

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

SSSS UNIVERSITE DE YAOUNDE I

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

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
CHIMIE ET APPLICATION



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE 1

POSTGRADUATE SCHOOL OF
SCIENCES, TECHNOLOGY AND
GEOSCIENCES

RESEARCH AND POSTGRADUATE
UNIT IN CHEMISTRY AND
APPLICATIONS

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE
ORGANIC CHEMISTRY DEPARTEMENT

LABORATOIRE DES SUBSTANCES NATURELLES ET BIOACTIVES

LABORATORY OF BIOACTIVE NATURAL PRODUCTS

Étude chimique de la fraction à l'acétate d'éthyle de
l'extrait au méthanol des racines de *Scyphocephalum
mannii* (Benth.) warb. (Myristicaceae)

Mémoire présenté et soutenu en exigence des conditions requises pour l'obtention du
diplôme de Master en Chimie Organique.

Par

NGA AWOUDA ALLIANCE SOTHERIE

Matricule : 13R2708

Licenciée en Chimie

Sous :

La Direction de

et

La Supervision de

MELONG RADUIS

KAPCHE WABO FOTSO GILBERT DECCAUX

Chargé de Cours

Professeur



Année académique 2024-2025

CERTIFICATION

Nous soussignons, **Dr MELONG Raduis, Pr KAPCHE W. F. G. Deccaux** attestons que les travaux présentés dans ce mémoire par l'étudiante **NGA AWOUDA Alliance Sotherie** portant sur **l'étude chimique de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait au méthanol des racines de *Scyphocephalum mannii* (Myristicaceae)** sont ses propres travaux et ont été fait sous notre supervision au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et Bioactives (**BiNaPLa**) de l'Ecole Normale Supérieure de l'Université de Yaoundé I.

Ce travail n'a jamais été présenté et ne sera plus jamais présenté devant un jury dans le cadre d'un mémoire.

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

Fait à Yaoundé le

Le Directeur de mémoire

Dr MELONG Raduis

Le Superviseur de mémoire

Pr. KAPCHE Deccaux

DEDICACES

Ce mémoire est dédié :

-à mes bébés

MEKOLO MBI-EGBE Estrella Tysha et GARA Jaurès

-à mes parents

M. AWOUDA AMATALA Michel et Mme MEKOLO Delphine

REMERCIEMENTS

C'est un privilège et un plaisir de remercier tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce mémoire de Master. Ma profonde gratitude je l'exprime au(x) :

- ❖ **Professeur PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel**, Recteur de l'Université de Bertoua et Chef de Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé 1, pour le dynamisme, la rigueur et les efforts qu'il déploie pour le bon fonctionnement de ce département.
- ❖ **Professeur KAPCHE WABO FOTSO Gilbert Deccaux**, mon superviseur, pour m'avoir accepté dans son équipe de recherche "Bioactive Natural Product Laboratory" (BiNaPLa) et pour avoir suivi de bout en bout ce travail.
- ❖ **Docteur MELONG Raduis** mon directeur de mémoire, pour le suivi, les encouragements et les conseils qui ont conduit à l'aboutissement de ce travail.
- ❖ **Professeur LENTA NJAKOU Bruno** Coordonnateur du projet YABINAPA pour les appareils et le matériel mis à notre disposition.
- ❖ **Professeurs BANKEU KEZETAS Jean Jules et KAMGA Georges** pour leurs multiples conseils et encouragements.
- ❖ **Docteur ANGO Yves Patrick** pour ses conseils et ses encouragements.
- ❖ **Docteur PAGNA Julio** qui particulièrement m'a encouragé à persévérer jusqu'en cycle Master, malgré les nombreuses difficultés rencontrées.
- ❖ Enseignants des départements de Chimie Organique et Inorganique, pour leurs enseignements depuis mon entrée à l'Université.
- ❖ Membres de l'équipe de recherche de BiNaPLa et des autres laboratoires de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé, pour l'accueil chaleureux et sympathique, leurs conseils et leur disponibilité, pour la formation et le suivi, l'esprit de solidarité et de famille qui règne dans l'équipe. Je pense ici particulièrement aux **Docteurs KOFFI Jean Garba, TSAPI Vanneck, Mesdames AKAMSE Murielle, NZEPANG Anicet, KENEMBENI Marie, Messieurs TATUDJE Jules, SAIDOU Silvestre et**

ESSAMA Benoit sans oublier **Monsieur MATSOUGA Marc** de l'Université des Sciences et Techniques de Masuku au Gabon.

Mes sincères remerciements vont également à l'endroit de(s) :

- ❖ Ma promotionnaire de laboratoire **Madame NNANGA Rosalie Lucie** pour ses encouragements et les bons moments passés ensemble lors de la réalisation de ce travail.
- ❖ Mon tuteur **Monsieur NYASSOKE NDEMNA Joseph** qui m'a toujours tenue la main.
- ❖ Les membres de ma familles, **messieurs EMMA AWOUDA, MEKOLO AWOUDA Isaac**, le couple **GARA** et **MEKOLO AWOUDA Blondelle** pour leurs soutiens et les encouragements.
- ❖ Aux petits fils de ma grand-mère **NGAH SOTHERIE**, mes oncles et tantes paternelle et maternelle.
- ❖ À tous mes camarades de classes, en particulier **Mesdame DJOMO TCHAPNDA Franky Larissa** et **EBODE Rolande** pour les périodes de travail, les moments de joie et de peine passées ensemble à l'université.
- ❖ Mes ami(e)s, en particulier **Messieurs MBARGA Armand, BIKOI Emmanuel, BEYECK ARISTIDE et Madame ELOUNA Mariama**...pour leurs soutiens, leurs amitiés, et leurs encouragements dans les bons et mauvais moments.
- ❖ Tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail ; qu'ils trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

CERTIFICATION	i
DEDICACES	ii
REMERCIEMENTS.....	iii
LISTE DES ABBREVIATIONS ET SYMBOLES	viii
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. APERCU BOTANIQUE.....	5
I. 1.1. Généralités sur la famille des Myristicaceae.....	5
I.1.2. Généralités sur le genre <i>Scyphocephalum</i>	5
I.1.3. Aperçu botanique de l'espèce <i>Scyphocephalum mannii</i>	6
I.1.4. Position systématique de l'espèce <i>Scyphocephalum mannii</i>	7
I.1.5. Répartition géographique de l'espèce <i>Scyphocephalum mannii</i>	8
I.1.6. Synonymes et noms vernaculaires de <i>Scyphocephalum mannii</i>	9
I.2. QUELQUES USAGES DE L'ESPECE <i>SCYPHOCEPHALIUM MANNII</i>	9
I.2.1. Domaine de la santé.....	9
I.2.2. Domaine économique	10
I.2.3. Domaine nutritionnel	10

I.3. TRAVAUX CHIMIQUES ET PHARMACOLOGIQUES DE L'ESPECE	
SCYPHOCEPHALIUM MANNII	11
I.3.1. Travaux chimiques antérieurs sur l'espèce <i>Scyphocephalum mannii</i>	11
I.3.2. Travaux pharmacologiques antérieurs sur l'espèce <i>Scyphocephalum mannii</i>	15
I.4. LES FLAVONOÏDES	16
I.4.1. Généralités	16
I.4.2. Biosynthèse des flavonoïdes.....	18
I.4.3. Méthodes de détermination des structures des flavonoïdes	20
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION.....	25
II.1. EXTRACTION ET ISOLEMENT	26
II.2. Identification structurale de quelques composés isolés.....	28
II.2.1. Identification du composé RSM1.	28
II.2.2. Identification du composé RSM3.	35
II.2.3. Identification du composé RSM5	41
Conclusion et perspectives.....	49
CHAPITRE III: MATERIELS ET METHODES	51
III.1. MATERIEL VEGETAL ET APPAREILLAGE	52
III.1.1 Matériel Végétal	52
III.1.2. Appareillage	52
III.3. EXTRACTION, FRACTIONNEMENT, ISOLEMENT ET PURIFICATION DES COMPOSES.....	52
III.3.1. Extraction et fractionnement.	52
III.3. 2. Isolation et purification des métabolites de la fraction à l'acétate d'éthyle des racines de <i>Scyphocephalum mannii</i>	53
III.4. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUE ET SPECTROSCOPIQUES DES COMPOSES ISOLÉS	56
III.4.1. Caractéristiques Physico-Chimique	56

III.4.2 Tests de caractérisation chimique.....	57
III.4.2.1 Test de SHINODA (caractéristiques des flavonoïdes).....	57
III.4.2.2 Test au chlorure ferrique (caractéristiques des phénols).....	57

LISTE DES ABBREVIATIONS ET SYMBOLES

ATCC :	<i>American Type Culture Collection</i>
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice
CoA :	Coenzyme A
DEPT :	<i>Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer</i>
DMSO- d_6 :	Diméthyle sulfoxyde hexadeutééré
HMBC :	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HSQC :	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
IC ₅₀ :	Concentration Inhibitrice 50%
NOESY :	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
RSM	Racine de <i>Scyphocephalum mannii</i>
S.	<i>Scyphocephalum</i>

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Tronc(A), feuilles(B), fruits (C), fleurs (D), racines (E) de <i>Scyphocephalum mannii</i>	7
Figure 2 : Répartition géographique de l'espèce <i>Scyphocephalum mannii</i> en Afrique	8
Figure 3: Spectre de RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) du composé RSM1	29
Figure 4: Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) du composé RSM1.	30
Figure 5: Spectre HSQC du composé RSM1.	31
Figure 6: Spectre COSY du composé RSM1.	32
Figure 7: Spectre HMBC du composé RSM1.....	33
Figure 8: Superposition des spectres de RMN ^1H des composés RSM1 (600 MHz, DMSO- d_6) et RSM3 (400 MHz, DMSO- d_6).	36
Figure 9: Superposition des spectres de RMN ^{13}C des composés RSM1 (150 MHz, DMSO- d_6) et RSM3 (100 MHz, DMSO- d_6)	37
Figure 10: Spectre HSQC du composé RSM3.	38
Figure 11: Spectre HMBC du composé RSM3.	39
Figure 12: Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CD $_3$ OD) du composé RSM5.....	42
Figure 13: Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CD $_3$ OD) du composé RSM5.....	43
Figure 14: Spectre HSQC (CD $_3$ OD) du composé RSM5.....	44
Figure 15: spectre COSY ^1H - ^1H (CD $_3$ OD) du composé RSM5.	45
Figure 16: Spectre HMBC du composé RSM5.....	46
Figure 17: Spectre NOESY du composé RSM5	47

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1 : Biosynthèse des flavonoïdes.....	19
Schéma 2 : principales bandes d'absorption ultraviolette des flavonoïdes	20
Schéma 3 : Déplacements chimiques des protons des cycles A et C des Flavones, Flavonols, Isoflavones et Dihydroflavonols	22
Schéma 4 : Déplacements chimiques des protons du cycle B et des hydroxyles de quelques flavonoïdes	23
Schéma 5: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines de <i>Scyphocephalum manni</i>	27
Schéma 6: Quelques corrélations du spectre COSY du composé RSM1.....	32
Schéma 7: Quelques corrélations du spectre HMBC du composé RSM1	33
Schéma 8 : Quelques corrélations du spectre HMBC du composé RSM3.	39
Schéma 9 : Quelques corrélations du spectre HMBC du composé RSM5.	46
Schéma 10: Quelques corrélations de spectre NOESY du composé RSM5.	47

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : position systématique de l'espèce <i>Scyphocephalum mannii</i>	7
Tableau 2: Répartition géographique de <i>S. mannii</i> au Cameroun.	8
Tableau 3 : Synonymes de l'espèce <i>S. mannii</i>	9
Tableau 4: Noms vernaculaires de <i>S. mannii</i> dans quelques localités.	9
Tableau 5 : Métabolites secondaires isolés de <i>S. mannii</i>	11
Tableau 6 : les classes de flavonoïdes.....	17
Tableau 7: Différentes bandes d'absorption UV de quelques classes de flavonoïdes	21
Tableau 8: Déplacements chimiques des carbones centraux de quelques flavonoïdes	24
Tableau 9: Données spectrales de la RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) et ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) du composé RSM1 en comparaison avec l' apigénine	34
Tableau 10: Données spectrales de la RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) et ^{13}C (100 MHz ; DMSO- d_6) du composé RSM3 en comparaison avec le Chrysoeriol	40
Tableau 11: Données spectrales de RMN du ^1H (500 MHz, CD $_3$ OD) et du ^{13}C (125 MHz, CD $_3$ OD) du composé RSM5 en comparaison avec celle de la dihydrokaempferol.....	48
Tableau 12: Chromatogramme de la fraction à l'acétate d'éthyle issue de l'extrait au méthanol des racines de <i>Scyphocephalum mannii</i>	53

RESUME

Le présent travail porte sur l'isolement et la caractérisation des constituants chimiques des racines de *Scyphocephalum mannii*, une plante médicinale camerounaise appartenant à la famille des Myristicaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de la tuberculose, de l'infertilité féminine, et pour palier à la sécrétion excessive de lait chez la femme.

De la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait au méthanol des racines de cette plante, neuf composés indexés RSM1 à RSM9 ont été isolés par des méthodes chromatographiques usuelles (CCM et CC). Les structures de trois d'entre eux, ont entièrement été élucidés et identifiés respectivement à l'apigénine (**59**), au chrysoeriol (**60**) et à la dihydrokaempferol (**61**) appartenant à la famille des flavonoïdes de type flavone et dihydroflavonol. Les structures de ces composés ont été établies par une analyse rigoureuse de leurs données spectrales, telles que la résonance magnétique nucléaire monodimensionnelle (^1H et ^{13}C) et bidimensionnelle (HSQC, HMBC, COSY et NOESY) et par comparaison de leurs données spectrales avec celles décrites dans la littérature.

Mots clés : Myristicaceae, *Scyphocephalum mannii*, apigénine, chrysoeriol, dihydrokaempferol.

ABSTRACT

The present work was focused on the isolation and characterization of chemical constituents from the roots of *Scyphocephalum mannii*, a Cameroonian medicinal plant belonging to the Myristicaceae family, widely used in traditional medicine for the treatment of tuberculosis, female infertility, and for the management of excessive milk secretion.

From the ethyl acetate fraction of the methanol extract of the roots of this plant, nine compounds indexed were isolated using usual liquid chromatographic technique (TLC and CC). the structures of three of these compounds were fully elucidated and they were identified respectively as apigenin (**59**), chrysoeriol (**60**), and dihydrokaempferol (**61**), belonging to the flavone and dihydroflavonol class of flavonoids. The structures of these compounds were established by rigorous analysis of their spectral data, such as one-dimensional (^1H and ^{13}C) and two-dimensional (HSQC, HMBC, COSY and NOESY) nuclear magnetic resonance and by comparison of their spectral data with those described in the literature.

Key words: Myristicaceae, *Scyphocephalum mannii*, apigenin, chrysoeriol, dihydrokaempferol.

INTRODUCTION GENERALE

La nature regorge de richesse ayant un impact profond sur notre vie quotidienne. Parmi cette richesse nous avons les plantes utilisées par l'homme comme aliments nourrissants, matière première dans l'immobilier, la décoration, comme bois de chauffage et comme remèdes à ses problèmes de santé. Durant des siècles, la médecine traditionnelle a fait partie intégrante des ressources dont disposaient les ménages et les communautés pour prendre soins de leur santé. Elle occupe une place importante dans plusieurs pays notamment en Afrique où 80% de la population rurale et celles qui vivent dans les zones reculées y ont recourt ; elle reste le premier choix en matière de santé et de bien-être, offrant des soins culturellement acceptables, disponibles et abordables (OMS, 2023). Guidées par les usages empiriques des plantes, les études ethnopharmacologiques ont apporté à l'humanité 60% de ses médicaments quotidiens. Situées à la croisée des sciences de l'homme et de la nature, l'ethnopharmacologie a su développer des méthodologies originales alliant tradition et modernité qui lui ouvrent des perspectives prometteuses. (Fleurentin, 2012)

En effet, l'accessibilité, la disponibilité et l'efficacité des plantes médicinales ont été prouvées par (OMS, 2013). Environ 40% des produits pharmaceutiques ont une base de produits naturels et des médicaments phares proviennent de la médecine traditionnelle. Cette dernière et les connaissances traditionnelles ont contribué à des découvertes médicales révolutionnaires et il existe une longue histoire de phytothérapie traduite en traitements efficaces contre certaines pathologies (OMS, 2013). À titre d'exemple nous avons la découverte de la molécule d'aspirine (**1a**) douée des propriétés antipyrétique (qui fait baisser la fièvre) et analgésique (qui fait baisser la douleur). Cette dernière est un dérivé de l'acide salicylique (**1b**), initialement isolé du *Salix alba* (Salicaceae), puis modifié pour améliorer son activité et réduire ses effets secondaires. L'aspirine (**1a**) est l'un des exemples les plus connus de l'interaction harmonieuse entre les composés naturels et synthétiques. Dans la lutte contre le paludisme, nous avons le cas de la molécule d'artémisinine (**2**) doué des propriétés antiplasmodiales isolé d'*Artemisia annua* (Asteraceae) (Privette et al., 2008).

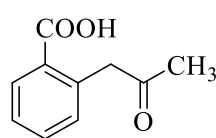
Ce faisant, on constate que malgré les nombreuses solutions proposées par les laboratoires pharmaceutiques, nous faisons face à deux problèmes majeurs dont la lutte contre de nombreuses maladies qui a conduit à des chimiorésistances développées par les agents pathogènes tels que les virus, bactéries à l'égard des médicaments disponibles sur le marché et l'émergence de nouvelles maladies ou souches de microbes tel que la COVID-19. Parmi ces médicaments devenus chimio-

résistants aux agents pathogènes nous pouvons citer la chloroquine (3) initialement utilisée comme antipaludéen contre lequel le *Plasmodium falciparum* a développé une résistance.

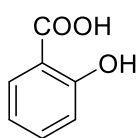
Dans l'optique d'apporter notre contribution dans le vaste champ de recherche de nouveaux principes actifs, nous avons entrepris dans le cadre de nos travaux de Master, l'étude chimique de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait au méthanol des racines de *Scyphocephalum mannii*, une plante de la famille des Myristicaceae présente au Cameroun. Le choix de cette plante est motivé par l'absence des travaux chimique et pharmacologique antérieurs sur les racines de *S. mannii*, ses usages traditionnels dans le traitement d'un grand nombre de maladies telles que les maladies respiratoires, les douleurs corporelles fébriles, la gonorrhée (Ngoua *et al.*, 2018) pour ne citer que celles-là et pour la prise en charge de l'infertilité féminine (Abondo *et al.*, 1991).

L'objectif général était de contribuer à une meilleure connaissance chimio-taxonomique de cette plante à travers la recherche des métabolites secondaires des racines de *S. mannii*. Plus spécifiquement, il s'est agi de récolter les racines de la plante, préparer les extraits par macération, fractionner l'extrait brut, isoler, purifier et caractériser les métabolites secondaires.

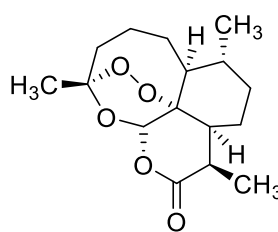
Le présent document qui résume l'essentiel de nos travaux, se subdivise en trois chapitres ; dans le premier chapitre nous procéderons à une revue de la littérature présentant la description botanique de la famille des Myristicaceae, le genre *Scyphocephalum*, de son espèce ainsi que sa répartition géographique et les travaux antérieurs qui ont été effectués sur la plante. Le deuxième chapitre présentera des résultats et discussions et le troisième chapitre, la partie expérimentale qui se concentre sur les matériaux et les méthodes utilisées pour réaliser ce travail, le tout appuyé par des références, qui donnent la liste des documents consultés au cours de ce travail.



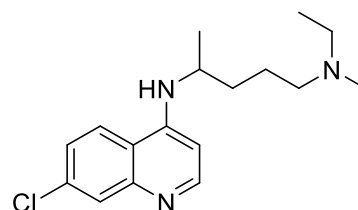
Aspirine (1a)



Acide salicylique
(1b)



Artemisinin (2)



Chloroquine (3)

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. APERCU BOTANIQUE

I. 1.1. Généralités sur la famille des Myristicaceae.

Les plantes de la famille des Myristicaceae font références à des plantes dicotylédones primitives et angiospermes essentiellement de l'ordre des magnoliales (**Doyle et al., 2008**). Ces plantes portent le surnom de la famille muscade (plantes à fleurs). Originaires d'Afrique, d'Asie, des îles du Pacifique et des Amériques, ce sont des arbres ou arbustes qui se situent principalement dans les forêts humides de basses altitudes (**Bingtao et Wilson., 2008**). Les feuilles sont isolées, simples et sans stipule, à limbe penninerve entière avec glandes translucides. Les fleurs unisexuelles, sont petites, régulières, dioïques, apétales, disposées en grappes d'ombelles ou de capitules, ou en ombelles ou capitules isolés. Les fruits sont charnus, généralement déhiscent en deux valves. Les graines pourvues d'un arille charnu ou sec, sont souvent colorées en rouge ou orange avec un tégument dur. Cette famille comprend 21 genres et près de 500 espèces (**Sauquet et Annick., 2003**). En Afrique, on dénombre 6 genres parmi lesquels 4 se retrouvent au Cameroun à savoir : *Coelocaryon*, *Staudtia*, *Pycnanthus* et *Scyphocephalum* (**Nganteng, 2023**).

I.1.2. Généralités sur le genre *Scyphocephalum*

Le genre *Scyphocephalum* est un genre peu connu de la famille des Myristicaceae, originaire d'Afrique tropicale occidentale (**Tchouya et al., 2021**). Il contient deux espèces et est largement répandu dans les forêts littorales du Nigeria, Cameroun, Gabon et Congo (**Kimpouni et al., 2013**). Il regroupe des arbres dont les rameaux jeunes sont velus-ferrugineux. Les feuilles sont pétiolées à limbe allongé et à base souvent cordée. Les fruits contiennent une graine entourée d'un arille entier ou légèrement denté au bord. Les fleurs actinomorphes et unisexuées (dioécie), sont groupées en glomérules assemblées en cymes axillaires. Elles se composent de 4-5 sépales libres. Autrefois ce genre était divisé en 3 espèces retrouvées au Cameroun et au Gabon, à savoir *S. chrysothrix*, *S. mannii* et *S. Ochocoa*. De nos jours, le genre *Scyphocephalum* comprendrait 2 espèces car les récoltes de Chevalier au Cameroun sur *S. mannii* et au Gabon sur *S. ochocoa* ont montré qu'il s'agit d'une seule et même espèce. De plus la description de *S. chrysothrix* Warb a été faite à partir d'un spécimen unique prélevé il y a plus de 100 ans au Cameroun ; il semblerait que cette dernière espèce ait des fruits de plus grande taille (**Doyle et al., 2008**).

I.1.3. Aperçu botanique de l'espèce *Scyphocephalum mannii*

L'arbre de *Scyphocephalum mannii* a une hauteur d'environ 20 à 35 m avec un fût de 60-80 cm de diamètre (figure 1A), le tronc est droit, cannelé et pouvant atteindre 23 m de long. La surface de l'écorce écailleuse irrégulière est brune grisâtre à taches rougeâtres et lenticelles. L'écorce interne légèrement fibreuse, rosée, devenant rapidement rougeâtre, sécrète un exsudat rougeâtre. La cime est étagée et à branches horizontales ; les jeunes rameaux sont recouverts de poils courts brun rougeâtre. Les feuilles (figure 1B) alternes, simples et entières, sont à limbe subcordé ou cordé à la base, acuminé au sommet, de 22-24 x 6-7 cm, dessus glabre et brillant, dessous tomenteux-ferrugineux puis glabre. Le pétiole mesure 1 cm de longueur et 3 mm d'épaisseur ; il est subpubérulent et présente 18-25 paires de nervures secondaires (Fouilloy, 1974).

Les fruits (figure 1C) sont des drupes irrégulières ellipsoïdes légèrement aplaties, de 30-35 mm de diamètre pour 26-35 mm de hauteur (secs), en bouquets de 4, jaunâtres à orange à maturité, recouvertes de poils courts bruns, à pulpe abondante, résineuse, déhiscente par 2 valves, contenant une seule graine. Chaque graine est aplatie, d'environ 3 cm de diamètre, avec un arille entier. Les arbres fleurissent principalement entre Octobre et Décembre alors que les fruits mûrissent entre Janvier et Avril. Les racines blanches en surface, ont une écorce interne fibreuse, rosée, devenant rapidement rougeâtre, sécrétant un exsudat rougeâtre (figure 1D) (Fouilloy, 1974).

La figure 1 présente les photos de quelques parties de l'espèce *Scyphocephalum mannii* prises par Nganteng à Eséka en 2017 (Nganteng, 2023) :

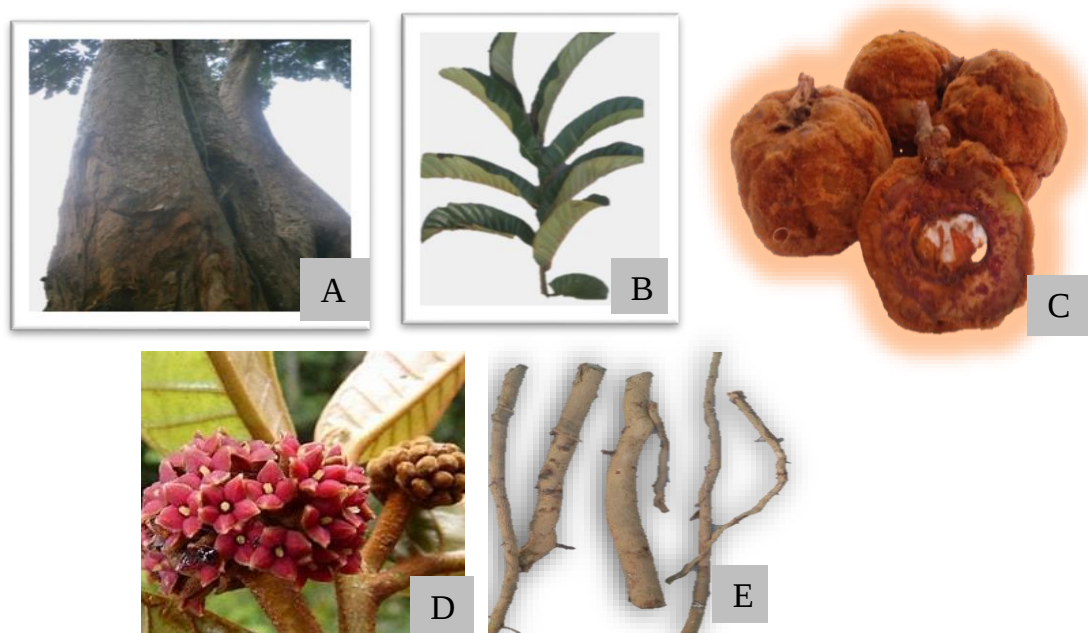


Figure 1: Tronc (A), feuilles (B), fruits (C), fleurs (D), racines (E) de *Scyphocephalum mannii* (Nganteng, 2023)

I.1.4. Position systématique de l'espèce *Scyphocephalum mannii*

La position systématique de l'espèce *S. mannii* est donnée dans le **Tableau 1** : (Kimpouni *et al.*, 2013).

Tableau 1 : position systématique de l'espèce *Scyphocephalum mannii*

Règne	Plantae
Sous-embranchement	Streptophyta
Classe	Equisetopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Magnoliales
Famille	Myristicaceae
Genre	<i>Scyphocephalum</i>
Espèce	<i>Scyphocephalum mannii</i>

I.1.5. Répartition géographique de l'espèce *Scyphocephalum mannii*

S. mannii est répandue dans la forêt pluviale de basse altitude jusqu'à 550 m, mais elle est très commune dans la forêt secondaire. Habituellement retrouvée sur des sols bien drainés, elle se retrouve au Sud-Est de l'Asie et en Afrique. Ainsi son aire s'étend du Sud-Est du Nigeria, passant par le Cameroun, le Gabon jusqu'au Congo (**Fouilloy, 1965**). Au Cameroun, cette plante se trouve dans plusieurs régions (**tableau 2**).

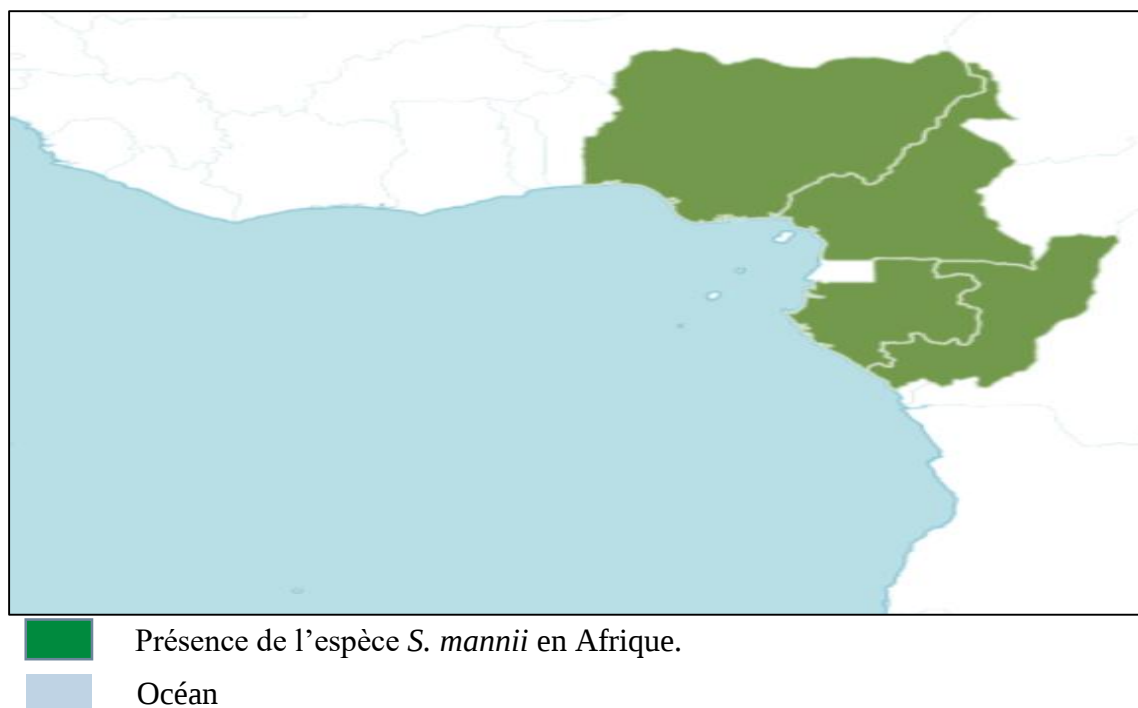


Figure 2 : Répartition géographique de l'espèce *Scyphocephalum mannii* en Afrique (**Bingtao et wilson., 2008**).

Tableau 2: Répartition géographique de *S. mannii* au Cameroun.

Région	Localité	Références
Centre	Éseka	Nganteng et al., 2022
Littoral	Douala (Ndokoti)	
Sud-Ouest	Limbé mile 6 Beach, Kumba, korup	Abondo et al., 1991
Sud	Kribi	Nganteng et al., 2022

I.1.6. Synonymes et noms vernaculaires de *Scyphocephalum mannii*

Le **tableau 3** présente les synonymes de l'espèce *S. mannii*.

Tableau 3 : Synonymes de l'espèce *S. mannii*

Synonymes	Référence
<i>Myristica mannii</i> Benth.	Kimpouni et al., 2013
<i>Ochocoa gabonii</i> Pierre	
<i>Scyphocephalum grandifolium</i> Pierre	
<i>Scyphocephalum ochocoa</i> Warb.	

S. mannii encore appelée *Scyphocephalum ochocoa* au Gabon a plusieurs noms locaux récapitulés dans le **tableau 4** (Nganteng, 2023).

Tableau 4: Noms vernaculaires de *S. mannii* dans quelques localités.

Pays	Appellation	Peuple	Référence
Cameroun	Akourna	Bassa'a	(Nganteng, 2023)
	Eboukzok	Béti	
Gabon	Soghe, Sogho	Fang	
	Otsoko, Soko	Tsogo	
	Ossoko	Myene	
	Musuku	Punu	

I.2. QUELQUES USAGES DE L'ESPECE *SCYPHOCEPHALIUM MANNII*

L'utilisation de *S. mannii* par les populations locales s'étend sur plusieurs domaines notamment la santé, l'économie et la nutrition.

I.2.1. Domaine de la santé

S. mannii est largement utilisé en médecine traditionnelle africaine dans plusieurs pays notamment :

❖ Au Gabon où les populations utilisent les décoctions bouillies des écorces de cette plante pour lutter contre la blennorragie, l'abcès, l'anémie, la fatigue générale, l'infections des voies respiratoires, la toux, le paludisme, les douleurs articulaires, le rhumatisme, le désordre

ovulatoire, les sécrétions de lait excessive et dans le traitement de plusieurs cancers (**Feuya et al., 2015**).

❖ Au Congo, la décoction des écorces de cette plante est utilisée contre les infections vaginales et contre la stérilité féminine. Un bain de vapeur du mélange des écorces et des feuilles avec *Microdermis puberula*, *Costus afer*, *Macaranga barteri* et *Chorophora excelsa* est utilisé contre les douleurs corporelles fébriles. Il est aussi utilisé en décoction contre la gonorrhée avec du sel et du piment (**Ngoua et al., 2018**).

❖ Au Cameroun, une purée des écorces de *S. mannii* avec des fruits de *Aframomum melegueta* en lavement est utilisée dans le traitement de l'infertilité féminine (**Abondo et al., 1991**). Un mélange de décoction des écorces avec du sel et du poivre est prescrit pour traiter la toux et la gonorrhée. L'écorce entre dans la composition de préparations destinées à soigner les convulsions. Une fois l'écorce séchée, pétrie avec de l'argile blanche, elle sert à arrêter les sécrétions de lait excessives (**Van et al., 2000**). Aussi une décoction des feuilles est utilisée dans le traitement des maladies opportunistes du SIDA comme la tuberculose et certaines maladies respiratoires (**Tchouya et al., 2015**).

I.2.2. Domaine économique

Le genre *S. mannii* de son nom commercial ossoko possède un tronc donc le bois est employé pour les menuiseries intérieures, le mobilier, l'ébénisterie, les placages, le contreplaqué et traditionnellement pour la fabrication des pirogues. Ce bois convient à la construction légère, la parqueterie légère, les boiseries intérieures, les jouets, les articles de fantaisie et le tournage. On s'en sert également de bois de feu et pour la production du charbon de bois (**Normand et Paquis., 1976**).

I.2.3. Domaine nutritionnel

Les graines de *S. mannii* contiennent une matière grasse comestible, et servent de condiment ou d'épices dans les plats de poisson et les sauces (**Tchouya et al., 2015**). Pour la chasse, les graines servent d'appât pour pièges à porcs épics et à écureuils (**Van et al., 2000**). Au Gabon les graines de *S. mannii* sont consommées grillées ou pillées par les populations locales.

Au vu de ces usages par les collectivités locales, plusieurs recherches tant sur le plan biologique que chimique ont été menées afin d'infirmier ou de confirmer les multiples vertus thérapeutiques dont cette espèce regorge.

I.3. TRAVAUX CHIMIQUES ET PHARMACOLOGIQUES DE L'ESPECE *SCYPHOCEPHALIUM MANNII*

I.3.1. Travaux chimiques antérieurs sur l'espèce *Scyphocephalum mannii*

Les travaux chimiques antérieurs effectués sur l'espèce *S. mannii* ont conduit à l'identification des métabolites secondaires appartenant aux classes des tanins, saponosides, terperoïdes, stéroïdes, polycétides, triterpènes (Foundikou *et al.*, 2018), cyclolignanes (Hu *et al.*, 2005), polyphénols, acides gras (Tchouya *et al.*, 2015), benzofuranes, flavonoïdes, sucres (Tchouya *et al.*, 2021). Il faut noter que très peu de travaux chimiques portant sur l'isolement des métabolites secondaires ont été effectués sur cette espèce. Le **Tableau 5** récapitule les métabolites secondaires isolés de différentes parties de cette espèce.

Tableau 5 : Métabolites secondaires isolés de *S. mannii*

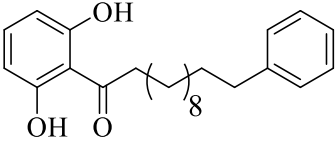
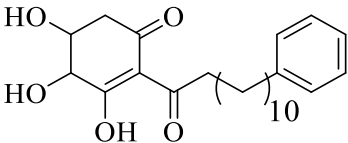
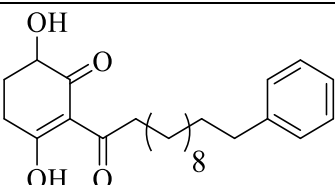
Classes	Structures et noms	Sources	références
Arylresorcinols	 Ochocinone A (4)	<i>S. ochocoa</i> (Feuilles)	Hibrahim <i>et al.</i>, 2018
	 Ochocinone B (5)		
	 Oleiferinone (6)		

Tableau 5 : Métabolites secondaires isolés de *S. mannii* (suite)

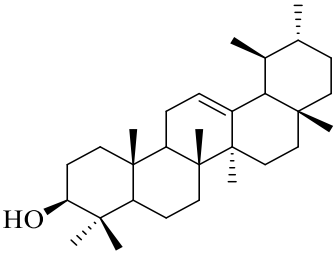
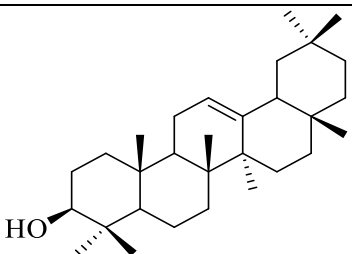
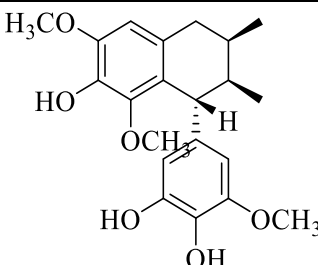
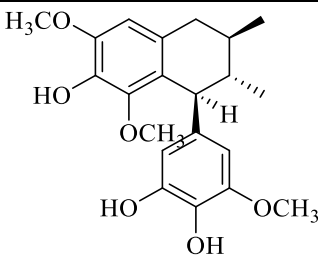
Classes	Structures et noms	Sources	références
Triterpènes	 α-amyrine (7)	<i>S. ochocoa</i> (Feuilles)	Fondikou <i>et al.</i>, 2018
	 β-amyrine (8)		
Lignanes	 Ocholignanes A (9)	<i>S. mannii</i> (Feuilles)	Hu <i>et al.</i>, 2005
	 Ocholignanes B (10)		

Tableau 5 : Métabolites secondaires isolés de *S. mannii* (suite)

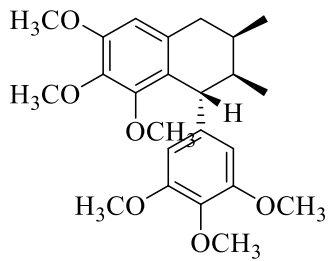
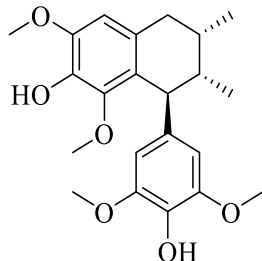
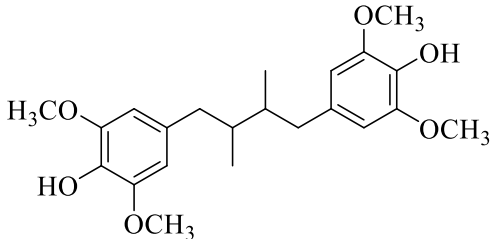
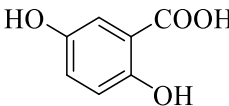
Classes	Structures et noms	Sources	références
Lignanes	 Aryltertraline (11)	<i>S. mannii</i> (Feuilles)	Hu et al., 2005
	 (+)-(7'S,8S,8'S)-4,4'-dihydroxy-3,3',5,5'-tetramethoxy-2,7-cylcolignane (12)		Nganteng et al., 2022
	 Isopregomisine (13)	<i>S. mannii</i> (Ecorces)	Tchouya et al., 2015
Phénol	 Acide gentisique (14)	<i>S. ochocoa</i> (Ecorces)	Feuya et al., 2021

Tableau 5 : Métabolites secondaires isolés de *S. mannii* (suite)

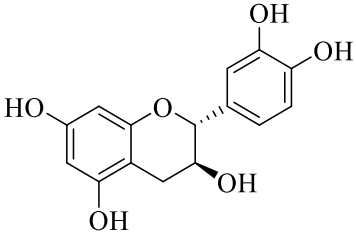
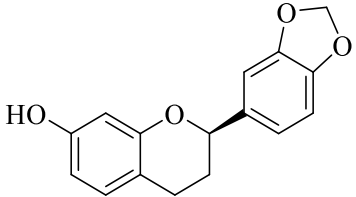
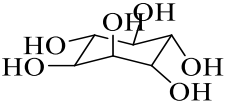
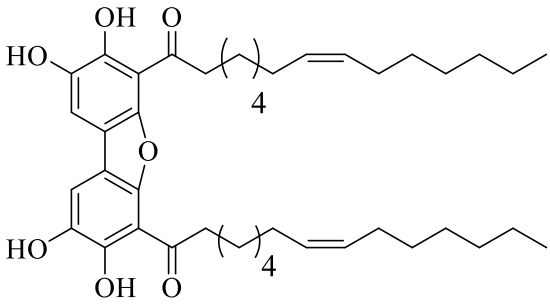
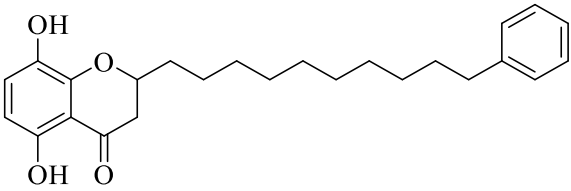
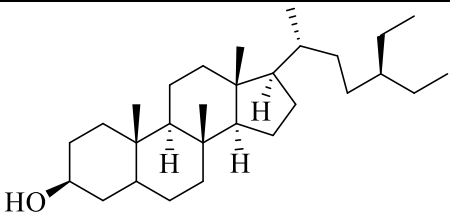
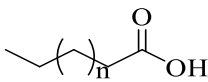
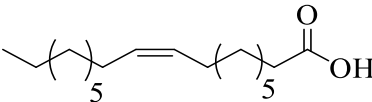
Classes	Structures et noms	Sources	Références
Flavonoïdes	 Epicatechine(15)	<i>S. ochocoa</i> (Ecorces)	Feuya et al., 2021
	 7-hydroxy-3',4'-methylenedioxyflavane (16)		
Hexose	 Myoinositol (17)		
Dibenzofurane	 Scyphocephalione A (18)		
Chromene	 Scyphochromanone A (19)		

Tableau 5 : Métabolites secondaires isolés de *S. mannii* (suite et fin)

Classes	Structures et noms	Sources	Références
Stérol	 β -sitostérol (20)	<i>S. ochocoa</i> (Ecorces)	Feuya <i>et al.</i> , 2021
Acides gras	 n = 8 : acide laurique (18) n = 10 : acide myristique (19) n = 11 : acide pentadecanoïque (21)	<i>S. mannii</i> (Graines)	Pambou <i>et al.</i> , 1992
	 acide rapinique (22)		

I.3.2. Travaux pharmacologiques antérieurs sur l'espèce *Scyphocephalum mannii*

Des études pharmacologiques sur les extraits et les composés précédemment isolés de *S. mannii* ont révélé plusieurs activités biologiques : antibactérienne, anti radicalaire, immuno-modulatrice, cytotoxique, antifongique et anti-tumorale.

➤ **Activité antimicrobienne** : Les extraits hydroéthanoliques des feuilles et des écorces des tiges ont présenté une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* avec une CMI de 2,075 mg/mL (Tchouya *et al.*, 2015).

➤ L'ocholignane A a présenté une **activité antibactérienne** *in vitro* significative contre les bactéries Gram-positive *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ATCC 33591 et *Staphylococcus aureus* 78-13607A avec une CMI de 16 µg/mL (Hu *et al.*, 2005).

➤ **Activité anti-radicalaire** : Les extraits hydroéthanoliques des feuilles et des écorces des tiges ont présenté une activité anti-radicalaire (DPPH) avec des valeurs de $IC_{50} = 0,169 \pm 0,019 \mu g/mL$ et $IC_{50} = 0,175 \pm 0,020 \mu g/mL$. (Tchouya *et al.*, 2015).

➤ **Activité antifongique** : L'étude chimique de l'extrait au méthanol des feuilles de *S. mannii* a présenté une activité antifongique contre le *Cryptococcus neoformans* avec une CMI comprise entre 64 et 256 $\mu g/mL$. (Nganteng *et al.*, 2022).

➤ **Activité anti-inflammatoire** : L'extrait brut au dichlorométhane-méthanol (1/1) de *S. mannii* a présenté des activités cytotoxique et anti-tumorale (Foundikou *et al.*, 2018).

Dans les lignes qui suivent, nous nous limiterons à la description des flavonoïdes, classe de composés très répandue dans les plantes auxquelles appartiennent certaines molécules que nous avons isolé et identifié au cours de nos travaux.

I.4. LES FLAVONOÏDES

I.4.1. Généralités

Le nom flavonoïde provient du terme « *flavedo* », désignant la couche externe des écorces d'orange (Bruneton, 2009), tandis d'autres auteurs supposaient que le nom flavonoïdes a été prêté du terme flavus (flavus =jaune) (Malesev et Kuntic, 2007).

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels chez les végétaux. Hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs dont le pouvoir attracteur conditionne la pollinisation entomophile. Ils protègent également les feuilles des effets nocifs des rayonnements ultra-violets, et participent à la résistance des plantes à certaines maladies (propriété antifongique) (Jadhav et Puchchakayala., 2011). Encore appelé composés polyphénoliques, les flavonoïdes possèdent des propriétés pharmacologiques telles que : les propriétés antioxydantes (*in vitro*), les propriétés vasculoprotectrices, anti-inflammatoires, antibactériennes, anti tumorales (jadhav et Puchchakayala., 2011). Ils sont ainsi bénéfiques pour le traitement des maladies cardiovasculaires et sont également des antidiabétiques et hépato protecteurs car contribuent à la diminution du cholestérol et la stimulation des cellules béta du foie ce qui accroît la production d'insuline (Ghorbani., 2017).

Cependant tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, ils possèdent le même élément de base qui est l'enchaînement 2-phénylchromane ; leur squelette de base (**figure**

3) possède 15 atomes de carbones, constitués de deux unités aromatiques, (deux cycles en C-6, A et B) et une chaîne en C-3 (**Bruneton, 2009**).

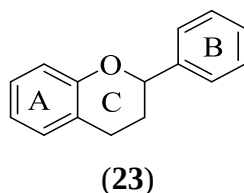


Figure 3 : Squelette de base des flavonoïdes

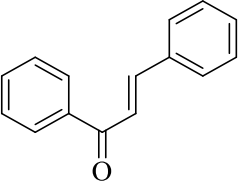
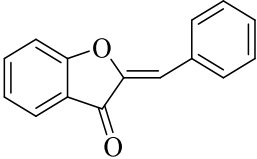
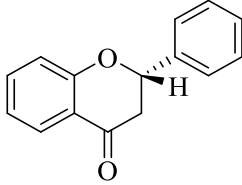
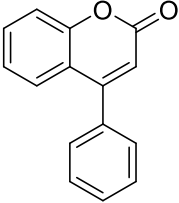
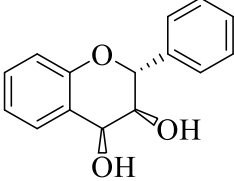
Les flavonoïdes sont subdivisés en plusieurs sous-groupes sur la base des caractéristiques structurales du cycle C. Ces sous-groupes sont les flavones, flavonols, flavanones, dihydroflavonols, flavanols, isoflavones, anthocyanidols, chalcones, auronnes, neoflavones (**panche et al., 2016**). Les variations de structure au sein d'une même classe de composés se font par rapport à leur structure moléculaire. Elle se fait en fonction :

- De la position de la liaison entre les cycles B et C ;
- Du degré de saturation du cycle C ;
- Du degré d'oxydation et d'hydroxylation de l'hétérocycle central C.

Les principales classes des flavonoïdes sont représentées dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : les classes de flavonoïdes (**Salem, 2009**)

Dihydroflavonols (24)	Flavones (25)	Flavonols (26)
(27) Isoflavones	(28) Anthocyanes	(29) Flavanols

 (30) Chalcones	 (31) Aurones	 (32) Flavanones
 Neoflavones (33)	 Flavan-3,4-diols (34)	

I.4.2. Biosynthèse des flavonoïdes

L'enzyme clé pour la formation du squelette flavonoïdique est la chalcone synthase (CHS) qui catalyse l'étape de condensation de trois unités acétate à partir de malonyl-CoA avec la 4-coumaroyl-CoA pour donner l'intermédiaire en C15, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone qui est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse des différentes classes de flavonoïdes (**Djeghim, 2016**). Le **schéma 1** illustre la biosynthèse de quelques classes de flavonoïdes :

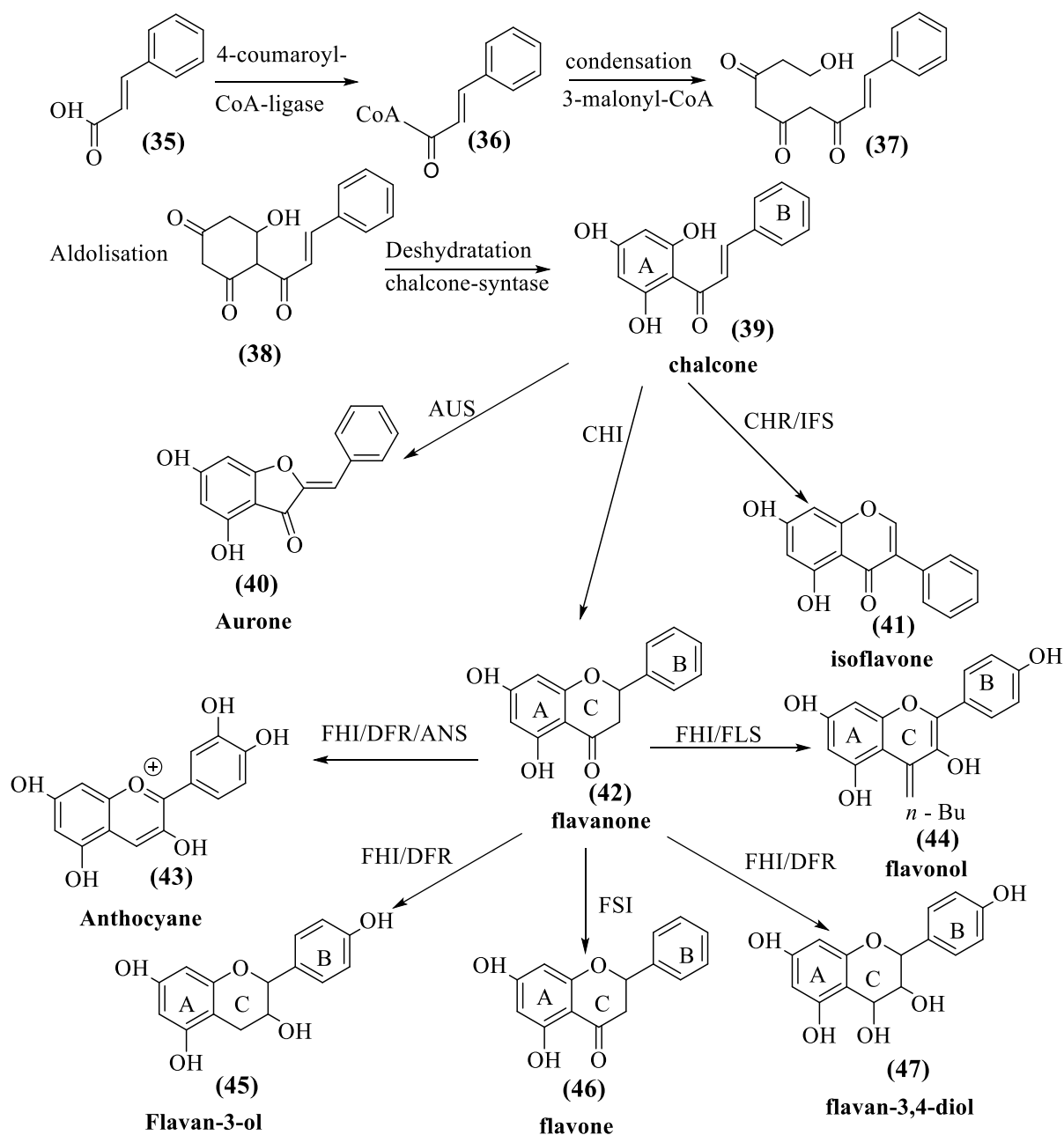


Schéma 1 : Biosynthèse des flavonoïdes (Djeghim, 2016).

CHR : chalcone-reductase **CHI** : chalcone-isomérase **ANS** : anthocyanidine-synthase

IFS : isoflavone- reductase **FHI** : flavanone-3-hydroxylase **FLS** : flavonol-synthase

AUS : aurone-synthase **DRF** : dihydroflavonol-reductase **FSI** : flavone-synthase

I.4.3. Méthodes de détermination des structures des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont couramment identifiés à l'aide des méthodes spectroscopiques suivantes : la spectroscopie infra rouge (IR), l'ultra-violet (UV), la résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H) et du Carbone (RMN ^{13}C), ainsi que la spectrométrie de masse.

➤ L'infrarouge (IR)

Comparée aux autres techniques, l'infra-rouge permet de détecter les groupes OH autour de $3100\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ et les carbonyles entre $1685\text{-}1616\text{ cm}^{-1}$ (Jurd, 1962).

➤ L'ultraviolet(UV)

La spectroscopie ultra violette est l'une des techniques communément utilisées pour la caractérisation des flavonoïdes. L'analyse du spectre UV d'un flavonoïde peut nous permettre de déterminer le type de squelette (flavone, flavanone, isoflavone) déduit à partir de la position et de l'intensité des bandes d'absorption. En effet, la plupart d'entre elles présente sur leurs spectres deux maximums d'absorption : l'un situé entre 300 et 400 nm (bande I) et l'autre entre 245 et 295 nm (bande II) associés respectivement au chromophore du cycle B-cinnamoyle et à celui du cycle A-benzoyle (schéma 2) (Markham, 1982) ;

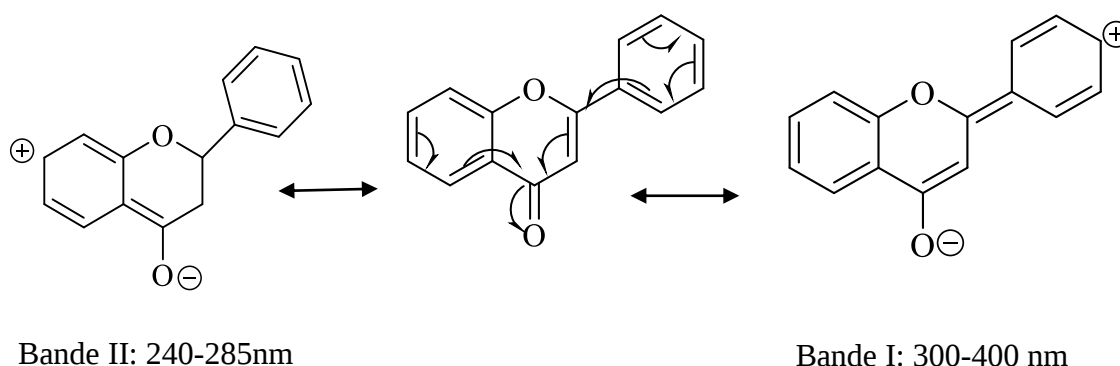


Schéma 2 : principales bandes d'absorption ultraviolette des flavonoïdes

Le **tableau 7** présente les bandes d'absorption de quelques classes de flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Tableau 7: Différentes bandes d'absorption UV de quelques classes de flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

Bande I (λ_{max} en nm)	Bande II (λ_{max} en nm)	Classe de flavonoïdes
300-330	275-295	Flavones et isoflavones
310-330	250-280	Flavones
310-330	245-295	Isoflavones
330-360	250-280	Flavonols
340-390	230-270	Chalcones
380-430	230-270	Aurones

➤ **Résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H),**

La RMN du proton est une méthode efficace pour l'élucidation structurale des flavonoïdes. Elle permet d'identifier les protons des cycles A, B et C, les protons des groupes hydroxyles ainsi que ceux des groupes méthoxyles.

✓ **Protons des cycles A et C**

Les protons du cycle A apparaissent dans les champs plus forts que ceux du cycle B, le cycle A étant formé biogénétiquement à partir d'unités d'acétyl SCoA (CH_3COSCoA) ; les flavonoïdes naturels sont généralement oxygénés en position 5 et 7 sur le cycle A. La détection des protons en C-6 et C-8 des 5,7-dihydroxyflavonoïdes et du proton en C-5 des 7-hydroxyflavonoïdes fortement déblindés par le groupe céto en C-4 peut se faire aisément.

On observe plus de variation sur les déplacements chimiques des protons du cycle C des différentes classes de flavonoïdes ceci en fonction du degré d'oxydation de ce cycle. Le proton en C-3 des flavones donne un signal sous forme d'un singulet à 6,3 ppm qui interfèrent souvent avec les signaux des protons en C-6 et C-8. Dans les flavones avec le motif 5,7-dioxygénés, les protons en C-6 et C-8 apparaissent sous forme de doublet ($J = 2,5 \text{ Hz}$) et sont facilement différenciables du singulet du proton en C-3. Cependant le singulet du proton en C-3 peut être confondu avec le singulet du proton en C-6 ou C-8 dans les flavones 5, 7, 8 ou 5, 6, 7-trioxygénés ; ce problème est facilement résolu lorsqu'on fait le spectre du flavonoïde triméthylsilylé en 7,8 ou 6,7. Dans ce cas le proton en H-3 apparaît dans les champs plus faibles, H-8 dans les champs plus fort alors que le proton H-6 reste inchangé.

Le proton en C-2 des isoflavones, en position β de la fonction cétone en C-4 et adjacent à l'oxygène du cycle pyranne, apparaît entre 7,6 et 7,8 ppm dans le CCl_4 , alors que le proton benzylique des aurones apparaît comme singulet entre 6,5 et 6,7 ppm.

L'ensemble de ces informations sont résumées sur le schéma 3

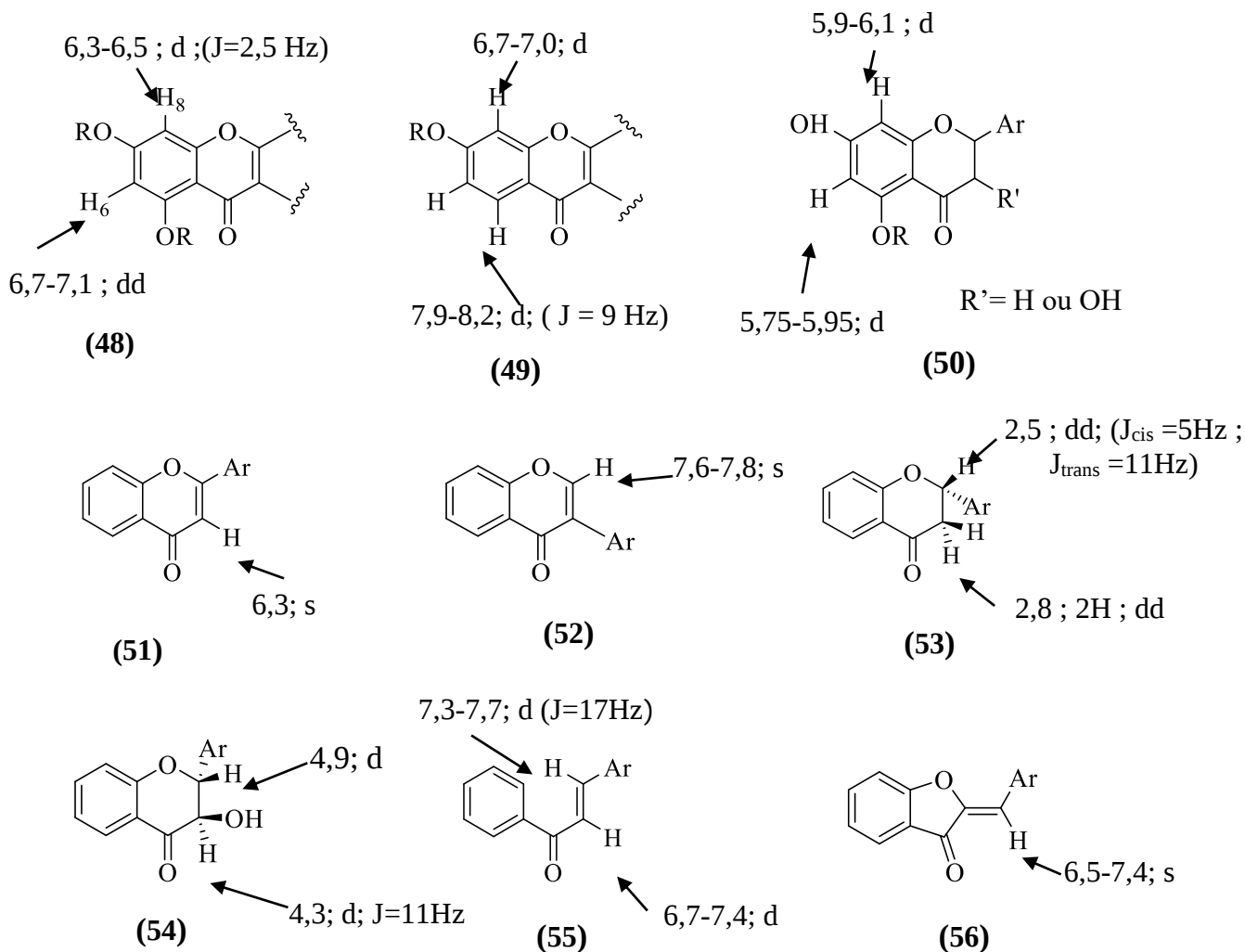


Schéma 3 : Déplacements chimiques des protons des cycles A et C des Flavones, Flavonols, Isoflavones et Dihydroflavonols (Mabry *et al.*, 1970).

✓ Protons du cycle B, des hydroxyles et des méthoxyles

Le cycle B des flavonoïdes dérive biogénétiquement de l'acide shikimique et les motifs 4'-oxygénés, 3',4',5'-trioxygénés se rencontrent couramment dans les flavonoïdes.

Dans les flavonoïdes 4'-oxygénés les protons $\text{H}-2'$, $\text{H}-3'$, $\text{H}-5'$ et $\text{H}-6'$ donnent des paires de doublets avec une constante de couplage $J = 8,5$ Hz. Les protons $\text{H}-2'$ et $\text{H}-6'$ apparaissent

dans les champs plus faibles entre 7,1 et 8,1 ppm alors que les protons H-3' et H-5' apparaissent dans les champs plus fort entre 6,5 et 7,1 ppm.

Dans les flavonoïdes 3',4'-dioxygénés, les protons H-2', H-5', et H-6' apparaissent sous forme de doublets et de doublets dédoublés entre 6,7 et 7,1 ppm (**schéma 4**). Dans les flavonoïdes 3',4',5'-trioxygénés, les protons H-2' et H-6' sont équivalents et apparaissent sous forme de singulet de deux protons. Les protons des groupements méthoxyles (-OCH₃) apparaissent entre 3,5 et 4,1 ppm alors que ceux des groupements hydroxyles (-OH) apparaissent entre 9,5 et 13 ppm (**schéma 4**) (**Markam et Mabry 1975, Markam, 1982**).

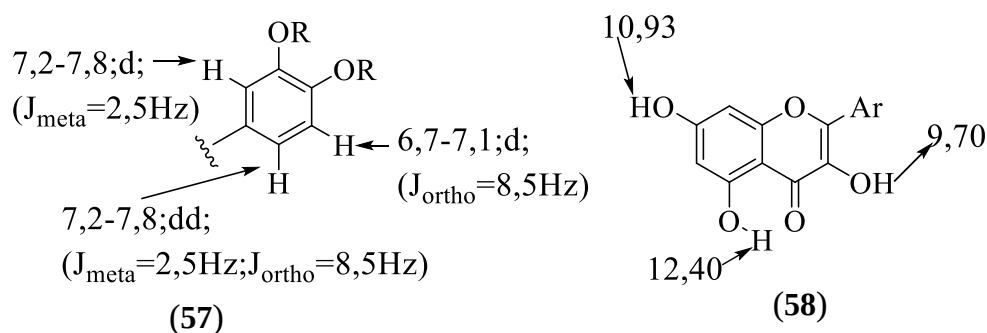


Schéma 4 : Déplacements chimiques des protons du cycle B et des hydroxyles de quelques flavonoïdes (**Markam et Mabry 1975**).

➤ Résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN ¹³C)

La RMN ¹³C est très pratique pour différencier les classes de flavonoïdes. En effet, les déplacements chimiques des carbones centraux C-2, C-3 et C-4 (**tableau 8**) sont très utiles pour la détermination de la classe de flavonoïde étudiée.

Tableau 8: Déplacements chimiques des carbones centraux de quelques flavonoïdes (Kapche, 2000)

Classes	Déplacement chimique en ppm ; solvant : CDCl ₃ , CDCl ₃ -(CD ₃) ₂ SO ou (CD ₃) ₂ SO		
Position	C-2	C-3	C-4
Flavones	160,5-165,5 (s)	103,9-112,5 (d)	176,3 – 183,5(s)
Flavonol			
3-OH libre	145,4-147,1 (s)	35,5-141,4 (s)	173,6-180 (s)
3-OH Chélaté ou glucosylé	151,4-156,4 (s)	136,0-138,1 (s)	172,4-176,7 (s)
Isoflavones	149,8-155,4 (d)	119,3-125,9 (s)	174,5-180,6 (s)
Dihydroflavonol	78,3-83,6 (d)	70,9-72,5 (d)	189,7-198,4 (s)
Flavanones	75,0- 80,3 (d)	42,0- 44,8 (t)	189,5-196,7 (s)

L'ensemble des informations présentées dans les pages précédentes nous ont guidé lors du choix du matériel végétal et nous ont été d'une grande utilité lors de nos travaux sur l'élucidation structurale des composés dont les principaux résultats seront présentés, interprétés et discutés dans le chapitre 2.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. EXTRACTION ET ISOLEMENT.

Les racines de *Scyphocephalum mannii* ont été récoltées en Juin 2018 à ESEKA, localité de la région du Centre au Cameroun. Des échantillons ont été déposés à l'herbier national du Cameroun sous le numéro 2370/SRF. Après séchage et broyage, nous avons obtenu une poudre de masse 1,9 Kg, qui a été extraite par macération au MeOH pendant 48H à température ambiante. Le macérât résultant a été filtré puis concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif et nous avons obtenu 125,3 g d'extrait brut de couleur marron. L'extrait brut obtenu a été dissout dans 250 mL du mélange MeOH/H₂O (1 : 9) et un partitionnement liquide-liquide a été fait en utilisant l'hexane et l'acétate d'éthyle successivement ; nous avons obtenu deux fractions indexées F1 et F2 de masse respective 25,4 g et 47,6 g. Sur la base des profils CCM des 02 fractions, nous avons fait le choix de porter notre étude sur la fraction à l'acétate d'éthyle. Les chromatographies successives sur colonnes de gel de silice de cette fraction ont conduit à l'isolement de 09 composés indexés RSM1 à RSM9. Les structures des composés RSM1, RSM3 et RSM5 ont été déduites de l'élucidation des spectres de RMN 1D (¹H, ¹³C, DEPT) et 2D (COSY, HSQC, HMBC, NOESY) et par comparaison avec les données spectrales décrites dans la littérature.

Le schéma 5 résume le protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines de *Scyphocephalum mannii*.

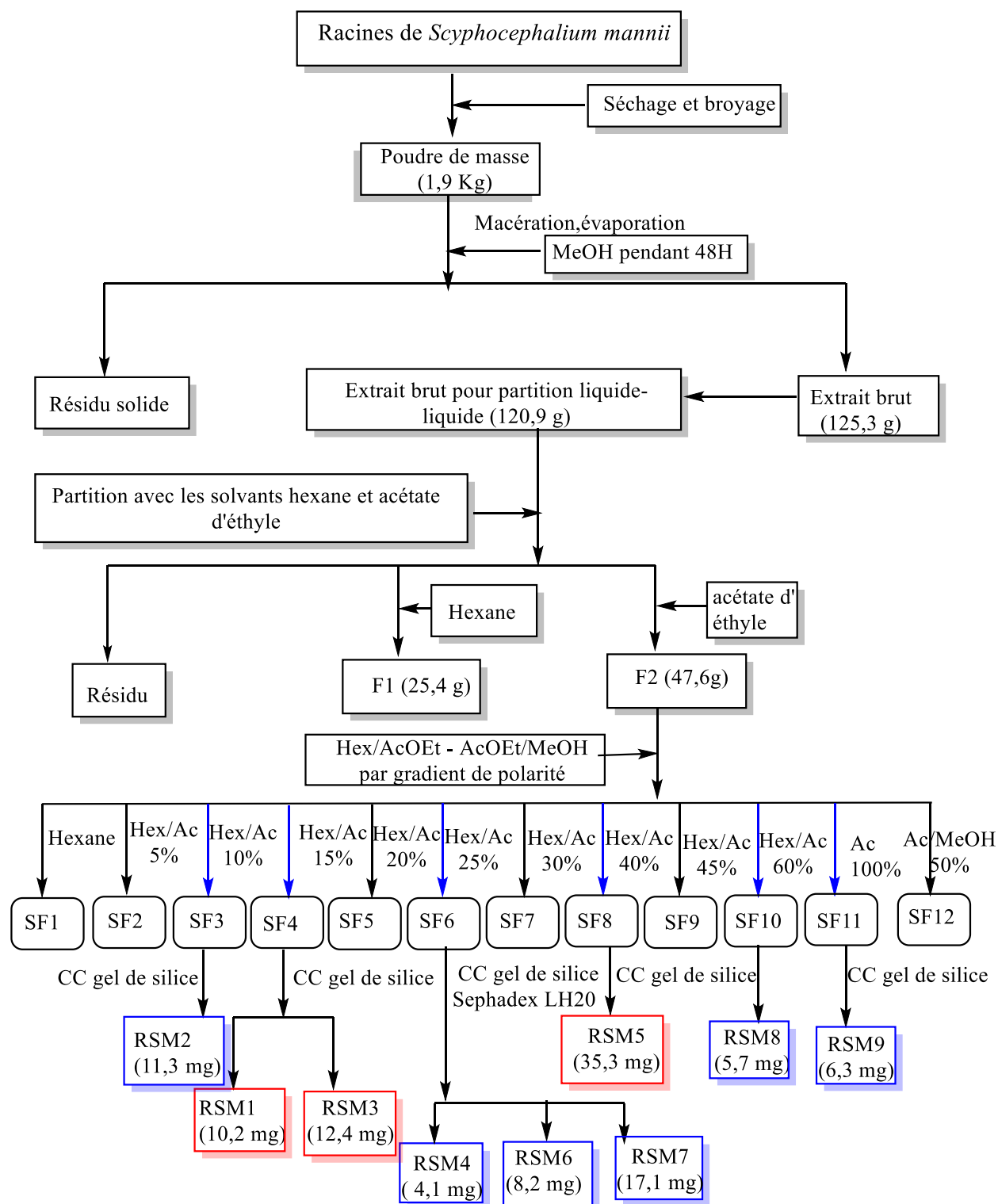
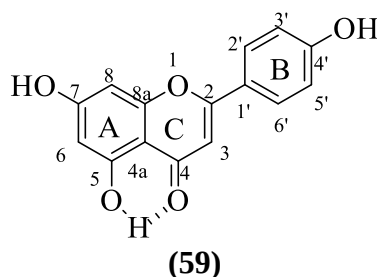


Schéma 5: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines de *Scyphocephalum mannii*.

II.2. Identification structurale de quelques composés isolés.

II.2.1. Identification du composé RSM1.

RSM1 précipite sous forme de poudre jaunâtre dans le mélange Hex/AcOEt (8 :2) et est soluble dans le DMSO. Il répond positivement au test au chlorure ferrique et au test de Shinoda, caractéristiques respectivement des composés phénoliques et des flavonoïdes. L'interprétation de ses données spectroscopiques nous a permis de lui attribuer la structure (59), un composé de formule brute $C_{15}H_{10}O_5$ renfermant 11 degrés d'insaturations.



En effet, son spectre de RMN 1H (600 MHz, DMSO- d_6 , **Figure 4**), présente :

- Les signaux d'un système AB de deux protons aromatiques résonnant à δ_H 6,18 (1H ; d ; 2,1 Hz) et 6,47 (1H ; d ; 2,1 Hz) attribuables respectivement aux protons H-6 et H-8 en position *meta* sur le cycle A.
- Les signaux d'un système AA'BB' de quatre protons aromatiques résonnant à δ_H 6,92 (2H ; d ; 8,8 Hz) et 7,93 (2H ; d ; 8,8 Hz) attribuables aux protons H-2'/H-6' et H-3'/H-5' du cycle B.
- Le signal d'un proton résonnant à δ_H 12,96 (1H ; s) attribuable au proton de l'hydroxyle chélate en position 5 sur le cycle A.
- D'un singulet raisonnant à δ_H 6,78 attribuable au proton H-3 du cycle C caractéristique des flavonoïdes de la classe des flavones (**Sofa et al., 2016**).

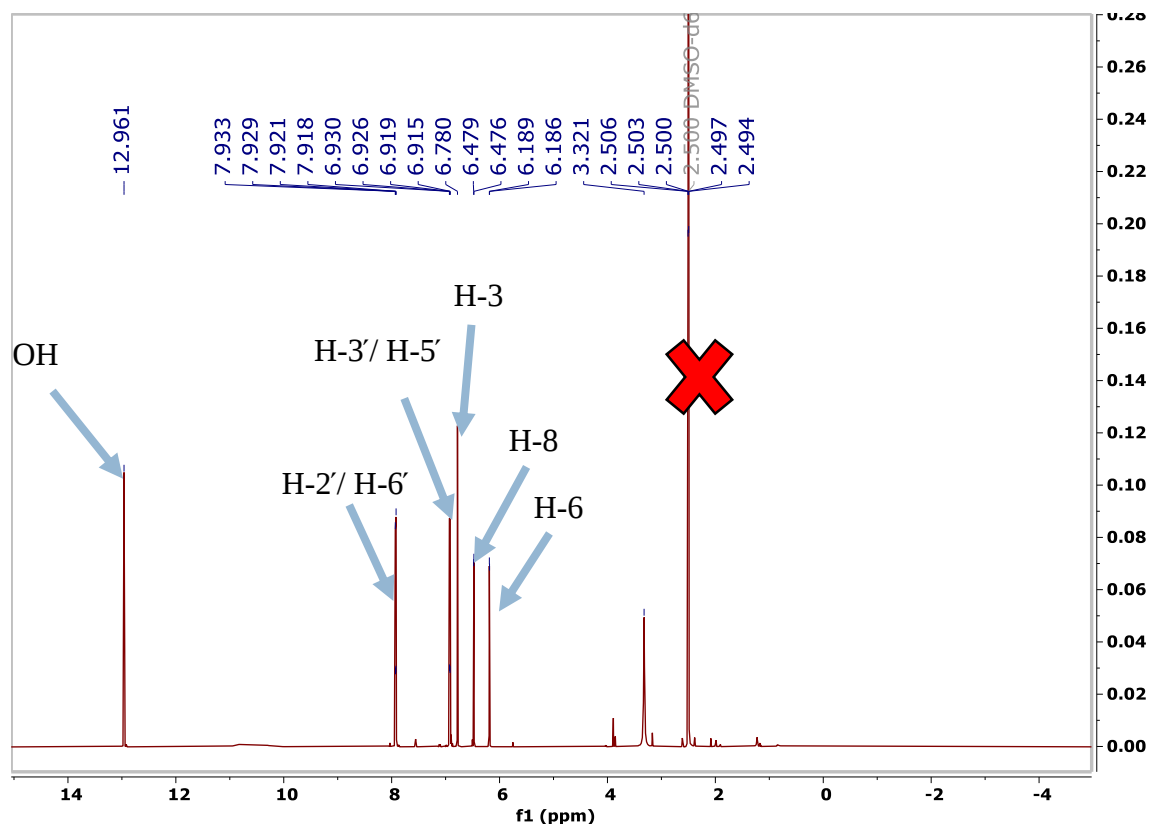


Figure 4 : Spectre de RMN de ^1H (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) du composé RSM1.

Son spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, **Figure 5**) présente les signaux de 13 atomes de carbones avec 2 signaux intégrant pour 2 carbones chacun à δ_{C} 128,4 (C-2'/C-6') et 115,9 (C-3'/C-5'). Le signal d'un carbonyle à δ_{C} 181,7 (C-4), d'autres des carbones aromatiques oxygénés à δ_{C} 161,4 (C-5) ; 164,1 (C-7) ; 161,1 (C-4'), et des méthynes aromatiques à δ_{C} 102,8 (C-3) ; 98,8 (C-6) ; 93,9 (C-8). De plus nous observons la présence des signaux à δ_{C} 163,7 (C-2), 102,8 (C-3) et 181,1 (C-4) caractéristiques des flavonoïdes de la série des flavones (**Sofa et al., 2016**).

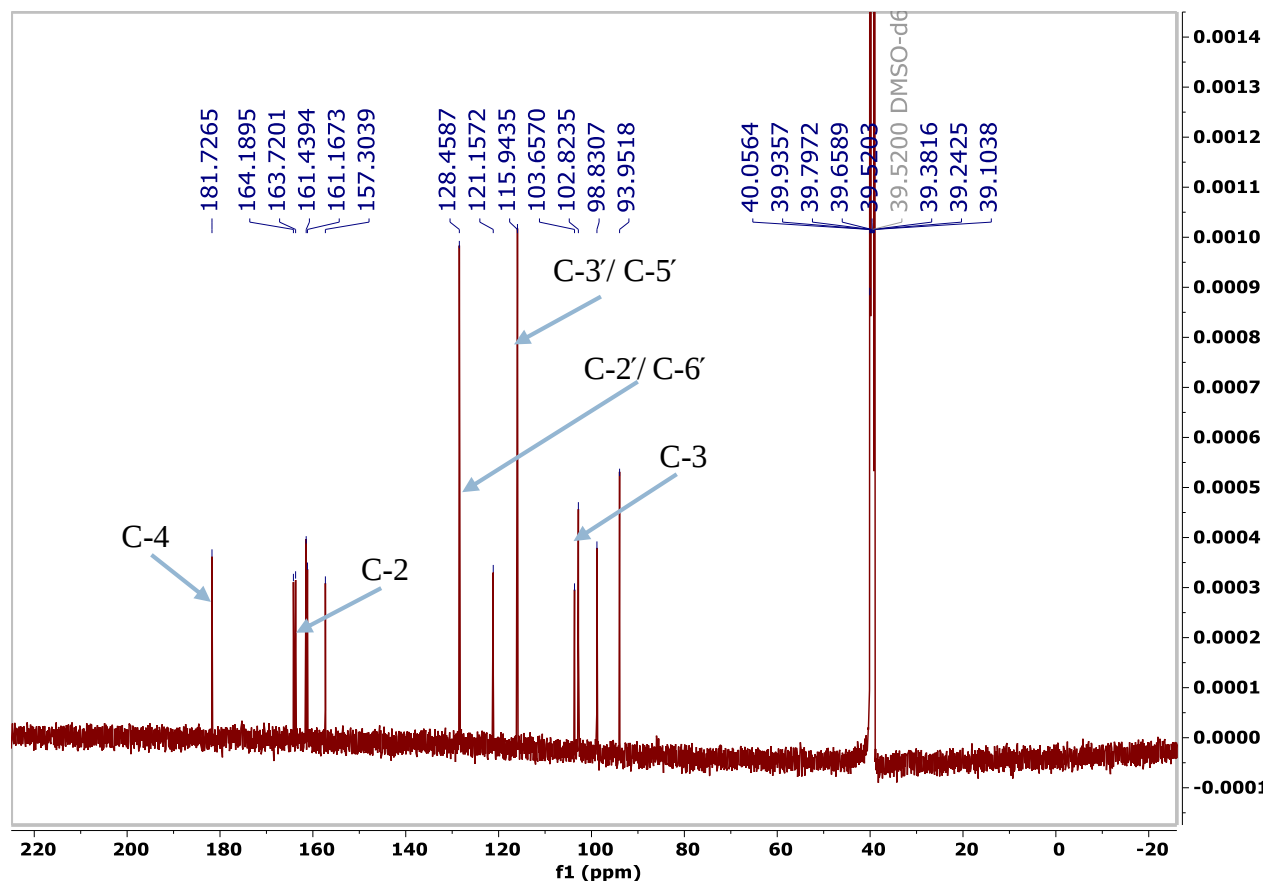


Figure 5 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) du composé RSM1.

Son spectre HSQC (DMSO- d_6 , **Figure 6**) présente d'importantes taches de corrélations, permettant de fixer les protons sur les carbones correspondants. On y observe ainsi les corrélations entre les protons des méthynes aromatiques à δ_H 6,18 (H-6) ; 6,48 (H-8) ; 6,77 (H-3) ; 7,93 (H-2') ; 6,92 (H-3') et les carbones à δ_C 98,8 (C-6) ; 93,9 (C-8) ; 102,8 (C-3) ; 128,4 (C-2') ; 115,9 (C-3') respectivement.

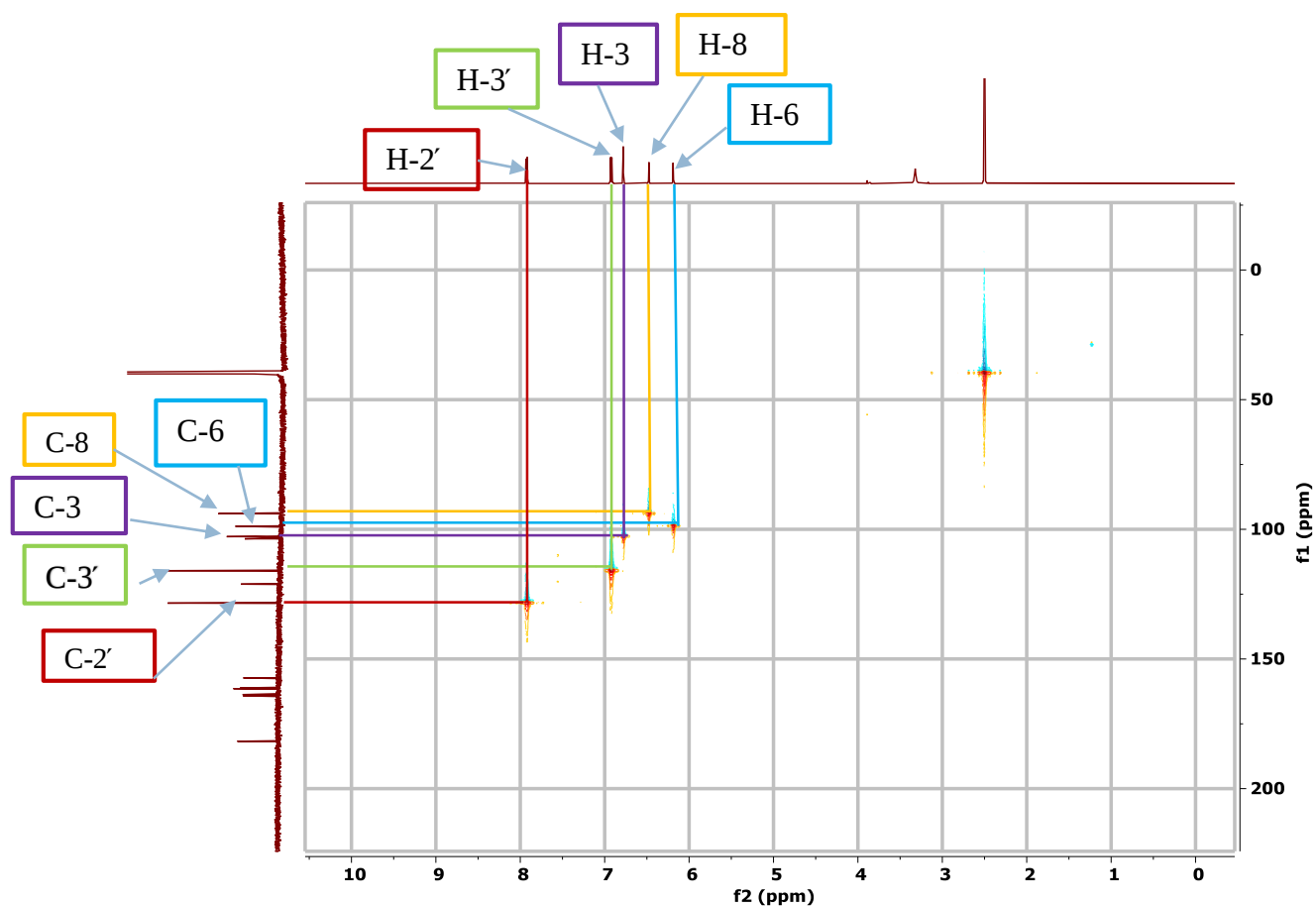


Figure 6 : Spectre HSQC du composé RSM1.

Son spectre COSY ^1H - ^1H (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, **Figure 7**) met en évidence d'importants carrés de corrélations et notamment entre les protons à δ_H 6,47 (H-8) et 6,18 (H-6) correspondant aux protons *meta* couplés du cycle A et puis entre les protons δ_H 7,93 (H-2') et 6,92 (H-3') correspondant aux protons *ortho* couplés du cycle B (schéma 6).

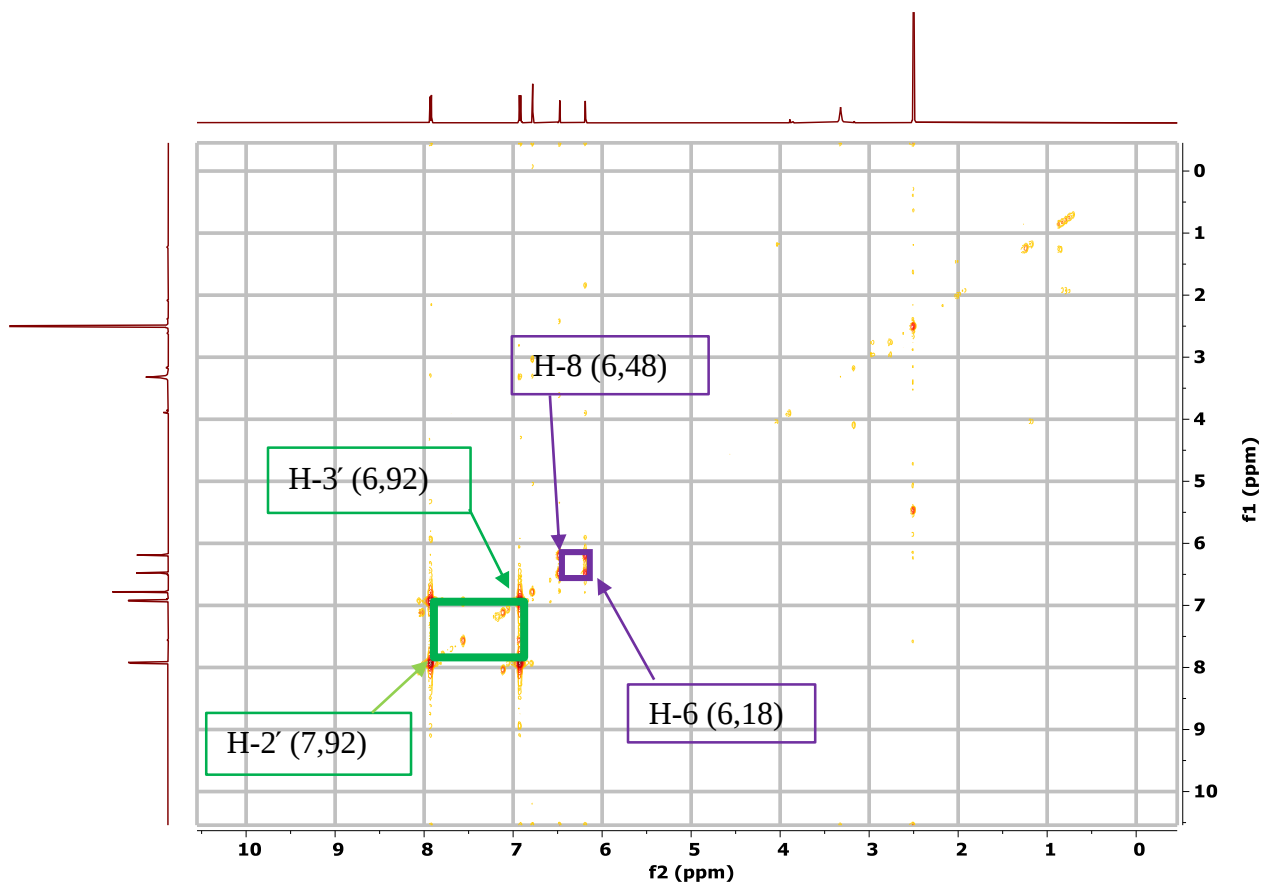


Figure 7 : Spectre COSY du composé RSM1.

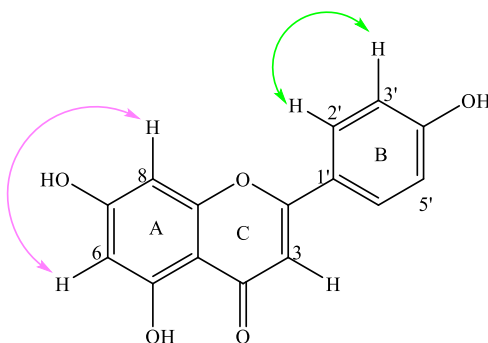


Schéma 6: Quelques corrélations du spectre COSY du composé RSM1.

Son spectre HMBC (**Figure 8**) présente d'importantes taches de corrélations notamment entre les protons des méthynes à δ_H 6,18 (H-6) ; 6,47 (H-8) et le carbone à δ_C 164,1 (C-7) ; cette corrélation permet de fixer un groupement hydroxyle en C-7. De plus, sur ce même spectre nous observons une corrélation entre le proton H-6 et le carbone à 161,4 (C-5) permettant de fixer un autre groupement hydroxyle en C-5. Nous notons également une corrélation entre le proton à δ_H 6,78 (H-3) et les carbones à δ_C 181,7 (C-4) et 163,7 (C-2) justifiant le positionnement du

groupe carbonyle en C-4. Non des moindres, la tache de corrélation entre les protons à δ_H 7,93 (H-3') ; 6,92 (H-5') et le carbone à δ_C 161,1 (C-4') confortant la position du groupement hydroxyle en (C-4') (schéma 7).

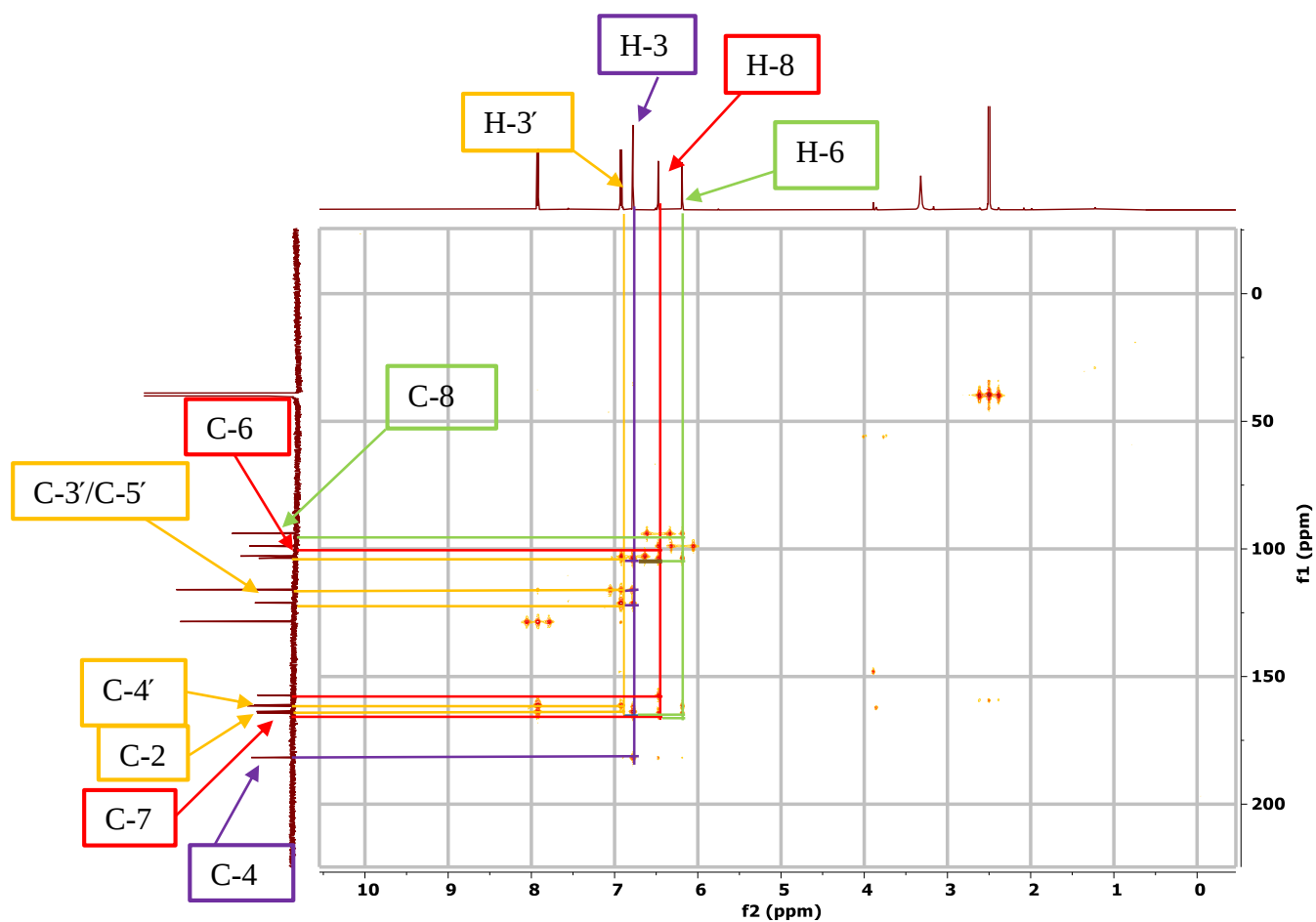


Figure 8 : Spectre HMBC du composé RSM1

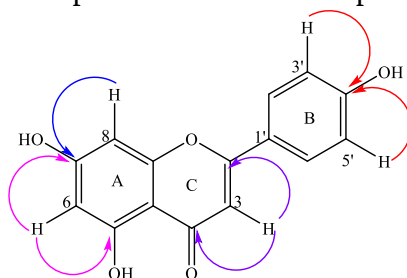


Schéma 7: Quelques corrélations du spectre HMBC du composé RSM1

L'ensemble de toutes ces données comparées avec celles décrites dans la littérature (tableau 9) nous a permis d'identifier le composé RSM1 à l'apigénine (**59**) précédemment isolée de *Macaranga gigantifolia* (Sofa *et al.*, 2016).

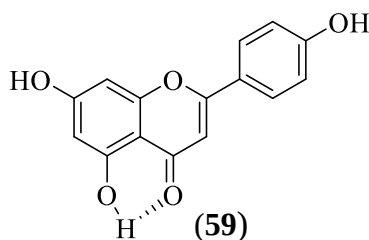
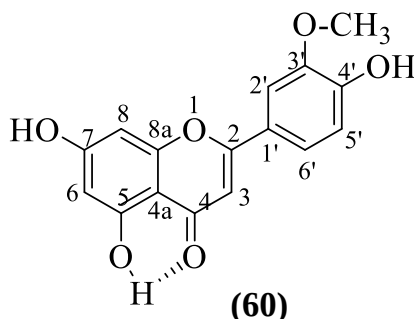


Tableau 9: Données spectrales de la RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) et ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) du composés RSM1 en comparaison avec l'apigénine (Sofa *et al.*, 2016).

Positions	RSM1		Apigenine (DMSO- d_6)	
	δ_C (ppm) (150 MHz)	δ_H (m ; J en Hz) (600 MHz)	δ_C (ppm) (125 MHz)	δ_H (m ; J en Hz) (500 MHz)
1	-	-	-	-
2	163,7	/	164 ,1	/
3	102,8	6,77 (1H; s)	103,3	6,47 (1H; s)
4	181,7	/	182,2	/
5	161,4	/	161,9	/
6	98,8	6,18 (1H; d ; 2,1)	99,8	6,21 (1H; d; 2,5)
7	164,1	/	163,3	/
8	93,9	6,47 (1H; d ; 2,1)	94,5	6,77 (1H; d; 2,5)
9	157,3	/	157,8	/
10	103,6	/	105,8	/
1'	121,1	/	121,6	/
2'/6'	128,4	7,93 (2H; d ; 8,8)	128,9	7,93 (2H; d; 8)
3'/5'	115,9	6,92 (2H; d ; 2,1)	116,5	6,92 (2H; d ; 8)
4'	161,1	/	161,7	/
OH-5	/	12,96 (1H; s)	/	/

II.2.2. Identification du composé RSM3

Le composé RSM3 a été obtenu sous forme de poudre jaune dans le système Hex/AcOEt (7 : 3) et est soluble dans le DMSO. Il répond positivement au test au chlorure ferrique en donnant une coloration violette caractéristique des composés phénoliques et au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. L'analyse de ses données spectroscopiques nous a permis de lui attribuer la structure **(60)** ; composé de formule brute $C_{16}H_{12}O_6$ soit 11 degrés d'insaturations.



En effet, l'analyse de son spectre de RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) en comparaison avec celui de RSM1 (600 MHz, DMSO- d_6) présente des similitudes (figure 9). On note cependant des légères différences, notamment : l'absence du système AA'BB' sur le spectre RSM3 et l'apparition d'un système ABX chez RSM3. Les protons de ce système aromatique apparaissent à δ_H 6,94 (1H ; d ; 8,6 Hz) ; 7,57 (1H ; dd ; 2,1 ; 8,6 Hz) et 7,56 (1H ; d ; 2,1 Hz) correspondant ainsi à un noyau B tri-substitué. Également sur ce spectre, on observe un singulet de 3 protons à δ_H 3,89 caractéristique d'un groupement méthoxyle sur cette molécule.

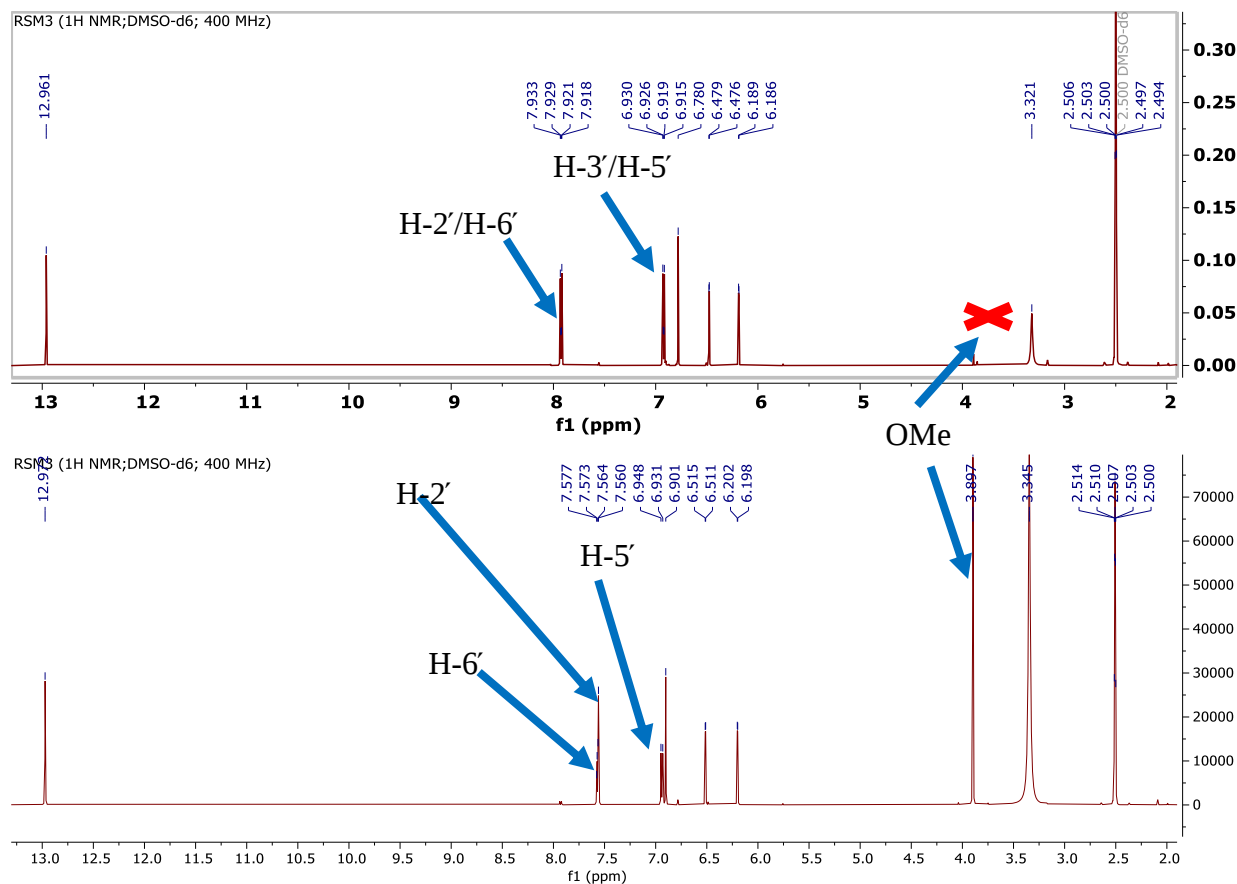


Figure 9 : Superposition des spectres de RMN ^1H des composés RSM1 (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) et RSM3 (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

Son spectre de RMN ^{13}C (100 MHz ; $\text{DMSO}-d_6$) complètement découplé présente 16 signaux au lieu de 15 comme dans le cas du composé RSM1 (Figure 10). Un carbone en plus apparaît à δ_c 56,4 attribuable au carbone d'un groupement méthoxyle. Sur ce spectre, on a également un carbone aromatique oxygéné qui apparaît à δ_c 148,4 et l'absence d'un méthyne aromatique par rapport à RSM1 confirmant la substitution d'un proton aromatique par un méthoxyle sur la molécule.

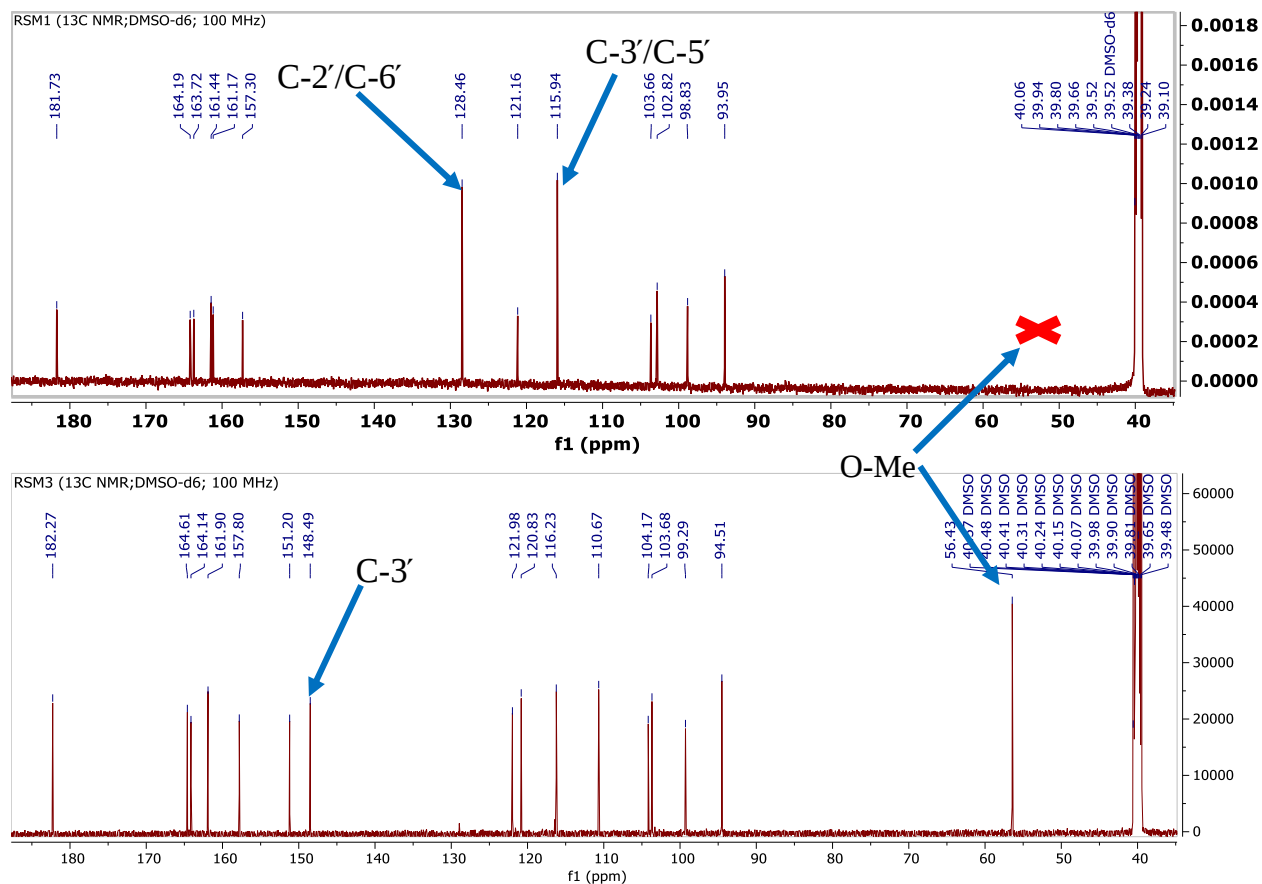


Figure 10 : Superposition des spectres de RMN ^{13}C des composés RSM1 (150 MHz, DMSO- d_6) et RSM3 (100 MHz, DMSO- d_6)

Son spectre HSQC (**Figure 11**) présente des taches de corrélations dont l'une permet de fixer le proton du methoxy à δ_H 3,89 à son carbone à δ_C 56,4.

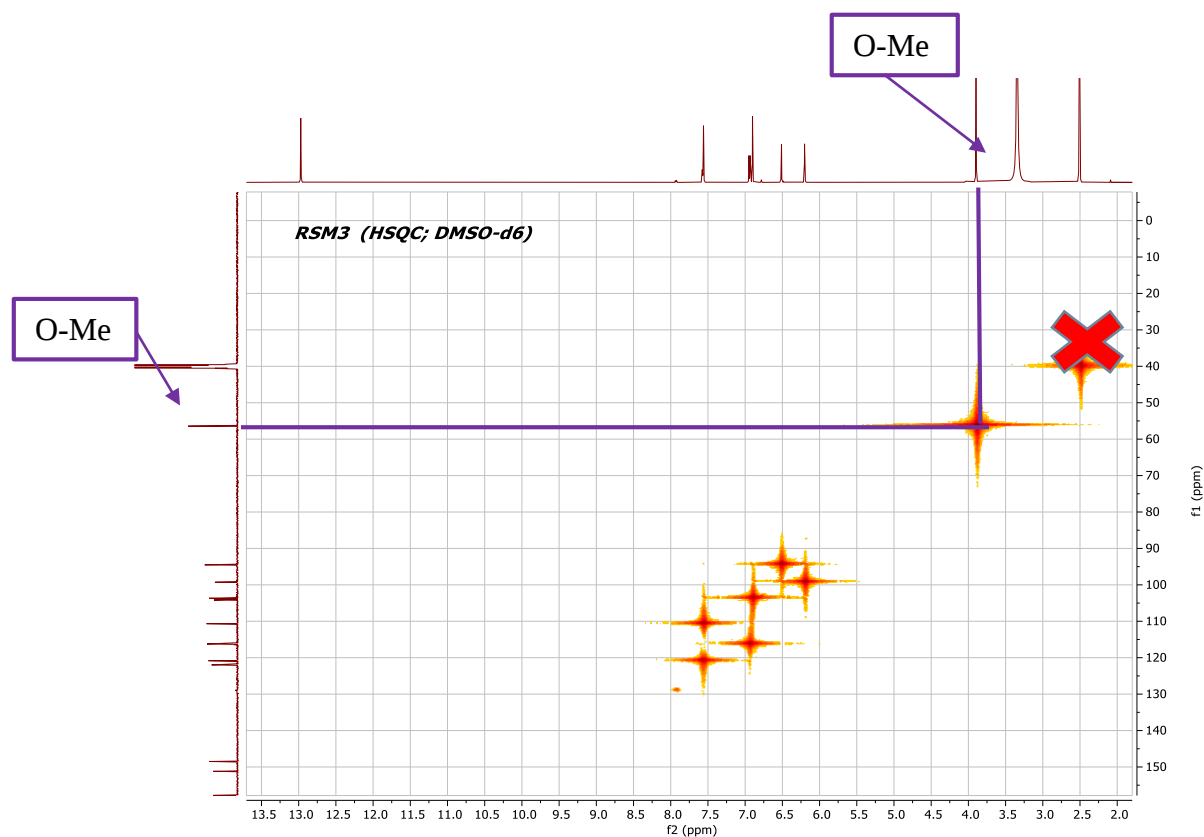


Figure 11 : Spectre HSQC du composé RSM3.

Son spectre HMBC (**Figure 12**) présente d'importantes taches de corrélations notamment celles entre les protons (H-2'), (H-5') et le carbone (C-3'), également entre les protons du méthoxyle et ce même carbone permettant de confirmer ainsi sa position (schéma 8).

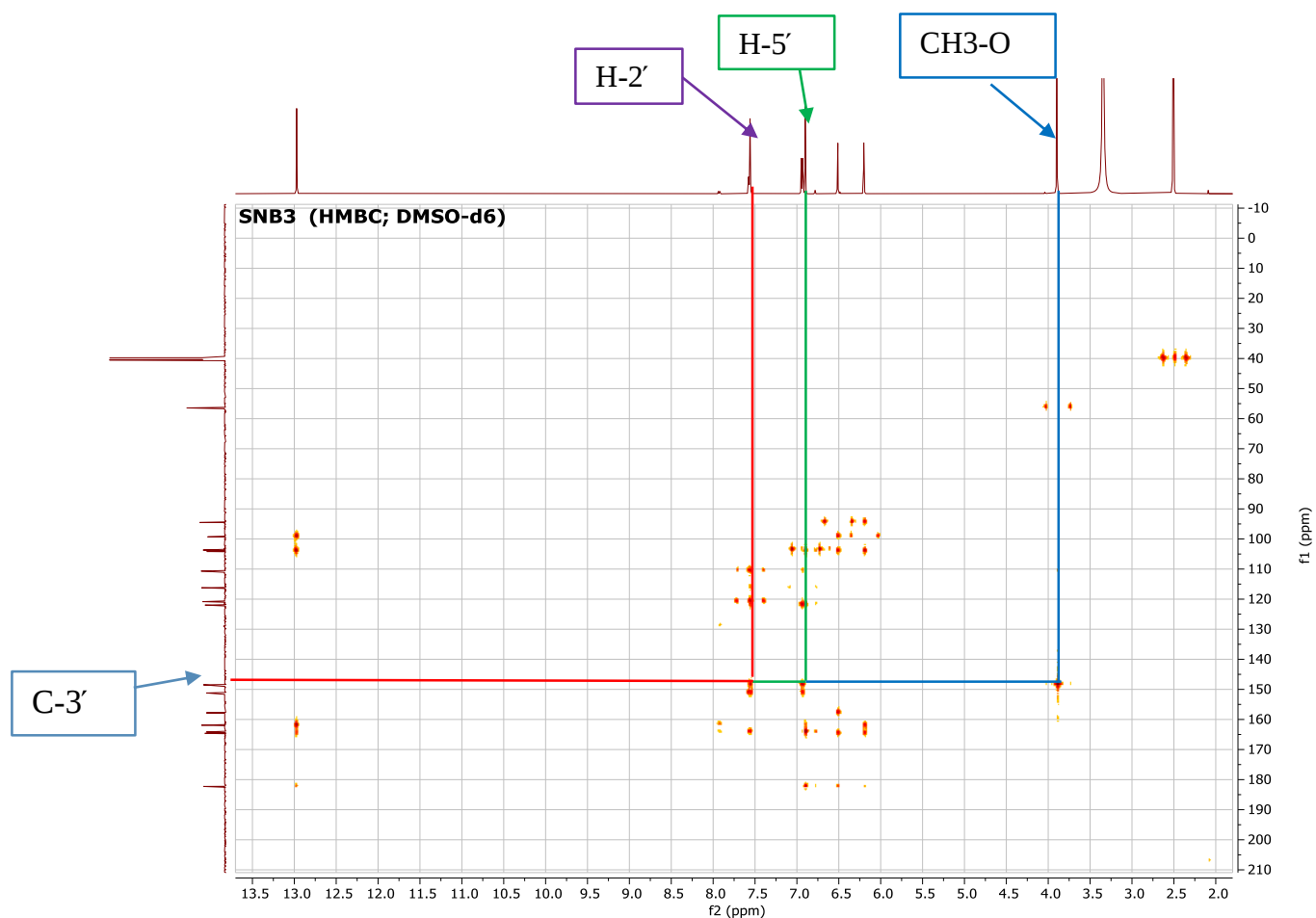


Figure 12 : Spectre HMBC du composé RSM3.

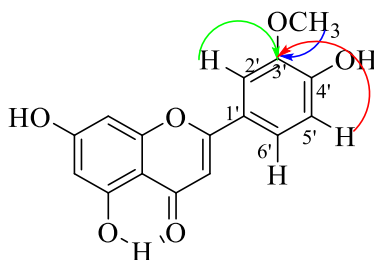


Schéma 8 : Quelques corrélations du spectre HMBC du composé RSM3.

L'ensemble de toutes ces données spectrales comparées à celles décrites dans la littérature (tableau 10) nous a permis d'identifier le composé RSM3 à la Chrysoeriol (60) précédemment isolée de *Capsicum frutescens* (Nascimento *et al.*, 2014).

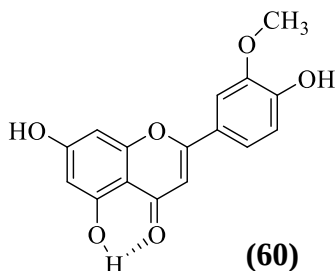
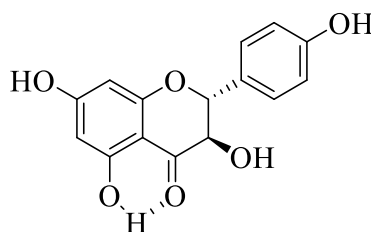


Tableau 10: Données spectrales de la RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) et ^{13}C (100 MHz ; DMSO- d_6) du composé RSM3 en comparaison avec le Chrysoeriol (**Park et al, 2007**).

Position	RSM3		Chrysoeriol (DMSO- d_6)	
	δ_{C} (ppm) (100 MHz)	δ_{H} (m ; J en Hz) (400 MHz)	δ_{C} (ppm) (100 MHz)	δ_{H} (m; J en Hz) (400 MHz)
1	-	-	-	-
2	164,1	/	163 ,7	/
3	103,5	6,90 (1H ; s)	103,2	6,88 (1H; s)
4	182,1	/	181,8	/
5	161,9	/	161,5	/
6	99,3	6,19(1H ; d ; 2,1)	98,9	6,19 (d ; 2,0)
7	164,5	/	164,2	/
8	94,5	6,51 (1 ; d ; 2,1)	94,1	6,50 (d ; 2,0)
9	104,5	/	103,7	/
10	157,6	/	157,4	/
1'	122,1	/	121,5	/
2'	110,7	7,56 (1H ; d ; 2,1)	110,2	7,54 (m)
3'	148,4	/	148,1	/
4'	151,2	/	150,8	/
5'	116,3	6,93 (1H ; d ; 8,6)	115,8	6,93 (d; 8,9)
6'	120,8	7,57 (1H ; d ; 2,1 ; 8,6)	120,4	7,55 (dd ; 2,0 ; 8,9)
7'	56,4	3,89 (3H ; s)	56,0	3,89 (3H; s)
OH-5	/	12,97 (1H ; s)	/	12,96 (1H; s)

II.2.3. Identification du composé RSM5

Le composé RSM5 a été obtenu sous forme de poudre jaune dans le système Hex/AcOEt (6 : 4) et est soluble dans le méthanol, il répond positivement au test au chlorure ferrique caractéristique des composés phénoliques et au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. L'analyse de ses données de RMN 1D et 2D nous a permis de lui attribuer la structure **(61)**, de formule brute $C_{15}H_{12}O_6$ comportant 10 degrés d'insaturations.



(61)

En effet, l'analyse de son spectre de RMN 1H (500 MHz, CD_3OD , **Figure 13**) révèle la présence de deux protons résonants sous formes de doublets à δ_H 5,00 (1H ; d ; 11,5 Hz) et 4,57 (1H ; d ; 11,5 Hz) attribuable aux protons H-2 et H-3 caractéristiques des flavonoïdes de la classe des dihydroflavonols (**Mabry et al., 1970**). Également sur ce spectre on observe un système AB de deux protons aromatiques méta-couplés à δ_H 5,90 (1H ; d ; 2,1 Hz) et 5,94 (1H ; d ; 2,1 Hz) attribuables aux protons H-6 et H-8 respectivement du cycle A des flavonoïdes. Enfin on a un système aromatique AA'BB' (1,4-disubstituée) des protons appartenant au cycle B et résonnant à δ_H 7,38 (2H ; d ; 8,5 Hz) pour les protons H-2' et H-6' et à δ_H 6,84 (2H ; d ; 2,1 Hz) pour les protons H-3' et H-5'.

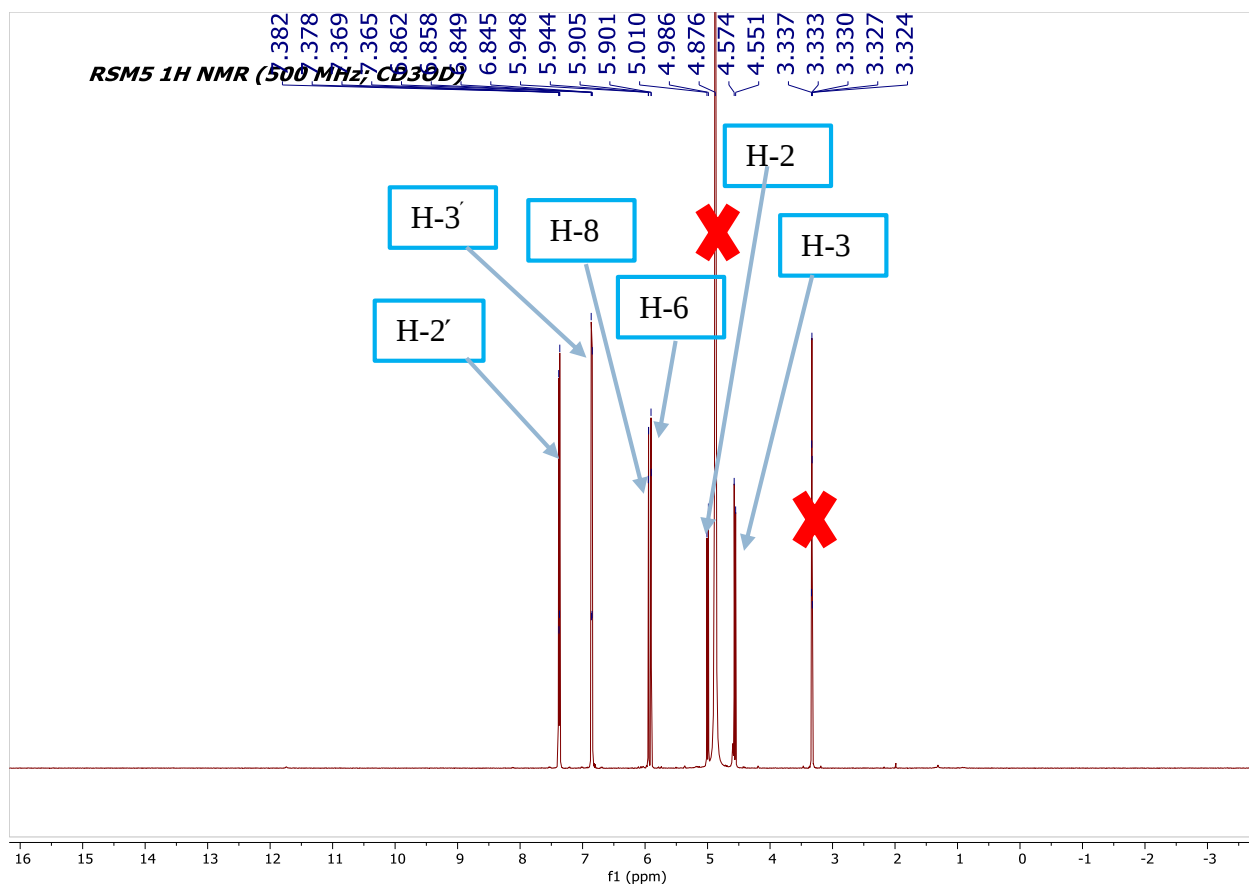


Figure 13 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) du composé RSM5.

Son spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD , **Figure 14**) complètement découplé présente 13 signaux de carbones avec 2 signaux intégrant pour 2 carbones chacun à δ_{C} 128,9 (C-2'/C-6') et 114,7 (C-3'/C-5'). Quatre carbones aromatiques oxygénés résonant à δ_{C} 163,9 (C-5) ; 167,3 (C-7) ; 72,2 (C-3) ; 157,8 (C-4'). De plus nous observons la présence des signaux à δ_{C} 83,5 (C-2) ; 72,2 (C-3) et 197,1 (C-4) caractéristiques des flavonoïdes de la série des dihydroflavonols (Meixian *et al.*, 2011).

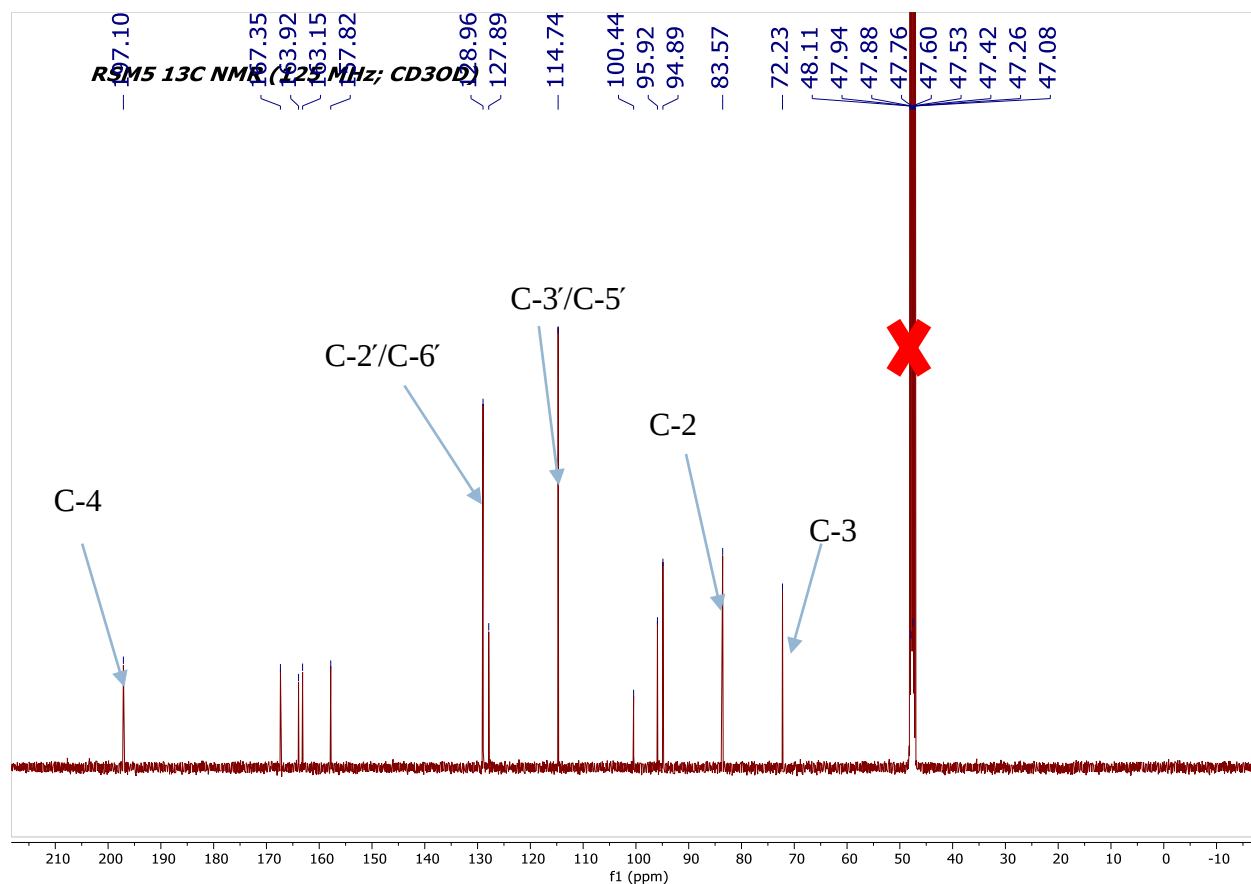
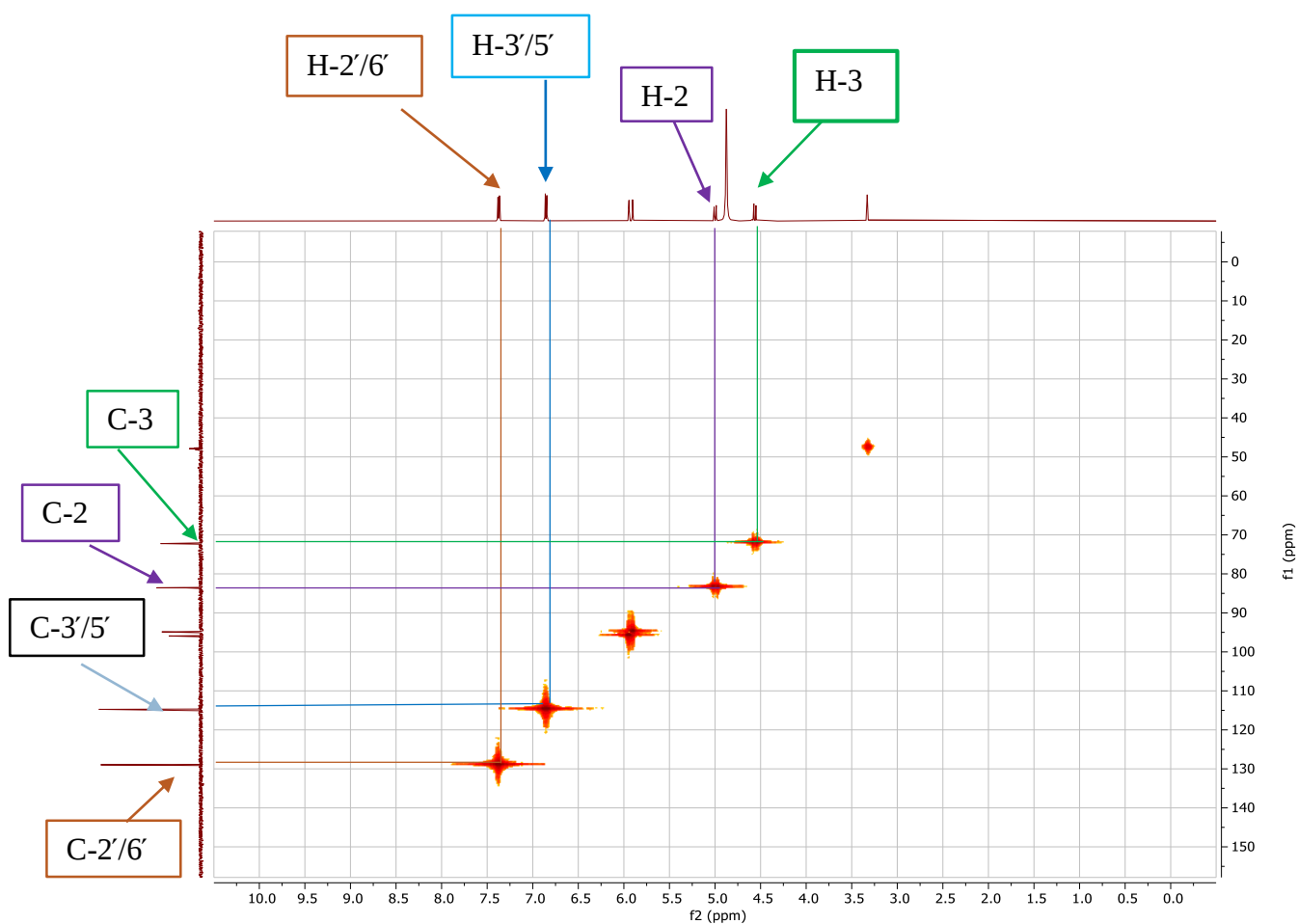


Figure 14 : Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) du composé RSM5.

Son spectre HSQC (**Figure 15**) présente d'importantes taches de corrélations, permettant de fixer les protons sur les carbones correspondants. On y observe les corrélations entre les protons des méthynes aromatiques à δ_{H} 5,90 (H-6) ; 5,94 (H-8) ; 7,38 (H-2'/H-6') ; 6,84 (H-3'/H-5') et les carbones à δ_{C} 98,8 (C-6) ; 93,9 (C-8) ; 128,9 (C-2'/C-6') ; 114,7 (C-3'/C-5') respectivement. De plus nous observons des corrélations entre les protons aliphatiques à δ_{H} 5,01 (H-2) ; 4,57 (H-3) et les carbones à δ_{C} 83,5 (C-2) et 72,2 (C-3).



RSM5 1H-13C HSQC (CD3OD)

Figure 15 : Spectre HSQC (CD₃OD) du composé RSM5.

Son spectre COSY ¹H-¹H (500 MHz, CD₃OD ; **Figure 16**) met en évidence d'importants carrés de corrélations parmi lesquels celui entre les protons aliphatiques à δ_H 5,01 (H-2) et 4,57 (H-3) correspondant à un couplage vicinal, et celui entre les protons aromatiques à δ_H 7,38 (H-2'/H-6') et 6,84 (H-3'/H-5').

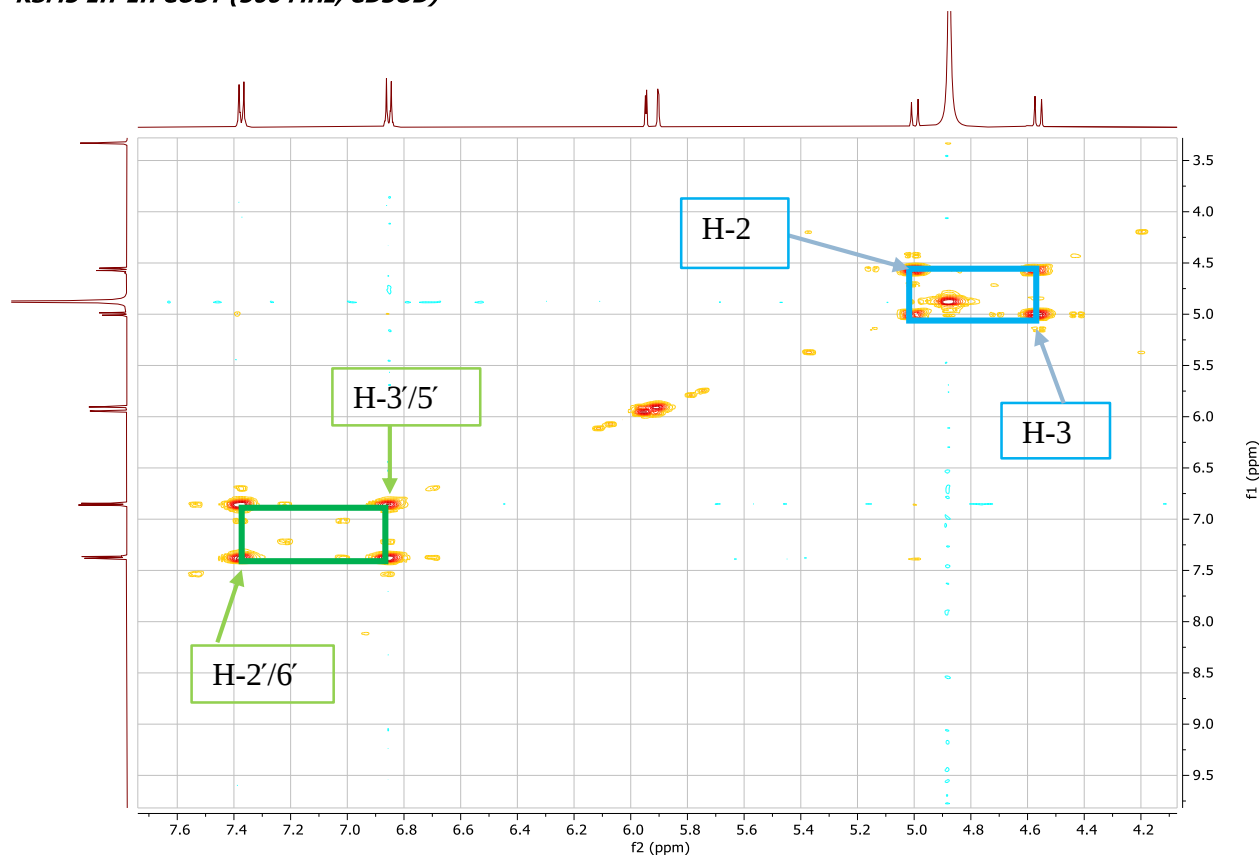


Figure 16 : spectre COSY ^1H - ^1H (CD_3OD) du composé RSM5.

Sur son spectre HMBC (**Figure 17**) on observe de nombreuses taches de corrélations dont quelques-unes sont présentées sur le schéma 9 ainsi qu'il suit :

- les protons des méthynes à δ_{H} 5,90 (H-6) ; 5,94 (H-8) et le carbone à δ_{C} 167,3 (C-7), permettant de fixer un groupement hydroxyle en (C-7),
- entre le proton à δ_{H} 5,90 (H-6) et le carbone à δ_{C} 163,9 (C-5) permettant de fixer un groupement hydroxyle en (C-5),
- entre le proton à δ_{H} 4,57 (H-3) et le carbone δ_{C} à 197,1 (C-4) permettant de justifier le positionnement du groupement carbonyle en (C-4),
- entre le proton à δ_{H} 6,84 (H-3'/H-5') et le carbone à δ_{C} 157,8 (C-4') confortant la position du groupement hydroxyle en (C-4').

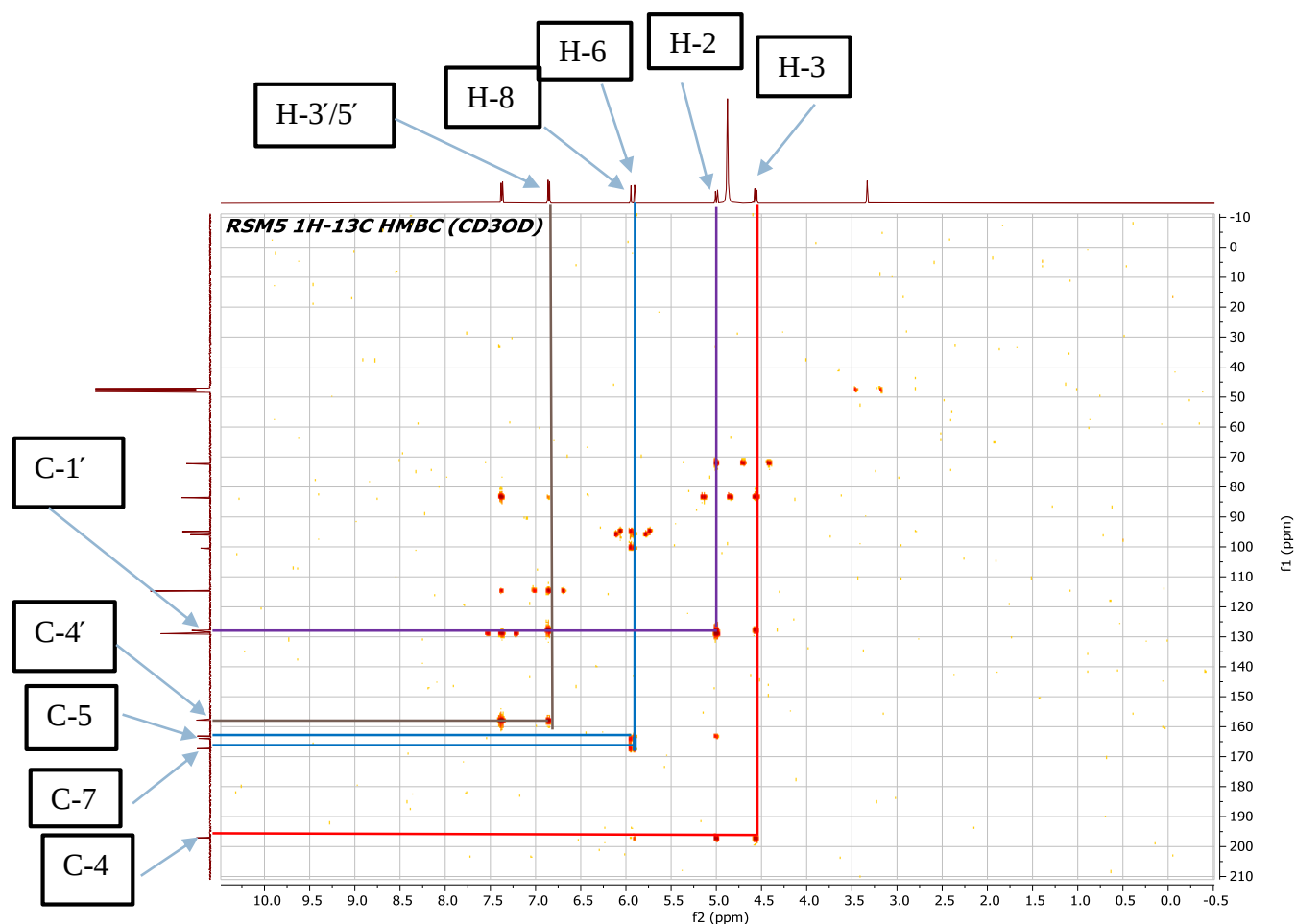


Figure 17 : Spectre HMBC du composé RSM5.

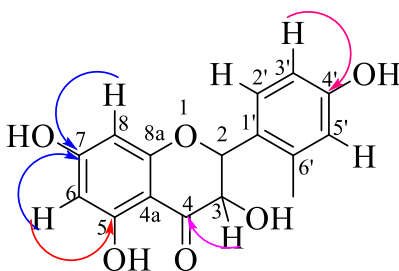


Schéma 9 : Quelques corrélations du spectre HMBC du composé RSM5.

Le spectre NOESY (500 MHz, CD₃OD ; **Figure 18**) montre des carrés de corrélations entre les protons à δ_H 7,38 (H-2'/H-6') et les protons à δ_H 5,01 (H-2) et 4,57 (H-3) (schéma 9). Ces corrélations, la constante de couplage entre les protons H-2 et H-3 (11,5 Hz) et les considérations biogénétiques justifient l'orientation du groupement hydroxyle en C-3 en avant du plan et la liaison (C-2) et (C-1') en arrière du plan.

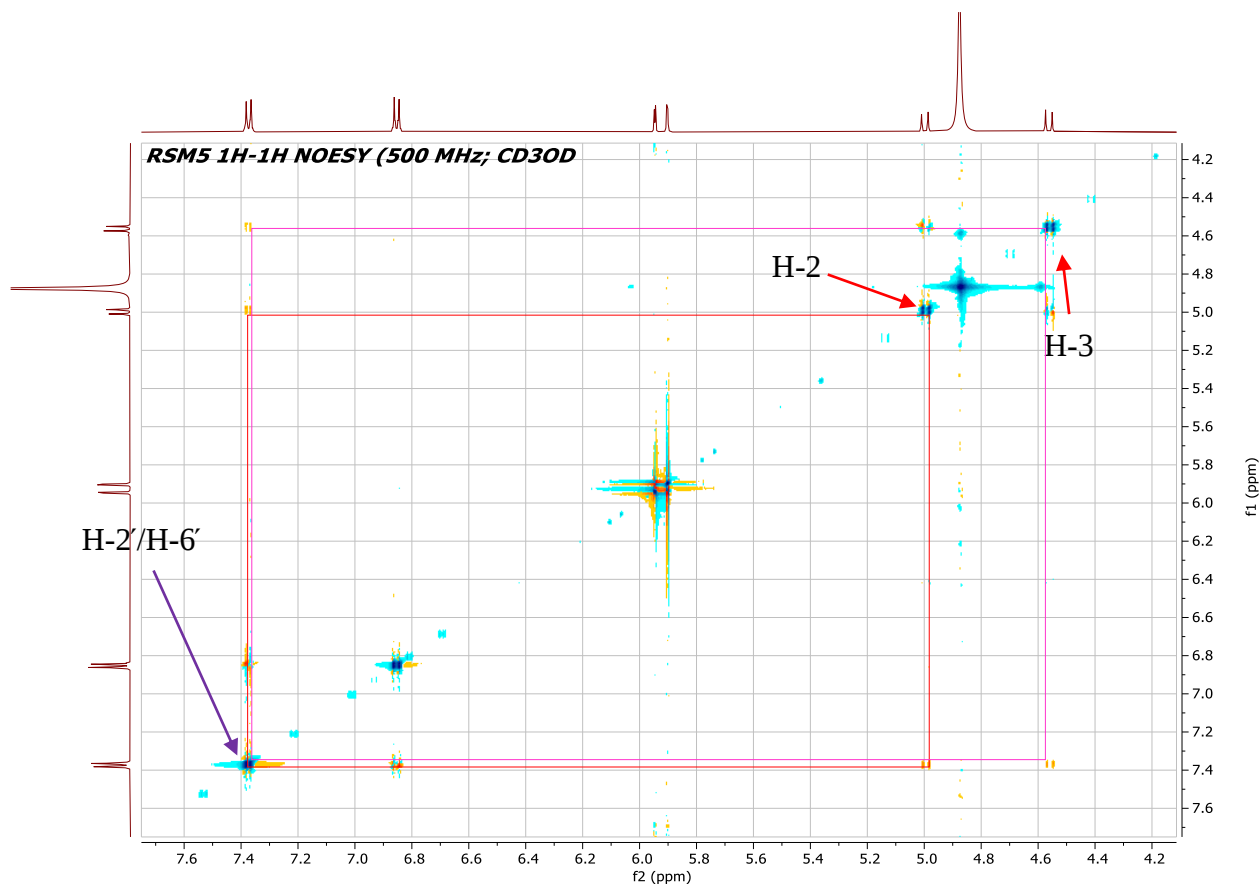


Figure 18 : Spectre NOESY du composé RSM5

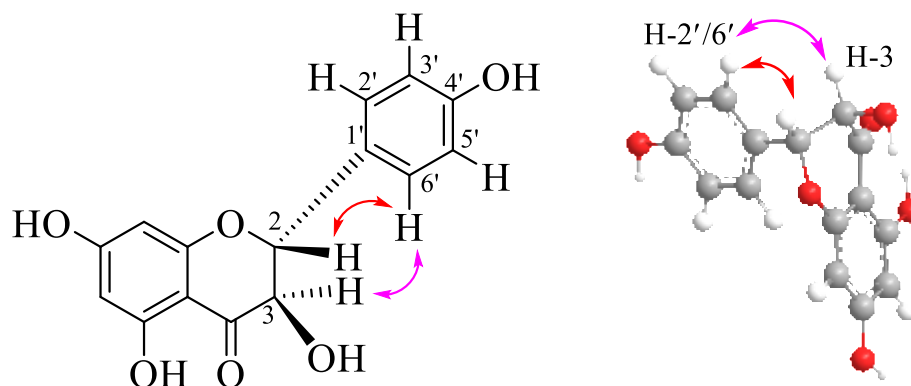


Schéma 10: Quelques corrélations de spectre NOESY du composé RSM5.

L'ensemble de toutes ces données spectrales en comparaison avec celle de la littérature (tableau 11) nous a permis d'identifier le composé RSM5 à la **dihydrokaempferol (61)** isolée des racines de *Cassia sieberiana* (Fabaceae) (Saidou *et al.*, 2017).

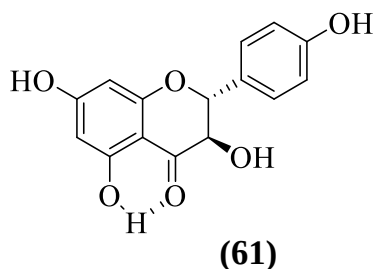


Tableau 11: Données spectrales de RMN du ^1H (500 MHz, CD_3OD) et du ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) du composé RSM5 en comparaison avec celle de la dihydrokaempferol (**Meixian *et al.*, 2011**).

Position	RSM5		Dihydrokaempferol (Acetone- d_6)	
	δ_{C} (ppm) (125MHz)	δ_{H} (m; J en Hz) (500MHz)	δ_{C} (ppm) (100MHz)	δ_{H} (m; J en Hz) (400MHz)
1	/	/	/	/
2	83,5	5,01 (1H ; d ; 11,5)	84,4	5,09 (1H ; d ; 11,6)
3	72,2	4,57 (1H ; d ; 11,5)	73,1	4,66 (1H ; d ; 11,6)
4	197,1	/	198,2	/
5	163,9	/	165,0	/
6	95,9	5,90 (1H ; d ; 2,1)	97,2	5,96 (1H ; d ; 2,0)
7	167,3	/	167,9	/
8	94,8	5,94 (1H; d ; 2,1)	96,1	6,00 (1H ; d ; 2,0)
9	163,1	/	164,2	/
10	100,4	/	101,5	/
1'	127,8	/	129,1	/
2'/6'	128,9	7,38 (2H ; d ; 8,5)	130,2	7,42 (2H ; d ; 8,6)
3'/5'	114,7	6,84 (2H ; d ; 2,1)	115,9	6,90 (2H ; d ; 8,6)
4'	157,8	/	158,8	/

Conclusion et perspectives

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans le cadre de ce travail il était question de faire une étude chimique de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait au méthanol des racines de *Scyphocephalum mannii*, une plante de la famille des Myristicaceae afin de contribuer à une meilleure connaissance chimio-taxonomique de cette plante. Au total neuf composés indexés RSM1 à RSM9 ont été isolés aux moyens des techniques chromatographiques usuelles.

A l'aide des méthodes physicochimiques et des techniques spectroscopiques, telles que la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) à une dimension (^1H , ^{13}C) et à deux dimensions (COSY, HSQC, HMBC et le NOESY), associés aux données de la littérature, les structures de trois de ces composés ont été élucidées et ils ont été identifiés à la 5,7,4'-trihydroxyflavone ou apigénine (RSM1); la 5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxyflavone ou le chrysoeriol (RSM3) et le dihydrokaempferol (RSM5). Ces composés sont connus pour leurs propriétés pharmacologiques.

Nous comptons dans la suite de nos travaux soumettre l'extrait, les fractions et les composés isolés pour l'évaluation de leurs potentielles activités, notamment les activités antiplasmodiale et antibactérienne, caractériser les autres composés et enfin poursuivre l'étude de la fraction à l'hexane et les sous fractions restantes.

CHAPITRE III: MATERIELS ET METHODES

III.1. MATERIEL VEGETAL ET APPAREILLAGE

III.1.1 Matériel Végétal

Les racines de *S. mannii* ont été récoltées en juin 2018 à Eséka, localité de la région du Centre au Cameroun. Des échantillons ont été déposés à l'Herbier National du Cameroun sous le numéro 2370/SRF.

III.1.2. Appareillage

Les différentes masses ont été obtenues par pesée à l'aide des balances électroniques, l'une de marque COBOS modèle D-600-SX de précision 1/10 pour les extraits bruts et les fractions, et l'autre de marque ACCULAB SARTORIUS GROUP ALC de précision 1/1000 pour les composés isolés. La partition liquide-liquide a été effectuée dans une ampoule à décanter de capacité 2L.

Les différentes chromatographies analytiques sur couche mince ont été faites sur des plaques préfabriquées de feuilles d'aluminium d'épaisseur de 0,20 mm recouvertes d'une fine couche de silice de type Merck. L'élution de ces plaques a été faite dans une cuve en verre à l'aide des différents solvants de polarité variable et la révélation à l'aide d'une lampe UV de type VL-6.LC de puissance 24 W et fournissant de la lumière aux longueurs d'onde 254 nm et 360 nm, afin d'observer si les taches sont fluorescentes ou pas. La révélation à l'œil nu s'est faite à l'aide de l'acide sulfurique dilué à 10% suivi du chauffage à l'étuve ou sur une plaque chauffante à 100°C.

La chromatographie sur colonne s'est faite dans une colonne d'environ 80 cm de hauteur et 6,5 cm de diamètre contenant comme phase stationnaire du gel de silice de type Merk de granulométries 35-70 μm .

Les spectres de RMN 1D et 2D ont été enregistrés à l'aide des spectromètres de marque BRUKER opérant à 600 MHz, 500 MHz et 400MHz pour le proton et 150, 125 et 100 MHz pour le carbone.

III.3. EXTRACTION, FRACTIONNEMENT, ISOLEMENT ET PURIFICATION DES COMPOSES

III.3.1. Extraction et fractionnement.

Les racines de *Scyphocephalum mannii* ont été découpées, séchées et broyées pour donner 1,9 Kg de poudre. Cette poudre a été extraite par macération au MeOH dans un récipient

de 20 L à température ambiante pendant 48h. Après filtration, la solution résultante a été concentrée sur un évaporateur rotatif de type HEIDOLPH VV2000 pour conduire à 125,3 g d'extrait brut de couleur marron. L'extrait brut a subi une partition liquide-liquide. En effet 120,9 g de cet extrait brut ont été dissout dans 250 mL du mélange MeOH/ H₂O (1 : 9) et extrait successivement à l'hexane et l'acétate d'éthyle ce qui nous a permis d'obtenir 25,4 g de la fraction à l'hexane et 47,6 g de la fraction à l'acétate d'éthyle.

III.3. 2. Isolement et purification des métabolites de la fraction à l'acétate d'éthyle des racines de *Scyphocephalum mannii*

47,6 g de la fraction à l'acétate d'éthyle ont été fixé sur 150 g de silice de type MERCK 60 de granulométrie variant de 0,040 à 0,063 mm de diamètre de porosité 230-400 MSH ASTM. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été soumise à des chromatographies répétées sous colonne ouverte de gel de silice, montée dans une colonne en verre fritté contenant préalablement une bouillie de silice faite à l'hexane. Les différentes éluions ont été réalisées dans les systèmes hexane/acétate d'éthyle, acétate d'éthyle/méthanol de polarité croissante ; à cet effet 163 flacons de 250 mL ont été recueillis et regroupés en 12 sous fractions sur la base de la CCM. Certaines fractions ont par la suite été séparées sur colonnes de gel de séphadex LH-20 éluées au MeOH ou au mélange DCM-MeOH (7/3). Certaines fractions laissées à température ambiante ont laissé apparaître des précipités qui ont été lavés, filtrés et séchés. L'ensemble de toutes ces opérations a permis d'obtenir 09 composés indexés RSM1 à RSM9 tel que le résume le tableau 12.

Tableau 12: Chromatogramme de la fraction à l'acétate d'éthyle issue de l'extrait au méthanol des racines de *Scyphocephalum mannii*.

Système d'élution	Fractions	Séries	Observations
Hexane pur	1-2	SF1	Pas de migration
Hexane/AcOEt 5%	3-13	SF2	Aspect huileux,

Hexane/ AcOEt 10%	14-27	SF3	Présence du composé RSM2 et de plusieurs autres taches
Hexane/ AcOEt 15%	28-38	SF4	Présence de plusieurs composés parmi lesquels RSM1 (précipité jaune foncé) et RSM3 cristaux blanc
Hex/ AcOEt 20 %	39-50	SF5	Trainées, Mélange de plusieurs composés
Hex/ AcOEt (20- 30%)	51-65	SF6	Plusieurs taches observées, isolement des composés RSM4 (Précipité blanc), RSM6 (précipités brun pale) et RSM7 (précipités brun pale clair)
Hex/ AcOEt 30 %	66-78	SF7	Mélange complexe
Hex/ AcOEt 40 %	79-85	SF8	Présence du composé RSM5 et bien d'autres
Hex/ AcOEt 45 %	86-90	SF9	Trainée, mélange complexe
Hex/ AcOEt 60 %	91-94	SF10	Présence de plusieurs composés, isolement du composé RSM8 (Précipité jaune)
AcOEt pur	95-110	SF11	Présence de plusieurs composés, isolement de RSM9 (précipité blanc)
AcOEt / MeOH 50%	111-163	SF12	Aspect physique marron et longue trainée,

III.3.3. Traitement des différentes sous fractions

- Traitement de la sous fraction SF3

La CCM de la sous fraction SF3 a montré plusieurs taches. À température ambiante, on a eu des cristaux blancs qui se sont formés dans le système Hex / AcOEt (10%). Le produit a été lavé à l'hexane et on a obtenu le composé **RSM2** de masse 11 mg.

- Traitement de la sous fraction SF4

La CCM de la sous fraction SF4 a montré plusieurs taches. À température ambiante, on a eu une poudre jaune foncé dans le système Hex/AcOEt (15%) dans les sous fractions (32-38) et des cristaux blancs dans les sous fractions (28-31). Ces produits ont été lavés à l'hexane et on a obtenu les composés **RSM1** (10 mg) et **RSM3** (12 mg) respectivement

- Traitement de la sous fraction SF6

La CCM de la sous fractions SF6 a montré plusieurs taches. À température ambiante on a eu plusieurs précipités blanc, brun pale et brun clair. Cette fraction a été dissoute, fixée sur la silice et a fait l'objet d'une autre chromatographie sur colonne de gel de silice éluée de 20 à 30 % avec le système Hex/AcOEt et quelques fractions ont été lavé sur le sephadex LH-20 éluée au DCM/méthanol (7 : 3). A l'issu de cette opération nous avons obtenu successivement **RSM4** sous forme de précipité blanc (4mg), **RSM6** sous forme de précipité brun pale (8mg) et **RSM7** sous forme de précipité brun clair (17mg).

- Traitement de la fraction SF8

CCM de la sous fraction SF8 a montré plusieurs taches. À température ambiante, on a eu une poudre jaune qui s'est formée dans le système Hex / AcOEt (40%). Le produit a été lavé à l'hexane et on a obtenu le composé **RSM5** de masse 35 mg.

- Traitement de la fraction SF10

La CCM de la sous fraction SF10 montre plusieurs taches. À température ambiante, on a eu une poudre jaune clair qui s'est formée dans le système Hex/AcOEt (60%), le produit a été lavé à l'acétate l'éthyle et on a obtenu le composé **RSM8** de masse 5 mg.

- Traitement de la fraction SF11

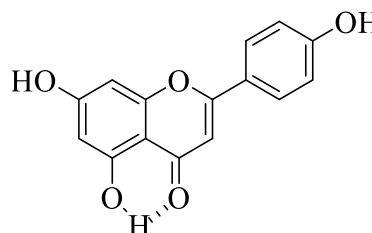
La CCM de la sous fraction SF9 montre plusieurs taches. À température ambiante, on a eu une poudre blanche qui s'est formé dans le système Hex/AcOEt (65%). Le produit a été lavé dans le mélange hexane/acétone et on a obtenu le composé **RSM9** de masse 6 mg.

III.4. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUE ET SPECTROSCOPIQUES DES COMPOSES ISOLES

III.4.1. Caractéristiques Physico-Chimique

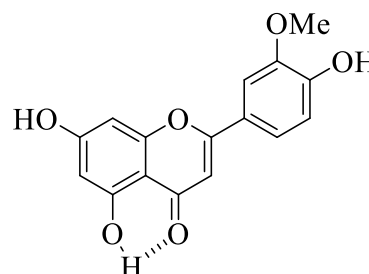
➤ RSM1

- Aspect physique : poudre jaunâtre
- Formule brute : $C_{15}H_{10}O_5$
- Solvant de solubilité : dimethylsulfoxyde
- Masse moléculaire : 272,2350 g/Mol
- Test de caractérisation : Shinoda, $FeCl_3$
- RMN 1H (600 MHz, $DMSO-d_6$)
- RMN ^{13}C (150 MHz, $DMSO-d_6$)



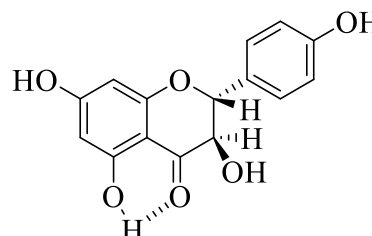
➤ RSM2

- Aspect physique : Poudre jaune amorphe
- Formule brute : $C_{16}H_{12}O_6$
- Solvant de solubilité : dimethylsulfoxyde
- Masse moléculaire : 300,2608 g/Mol
- Test de caractérisation : Shinoda, $FeCl_3$
- RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$)
- RMN ^{13}C (100 MHz, $DMSO-d_6$)



➤ RSM5

- Aspect physique : poudre jaune
- Formule brute : $C_{15}H_{12}O_6$
- Solvant de solubilité : Méthanol
- Masse moléculaire : 288,2502g/Mol
- Test de caractérisation : Shinoda, $FeCl_3$
- RMN 1H (500 MHz, CD_3OD)
- RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD)



III.4.2 Tests de caractérisation chimique

III.4.2.1 Test de SHINODA (caractéristiques des flavonoïdes)

Dans un tube à essai contenant 1ml d'éthanol, on dissout 1mg du produit pur, on ajoute 5 gouttes de HCl concentrée puis quelques copeaux de magnésium. La coloration rouge brique montre la présence des flavonoïdes.

III.4.2.2 Test au chlorure ferrique (caractéristiques des phénols)

A une solution méthanolique de produit, ajouter quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique, La présence des phénols se manifeste par un changement de coloration suite à la formation d'un ion complexe $[\text{Fe}(\text{ArO})_6]^{3-}$ de couleur violette ou bleue foncé.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES

- **Abondo A., Mbenkum F., Thomas D., (1991).** Ethnobotany and the medicinal plants of rainforest project Aera, Cameroon. *Traditional medicinal plants*, 391.
- **Bingtao L., Wilson T., (2008).** « Myristicaceae ». *Flora of China online.*, 7 <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:586537-1>[visite le 10 /10/2024 à 12h51]
- **Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ième} édition, Tec. et doc. *Lavoisier, Paris*, 189-609.
- **Bruneton J., (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^e Edition, Tech. et doc., Paris, 233-700.
- **Djeghim H., (2016).** Etude phytochimique d'une plante médicinale Algérienne du genre *Genysta* (Fabaceae). Mémoire de Master, Université des frères Mentouri, Constantine, Algérie ,110.
- **Doyle A., Steven R., Manchester., Sauquet H., (2008).** Seed Related to Myristicaceae in the Early Eocene of Southern England. *Systematic Botany* **33**, 637-639.
- **Feuya G., Souza A., Tchouankeu J., Yala J., Boukandou M., Foundikou H., Nguema G., Fekam F., Mabika R., Zeuko'o E., Tantoh D., Lebibi J., (2015).** Ethnopharmacological surveys and pharmacological studies of plants used in traditional medicine in the treatment of HIV/AIDS opportunistic diseases in Gabon. *Journal of Ethnopharmacology*, **162**, 306-316.
- **Feuya G., Foundikou H., Nkolo P., Moutsinga M., Edou M., Lebibi J., (2021).** A new chromane derivative from the stem bark of *Scyphocephalum ochocoa*. *Biochemical Systematics and Ecology* **97**, 2-3.
- **Fleurentin J., (2012).** L'ethnopharmacologie au service de la thérapeutique : sources et méthodes. *Hegel* **2**, 12-18.
- **Fouilloy R., (1965).** Myristicacées. Flore du Gabon, *Museum National d'Histoire Naturelle*, Paris, France. Volume **10**, 83-101.
- **Fouilloy R., (1974).** Myristicaceae. Flore du Cameroun, *Muséum National d'Histoire Naturelle*, Paris, France. Volume **18**, 89-105.

-
- **Foundikou H., Mbiancha M., Bankeu K., Tchouankeu, J., Shaheen F., Iqbal C., Lebibi J., Feuya T., (2018).** Two new alkylresorcinol derivatives from the leaves of *Scyphocephalum ochocoa*. *Zeitschrift für Naturforsch* **73**, 381-388.
 - **Ghorbani A., (2017).** Mechanisms of antidiabetic effects of the flavonoid rutin. *Biomedecine Pharmacotherapy* **96**, 305-312.
 - **Hu J., Garo E., Yoo H., Cremin P., Goering M., O'Neil M., Eldridge R., (2005).** Cyclolignans from *Scyphocephalum ochocoa* via high-throughput natural product chemistry methods. *phytochemistry* **66**, 1078.
 - **Jadhav R., Puchchakayala G., (2011).** Hypoglycemic and antidiabetic activity of flavonoids: boswellic acid, ellagic acid, quercetin, rutin on streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **4**, 251-256.
 - **Jurd L., (1962).** The Chemistry of flavonoids, *Ed. Geissam T. A., Pergamon Press*, London, 80-92.
 - **Kapche W. F. G. D., (2000).** Contribution à l'étude phytochimique de deux plantes médicinales du Cameroun : *Dorstenia poinsettifolia* et *Dorstenia psilurus* (Moraceae) et hémisphère de quelques Flavanones. Thèse de doctorat troisième cycle, Université de Yaoundé I, Cameroun, 6-32.
 - **Kimpouni V., Apini E., Motom M., (2013).** Analyse phytoécologique de la flore ligneuse de la haute sangha (République du Congo). *Adansonia* **3**, 107-134.
 - **Mabry T., Markham K., Thomas M., (1970).** The Systematic identification of Flavonoids. *Springer Verlag*, 77-121.
 - **Malesev D., Kuntic V., (2007).** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoid via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian Chemical Society* **72**, 921-939.
 - **Markham K., (1982).** Techniques of flavonoids identification, *Academic Press*, London-New York, 39-88.
 - **Markham K., Mabry, T., (1975).** The flavonoids. *Chapman et Hall*, 62-78.
 - **Meixian X., Hanwen S., Jinyue H., Yunjun Y., (2011).** Isolation, identification and determination of methyl caffeate, ethyl caffeate and other phenolic compounds from

Polygonum amplexicaule var. *sinense*. *Journal of Medicinal Plants Research* 5(9), 1685-1689.

- **Nascimento P., Nascimento T., Ramos N., Silva G., Galindo G., Falcão R., Moreira K., Porto A., Silva T., (2014).** Quantification, antioxidant and antimicrobial activity of phenolics isolated from different extracts of *Capsicum frutescens* (Pimenta Malagueta). *Molecules* **19**, 5434-5447.
- **Nganteng D., Melong R., Maffo T., Tchuenguem R., Crochet A., Dzoyem J., Wafo P., Bochet. C., Ngadjui T., (2022).** New antimicrobial cyclolignan and others constituents from the leaves of *Scyphocephalum mannii* (Benth. & Hook.f.) warb. *Natural Product Research* **36**, 5991-5998.
- **Nganteng D., (2023).** Etude chimique de deux plantes médicinales camerounaises : *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae) et *Scyphocephalum mannii* (Myristicaceae). Evaluation des activités biologiques de quelques composés isolés. Essai de mise au point de phytomédicaments de deuxième catégorie. Thèse de Doctorat/PhD en chimie organique, Université de Yaoundé I, Cameroun, 13-45.
- **Ngoua R., Ndong J., Sima-Obiang C., Ondo P., Ndong-Atome G., Ovono A., Obame-Engonga L., (2018).** Phytochemical studies, antiangiogenic, antiinflammatory and antioxidant activities of *Scyphocephalum ochocoa* Warb. (Myristicaceae), medicinal plant from Gabon. *Clinical Phytoscience* **4**, 1-13.
- **Normand D., Paquis J., (1976).** Manuel d'identification des bois commerciaux. Tome 2 Afrique guinéo-congolaise. *Centre Technique Forestier Tropical, Nogent-sur-Marne, France*, 335.
- **OMS., (2013).** Quelle est la contribution de la médecine traditionnelle et complémentaire à la médecine moderne et à la santé ?
- **OMS., (2013).** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023.
- **OMS., (2023).** Sommet mondial sur la médecine traditionnelle, thème : examen des bases de connaissances et les possibilités d'accélérer la santé pour tous.
- **Pambou T., Koudogbo B., Pouet Y., Casadevalle E., (1992).** Fatty-acid and triglyceride composition of seeds from 5 trees of Gabon forest. *Revue Française des Corps Gras* **39**, 147-151.

-
- **Panche A., Diwan A., Chandra S., (2016).** Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* **5**, 2-3.
 - **Privette L., Weier J., Nguyen H., Yu X., Petty E., (2008).** Absence or low function of CHFR gene in breast cells sets stage for anormal cell division and cancer. *Neoplasia* **10**, 643-652.
 - **Salem H., (2009).** Extraction, identification, caractérisation et activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique. Thèse préparée en vue d'obtenir le grade de Docteur en procédé biotechnologique et alimentaire à l'Institut National Polytechnique de Lorraine, France, 25.
 - **Sauquet H., Annick L., (2003).** Diversité et évolution du pollen chez les Myristicaceae (Magnoliales). *Revue Internationale des Sciences Végétales* **164**, 613-628.
 - **Sofa F., Megawahi., Akhmad D., (2016).** Apigenine, an anticancer isolated from *Macaranga gigantifolia* leaves. *The Journal of Tropical Life Science* **6**, 7-9.
 - **Saidu J., Hasnah M., Norazah B., (2017).** Bioassay-guided isolation of antioxidants and α -glucosidase inhibitors from the roots of *Cassia sieberiana* D.C. (Fabaceae). *Records of Natural Product* **11**,14-15.
 - **Tchouya G., Foundikou H., Nkolo P., Moutsinga M., Edou M., Lebibi J., (2021).** A new chromane derivative from the stem bark of *Scyphocephalum ochocoa*. *Biochemical Systematics and Ecology* **97**, 104-274. doi: 10.1016/j.bse.2021.104274.
 - **Tchouya G., Souza A., Tchouankeu J., Yala J., Boukandou M., (2015).** Ethnopharmacological surveys and pharmacological studies of plants used in traditional medicine in the treatment of HIV/AIDS opportunistic diseases in Gabon. *Journal of Ethnopharmacology* **162**, 306-316.
 - **Van C., Akino J., Thierry S., Bernard B., (2000).** Cytotoxic acylphenols from *Myristica maingayi*. *Tetrahedron* **56**, 1707-1713.
 - **Younghee P., Byoung-Ho M., Heejung Y., Youngshim L., Eungjung L., Yoongho L., (2007).** Complete assignments of NMR data of 13 hydroxymethoxyflavones. *Magnetic Resonance in Chemistry* **45**, 1072–1075.