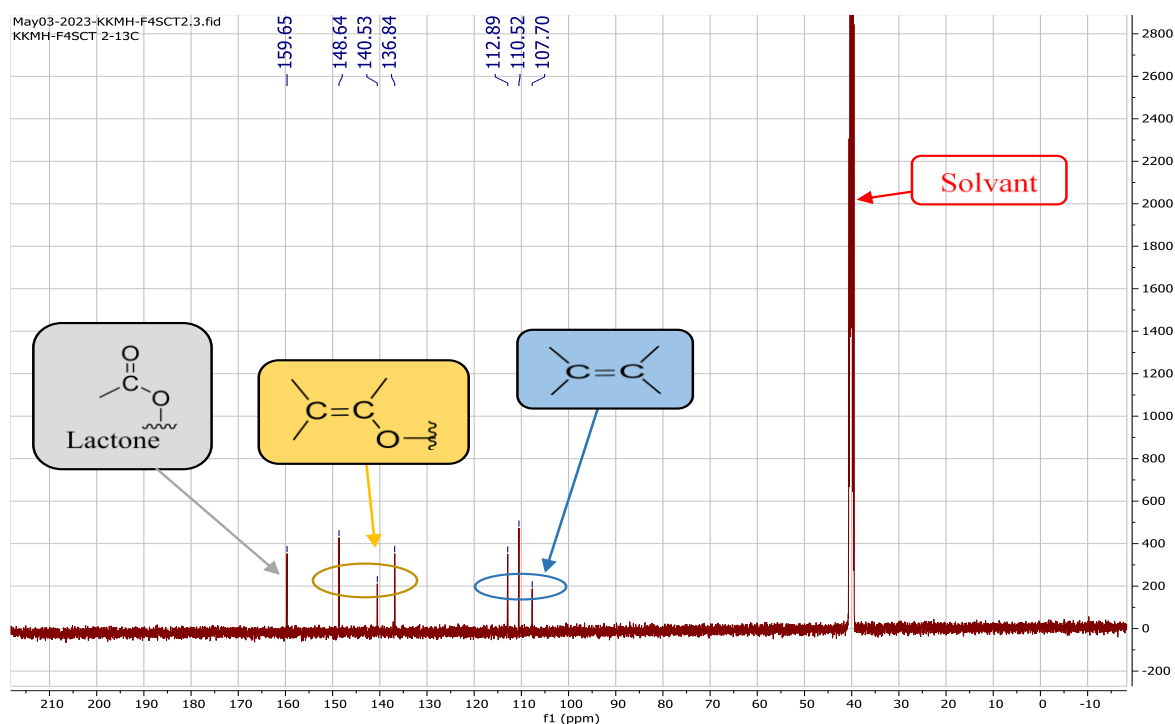
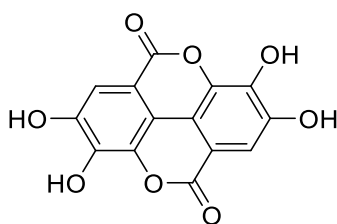


Figure 22: Spectre RMN ^{13}C (DMSO) du composé SCE3

Toutes ces données spectrales, comparées à celles décrites dans la littérature ont permis d'attribuer à SCE3 la structure **53** qui est celle de l'acide ellagique, précédemment isolé de *Casearia sylvestris* par (Da silva et al., 2008). L'acide ellagique a présenté en plus d'une activité antioxydante, une activité antibactérienne. La valeur MIC est de $0,104 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ contre la souche *S. aureus* (Pacyga et al., 2024).



53

Acide ellagique

Tableau 7: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) de SCE3 et de l'acide ellagique

	SCE3		Acide ellagique (Da silva et al., 2008)	
N°	δ_{C} (ppm)	δ_{H} ppm (nH, m, J Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (nH, m, J Hz)
1/1'	110,5 (C)	-	112,6	-
2/2'	136,8 (C)	-	136,8	-
3/3'	140,5 (C)	-	140,3	-
4/4'	148,6 (C)	-	148,7	-
5/5'	105,7 (CH)	7,45 (1H, s)	111,5	7,60 (1H, s)
6/6'	112,8 (C)	-	110,8	-
7/7'	159,6 (C)	-	161,3	-

II.3. Discussion

Au cours de nos travaux, il était question pour nous de faire une étude phytochimique de l'extrait au méthanol des écorces du tronc de *Sapium cornutum* (Euphorbiaceae). Sur la fraction à l'acétate d'éthyle que nous avons travaillé, cinq (05) composés indexés SCE1 à SCE5 ont été isolés parmi lesquels trois (03) ont été identifiés comme acide ellagique **53** et ses dérivés. Bien que les analyses biologiques étant en cours, ces composés auraient présenté d'après les travaux de [Sritularak et al. \(2013\)](#) et [Pacyga et al. \(2024\)](#) des activités antioxydante et antimicrobienne. Ces différentes activités biologiques pourraient justifier l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle. Concernant sa taxonomie, bon nombre

de travaux doivent encore s'effectuer sur cette plante pour pouvoir tirer une conclusion sur les composés qui peuvent être considéré comme des marqueurs chimiotaxonomiques.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

En somme, l'objectif de ce travail consistait à rechercher, identifier et caractériser des métabolites secondaires de l'extrait au méthanol des écorces du tronc de *Sapium cornutum*. Le fractionnement de l'extrait à l'aide des méthodes chromatographiques usuelles en phase liquide et sur gel de silice normale ont permis d'isoler cinq (05) composés, dont trois (03) à savoir: l'acide ellagique **53** (SCE3), l'acide 3,3'-di-O-méthylellagique **54** (SCE4) et l'acide 3,3'-di-O-méthylellagique-4'-O- α -L-rhamnose **75** (SCE5) ont été entièrement caractérisés.

Les structures de ces composés ont été élucidées aux moyens des méthodes spectroscopiques dont la RMN (^1H et ^{13}C) à une et à deux dimensions en accord avec la spectrométrie de masse. Ces structures ont été confirmées par comparaison de leurs données spectrales à celles décrites dans la littérature.

Ces travaux qui représentent une étude phytochimique préliminaire sur cette plante pourrait justifier l'usage des plantes de ce genre en médecine traditionnelle au vue de sa composition chimique. En effet, les composés isolés présenteraient selon la littérature, des activités antioxydantes (SCE3: acide ellagique **53** et SCE4: acide 3,3'-di-O-méthylellagique **54**) et antimicrobienne (SCE4: acide 3,3'-di-O-méthylellagique **54**). Ceci corrobore l'utilisation de ces plantes dans le traitement du surmenage et les troubles gastro-intestinaux.

Pour la suite de ce travail nous proposons de poursuivre l'étude de la fraction au *n*-butanol, l'analyse et l'élucidation de la structure des composés SCE1 et SCE2, d'étudier les autres parties de la plante et valoriser les résultats obtenus par des tests biologiques à l'instar des tests antipaludiques et antibactériens.

CHAPITRE III: PARTIE EXPERIMENTALE

III.1. Appareillage

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de Substance Naturelle et de Synthèse Organique Appliquée (LANAPOS) de l'Université de Yaoundé 1.

L'évaporation s'est faite sur évaporateur rotatif de marque BUCHI de type R215.

Les masses ont été obtenues sur une balance mécanique de marque COBOS, modèle D-600-SX et SARTORUIS, précision 1/1000.

La CC (Chromatographie sur Colonne) a été réalisée sur colonne ouverte en verre de 70 cm de hauteur et 4,5 cm de diamètre, avec comme phase stationnaire la silice (SiO₂) de granulométrie 60-80 µm de type MERCK.

Les CCM (Chromatographies sur Couche Mince) ont été réalisées sur des plaques carré préfabriquées en feuilles d'aluminium recouvertes de gel de silice de type 60 F254, d'épaisseur 0,2 mm et de dimension 20 cm x 20 cm. Ces plaques chromatographiques ont été développées dans des cuves chromatographiques de formes cylindriques et éluées dans les systèmes Hex/AcOEt, AcOEt, AcOEt/MeOH.

Les purifications ont été faite en utilisant la Chromatographie sur Colonne avec une colonne de 55 cm de longueur et 2,8 cm de diamètre, et ayant pour phase stationnaire la silice (SiO₂) de granulométrie 60-80 µm de type MERCK.

La révélation des plaques CCM a été faite par une lampe UV (254 et 350 nm) puis, par des vapeurs d'Iode et enfin par pulvérisation des plaques à l'aide d'une solution d'acide sulfurique dilue à 20% suivie d'un chauffage sur une plaque chauffante.

Les spectres RMN ¹H et RMN ¹³C ont été enregistrés sur les appareils BRUKER, aux fréquences de 400 MHz pour les spectres protons et 100 MHz pour les spectres carbones.

III.2. Matériel végétal

Les écorces de *Sapium cornutum* ont été récoltées à Soa, localité située dans le Département de la Mefou et Afamba, région du Centre au Cameroun. Cette plante a été

identifiée par le Monsieur Victor NANA, Botaniste à l'herbier national du Cameroun grâce à un échantillon référencié de l'Herbier National du Cameroun au numéro 6681/SRF/CAM.

Après séchage et broyage des écorces, nous avons obtenu 2,4 kg de poudre constituant ainsi notre matériel végétal.

III.3. Extraction

Le matériel végétal en poudre obtenu (2,4 kg) a été macéré successivement deux fois dans 15L de méthanol à température ambiante pendant 48 h. Après filtration, le filtrat obtenu a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif et nous avons obtenu un extrait brut de 240,8 g, dont 3 g ont été prélevés pour les tests biologiques, et le reste soumis à une méthode de fractionnement à savoir la partition liquide-liquide avec deux solvants organiques notamment acétate d'éthyle et n-butanol, l'extrait étant en phase aqueuse, pour aboutir à deux fractions indexées F1 et F2 comme l'indique le tableau ci-dessous.

Tableau 8: Partitionnement de l'extrait brut au méthanol des écorces du tronc de *Sapium cornutum*

Solvant organique	Fraction	Masse	Observation
Acétate d'éthyle	F1	61,3 g	Poudre marron
<i>n</i> -Butanol	F2	120,2 g	Poudre marron

III.4. Isolement et purification des composés

III.4.1. Isolement

III.4.1.1 Traitement de la fraction à l'acétate d'éthyle F1

Une masse de 36,8 g de la fraction F1 (61,3 g) a été prélevée pour d'autres analyses ainsi que pour les tests biologiques et 24,6 g de la quantité restante ont ensuite été prélevé et dissout dans le méthanol, puis fixé sur la silice de masse 40 g, et séché à température ambiante. L'ensemble a été monté dans une colonne de verre 4,5 cm de diamètre et 70 cm de longueur contenant 120,2 g de silice de granulométrie 63-200 µm. Cette colonne a été tassée à l'hexane. L'élution s'est faite progressivement en partant du *n*-hexane, au *n*-hexane/acétate d'éthyle et enfin à l'acétate d'éthyle/méthanol de polarités croissantes. 468 fractions de 5 mL chacune ont été recueillies puis regroupées en séries sur la base leur CCM analytique. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9: Chromatogramme de la fraction à l'acétate d'éthyle F1

Elution CC	Fraction	Série	Elution CCM	Observation
Hex pur	1-21	S ₀	Hex/AcOEt (95:5)	Aucune tache
Hex/AcOEt (95:5)	22-53	S ₁	Hex/AcOEt (90:10)	05 taches UV(+) ;I ₂ (+) ;H ₂ SO ₄ (+)
	54-57	S ₂		Plusieurs taches UV(+) ;I ₂ (+) ;H ₂ SO ₄ (+)
	58-64	S ₃		06 taches UV(+) ;I ₂ (+) ;H ₂ SO ₄ (+)
	65-70	S ₄		Plusieurs taches
	71-116	S ₅		Plusieurs taches UV(+) ;I ₂ (+) ; H ₂ SO ₄ (+)
	117-139	S ₆		Plusieurs taches
Hex/AcOEt (90:10)	140-154	S ₇	Hex/AcOEt (90:15)	Plusieurs taches
	155-174	S ₈		Plusieurs taches
	175-198	S ₉		Plusieurs taches
Hex/AcOEt (85:15)	199-226	S ₁₀	Hex/AcOEt (80:20)	Plusieurs taches
Hex/AcOEt (75:25)	227-246	S ₁₁	Hex/AcOEt (70:30)	Plusieurs taches
	247-273	S ₁₂		
Hex/AcOEt (70:30)	274-306	S ₁₃	Hex/AcOEt (65:35)	Plusieurs taches
	307-331	S ₁₄		02 taches + SCE1 UV(+) ;I ₂ (+);H ₂ SO ₄ (+)
Hex/AcOEt (60:40)	332-363	S ₁₅	Hex/AcOEt (55:45)	01 tache + SCE2 UV(+) ;I ₂ (+) ;H ₂ SO ₄ (+)
Hex/AcOEt (50:50)	364-388	S ₁₆	Hex/AcOEt (45:55)	02 taches + SCE3
Hex/AcOEt (25:75)	389-405	S ₁₇	Hex/AcOEt (20:80)	04 taches
	406-424	S ₁₈		Plusieurs taches
	425-445	S ₁₉		Plusieurs taches

AcOEt/MeOH (90:10)	446-468	S ₂₀	AcOEt/MeOH (85:15)	Plusieurs taches
MeOH	-	S ₂₁	-	Lavage

III.4.1.2. Obtention de SCE1 de la sous fraction S₁₄

Les sous-fractions de 307 à 331, après évaporation partielle du solvant ont été réunies sur la base de la CCM et laissées à température ambiante. Cette série a précipité pour donner après lavage avec le mélange Hex/AcOEt (70:30) le composé SCE1 (10,1 mg) sous forme de poudre jaune soluble dans le chloroforme (CHCl₃).

III.4.1.3. Obtention de SCE2 de la sous fraction S₁₅

Les sous-fractions de 332 à 363, après évaporation partielle du solvant ont été réunies sur la base de la CCM et laissées à température ambiante. Cette série a précipité pour donner après lavage avec le mélange Hex/AcOEt (60:40) le composé SCE2 (15,4 mg) sous forme de poudre blanche soluble dans l'acétone (C₃H₆O).

III.4.1.4. Obtention de SCE3 de la sous fraction S₁₉

Les sous-fractions de 432 à 436, après évaporation partielle du solvant ont été réunies sur la base de la CCM et laissées à température ambiante. Cette série a précipité pour donner après lavage avec le mélange Hex/AcOEt (50:50) le composé SCE3 (20,2 mg) sous forme de poudre blanche soluble dans le diméthylsulfoxyde (DMSO).

III.4.1.5. Purification de la sous fraction S₁₈ et Obtention de SCE4 et SCE5

La série S₁₈ a été de nouveau soumise à une chromatographie sur colonne sur gel de silice dans une colonne de 55 cm de long et 3,8 cm de diamètre. Cette colonne a été éluée avec le mélange Hex/AcOEt (1:1), l'AcOEt et le mélange AcOEt/MeOH (90:10). De cette colonne, 40 fractions de 5 mL ont été recueillies et regroupées sur la base de la CCM. Les composés indexés SCE4 (18,6 mg) soluble dans le DMSO et SCE5 (24,5 mg) soluble dans le DMSO ont été obtenus.

Tableau 10: Chromatogramme de la sous-fraction S₁₈

Elution CC	Sous-fraction	Série	Elution CCM	Observation
Hex/AcOEt (1:1)	1-3	S' ₀	Hex/AcOEt (1:1)	Plusieurs taches UV(+) ; I ₂ (+) ; H ₂ SO ₄ (+)
	4-7	S' ₁		02 taches + SCE4 UV(+) ; I ₂ (+) ; H ₂ SO ₄ (+)
AcOEt Pur	8-33	S' ₂	AcOEt/MeOH (90:10)	Plusieurs taches
	34-36	S' ₃		02 taches + SCE5 UV(+) ; I ₂ (+) ; H ₂ SO ₄ (+)
AcOEt/MeOH (90:10)	37-40	S' ₄	AcOEt/MeOH (90:10)	Plusieurs taches

Les sous-fractions S'₁ de 4 à 7, après évaporation partielle du solvant ont été réunies sur la base de la CCM et laissées à température ambiante. Cette série a précipité pour donner après lavage le composé SCE4 (18,6 mg) sous forme de poudre jaune soluble dans le méthanol (CH₃OH).

Les sous-fractions S'₃ de 34 à 36, après évaporation partielle du solvant ont été réunies sur la base de la CCM et laissées à température ambiante. Cette série a précipité pour donner après lavage le composé SCE5 (24,5 mg) sous forme de poudre blanche et soluble dans le diméthylsulfoxyde (DMSO).

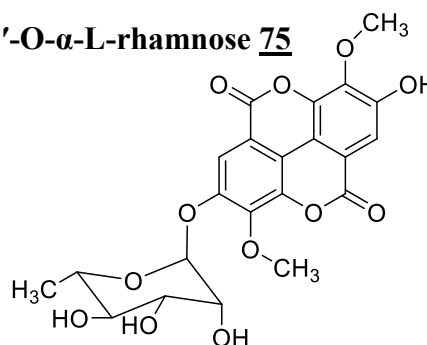
III.5. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés

SCE5: Acide 3,3'-di-O-méthyllellagique-4'-O- α -L-rhamnose **75**

Aspect physique : **Poudre jaune**

Formule brute: **C₂₂H₁₆O₁₂**

Nombre d'insaturation: **13**



Solvant de solubilité: **DMSO**

Spectre RMN ^1H (DMSO, 400 MHz): **Figure 11 et 12**

Spectre RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz): **Figure 14**

Spectre HMBC: **Figure 15**

SCE4: Acide 3,3'-di-O-méthylellagique 54

Aspect physique: **Poudre blanche**

Formule brute: **$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_8$**

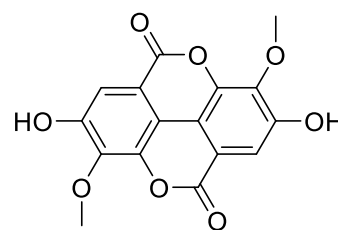
Nombre d'insaturation: **12**

Solvant de solubilité : **DMSO**

Spectre RMN ^1H (DMSO, 400 MHz): **Figure 17**

Spectre RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz): **Figure 18**

Spectre HMBC: **Figure 19**



SCE3: Acide ellagique 53

Aspect physique: Poudre blanche

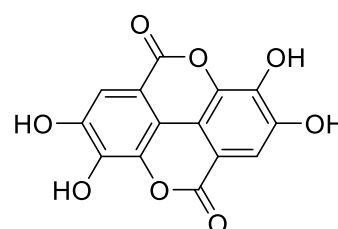
Formule brute: **$\text{C}_{14}\text{H}_6\text{O}_8$**

Nombre d'insaturation: **12**

Solvant de solubilité: **DMSO**

Spectre RMN ^1H (DMSO, 400 MHz): **Figure 21**

Spectre RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz): **Figure 22**



SCE1: En cours d'analyse

Aspect physique: **Poudre jaune**

Solvant de solubilité: **dichlorométhane (DCM)**

SCE2 : En cours d'analyse

Aspect physique: **Poudre blanche**

Solvant de solubilité: **Acétone**

III.6. Tests de caractérisation des composés isolés

C'est un ensemble de tests permettant de mettre en évidence certaines fonctions dans un composé, ou de mettre en évidence une famille de composé.

III.6.1. Test au chlorure ferrique

C'est une réaction chimique permettant de mettre en évidence la présence du phénol dans un composé organique.

Mode opératoire

Une petite quantité d'échantillon a été dissout dans de l'eau distillée, puis on a ajouté quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3). Après quelque seconde, la solution a changé de coloration: elle est devenue violette.

III.6.2. Test de Molisch

Le test de Molisch est une réaction chimique utilisée pour détecter la présence de sucres dans un échantillon:

Mode opératoire

Une petite quantité d'échantillon (**Acide 3,3'-di-O-méthylellagique-4'-O- α -L-rhamnose**) a été dissout dans de l'eau distillée, ensuite nous avons ajouté quelques gouttes de α -naphtol (dilué à 1%) à la solution précédente, enfin nous avons ajouté quelques gouttes d'acide sulfurique concentré dans la solution. Nous avons observé une coloration violette dans le tube à essai, ce qui indique la présence du sucre dans la molécule.

REFFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ahmed Y, Sohrab M, Al-Reza S, Tareq F, Hasan C, Sattar M. 2010.** Antimicrobial and cytotoxic constituents from leaves of *Sapium baccatum*. *Food Chemistry Toxicology*. 48. 549–552. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.030>.
- Ahn Y, Lee S, Kang S. 1996.** The phenolic components of *Sapium japonicum*. *Journal of Pharmacology*. Society. Korea 40. 183–192. Doi: https://schlr.cnki.net/Detail/index/SFJG_01/SFJGDE2.
- Al Muqarrabun L, Ahmat N, Aris S.R, Norizan N, Shamsulrijal N, Yusof F, Suratman, M, Yusof M, Salim, F. 2014.** A new triterpenoid from *Sapium baccatum* (Euphorbiaceae). *Natural Product Research*. 28. 1003–1009. Doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.903396>.
- Aljubiri S, Mahmoud K, Mahgoub S, Almansour A, Shaker K. 2021.** Bioactives compounds from *Euphorbia schimperiana* with cytotoxic and antibacterial activities. *South African Journal of Botany*. 141. 357-366. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.05.021>
- Awouafack M, Tane P, Morita H. 2017.** Isolation and Structure Characterization of Flavonoids. *Flavonoid-From Biosynthesis to Human Health*. 46-58. <http://dx.doi.org/10.5772/67881>
- Brown J, Amend S R, Austin R, Gatenby R, Hammarlund E, Pienta K. 2023.** Updating the Definition of Cancer. *Molecular Cancer Research*. 21.11.
- Da Silva S, Andrana K, Calgarotto, Chaar J, Marangoni S. 2008.** Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from *Casearia sylvestris* SW aqueous extract with anti-PLA2 activity. *Toxicon*. 52. 655–666. Doi: <http://doi:10.1016/j.toxicon.2008.07.011>.
- Depeint F, Gee J, Wiallison G, Johson I. 2002.** Evidente for consistent patterns between flavonoid structures and cellular activities, *Proceeding of the Nutrition society* 61. 97-103.
- Devkota H, Basnet P, Yahara S. 2009.** Diterpene esters and phenolic compounds from *Sapium insigne*. *Chemical and Pharmacological Bulletin*. 57. 1289–1291. <https://doi.org/10.1002/chin.201016184>.
- Djoukeng J, Abou-Mansour E, Tapondjou L, Lontsi D, Tabacchi R. 2007.** Identification of ellagic acid derivatives from stem bark of *Syzygium guineense* (Myrtaceae). *Natural*

- Product Communications Journal of Ethnopharmacology*. 162. 176–180. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.072>.
- Esser H, Welzen P, 2005**, Flora of Thailand. 10. Balakata
- Fu R, Zhang Y, Peng T, Guo Y, Chen F. 2015**. Phenolic composition and effects on allergic contact dermatitis of phenolic extracts *Sapium sebiferum* (L.) Roxb. leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. 162. 176–180. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.072>.
- Fu R, Zhang Y, Guo Y, Huang Q, Peng T, Xu Y, Tang L, Chen F. 2013**. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the phenolic extracts of *Sapium sebiferum* (L.) Roxb. leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. 147. 517–524. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.058>.
- Gao L, Tian H, Liv P, Wang Y. 2015**. Chemical constituents of *Sapium sebiferum* leaves. *China Journal of Chinese Materia Medica*. 40. 1518–1522. Doi: <https://doi.org/10.4268/cjcmm20150818>.
- Gu X, Wang Y, Ren M, Gao S, Zhu L, Ding J. 2013**. Phenolic chemical analyses in leaves and latex of *Triadica sebifera*. *Plant Sciences Journal*. 31. 590. Doi: <https://doi.org/10.3724/sp.j.1142.2013.60590>.
- Hajdu Z, Hohmann J, 2012**. An ethnopharmacological survey of the traditional medicine utilized in the community of Porvenir, Bajo Paraguá Indian Reservation, Bolivia. *Journal of Ethnopharmacology*. 139. 38-57 Doi: [10.1016/j.jep.2011.12.029](https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.12.029)
- Harbone J, Williams C., 2000**. Advanced in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 55. 481-504.
- He Q, Zhang L, Ting L, Li C, Song H, Peihong F. 2021**. Genus *Sapium* (Euphorbiaceae): A review on traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 277. 114206. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114206>.
- Ishikura N, Hayasiida S, Tazaki K. 1984**. Biosynthesis of gallic and ellagic acids with ¹⁴C-labeled compounds in *Acer* and *Rhus* leaves. *The Botanical Magazine, Tokyo*. 97. 355-367
- Jia L, Min Z, 2005**. Studies on chemical constituents from stems and branches of *Sapium discolor*. *Chinese Tradititinal Patterns Medica*. 27. 1319–1320. Doi: <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1528.2005.11.029>.

- Jia, L, Shi Y, Liu X, Min Z. 2007.** Studies on the chemical constituents of *Sapium discolor* (Champ.) Muell.-Arg (II). *Chinese Traditional Patent Medicine*. 29. 1043–1045. Doi: <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1528.2007.07.032>.
- Jussieu** (page consulté le 29/11/2023 13:42) **1789.** Plantes et botanique : Famille des Euphorbiaceae. https://www.plantes-botanique.org/famille_euphorbiaceae.
- Kemboi D, Xolani P, Langat M, Tembu J. 2020.** A review of the ethnomedicinal uses, biological activities, and triterpenoids of *Euphorbia* species. *Molecules*. 25. 4019. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules25174019>.
- Khanbabae K, Van Ree T. 2001.** Tannins: Classification and Definition. *Natural Product Reports*. 18. 64. Doi: <http://10.1039/B101061L>.
- Lai X, Yang Y, Shan X. 2004.** The investigation of Euphorbiaceous medicinal plants in Southern China. *Economic Botany*. 58. 307–320.
- Landete J. 2011.** Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. *Food Research International* 44. 1150–1160. Doi : <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.027>
- Li T, Wang S, Fan P, Lou H. 2019.** New coumarins and monoterpene galloylglycoside from the stem bark of *Sapium baccatum*. *Fitoterapia* 134. 435–442. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.03.011>.
- Liu H, Zhang H, Yu J, Yue J. 2016.** New diterpenoids from *Sapium discolor*. *Journal Asian Natural Product Research*. 17. 1117–1128. Doi: <https://doi.org/10.1080/10286020.2015.1119665>.
- Liu J, Zou S. 1981.** A fast growing tree – *Sapium sebiferum* Roxb. 20. 34–36.
- Liu R, Kong L. 2005.** Study on phenolic constituents from leaves of *Sapium sebiferum*. *China Journal of Chinese Material Medica*. 30. 1213–1215. Doi: <https://doi.org/10.3321/j.issn:1001-5302.2005.15.028>.
- Manandhar N. 2002.** Plants and people of Nepal. cabidigitallibrary.org
- Manzo L, Moussa I, Ikhiri K. 2016.** Les plantes médicinales utilisées dans le traitement des diarrhées au Niger : étude ethnobotanique. *Algerian Journal of Natural Products* 4: 3. 475-482.

- Mesia G, Tona G, Nanga T, Cimanga R, Apers S, Cos P, Maes L, Pieters L, Vlietinck A. 2008.** Antiprotozoal and cytotoxic screening of 445 plant extracts from Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*. 115. 409–415. Doi: <http://doi:10.1016/j.jep.2007.10.028>.
- Milane H. 2004.** La quercétine et ses dérivées : molécules à caractère pro-oxydant ou capteur de radicaux libres ; étude et applications thérapeutiques, Thèse de doctorat, Strasbourg, scd-thèse.u-strasbg.fr/view/.../615.html. consulté le 22 /12/2023.
- Morreel K, Goeminne G, Storme V, Strerck L, Ralph J, Coppieters W, Breyene P, Steenackers M, Georges M, Messens E, Boerjan W. 2006.** Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in populus : a case study. *The Plant Journal* 47. 224-237. Doi: <http://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02786.x>.
- Mwine J, Damme P. 2011.** Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features. *Journal of Medicinal Plants Research* 5. 652–662.
- Nana O, Momeni J, Abdourahman F, Ngassoum M. 2023.** Antioxidant pure secondary metabolites from the root bark extract of *Sapium ellipticum* (Hochst) Pax. *International Journal of Innovative Research in Sciences and Engineering Studies*.3.
- Neuwinger H, 1994.** Fish poisoning plants in Africa. *Botanica Acta*. Wiley Online Library
- Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, S Anthony. 2009.** Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0 <http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>
- Pacyga K, Pacyga P, Topola E, Viscardi S, Duda-Madej A. 2024.** Bioactive compounds from plant origin as natural antimicrobial agents for the treatment of wound infections. *International Journal of Molecular Sciences*. 25. 2100. <https://doi.org/10.3390/ijms25042100>.
- Paris M, Hurabielle M. 1981.** Abrégé de matière médicale, pharmacognosie: plantes à glucides (holosides, hétérosides), à lipides, à huiles essentielles, à protides et à alcaloïdes, Tome 1, Généralités - Monographies (1re partie). 339. 328.

- Pradhan B, Khastgir H. 1973.** Chemical investigation of bark of *Sapium sebiferum* Roxb. II. Isolation & structure 3,3'-Di-O-methylellagic acid. *Indian Journal of Chemistry*. 1220–1221. <https://xueshu.baidu.com/usercenter/paper/show>.
- Qi S, Wu S, Ma Y, Luo X, Wu D. 2003.** Studies on the chemical constituents of *Sapium chihsinianum*. *Chinese Traditional Herbal Drugs* 34. 13–15. Doi: <https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2003.1.012>.
- Richter H, Dallwitz M. 2000.** Onwards. Commercial timbers: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. In English, French, German, Portuguese, and Spanish. Version. <http://delta-intkey.com>.
- Runde M, Shagal M, Imojara A, Mbim E, Edeghor U, Edim M, Okoro B, Manicum A, Hitler L. 2023.** Quantum chemical studies, spectroscopic NMR and FT-IR analysis, and molecular docking investigation of 3,3'-di-O-methyl ellagic acid (DMA) as a potent *Mycobacterium tuberculosis* agent. *Results in Chemistry*. 6. 101002. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.101002>.
- Saxena M, Srivastava S, Rusia K. 1986.** A new flavone from *Sapium insigne*. *Planta Medcinal*. 52. 502. Doi: <https://doi.org/10.1055/s-2007-969271>.
- Shimizu K, Fukunaga S, Yoshikawa K, Kondo R. 2007.** Screening of extracts of Japanese woods from melanin biosynthesis inhibition. *Journal of Wood Science*. 53. 153–160.
- Silva C, Sobrinho T, Castro V, Lima D, Amorin E. 2011.** Antioxidant capacity and phenolic content of *Caesalpinia pyramidalis* Tul. and *Sapium glandulosum* (L.) Morong from Northeastern Brazil. *Molecules*. 16. 4728–4739
- Sowemimo A, Venter M, Baatjies L, Koekemoer T. 2009.** Cytotoxic activity of selected Nigerian plants. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 6. 526–528
- Sritularak B, Boonplod N, Lipipun V, Likhitwitayawuid K. 2013.** Chemical constituents of *Canarium subulatum* and their anti-herpetic and DPPH free radical scavenging properties. *Records natural product*. 7:2. 129-132.
- Wang F, Zhang J, Yao G, Zhang G, Xue Y. 2013.** Chemical constituents of *Sapium sebiferum* leaves. *Chinese Pharmaceutical Journal*. 48. 1908–1911. Doi: <https://doi.org/10.11669/cpj.2013.22.005>.

- Wansi S, Nguelefack-Mbuyo E, Nchouwet M, Kamanyi A. 2014.** Antidiarrheal Activity of aqueous extract of the stem bark of *Sapium Ellipticum* (Euphorbiaceae) *Tropical Journal of Pharmacology Research*. 13. .929. Doi: <https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i6.15>.
- Winkel-Shirley B. 2001.** Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*. 126(2):485-93. Doi: <http://10.1104/pp.126.2.485>.
- Woldemichael G, Gutierrez-Lugo M, Franzblau S, Wang, Y, Suarez E, Timmermann B. 2004.** Mycobacterium tuberculosis growth inhibition by constituents of *Sapium haematospermum*. *Journal of Natural Product*. 67. 598–603. Doi: <https://doi.org/10.1021/np0303411>.
- Xu Z, Yu B, Shan X. 2004.** The investigation of Euphorbiaceous medicinal plants in Southern China. *Economic Botany*. 58. S307–S320. Doi: [https://doi.org/10.1663/00130001\(2004\)58\[s307:tioemp\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1663/00130001(2004)58[s307:tioemp]2.0.co;2).
- Ye G, Peng H, Fan M, Cheng-Gang H. 2007.** Ellagic acid derivatives from the stem bark of *Dipentodon sinicus*. *Chemistry of Natural Compounds*. 43. 2.
- Zhang G, Pan Q, Zhang Y, Liao H, Yang Y, Hou Y, Liang D. 2018.** Coumarinolignoids and taraxerane triterpenoids from *Sapium discolor* and their inhibitory potential on microglial nitric oxide production. *Journal of Natural Product*. 81. 2251–2258. Doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00585>.