HAL
open science

Étude chimique et valorisation pharmacologique d'espèces du genre Psiadia endémiques de La Réunion et de Madagascar

Lantomalala Elsa Razafindrabenja

To cite this version:

Lantomalala Elsa Razafindrabenja. Étude chimique et valorisation pharmacologique d'espèces du genre Psiadia endémiques de La Réunion et de Madagascar. Chimie analytique. Université de la Réunion, 2021. Français. NNT : 2021LARE0027 . tel-03656233

HAL Id: tel-03656233

https://theses.hal.science/tel-03656233v1

Submitted on 27 May 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LA RÉUNION

École Doctorale Sciences Technologies Santé

THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue publiquement le 03 Novembre 2021

Par

Lantomalala Elsa RAZAFINDRABENJA

Étude chimique et valorisation pharmacologique d'espèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion et de Madagascar

TOME I

Composition du jury

BIALECKI Anne, Professeur, Université de La Réunion	**Directrice de thèse**
GRONDIN Isabelle, MCF-HDR, Université de La Réunion	**Co-directrice de thèse**
FREDERICH Michel, Professeur, Université de Liège	**Encadrant**
HERBETTE Gaëtan, Ingénieur de Recherche, Aix-Marseille Université	**Examinateur**
EL KALAMOUNI Chaker, MCF-HDR, Université de La Réunion	**Examinateur**
MAMBU Lengo Angèle, Professeur, Université de Limoges	**Rapporteur**
VOUTQUENNE-NAZABADIOKO Laurence, Professeur, Université de Reims	**Rapporteur**

À ma mère

et en mémoire de mon père.

NOTES AUX LECTEURS

Ce mémoire est constitué de deux Tomes. Le Tome II complète le Tome I et comprend :

- la majorité des tableaux et des figures,
- l'ensemble des spectres (UV, IRTF, SM et RMN) des extraits bruts et des composés isolés.

Cette disposition présente l'avantage de pouvoir consulter en même temps le texte et la figure correspondante. À noter que les tableaux et les figures se trouvant respectivement dans les Tomes I et II ont été numérotés indépendamment. Dans le Tome I, les termes botaniques utlisés dans la description des espèces ont leur définition dans un lexique à la page 324.

Les travaux de recherche réalisés lors de cette thèse ont donné lieu à une publication [P] soumise et un poster [Po] et deux communications de vulgarisation scientifique [V] :

[Po1] Razafindrabenja L. E., Mahadeo K., Rasolondramanitra J., Grondin I., Gauvin-Bialecki A., A chemotaxonomic study of volatile compounds from 17 *Psiadia* species endemic to Reunion and Madagascar Islands. *3rd International Conference on Island Evolution*, Ecology and Conservation, Saint-Denis, Réunion, July 2019.

[P1] Razafindrabenja L. E., Herbette G., Di Giorgio C., Ollivier E., Rasolondramanitra J., Greff S., Mamede L., Clerc P., Frederich M., Grondin I., Gauvin-Bialecki A., Bioactive polyacetylenes and hydroxycinnamic acids from leaves of *Psiadia lucida* and analogue annotation by Molecular Networking. Soumise au *Journal of Natural Products*. 2021.

[V1] Participation au concours « Ma Thèse en 180 secondes » - 2ème prix du Jury https://www.youtube.com/watch?v=4tgIIdUaEtc. 2018

[V2] Présentation orale - 6ème édition internationale des Sciences de l'Ingénieur au féminin, Fianarantsoa, Madagascar - 2018

Les travaux de cette thèse ont également donné lieu à l'encadrement d'un stage ERASMUS (Master 2) :

Guillaume Smagghe (2018) M2 Sciences Pharmaceutiques, Université de Liège, Belgique.
Titre de mémoire : « Contribution to the phytochemical study of *Psiadia dentata* ».
Encadrants : I. GRONDIN et L. E. RAZAFINDRABENJA

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je rends grâce à l'Eternel Dieu pour Son Amour, Ses bienfaits et Sa protection durant mes études et lors de la réalisation de ce travail de thèse.

Cette thèse a été réalisée au sein du Laboratoire de Chimie et de Biotechnologie des Produits Naturels (ChemBioPro), de l'Université de La Réunion. Elle a été soutenue financièrement par :

- Le programme d'action européen FEDER (Fonds Européens de Développement Régional) et la Région Réunion soutenant le projet PHAR (Valorisation PHARmacologique de la biomasse terrestre et marine de la zone Sud-Ouest de l'Océan Indien par voies chimique et biotechnologique).
- La Région Réunion qui m'a accordé une allocation régionale de recherche.

Je tiens à adresser mes remerciements à la directrice du Laboratoire ChemBiopro, également ma directrice de thèse, le Professeur Anne Bialecki ; j'ai une pensée particulière pour le co-directeur de ce laboratoire, le Maître de Conférences-HDR Alain Shum-Chéong-Sing. Tous deux m'ont fait confiance en m'acceptant dans leur équipe depuis mon stage de Master 2. Ils m'ont également permis de réaliser, dans de bonnes conditions de travail, un projet qui me tenait à cœur : la valorisation des plantes médicinales. Bien que Monsieur Shum-Chéong-Sing nous ait quitté bien trop tôt, les savoirs qu'il a transmis ainsi que sa pensée scientifique humaniste m'accompagneront toujours. Je remercie également le Professeur Anne Bialecki pour son expertise et sa constante attention qui m'ont permis d'obtenir la meilleure aide possible pour la réalisation de ma thèse. Je la remercie pour sa gentillesse, sa grande rigueur, sa disponibilité et ses précieux conseils pour l'accomplissement de ces travaux.

Je tiens à exprimer particulièrement ma profonde gratitude et ma sincère reconnaissance à ma co-directrice de thèse, le Maître de Conférences-HDR Isabelle Grondin. Elle a été, durant ces années de thèse, d'un soutien exceptionnel. Je la remercie pour sa gentillesse et ses conseils constructifs qui ont grandement contribué à la richesse de cette thèse, sans oublier ses encouragements constants.

Mes remerciements s'adressent également à mon encadrante de thèse, le Professeur Jocelyne Rasolondramanitra, qui a tout mis en œuvre pour que mon séjour de recherche à Madagascar se déroule dans les meilleures conditions possibles. Depuis l'encadrement de mon mémoire d'Ingénieur en génie chimique, elle m'a permis de m'initier à la phytochimie. Son soutien, aussi bien d'un point de vue professionnel que personnel, ainsi que ses précieux conseils m'ont été des apports inestimables au fil de ces années et pour la réalisation de ces travaux.

Je remercie le Professeur Michel Frédérich, mon encadrant de thèse, pour son investissement durant cette thèse, notamment dans l'étude des propriétés antipaludiques de mes échantillons. Je le

remercie pour les échanges scientifiques très enrichissants que nous avons eus ensemble et les conseils judicieux qu'il m'a transmis.

Je souhaite remercier vivement les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail :

- Le Professeur Lengo Angèle Mambu, du Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles de l'Université de Limoges, qui a accepté d'en être le rapporteur.
- Le Professeur Laurence Voutquenne-Nazabadioko, de l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, qui a accepté d'en être le rapporteur.
- L'Ingénieur de Recherche Gaëtan Herbette, du Spectropole d'Aix-Marseille Université, qui a accepté d'en être l'examinateur.
- Le Maître de Conférences-HDR Chaker El Kalamouni, du Laboratoire PIMIT (Processus Infectieux en Milieu Insulaire Tropical), de l'Université de La Réunion, qui a accepté d'en être l'examinateur.

Ce travail aurait été incomplet sans la mise en place d'une collaboration essentielle et sans la contribution de diverses personnes, appartenant au laboratoire ChemBioPro ou externe, à qui je voudrais adresser également mes vifs remerciements et mes profondes gratitudes.

Je tiens à remercier chaleureusement l'Ingénieur de recherche Gaëtan Herbette, qui m'a accueillie avec enthousiasme au sein du service RMN du Spectropole d'Aix-Marseille Université. Je le remercie d'avoir partagé avec moi un peu de sa grande expertise en RMN, mais également pour les échanges et les discussions autour de centres d'intérêts communs plus éloignés de la chimie, mais tout aussi passionnants. Je le remercie également pour sa générosité, sa grande disponibilité, mais surtout pour son aide précieuse tout au long de mon séjour de recherche à Marseille puis à mon retour à La Réunion. Je témoigne également ma gratitude à l'Ingénieur de recherche Valérie Moinnier, du service de spectrométrie de masse au Spectropole d'Aix-Marseille Université pour la réalisation des spectres de masse de quelques composés isolés.

Je remercie le Professeur Evelyne Ollivier, Directrice du laboratoire de Pharmacognosie, de la Faculté de pharmacie de l'Université d'Aix-Marseille, pour m'avoir reçue au sein de son laboratoire et m'avoir permis de travailler dans les bonnes conditions. J'ai apprécié sa gentillesse, ses encouragements et ses précieux conseils à chaque étape de mes recherches. Je suis également reconnaissante envers tous les membres de l'équipe, le Maître de Conférences-HDR Béatrice Baghdikian pour sa gentillesse, pour l'attention particulière et l'intérêt qu'elle a porté à mon travail ainsi que pour son aide précieuse. Je remercie également le technicien du laboratoire, Fathi Mabrouki, pour toute son aide technique et le stagiaire Mathis Laurrier que j'ai côtoyé durant mes manipulations au laboratoire.

Je tiens à exprimer mes remerciements distingués au Maître de Conférences Carole di Giorgio, de la Faculté de Pharmacie de Marseille pour ses conseils et sa grande disponibilité lors de la réalisation des tests anti-inflammatoires et cytotoxiques de mes échantillons.

Ma reconnaissance va également à Stéphane Greff, Ingénieur d'études en techniques d'analyse chimique à l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie Marine et Continentale (IMBE), qui m'a aidée dans la réalisation des analyses CLUHP-SMHR de mes échantillons au sein du Service Commun d'Ecologie Chimique et Métabolomique (SCECM) de la station Marine d'Endoume et qui m'a également initiée aux réseaux moléculaires. Je suis reconnaissante pour sa grande disponibilité, son écoute et ses conseils.

Un grand merci à Kristelle Hugues (jeune docteur) et à Emilie Stierlin (post-doctorante) pour les moments spéciaux que nous avons eu le plaisir de partager ensemble durant ce séjour de recherche à Marseille. Merci aux autres membres de l'IMBE pour leur sympathie et les conversations enrichissantes qu'on a eues autour de la grande table, dans une ambiance conviviale pendant le repas du midi. J'ai également eu le plaisir de rencontrer le Professeur Phila Bianchini-Raharivelomanana, de l'Université de Polynésie française, que je tiens à remercier particulièrement. Ses discussions scientifiques enrichissantes et ses conseils judicieux m'ont beaucoup aidée, sans oublier sa gentillesse et sa générosité ainsi que les petites navettes de Marseille qu'elle emmène toujours lorsqu'elle passe au laboratoire.

Toute ma gratitude va à l'équipe du Missouri Botanical Garden (MBG) de Madagascar, et en particulier aux deux botanistes Richardson Razakamalala et Richard Randrianaivo, qui m'ont accompagnée pendant la campagne de collecte des plantes à Madagascar et pour l'identification botanique des échantillons de plantes. Je les remercie également pour les cours accélérés d'initiation à la botanique qu'ils ont dispensés sur terrain lors de la collecte.

J'aimerais vivement remercier Messieurs André Razafimandefitra, enseignant-chercheur, et José Rakotoandrianomanana, technicien du laboratoire, du Département Génie Chimique de l'Ecole Supérieure Polytechnique, de l'Université de Madagascar, qui m'ont apporté leur aide précieuse dans la collecte des plantes à Madagascar et qui m'ont aidée lors de l'hydrodistillation des huiles essentielles. Je les remercie également pour ces belles sorties sur terrain et pour les échanges enrichissants que nous avons eus lors de mon séjour à Madagascar. Je remercie également le Maître de Conférences Henri Rasolondramanitra, pour avoir facilité la réalisation des hydrodistillations en m'accueillant dans le laboratoire de physique de l'Ecole Normale Supérieure de Madagascar, et ce afin d'éviter les allers-retours Antananarivo-Vontovorona.

Je n'oublie pas de remercier les différentes personnes que j'ai rencontrées durant la campagne de collecte, notamment les gens du village à proximité des sites de collectes, les guides et les responsables des sites, qui ont partagé leurs connaissances et leurs utilisations traditionnelles des plantes étudiées au cours de cette thèse.

J‘adresse aussi un très grand Merci à l’équipe du laboratoire de Pharmacognosie de l’Université de Liège, en particulier à la doctorante Lucia Mamède qui a réalisé les tests antipaludiques des extraits bruts et des composés que j’ai isolés. Je la remercie pour sa grande disponibilité et sa précieuse contribution à la réalisation de ces travaux de thèse.

Je remercie également Messieurs Hermann Thomas et Gabriel Deguigne ainsi que le Docteur Keshika Mahadeo pour la collecte de l’espèce *Psiadia dentata* à La Réunion en 2015 dans le cadre de la thèse de Keshika et Monsieur Jacques Fournel pour l'identification botanique de cette espèce.

Plus particulièrement, je témoigne ma profonde reconnaissance à Patricia Clerc, Ingénieure d’études au laboratoire ChemBioPro, pour m’avoir formée aux différents appareils et logiciels utilisés au laboratoire. Elle a été toujours présente et a toujours montré sa volonté d’apporter son aide pour résoudre les problèmes techniques au laboratoire. Je la remercie également pour ces précieux conseils, tant scientifique que pratique.

Mes remerciements s'adressent également au Professeur Emérite Jacqueline Smadja pour la relecture attentive de mon manuscrit et pour tous les conseils avisés qu'elle m'a donnés.

Je remercie mon stagiaire M2 en Sciences Pharmaceutiques, Guillaume Smagghe, qui a contribué à l’avancement de la thèse par la réalisation des travaux de fractionnement et d’isolement des molécules bioactives dans l’espèce *Psiadia dentata*, dans le cadre d’un stage ERASMUS au laboratoire ChemBioPro.

Cette thèse a été pour moi une expérience riche aussi bien scientifiquement qu’humainement.

Aussi, j'adresse ma vive reconnaissance à toute l’équipe du laboratoire ChemBioPro : les enseignants, les personnels, les doctorants et anciens doctorants et les stagiaires que j’ai côtoyés tout au long de ces années de recherches et qui ont contribué à la bonne ambiance du labo. Un grand merci à Pierre-Eric, Keshika, Charifat, Alexandre Cys et Alexandre L.L., Elise, Gary, Yannis, Jean Bernard, Emmanuelle, Arnaud, Xavier, Melissa et Mahery pour les partages d’expériences, les entraides et les nombreux conseils avisés, sans oublier les moments agréables passés ensemble.

Je remercie mes amis compatriotes de Madagascar que j’ai connus à travers l’Association des Étudiants Malgaches de La Réunion et qui ont partagé des bons moments et des joies de vivre.

J’adresse mes plus grands remerciements à mes meilleurs amis Ny Rina, Hery, Iharivola, Arnaud, Anja et Njaka. Jamais je ne pourrais exprimer tout ce qu’ils m’ont apporté et leurs soutiens permanents. Je les remercie très chaleureusement d’avoir toujours été là dans les bons moments comme les mauvais. Je les remercie également pour les innombrables moments joyeux que nous avons passés ensemble : les repas traditionnels du vendredi soir, les randonnées, les petites fêtes, les petites vacances et les innombrables sorties... qui m’ont permis de m’évader et de penser à autre chose que la thèse. Un grand merci également pour leurs conseils et bien sûr leur bonne humeur.

Enfin et pas la moindre, ma plus grande gratitude est adressée à ma famille, à Madagascar (Anjanahary, Ivory, Alasora) et à Québec (Laval), pour leur soutien inconditionnel et leur prière constante. Leurs encouragements chaleureux m'ont aussi été très précieux. Ma grande reconnaissance s'adresse, en particulier, à Mino qui a été toujours présent et qui a su trouver les mots pour m'encourager et me motiver dans les moments les plus difficiles. Je le remercie pour tout ce qu'il a fait pour moi. Il a su m'écouter, me soutenir et m'a grandement aidée afin de réussir et donner le meilleur de moi-même. Je voudrais également remercier infiniment mes parents, à qui je dédie ce travail et sans qui je ne serais pas là où j'en suis aujourd'hui. Je leur suis très reconnaissante, pour l'affection sans faille qu'ils m'ont toujours apportée, la confiance qu'ils m'ont prodiguée afin de me donner le courage de toujours continuer. Je les remercie pour les sacrifices et la patience qu'ils ont consentis pour moi et dont je leur serai à jamais redevable. J'ai une pensée particulière pour mon papa, qui nous a quitté récemment. Bien que la douleur reste profonde, les solides valeurs et la persévérance qu'il m'a apprises resteront pour moi un héritage précieux.

Que toutes les personnes, de près ou de loin, qui ont contribué, d'une façon ou d'une autre, à l'aboutissement de ce travail trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

SOMMAIRE

NOTES AUX LECTEURS **1**

REMERCIEMENTS **2**

SOMMAIRE **7**

LISTE DES ABREVIATIONS **12**

INTRODUCTION GÉNÉRALE **15**

PARTIE I : Éléments bibliographiques **23**

Chapitre 1. Le genre *Psiadia* **25**

I. 1. 1. Position systématique du genre *Psiadia* 25

I. 1. 2. Distribution du genre *Psiadia* 25

I. 1. 3. Caractéristiques botaniques du genre *Psiadia* 26

I. 1. 4. Utilisations traditionnelles du genre *Psiadia* 26

Chapitre 2. Les espèces du genre *Psiadia* étudiées **28**

I. 2. 1. Sélection des espèces étudiées 28

I. 2. 2. *Psiadia altissima* 31

I. 2. 2. 1. *Psiadia altissima* var. *altissima* 31

I. 2. 2. 2. *Psiadia altissima* var. *stenophylla* 37

I. 2. 3. *Psiadia dentata* 39

I. 2. 4. *Psiadia hispida* 45

I. 2. 5. *Psiadia leucophylla* 47

I. 2. 6. *Psiadia lucida* 49

I. 2. 7. *Psiadia salviifolia* 53

PARTIE II : Étude comparative des composés volatils des espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar **59**

II. 1. Collecte et identification 61

II. 2. Obtention des huiles essentielles 62

II. 3. Analyse chimique des huiles essentielles 64

II. 3. 1. Méthodes d'analyses des huiles essentielles 65

II. 3. 2. Résultats des analyses chimiques 67

II. 3. 3. Discussion 79

II. 4. Conclusion 83

PARTIE III : Étude des composés non volatils des espèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion et de Madagascar 85

Chapitre 1. Criblages chimique et biologique des extraits bruts du genre *Psiadia* de Madagascar 87

III. 1. 1. Collecte et identification 88

III. 1. 2. Obtention des extraits bruts 88

III. 1. 3. Criblage chimique des extraits bruts 89

III. 1. 3. 1. Principe 89

III. 1. 3. 2. Résultats 89

III. 1. 3. 3. Discussion 89

III. 1. 4. Criblage biologique des extraits bruts 91

III. 1. 4. 1. Recherche d'activité antipaludique 91

III. 1. 4. 2. Recherche d'activité anti-inflammatoire 94

III. 1. 4. 3. Recherche d'activité cytotoxique 97

III. 1. 5. Conclusion 100

Chapitre 2. Étude phytochimique de *Psiadia lucida* 105

III. 2. 1. Fractionnement et isolement des métabolites spécialisés 105

III. 2. 1. 1. Fractionnement de l'extrait brut par extraction liquide-liquide 105

III. 2. 1. 2. Purification de la fraction méthanolique 109

III. 2. 1. 3. Purification de la fraction F1 110

III. 2. 1. 4. Synthèse du fractionnement de *P. lucida* 110

III. 2. 2. Élucidation structurale des métabolites spécialisés isolés 111

III. 2. 2. 1. Métabolites spécialisés connus 112

III. 2. 2. 2. Métabolites spécialisés nouveaux 116

III. 2. 3. Stratégie d'application du réseau moléculaire 125

III. 2. 3. 1. Généralités 125

III. 2. 3. 2. Déréplication des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. lucida* 128

III. 2. 3. 3. Discussion 137

III. 2. 4. Évaluation des activités biologiques des métabolites isolés 139

III. 2. 4. 1. Activité antipaludique 139
III. 2. 4. 2. Activité anti-inflammatoire 140
III. 2. 4. 3. Activité cytotoxique 141
III. 2. 4. 4. Discussion 142
III. 2. 5. Conclusion 145
Chapitre 3. Étude phytochimique de *Psiadia dentata* 149
III. 3. 1. Collecte et identification 149
III. 3. 2. Extraction 150
III. 3. 3. Criblage biologique et choix de l'extrait brut pour le fractionnement 150
III. 3. 4. Fractionnement et isolement des métabolites spécialisés 152
III. 3. 4. 1. Fractionnement de l'extrait brut par extraction liquide-liquide 153
III. 3. 4. 2. Purification de la fraction iso-hexanique 157
III. 3. 4. 3. Purification de la fraction méthanolique 158
III. 3. 4. 4. Synthèse du fractionnement opéré sur l'extrait brut de *P. dentata* collectée en été à Montauban (La Réunion) 158
III. 3. 5. Élucidation structurale des métabolites spécialisés isolés 159
III. 3. 5. 1. Métabolites spécialisés connus 160
III. 3. 5. 2. Métabolites spécialisés nouveaux 175
III. 3. 6. Stéréochimie des nouveaux diterpènes isolés 192
III. 3. 7. Stratégie d'application du réseau moléculaire 196
III. 3. 7. 1. Déréplication des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. dentata* 196
III. 3. 7. 2. Discussion 208
III. 3. 8. Évaluation des activités biologiques des métabolites isolés 210
III. 3. 8. 1. Activité antipaludique 210
III. 3. 8. 2. Activité anti-inflammatoire 211
III. 3. 8. 3. Activité cytotoxique 213
III. 3. 8. 4. Discussion 214
III. 3. 9. Conclusion 216
CONCLUSION GÉNÉRALE 219
PARTIE EXPÉRIMENTALE 227
I. Procédures générales 229

I. 1. Le matériel végétal 229
I. 2. Les solvants 229
I. 3. Les réactifs 229
I. 4. Les techniques chromatographiques 229
I. 4. 1. La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) 229
I. 4. 2. La Chromatographie Liquide à Moyenne Pression (CLMP) 230
I. 4. 3. La chromatographie sur colonne ouverte 230
I. 4. 4. La Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP) 230
I. 4. 5. La Chromatographie Gazeuse (CG) 232
I. 5. Les analyses physiques et spectrales 232
I. 5. 1. Le pouvoir rotatoire 232
I. 5. 2. La spectroscopie Infra-Rouge 233
I. 5. 3. La Spectrométrie de Masse Haute Résolution (SMHR) 233
I. 5. 4. La spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) 234

II. Étude comparative des composés volatils des espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar 235

II. 1. Extraction 235
II. 2. Analyse qualitative par CG-SM des HE 236
II. 3. Analyse quantitative par CG-DIF des HE 236
II. 4. Fractionnement de l'HE de *P. lucida* collectée à Angavokely 237
II. 5. Caractérisation des deux composés isolés de l'HE 238

III. Criblages chimique et biologique des extraits bruts de *Psiadia* de Madagascar ... 238

III. 1. Obtention des extraits bruts 238
III. 2. Criblage chimique 239
III. 3. Criblage biologique 240
III. 3. 1. Tests antiplasmodiaux *in vitro* 240
III. 3. 2. Tests anti-inflammatoire *in vitro* 243
III. 3. 3. Tests de cytotoxicité *in vitro* 244
III. 3. 4. Interprétation des résultats 245

IV. Étude phytochimique de *Psiadia lucida* 246

IV. 1. Fractionnement et isolement des métabolites spécialisés de *P. lucida* 246

IV. 2. Caractérisation des métabolites spécialisés isolés de *P. lucida* 248

IV. 3. Déréplication des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida* 252

V. Étude phytochimique de *Psiadia dentata* 254

V. 1. Fractionnement et isolement des métabolites spécialisés de *P. dentata* 254

V. 2. Caractérisation des métabolites spécialisés isolés de *P. dentata* 258

V. 3. Déréplication des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. dentata* 269

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 271

LISTE DES TABLEAUX 319

LISTE DES FIGURES 320

LEXIQUE 324

LISTE DES ABREVIATIONS

❑ Abréviations spécifiques aux activités biologiques

APAD : 3-Acétyl Pyridine Adénine Dinucléotide

CE_{50} : Concentration Efficace à 50 %

CI_{50} : Concentration Inhibitrice à 50 %

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DE_{50} : Dose Efficace à 50 %

HRP : Peroxydase de raifort (HorseRadish Peroxydase)

LDH : Lactate DésHydrogénase

LPS : Lipopolysaccharide

NAD+ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide

NBT : chlorure de bleu de nitrotétrazolium

OH^{-} : radical hydroxyle

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

NO : Oxyde Nitrique

PES : éthosulfate de phénazine

SIDA : Syndrome d'ImmunoDéficience Acquise

TPA : acétate de 12-*O*-tétradécanoylphorbol

TSP : acide triméthylsilylpropanoïque

Lignées cellulaires

A-549 : lignée cellulaire cancéreuse humaine (cancer du poumon)

COLO320DM : lignée cellulaire cancéreuse humaine (cancer du côlon)

DLD-1 : lignée cellulaire cancéreuse humaine (cancer du côlon)

HeLa : lignée cellulaire cancéreuse humaine (cancer du col de l'utérus)

HEpG2 : lignée cellulaire cancéreuse humaine (cancer du foie)

HT 29 : lignée cellulaire cancéreuse humaine (cancer du côlon)

LS174T : lignée cellulaire cancéreuse humaine (cancer du côlon)

MCF7 : lignée cellulaire cancéreuse humaine (cancer du sein)

MDA231 : lignée cellulaire cancéreuse humaine (cancer du sein)

SKCO1 : lignée cellulaire cancéreuse humaine (cancer du côlon)

WIDR : lignée cellulaire cancéreuse humaine (cancer du côlon)

WS-1 : fibroblastes de peau humaine

❑ Abréviations spécifiques à la chimie

Solvants et réactifs

ACN : acétonitrile

AcOEt : acétate d'éthyle

AF : acide formique

CD_3OD : méthanol deutéré

$CDCl_3$: chloroforme deutéré

DCM : dichlorométhane

DMSO : diméthylsulfoxyde

DMSO-*d6* : diméthylsulfoxyde deutéré

MeOH : méthanol

MTPA : acide α-méthoxy-α-trifluorométhylphénylacétique

Abréviations spécifiques aux méthodes analytiques

$[\alpha]^t_D$: pouvoir rotatoire spécifique

ASE : extraction accélérée par solvant

c : concentration

C-18 : silice greffée par des groupements octadécyles

CAD : détecteur d'aérosol chargé

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CG-DIF : Chromatographie Gazeuse couplée à un Détecteur à Ionisation de Flamme

CG-SM : Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

CLMP : Chromatographie Liquide Moyenne Pression

CLUHP : Chromatographie Liquide Ultra Haute Performance

$CL\text{-}SM^2$: Chromatographie en phase Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse tandem

COSY : COrrelation SpectroscopY

CPP : copalyl diphosphate

DAD : détecteur à barrettes de diodes

ECD : dichroïsme circulaire électronique

ELSD : détecteur évaporatif à diffusion de lumière

ESI^- : Ionisation ElectroSpray mode négatif

ESI^+ : Ionisation ElectroSpray mode positif

GGPP : géranylgéranylpyrophosphate

HMBC : Heteronuclear Multiple Bond Connectivity

HSQC : Heteronuclear Single Quantum Coherence

IRR : Indices de Rétention Relatifs

IRTF : InfraRouge à Transformée de Fourier

J : constante de couplage en Hz

m/z : masse/charge

NOESY : Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY

ppm : partie par million

RMN (1D, 2D) : Résonance Magnétique Nucléaire (une dimension, deux dimensions)

SM : Spectrométrie de Masse

SMHR : Spectrométrie de Masse Haute Résolution

SM^2 : Spectrométrie de Masse tandem

UV : UltraViolet

v/v : volume/volume

VCD : dichroïsme circulaire vibrationnel

δ_{13C} : déplacement chimique du carbone

δ_{1H} : déplacement chimique du proton

λ : longueur d'onde

❑ Abréviations spécifiques aux réseaux moléculaires

CFM-ID : Competitive Fragmentation Modeling-ID

CFM-ID : Competitive Fragmentation Modeling for Metabolite Identification

CS : Cosine Score

DNP : Dictionary of Natural Products

GNPS : Global Natural Products Social Molecular Networking

HMDB : Human Metabolome Database

ISDB : *In Silico* DataBase

MassIVE : Mass spectrometry Interactive Virtual Environment

MONA : Massbank of North America

ReSpect : RIKEN tandem mass spectral database

Introduction générale

Le désir de bien-être et de santé est une quête aussi vieille que l'humanité. Depuis toujours, l'Homme a puisé dans les plantes les remèdes nécessaires pour prévenir, soigner et alléger ses souffrances. Cette médecine par les plantes, communément appelée « phytothérapie », semblait déjà exister il y a environ 60 000 ans. En effet, lors de fouilles dans un lieu de sépulture en Irak, des pollens de huit plantes médicinales, telles que l'éphédra (*Ephedra sinica*), ont été retrouvés (Solecki, 1975). Par ailleurs, les documents les plus anciens sur la phytothérapie ont été reportés il y a 2 600 années avant notre ère indiquant l'utilisation en Mésopotamie de 1 000 préparations médicales à base de plantes (Atanasov *et al.*, 2015). Il s'agit notamment des huiles des espèces *Cedrus* (cèdre) et *Cupressus sempevirens* (cyprès), *Glycyrrhiza glabra* (réglisse), *Commiphora* sp. (myrrhe) et *Papaver somniferum* (jus de pavot), qui sont encore tous utilisés aujourd'hui pour le traitement d'affections allant de la toux et du rhume aux infections parasitaires et à l'inflammation (Cragg & Newman, 2013). La médecine égyptienne débute d'environ 2 900 avant notre ère ; cependant, ce n'est qu'en 1862 que le papyrus d'Ebers à Louxor (Egypte), datant de 1 500 ans avant notre ère, a été découvert. Ce papyrus contient plus de 700 formules et remèdes à base de plantes, montrant l'importance de la médecine traditionnelle en Egypte antique (Borchardt, 2002).

Et aujourd'hui encore, malgré le progrès de la chimie de synthèse, les plantes constituent encore un apport précieux pour la recherche pharmacologique. En effet, partout à travers le monde : chez les Grecs, les Romains (Kapoor, 2018) et les Indiens d'Amérique Centrale et du Sud (Alonso-Castro *et al.*, 2016; VanPool, 2019), en Afrique (Fajinmi *et al.*, 2017), en Asie (Astutik *et al.*, 2019) …, les plantes restent une source essentielle de molécules aux propriétés intéressantes. Près de la moitié des médicaments que nous utilisons actuellement ont une composition d'origine végétale et le quart renferme des extraits de plantes ou des molécules actives provenant directement des plantes (Newman & Cragg, 2020).

À noter que sur les centaines de milliers d'espèces végétales que compte la flore mondiale, environ 400 000 seulement ont été répertoriées (Antonelli *et al.*, 2020) et en moyenne, environ 2 000 nouvelles espèces végétales sont identifiées chaque année (Cheek *et al.*, 2020). La plus grande diversité floristique se concentre dans les régions tropicales et équatoriales (Gentry, 1993). En raison de cette richesse naturelle, la zone Ouest de l'Océan Indien (Madagascar, Les Comores, Maurice, Rodrigues, Les Seychelles, La Réunion et Mayotte), a été classée parmi les trente-cinq points chauds de la biodiversité mondiale. Les disparités géologiques et climatiques confèrent à cette zone une richesse de flore exceptionnelle avec un très fort taux d'endémisme. Pour Madagascar, on y dénombre 11 399 espèces dont 9 329 (82 %) sont endémiques (Clubbe *et al.*, 2020 ; Tropicos, 2021). La Réunion, quant à elle, abrite 898 espèces dont 250 endémiques (27,8 %) (CBNM, 2021).

Soigner par les plantes, à Madagascar, est une habitude et la médecine traditionnelle est encore très présente aussi bien en milieu urbain qu'en milieu rural. Selon l'OMS, environ 70 % de la population ont recours à la phytothérapie. Les plantes utilisées en médecine traditionnelle et

actuellement recensées comptent 3 245 espèces. Parmi celles-ci, *Psiadia altissima* et *Cinnamosma macrocarpa,* endémiques de la grande île, sont les plus citées dans la littérature, suivies de *Harungana madagascariensis*, *Trema orientalis* et *Lygodium lanceolatum* (Rafidison *et al.*, 2019). À La Réunion, malgré les progrès de la médecine, une majorité de la population se soigne encore par des remèdes traditionnels à base de plante. On estime environ 650 plantes médicinales dont 27 sont déjà inscrites à la Pharmacopée française telles que l'ambaville (*Hubertia ambavilla* var. *ambavilla*), l'ayapana (*Ayapana triplinervis*) et la fleur jaune (*Hypericum lanceolatum* Lam. subps. *lanceolatum*) (Giraud-Techer *et al.*, 2016 ; Smadja & Marodon, 2016). Résultat du travail mené par le laboratoire universitaire ChemBioPro et l'Association des Plantes Aromatiques et Médicinales de La Réunion (APLAMEDOM), cette reconnaissance permet d'ouvrir de nouveaux horizons de valorisation économique de la biodiversité réunionnaise, notamment dans le domaine de la santé.

Toutefois, cette biodiversité végétale s'épuise à un rythme accéléré suite à la conjugaison des facteurs naturels et des activités humaines diverses alors qu'elle est largement inexplorée pour ses potentialités en matière de nouvelles molécules biologiquement actives. Selon le critère de l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature), sans compter les espèces végétales disparues, 1 676 espèces malgaches (Royal Botanic Gardens, 2017) et 275 espèces réunionnaises (Galindo, 2010) sont menacées par une forte anthropisation et/ou une utilisation abusive par la pharmacopée locale.

Par ailleurs, dans ces deux îles et dans d'autres pays du monde, le contexte sanitaire nécessite impérieusement la recherche de nouveaux candidats médicaments qui peuvent apporter des réponses aux problèmes de santé publique tels que les maladies cardiovasculaires, le paludisme, le diabète et le cancer.

Ainsi, outre les actions de conservation et de gestion des milieux naturels déjà mises en place, le laboratoire ChemBioPro a développé depuis de nombreuses années, des travaux de recherche en matière d'étude phytochimique en vue de valoriser la flore de la zone Sud-Ouest de l'Océan Indien. Plusieurs programmes de recherche internationaux tels que Phytochik (Biodiversité et virus émergents dans l'Océan Indien : sélection de médicaments ciblant le virus du Chikungunya) et BioMol TCN (Activités Thérapeutiques, Cosmétologiques et Nutracétiques de MOLécules issues de la BIOdiversité terrestre, marine et microbienne de la zone Sud-Ouest de l'Océan Indien) ont été développés sur cette thématique au sein du laboratoire. De même, le projet PHAR (Valorisation PHARmacologique de la biomasse terrestre et marine de la zone Sud-Ouest de l'Océan Indien par voies chimique et biotechnologique - 2020-2023) est actuellement porté par le laboratoire ChemBioPro. Ce projet, soutenu par l'Europe et La Région Réunion (FEDER : Fonds Européens de DEveloppement Régional), a pour objectif de valoriser les molécules bioactives issues de plantes, d'invertébrés marins et de micro-organismes de la zone Sud Ouest de l'Océan Indien et de développer des filières biotechnologiques et

agricoles pour la production durable d'extraits et de molécules bioactives. Les cibles choisies sont les activités antidiabétique (anti-inflammatoire et antioxydante), antipaludique et anticancéreuse.

Ce projet de thèse intitulé « Étude chimique et valorisation pharmacologique d'espèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion et de Madagascar » s'inscrit pleinement dans ce programme de recherche. En effet, depuis l'année 2000, le laboratoire ChemBioPro et ses partenaires ont développé des travaux de recherche sur quelques espèces de *Psiadia* endémiques de La Réunion et de Maurice. Ces travaux ont été consacrés à la préservation de la biodiversité, la dynamique des populations, la recherche de biomarqueurs et de molécules bioactives.

Dans la continuité de ces travaux et en particulier de ceux réalisés par K. Mahadeo (2018) et afin d'avoir d'une vue globale sur les espèces du genre *Psiadia* de la zone Océan Indien, l'objectif de cette thèse est de valoriser les espèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion et de Madagascar selon :

- une **approche écologique** par la recherche de biomarqueurs, en étudiant leur composition en métabolites spécialisés volatils et non volatils,
- une **approche pharmacologique** par la mise en évidence des propriétés biologiques (antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique) de 5 espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar, ainsi que par l'isolement des molécules bioactives issues de deux espèces sélectionnées : *P. dentata*, endémique de La Réunion et *P. lucida*, endémique de Madagascar.

Les travaux menés dans le cadre de cette thèse, synthétisés dans l'**organigramme 1**, ont été réalisés dans 5 laboratoires de recherche :

- le Laboratoire ChembioPro, de l'Université de La Réunion,
- le Laboratoire de chimie organique, de l'École Supérieure Polytechnique, Université d'Antananarivo, Madagascar,
- le Laboratoire de Pharmacognosie, de l'Université de Liège, Belgique,
- le Spectropole d'Aix-Marseille Université
- l'Institut Méditerranéen de la Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE), de l'Université d'Aix-Marseille.

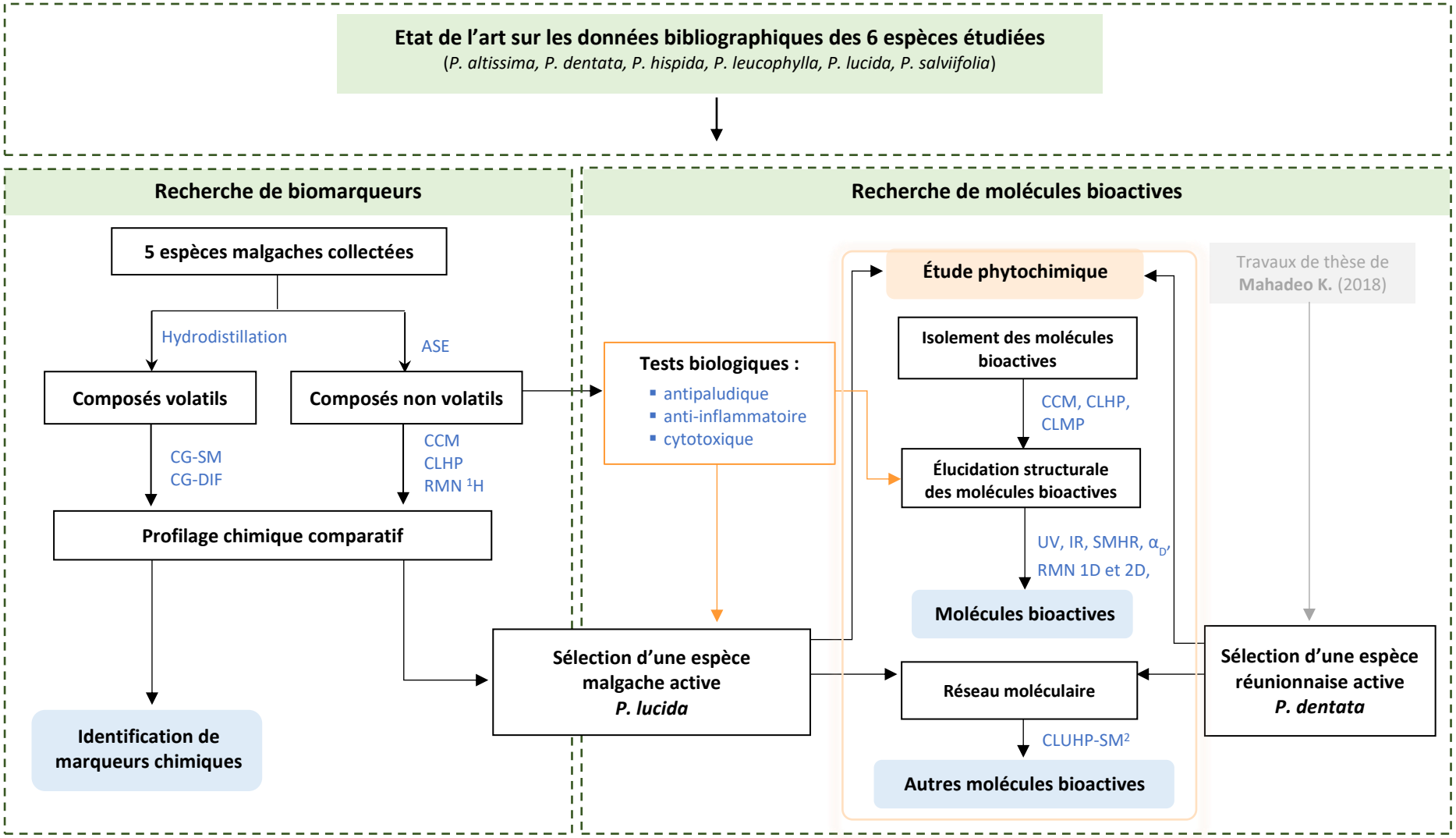
Ce mémoire est constitué de trois grandes parties :

La **première partie** présente les éléments bibliographiques relatifs au genre *Psiadia* et aux 6 espèces réunionnaises et malgaches étudiées.

La **seconde partie** décrit l'étude chimique des composés volatils des 5 espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar.

La **troisième partie** est consacrée aux travaux menés sur les composés non volatils des 6 espèces étudiées. Cette partie est constituée de trois chapitres essentiels. Sont développés dans chacun de ces chapitres :

- les criblages chimique et biologique de 5 espèces endémiques de Madagascar,
- l'étude phytochimique de l'espèce *P. lucida,* endémique de Madagascar sélectionnée à l'issue des criblages chimique et biologique réalisés,
- l'étude phytochimique de *P. dentata*, espèce endémique de La Réunion ayant démontré lors des travaux antérieurs (Mahadeo, 2018) des activités biologiques remarquables.



Organigramme 1 : Présentation des différentes étapes réalisées dans la thèse.

Partie I

Éléments bibliographiques

Chapitre 1. Le genre *Psiadia*

I. 1. 1. Position systématique du genre *Psiadia*

Le genre *Psiadia,* appartenant à la famille des *Asteraceae*, a été défini par Von Jacquin N. J. en 1797 et par Scott A.J. en 1901. Le mot *Psiadia* vient du grec *psias* signifiant goutte, goutte de rosée, en référence à l'espèce *Psiadia glutinosa*, au feuillage particulièrement glutineux, couvert d'une gomme ayant l'aspect de gouttelettes de rosée. Ce genre est aussi nommé par Cassini H., en 1819, comme le genre *Elphegea*, puis par Cordemoy E.J., en 1872, comme le genre *Frappiera.* Sa classification est présentée dans le **tableau I**.

Tableau I : Classification du genre *Psiadia*.
(https://www.gbif.org/fr/species/157046990)

Règne	*Plantae*
Sous-règnes	*Tracheobionta*
Division	*Magnoliophyta*
Classe	*Magnoliopsida*
Sous-classe	*Asterideae*
Ordre	*Asterales*
Famille	*Asteraceae*
Genre	*Psiadia*

I. 1. 2. Distribution du genre *Psiadia*

Le genre *Psiadia* contient plus de 60 espèces : une espèce en Indonésie et au Sri Lanka, *Psiadia ceylanica* (Arn.) Grierson, plusieurs espèces en Arabie et en Afrique (Afrique tropicale et Afrique du Sud) (Bosser *et al.*, 1993). Humbert H., en 1960, dénombre par ailleurs 28 espèces endémiques de Madagascar et les travaux de Cordemoy E.J. ont rendu compte de 26 espèces endémiques des îles des Mascareignes (Maurice, Rodrigues et La Réunion) (Cordemoy, 1895 ; Humbert, 1960). Enfin, une espèce, auparavant implantée sur l'île de Sainte Hélène, a aujourd'hui disparu (Bosser *et al.*, 1993). La distribution du genre *Psiadia* est présentée dans la **figure 1**.

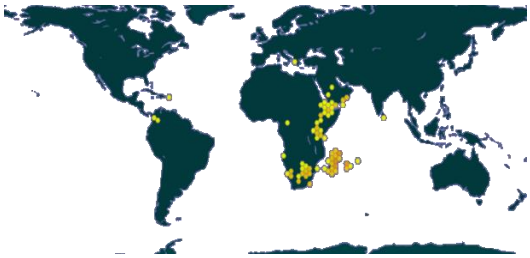


Figure 1 : Distribution du genre *Psiadia* (1835-2021).
(https://www.gbif.org/species/7970768)

I. 1. 3. Caractéristiques botaniques du genre *Psiadia*

Le genre *Psiadia* présente un large panel de caractéristiques morphologiques. En effet, la plupart des espèces de ce genre sont des arbustes et des arbrisseaux mais d'autres sont des lianes ou des sous-arbrisseaux poilus, non visqueux. Les feuilles sont alternes, sessiles ou pétiolées, parfois hétéromorphes, entières ou serretées, glabres et glutineuses à densément pubescentes, penninervées ou trinervées. Les fleurs sont peu nombreuses à nombreuses, de couleurs blanche à jaune. Les fruits sont des akènes parfois légèrement comprimés ou très comprimés et à deux côtes sur les marges. Dans la **figure 2** sont présentées quelques feuilles des espèces du genre *Psiadia* des Mascareignes (Bosser *et al.*, 1993).

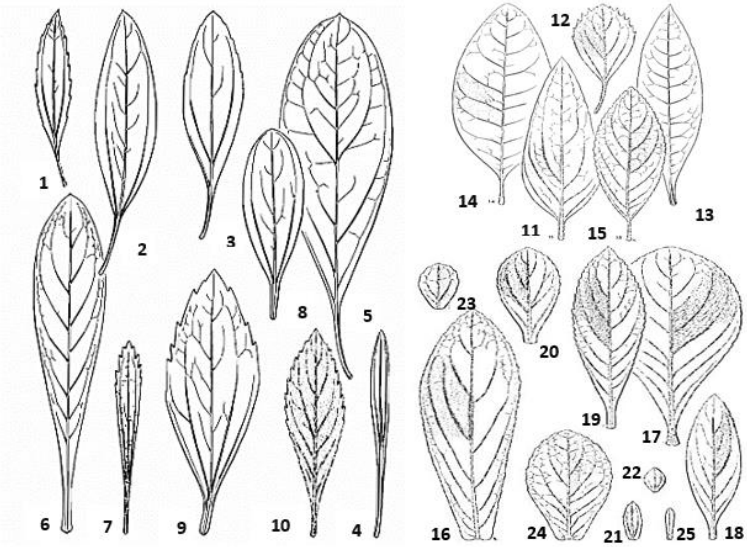


Figure 2 : Feuilles de quelques espèces du genre *Psiadia* (Bosser *et al.*, 1993).

(1) *P. dentata*, (2) *P. viscosa*, (3) *P. terebinthina*, (4) *P. cataractae*, (5) *P. penninervia*, (6) *P. mauritiana*, *(7) P. retusa*, (8) *P. pollicina*, (9) *P. arguta*, (10) *P. rodriguesiana*, (11) *P. canescens*, (12) *P. lithospermifolia*, (13) *P. laurifolia*, (14) *P. insignis*, (15) *P. amygdalina*, (16) *P. anchusifolia*, (17) *P. boivinii*, (18) *P. melastomatoides*, (19) *P. montana*, (20) *P. salaziana*, (21) *P. sericia,* (22) *P. argentea*, (23) *P. aspera*, (24) *P. rivalsii*, (25) *P. callocephala*

I. 1. 4. Utilisations traditionnelles du genre *Psiadia*

La littérature révèle pour les espèces du genre *Psiadia* un grand nombre d'usages traditionnels (Wang *et al.*, 1989). En Afrique, l'espèce *P. punctulata* est utilisée pour traiter les douleurs abdominales et le rhume (Kokwaro, 1976), ou encore comme expectorant pour les bronchites et l'asthme (Al-Yahya *et al.*, 1987). L'espèce présente également des propriétés analgésiques (Daruty, 1911). Les Bédouins l'utilisent en plâtre pour les os brisés (Keriko *et al.*, 1997), les Massaï, quant à eux, utilisent ses racines contre le paludisme (Koch *et al.*, 2005). Au Sri Lanka, les feuilles de *P. ceylanica* sont employées contre l'empoisonnement alimentaire et pour traiter l'asthme (Ayurvedic Plants of Sri Lanka, 2020).

Dans les Mascareignes, les feuilles des espèces du genre *Psiadia* sont utilisées comme expectorant pour traiter les bronchites et l'asthme (Aumeeruddy-Elalfi *et al.*, 2015 ; Sussman, 1980 ; Wang *et al.*, 1989). Les feuilles de *P. lithospermifolia* et de *P. viscosa* sont habituellement employées en cataplasme ou en infusion pour traiter les infections pulmonaires, les blessures mineures, les brûlures (Gurib-Fakim *et al.*, 1995), les troubles hépatiques et l'hypertension (Pernet, 1957).

Dans la médecine traditionnelle malgache, certaines espèces sont utilisées pour traiter les maladies de la peau telles que l'eczéma et les plaies galeuses (Danthu *et al.*, 2008). Elles sont également connues pour leurs propriétés hémostatiques, anti-diarrhéiques, carminatives et désinfectantes (Ramanoelina *et al.*, 1994).

Chapitre 2. Les espèces du genre *Psiadia* étudiées

I. 2. 1. *Sélection des espèces étudiées*

❑ Sélection des espèces de Madagascar étudiées

La sélection des espèces de Madagascar étudiées dans le cadre de cette thèse a été basée sur 3 critères principaux : l'accessibilité du végétal, son abondance dans la nature et ses usages traditionnels.

Madagascar possède 28 espèces du genre *Psiadia* (27 endémiques et 1 indigène non endémique) (Humbert, 1960). Leur localisation est indiquée dans la **figure 3**. Il s'agit de :

- *P. agathaeoides*
- *P. alticola*
- *P. altissima*
- *P. angustifolia*
- *P. cacuminum*
- *P. coarctata*
- *P. coursii*
- *P. decaryi*
- *P. depauperata*
- *P. dimorpha*
- *P. dracaenifolia*
- *P. flavonicerea*
- *P. glutinosa*
- *P. godotiana*
- *P. hispida*
- *P. ineaquidentata*
- *P. leucophylla*
- *P. lucida*
- *P. marojejyensis*
- *P. nigrescens*
- *P. quartziticola*
- *P. salviaefolia*
- *P. serrata*
- *P. tanala*
- *P. tardieuana*
- *P. tsaratananensis*
- *P. vestita*
- *P. volubilis* (*paléotropique*)

L'espèce *P. altissima* compte 4 variétés : *altissima*, *andringitrensis*, *occidentalis* et *stenophylla*. L'espèce *P. nigrescens* compte 3 variétés : *ciliata*, *latifolia* et *nigrescens*. Deux sous-espèces ont été observées pour l'espèce *P. salviaefolia* : *mandrarensis* et *salviaefolia* (Dennis & Jackson, 1974 ; Humbert, 1960), deux sous-espèces pour l'espèce *P. dracaenifolia* : *dracaenifolia* et *kalambatitrensis* et deux sous-espèces pour l'espèce *P. angustifolia* : *angustifolia* et *linearis*. Ces variétés et sous-espèces sont toutes endémiques (Humbert, 1960).

La différence entre une variété et une sous-espèce doit être soulignée. En effet, les deux sont un rang inférieur à l'espèce. Cependant, lorsque, entre deux populations, un seul caractère morphologique qualitatif ou quantitatif diffère, les deux taxons sont dits des variétés (*varietas*) ; dans le cas où leur aire géographique diffère et lorsque deux caractères morphologiques qualitatifs ou quantitatifs se différencient, les deux taxons sont des sous-espèces (*subspecies*) (Landry, 1975).

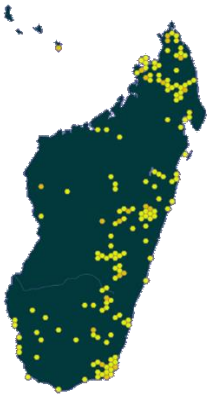


Figure 3 : Localisation de toutes les espèces du genre *Psiadia* à Madagascar (1825-2020).
(https://www.gbif.org/species/3119686)

Ainsi, parmi ces 28 espèces présentes, 5 ont été sélectionnées dans le cadre de cette étude. Il s'agit des espèces : ***P. altissima, P. hispida, P. leucophylla, P. lucida*** et ***P. salviaefolia***. Deux variétés ont été étudiées pour l'espèce *P. altissima* : *P. altissima* var. *altissima* et *P. altissima* var. *stenophylla*.

❑ Sélection des espèces de La Réunion étudiées

La sélection des espèces de La Réunion étudiées dans le cadre de cette thèse a été basée sur les résultats des travaux antérieurs effectués sur ces espèces.

15 espèces du genre *Psiadia* sont endémiques de l'île de La Réunion. Leur localisation à La Réunion est présentée dans la **figure 4**. Il s'agit de :

- *P. amygdalina*
- *P. anchusifolia*
- *P. argentea*
- *P. aspera*
- *P. boivinii*
- *P. callocephala*
- *P. dentata*
- *P. insignis*
- *P. laurifolia*
- *P. melastomatoides*
- *P. montana*
- *P. retusa*
- *P. rivalsii*
- *P. salaziana*
- *P. sericea*

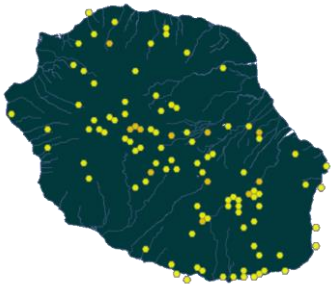


Figure 4 : Localisation de toutes les espèces du genre *Psiadia* à La Réunion (1835-2020).
(https://www.gbif.org/species/3119686)

Parmis ces 15 espèces réunionnaises, 11 ont déjà fait l'objet d'une étude lors de la thèse de K. Mahadeo (laboratoire ChemBioPro). Il s'agit des espèces *P. amygdalina*, *P. anchusifolia*, *P. argentea*, *P. boivinii*, *P. callocephala*, *P. dentata*, *P. insignis*, *P. laurifolia*, *P. melastomatoides*, *P. montana* et *P.*

retusa (Mahadeo, 2018). À l'issue de ces travaux, plusieurs espèces ont montré des activités biologiques intéressantes. Les cibles biologiques choisies étaient le parasite *Plasmodium falciparum* (paludisme), l'enzyme HRP (Horseradish peroxydase) intervenant dans la réponse inflammatoire et la lignée cellulaire cancéreuse HeLa (cancer du col de l'utérus). Parmi les espèces actives, ***P. dentata*** s'est particulièrement distinguée. Les extraits bruts de cette dernière affichent en effet clairement un potentiel antipaludique, anti-inflammatoire et moyennement anti-cancéreux. Cette espèce a donc été sélectionnée pour une étude phytochimique approfondie dans le cadre des présents travaux de thèse.

En conclusion, un total de 6 espèces a été étudié dans le cadre de la présente thèse : ***P. altissima*** avec les variétés ***P. altissima* var. *altissima*** et ***P. altissima* var. *stenophylla***, ***P. dentata, P. hispida, P. leucophylla, P. lucida*** et ***P. salviaefolia***.

Leurs synonymes, noms vernaculaires, descriptions morphologiques, répartition géographique, utilisations traditionnelles ainsi que les travaux chimiques et pharmacologiques antérieurs pour chaque espèce seront présentés ci-après. Celles-ci ont été listées par ordre alphabétique.

I. 2. 2. *Psiadia altissima*

I. 2. 2. 1. *Psiadia altissima* var. *altissima*

Crédit ChemBioPro

- **Nom scientifique**
  - ***Psiadia altissima* (DC.) Drake var. *altissima*** d'après The Plant List (The Plant List, 2021) et la base Tropicos du Missouri Botanical Garden (Tropicos, 2021).
  - ***Psiadia madagascariensis* (Lam.) DC.** d'après la base Prota4U (Prota4U, 2021).

- **Synonymes**

D'après The Plant List (* niveau de confiance) :

- *Conyza madagascariensis* Lam. **
- *Microglossa altissima* DC.**
- *Nirodella altissima* (DC.) Benth. & Hook. fil. **
- *Psiadia altissima* subsp. *altissima* *
- *Psiadia altissima* var. *altissima* *

D'après la base Tropicos :

- *Conyza madagascariensis* Lam.
- *Microglossa altissima* DC.
- *Nirodella altissima* Benth. & Hook. f.
- *Psiadia altissima* var. *boinensis* Humbert
- *Psiadia decurrens* Klatt

D'après la base Prota4U :

- *Conyza madagascariensis* Lam.
- *Microglossa altissima* DC.
- *Nirodella altissima* Benth. & Hook. f.
- *Psiadia altissima* (DC.) Drake

D'après la littérature (Humbert, 1923 ; Nicolas, 2012) :

- *Psiadia decurrens* Klatt
- *Conyza madagascariensis* Lam.
- *Microglossa altissima* DC.
- *Nidorella altissima* (DC.) Benth & Hook. fil.

Cette espèce n'est pas répertoriée dans le compendium des espèces végétales de l'European Food Safety Authority (EFSA, 2021).

- **Noms vernaculaires** : Agnandraisoa, Arina, Dinga, Dingadinga, Dingadingana, Dingadinganalahy, Hanidraisoa, Iary, Kidingadingana, Mantavazana, Rinarina, Ringaringa, Tongolohazo, Voaramonina (Boiteau, 1979 ; Nicolas, 2012 ; Rakotondrafara *et al.*, 2018 ; Randrianjohany, 1996 ; Razafindraibe *et al.*, 2013 ; Samyn, 1999).

- **Description morphologique** (Humbert, 1960 ; Rakotomalala, 2014)

P. altissima var. *altissima* est un arbuste ou un petit arbre de 1 à 5 m de hauteur avec un tronc pouvant atteindre 15 cm de diamètre, à rameaux costulés glabres mais plus ou moins pourvus à l'état jeune, dans le haut, de la même pubescence papilleuse très fine que *P. glutinosa*, dont il est très voisin.

Les feuilles sont à limbe un peu épais, lancéolé (de 6-10 cm sur 0,5-1,5 cm en moyenne), entier ou très finement serrulé, à peu près également atténué depuis sa partie moyenne vers le sommet aigu et vers la base étroitement cunéiforme, glabre, ponctuée de glandes imprimées à sécrétion vernissée surtout à l'état jeune, pennatinerve. Elles ont une nervure médiane forte, imprimée en dessus et saillante en dessous et des nervures secondaires fines, souvent peu apparentes, environ 10 de chaque côté.

Les fleurs sont de couleur jaune vif au nombre de 40 à 50 par capitule. Les corolles des fleurs femelles sont à ligule oblongue très petite.

Les inflorescences sont des capitules nombreux en corymbes terminaux dépassant à peine les feuilles supérieures, à axes glabres ou faiblement papilleux, à pédoncules ultimes plus courts ou égalant à peu près les involucres.

Les fruits sont des akènes plus ou moins pubescents au moins vers le haut, parfois glabres.

La période de floraison s'étend sur toute l'année suivant les stations.

- **Répartition géographique**

P. altissima var. *altissima* pousse généralement sur les lieux découverts, les lisières de forêts, dans les forêts dégradées (savoka en malgache) sur argiles latéritiques et sur les rocailles siliceuses, jusqu'à 2 000 m d'altitude (Humbert, 1960).

Elle a été rencontrée dans les endroits suivants (**Figure 5**) : Andapa, Sainte Marie, Analamazaotra, Anivorano-Est, Moramanga, Manakara, bassin supérieur de Sambirano, Nosy Be, Montagne d'Ambre près de Diego-Suarez, Sambirano, Montagnes au Nord de Mangindrano, Ankazobe, environs de Tananarive, Mont Angavokely, Mantasoa, massif de l'Ankaratra, environs de Fianarantsoa, Antsirabe, Ambositra, forêt de Ranomena, massif de l'Andringitra, bassin de Mangoky, Ihosy, forêt d'Ivohibe, Fort-Carnot, massif de l'Ikongo, Ifanadiana, Tolongoina, Midongy du Sud, haute vallée de l'Itomampy, Ampandrandava, haut Mandrare, environs de Fort-Dauphin, au col d'Irondro, Mont Oniva, Mandena (Humbert, 1960).

Figure 5 : Répartition de *P. altissima* var. *altissima* à Madagascar (1880-2019).
(https://www.gbif.org/species/7607561)

- **Utilisations traditionnelles**

L'espèce du genre *Psiadia* la plus connue et la plus utilisée en médecine traditionnelle malgache est l'espèce *P. altissima*, connue par la plupart des Malgaches sous le nom de « Dingadingana ».

Cependant, les données de la littérature sur les usages traditionnels de cette espèce ne présentent pas de distinction entre les 4 variétés (*altissima*, *andringitrensis*, *occidentalis* et *stenophylla*). On suppose toutefois qu'il s'agit probablement de la variété *altissima* qui est la variété la plus abondante sur l'île.

Les feuilles de *P. altissima* sont notamment utilisées pour soigner les maux de dents (Danthu *et al.*, 2008 ; Humbert, 1960 ; Samyn, 1999). Elles sont également utilisées pour soigner les maladies de la peau telles que la gale, l'eczéma ainsi que les plaies (Danthu *et al.*, 2008 ; Nicolas, 2012). Les feuilles sont cuites durant au moins 1,5 h et donnent une bouillie huileuse qui sert à laver quotidiennement les plaies galeuses ou eczémateuses. Boire et prendre des bains de cette décoction sont également préconisés.

Les parties aériennes de la plante sont consommées en tisane ou en décoction comme remède contre la toux (Danthu *et al.*, 2008) et possèdent des propriétés expectorantes (Boiteau, 1979). La sève des tiges et des feuilles est appliquée sur les bubons et sur les plaies dues aux maladies vénériennes (plaie syphilitique et blennorragique) (Baron & Dorr, 1906 ; Heckel, 1910 ; Pernet, 1957 ; Samyn, 1999).

Les feuilles sont également connues pour atténuer le vertige, les coliques néphrétiques, la fatigue ainsi que les douleurs stomacales (Rakotomalala, 2014).

La décoction longue des feuilles et des tiges est employée pour le traitement de plaies ulcérées chez les enfants comme chez les adultes. Elle est consommée à raison d'une cuillerée à café trois fois par jour (Razafindrambao, 1971). Cette décoction est également utilisée pour soulager les règles douloureuses (Ramanoelina *et al.*, 1994) et sert à faire disparaître les plaques et les croûtes sur le cuir chevelu (Nicolas, 2012).

Les feuilles de l'espèce *P. altissima* présentent d'autres propriétés : hémostatiques, carminatives et désinfectantes (Ramanoelina *et al.*, 1994 ; Randriamahefa & Rakotozafy, 1979). L'infusé de la plante préalablement réduite en cendres est également un remède contre la diarrhée (Razafindrambao, 1971).

Enfin, des enquêtes ethnobotaniques ont été effectuées auprès de la population locale lors de la collecte de cette variété. En sus des utilisations précédemment citées, il nous a été précisé que les personnes atteintes de bilharziose boivent un verre par jour de l'infusion des feuilles, concentrée à la moitié environ de son volume. Pour éliminer les vers intestinaux des enfants, ces derniers boivent un demi-verre de cette infusion le matin.

- **Travaux chimiques antérieurs**

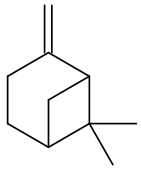
Comme les usages traditionnels, rares sont les ouvrages qui précisent la variété de l'espèce *P. altissima* étudiée. Ces travaux concernent probablement la variété *altissima* qui est plus abondante à Madagascar mais sans certitude. Ces travaux concernent aussi bien les composés volatils des huiles essentielles (HE) que les composés non volatils extraits au solvant.

❖ ***Étude des composés volatils***

Dans la littérature, les études chimiques effectuées sur les HE de *P. altissima* collectée à Madagascar ont conduit aux conclusions suivantes.

Divers organes de l'espèce sont le siège de sécrétion d'HE. Ce sont les feuilles qui fournissent les rendements les plus élevés par rapport à la matière fraîche, de 0,13 à 0,70 % (Rakotomalala, 2014 ; Ramanoelina *et al.*, 1994), les racines conduisant aux plus faibles teneurs, de 0,01 à 0,02 %. Des valeurs intermédiaires situées entre 0,06 et 0,10 % sont attribuées aux tiges et aux fleurs (Rakotomalala, 2014 ; Rakotomalala *et al.*, 2016). Les rendements en HE ne varient pas en fonction de l'âge de la plante (Danthu *et al.*, 2008).

Quel que soit l'organe étudié du végétal, l'HE extraite est caractérisée par une teneur élevée en hydrocarbures terpéniques, le β-pinène (**1**) restant le composé majoritaire (31,40 à 58,65 %) (Rakotomalala, 2014 ; Ramanoelina *et al.*, 1994 ; Razafintsalama, 2018) (**Figure 6**). Par ailleurs, une étude de variabilité géographique a montré que la qualité de l'HE ne semble pas dépendre de son habitat (Rakotomalala, 2014 ; Rakotomalala *et al.*, 2016).



β-pinène (1)

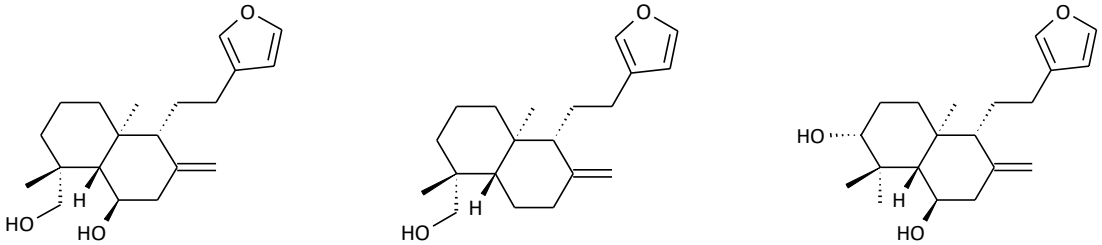
Figure 6 : Composé volatil majoritaire de l'HE de *P. altissima* (Rakotomalala, 2014).

❖ ***Étude des composés non volatils***

Un criblage chimique mené sur l'espèce *P. altissima* a permis de détecter :

- dans les feuilles : la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de leucoanthocyanes, de terpénoïdes, de stérols insaturés, de coumarines, de tanins et d'hétérosides (Rakotoarison, 2008 ; Rakotomalala, 2014),
- dans les racines : la présence de polyphénols, de tanins, de saponines et d'hétérosides (Rakotomalala, 2014).

Parmi les 28 espèces présentes à Madagascar, seule l'espèce *P. altissima* a été étudiée pour l'isolement et l'identification de métabolites spécialisés. 3 nouveaux diterpènes de squelette labdane ont été isolés de l'espèce : le psiadiol (**2**), le 6-déoxypsiadiol (**3**) et l'isopsiadiol (**4**) (Canonica *et al.*, 1967, 1969). Leurs structures sont présentées à la **figure 7**.



Psiadiol (2) **6-Déoxypsiadiol (3)** **Isopsiadiol (4)**

Figure 7 : Métabolites spécialisés isolés de *P. altissima* (Canonica *et al.*, 1967, 1969).

▪ **Activités biologiques**

Des études pharmacologiques ont été menées sur les HE et les extraits *P. altissima*. Ces HE et extraits ont montré des activités biologiques intéressantes, notamment des activités antimicrobienne, antifongique, broncho-relaxante et cicatrisante. Les résultats de ces activités sont exposés ci-après.

❖ ***Activités antimicrobienne et antifongique***

Les HE de *P. altissima* ont montré des activités antimicrobiennes sur les souches Gram (+) telles que *Staphylococcus aureus, Sarcina lutea* et *Bacillus subtilis* ainsi que sur les souches Gram (-) telles que *Escherichia coli*, *Salmonella enteridis* et *Branhamella catarrhalis.* Elle a aussi un pouvoir antifongique sur le champignon *Candida albicans* (Rakotomalala, 2014 ; Ramanoelina *et al.*, 1987).

Concernant les souches *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteridis* et *Candida albicans*, la mesure des halos d'inhibition, après une incubation du disque imbibé d'HE de feuilles de *P. altissima* avec ces germes pathogènes, a montré des valeurs entre 12 et 25 mm, qui correspondent à une très forte sensibilité de ces germes à l'HE. Par ailleurs, certaines valeurs sont très proches de celle des antibiotiques de référence utilisés. C'est le cas vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* (21 contre 24 mm pour 100 µg de la strectynomycine) et de *Candida albicans* (25 contre 27 mm pour

100 µg de la nistatine) (Rakotomalala, 2014). L'HE des fleurs est active sur *Staphylococcus aureus, Escherichia coli*, *Salmonella enteridis* et sur *Candida albicans* avec des valeurs de diamètre d'inhibition qui varient de 9 à 17 mm. Les HE de tige et de racine n'agissent que sur *Staphylococcus aureus* (Rakotomalala, 2014) avec des diamètres d'inhibition respectifs de 12 et 16 mm respectivement.

Concernant les germes *Staphylococcus aureus, Sarcina lutea*, *Bacillus subtilis* et *Branhamella catarrhalis*, les travaux de l'équipe de Ramanoelina ont montré que l'HE des feuilles de *P. altissima* inhibe la croissance de ces bactéries à des concentrations minimales inhibitrices allant de 0,050 à 0,333 mg/mL (Ramanoelina *et al.*, 1987).

L'extrait brut à l'éthanol de *P. altissima* possède une activité antimicrobienne envers *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Shigella boydii, Alkalenscens dispar, Serratia marcenscens, Neisseria gonorhoeae* et *Bacillus cereus* avec des diamètres d'inhibition entre 8 et 12,5 mm (Rakotoarison, 2008).

Ces résultats justifient le fait que cette plante est un anti-infectieux puissant.

- ***Activité broncho-relaxante***

Les HE des parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges) de *P. altissima* possèdent une forte activité broncho-relaxante avec une CE_{50} (concentration efficace donnant 50 % de l'activité maximale) allant de 0,21 à 0,36 mg/mL. Ces résultats ont permis d'établir la propriété expectorante et l'utilisation de l'espèce *P. altissima* comme remède contre la toux et les encombrements respiratoires en pharmacopée locale et revèle le potentiel antiasthmatique de cette espèce (Rakotomalala, 2014).

Les extraits non volatils moyennement polaires des feuilles ont démontré également un potentiel broncho-relaxant intéressant, notamment les extraits au dichlorométhane (CE_{50} = 0,53 mg/mL) et à l'acétate d'éthyle (CE_{50} = 0,45 mg/mL) (Rakotomalala, 2014).

- ***Activité cicatrisante***

L'HE et l'extrait brut à l'éthanol des feuilles de *P. altissima* ont affiché une activité cicatrisante remarquable *in vivo.* En effet, le test consiste à créer des plaies sur des animaux préalablement anesthésiés puis à les traiter avec les préparations de pommade contenant les produits à tester (HE et extrait) tous les jours jusqu'à la disparition des plaies.

Le pourcentage de cicatrisation par jour ou le pourcentage de réduction de la surface de la plaie a été calculé. À la fin du 14ème jour de traitement, les plaies traitées par l'HE de feuilles et par l'extrait brut de feuilles ont cicatrisé jusqu'à 98,37 %. Cette activité se rapproche de celle de la pommade de référence OFM (Ody Fery Meva), une pommade cicatrisante déjà commercialisée localement. L'activité de cette dernière est à 99,69 % au bout de 14 jours (Rakotomalala, 2014). Ceci concorde avec l'efficacité de la plante dans son utilisation traditionnelle pour soigner certaines plaies (Rakotomalala, 2014).

I. 2. 2. 2. *Psiadia altissima* var. *stenophylla*

Crédit ChemBioPro

- **Nom scientifique**

  - ***Psiadia altissima* var. *stenophylla* (Baker) Humbert** d'après The Plant List (The Plant list, 2021).

- **Synonyme**

  D'après la base Tropicos (*niveau de confiance) et la littérature (Humbert, 1923 ; Nicolas, 2012) :

  - *Psiadia stenophylla* Baker **

Cette espèce n'est pas répertoriée dans le compendium des espèces végétales de l'European Food Safety Authority (EFSA, 2021).

- **Noms vernaculaires** : Agnandraisoa, Arina, Dinga, Dingadinga, Dingadingana, Dingadinganalahy, Hanidraisoa, Iary, Kidingadingana, Mantavazana, Rinarina, Ringaringa, Tongolohazo, Voaramonina (Boiteau, 1979 ; Nicolas, 2012 ; Rakotondrafara *et al.*, 2018 ; Randrianjohany, 1996 ; Razafindraibe *et al.*, 2013 ; Samyn, 1999).

- **Description morphologique** (Baker, 1887 ; Humbert, 1960)

  P. altissima var. *stenophylla* est un arbuste de 1 à 5 m de hauteur.

Les feuilles sont étroitement lancéolées à limbe environ 8 fois plus long que large (environ 4 cm sur 0,5 cm), finement denté dans les 2/3 supérieurs (dents espacées d'environ 3 mm), longuement et à peu près également atténué vers les deux extrémités. Les pétioles sont peu distincts. Les nervures secondaires sont indistinctes et les feuilles adultes sont vernissées.

Les fleurs sont de couleur jaune vif au nombre de 40 à 50 par capitule. Les corolles des fleurs femelles sont à ligule oblongue très petite.

Les inflorescences sont des capitules nombreux en corymbes terminaux dépassant à peine les feuilles supérieures, à pédoncules ultimes plus courts ou égalant à peu près les involucres.

Les fruits sont des akènes parfois glabres.

La période de floraison s'étend d'octobre à janvier.

- **Répartition géographique**

P. altissima var. *stenophylla* pousse généralement sur les lieux dénudés arides.

Elle a été retrouvée aux environs de Tananarive, dans la vallée d'Ihosy et à Mandrare (**Figure 8**) (Humbert, 1960).

Figure 8 : Répartition de *P. altissima* var. *stenophylla* à Madagascar (1924-2018).
(https://www.gbif.org/species/6299559)

- **Utilisations traditionnelles**

Aucun ouvrage n'a spécifié les utilisations traditionnelles de *P. altissima* var. *stenophylla*.

- **Travaux chimiques antérieurs et activités biologiques**

Aucune exploration chimique et biologique, mentionnant la variété *stenophylla* n'a été réalisée.

I. 2. 3. *Psiadia dentata*

Crédit ChemBioPro

Cette espèce est endémique de La Réunion et inscrite à la Pharmacopée française en liste A en usage externe (feuille) depuis 2019 (ANSM, 2021).

- **Nom scientifique**
  - *Psiadia dentata* (Cass.) DC. d'après The Plant List (The Plant List, 2021), la base Tropicos du Missouri Botanical Garden (Tropicos, 2021) et l'Index de la Flore vasculaire de La Réunion (CBNM, 2021).

- **Synonymes**

D'après The Plant List (* niveau de confiance)

- *Elphega dentata* Cass. **

D'après la Base Tropicos

- *Elphega dentata* Cass. (Basionyme)

D'après l'Index de la Flore vasculaire de La Réunion et la littérature (Bosser *et al.*, 1993)

- *Elphega crenata* Cass.
- *Elphega dentata* Cass.
- *Psiadia ambigua* Cordem.
- *Psiadia trinervia* Willd. var. *dentata* (Cass.)

Cette espèce n'est pas répertoriée dans le compendium des espèces végétales de l'European Food Safety Authority (EFSA, 2021).

- **Noms vernaculaires** : Ti-mangue (en raison de l'odeur de ses feuilles), Bois collant, Bois de marron, Bois de reinette blanc, Herbe trois jours (Bosser *et al.*, 1993).

- **Description morphologique** (Bosser *et al.*, 1993)

P. dentata est un arbrisseau ou petit arbuste glabre, pouvant atteindre 2 m de hauteur. C'est une espèce plutôt abondante à l'île de La Réunion.

Les feuilles sont glutineuses, simples, alternes, glabres, à pétiole court (1 cm). Le limbe est étroitement elliptique ou ovale, à sommet aigu et à base cunéiforme, rétrécie sur le pétiole, pointu. Elles peuvent être sessiles ou pétiolées, entières ou serretées, penninervées ou trinervées. Ces feuilles ont une nervure médiane proéminente dessous, déprimée au-dessus, deux nervures secondaires principales et ascendantes et plusieurs nervures secondaires et tertiaires réticulées qui sont bien visibles dessous.

Les inflorescences sont des capitules nombreux, campanulés, pédonculés, groupés à l'extrémité de la tige. Leur diamètre est d'environ 1 cm et les bractées de l'involucre sont verdâtres.

Les fleurs, de couleur blanche, sont groupées au sein d'un capitule. Les fleurs femelles sont externes et les fleurs mâles sont internes à corolle tubuleuse.

Les fruits sont des longs akènes d'environ 1,25 mm, côtelés (6 côtes), surmontés d'un pappus soyeux long de 2 cm.

La période de floraison s'étend de septembre à février.

- **Répartition géographique**

P. dentata se trouve à l'état sauvage en forêt ou dans des stations exposées de montagne entre 400 m et 1 400 m ou sur des crêtes sèches.

Elle a été rencontrée à Cilaos, au Grand Matarum, à Dos d'Ane, au Sentier de crête, à la Rivière des Galets, en crête exposée entre le Grand Coin et le Cirque de Mafate, à la Plaine des Cafres, à la Plaine d'Affouches, à l'Ilet à Guillaume et au Piton Fougère (**Figure 9**) (Bosser *et al.*, 1993).

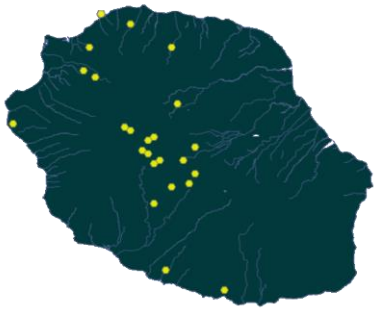


Figure 9 : Répartition de *P. dentata* à La Réunion (1973-2020).
(https://www.gbif.org/species/3119740)

- **Utilisations traditionnelles**

À La Réunion, les feuilles de *Psiadia dentata* sont utilisées en cataplasme pour traiter les abcès et contre les infections de la peau dues aux mycoses et aux piqûres d'insectes (Fortin *et al.*, 2001 ; Robin *et al.*, 1998). L'appellation de l'espèce *P. dentata* par l'expression « Herbe trois jours » est due

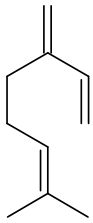
au fait que l'espèce possède la réputation de faire mûrir un furoncle en 72 heures, après application d'un cataplasme de ses feuilles (Lavergne, 2004).

- **Travaux chimiques antérieurs**

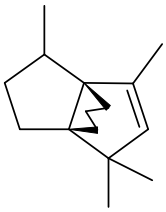
Des études chimiques ont déjà été menées sur les HE et les composés non volatils de *P. dentata* collectée à La Réunion. Les résultats de ces études sont exposés ci-après.

❖ ***Étude des composés volatils***

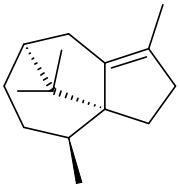
L'étude de l'HE des feuilles de *P. dentata* a révélé une composition chimique riche en monoterpènes (1,9 et 19,9 %) et sesquiterpènes (39,9 et 72,5 %) hydrocarbonés. L'HE est composée majoritairement de myrcène (**5**) (1,7 à 17,8 %), de modéph-2-ène (**6**) (0,3 à 35,7 %) et de cypérène (**7**) (0,5 à 12,2 %) (**Figure 10**). Notons que la composition chimique de l'HE de cette espèce présente une variabilité en fonction du lieu de collecte (Mahadeo, 2018).



Myrcène (5)



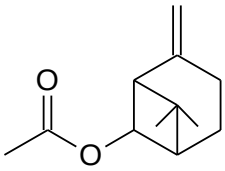
Modeph-2-ène (6)



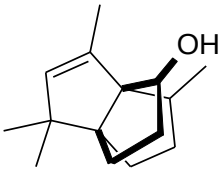
Cypérène (7)

Figure 10 : Composés volatils caractéristiques de l'HE de *P. dentata* de La Réunion (Mahadeo, 2018).

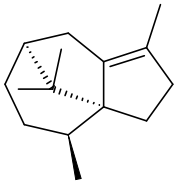
Une étude chimiotaxonomique par une approche métabolomique effectuée sur les HE de 11 espèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion (*P. amygdalina, P. anchusifolia, P. argentea, P. boivinii, P. callocephala, P. dentata, P. insignis, P. laurifolia, P. melastomatoides, P. montana* et *P. retusa*) a permis de regrouper l'espèce *P. dentata* avec les espèces *P. anchusifolia, P. argentea, P. callocephala, P. melastomatoides* et *P. montana*. Les HE de ces espèces sont caractérisées par l'anchusifolate (**8**), l'anchusifolol (**9**), le cypérène (**7**) et le δ-sélinène (**10**) (Mahadeo, 2018) (**Figure 11**).



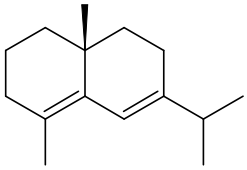
Anchusifolate (8)



Anchusifolol (9)



Cypérène (7)



δ-sélinène (10)

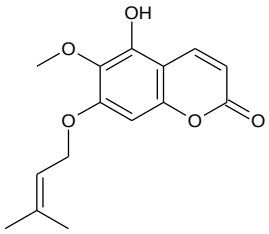
Figure 11 : Composés volatils caractéristiques du groupe *P. dentata*, *P. anchusifolia*, *P. argentea*, *P. callocephala*, *P. melastomatoides* et *P. montana* (Mahadeo, 2018).

❖ ***Étude des composés non volatils***

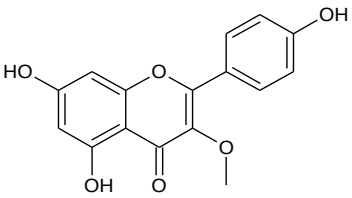
Un criblage chimique effectué sur l'extrait à l'acétate d'éthyle provenant des feuilles de *P. dentata* a permis d'observer la richesse de cette espèce en métabolites spécialisés d'une part, et la variabilité géographique et saisonnière de sa composition chimique d'autre part (Mahadeo, 2018). Un autre criblage chimique réalisé sur l'extrait méthanolique a permis de détecter la présence de flavonoïdes, de saponines et de tanins galliques dans les feuilles (Fortin *et al.*, 2002).

Un profilage métabolique par RMN ^{1}H de l'extrait brut de *P. dentata* a été étudié durant la thèse de Mahadeo K. (2018) afin de rechercher d'éventuelles corrélations entre les familles de molécules et les différentes activités biologiques testées. Ainsi, les activités antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique des extraits bruts de *P. dentata* seraient potentiellement associées à des composés phénoliques (flavonoïdes méthoxylés et coumarines), notamment à l'isoobtusitine (**11**). En effet, les spectres RMN ^{1}H des extraits de cette espèce présentent de nombreux signaux, dont les déplacements chimiques correspondent à ceux de protons aromatiques et hétéroaromatiques, indiquant une richesse en composés phénoliques.

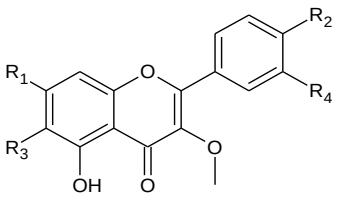
L'espèce *P. dentata* a également fait l'objet d'investigations chimiques qui signalent la présence notamment de 6 composés phénoliques dont une coumarine (**11**) (Fortin *et al.*, 2001 ; Jakobsen *et al.*, 2001) et 5 flavonoïdes (**12-16**) (Jakobsen *et al.*, 2001 ; Robin *et al.*, 1998). La **figure 12** ci-après présente les métabolites spécialisés isolés de *P. dentata*.



Isoobtusitine (11)



Isokaempféride (12)



Ermanine (13)
R_1 = OH, R_2 = OCH_3, R_3 = R_4 = H
5,7,4'-trihydroxy-3,5'-dimethoxyflavone (14)
R_1 = R_2 = OH, R_3 = H, R_4 = OCH_3
Pachypodol (15)
R_1 = OCH_3, R_2 = OH, R_3 = H, R_4 = OCH_3
5-hydroxy-3,6,7,4'-tetramethoxyflavone (16)
R_1 = R_2 = R_3 = OCH_3, R_4 = H

Figure 12 : Métabolites spécialisés isolés de *P. dentata* de La Réunion (Fortin *et al.*, 2001 ; Jakobsen *et al.*, 2001 ; Robin *et al.,* 1998).

▪ **Activités biologiques**

Des études pharmacologiques ont été menées sur les extraits et quelques molécules isolées de *P. dentata* de La Réunion. Ces extraits et molécules ont montré des activités biologiques intéressantes, notamment des activités antimicrobienne, antivirale, anti-inflammatoire, antipaludique, anticancéreuse et cytotoxique. Ces résultats, exposés ci-après, confirment le potentiel

thérapeutique de l'espèce et justifient son choix pour une étude phytochimique approfondie dans le cadre de nos travaux de thèse.

- ***Activité antivirale***

L'extrait méthanolique de *P. dentata* a montré une forte activité sur le poliovirus de type 2 à une concentration maximale non toxique de 666 µg/mL (Robin *et al.*, 1998). Cette activité a été confirmée par les travaux de Fortin et *al*. en 2002 évaluant la dose efficace médiane (DE_{50}) de l'extrait à 80 µg/mL.

Un fractionnement bioguidé de l'extrait méthanolique de l'espèce avec des solvants de polarité croissante a été entrepris et cette activité antivirale a été observée pour les fractions apolaires obtenues après élution à l'éther de pétrole, à l'éther diéthylique et à l'acétate d'éthyle avec une concentration maximale non toxique entre 200 et 500 µg/mL (Robin *et al.*, 1998).

Deux flavonoïdes isolés de *P. dentata* collectée à La Réunion ont aussi montré une activité sur le poliovirus de type 2. Il s'agit de l'isokaempféride (**12**) et l'ermanine (**13**) à une concentration minimale respective de 1 mg/mL et 8 mg/mL (Fortin *et al.*, 2002 ; Robin *et al.*, 2001). L'isoobtusitine (**11**), a également montré une activité sur le poliovirus de type 2 avec une CI_{50} de 2,9 µg/mL tandis qu'il était inactif contre le virus de l'herpès de type 1 et le virus de la stomatite vésiculaire (Fortin *et al.*, 2001).

- ***Activité antipaludique***

Les extraits chloroformique et méthanolique de *P. dentata* collectée à La Réunion ont montré une activité antipaludique *in vitro* sur la souche chloroquino-sensible, 3D7, avec des CI_{50} de 7,1 µg/mL et 14,6 µg/mL respectivement. Ces même extraits ont été testés sur la souche chloroquino-résistante W2 et ont montré une activité prometteuse avec des CI_{50} respectives de 7,9 µg/mL et 15,0 µg/mL. Puis, des tests *in vivo* sur souris ont confirmé cette activité de l'espèce (Jonville, 2011 ; Jonville *et al.*, 2011).

Durant ses travaux de thèse, K. Mahadeo (2018) a évalué l'activité antiplasmodiale *in vitro* des extraits à l'acétate d'éthyle de *P. dentata* collectée sur différentes zones géographiques de La Réunion. Les résultats ont mis en évidence une forte activité des extraits de l'espèce collectée en été au Colorado et à Montauban avec une CI_{50} égale à 8,4 µg/mL et 14,4 µg/mL respectivement. Les autres extraits testés, issus de spécimens collectés en hiver ou sur d'autres sites en été et en hiver, ont montré une activité modérée avec des CI_{50} comprises entre 15,4 et 34,3 µg/mL.

- ***Activité anti-inflammatoire***

Les extraits chloroformique et méthanolique des feuilles de *P. dentata* collectée de La Réunion sont modérément actifs avec une CI_{50} inhibant la production d'oxyde nitrique égale à 21 µg/mL pour l'extrait méthanolique et 85 µg/mL pour l'extrait chloroformique (Jonville *et al.*, 2011). En revanche,

les extraits à l'acétate d'éthyle de l'espèce collectée sur différents sites de La Réunion en saison estivale et hivernale ont affiché une activité anti-inflammatoire *in vitro* importante avec des CI_{50} variant de 2,3 à 25,2 µg/mL. Cette activité ne varie pas quels que soient le lieu et la saison de collecte (Mahadeo, 2018).

❖ ***Activité cytotoxique***

Les extraits de *P. dentata* collectée sur différents sites géographiques de La Réunion ont été testés pour une activité cytotoxique *in vitro* sur diverses lignées cellulaires, notamment les lignées WS-1 (fibroblastes de peau humaine), DLD-1 (adénocarcinome colorectal), A-549 (carcinome de poumon) et HeLa (carcinome du col de l'utérus). Notons qu'une étude de variabilité géographique et saisonnière de l'activité a été réalisée sur l'extrait à l'acétate d'éthyle. Les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle ont affiché une activité modérée. Les résultats des tests d'activités cytotoxiques sont donnés dans le **tableau II**.

Tableau II : Résultats des tests d'activités cytotoxiques de l'espèce *P. dentata*.

Extraits	CI_{50} des extraits (µg/mL)				Références
	WS-1	DLD-1	A-549	HeLa	
Méthanol	125	188	136	-	(Jonville *et al.*, 2011)
Dichlorométhane	55	56	35	-	
Acétate d'éthyle	-	-	-	11,6 - 48,3	(Mahadeo, 2018)

I. 2. 4. *Psiadia hispida*

Crédit ChemBioPro

- **Nom scientifique**

  - ***Psiadia hispida* (DC.) Benth. & Hook. f.** d'après The plant List (The plant List, 2021) et la base Tropicos du Missouri Botanical Garden (Tropicos, 2021).

- **Synonymes**

D'après The Plant List (* niveau de confiance) :

- *Microglossa hispida* DC. **
- *Psiadia hispida* var. *hispida* *

D'après la base Tropicos et la littérature (Humbert, 1960) :

- *Microglossa hispida* DC.
- *Psiadia auriculata* Baker

Cette espèce n'est pas répertoriée dans le compendium des espèces végétales de l'European Food Safety Authority (EFSA, 2021).

- **Noms vernaculaires** : Aucun

- **Description morphologique** (Humbert, 1960)

P. hispida est un arbuste, d'environ 2 m de hauteur, à rameaux juvéniles finement costulés, hérissés de poils fins mous, inégaux, blanchâtres, entremêlés de papilles glanduleuses.

Les feuilles sont petites, auriculées à leur base, à pétiole ailé, à limbe lancéolé (3-7 cm x 1-3 cm) et atténué progressivement depuis le tiers inférieur jusqu'au sommet aigu, cunéiforme ou arrondi dans sa partie inférieure. Les feuilles sont fortement dentées, lâchement couvertes sur les deux faces du même indûment mixte que les rameaux, pennatinerves. Elles possèdent une nervure médiane saillante en dessous, des nervures secondaires obliques (6-9 de chaque côté) et un réseau tertiaire fin et dense. Les pétioles sont étroitement ailés.

Les fleurs très nombreuses (une centaine) sont de couleur jaune. Les corolles des fleurs femelles sont à ligule linéaire dressée.

Les inflorescences sont des capitules nombreux, en corymbes terminaux dépassant à peine les feuilles supérieures.

Les fruits sont des akènes très finement et lâchement hérissés.

La période de floraison s'étend de juillet à novembre.

- **Répartition géographique**

P. hispida pousse généralement dans les forêts ombrophiles sur argiles latéritiques, entre 1 000 et 2 000 m d'altitude.

Elle a été rencontrée aux environs de Tananarive, au Mont Angavokely et à Ambohitroza (**Figure 13**) (Humbert, 1923, 1960).

Figure 13 : Répartition de *P. hispida* à Madagascar (1924-2006).
(https://www.gbif.org/species/3119704)

- **Utilisations traditionnelles**

Aucun ouvrage n'a spécifié les utilisations traditionnelles de *P. hispida*.

- **Travaux chimiques antérieurs et activités biologiques**

Aucune exploration chimique et biologique n'a été réalisée pour l'espèce *P. hispida*.

I. 2. 5. *Psiadia leucophylla*

Crédit ChemBioPro

- **Nom scientifique**

  - ***Psiadia leucophylla* (Baker) Humbert** d'après The plant List (The plant List, 2021) et la base Tropicos du Missouri Botanical Garden (Tropicos, 2021).

- **Synonymes**

D'après The Plant List (* niveau de confiance) :

- *Conyza miniata* Klatt **
- *Psiadia leucophylla* f. *leucophylla* *
- *Psiadia leucophylla* subsp. *leucophylla* *
- *Vernonia leucophylla* Baker **

D'après la Base Tropicos et la littérature (Humbert, 1955, 1923, 1960) :

- *Conyza miniata* Klatt
- *Vernonia leucophylla* Baker

Cette espèce n'est pas répertoriée dans le compendium des espèces végétales de l'European Food Safety Authority (EFSA, 2021).

- **Noms vernaculaires** : Aucun

- **Description morphologique** (Humbert, 1960)

P. leucophylla est un arbuste de 1,5 à 3 m de hauteur, à rameaux juvéniles costulés couverts d'un tomentum aranéeux apprimé plus ou moins caduc.

Les feuilles sont à limbe elliptique - lancéolé (6 x 2 cm environ), aigu ou obtusiuscule très finement serrulé-mucronulé sauf vers la base, à face supérieure verte, glabre ou glabrescente, ponctuée de glandes imprimées, à face inférieure couverte d'un tomentum blanc très apprimé, pennatinerve. Elles ont une nervure médiane forte, saillante en dessous, des nervures secondaires obliques-ascendantes, anastomosées et un réseau tertiaire très fin et peu apparent. Les pétioles sont canaliculés (1-2 cm).

Les fleurs sont au nombre de 15 à 40 par capitule et de couleur jaune. Les corolles des fleurs femelles sont tubuleuses, dentées au sommet et non ligulées.

Les inflorescences sont des capitules assez gros (6-7 mm de diamètre), en corymbes terminaux dépassant à peine les feuilles supérieures.

Les fruits sont des akènes pourvus de petits poils apprimés blanchâtres.

La période de floraison s'étend d'octobre à janvier.

- **Répartition géographique**

P. leucophylla pousse généralement sur les lisières de forêts ombrophyles, dans les forêts dégradées sur les sols latéritiques, d'environ 800 à 1 700 m d'altitude.

Elle a été rencontrée sur le massif de Marojejy, aux pentes occidentales et orientales, entre Mandritsara et Andilamena, au Mont Angavokely, à Angavobe près de Manjakandriana, à Andrangoloaka et au Mont Papanga de Befotaka (**Figure 14**) (Humbert, 1960).

Figure 14 : Répartition de *P. leucophylla* à Madagascar (1880-2018).
(https://www.gbif.org/species/3119735)

- **Utilisations traditionnelles**

Aucun ouvrage n'a spécifié les utilisations traditionnelles de *P. leucophylla*.

- **Travaux chimiques antérieurs et activités biologiques**

Aucune exploration chimique et biologique n'a été réalisée pour l'espèce *P. leucophylla*.

I. 2. 6. *Psiadia lucida*

Crédit ChemBioPro

- **Nom scientifique**

  - ***Psiadia lucida* (Cass.) Drake** d'après The plant List (The plant List, 2021) et la base Tropicos du Missouri Botanical Garden (Tropicos, 2021).

- **Synonymes**

D'après The Plant list (* niveau de confiance) :

- *Glycyderas lucida* (Cass.) Cass. **

D'après la Base Tropicos et la littérature (Nicolas, 2012) :

- *Conyza flexilis* DC.
- *Glycideras lucida* Cass. ex DC.
- *Glyphia lucida* Cass.
- *Microglossa sessiliflora* DC.
- *Microglossa mikanioides* Baker
- *Psiadia madagascariensis* (Lam.) DC.
- *Psiadia tortuosa* Klatt.

Cette espèce n'est pas répertoriée dans le compendium des espèces végétales de l'European Food Safety Authority (EFSA, 2021).

- **Noms vernaculaires** : Dingadingambahy, Dingadingana, Vahia, Vahiravina (Nicolas, 2012 ; Rakotonandrasana, 2013)

- **Description morphologique** (Humbert, 1960)

P. lucida est une grande liane grêle très rameuse, diffuse, à rameaux finement costulés, glabres ou parfois lâchement garnis de petits poils brun-rouille dans le haut.

Les feuilles sont sessiles entières, peu nombreuses, fines, ordinairement lancéolées-acuminées (6-8 x 2-3 cm), parfois obovées et obtuses ou étroitement lancéolées (0,8 x 8 cm), glabres ou parfois pourvues sur les deux faces d'une pubescence lâche et plus ou moins caduque comme celle des

rameaux. Elles ont une nervure médiane imprimée en dessus, saillante en dessous, des nervures latérales obliques, peu nombreuses, fines, anastomosées entre elles et avec le réseau tertiaire.

Les fleurs sont au nombre de 20 à 30 par capitule, de couleur blanc-jaunâtre. Les fleurs femelles sont à ligule petite, étroite, égalant à peu près la longueur du tube, dressée. Les anthères sont brunâtres.

Les inflorescences sont des capitules très nombreux disposés en panicules feuillées axillaires et terminales.

Les fruits sont des akènes costulés lâchement hérissés.

La période de floraison s'étend d'août à décembre.

- **Répartition géographique**

P. lucida pousse généralement dans les forêts ombrophiles, dans les forêts dégradées, aux broussailles, aux berges de rivières, du niveau de la mer jusqu'à près de 2 000 m d'altitude.

Elle a été rencontrée dans ces lieux (**Figure 15**) : vallée de la Lokoho, Sainte Marie, Fénérive, Betampona, Vatomandry, vallée de Sakaleona, Farafangana, Befotaka, Fort-Dauphin, cols du Manangotry et d'Ivolo, Mont Oniva, Mntagne d'Ambre, massif du Tsaratanana, forêts d'Analamisakana, d'Ambohitantely et d'Ankazobe, lac Alaotra, massif de l'Andrangovalo, environs de Moramanga, massif de l'Ankaratra, Fianarantsoa, sommet d'Ambondrombe, massif de l'Ikongo, massif de l'Andringitra, pic d'Ivohibe, chaîne du Vohibory, vallée d'Ihosy, massif de l'Andohahelo (Humbert, 1960).

Figure 15 : Répartition de *P. lucida* à Madagascar (1880-2019).
(https://www.gbif.org/species/3119702)

- **Utilisations traditionnelles**

Moins connue, *P. lucida* est peu utilisée en médecine traditionnelle malgache. La décoction de ses feuilles sert au soin des cheveux, facilite leur peignage, leur entretien, les font pousser et soigne la

teigne. La plante est utilisée en cataplasme sur les plaies et possède également des propriétés antiseptiques (Nicolas, 2012).

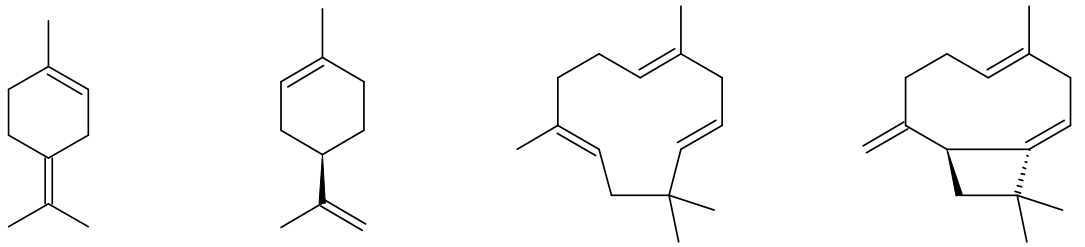
Par ailleurs, la décoction des feuilles est efficace pour traiter les infections après l'accouchement et pour traiter la diarrhée (Rakotonandrasana, 2013).

- **Travaux chimiques antérieurs**

L'espèce *P. lucida* a fait l'objet de très peu d'études chimiques. En effet, seulement deux références bibliographiques font mention de tels travaux. Les résultats de ces études sont exposés ci-après.

❖ ***Étude des composés volatils***

L'étude de l'HE de feuilles de *P. lucida* collectée à Madagascar montre que cette espèce offre un bon rendement d'extraction en HE (0,91 %). Les constituants majeurs de cette HE sont des mono- et sesquiterpènes hydrocarbonés dont les composés majoritaires sont le terpinolène (**17**) (38,0 %), le limonène (**18**) (10,2 %), l'humulène (**19**) (21,2 %) et le β-caryophyllène (**20**) (5,3 %) (Andriamanantoanina *et al.*, 2004) (**Figure 16**).



Terpinolène (17) **Limonène (18)** **Humulène (19)** **β-caryophyllène (20)**

Figure 16 : Composés volatils majoritaires de l'HE de *P. lucida* (Andriamanantoanina *et al.*, 2004).

❖ ***Étude des composés non volatils***

Un criblage phytochimique effectué sur l'extrait hydroalcoolique de *P. lucida* a permis de détecter la présence d'alcaloïdes, de saponines, de terpènes, de stérols insaturés et des traces de flavonoïdes et de quinones (Rakotoarison, 2008).

- **Activités biologiques**

Comme pour l'étude chimique, rares sont les ouvrages qui mentionnent l'étude pharmacologique de l'espèce *P. lucida* collectée à Madagascar. En effet, seule l'activité antimicrobienne a été décrite pour l'HE et pour l'extrait au solvant.

❖ ***Activité antimicrobienne***

L'HE de *P. lucida* a démontré des activités antimicrobiennes intéressantes sur les bactéries Gram (+) : *Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Bacillus subtilis* et sur les bactéries Gram (-) : *Escherichia coli, Shigella boydii, Salmonella* sp. La mesure des diamètres d'inhibition a montré des valeurs entre 9 et 17 mm (Andriamanantoanina *et al.*, 2004).

L'extrait hydroalcoolique des feuilles de *P. lucida* possède une activité antimicrobienne envers *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa, Alkalescens dispar* et *Shigella boydii* avec des diamètres d'inhibition entre 8 et 20 mm. La forte activité relevée vis-à-vis de *Shigella boydii* (d = 22 mm) justifierait son utilisation pour traiter la diarrhée (Rakotoarison, 2008).

I. 2. 7. *Psiadia salviifolia*

Crédit ChemBioPro

- **Nom scientifique**

  - *Psiadia salviifolia* Baker d'après The plant List (The plant list, 2021) et la base Prota4U (Prota4U, 2021).

- **Synonyme**

D'après The Plant List (* niveau de confiance) :

- *Psiadia catatii* Drake **
- *Psiadia salviifolia* subsp. *salviifolia* *

D'après la base Tropicos (Tropicos, 2021) :

- *Psiadia salviifolia* subsp. *mandrarensis* Humbert
- *Psiadia salviifolia* subsp. *salviifolia*

D'après la Base Prota4U et la littérature (Humbert, 1960) :

- *Psiadia catatii* Drake

Cette espèce n'est pas répertoriée dans le compendium des espèces végétales de l'European Food Safety Authority (EFSA, 2021).

- **Noms vernaculaires** : Kijintina, Kijitina, Kizitina (gluant, collant) (Andrianarison *et al.*, 2015 ; Humbert, 1923)

- **Description morphologique** (Andrianarison *et al.*, 2015b ; Humbert, 1960)

P. salviifolia est un arbuste de 0,50 à 5 m de hauteur, à jeunes rameaux feuillés densément pubescents-hérissés.

Les feuilles sont visqueuses, nettement pétiolées, assez grandes, à limbe lancéolé, aigu. Elles sont 4 à 6 fois plus long que large (4-8 cm x 1-2 mm), brièvement, mais densément pubescentes sur les deux faces, vertes sur les deux faces et serrulées. Elles possèdent de nombreuses nervures secondaires.

Les fleurs sont de couleur jaune pâle et peu apparentes (0,5 mm). Les fleurs femelles sont à ligules très petites.

Les inflorescences sont des capitules de 4 mm de diamètre.

Les fruits sont des akènes glabres.

La période de floraison s'étend d'août à novembre.

- **Répartition géographique**

P. salviifolia pousse généralement dans les buissons et rocailles entre 1 200 et 2 000 m d'altitude.

Elle a été rencontrée dans les communes de Tananarive et de Fianarantsoa, au massif d'Ankaratra, aux environs de Faratsiho, à Antsirabe, au cratère du Tritriva, au pic de Vohimalaza près de Betafo (**Figure 17**) (Boiteau, 1999 ; Pernet, 1957).

Figure 17 : Répartition de *P. salviifolia* à Madagascar (1924-2018).
(https://www.gbif.org/species/8970674)

- **Utilisations traditionnelles**

Les feuilles de *P. salviifolia* sont utilisées en médecine traditionnelle comme remède contre la diarrhée, les maux d'estomac et les parasites intestinaux. Elles sont utilisées également pour traiter la gale (Rakotondrafara *et al.*, 2018).

L'espèce est reconnue aussi comme antidote aux morsures d'insectes et comme vermifuge avec administration d'un verre, le matin, à jeun de l'infusion des feuilles, concentrée à la moitié environ de son volume. Cette administration est accompagnée ensuite d'un purgatif (Pernet, 1964). Les feuilles sont également utilisées pour soulager les maux de dents, guérir l'incontinence des enfants ainsi que les maux de ventre (Andrianarison *et al.*, 2015 ; Pernet, 1957). Les jeunes feuilles et les pousses recouvertes d'un enduit visqueux sont écrasées pour préparer des emplâtres maturatifs sur les furoncles (Descheemaeker, 1979).

L'infusion amère et aromatique de la plante, jouissant d'une grande réputation officinale, est utilisée dans le traitement des affections des voies respiratoires. On l'utilise aussi en inhalation (Pernet, 1964).

La partie aérienne est utilisée pour traiter la dysenterie (Heckel, 1910) et l'hypertension (Dennis, 1973 ; Pernet, 1957 ; Steinmetz, 1961).

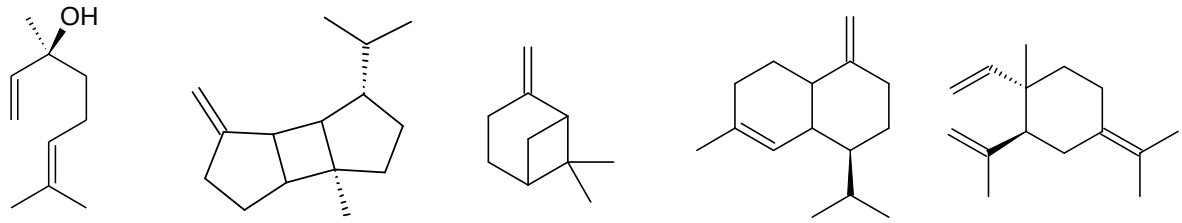
D'autres données de la littérature révèlent que l'association de *P. salviifolia* avec d'autres plantes médicinales, telles que *Cajanus indicus*, *Passiflora incarnata, Helichrysum faradifani* et *Brachylaena ramiflora,* est un puissant antidiabétique (Debray, 1975). La décoction de tiges et de feuilles de cette espèce, en mélange avec *Cussonia bojeri, Mystroxylon aethiopicum, Helichrysum gymnocephalum, Ligodium lanceolatum,* est utilisée pour traiter les troubles hépatiques (Dennis, 1973 ; Razafindrambao, 1971).

- **Travaux chimiques antérieurs**

Quelques études chimiques ont déjà été menées sur les HE et les composés non volatils de *P. salviifolia* collectée à Madagascar. Les résultats de ces études sont présentés ci-après.

❖ ***Étude des composés volatils***

La première étude de l'HE de *P. salviifolia* a montré que cette dernière est composée de 15 % de monoterpènes, de 69,4 % de sesquiterpènes et de 15,3 % de diterpènes. L'ouvrage n'a pas mentionné en détails tous les composés présents dans l'HE ainsi que leurs pourcentages respectifs. Cependant, nous pouvons noter la présence d'un mélange de linalol **(21)** et de β-bourbonène **(22)** (10,69 %), du β-pinène **(1)** (4,62 %), du ɤ-cadinène **(23)** (3,84 %), du ɤ-élémène **(24)** (2,67 %) et du limonène **(18)** (2,11 %) dans l'HE (Dennis, 1973) (**Figure 18**).

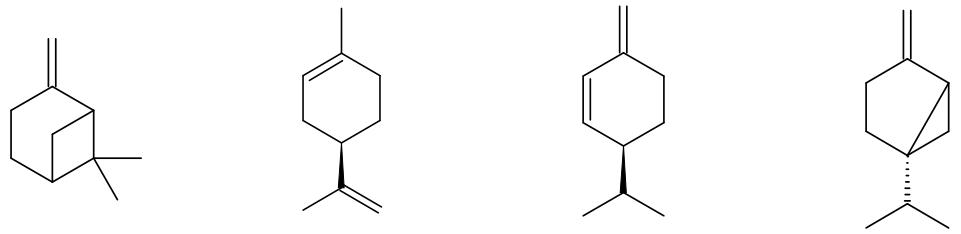


Linalol (21) **β-bourbonène (22)** **β-pinène (1)** **ɤ-cadinène (23)** **ɤ-élémène (24)**

Figure 18 : Composés volatils présents dans l'HE de *P. salviifolia* (Dennis, 1973).

Une autre étude des HE de *P. salviifolia* a montré un rendement de 0,18 % pour les feuilles et de 0,15 % pour les fleurs (Andrianarison *et al.*, 2015a). Les HE de feuilles et de fleurs sont caractérisées majoritairement d'hydrocarbures terpéniques à 92,3 % et à 95,1 % respectivement. Elles ne possèdent que de très faibles teneurs en composés oxygénés. Ces HE sont composées essentiellement de β-

pinène **(1)** (21,4 à 22,1 %), de limonène **(18)** (19,9 à 28,0 %), de β-phellandrène **(25)** (10,4 à 10,6 %) et de sabinène **(26)** (9,6 à 9,7 %) (Andrianarison *et al.*, 2015a) (**Figure 19**).



β-pinène (1) **Limonène (18)** **β-phellandrène (25)** **Sabinène (26)**

Figure 19 : Composés volatils majoritaires de l'HE de *P. salviifolia* (Andrianarison *et al*., 2015a).

La composition chimique des HE de fleurs et de feuilles est quelque peu variable. Leurs différences concernent les composés minoritaires (<2 %), mais aussi le *p*-cymène qui se trouve à 3,1 % dans l'HE des fleurs mais qui est pratiquement absent dans l'HE de feuille, et le β-caryophyllène qui se trouve 3,33 % dans l'HE des feuilles et qui est à teneur moindre dans l'HE de fleur (1,63 %) (Andrianarison *et al.*, 2015a).

❖ ***Étude des composés non volatils***

Un criblage phytochimique d'extrait méthanolique de l'espèce *P. salviifolia* a révélé la présence de flavonoïdes, de tanins condensés et de stérols insaturés dans tous les organes de la plante. Les tiges et les racines contiennent, en outre, des terpénoïdes (Andrianarison *et al.*, 2015b).

- **Activités biologiques**

Comme l'espèce *P. lucida*, seule l'activité antimicrobienne a été décrite pour l'espèce *P. salviifolia* collectée à Madagascar. Les résultats de ces tests pour l'HE et pour l'extrait au solvant sont présentés ci-après.

❖ ***Activités antimicrobienne et antifongique***

Les résultats des tests antimicrobiens et antifongiques effectués sur les HE des feuilles et des fleurs de *P. salviifolia* ont montré que les souches Gram (+) : *Enterococcus faecalis* et Gram (-) : *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* sont sensibles à l'HE des feuilles avec des diamètres d'inhibition de 8, 11 et 10 mm respectivement. Les souches Gram (+) : *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* et Gram (-) : *Escherichia coli* et *Salmonella typhii* sont sensibles à l'HE des fleurs. Leurs diamètres d'inhibition sont 8, 11, 10 et 9 mm respectivement (Andrianarison *et al.*, 2015a).

La souche fongique *Candida albicans* s'est montrée sensible à l'HE de feuilles. En effet, l'antibiogramme des HE, réalisé par la méthode de diffusion sur disque a montré un diamètre d'inhibition égal à 9 mm (Andrianarison *et al.*, 2015a).

L'extrait méthanolique provenant des feuilles de *P. salviifolia* a présenté une activité antimicrobienne envers les bactéries Gram (+) : *Enterococcus feacalis, Streptococcus pneumoniae* et Gram (-) : *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres d'inhibition respectivement égaux à 9, 9, 9, 8 et 11 mm. L'extrait méthanolique provenant des fleurs a manifesté une activité antimicrobienne envers les bactéries *Enterococcus feacalis, Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres d'inhibition égaux à 10,12, 9 et 9 mm respectivement (Andrianarison *et al.*, 2015b).

La souche fongique *Candida albicans*, quant à elle, s'est avérée très sensible à l'extrait méthanolique de feuilles de *P. salviifolia* avec un diamètre d'inhibition égal à 10 mm (Andrianarison *et al.*, 2015b).

Partie II

Étude comparative des composés volatils des espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar

La composition chimique d'une huile essentielle (HE) peut varier en fonction de divers paramètres telles que les caractéristiques propres du matériel végétal, sa localité ainsi que les techniques d'extraction des composés volatils. Durant la thèse de K. Mahadeo (Laboratoire ChemBioPro), une étude comparative de la composition chimique des HE a déjà été réalisée sur 11 espèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion (Mahadeo, 2018).

Dans le cadre de cette thèse, une étude similaire a été entreprise sur les espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar. L'objectif est de comparer les espèces entre elles et de chercher les marqueurs chimiques pour chacune d'entre elles. Cette étude s'appuie sur une analyse qualitative et quantitative des constituants de l'HE de chaque espèce.

II. 1. Collecte et identification

La collecte des espèces du genre Psiadia sélectionnées dans le cadre de cette thèse a été réalisée en collaboration avec :

- *le Missouri Botanical Garden (MBG), un organisme de recherche et de conservation de la flore à Madagascar avec l'aide des botanistes : M. Richard RANDRIANAIVO et M. Richard RAZAKAMALALA,*
- *l'École Supérieure Polytechnique de l'Université d'Antananarivo, représentée par : Mme le Professeure Jocelyne RASOLONDRAMANITRA, M. André RAZAFIMANDEFITRA et M. José RAKOTOANDRIANOMANANA.*

Pour l'étude comparative des composés volatils des espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar, une campagne de collecte a été réalisée pendant la période de floraison des plantes entre octobre 2018 et janvier 2019. Cette collecte a été axée sur les Routes Nationales N°7 et N°2 de Madagascar. Les différentes zones de collecte des 5 espèces sélectionnées sont présentées dans la **figure 20** et les détails de la collecte des espèces étudiées sont présentés dans le **Tableau I - Annexe I - Tome II - page 4**.

Notons toutefois que deux espèces ont été collectées sur différentes zones géographiques de Madagascar afin de débuter une analyse de la variabilité de la composition chimique de ces espèces selon la zone géographique. Il s'agit de *P. altissima* collectée sur deux sites : Ambositra et Moramanga et *P. lucida* collectée sur trois sites : Ankaratra, Angavokely et Andasibe.

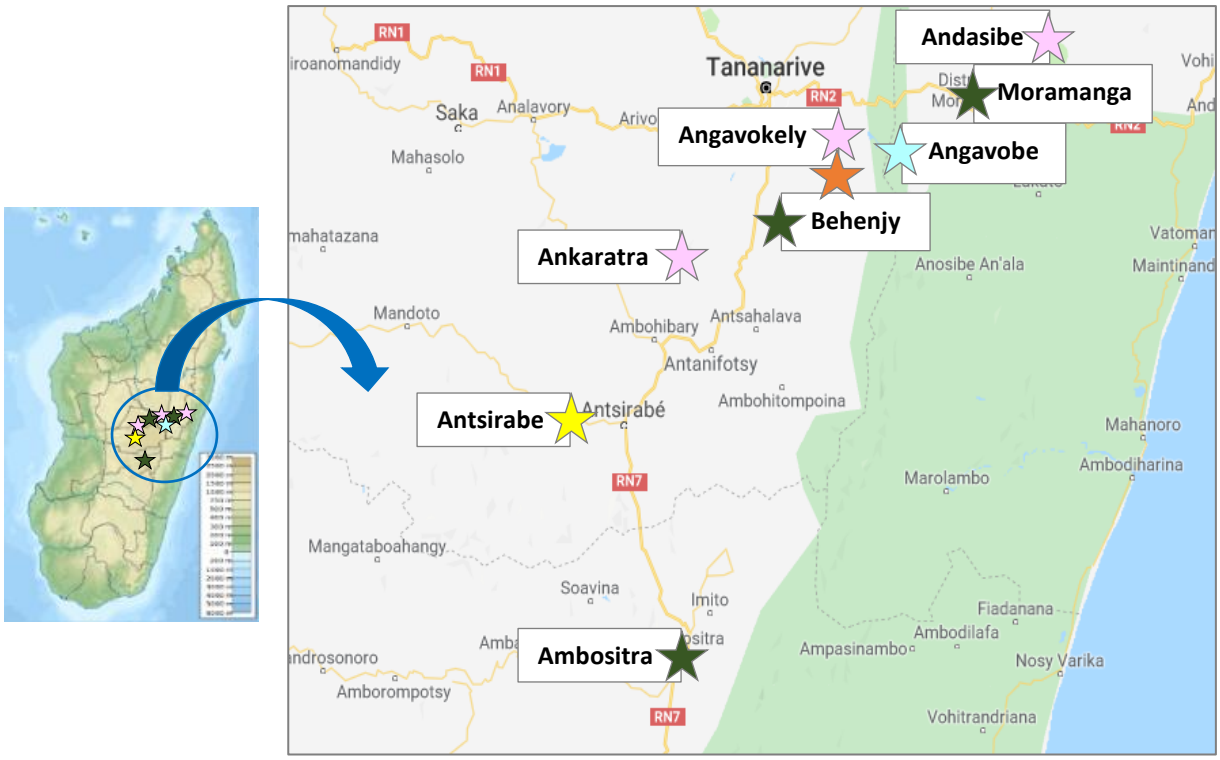


Figure 20 : Zones de collecte à Madagascar des 5 espèces du genre *Psiadia* sélectionnées.

★ *P. altissima*, ★ *P. hispida*, ☆ *P. leucophylla*, ☆ *P. lucida*, ☆ *P. salviifolia*

Un échantillon de chaque espèce collectée a été déposé à l'herbier national TAN du Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza à Antananarivo, Madagascar. Les autres échantillons ont été envoyés au Laboratoire de chimie de l'École Supérieure Polytechnique d'Antananarivo, Madagascar et à l'Herbier de l'Université de La Réunion. Les numéros d'herbier de Madagascar et de La Réunion pour chaque échantillon sont présentés dans le **Tableau I - Annexe I - Tome II - page 4**.

II. 2. Obtention des HE

Les HE ont été obtenues par hydrodistillation des feuilles à l'aide d'un appareil de type Clevenger après 24 h de collecte. Elles ont été recueillies après décantation du distillat puis séchées avec du sulfate de sodium Na_2SO_4. Les rendements des extractions ont été obtenus en faisant le rapport entre la masse de l'HE obtenue et la masse des feuilles fraîches introduites dans le ballon (**Tableau II - Annexe II - Tome II - page 6**). Les HE obtenues ont été ensuite conservées au froid à 4 °C avant leurs analyses.

Les différents rendements en HE sont présentés dans la **figure 21**.

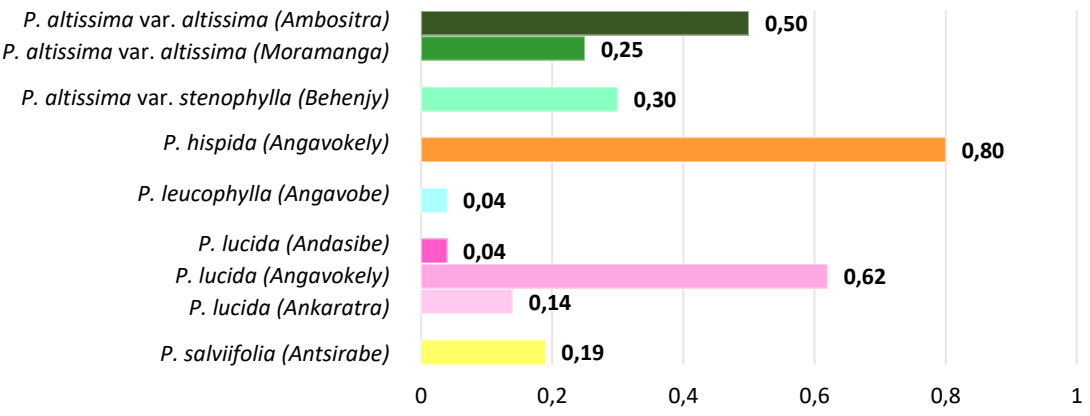


Figure 21 : Histogramme présentant les rendements des HE des espèces du genre *Psiadia* de Madagascar.

D'après ces résultats, les rendements en HE des espèces malgaches étudiées sont très variables, allant de 0,04 % pour *P. leucophylla* et *P. lucida* collectée à Andasibe à 0,80 % pour *P. hispida.*

Concernant l'espèce ***P. altissima* var. *altissima***, le lieu de collecte semble avoir une influence sur le rendement en HE : 0,25 % pour le spécimen collecté à Moramanga et 0,50 % pour celui collecté à Ambositra. Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse sont cohérents avec ceux de la littérature. En effet, des études antérieures sur l'HE de feuilles de cette même espèce ont donné des valeurs de rendement variant de 0,13 à 0,70 % (Rakotomalala, 2014 ; Ramanoelina *et al.*, 1994).

Le rendement en HE de ***P. altissima* var. *stenophylla*** (0,30 %) se rapproche du rendement en HE de la variété *altissima* collectée à Moramanga (0,25 %). Notons qu'aucun ouvrage dans la littérature ne mentionne l'étude de l'HE de cette variété de *P. altissima*.

Avec un rendement de 0,80 %, ***P. hispida*** offre le rendement le plus important de toutes les espèces du genre *Psiadia* de Madagascar étudiées. Il est à noter qu'aucune publication ne fait mention d'études antérieures sur l'HE de cette espèce.

P. leucophylla, quant à elle, donne un rendement très faible égal à 0,04 %. Comme pour *P. hispida*, il semble que l'HE de cette espèce soit étudiée pour la première fois.

Les rendements en HE de ***P. lucida*** sont variables. L'espèce collectée à Angavokely affiche le rendement le plus important, égal à 0,62 %. Les rendements sur les deux autres sites de collecte restent très faibles : 0,04 % pour le spécimen d'Andasibe et 0,14 % pour le spécimen d'Ankaratra. Il est à souligner que *P. lucida* était en fleurs lors de la collecte à Ankaratra, ce n'était pas le cas lors de la collecte de cette espèce à Angavokely et Andasibe. Notons également que le spécimen trouvé à Andasibe présentait des feuilles plus épaisses et de couleur plus foncée que celle des specimens rencontrés à Angavokely et Ankaratra. Ces variations morphologiques et phénologiques observées sur le terrain ainsi que l'habitat du végétal peuvent avoir une influence sur le rendement de l'HE du spécimen et ce rendement peut diminuer au cours du développement du végétal. Il est à noter que

dans la littérature, il est mentionné un rendement en HE égal à 0,91 % pour un lieu de collecte près d'Andasibe (Andriamanantoanina *et al.*, 2004).

Le rendement en HE de ***P. salviifolia***, égal à 0,19 %, confirme celui obtenu dans le cadre d'une étude antérieure pour laquelle la teneur en HE était de 0,18 % (Andrianarison *et al.*, 2015a).

II. 3. Analyse chimique des HE

La connaissance de la composition chimique d'une HE est nécessaire pour contrôler sa qualité en vue de la commercialisation du produit et de la détection des fraudes, pour apprécier l'influence de certains facteurs sur sa composition ou encore pour y déceler une éventuelle spécificité pour une valorisation.

De manière schématique, il existe 3 types de démarches pour l'analyse des HE. La première est la méthode chromatographique en phase gazeuse procédant par individualisation et quantification des composés du mélange (Tranchant *et al.*, 1995). Il s'agit de l'analyse qualitative par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) et quantitative par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG-DIF). Les temps de rétention peuvent donner une information sur la nature des molécules et la surface des pics fournit une quantification relative. Il s'agit de la méthode conventionnelle d'analyse des HE.

La seconde méthode est préconisée lorsque certains constituants de l'HE ont une structure nouvelle ou n'ont pas été identifiés à partir des bases de données de la chromatographie en phase gazeuse. Deux étapes sont nécessaires : une purification des composés par différentes techniques chromatographiques, suivie d'une analyse structurale s'appuyant sur la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) mono- et bidimensionnelle et la Spectrométrie de Masse Haute Résolution (SMHR).

La troisième méthode, plus récente, fait appel à la RMN du carbone 13 (RMN ^{13}C), une approche ne nécessitant pas d'individualisation préalable des constituants. Le principe de cette méthode repose sur la comparaison des déplacements chimiques des carbones du mélange avec ceux de composés purs contenus dans une bibliothèque de spectres de référence (Bradesi *et al.*, 1996 ; Ottavioli, 2009). L'identification de chaque atome de carbone permet la reconstitution des molécules majoritaires formant l'HE (Rakotomalala, 2014). Il est donc nécessaire que l'enregistrement du spectre du mélange et des spectres des composés de référence soit réalisé dans des conditions expérimentales optimisées et standardisées afin de permettre une bonne reproductibilité des résultats obtenus. Cette technique peut également être employée pour la quantification des constituants (Nam, 2014).

Seules les descriptions de la première et de la deuxième méthode sont présentées ici. Ce sont celles qui ont été adoptées pour l'analyse de nos échantillons.

II. 3. 1. Méthodes d'analyses des HE

II. 3. 1. 1. Analyse qualitative des HE

L'analyse qualitative des HE a été réalisée par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG-SM) sur une colonne apolaire (SPB-5). Cette analyse a permis d'accéder, d'une part, au spectre de masse de chacun des constituants de l'HE et d'autre part, aux indices de rétention relatifs (IRR). Le calcul de ces derniers repose sur la comparaison des temps de rétention des constituants à ceux de deux alcanes linéaires consécutifs. Le calcul a été fait en programmation de température, par interpolation linéaire selon l'équation suivante (Van Den Dool & Dec. Kratz, 1963).

$$IRR = 100 \times [n + \frac{t(X) - t(C_n)}{t(C_{n+1}) - t(C_n)}]$$

- X : composé à identifier
- C : hydrocarbure
- n et n+1 : nombre d'atomes de carbone des deux paraffines qui encadrent le composé X
- t(X): temps de rétention du composé X
- $t(C_n)$ et $t(C_{n+1})$: temps de rétention des deux paraffines encadrant le composé X

Les IRR calculés et les spectres de masses ont été comparés à ceux de la littérature (Adams, 2001, 2017) et des bases de données informatisées Nist02 et Wiley7n.

II. 3. 1. 1. Analyse quantitative des HE

Le principe de l'analyse quantitative d'une HE est de déterminer le pourcentage de chaque constituant présent dans l'HE. En d'autres termes, le pourcentage, relatif de chaque signal par rapport à l'ensemble des signaux du mélange analysé, sera déterminé.

Pour cela, l'HE a été injectée en chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG-DIF) sur une colonne apolaire (SPB-5). Une mesure de l'aire des pics effectuée à l'aide d'une intégration automatique permet d'accéder alors à la teneur de chaque constituant de l'HE.

II. 3. 1. 2. Isolement et identification de composés par RMN

Les composés qui n'ont pu être identifiés par leur IRR et l'étude de leur spectre de masse ont été isolés et purifiés par chromatographie liquide puis identifiés par RMN. Différentes techniques de RMN monodimensionnelle (^1H, ^{13}C), bidimensionnelle homonucléaire (^1H-^1H COSY, ^1H-^1H NOESY) et hétéronucléaire (^1H-^{13}C HSQC, ^1H-^{13}C HMBC) ont été utilisées.

II. 3. 1. 3. Synthèse

La procédure générale de l'analyse et de la caractérisation des HE est représentée dans la **figure 22**.

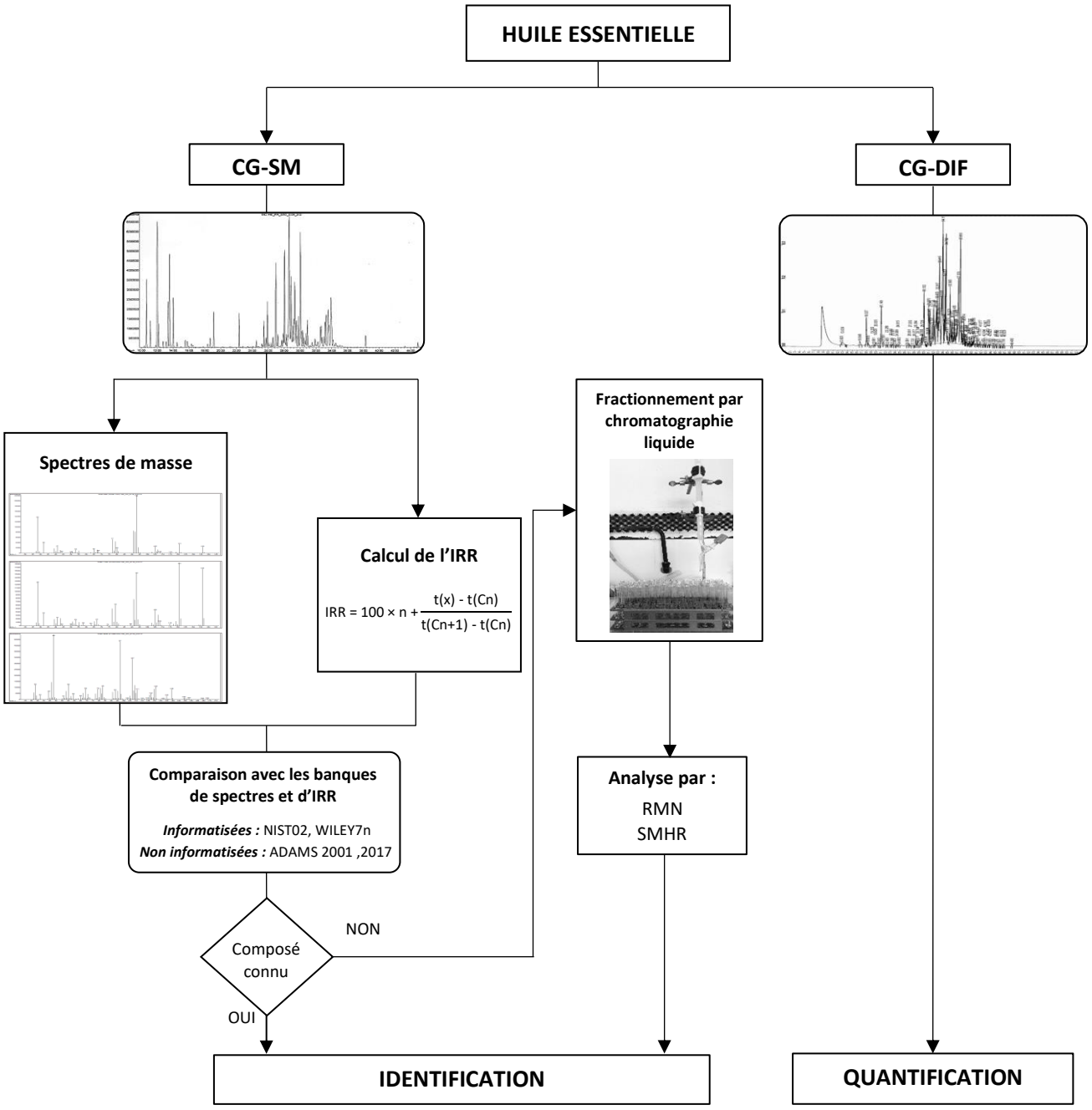
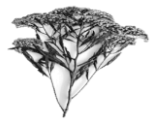


Figure 22 : Procédure générale d'analyse et de caractérisation des composés volatils d'une HE.

II. 3. 2. Résultats des analyses chimiques

II. 3. 2. 1. Analyse chimique de l'HE de *P. altissima* var. *altissima*

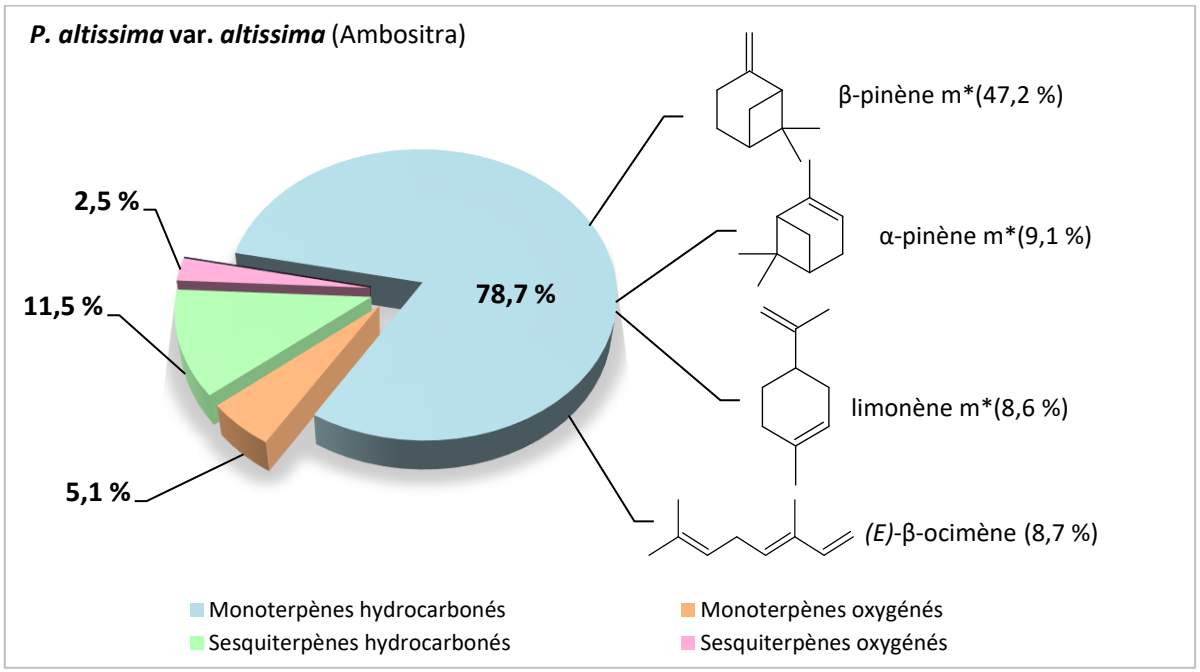


P. altissima* var. *altissima

Les résultats de l'analyse des HE des feuilles de *P. altissima* var. *altissima* collectées à Ambositra et Moramanga sont donnés dans le **Tableau III - Annexe II - Tome II - pages 9-12**.

❖ **Lieu de collecte : Ambositra**

La **figure 23** permet de visualiser la répartition des constituants de l'HE de *P. altissima* var. *altissima* collectée à Ambositra par famille chimique.



m*() = composé majoritaire du mélange

Figure 23 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. altissima* var. *altissima* (Ambositra).

L'étude de la composition chimique de l'HE de ***P. altissima* var. *altissima*** collectée à **Ambositra** a conduit à l'identification de 71 composés représentant 97,8 % de la composition chimique globale de l'HE. Les hydrocarbures en sont les composés majoritaires. Ils se répartissent en hydrocarbures monoterpéniques (78,7 %) et sesquiterpéniques (11,5 %). L'HE est caractérisée par un pourcentage élevé en β-pinène (47,2 %), α-pinène (9,1 %), *(E)*-β-ocimène (8,7 %) et limonène (8,6 %).

❖ **Lieu de collecte : Moramanga**

La répartition des constituants de l'HE de *P. altissima* var. *altissima* collectée à Moramanga par famille chimique est présentée dans la **figure 24**.

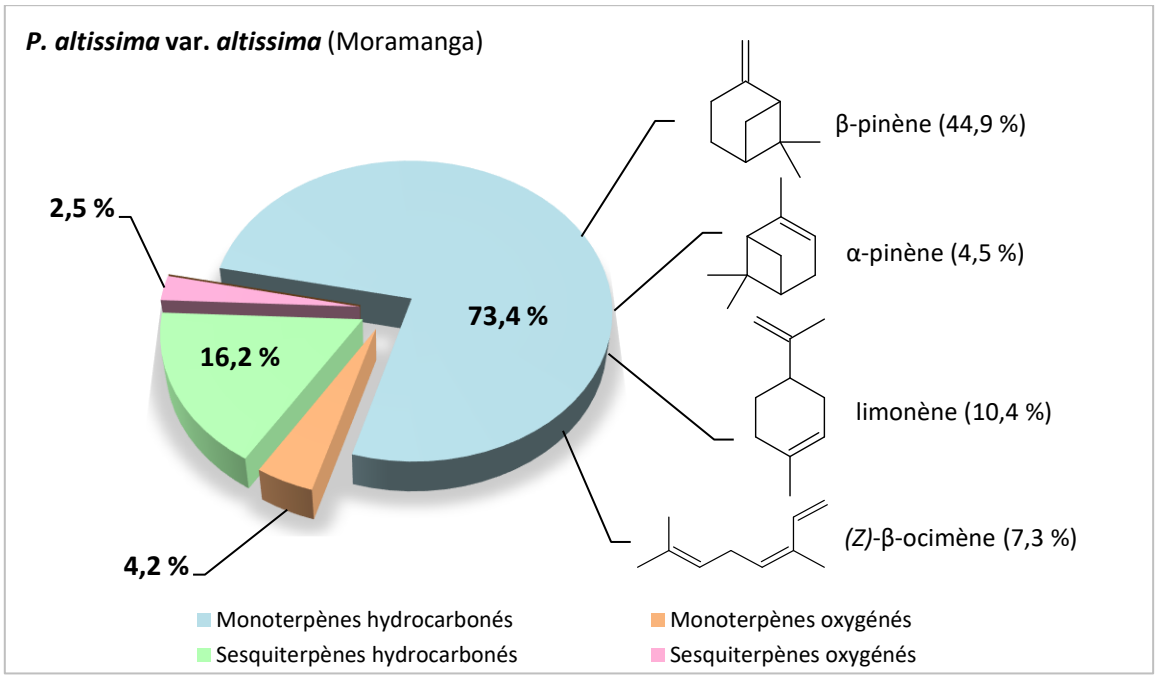


Figure 24 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. altissima* var. *altissima* (Moramanga).

L'analyse de l'HE de ***P. altissima* var. *altissima*** collectée à **Moramanga** a donné lieu à l'identification d'un total de 68 composés représentant 96,3 % de l'HE. Elle est composée majoritairement de monoterpènes hydrocarbonés (73,4 %) et de sesquiterpènes hydrocarbonés (16,2 %). Les composés prédominants dans l'HE sont le β-pinène (44,9 %), le limonène (10,4 %), le *(Z)*-β-ocimène (7,3 %) et l'α-pinène (4,5 %).

Toutefois, entre les deux lieux de collecte (Ambositra et Moramanga), on observe peu de variabilité qualitative et quantitative de la composition chimique de l'HE. On peut donc dire que l'habitat n'a probablement pas d'influence sur la composition chimique de l'HE de *P. altissima* var. *altissima.*

II. 3. 2. 2. Analyse chimique de l'HE de *P. altissima* var. *stenophylla*

P. altissima* var. *stenophylla

Les résultats de l'analyse des HE des feuilles de *P. altissima* var. *stenophylla* collectées à Behenjy sont donnés dans le **Tableau IV - Annexe II - Tome II - pages 14-16**.

La répartition par familles chimiques des constituants de l'HE de feuilles de *P. altissima* var. *stenophylla* est présentée dans la **figure 25**.

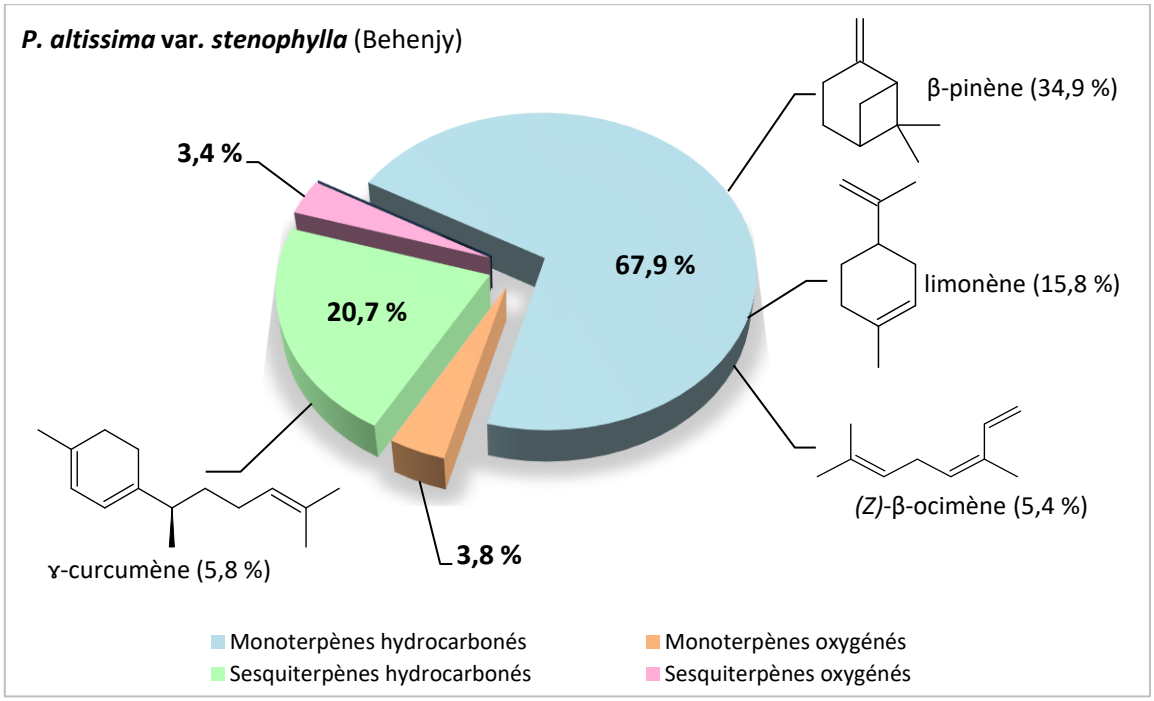


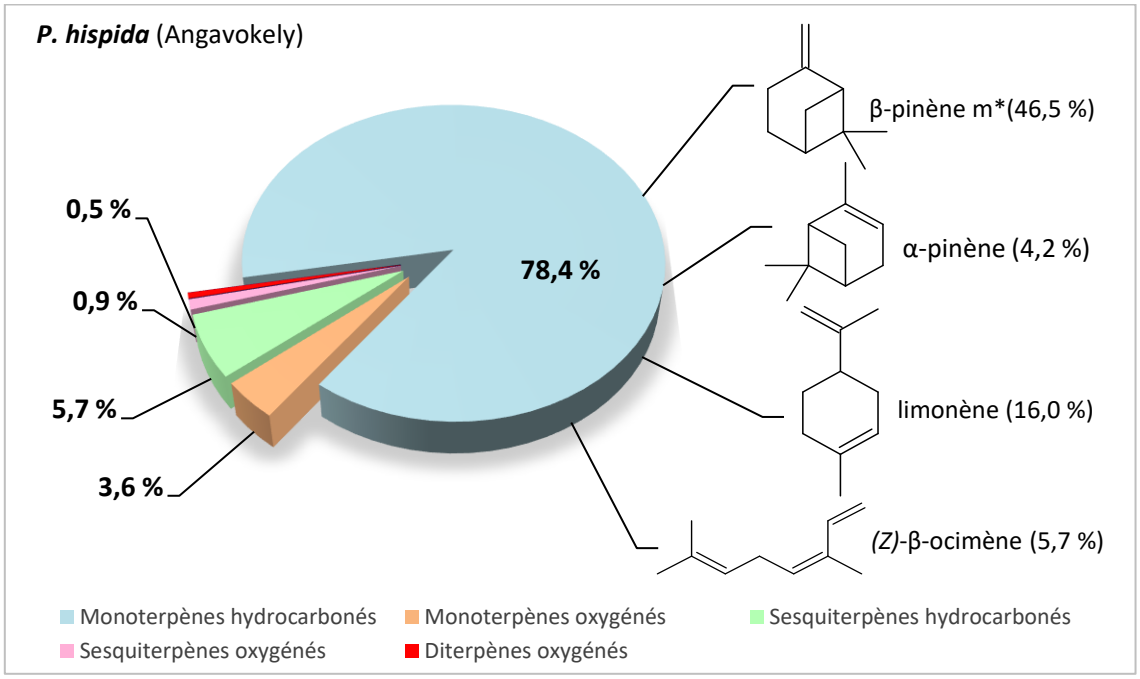
Figure 25 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. altissima* var. *stenophylla* (Behenjy).

La variété ***stenophylla*** présente une composition chimique relativement proche de la variété *altissima.* 63 composés ont été identifiés constituant 95,8 % de l'HE. Comme pour la variété *altissima*, l'HE se caractérise par une forte teneur en monoterpènes hydrocarbonés (67,9 %) et sesquiterpènes hydrocarbonés (20,7 %). Les composés majoritaires de l'HE sont le β-pinène (34,9 %), le limonène (15,8 %), le ɤ-curcumène (5,8 %) et le *(Z)*-β-ocimène (5,4 %) suivis du camphène (4,8 %) et de l'α-pinène (4,7 %). Il est également à noter que le ɤ-humulène (3,7 %), le *(E)*-β-guaiène (2,3 %) et le β-caryophyllène (2,3 %), bien présents dans la variété *stenophylla,* sont de quantités faibles, voire quasiment absents dans la variété *altissima.*

II. 3. 2. 3. Analyse chimique de l'HE de *P. hispida*

Les résultats de l'analyse de l'HE de *P. hispida* collectées à Angavokely sont donnés dans le **Tableau V - Annexe II - Tome II - pages 18-19**.

La **figure 26** présente la répartition des constituants de l'HE de *P. hispida* par famille chimique.

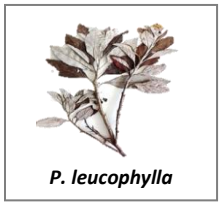


m*() = composé majoritaire du mélange

Figure 26 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. hispida* (Angavokely).

L'étude de l'HE de ***P. hispida*** a donné lieu à l'identification d'un total de 45 composés soit 89,1 % de sa composition chimique. Un pourcentage élevé de monoterpènes hydrocarbonés (78,4 %) a été observé. Quatre composés sont prédominants dans l'HE. Il s'agit du β-pinène (46,5 %), du limonène (16,0 %), du *(Z)*-β-ocimène (5,7 %) et de l'α-pinène (4,2 %). Cette composition est proche de celle de l'espèce *P. altissima* dans laquelle ces composés majoritaires ont été retrouvés.

II. 3. 2. 4. Analyse chimique de l'HE de *P. leucophylla*



La composition chimique de l'HE des feuilles de *P. leucophylla* collectée à Angavobe est décrite dans le **Tableau VI - Annexe II - Tome II - pages 21-23**.

La répartition des constituants de l'HE de *P. leucophylla* par famille chimique est présentée dans la **figure 27**.

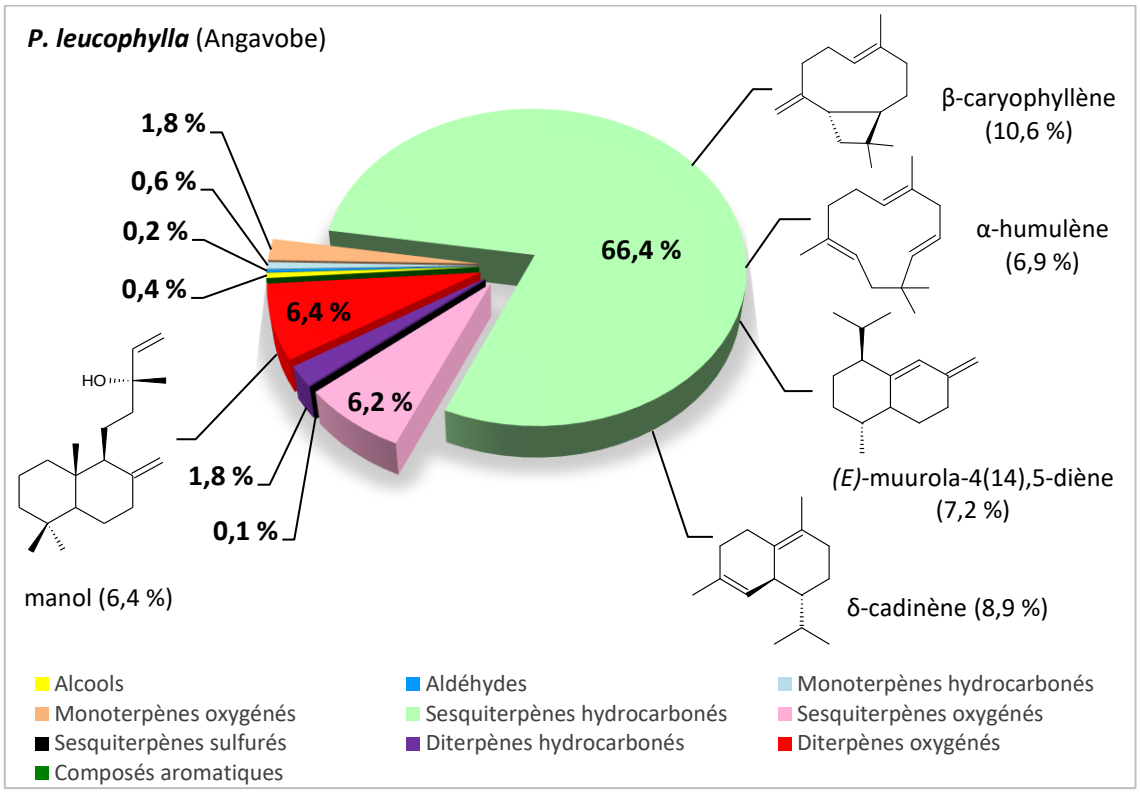
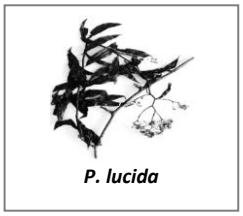


Figure 27 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. leucophylla* (Angavobe).

L'espèce ***P. leucophylla*** a une composition chimique très différente de celle des autres espèces malgaches étudiées. 53 composés, représentant 84,0 % de la composition chimique de l'HE ont été identifiés et plusieurs composés minoritaires demeurent non identifiés. Une grande diversité des familles chimiques a été observée dans l'HE. Cette dernière est constituée majoritairement de sesquiterpènes hydrocarbonés (66,4 %). Elle contient également 6,4 % de diterpènes oxygénés et 6,2 % de sesquiterpènes oxygénés. Les principaux constituants qui caractérisent l'HE sont le β-caryophyllène (10,6 %), le δ-cadinène (8,9 %), le *(E)*-muurola-4(14),5-diène (7,2 %), l'α-humulène (6,9 %) et le manol (6,4 %).

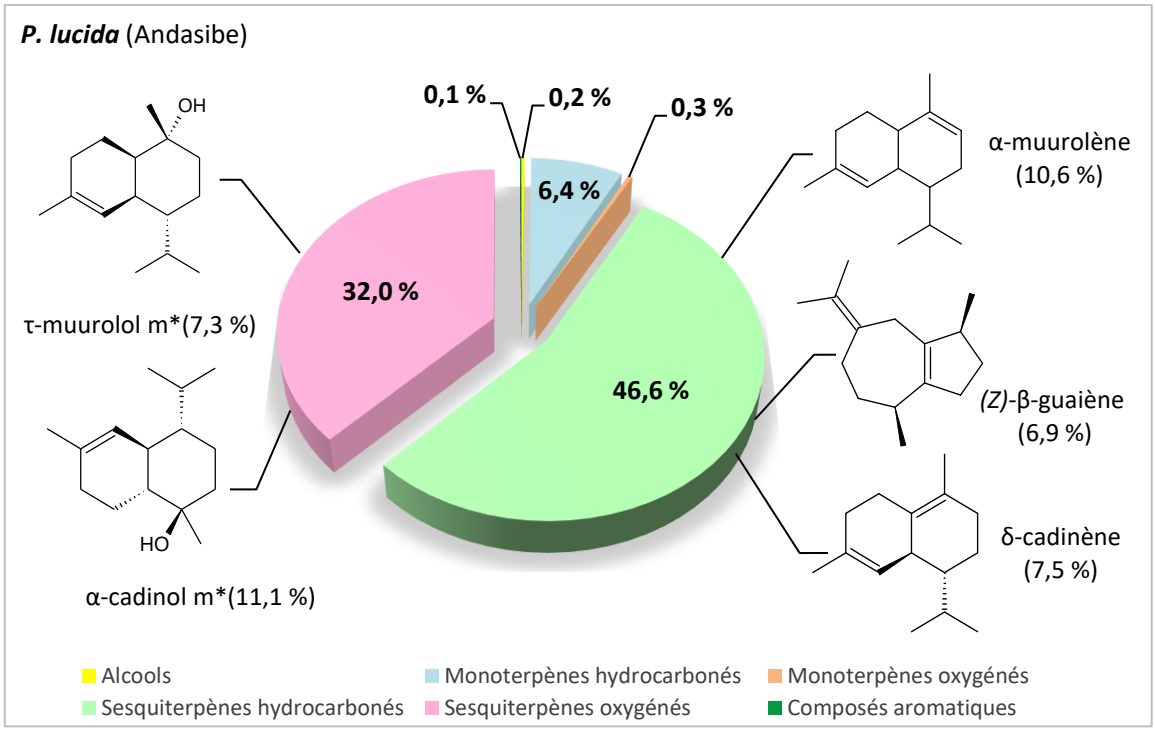
II. 3. 2. 5. Analyse chimique de l'HE de *P. lucida*



La composition chimique des HE des feuilles de *P. lucida* collectées à Andasibe, Angavokely et Ankaratra est présentée dans le **Tableau VII - Annexe II - Tome II - pages 27-31**.

❖ **Lieu de collecte : Andasibe**

La répartition des constituants de l'HE de *P. lucida* collectée à Andasibe par famille chimique est présentée dans la **figure 28**.



m*() = composé majoritaire du mélange

Figure 28 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. lucida* (Andasibe).

L'analyse de l'HE de ***P. lucida*** collectée à **Andasibe** a permis d'identifier 69 composés représentant 85,6 % de l'HE. Le regroupement des constituants par famille chimique a montré que cette HE est caractérisée par une teneur élevée en sesquiterpènes hydrocarbonés (46,6%) et oxygénés (32,0 %). Quelques composés sont présents dans des pourcentages relativement élevés. Il s'agit de l'α-cadinol (11,1 %), de l'α-muurolène (10,6 %), du δ-cadinène (7,5 %), du τ-muurolol (7,3 %) et du *(Z)*-β-guaiène (6,9 %).

❖ **Lieu de collecte : Angavokely**

L'étude de la composition chimique de l'HE de ***P. lucida*** collectée à **Angavokely** par CG-SM et par CG-DIF a conduit à l'identification de 53 composés constituant 61,9 % de l'HE. Cependant, deux composés majoritaires représentant au total 35,3 % de la composition chimique de l'HE n'ont pu être identifiés par spectrométrie de masse, soit 21,3 % pour le composé **1** et 13,4 % pour le composé **2**. Afin de caractériser ces composés majoritaires, des étapes de fractionnement et de purification ont été entreprises suivies de leur élucidation structurale par RMN.

▪ **Fractionnement de l'HE**

L'HE de *P. lucida* provenant d'Angavokely a donc été fractionnée par chromatographie successive sur colonnes ouvertes en phase normale éluée au moyen d'un gradient isohexane/AcOEt de polarité croissante. 1 g de cette HE a été fractionnée et cette purification a conduit à l'obtention des deux composés à hauteur de 4,4 mg (composé **1**) et 0,9 mg (composé **2**). L'isolement de ces deux composés est illustré dans la **figure 29** ci-après. La pureté de ces deux composés a été contrôlée par une analyse en CG-SM.

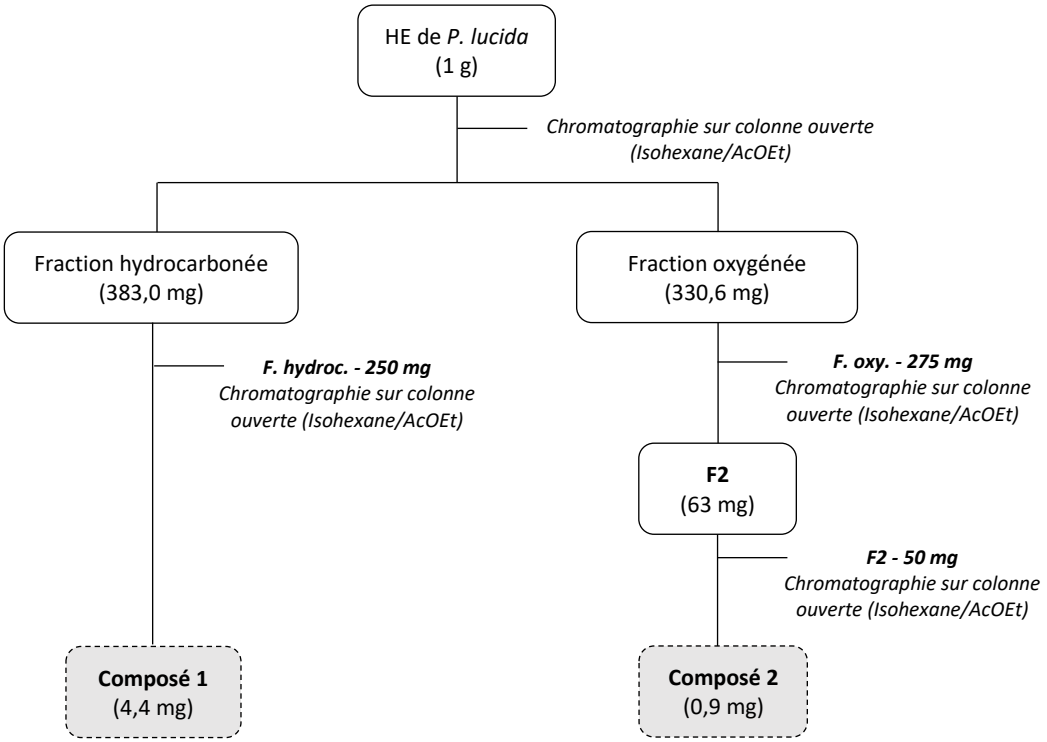


Figure 29 : Fractionnement de l'HE de *P. lucida* collectée à Angavokely pour l'isolement des composés **1** et **2**.

▪ **Élucidation structurale des composés isolés**

L'identification des composés isolés a été réalisée au Spectropole d'Aix-Marseille Université durant un séjour de recherche sous la direction du Docteur Gaëtan HERBETTE.

L'élucidation structurale des composés **1** et **2** a été effectuée en utilisant des techniques spectrales, notamment la RMN monodimensionnelle (^{1}H, ^{13}C), bidimensionnelle homonucléaire (^{1}H-^{1}H COSY) et hétéronucléaire (^{1}H-^{13}C HSQC, ^{1}H-^{13}C HMBC) ainsi que la SMHR. Les déplacements chimiques du carbone pour le composé **2** ont été attribués à partir des spectres ^{1}H-^{13}C HSQC et ^{1}H-^{13}C HMBC en raison de sa faible quantité disponible. Les données spectrales des deux composés figurent en **Annexe III - pages 37-45**. Leur élucidation structurale est détaillée ci-après.

- ***Élucidation structurale du composé 1***

Les données spectrales du composé **1** sont présentées en **Annexe III. 1. - Tome II - pages 38-41**.

Le composé **1** a été isolé sous forme d'huile de couleur jaune pâle. Sa formule moléculaire $C_{11}H_{14}O$ a été attribuée à partir de son spectre SMHR en mode ESI^{+} révélant un ion pseudomoléculaire $[M+H]^{+}$ à *m/z* 163,0729 (valeur calculée : *m/z* 163,1117). Le nombre d'insaturations calculé à partir de cette formule brute est de 5.

L'étude du spectre RMN ^{1}H du composé **1** (**Figure 11 - Annexe III. 1. - Tome II - page 39**) a permis de mettre en évidence la présence de trois protons aromatiques H-4 (δ_{1H} 6,85), H-5 (δ_{1H} 7,15) et H-6 (δ_{1H} 6,75), deux protons diastéréotopiques d'un groupe méthylidène H-9a (δ_{1H} 4,81) et H-9b (δ_{1H} 5,31) sous forme d'un signulet large pour chaque proton, 3 méthyles à δ_{1H} 3,82 (H-3) correspondant à un méthoxy, à δ_{1H} 2,27 (H-7) sous forme de singulet et à δ_{1H} 2,01 (H-10), sous forme de singulet.

Le spectre RMN ^{13}C montre la présence de six atomes de carbone aromatiques C-1 à C-6 (δ_{13C} 156,3 ; 132,6 ; 136,4 ; 122,5 ; 127,3 et 108,1), deux atomes de carbones éthyléniques C-8 (δ_{13C} 142,6) et C-9 (δ_{13C} 115,1), un carbone du groupement méthoxy C-11 (δ_{13C} 55,8) et deux carbones des groupements méthyles C-7 (δ_{13C} 19,7) et C-10 (δ_{13C} 23,5) (**Figure 11 - Annexe III. 1. - Tome II - page 39**).

Le spectre ^{1}H-^{1}H COSY montre des taches de corrélation entre les protons H-4 (δ_{1H} 6,85), H-5 (δ_{1H} 7,15) et H-6 (δ_{1H} 6,75) à cause d'un système de spin aromatique. Les corrélations hétéronucléaires ^{1}H-^{13}C HSQC ont permis de relier les groupes de protons décrits précédemment, aux différents carbones. L'ensemble des corrélations ^{1}H-^{1}H COSY et ^{1}H-^{13}C HMBC a mis en évidence l'enchaînement de la structure du cycle benzénique 1, 2, 3 trisubstitué représenté dans la **figure 30**.

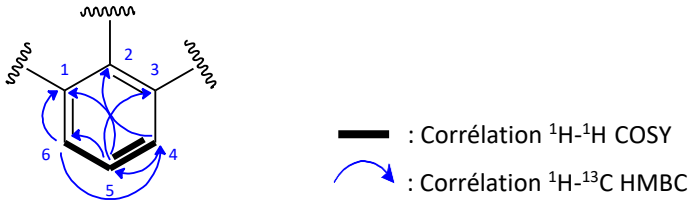


Figure 30 : Corrélations COSY et HMBC clés du cycle benzénique du composé **1**.

Les corrélations hétéronucléaires ^{1}H-^{13}C HMBC entre les protons H-11 (δ_{1H} 3,82) et le carbone C-1 (δ_{13C} 156,3) ; entre les protons H-9a (δ_{1H} 4,81), H-9b (δ_{1H} 5,31) et H-10 (δ_{1H} 2,01) et le carbone C-2 (δ_{13C} 132,6) et entre les protons à H-7 (δ_{1H} 2,27) et les carbones C-2 (δ_{13C} 132,6), C-3 (δ_{13C} 136,4) et C-4 (δ_{13C} 122,5) ont permis de déduire l'emplacement respectif du groupe méthoxy en C-1, du groupe méthyle en C-3 et du motif alkyl en C-2 (**Figure 31**).

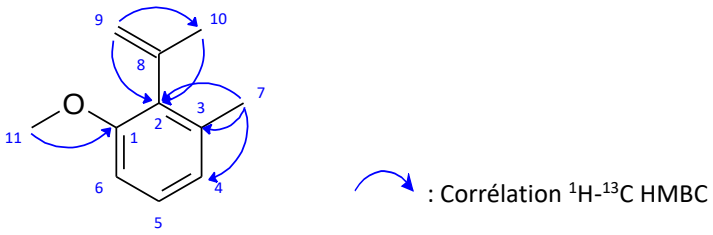
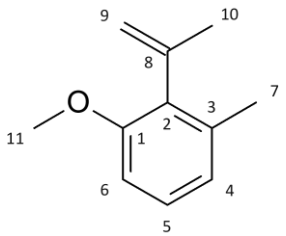


Figure 31 : Corrélations HMBC clés des substituts du cycle benzénique du composé **1**.

La comparaison des données spectrales RMN ^{1}H et RMN ^{13}C de ce composé avec les données de la littérature (**Tableau IX - Annexe III. 1. - Tome II - page 38**) permet d'attribuer au composé **1** la structure d'un monoterpène oxygéné, le 2-isopropényl-3-méthylanisole (Jiménez-Estrada *et al.*, 1996).



2-Isopropényl-3-méthylanisole **(Composé 1)**

Le 2-isopropényl-3-méthylanisole a été isolé pour la première fois, en 1978, de la racine de *Piqueria trinervia*, une espèce de la famille des *Asteraceae* (Bohlmann & Swita, 1978). Sur la base de son spectre RMN ^{1}H et de sa co-élution avec un dérivé de carquéjol, une première structure du 2-méthyl-3-isopropénylanisole a été proposée. Cette dernière a été révisée et rectifiée, en 1981, par Sangaiah & Rao. Ce composé a par la suite été synthétisé à partir du piquérol A, ce dernier est un composé isolé de *Piqueria trinervia* (Jiménez-Estrada *et al.*, 1996). Depuis, aucune publication ne fait mention d'études sur le 2-isopropényl-3-méthylanisole.

- ***Élucidation structurale du composé 2***

Les données spectrales du composé **2** sont présentées en **Annexe III. 2. - Tome II - pages 42-45**.

D'aspect huileux et de couleur blanche, le composé **2** présente un spectre SMHR en mode ESI^{+} avec un ion pseudomoléculaire $[M+H]^{+}$ à *m/z* 151,0971 correspondant à la formule moléculaire $C_{10}H_{14}O$ (valeur calculée : 151,1117), soit un nombre d'insaturations égal à 4.

L'étude du spectre RMN ^{1}H du composé **2** (**Figure 15 - Annexe III. 2. - Tome II - page 43**) a mis en évidence la présence des protons d'un groupement méthyle H-10 (δ_{1H} 1,78), des protons de deux groupements méthylidènes H-7 (δ_{1H} 4,92 et 4,96) et H-9 (δ_{1H} 5,04 et 5,23), deux protons éthyléniques H-3 (δ_{1H} 5,87) et H-4 (δ_{1H} 5,76), d'un proton H-2 (δ_{1H} 4,41) relié à une fonction hydroxy et des protons méthyléniques H-5 (δ_{1H} 2,78 et δ_{1H} 2,87).

Le spectre ^{1}H-^{1}H COSY montre un système de spin entre les protons H-2, H-3, H-4 et H-5. Les corrélations hétéronucléaires ^{1}H-^{13}C HSQC ont permis d'attribuer les différents déplacements chimiques des carbones associés à chacun des groupes de protons décrits précédemment. Les corrélations hétéronucléaires ^{1}H-^{13}C HMBC entre les protons H-7 (δ_{1H} 4,92 et 4,96) et le carbone C-5 (δ_{13C} 33,4) ; entre les protons H-9 (δ_{1H} 5,04 et 5,23) et H-10 (δ_{1H} 1,78) et le carbone C-1 (δ_{13C} 54,3) ont permis de déduire l'emplacement respectif du groupe méthylidène en C-6 et du motif alkyl en C-1. Ce qui conduit à l'enchaînement de la structure représenté dans la **figure 32**.

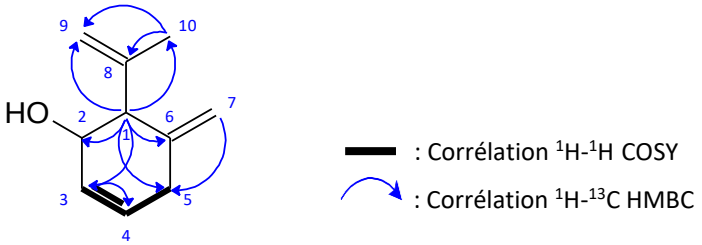
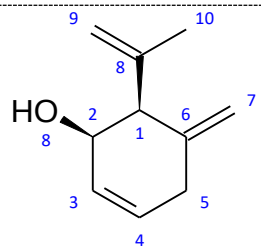


Figure 32 : Corrélations COSY et HMBC clés du composé **2**.

La comparaison des données RMN ^{1}H et RMN ^{13}C avec celles de la littérature (Minteguiaga *et al.*, 2017) a permis de confirmer le composé 2 comme étant le carquéjol (**Tableau X - Annexe III. 2. - Tome II - page 42**).



Carquéjol **(Composé 2)**

Le carquéjol est isolé pour la première fois de l'HE de *Baccharis genistelloides* (*Asteraceae*). Cette espèce pousse à l'état sauvage dans la forêt amazonienne et est connue sous le nom de «carqueja». Naves Y. R. a attribué la structure du carquéjol en 1959, sans en préciser la stéréochimie. Une étude de la stéréochimie a donc été entreprise par la suite en utilisant la RMN, la spectrométrie de masse et le dichroïsme circulaire (Alan, 1967). Le carquéjol présent dans l'HE des parties aériennes de *Baccharis Trimera* (*Asteraceae*) a, quant à lui, été caractérisé par la spectroscopie infrarouge à

transformée de Fourier (IRTF) et Raman, l'Ultraviolet Visible (UV), le Dichroïsme circulaire, la RMN et la spectrométrie de masse par Minteguiaga *et al* (2017).

Un regroupement de tous les composés identifiés dans l'HE de *P. lucida* collectée à Angavokely par famille chimique est donné dans la **figure 33**.

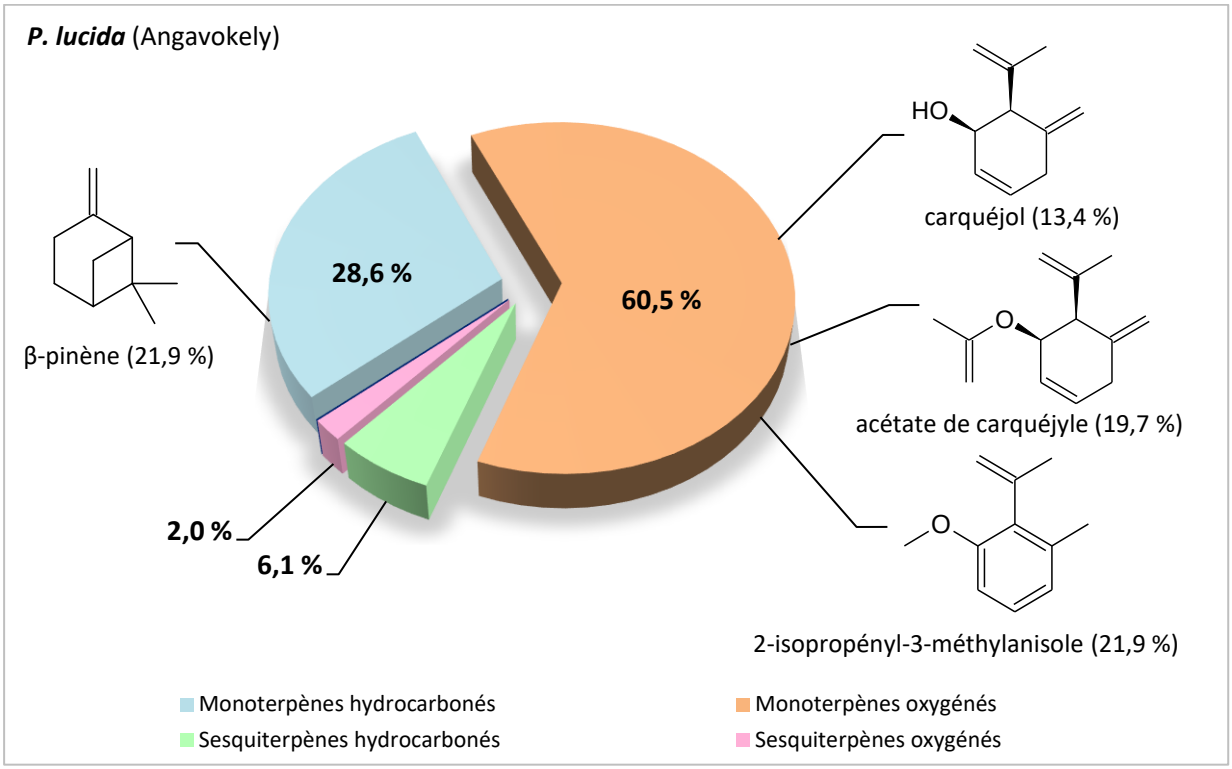
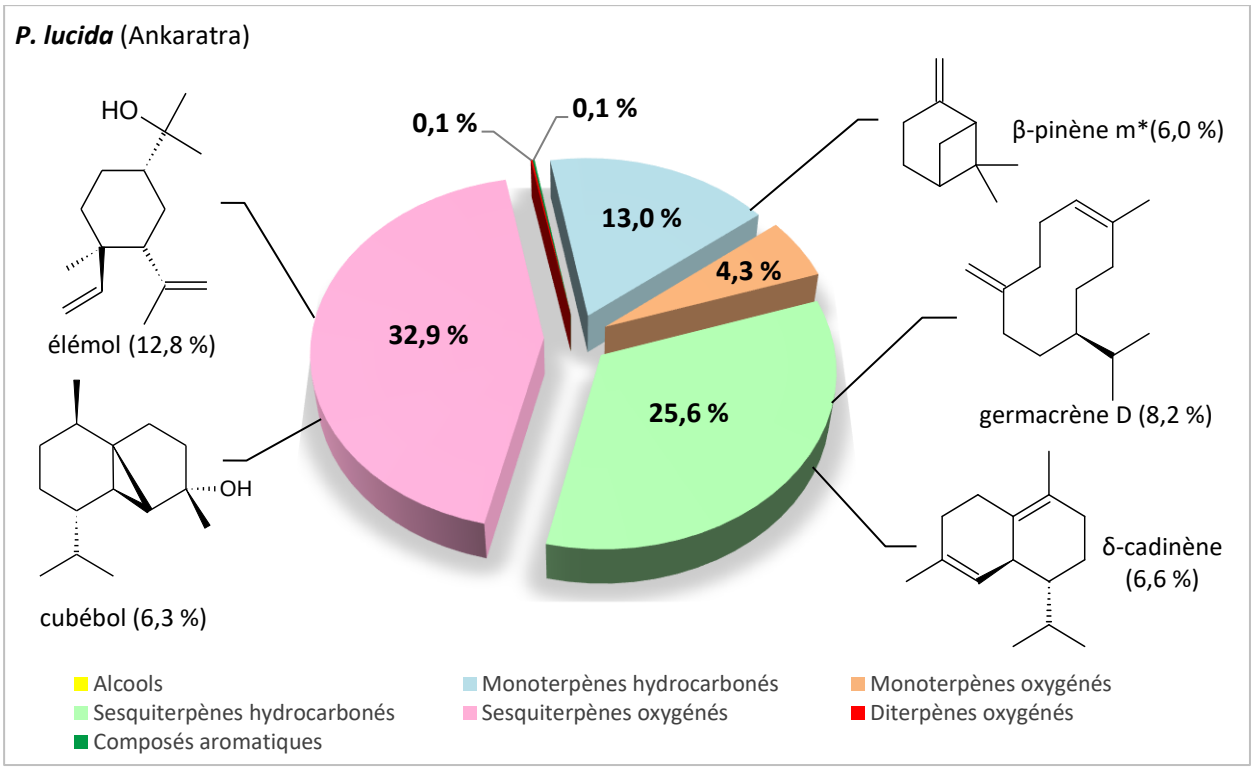


Figure 33 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. lucida* (Angavokely).

L'identification des deux composés majoritaires par RMN a donc permis de déterminer la composition chimique de l'HE à hauteur de 97,3 %, soit un total de 55 composés identifiés. Les familles chimiques les plus représentées sont les monoterpènes oxygénés (60,5 %) et les monoterpènes hydrocarbonés (28,9 %). L'HE est composée majoritairement du 2-isopropényl-3-méthylanisole (21,9 %), du β-pinène (21,9 %), de l'acétate de carquéjyle (19,7 %) et du carquéjol (13,4 %).

❖ **Lieu de collecte : Ankaratra**

La répartition des constituants de l'HE de *P. lucida* collectée à Ankaratra par famille chimique est présentée dans la **figure 34**.



m*() = composé majoritaire du mélange

Figure 34 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. lucida* (Ankaratra).

Cette étude a conduit à l'identification de 87 composés représentant 75,9 % de l'HE de ***P. lucida*** collectée à **Ankaratra**. Elle est composée majoritairement de sesquiterpènes oxygénés (32,9 %), de sesquiterpènes hydrocarbonés (25,6 %) et de monoterpènes hydrocarbonés (13,0 %). L'élémol (12,8 %), le germacrène D (8,2 %), le δ-cadinène (6,6 %), le cubébol (6,3 %) et le β-pinène (6,0 %) sont retrouvés en forte proportion.

❖ **En conclusion**

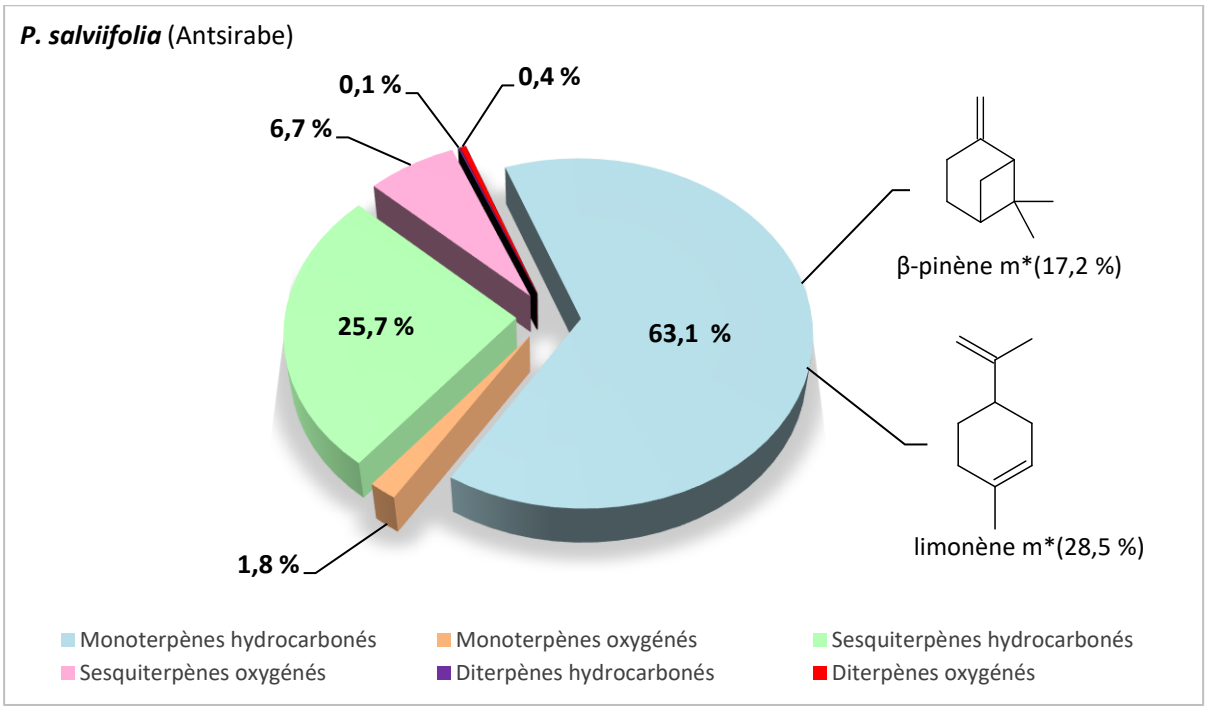
Ces différents résultats sur la composition chimique de l'HE de *P. lucida* nous permettent d'observer une variabilité de sa composition chimique selon le lieu de collecte. Les HE des spécimens collectés à Andasibe et à Ankaratra se caractérisent par une forte teneur en sesquiterpènes hydrocarbonés (25,6 à 46,6 %) et oxygénés (32,0 à 32,9 %). La composition chimique de l'HE de *P. lucida* collectée à Angavokely, quant à elle, se démarque par une teneur élevée en monoterpènes oxygénés (60,5 %) et monoterpènes hydrocarbonés (28,9 %). Par ailleurs, pour ces trois lieux de collecte, les HE se distinguent par des composés majoritaires différents.

II. 3. 2. 6. Analyse chimique de l'HE de *P. salviifolia*

P. salviifolia

Les résultats de l'analyse de l'HE de *P. salviifolia* collectée à Antsirabe sont donnés dans le **Tableau VIII - Annexe II - Tome II - pages 33-35**.

La répartition des constituants de l'HE de *P. salviifolia* par famille chimique est présentée dans la **figure 35**.



m*() = composé majoritaire du mélange

Figure 35 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. salviifolia* (Antsirabe).

L'étude de la composition chimique de l'HE de ***P. salviifolia*** collectée à Antsirabe a conduit à l'identification de 97,9 % de la composition, soit un total de 74 composés identifiés. Elle est caractérisée par une forte teneur en hydrocarbures monoterpéniques (63,1 %) et sesquiterpéniques (25,7 %). Deux composés ont été retrouvés à des pourcentages élevés dans l'HE. Il s'agit du β-pinène (17,2 %) et du limonène (28,5 %).

II. 3. 3. Discussion

Au cours de cette étude menée sur la composition chimique de l'HE des feuilles des espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar, 45 à 74 composés ont été identifiés représentant 78,7 à 97,9 % des HE. La plupart des HE renferme une teneur importante en monoterpènes hydrocarbonés

allant jusqu'à 78,7 % de leur composition chimique et dans cette famille, le β-pinène constitue le composé majoritaire, dont la teneur la plus élevée peut aller jusqu'à 47,2 % de la composition de l'HE.

P. altissima* var. *altissima

L'HE de ***P. altissima* var. *altissima*** a déjà fait l'objet de travaux antérieurs décrivant leurs compositions chimiques (Rakotomalala, 2014 ; Ramanoelina *et al.*, 1994). Ces travaux rapportent que l'HE des feuilles de ce végétal est riche en hydrocarbures monoterpéniques et sesquiterpéniques. Le β-pinène (39,7 à 49,7 %), le limonène (3,8 à 9,3 %), le *(E,Z)*-β-ocimène (5,9 à 6,9 %) et l'α-pinène (3,5 à 3,9 %) constituent les composés majoritaires de l'HE. Les résultats de notre étude sur la composition chimique de cette espèce avec les deux variétés *altissima* et *stenophylla* confirment ces résultats.

Par ailleurs, la présence de l'α- et du β-pinène dans ces HE pourrait expliquer les effets antibactériens et antifongiques des HE de *P. altissima* var. *altissima* (Rakotomalala, 2014 ; Ramanoelina *et al.*, 1987). En effet, l'α- et le β-pinène agissent en provoquant des effets toxiques sur la structure et les fonctions des membranes cellulaires des levures et des bactéries pathogènes (Andrews *et al.*, 1980). Quelques études spécifiques mettent en évidence que le β-pinène présente des propriétés antifongiques (Hammer *et al.*, 2003), particulièrement sur *Candida spp.* (Magwa *et al.*, 2006). Le β-pinène, souvent accompagné de l'α-pinène ou d'autres terpènes, est cytotoxique sur des lignées de cellules cancéreuses (Setzer *et al.*, 1999). Quand l'α- et le β-pinène sont les composants majoritaires d'une huile, cette dernière présente généralement des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques (Erazo *et al.*, 2006). Un criblage biologique de l'HE de *P. altissima* var. *altissima* serait donc intéressant afin de justifier les effets de ces composés majoritaires et de valider les utilisations traditionnelles de cette plante, tels que le traitement des différentes plaies (galeuse, eczémateuse, ulcérées et syphilitique), le remède contre la diarrhée et la bilharziose ainsi que ses propriétés hémostatiques et désinfectantes.

L'étude de la composition chimique de l'HE de *P. altissima* var. *altissima* a montré également la présence de sesquiterpènes hydrocarbonés tels que le β-caryophyllène (1,7 %), l'α-humulène (1,3 à 1,4 %), le *(Z)*-β-guaiène (1,6 à 3,5 %) et le δ-cadinène (1,7 %). La présence de ces composés a également été signalée dans les travaux antérieurs de Rakotomalala (2014) et Ramanoelina et *al.* (1994). Bien que les sesquiterpènes hydrocarbonés soient nombreux pour les deux lieux de collecte (26 à 27 composés), ils sont présents à des teneurs relativement faibles (trace - 3,5 %).

Les travaux antérieurs ont rapporté que le lédène (3,9 %) et l'aromadendrène (1,2 %) (Rakotomalala, 2014), le cypérène (3,4 %) et le viridiflorène (3,0 %) (Ramanoelina *et al.*, 1994) sont bien représentés dans l'HE de *P. altissima* var. *altissima*. Ces composés n'ont pourtant pas été observés lors de la présente étude.

Enfin, soulignons que pour la variété *altissima*, la composition chimique de l'HE des feuilles présente peu de variabilité pour les deux lieux de collecte. L'étude de l'HE de cette même variété, effectuée par Rakotomalala en 2014 a conduit notamment à la même conclusion. L'étude portait non seulement sur l'HE des feuilles mais aussi l'HE des racines, tiges et fleurs.

P. altissima* var. *stenophylla

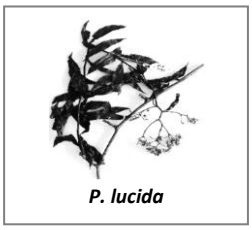
Cette première étude de la composition chimique de la variété ***stenophylla*** a démontré un profil chimique relativement similaire à celui de la variété *altissima.* On retrouve majoritairement des monoterpènes et des sesquiterpènes hydrocarbonés avec les mêmes composés majoritaires. Comme pour l'HE de *P. altissima* var. *altissima*, l'HE de *P. altissima* var. *stenophylla* contient des sesquiterpènes hydrocarbonés tels que le β-caryophyllène, l'α-humulène et le δ-cadinène. Cependant, quelques sesquiterpènes hydrocarbonés, bien présents dans la variété *stenophylla* sont de quantités faibles, voire quasiment absents dans la variété *altissima.* Il s'agit du ɤ-curcumène (5,8 %), du *(E)*-β-guaiène (2,3 %), de l'α-humulène (3,7 %), du β-caryophyllène (2,3 %) et de ɤ-humulène (3,7 %).

P. hispida

La composition chimique de l'HE de ***P. hispida*** a été étudiée pour la première fois lors de cette thèse. L'HE est caractérisée par des monoterpènes hydrocarbonés (78,4 %). Le β-pinène (46,5 %), le limonène (16,0 %), le *(Z)*-β-ocimène (5,7 %) et l'α-pinène (4,2 %) en constituent les composés majoritaires. Le *(E)*-β-ocimène et le terpinén-4-ol sont présents dans l'HE avec des teneurs respectives de 3,0 % et 2,7 %.

P. leucophylla

P. leucophylla fait l'objet pour la première fois d'une étude portant sur la composition de son HE. Cette dernière se distingue de celle des autres espèces étudiées par une teneur élevée en sesquiterpènes hydrocarbonés (66,4 %), en diterpènes oxygénés (6,4 %) et en sesquiterpènes oxygénés (6,2 %). Le β-caryophyllène (10,6 %), le δ-cadinène (8,9 %), le *(E)*-muurola-4(14),5-diène (7,2 %), l'α-humulène (6,9 %) et le manol (6,4%) en sont les composés majoritaires. L'HE affiche également une teneur notable en α-copaène (5,0 %), β-copaène (4,6 %), ɤ-muurolène (4,6 %) et α-muurolène (3,6 %). Elle est très pauvre en revanche en monoterpènes hydrocarbonés (0,6 %). Outre les terpènes hydrocarbonés et oxygénés, d'autres familles de composés ont été observées dans l'HE mais avec des teneurs très faibles. Il s'agit des alcools (0,4 %), des aldéhydes (0,2 %), des sesquiterpènes sulfurés (0,1%) et des composés aromatiques (trace).


P. lucida

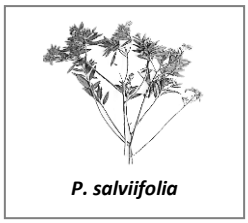
Pour l'espèce ***P. lucida***, l'étude de l'HE a démontré une variabilité de sa composition chimique selon le lieu de collecte.

Les HE des spécimens collectés à Andasibe et à Ankaratra se caractérisent par une forte teneur en sesquiterpènes hydrocarbonés (25,6 à 46,6 %) et oxygénés (32,0 à 32,9 %). Quelques composés, communs à ces 2 spécimens, sont présents à des teneurs importantes. Il s'agit de l'élémol (12,8 et 3,5 %), du δ-cadinène (6,6 et 7,5 %), du cubébol (3,1 et 6,3 %), du mélange α-muurolol, τ-cadinol et τ-muurolol (2,8 et 7,3 %) et du mélange α-cadinol et β-eudesmol (4,6 et 11,1 %).

Quelques différences ont été néanmoins remarquées. Certains composés ont été retrouvés à des pourcentages élevés dans le spécimen collecté à Andasibe alors qu'ils sont quasiment absents dans le spécimen collecté à Ankaratra. Il s'agit de l'α-muurolène (10,6 %), du *(Z)*-β-guaiène (6,9 %) et du mélange β-bourbonène, β-cubébène et β-élémène (4,1 %). En revanche, le spécimen collecté à Ankaratra renferme une quantité importante de β-pinène (6,0 %) et de germacrène D (8,2 %) alors que ces mêmes composés sont à de très faibles quantités, voire absents dans le spécimen collecté à Andasibe. La composition chimique de l'HE de *P. lucida* collectée à Angavokely, quant à elle, se démarque de celles des deux autres lieux de collecte par une teneur élevée en monoterpènes oxygénés (60,5 %) et hydrocarbonés (28,9 %). Le 2-isopropényl-3-méthylanisole (21,9 %), le carquéjol (13,4 %), l'acétate de carquéjyle (19,7 %) et le β-pinène (21,9 %) constituent les composés majeurs de l'HE.

Cette variation de la composition chimique de l'HE de *P. lucida* pourrait s'expliquer par, outre le lieu de collecte, les variations morphologiques et phénologiques observées sur le terrain lors de la collecte du végétal. Par ailleurs, les résultats antérieurs sur la composition de l'HE de l'espèce, qui a été collectée à 20 km à l'Est de Moramanga (près d'Andasibe), confirment cette variation, étant donné que ce sont le terpinolène (38,0 %), l'α-humulène (21,2 %) et le limonène (10,2 %) qui constituent les composés majoritaires observés dans ces travaux (Andriamanantoanina *et al.*, 2004). Il est à noter toutefois que ces derniers se rapprochent qualitativement de la composition des HE des spécimens collectés à Ankaratra et à Andasibe.

Le carquéjol et l'acétate de carquéjyle qui figurent parmi les composés majoritaires du spécimen collecté à Angavokely pourraient être responsables de l'effet antirhumatismal et digestif (Ferrante *et al.*, 2007). Par ailleurs, l'injection du carquéjol, chez les chiens, réduit la pression artérielle, le taux de cholestérol et la fréquence respiratoire (Ferrante *et al.*, 2007).


P. salviifolia

L'HE de ***P. salviifolia*** présente une composition chimique proche de celles de *P. altissima* var. *altissima* collectée sur les deux sites Ambositra et Moramanga, de *P. altissima* var. *stenophylla* et de *P. hispida*. En effet l'HE est caractérisée par un pourcentage élevé de monoterpènes hydrocarbonés. Le β-pinène (17,2 %) et le limonène (28,5 %) restent les composés les plus abondants de l'HE. Six

autres composés à moindre teneur (2,0 à 5,0 %) ont également été retrouvés dans l'HE, notamment le *p*-cymène (3,2 %), le terpinolène (2,9 %), le β-caryophyllène (2,9 %), le δ-cadinène (3,3 %), le *(E)*-muurola-4(14),5-diène (2,3 %) et le 10-*épi*-cubébol (2,8 %).

Les résultats obtenus lors de cette étude se rapprochent de ceux d'Andrianarison et de ses collaborateurs, obtenus en 2015 (Andrianarison *et al.*, 2015a) : les hydrocarbures monoterpéniques (76,7 %) sont prépondérants dans l'HE et les composés majoritaires sont le β- pinène (22,1 %), le limonène (19,9 %), le β-phellandrène (10,4 %) et le sabinène (9,7 %).

Cependant, ces résultats ne confirment pas ceux obtenus à l'issue de la première investigation de l'espèce en 1973 par Dennis. Selon cette étude, l'HE se caractérise par la présence dominante du mélange linalol et β-bourbonène (10,7 %) et une teneur importante de sesquiterpènes oxygénés (25,8 %) et de diterpènes (11,8 %). Toutefois, les composés majoritaires mis en évidence lors de notre étude (β-pinène et limonène) ont été également signalés dans les travaux de Dennis en 1973 mais à des teneurs relativement faibles.

II. 4. Conclusion

Le **tableau III** est un tableau synthétique qui résume les analyses réalisées. Les familles chimiques les plus abondantes ainsi que les composés majoritaires de l'HE de chaque espèce y sont repris ci-après.

Tableau III : Familles chimiques et composés majoritaires de chaque espèce du genre *Psiadia* de Madagascar.

Espèces	Lieu de collecte	Familles chimiques abondantes	Composés majoritaires
P. altissima	Ambositra Moramanga Behenjy	Monoterpènes hydrocarbonés Sesquiterpènes hydrocarbonés	- β-pinène - limonène - α-pinène - *(Z,E)*-β-ocimène
P. hispida	Angavokely	Monoterpènes hydrocarbonés Sesquiterpènes hydrocarbonés	
P. leucophylla	Angavobe	Sesquiterpènes hydrocarbonés	- β-caryophyllène - α-humulène - *(E)*-muurola-4(14),5-diène - δ-cadinène - manol
P. lucida	Andasibe	Sesquiterpènes hydrocarbonés Sesquiterpènes oxygénés	- α-muurolène - *(Z)*-β-guaiène - δ-cadinène - τ-muurolol - α-cadinol
	Ankaratra	Sesquiterpènes hydrocarbonés Sesquiterpènes oxygénés	- germacrène D - δ-cadinène - élémol - cubébol - β-pinène
	Angavokely	Monoterpènes hydrocarbonés Monoterpènes oxygénés	- 2-isopropényl-3-méthylanisole - carquéjol - acétate de carquéjyle - β-pinène
P. salviifolia	Antsirabe	Monoterpènes hydrocarbonés	- β-pinène - limonène

Pour conclure, l'étude comparative de la composition chimique des HE des feuilles de 5 espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar a montré que les espèces ***P. altissima*** avec ses deux variétés *altissima* et *stenophylla*, ***hispida*** et ***salviifolia*** possèdent un profil chimique relativement proche. Les hydrocarbures terpéniques constituent les familles majoritaires. Par ailleurs, le lieu de collecte n'a pas d'influence sur la composition de l'HE de *P. altissima* var. *altissima*.

L'espèce ***P. leucophylla*** a une composition chimique différente de celles des autres espèces ; elle se caractérise par la présence en teneur élevée de sesquiterpènes hydrocarbonés et de diterpènes oxygénés.

L'espèce ***P. lucida***, quant à elle, présente un profil chimique qui varie en fonction du lieu de collecte. Le spécimen d'Angavokely est riche en monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés tandis que les deux autres sont riches en sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés.

Partie III

Étude des composés non volatils des espèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion et de Madagascar

Une des premières étapes clés dans la recherche de nouveaux candidats médicaments d'origine naturelle est de sélectionner des organismes d'intérêt. Dans cette optique, cette partie est consacrée à l'étude des composés non volatils des espèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion et de Madagascar, en vue de sélectionner les espèces présentant un potentiel biologique intéréssant.

Cette partie englobe trois chapitres essentiels. Le **premier** porte sur les criblages chimique et biologique de 5 espèces endémiques de Madagascar. Cela pourrait également confirmer ou non l'utilisation traditionnelle de l'espèce. Le **second** chapitre concerne l'étude phytochimique de l'espèce *lucida* de Madagascar, sélectionnée à l'issue des criblages chimique et biologique réalisés. Le **troisième** chapitre est, quant à lui, consacré à l'étude phytochimique d'une espèce endémique de La Réunion, *P. dentata*, ayant démontré lors des travaux antérieurs (Mahadeo, 2018) des activités biologiques remarquables.

Chapitre 1. Criblages chimique et biologique des extraits bruts du genre *Psiadia* de Madagascar

Le criblage est la première étape de l'étude phytochimique d'une plante. C'est un ensemble d'analyses chimique et biologique préliminaires réalisées sur un extrait de plante afin de détecter la présence des principales familles chimiques et de mettre en évidence des extraits de plantes biologiquement intéressants ou ceux présentant un intérêt d'un point de vue chimique ou économique.

Notons que les criblages chimique et biologique de onze espèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion (*P. amygdalina, P. anchusifolia, P. argentea, P. boivinii, P. callocephala, P. dentata, P. insignis, P. laurifolia, P. melastomatoides, P. montana* et *P. retusa*) ont déjà été réalisés lors des travaux de thèse de Mahadeo K. (2018). Ces travaux ont révélé que parmi les onze espèces réunionnaises étudiées :

- Quatre d'entre elles (***P. amygdalina, P. anchusifolia, P. dentata*** et ***P. melastomatoides***), présentaient une activité antipaludique,
- Huit d'entre elles (***P. amygdalina, P. argentea, P. boivinii, P. callocephala, P. dentata, P. insignis, P. laurifolia*** et ***P. montana***), présentaient une activité anti-inflammatoire,
- Deux d'entre elles (***P. dentata*** et ***P. retusa***), présentaient une activité cytotoxique modérée sur les cellules HeLa, responsables du cancer du col de l'utérus.

Dans le cadre de ces travaux de thèse, cinq espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar ont été sélectionnées. Il s'agit de *P. altissima* avec ses deux variétés *altissima* et *stenophylla, P. hispida, P. leucophylla, P. lucida* et *P. salviifolia*. Parmi ces espèces, deux ont été très

peu étudiées (*P. salviifolia* et *P. lucida*) et les autres n'ont jamais fait l'objet d'une étude chimique et biologique (*P. altissima* var. *stenophylla*, *P. leucophylla* et *P. hispida*).

III. 1. 1. Collecte et identification

La collecte des feuilles de chaque espèce a été réalisée pendant la période de floraison des plantes entre Octobre 2018 et Janvier 2019 en collaboration avec l'École Supérieure Polytechnique d'Antananarivo et le Missouri Botanical Garden. Pour rappel, les détails de la collecte de ces espèces sont présentés dans le **Tableau I - Annexe I - Tome II - page 4**.

Au total, neuf échantillons végétaux provenant de Madagascar ont été travaillés pour les criblages chimique et biologique.

III. 1. 2. Obtention des extraits bruts

Afin d'obtenir les extraits bruts, les feuilles de chaque échantillon ont d'abord été séchées puis broyées. L'extraction des feuilles a été effectuée dans l'acétate d'éthyle (AcOEt) au moyen de l'ASE (extraction accélérée par solvant), répétée 4 fois afin d'épuiser le matériel végétal. L'AcOEt a été ensuite évaporé sous pression réduite. Les extraits bruts obtenus ont été conservés au froid à +4°C avant leurs analyses.

Le rendement d'extraction a été calculé par rapport à la matière sèche extraite. Ces rendements sont donnés dans le **tableau IV** ci-après.

Tableau IV : Rendements d'extraction des feuilles des espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar.

Espèce	Lieu de collecte	Masse des feuilles séchées (g)	Masse d'extraits bruts (g)	Rendement (%)
P. altissima var. altissima	Ambositra	237,40	19,87	**8,4**
	Moramanga	361,20	34,13	**9,5**
P. altissima var. stenophylla	Behenjy	284,20	34,05	**12,0**
P. hispida	Angavokely	165,60	11,14	**6,7**
P. leucophylla	Angavobe	282,10	24,32	**8,6**
P. lucida	Andasibe	88,20	3,67	**4,2**
	Angavokely	282,80	16,85	**6,0**
	Ankaratra	222,60	17,54	**7,9**
P. salviifolia	Antsirabe	290,30	36,42	**12,6**

Le rendement d'extraction des espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar varie de 4,2 à 12,6 %. L'espèce *P. salviifolia* présente le rendement le plus important.

III. 1. 3. Criblage chimique des extraits bruts

III. 1. 3. 1. Principe

Chaque extrait brut a été soumis à des analyses chimiques préliminaires utilisant différentes techniques chromatographiques (CCM et CLHP-CAD-DAD) et spectroscopiques (RMN) afin d'avoir un aperçu de la nature des constituants rencontrés chez ces espèces et de comparer leurs profils chimiques.

- **La Chromatographie sur Couche Mince (CCM)**

Les extraits bruts ont été, dans un premier temps, analysés par CCM en utilisant comme éluant un mélange de cyclohexane et d'AcOEt de proportion volumique 70/30 *(v/v)* et comme révélateur, outre les UV (λ = 254 et 365 nm), une solution de vanilline en présence d'acide sulfurique.

- **La Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP)**

Les extraits bruts ont été par la suite analysés par CLHP sur une colonne en phase inverse (silice greffée C18) couplée à deux types de détecteurs :

- Un détecteur à barrettes de diodes (DAD) qui permet d'obtenir une mesure simultanée sur toute l'étendue du spectre UV-visible (entre 200 et 800 nm),
- Un détecteur d'aérosols chargés (CAD), détecteur universel qui permet de détecter et de quantifier une gamme d'analytes, y compris ceux sans chromophore ou faiblement ionisables.

- **La Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN ^{1}H)**

Le criblage chimique a été complété par une analyse par RMN ^{1}H. Les extraits ont été dissouts dans du chloroforme deutéré ($CDCl_3$) et les spectres RMN ^{1}H des extraits bruts ont été réalisés à 600 MHz.

III. 1. 3. 2. Résultats

Les profils CCM, CLHP-CAD et RMN ^{1}H des 9 extraits bruts de *Psiadia* de Madagascar étudiés sont présentés en **Annexe IV - Tome II - pages 47-53**. Les espèces sont classées par ordre alphabétique des noms d'espèce.

III. 1. 3. 3. Discussion

Les profils CCM, CLHP et RMN ^{1}H des extraits bruts de *Psiadia* de Madagascar donnent un aperçu de la richesse de chaque extrait en métabolites spécialisés. Après révélation avec la vanilline

sulfurique, les profils CCM montrent des taches de couleur violette, rose, bleue et jaune. Les colorations rose et violette laissent à penser que ces extraits contiennent des terpénoïdes et les couleurs bleues, des stérols (Komsta *et al.*, 2013 ; Wagner & Bladt, 1996). La couleur violette pourrait correspondre aussi à des saponines (Karthika & Paulsamy, 2015 ; Maya *et al.*, 2019). L'observation des taches en UV 254 nm indique la présence de composés aromatiques ou présentant des systèmes conjugués. Les taches observées en UV 365 nm indiquent la présence des composés possèdant une fluorescence naturelle. On peut donc émettre l'hypothèse que ces composés sont des coumarines et/ou des xanthones.

Les profils CCM, CLHP et RMN ^{1}H des deux extraits bruts de ***P. altissima* var. *altissima*** (**Annexe IV. 1 - Tome II - page 48**) sont similaires et très riches en métabolites spécialisés. Sa composition chimique ne varie donc pas en fonction du lieu de collecte. Les CCM montrent des taches rose et violette qui pourraient correspondre à des terpénoïdes. Les spectres RMN ^{1}H montrent des déplacements chimiques dans la zone des protons aliphatiques (0,8-3,1 ppm) caractérisant la présence de composés apolaires. De plus, les variables spectrales aux alentours de 7,0 ppm indiquent la présence de composés aromatiques. On peut donc suggérer la présence de composés phénoliques dans les extraits bruts de *P. altissima* var. *altissima.* Ceci est en accord avec les résultats des travaux précédents où les flavonoïdes, les leucoanthocyanes, les terpénoïdes, les stérols insaturés et les coumarines ont été détectés dans cette espèce (Rakotomalala, 2014).

L'extrait brut de ***P. altissima* var. *stenophylla*** présente des profils chimiques (**Annexe IV. 2 - Tome II - page 49**) différents de ceux de la variété *altissima* décrite précédemment. En effet, le profil CLHP montre plusieurs composés majoritaires qui sont absents ou minoritairement présents dans la variété *altissima*. Les taches roses et bleues observés en CCM pourraient correspondre à des terpénoïdes et des stérols.

L'espèce ***P. hispida*** se distingue par la présence de composés apolaires dont la plupart absorbent en UV 254 nm et en UV 365 nm (**Annexe IV. 3 - Tome II - page 50**).

Le profil CLHP de l'espèce ***P. leucophylla*** relativement simple (**Annexe IV. 4 - Tome II - page 51**), est constitué d'un pic largement majoritaire. Ce composé montre une tache violette après révélation à la vanilline sulfurique. Il n'absorbe pas en UV 254 nm et absorbe très peu en UV 365 mn. La structure de ce composé est donc exempte ou contient très faiblement des groupements chromophores. L'association des profils CCM et CLHP de l'extrait brut de *P. leucophylla* permet d'émettre l'hypothèse que le composé majoritaire de l'espèce est un terpénoïde ou une saponine.

Les profils CLHP et RMN ^{1}H des extraits bruts de ***P. lucida*** ont révélé la présence de plusieurs composés aliphatiques (**Annexe IV. 5 - Tome II - page 52**). Par ailleurs, les déplacements chimiques de longues chaînes hydrocarbonées (0,8-3,0 ppm) ont été observés sur le spectre RMN ^{1}H. Enfin, les profils CLHP et RMN ^{1}H des 3 extraits bruts sont différents pour les trois lieux de collecte. Ces résultats

montrent donc que la composition chimique de l'extrait brut de l'espèce *P. lucida* présente une variabilité géographique.

Plusieurs composés majoritaires sur le chromatogramme obtenu en CLHP-CAD et les variables spectrales entre 0,7 et 2,6 ppm et entre 7,0 et 7,9 ppm sur le spectre RMN ^{1}H caractérisent l'extrait brut de ***P. salviifolia*** (**Annexe IV. 6 - Tome II - page 53**). Par ailleurs, des taches de couleur rose et violette ont été observées en CCM. Ces taches ainsi que les déplacements chimiques en proton entre 0,7 et 2,6 ppm suggèrent la présence groupement caractéristique qui pourrait probablement appartenir à des terpénoïdes ou des saponines dans l'extrait. Les déplacements chimiques en protons entre 7,0 et 7,9 ppm observés laissent penser à la présence de groupement aromatiques tels que les composés phénoliques. Ce résultat est en accord avec la littérature faisant mention de la présence de flavonoïdes et stérols lors du criblage phytochimique de cette espèce (Andrianarison *et al.*, 2015b).

III. 1. 4. Criblage biologique des extraits bruts

Dans le cadre de ces travaux de thèses, trois activités biologiques ont été évaluées sur les 9 extraits bruts étudiés.

Dans un premier temps, l'**activité antipaludique** des extraits végétaux a été évaluée sur le parasite *Plasmodium falciparum.* Dans un second temps, l'**activité anti-inflammatoire** des extraits a été évaluée *in vitro* sur les macrophages de souris. Enfin, le test de **cytotoxicité** a été mené sur les cellules cancéreuses HEpG2, responsables du cancer de foie humain et sur les cellules HT 29, responsables du cancer du côlon.

III. 1. 4. 1. Recherche d'activité antipaludique

Les tests d'activité antipaludique ont été réalisés par l'équipe du Professeur Michel FREDERICH au Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Liège, Belgique.

- **Généralités**

Le paludisme, appelé aussi malaria est une maladie infectieuse due à un parasite du genre *Plasmodium*. Il est transmis à l'Homme par des piqûres de moustiques femelles de l'espèce *Anopheles* infectés, appelés « vecteurs du paludisme ». Il existe de très nombreuses espèces du genre *Plasmodium* mais seulement cinq espèces infectent l'être humain : *P. malariae, P. vivax, P. ovale, P. falciparum* et *P. knowlesi* (Wéry & Paskoff, 1995).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), parmi ces cinq espèces du genre *Plasmodium*, deux sont les plus dangereuses (*P. falciparum* et *P. vivax)*. En 2018, *P. falciparum* a été à l'origine de 99,7 % des cas estimés de paludisme dans la région africaine, de 50 % des cas dans la région de l'Asie du Sud-Est, de 71 % dans la région de Méditerranée orientale et de 65 % dans la région du

Pacifique occidental. *P. vivax*, quant à lui, est le parasite prédominant dans la Région des Amériques, où il est à l'origine de 75 % des cas (https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/malaria).

Les premiers symptômes du paludisme se manifestent 10 à 15 jours après la piqûre de moustique infectante. Le patient souffre essentiellement de fièvre, de frissons, de céphalées et de douleurs musculaires, à l'image d'un syndrome grippal. Souvent, des troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhées) et une fatigue apparaissent simultanément. S'il n'est pas traité dans les 24 heures, le paludisme à *P. falciparum* peut évoluer vers une affection sévère. Le patient peut alors souffrir de détresse respiratoire, de perte de conscience et d'insuffisance rénale. Il peut aussi présenter des troubles neurologiques (troubles de la conscience, crises de convulsions, coma, …), qui peuvent entraîner la mort ou laisser des séquelles durables, notamment chez les enfants (INSERM, 2020).

Selon le dernier rapport sur le paludisme, publié par l'OMS, 229 millions de cas de paludisme ont été enregistrés dans le monde en 2019. Ce chiffre n'a pratiquement pas varié depuis quatre ans. La maladie a fait 409 000 morts en 2019 et c'est la région africaine qui a supporté plus de 94 % de la charge de morbidité totale. Les populations les plus exposées sont les femmes enceintes et les enfants moins de 5 ans. En effet, en 2019, environ 11,6 millions de femmes enceintes vivant dans 33 pays d'Afrique étaient infectées par le paludisme (35 % de toutes les grossesses) (OMS, 2020).

Actuellement, dans de nombreuses régions du monde, les parasites sont devenus résistants à plusieurs médicaments antipaludiques. Or, la lutte contre le paludisme est une priorité mondiale. L'OMS appelle donc la communauté mondiale de la santé à investir davantage dans la recherche-développement de nouveaux outils et de nouvelles méthodes de lutte contre le paludisme. C'est pourquoi la recherche perpétuelle de nouveaux antipaludiques est nécessaire.

- **Principe**

L'activité antipaludique a été évaluée *in vitro* à travers la prolifération du parasite *Plasmodium falciparum* (souche 3D7, sensible à la chloroquine) (Jansen *et al.*, 2012).

- **Résultats et discussion**

Les résultats sont mentionnés dans la **figure 36** indiquant la concentration des extraits bruts inhibant 50 % de la croissance parasitaire (CI_{50}).

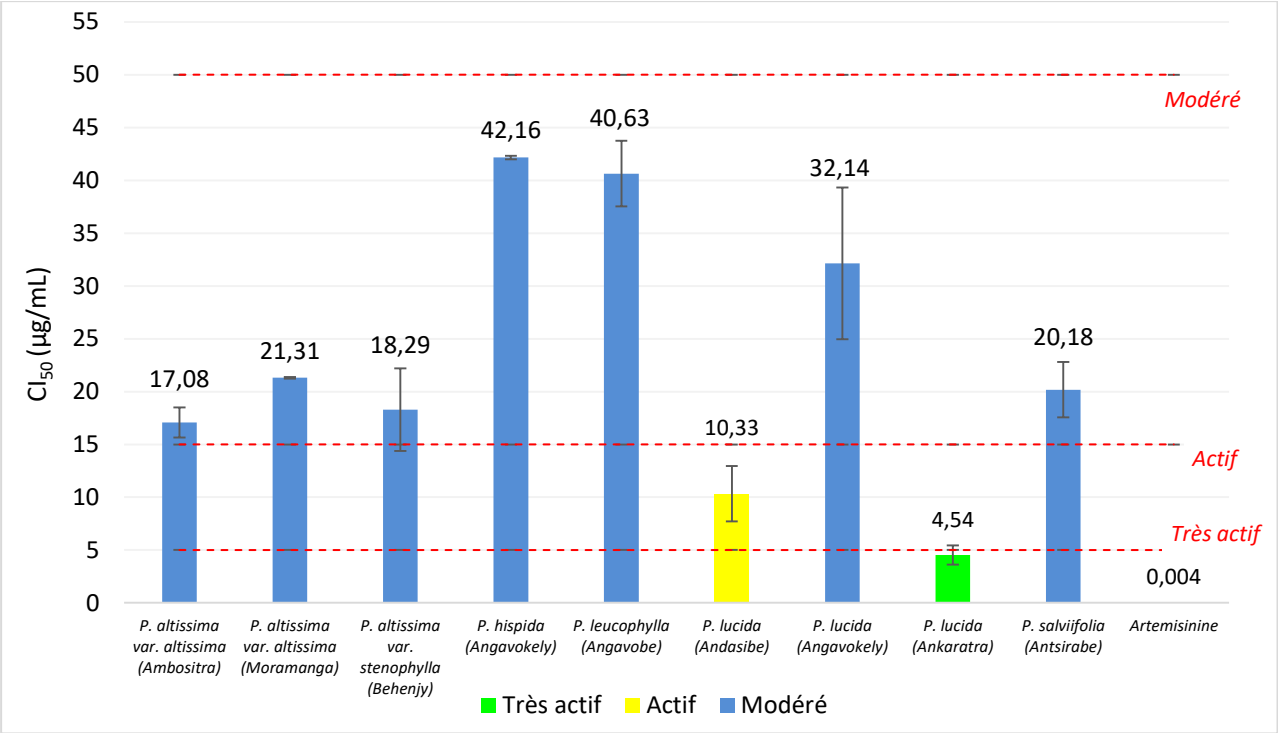


Figure 36 : Activité antipaludique des extraits bruts des espèces du genre *Psiadia* de Madagascar : concentrations inhibant 50 % de la croissance de *Plasmodium falciparum*.

L'évaluation de l'activité antipaludique d'un extrait se fait en s'appuyant sur un classement de l'effet antiplasmodial présenté dans le **tableau V** suivant (Bero *et al.*, 2009 ; Bero & Quetin-Leclercq, 2011).

Tableau V : Interprétation des résultats du test antipaludique.

CI_{50} > 50 µg/mL	Non actif
15 < CI_{50} < 50 µg/mL	Activité modérée
5 < CI_{50} < 15 µg/mL	Actif
CI_{50} < 5 µg/mL	Très actif

Les résultats des tests antipaludiques sur le parasite *Plasmodium falciparum* ont mis en évidence que la plupart des extraits bruts testés présentent une activité antipaludique modérée affichant des CI_{50} entre 17,08 et 42,16 µg/mL. Il s'agit de *P. altissima*, *P. hispida, P. leucophylla, P. lucida* collectée à Angavokely et *P. salviifolia*.

L'extrait brut de *P. lucida* collectée à Andasibe est actif sur le parasite avec une CI_{50} égale à 10,33 µg/mL. Cette même espèce mais collectée à Ankaratra est très active avec une CI_{50} égale à 4,54 µg/mL.

L'espèce *P. lucida* manifeste une variation de l'activité antipaludique en fonction du lieu de collecte. Ce résultat pourrait s'expliquer par la variabilité géographique de la composition chimique de l'espèce.

L'espèce *P. altissima*, quant à elle, présente une activité antiplasmodiale similaire quel que soit le lieu de collecte et la variété de l'espèce. Ce résultat est en accord avec ceux du profilage chimique ayant présenté une similarité.

P. lucida (Ankaratra)

L'extrait brut le plus actif contre le parasite *Plasmodium falciparum* est l'extrait brut de ***P. lucida*** collectée à **Ankaratra** (CI_{50} = 4,54 µg/mL).

III. 1. 4. 2. Recherche d'activité anti-inflammatoire

Les tests d'activité anti-inflammatoire ont été réalisés par l'équipe du Professeur Evelyne OLLIVIER et du Maître de Conférences Carole DI GIORGIO de l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE) de la Faculté de Pharmacie de l'Université d'Aix-Marseille, France.

❖ **Généralités**

L'inflammation ou la réaction inflammatoire est une réaction de défense immunitaire de l'organisme qui se met en place suite à une menace, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité (Du *et al.*, 2018 ; Geng *et al.*, 2014). En effet, les barrières anatomiques et physiologiques à savoir la peau et les muqueuses protègent efficacement l'organisme des agressions extérieures. Ces barrières sont parfois franchies par des corps étrangers suite à une blessure, une brûlure, une attaque microbienne, virale ou fongique ou un dysfonctionnement des cellules de l'organisme. L'organisme fait alors appel à des acteurs capables de combattre l'ennemi. Les cellules de l'immunité qui sont en garde détectent automatiquement l'envahisseur et une série des réactions biochimiques est déclenchée pour empêcher l'agent agresseur de se propager en lançant une réparation (Diallo, 2019).

L'inflammation est caractérisée essentiellement par une dilatation des vaisseaux sanguins permettant la migration de cellules et de certaines molécules du sang vers les tissus où l'agression a été localisée, causant ainsi rougeur, chaleur, œdème et douleur (Geng *et al.*, 2014 ; Sánchez, 2006).

La réaction inflammatoire comprend trois étapes :

- **La phase vasculaire** : suite à la lésion des tissus et l'entrée de bactéries, les molécules, médiateurs de l'inflammation (cytokines pro-inflammatoires, prostaglandines, l'oxyde nitrique, leucotriènes, histamine…), stimulent des polynucléaires neutrophiles. Ces leucocytes

sanguins activés se fixent à l'endothélium vasculaire et pénètrent dans le tissu conjonctif jusqu'au lieu de l'inflammation.

- **La phase cellulaire** : les polynucléaires neutrophiles et les macrophages phagocytent les bactéries et les débris cellulaires, sur le lieu de l'inflammation.
- **La phase de cicatrisation** : c'est la phase de l'élimination du pathogène, des neutrophiles morts et des produits de la dégradation tissulaire. Les cellules fibroblastiques et endothéliales forment un tissu conjonctivo-vasculaire aboutissant à la cicatrisation (Hajjaj, 2017 ; Techer, 2013).

L'inflammation et la douleur sont deux processus physiologiques intimement liés et impliqués dans un grand nombre de maladies aiguës ou chroniques. Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens (aspirine). Cependant, leur utilisation à long terme présente beaucoup d'effets indésirables (hypertension artérielle, irritations digestives pouvant aller jusqu'aux ulcères gastriques, accidents cardiovasculaires...) (Gorissen *et al.*, 2012 ; Schetter *et al.*, 2010 ; Strate *et al.*, 2011). D'où la nécessité de la recherche de nouvelles molécules qui pourraient agir directement sur les médiateurs de l'inflammation et de la douleur et ayant ainsi moins d'effets secondaires.

❖ **Principe**

L'activité anti-inflammatoire des extraits bruts a été évaluée *in vitro* sur des macrophages de souris immortalisés (lignée cellulaire RAW 264.7). Le principe est basé sur la capacité de ces macrophages à générer une forte réponse inflammatoire, après les avoir stimulés par un composé pro-inflammatoire, le lipopolysaccharide (LPS) de la paroi externe d'*Escherichia coli*. Cette réponse se traduit par la libération d'oxyde nitrique (ON), un marqueur des réactions inflammatoires. La concentration inhibant 50 % de la production de l'oxyde nitrique (notée CI_{50} NO) a été mesurée (**Figure 37**) (Iskandar *et al.*, 2018).

Toutefois, l'évaluation de la viabilité des cellules est nécessaire pour le calcul du ratio anti-inflammatoire. Cette viabilité est basée sur la mesure de la réduction du réactif WST-1 par la succinate-tétrazolium réductase mitochondriale en formazan de couleur rouge. Pour les deux tests, la dexaméthasone a été le témoin positif. Le ratio anti-inflammatoire qui correspond au rapport entre la concentration inhibitrice de la viabilité cellulaire sur la concentration inhibitrice de la production d'oxyde nitrique dans le milieu de culture a été calculé (**Figure 37**) (Iskandar *et al.*, 2018).

❖ **Résultats et discussion**

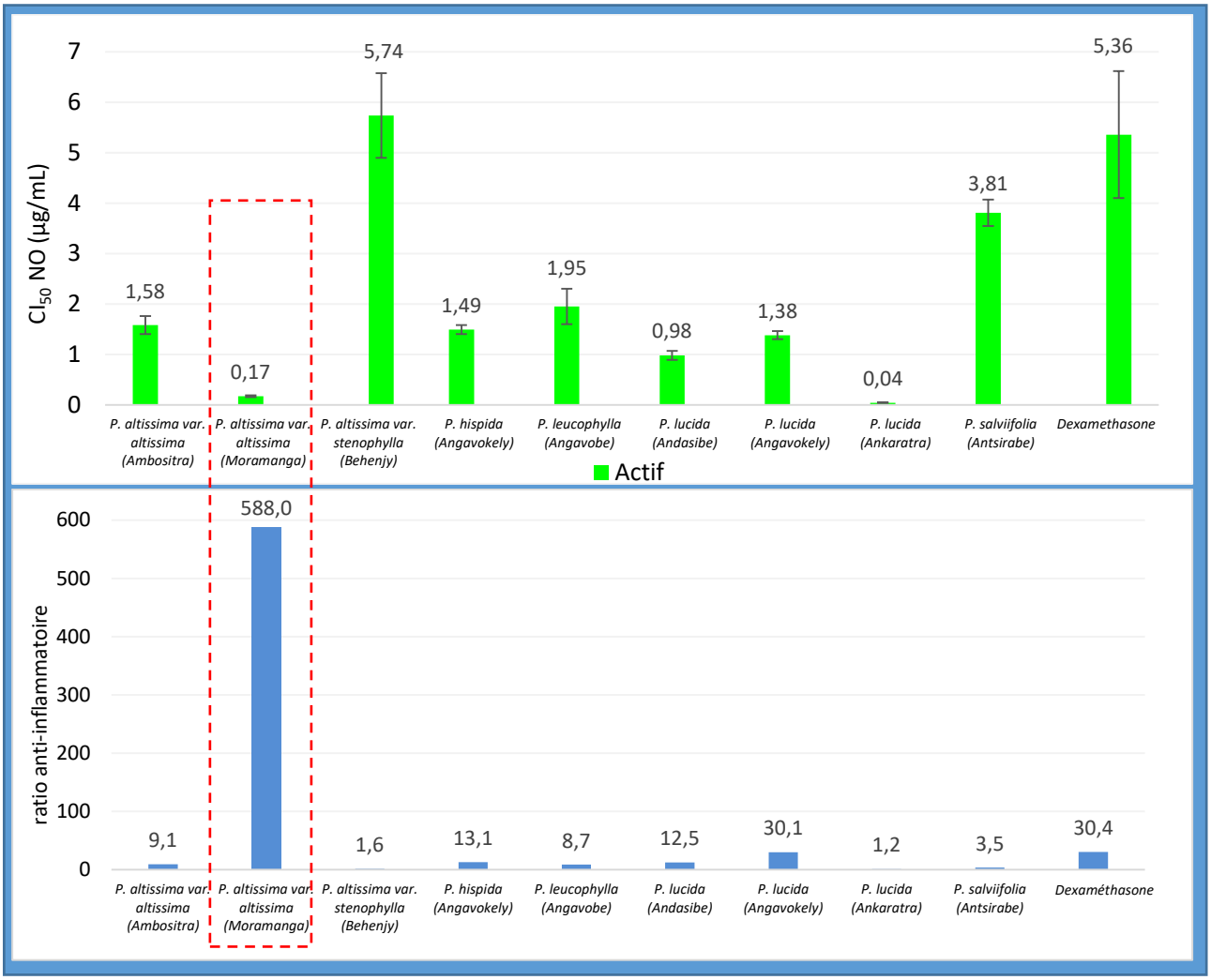


Figure 37 : Activité anti-inflammatoire des extraits bruts des espèces du genre *Psiadia* de Madagascar : concentrations inhibant 50 % de la production d'oxyde nitrique (haut) et ratio anti-inflammatoire (bas).

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts s'établit en s'appuyant sur un classement de l'effet anti-inflammatoire présenté dans le **tableau VI** suivant (Bero *et al.*, 2009 ; Bero & Quetin-Leclercq, 2011) et la valeur du ratio anti-inflammatoire.

Tableau VI : Interprétation des résultats du test anti-inflammatoire.

CI_{50} > 50 µg/mL	Non actif
15 < CI_{50} < 50 µg/mL	Activité modérée
CI_{50} < 15 µg/mL	Actif

Les résultats des tests anti-inflammatoires montrent que les 9 extraits bruts présentent une forte activité anti-inflammatoire avec des CI_{50} NO variant de 0,04 à 5,74 µg/mL. Lorsqu'on regarde

l'histogramme des ratios anti-inflammatoires, l'extrait brut de *Psiadia altissima* var. *altissima* collectée à Moramanga se démarque des autres extraits par une valeur très élevée de ce ratio (>588). Cela se traduit par la non-toxicité de cet échantillon sur les cellules mitochondriales. Ces résultats pourraient justifier également l'utilisation traditionnelle de l'espèce pour traiter les infections ou les plaies.

P. altissima var. altissima (Moramanga)

L'extrait brut qui présente à la fois une forte activité anti-inflammatoire et une absence de cytotoxicité est l'extrait de ***P. altissima* var. *altissima*** collectée à **Moramanga** (Cl_{50} NO = 0,17 µg/mL, ratio >588).

III. 1. 4. 3. Recherche d'activité cytotoxique

Les tests de cytotoxicité ont été réalisés par l'équipe du Professeur Evelyne OLLIVIER et du Maître de Conférences Carole DIORGIO de l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE) de la Faculté de pharmacie de l'Université d'Aix-Marseille, France.

❖ **Généralités**

Le cancer est un terme générique appliqué à un grand groupe de maladies pouvant toucher une partie quelconque de l'organisme. L'une des caractéristiques définissant le cancer est la prolifération des cellules anormales au sein d'un tissu de l'organisme. Lorsque ces cellules cancéreuses atteignent d'autres parties du corps pour créer une nouvelle tumeur, on parle de "métastase".

Le cancer n'est jamais le résultat d'un événement unique, plusieurs facteurs se combinent pour provoquer la transformation des cellules. Ces facteurs peuvent être :

- infectieuses par contamination des virus (le papillomavirus humain est souvent un facteur du cancer du col de l'utérus), des bactéries ou des parasites,
- internes, résultant d'une évolution normale mais qui fragilise les cellules, associés de manière large au vieillissement,
- externes, provoqués par des substances extérieures à l'organisme telles que le tabac, l'alcool, la pollution environnementale, l'alimentation, les rayonnements UV (Hombourger, 2017).

Toutes les tumeurs ne sont pas toujours cancéreuses. Il existe ainsi deux types de tumeurs selon la masse de cellules cancéreuses ou non. **Une tumeur bénigne**, se caractérise par des cellules gardant les propriétés des tissus normaux, ces cellules sont également incapables d'envahir le tissu. **Une tumeur maligne**, en revanche, se caractérise par des cellules de taille, de forme, de structure n'ayant plus rien à voir avec le tissu d'origine. Elles sont également capables de migrer vers d'autres organes (Autard, 2017).

Selon le type de tissu atteint, on distingue trois catégories de cancer : **les carcinomes** qui sont des cancers de cellules épithéliales (cancers de sein, poumon, foie, prostate), **les sarcomes** qui sont des cancers de tissus conjonctifs ou de cellules musculaires (cancers des os, côlon) et **les leucémies** qui impliquent les cellules hématopoïétiques (cancer de la moelle osseuse) (Hontaas, 2014).

Le cancer est un vrai problème de santé publique. En effet, le cancer est aujourd'hui la deuxième cause de mortalité après les maladies cardiovasculaires dans les pays développés. En 2020, selon l'OMS, le nombre total de nouveaux cas de cancer est estimé à 19,3 millions (**Figure 38**) et le nombre de décès s'est élevé à 10 millions dans le monde. Même si ce taux de mortalité tend à la diminution, la mortalité par cancer reste toujours supérieure à celle du SIDA, de la tuberculose et du paludisme réunis (https://gco.iarc.fr/).

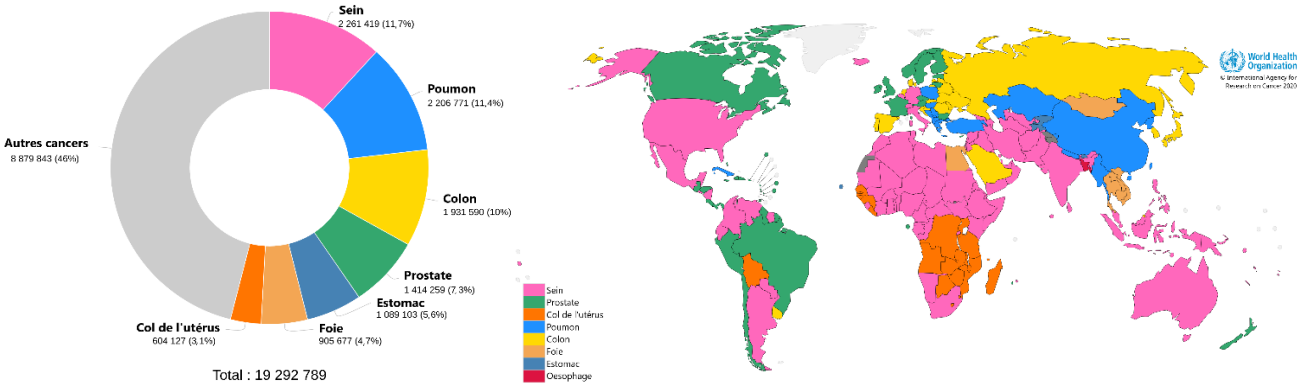


Figure 38 : Répartition estimative des nombres de cas de cancer dans le monde en 2020. (http://gco.iarc.fr)

Plusieurs molécules anticancéreuses provenant des plantes médicinales ont été développées depuis plusieurs années. Citons comme exemple la vinblastine et la vincristine de *Catharantus roseus*, le paclitaxel (Taxol) de *Taxus brevifolia* et la podophylotonine du *Podophyllum peltatum* (Fan, 1999 ; Mukherjee *et al.*, 2001 ; Reddy *et al.*, 2003). Plusieurs types de traitement ont également été proposés aux patients atteints de cancer (chimiothérapie, immunothérapie, radiothérapie, hormonothérapie ou thérapies ciblées). Cependant, ces molécules et ces traitements présentent des effets indésirables, parfois très sévères. La recherche de nouvelles molécules anticancéreuses ayant une activité similaire voire même supérieure, avec moins d'effets secondaires indésirables constitue donc toujours une nécéssité.

La cytotoxicité, ciblant le rétablissement de la mort des cellules cancéreuses, reste un moyen de découverte de ces nouvelles molécules, même s'il s'agit de résultats préliminaires.

❖ Principe

La cytotoxicité des extraits bruts a été évaluée sur les cellules cancéreuses HEpG2, responsables du cancer du foie humain et sur les cellules HT 29, responsables du cancer du côlon

(Hosry *et al.*, 2014). Les concentrations des extraits bruts qui inhibent 50 % de la prolifération de ces cellules cancéreuses ont été mesurées.

❖ Résultats et discussion

Les résultats des tests de cytotoxicité des extraits bruts de *Psiadia* de Madagascar sont exposés dans la **figure 39**.

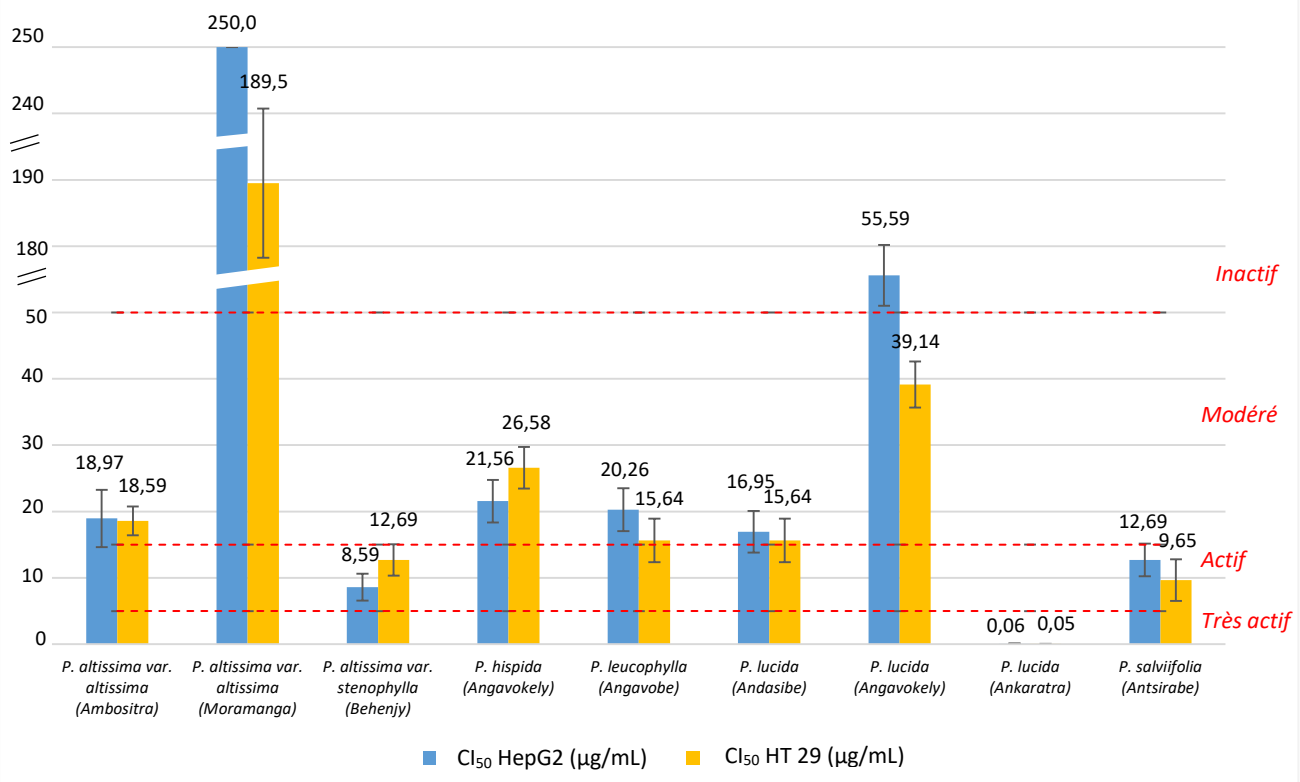


Figure 39 : Activité cytotoxique des extraits bruts des espèces du genre *Psiadia* de Madagascar : concentrations inhibant 50 % de la croissance des cellules cancéreuses HepG2 et HT 29.

Les résultats des tests cytotoxiques ont été interprétés selon le classement de l'effet anticancéreux présenté dans le **tableau VII** suivant (Bero *et al.*, 2009 ; Bero & Quetin-Leclercq, 2011).

Tableau VII : Interprétation des résultats du test cytotoxique.

CI_{50} > 50 µg/mL	Non actif
15 < CI_{50} < 50 µg/mL	Activité modérée
5 < CI_{50} < 15 µg/mL	Actif
CI_{50} < 5 µg/mL	Très actif

Les résultats des tests de cytotoxicité ont mis en évidence 7 extraits bruts présentant une activité cytotoxique sur HepG2 et 8 extraits bruts présentant une activité cytotoxique sur HT 29.

L'extrait brut de *P. lucida* collectée à Ankaratra est très actif sur les deux cibles avec des CI_{50} respectives de 0,06 et 0,05 µg/mL.

Deux extraits sont actifs sur les deux cibles. Il s'agit des extraits bruts de *P. altissima* var. *stenophylla* (CI_{50} = 8,59 et 12,69 µg/mL respectivement) et de *P. salviifolia* (CI_{50} = 12,69 et 9,65 µg/mL respectivement).

Les extraits bruts de *P. altissima* var. *altissima* collectée à Ambositra, *P. lucida* collectée à Angavokely et à Andasibe, *P. hispida* et *P. leucophylla*, sont modérément actifs avec des CI_{50} variant de 15,64 à 39,14 µg/mL.

L'extrait brut de *P. altissima* var. *altissima* collectée à Moramanga est inactif contre les cellules cancéreuses HepG2 et HT 29.

P. lucida et *P. altissima* var. *altissima* manifestent une variation de l'activité cytotoxique en fonction du lieu de collecte. Les résultats pour l'espèce *P. lucida* sont en accord avec ceux du profilage chimique qui a révélé une variabilité géographique. Cependant, pour l'espèce *P. altissima* var. *altissima*, comme les profils chimiques sont similaires, les composés responsables de cette cytotoxicité pourraient être des composés minoritaires de l'extrait brut.

P. lucida (Ankaratra)

L'extrait brut le plus actif contre les cellules cancéreuses HepG2 et HT 29 est l'extrait brut de ***P. lucida*** collectée à **Ankaratra** (CI_{50} respectives 0,06 et 0,05 µg/mL).

III. 1. 5. Conclusion

Le **criblage chimique** des cinq espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar a mis en évidence :

- Une richesse en métabolites secondaires pour toutes les espèces étudiées *(**P. altissima, P. hispida, P. leucophylla, P. lucida** et **P. salviifolia**).*
- Une similarité de la composition chimique de l'espèce ***P. altissima*** quel que soit le lieu de collecte et la variété.
- Une variabilité géographique de la composition chimique de l'espèce ***P. lucida***.

Le **criblage biologique** de ces mêmes espèces a révélé un potentiel antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique pour l'ensemble des extraits. Toutefois parmi les 9 spécimens étudiés :

- Deux spécimens (***P. lucida* collectée à Andasibe** et **à Ankaratra**), présentent une forte activité antipaludique ;

- Neuf manifestent une forte activité anti-inflammatoire, cependant un seul extrait se démarque par une faible toxicité sur les cellules mitochondriales : ***P. altissima* var. *altissima* collectée à Moramanga** ;
- Trois (***P. altissima* var. *stenophylla***, ***P. lucida* collectée à Ankaratra** et ***P. salviifolia***) présentent une cytotoxicité sur les lignées cellulaires cancéreuses HepG2 et HT 29.

La combinaison des criblages chimiques et biologiques nous a conduit à sélectionner l'espèce *P. lucida* pour la poursuite des études phytochimiques avec pour objectif l'isolement de principes actifs. La raison en est que d'une part, cette espèce s'est montrée active envers les différentes cibles biologiques et d'autre part, elle n'a jamais fait l'objet d'une étude phytochimique approfondie en vue de la caractérisation des molécules bioactives.

Il est à noter toutefois que l'étude phytochimique de *P. altissima* var. *altissima* collectée à Moramanga n'est pas dénuée d'intérêt, son étude phytochimique pourra être envisagée ultérieurement.

Étude phytochimique de *Psiadia lucida*

Chapitre 2. Étude phytochimique de *Psiadia lucida*

Les criblages chimique et biologique effectués sur cinq espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar ont permis de sélectionner l'espèce *P. lucida* pour une étude approfondie. En effet, l'extrait brut de cette espèce collectée à Ankaratra a révélé une activité antipaludique (CI_{50} = 4,54 µg/mL), anti-inflammatoire (CI_{50} = 0,04 µg/mL) et une cytotoxicité sur les lignées cellulaires cancéreuses HepG2 (CI_{50} = 0,06 µg/mL) et HT 29 (CI_{50} = 0,05 µg/mL). L'étude phytochimique de cette espèce sera donc décrite dans ce chapitre. Pour rappel, les détails de la collecte et de l'extraction de ce végétal sont respectivement présentés dans le **Tableau I - Annexe I - Tome II - page 4** et dans le **Tableau IV - Tome I - page 88**. Cette extraction a abouti à un rendement de 7,9 %.

III. 2. 1. Fractionnement et isolement des métabolites spécialisés

Le fractionnement et l'isolement des métabolites spécialisés de *P. lucida* ont été réalisés au moyen de plusieurs techniques, à savoir l'extraction liquide-liquide, la Chromatographie Liquide Moyenne Pression (CLMP) et la Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP).

Les diverses étapes du fractionnement ont été suivies au moyen de la CLHP couplée à un détecteur à barrettes de photodiodes (DAD) et un détecteur d'aérosol chargé (CAD) ou un détecteur évaporatif à diffusion de lumière (ELSD) et/ou par CCM.

III. 2. 1. 1. Fractionnement de l'extrait brut par extraction liquide-liquide

Six grammes de l'extrait brut AcOEt ont été fractionnés par extraction liquide-liquide au moyen d'isohexane et de méthanol non miscibles. L'opération a été réalisée 6 fois puis les fractions iso-hexaniques ont été rassemblées (m = 3,1 g) ; de même, pour les fractions méthanoliques (m = 2,7 g). L'extrait brut, les fractions iso-hexanique et méthanolique ont ensuite été soumis à un criblage chimique et biologique.

- **Criblage chimique par CLHP**

L'extrait brut et les fractions obtenues ont été analysés par CLHP sur une colonne en phase inverse couplée à un détecteur DAD et un détecteur CAD (**Figure 40**).

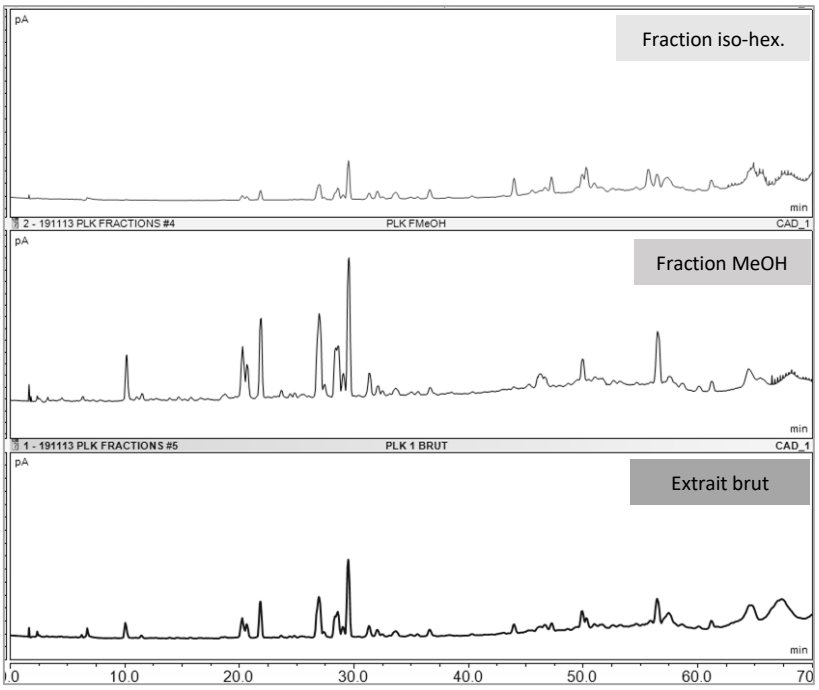


Figure 40 : Profils CLHP-CAD de l'extrait brut AcOEt et des deux fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida.*

Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm Éluants : H_2O+0,1% AF/ACN+0,1% AF
Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min), 10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min) Débit : 0,7 mL/min

L'analyse comparative des profils chromatographiques montre que les deux fractions présentent des profils chimiques quelque peu différents. Cependant, la majorité des composés prédominants de l'extrait brut est concentrée dans la fraction méthanolique, à savoir les composés ayant un temps de rétention entre 10 et 32 minutes.

❑ Criblage biologique

Les tests d'activité anti-inflammatoire et cytotoxique ont été réalisés par l'équipe du Professeur Evelyne OLLIVIER et du Maître de Conférences Carole DI GIORGIO de l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE) de la Faculté de Pharmacie de l'Université d'Aix-Marseille, France.

L'activité de l'extrait brut et de ses fractions iso-hexanique et méthanolique a été évaluée sur différentes cibles biologiques afin d'identifier les fractions bioactives.

▪ Activité anti-inflammatoire

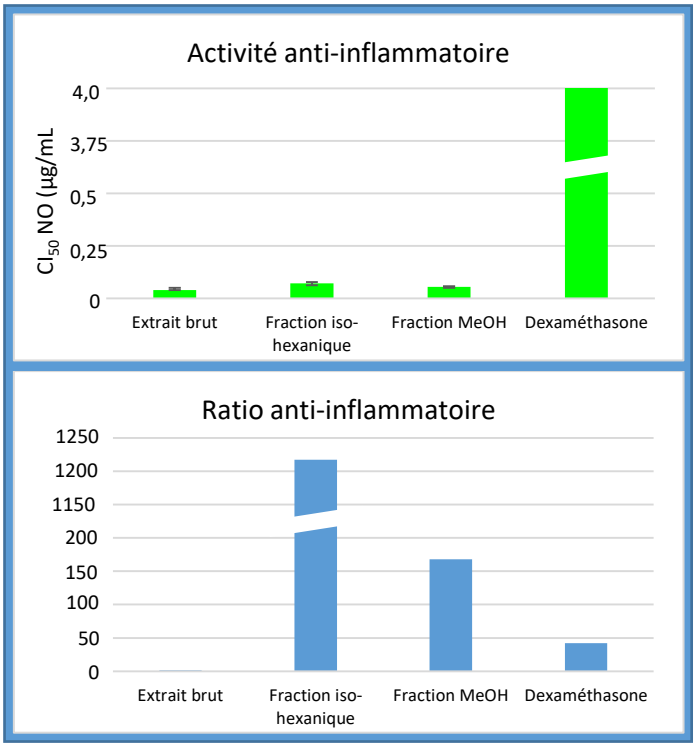
❖ Principe

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait brut et des deux fractions a été évaluée *in vitro* sur des macrophages de souris immortalisés (lignée cellulaire RAW 264.7) en déterminant la concentration inhibant 50 % de la production d'oxyde nitrique. Une évaluation de la viabilité des cellules a été

effectuée en parallèle pour valider l'activité. Le ratio anti-inflammatoire, rapport entre la concentration inhibitrice de la viabilité cellulaire et la concentration inhibitrice de la production d'oxyde nitrique, a également été calculé (Iskandar *et al.*, 2018).

❖ Résultats et discussion

Les résultats des tests anti-inflammatoires sont exposés dans la **figure 41** suivante.



T : Dexaméthasone (CI_{50} = 3,98 µg/mL)

Figure 41 : Activité anti-inflammatoire de l'extrait brut AcOEt et des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida.*

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été effectuée en s'appuyant sur un classement présenté dans le **tableau VIII** (Bero *et al.*, 2009 ; Bero & Quetin-Leclercq, 2011).

Tableau VIII : Interprétation des résultats des tests anti-inflammatoires.

CI_{50} > 50 µg/mL	Non actif
15 < CI_{50} < 50 µg/mL	Activité modérée
CI_{50} < 15 µg/mL	Actif

L'extrait brut et les fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida* affichent une bonne activité inhibitrice de la production d'oxyde nitrique avec des CI_{50} allant de 0,04 à 0,07 µg/mL. Les valeurs du ratio anti-inflammatoire indiquent que l'extrait brut se révèle être toxique pour les cellules

Raw alors que les fractions ne le sont pas. Cela pourrait s'expliquer par des phénomènes de synergie entre les différents constituants de l'extrait.

- **Activité cytotoxique**

  - **Principe**

L'activité cytotoxique de l'extrait brut et des fractions a été évaluée *in vitro* sur les lignées cellulaires cancéreuses HEpG2, responsables du cancer du foie humain et sur les cellules HT 29, responsables du cancer du côlon en déterminant la concentration de l'échantillon à laquelle 50 % de la prolifération cellulaire est inhibée (Hosry *et al.*, 2014).

  - **Résultats et discussion**

Les résultats des tests cytotoxiques sont exposés dans la **figure 42** suivante.

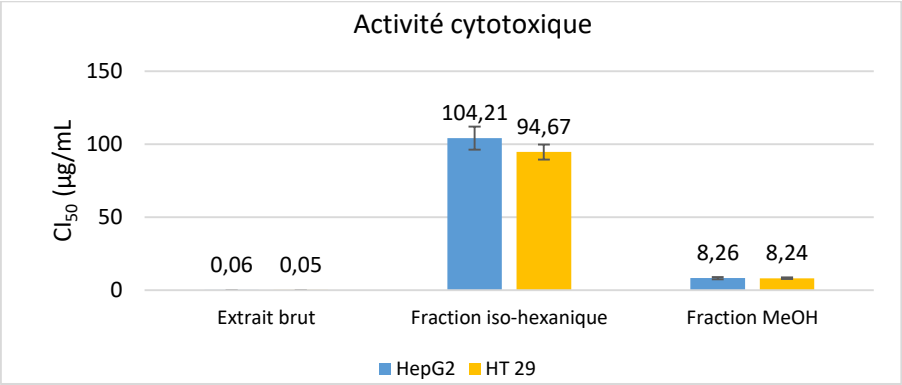


Figure 42 : Activité cytotoxique de l'extrait brut AcOEt et des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida.*

L'évaluation de la cytotoxicité a été effectuée en s'appuyant sur un classement présenté dans le tableau IX (Bero *et al.*, 2009 ; Bero & Quetin-Leclercq, 2011).

Tableau IX : Interprétation des résultats des tests cytotoxiques.

CI_{50} > 50 µg/mL	Non actif
15 < CI_{50} < 50 µg/mL	Activité modérée
5 < CI_{50} < 15 µg/mL	Actif
CI_{50} < 5 µg/mL	Très actif

Selon ces classements, l'extrait brut et la fraction méthanolique manifestent une activité cytotoxique sur les deux cibles HepG2 et HT 29 avec des CI_{50} allant de 0,05 à 8,26 µg/mL. Les composés responsables de la cytotoxicité de l'extrait brut se retrouvent donc dans la fraction méthanolique.

❑ Sélection des fractions à travailler pour la suite du fractionnement

À l'issue des résultats des criblages chimique et biologique, seule la fraction méthanolique, ayant un profil chromatographique plus riche et présentant à la fois une activité anti-inflammatoire et une cytotoxicité, a été sélectionnée pour les étapes de fractionnements et de purification des principes actifs.

III. 2. 1. 2. Purification de la fraction méthanolique

L'isolement des métabolites spécialisés à partir de la fraction méthanolique décrit ci-après est illustré dans la **figure 44** donnée au paragraphe II. 2. 1. 4. - page 111.

800 mg de la fraction méthanolique ont d'abord été fractionnés par CLMP sur une colonne de silice en phase inverse éluée au moyen d'un gradient de solvant de polarité décroissante eau/acétonitrile. L'opération a été effectuée 2 fois avec une masse de 400 mg. Deux fractions F1 (345,6 mg) et F2 (249,2 mg) ont été obtenues à l'issue de ce fractionnement.

La fraction méthanolique et les deux fractions F1 et F2 ont été analysées par CLHP-DAD-CAD éluée au moyen d'un gradient acétonitrile/eau (**Figure 43**).

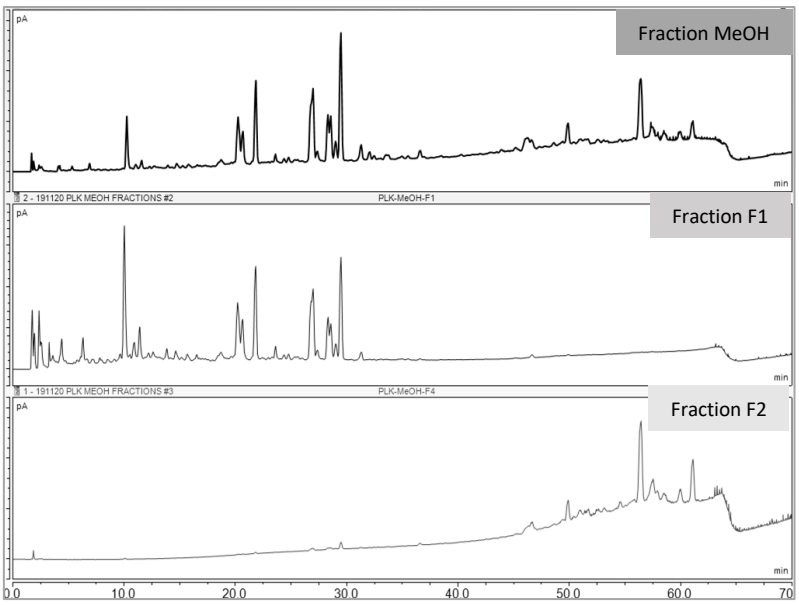


Figure 43 : Profils CLHP-CAD de la fraction méthanolique de *P. lucida* et des fractions F1 et F2 obtenues par CLMP.

Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm Éluants : H_2O+0,1% AF/ACN+0,1% AF
Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min), 10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min) Débit : 0,7 mL/min

Les profils chromatographiques obtenus montrent que :

- La fraction F1 concentre les composés majoritaires de la fraction méthanolique.

- La fraction F2 est composée majoritairement des métabolites très apolaires qui pourraient être des acides gras.

En conséquence, seule la fraction F1 a été sélectionnée pour la suite des travaux d'isolement des métabolites spécialisés.

III. 2. 1. 3. Purification de la fraction F1

275 mg de la fraction F1 ont été soumis à un fractionnement par CLHP semi-préparative sur une colonne en phase inverse éluée au moyen d'un gradient eau + 0,1 % d'acide formique/MeOH + 0,1 % d'acide formique. Ce fractionnement a permis l'obtention de 4 composés purs. Il s'agit de **PLU 1** (3,8 mg), **PLU 7** (4,5 mg), **PLU 8** (12,9 mg) et **PLU 9** (4,0 mg). Les fractions F1.1, F1.2, F1.3 et F1.4, contenant majoritairement les composés **PLU 2** à **PLU 6**, ont ensuite été retravaillées.

Les fractions F1.1 (7,8 mg), F1.2 (6,6 mg), F1.3 (8,3 mg) et F1.4 (9,9 mg) ont été chacune soumises à un fractionnement par CLHP analytique sur une colonne en phase inverse éluée par un gradient eau + 0,1 % d'acide formique/acétonitrile + 0,1 % d'acide formique. Le contrôle de pureté de ces métabolites a été ensuite réalisé par une analyse CLHP-DAD-CAD.

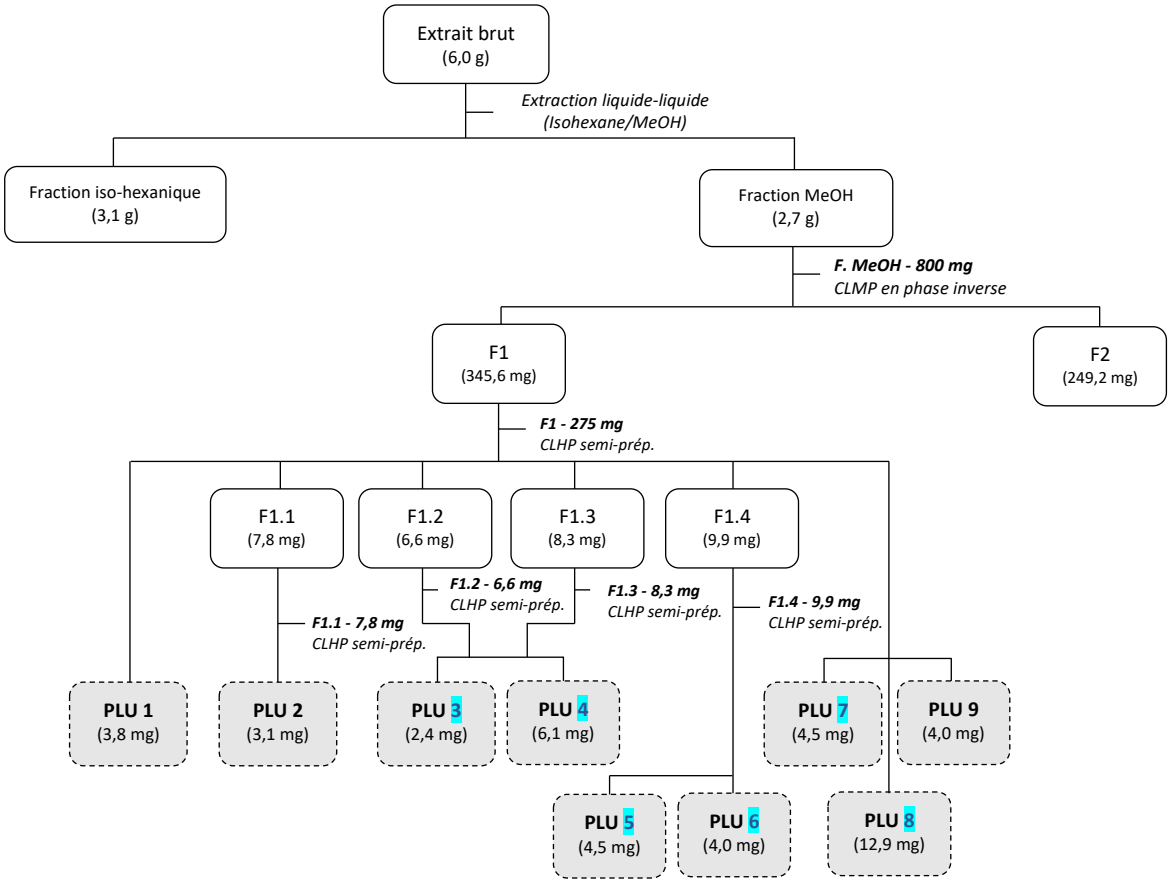
À partir de la fraction F1.1, le composé **PLU 2** (3,1 mg) a été obtenu pur.

À partir de la fraction F1.2, deux composés purs ont été isolés. Il s'agit de **PLU 3** (2,0 mg) et **PLU 4** (2,6 mg). Les mêmes composés ont été obtenus à partir de la fraction F1.3 à hauteur de 0,4 et 3,5 mg respectivement pour **PLU 3** et **PLU 4**.

À partir de la fraction F1.4, deux composés notés **PLU 5** (4,5 mg) et **PLU 6** (4,0 mg) ont été isolés.

III. 2. 1. 4. Synthèse du fractionnement de *P. lucida*

Le fractionnement de l'extrait brut de *P. lucida* collectée à Ankaratra a conduit à l'isolement de 9 métabolites purs, notés **PLU 1** à **PLU 9**. Les étapes de purification sont synthétisées dans la **figure 44** ci-après. Le profil CLHP-CAD de l'extrait brut avec l'annotation de ces 9 métabolites est présenté dans la **Figure 65 - Annexe V. 10. - Tome II - page 98**.



PLU X : Composés nouveaux isolés de *P. lucida*

Figure 44 : Fractionnement de l'extrait brut de *P. lucida* pour l'isolement des métabolites **PLU 1** à **PLU 9**.

III. 2. 2. Élucidation structurale des métabolites spécialisés isolés

L'identification des composés isolés a été réalisée au Spectropole d'Aix-Marseille Université durant un séjour de recherche sous la direction du Docteur Gaëtan HERBETTE.

L'élucidation structurale des métabolites isolés a été réalisée au moyen de diverses techniques analytiques :

- la polarimétrie (pouvoir rotatoire),
- l'infrarouge (IRTF),
- la spectrométrie de masse haute résolution (SMHR),
- la résonance magnétique nucléaire (RMN) monodimensionnelle (^{1}H, ^{13}C), bidimensionnelle homonucléaire (^{1}H-^{1}H COSY, ^{1}H-^{1}H NOESY) et hétéronucléaire (^{1}H-^{13}C HSQC et ^{1}H-^{13}C HMBC).

L'ensemble de ces techniques a permis l'élucidation structurale de :

- 3 composés mentionnés dans la littérature,
- 6 composés de structure nouvelle.

Les déplacements chimiques des atomes de carbone ont été déterminés dans la majorité des cas à partir des spectres ^{1}H-^{13}C HSQC et ^{1}H-^{13}C HMBC en raison de la faible quantité de matière disponible. Les données analytiques des 9 composés figurent en **Annexe V - Tome II - page 55-97**. Leur élucidation structurale est détaillée ci-après.

III. 2. 2. 1. Métabolites spécialisés connus

Les 3 métabolites spécialisés mentionnés dans la littérature appartiennent pour le premier à la famille des alcools, le second à celle des acides hydroxycinnamiques et le troisième à des polyacétylènes (**Figure 45**). L'élucidation structurale de ces composés est détaillée ci-après.

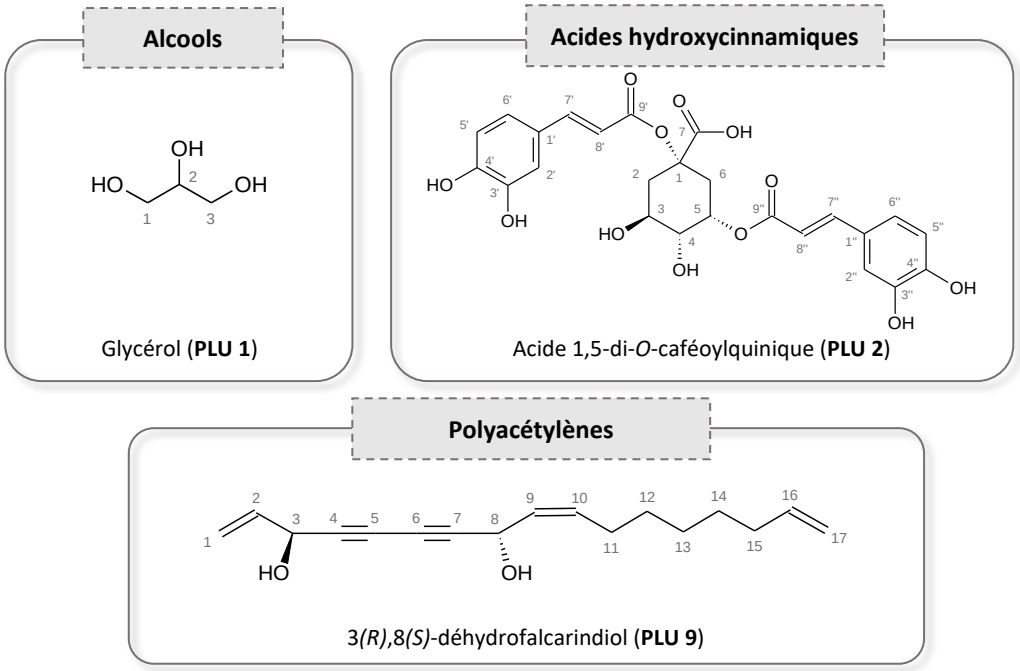


Figure 45 : Métabolites spécialisés connus isolés de *P. lucida*.

- **Élucidation structurale du métabolite PLU 1**

Les données spectrales du métabolite **PLU 1** sont présentées en **Annexe V. 1. - Tome II - pages 56-58**.

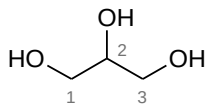
Le composé **PLU 1** a été isolé sous la forme d'une pâte marron. Sa formule moléculaire $C_3H_8O_3$ a été déterminée par SMHR en mode ESI$^-$ à partir de l'ion pseudomoléculaire $[M+Na-2H]^-$ à *m/z* 112,9793 (valeur calculée : *m/z* 113,0220), indiquant une absence d'insaturation.

Le spectre RMN ^{1}H de **PLU 1** présente deux signaux à δ_{1H} 3,51 (H-3) et à δ_{1H} 3,59 (H-1) sous forme d'un doublet de doublet correspondant à deux groupements méthylènes équivalents et un signal à δ_{1H} 3,59 (H-2) sous forme d'un triplet correspondant à un groupement méthine.

Le spectre RMN ^{13}C montre la présence de deux signaux à δ_{13C} 65,4 correspondant aux deux atomes de carbone équivalents C-1 et C-3 et à δ_{13C} 73,3 correspondant au carbone C-2.

Ces déplacements chimiques ^{1}H et ^{13}C sont caractéristiques d'un déblindage dû à la présence d'un atome d'oxygène en position *alpha*.

L'ensemble des données spectrales (**Tableau XI - Annexe V. 1. - Tome II - page 56**) montre que la structure correspond au glycérol et elles sont en accord avec la littérature (Lu *et al.*, 2018).



Glycérol (**PLU 1**)

Le glycérol a été isolé pour la première fois en 1778 par Carl Wilhelm Scheele lors de la saponification de l'huile d'olive *Olea europaea (Oleaceae)* (Beatriz *et al.*, 2011). Ce composé a également été retrouvé dans plusieurs plantes telles que le maïs *Zea mays (Poaceae) ;* le pois cultivé *Pisum sativum (Fabaceae),* l'orge *Hordeum vulgare (Poaceae)* et le colza *Brassica napus (Brassicaceae)* (Gerber *et al.*, 1988).

- **Élucidation structurale du métabolite PLU 2**

Les données spectrales du métabolite **PLU 2** sont présentées en **Annexe V. 2. - Tome II - pages 59-63**.

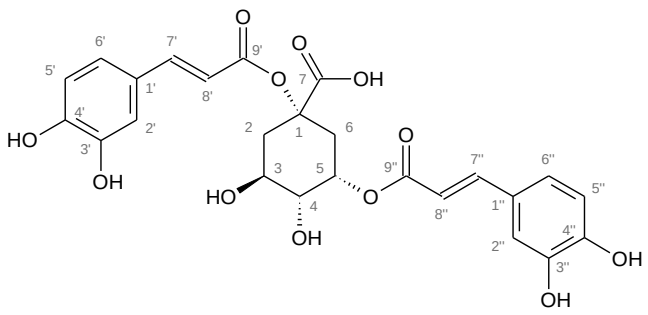
Le composé **PLU 2** a été isolé sous forme de cristaux jaunes. Sa formule moléculaire $C_{25}H_{24}O_{12}$ a été obtenue à partir de son spectre SMHR en mode ESI^- qui a révélé un ion pseudomoléculaire $[M-H]^-$ à *m/z* 515,0919 (valeur calculée : *m/z* 515,1195). Le nombre d'insaturations calculé à partir de cette formule brute est de 14.

Le spectre RMN ^{1}H a mis en évidence des signaux correspondant à 6 protons aromatiques H-2' et H-2'' (δ_{1H} 7,06), H-5' et H-5'' (δ_{1H} 6,78), H-6' et H-6'' (δ_{1H} 6,96), à quatre groupements éthyléniques en 7' et 7'' (δ_{1H} 7,58), en 8' (δ_{1H} 6,31) et en 8'' (δ_{1H} 6,28), à deux groupements méthylènes en 2 (δ_{1H} 2,40 et 2,50) et 6 (δ_{1H} 2,05 et 2,59) et à trois groupements méthines en 3 (δ_{1H} 4,28), en 4 (δ_{1H} 3,77) et en 5 (δ_{1H} 5,40).

Le spectre RMN ^{13}C montre la présence de 16 atomes de carbone aromatiques et éthyléniques (δ_{13C} 115,2-149,6), d'un carbone d'une fonction acide C-7 (δ_{13C} 175,8), de deux carbones d'une fonction

ester C-9' (δ_{13C} 168,2) et C-9'' (δ_{13C} 168,8), de six carbones d'un cycle à 6 à savoir C-1 (δ_{13C} 81,7), C-2 (δ_{13C} 35,9), C-3 (δ_{13C} 69,8), C-4 (δ_{13C} 73,2), C-5 (δ_{13C} 71,6), C-6 (δ_{13C} 37,3).

L'ensemble des corrélations homonucléaires ^{1}H-^{1}H COSY et hétéronucléaires ^{1}H-^{13}C HSQC et HMBC ont permis d'identifier le composé **PLU 2** comme étant l'acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique ou la Sinarine. Les données RMN ^{1}H et ^{13}C de **PLU 2** (**Tableau XII - Annexe V. 2. - Tome II - page 60**) sont en accord avec celles de la littérature (Huan-yu *et al.*, 2014).



Acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique (**PLU 2**)

L'acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique a été isolé pour la première fois des feuilles de *Cynara scolymus* (*Asteraceae*) (Panizzi & Scarpati, 1954). Il a également été isolé dans les feuilles de *Lonicera japonica* (*Caprifoliaceae*) (Ma *et al.*, 2009), la plante entière de *Foeniculum vulgare* (*Apiaceae*) (Parejo *et al.*, 2004) et les racines de *Dorema ammoniacum* (*Apiaceae*) (Etemadi-Tajbakhsh *et al.*, 2020). Il est abondant dans plusieurs espèces de la famille des *Asteraceae*, notamment les fleurs d'*Inula montana* (Garayev *et al.*, 2018), les feuilles de *Cynara cardunculus* (Slanina *et al.*, 1999), les fleurs d'*Helichrysum italicum* (Zapesochnaya *et al.*, 1992) et les fleurs d'*Artemisia vulgaris* (Carnat *et al.*, 2000).

- **Élucidation structurale du métabolite PLU 9**

Les données spectrales du métabolite **PLU 9** sont présentées en **Annexe V. 9. - Tome II - pages 94-97**.

Le composé **PLU 9** a été obtenu sous forme de poudre marron. Sa formule moléculaire $C_{17}H_{22}O_2$ a été attribuée sur la base des données de SMHR en mode ESI^+ révélant un ion $[M-H_2O+H]^+$ à *m/z* 241,1591 (valeur calculée : *m/z* 241,1587). Le nombre d'insaturations déduit s'élève à 7.

Le spectre RMN ^{1}H du composé **PLU 9** révèle la présence de 4 protons du groupe méthylidène H-1 (δ_{1H} 5,19 ; 5,40) et H-17 (δ_{1H} 4,92 ; 4,99), 4 protons éthyléniques H-2 (δ_{1H} 5,91), H-9 (δ_{1H} 5,47), H-10 (δ_{1H} 5,55) et H-16 (δ_{1H} 5,82), 2 protons oxyméthines H-3 (δ_{1H} 4,88) et H-8 (δ_{1H} 5,16) et des 5 groupes méthylènes à δ_{1H} 1,41 - 2,12.

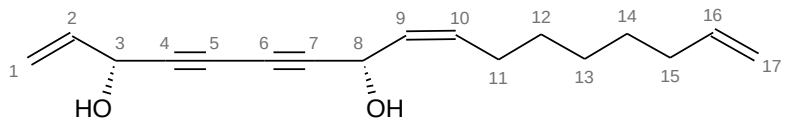
À partir des spectres RMN ^{13}C et ^{1}H-^{13}C HSQC, 17 carbones ont été observés : 4 atomes de carbone quaternaires C-4 (δ_{13C} 79,7), C-5 (δ_{13C} 70,1), C-6 (δ_{13C} 68,7) et C-7 (δ_{13C} 81,0) caractéristiques de

deux triples liaisons conjuguées, 2 atomes de carbone du groupe méthylidène C-1 (δ_{13C} 116,7) et C-17 (δ_{13C} 114,8), 4 carbones éthyléniques C-2 (δ_{13C} 138,0), C-9 (δ_{13C} 129,8), C-10 (δ_{13C} 134,0) et C-16 (δ_{13C} 140,0), 5 groupements méthylènes C-11 à C-15 (δ_{13C} 28,5 - 34,8) et deux carbones liés à un atome d'oxygène C-3 (δ_{13C} 63,8) et C-8 (δ_{13C} 58,8).

L'ensemble des données spectrales RMN 1D et 2D a conduit à l'élucidation structurale de **PLU 9** comme étant le déhydrofalcarindiol.

Il est à noter que la stéréochimie de **PLU 9** n'a pas été déterminée lors de notre étude. Toutefois, plusieurs auteurs ont caractérisé la configuration absolue des atomes de carbone asymétriques de cette même molécule au moyen de la méthode de Mosher (Dale & Mosher, 1973). Cette méthode consiste à esterifier dans un premier temps les deux fonctions hydroxyles en 3 et en 8 avec le *R*-MTPA (acide α-méthoxy-α-trifluorométhylphénylacétique) et avec son énantiomère le *S*-MTPA. Les valeurs des déplacements chimiques des molécules ainsi estérifiées, soit avec le *R*-MTPA, soit avec le *S*-MTPA, ont été par la suite comparées. Les résultats ont été interprétés selon le modèle adapté par Ohtani et ses collaborateurs (Ohtani *et al.*, 1991) pour laquelle une valeur positive de $\Delta\delta^{R,S} = (\delta_R - \delta_S)$ indique une stéréochimie *R* alors qu'une valeur négative correspond à une stéréochimie *S*. Un exemple de détermination de la chiralité d'une molécule en présence d'agent chiral de dérivatisation tel que le sel de Mosher est présenté en **Annexe XI - Tome II - page 228**.

Les travaux antérieurs (Bernart *et al.*, 1996 ; Jiang *et al.*, 2019 ; Stavri *et al.*, 2005) ont tous rapporté des valeurs positives lorque le calcul est appliqué aux déplacements chimiques des protons H-1 et H-2 et des protons H-9 et H-10. Ce qui conduit à une stéréochimie 3*(R)*-8*(R)*. L'analyse de ces résultats ainsi que la comparaison des données des analyses RMN ^{1}H et ^{13}C de **PLU 9** à celle de l'isomère 3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol, décrit dans la littérature (Stavri *et al.*, 2005) (**Tableau XIX - Annexe V. 9. - Tome II - page 94**) ont permis d'en déduire qu'il s'agit probablement de cet isomère.



3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 9**)

Le 3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol a été isolé pour la première fois des racines de *Bidens leucantha (Asteraceae)* (Bohlmann *et al.*, 1962). Sa présence n'a été signalée que dans trois familles, à savoir les *Asteraceae*, les *Araliaceae* et les *Apiaceae* où il a été isolé dans plusieurs espèces telles que les parties aériennes d'*Artemisia campestris (Asteraceae)* (De Pascual *et al.*, 1983), les racines de *Levisticum officinale (Apiaceae)* (Schinkovitz *et al.*, 2008), les racines d'*Aralia cordata (Araliaceae)* (Dang *et al.*, 2005) et les racines de *Dendropanax arboreus (Araliaceae)* (Bernart *et al.*, 1996). Cette molécule est signalée pour la première fois pour le genre *Psiadia*.

III. 2. 2. 2. Métabolites spécialisés nouveaux

L'élucidation structurale des 6 composés nouveaux est détaillée ci-après.

- **Élucidation structurale du métabolite PLU 3**

Les données spectrales du métabolite **PLU 3** sont présentées en **Annexe V. 3. - Tome II - pages 64-68**.

Le composé **PLU 3** a été obtenu sous forme d'une poudre marron orangé. Sa formule moléculaire $C_{17}H_{22}O_3$ a été déduite à partir de son spectre SMHR en mode ESI$^+$ indiquant la présence d'un ion $[M+Na]^+$ à *m/z* 297,1459 (valeur calculée : *m/z* 297,1461). Le composé **PLU 3** possède ainsi 7 insaturations. La présence d'un ion $[M-H_2O+H]^+$ à *m/z* 257,1536 et l'abondance d'un ion $[M-2H_2O+H]^+$ à *m/z* 239,1430, correspondant à une perte successive de deux molécules d'eau, indique, par ailleurs, la présence de groupement hydroxyle sur la molécule.

L'analyse du spectre IRTF du composé **PLU 3** a montré des bandes d'absorptions maximales à 3354,47 cm^{-1} (O-H) ; 3073,36 cm^{-1} (CH *sp*^{2}) ; 2931,00 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2857,54 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1593,08 cm^{-1} (C=C) ; 1356,83 cm^{-1} (O-H déformation dans le plan) ; 1220,12 cm^{-1} (C-C) et 1033,45 cm^{-1} (C-O).

Le composé **PLU 3** présente des spectres RMN ^{1}H et ^{13}C similaires à ceux du composé **PLU 9** identifié précédemment (**Tableau XIII - Annexe V. 3. - Tome II - page 65**). Il s'agit donc d'un polyacétylène aliphatique à 17 atomes de carbone de type falcarinol. Comme pour **PLU 9**, les déplacements chimiques en 3 et en 8 indiquent que les carbones C-3 et C-8 sont liés chacun à un groupe hydroxy. En revanche, les données spectrales de **PLU 3** indiquent la présence d'un groupe hydroxy supplémentaire en C-12.

Les corrélations homonucléaires ^{1}H-^{1}H COSY et hétéronucléaires ^{1}H-^{13}C HSQC et HMBC, décrites ci-après, ont permis de reconstituer le squelette de **PLU 3** et de confirmer les premières hypothèses de structure.

Le spectre ^{1}H-^{1}H COSY montre une corrélation entre les deux protons géminaux H-1 (δ_{1H} 5,19 et 5,40) et le proton oléfinique H-2 (δ_{1H} 5,91). Ce dernier, à son tour, corrèle avec le proton H-3 (δ_{1H} 4,88). Cette structure est également confirmée par les corrélations ^{1}H-^{13}C HMBC entre les protons H-1 et les carbones C-2 (δ_{13C} 138,0) et C-3 (δ_{13C} 63,8) et entre le proton H-2 et le carbone C-3 (**Figure 46**).

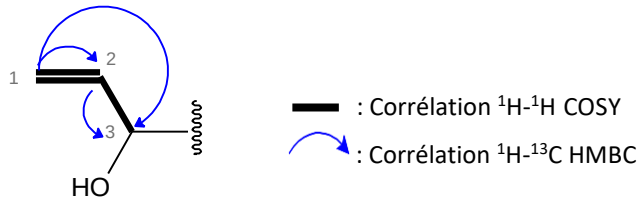


Figure 46 : Corrélations COSY et HMBC clés du premier groupe méthylidène du composé **PLU 3**.

Les corrélations ^{1}H-^{13}C HMBC entre le proton H-3 (δ_{1H} 4,88) et les carbones C-4 (δ_{13C} 79,8) et C-5 (δ_{13C} 70,1) et entre le proton H-8 (δ_{1H} 5,16) et les carbones C-6 (δ_{13C} 68,9) et C-7 (δ_{13C} 80,9) caractérisent deux triples liaisons conjuguées qui sont liées à C-3 (**Figure 47**).

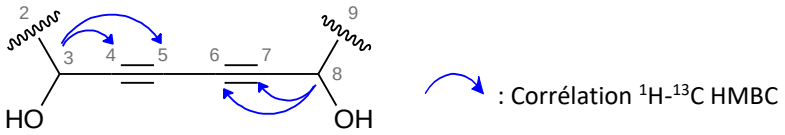


Figure 47 : Corrélations HMBC clés du motif lié à C-3 du composé **PLU 3**.

Sur le spectre ^{1}H-^{1}H COSY, le proton H-8 corrèle avec le proton oléfinique H-9 (δ_{1H} 5,58). Ce dernier est corrélé à un autre proton oléfinique H-10 résonant à δ_{1H} 5,67. La valeur de la constante de couplage entre H-9 et H-10 de $J_{9,10} = 10,7\ Hz$ est caractéristique d'une configuration *cis*. Par ailleurs, sur le spectre ^{1}H-^{13}C HMBC, des taches de corrélations entre le proton H-8 et les carbones C-9 (δ_{13C} 131,4) et C-10 (δ_{13C} 130,3), entre les protons H-11 (δ_{1H} 2,29) et ces mêmes carbones et entre le proton H-10 et les carbones C-8 (δ_{13C} 58,9) et C-9 ont été observées (**Figure 48**).

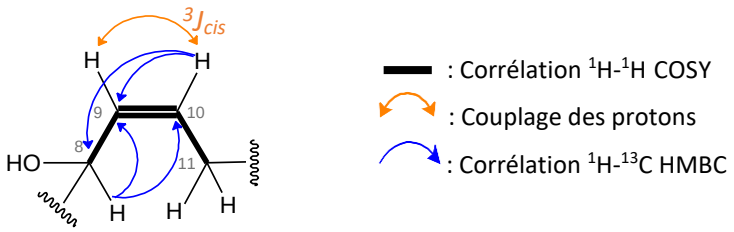


Figure 48 : Couplages des protons et corrélations COSY et HMBC clés du premier groupe méthylidène du composé **PLU 3**.

Les corrélations ^{1}H-^{1}H COSY entre le proton H-11 et H-12 (δ_{1H} 3,61), H-12 et H-13 (δ_{1H} 1,44 et 1,50), H-13 et H-14 (δ_{1H} 1,43 et 1,56), H-14 et H-15 (δ_{1H} 2,06) et entre les protons H-15 et le proton oléfinique H-16 (δ_{1H} 5,82) indiquent l'enchaînement des carbones C-11 à C-16. L'enchaînement de cette chaine aliphatique (**Figure 49**) est également confirmé par l'ensemble des corrélations ^{1}H-^{13}C HMBC.

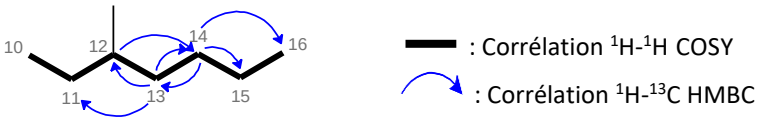


Figure 49 : Corrélations COSY et HMBC clés de la chaîne aliphatique du composé **PLU 3**.

Enfin, les deux protons H-17 (δ_{1H} 4,93 et 5,02) présentent une corrélation ^{1}H-^{1}H COSY avec le proton H-16 (δ_{1H} 5,82). Les corrélations observées entre le proton H-15 et les carbones C-16 (δ_{13C} 139,9) et C-17 (δ_{13C} 115,0) et entre les protons H-17 et le carbone C-15 (δ_{13C} 34,8) ont permis d'établir l'emplacement du deuxième groupe méthylidène lié à C-15 (**Figure 50**).

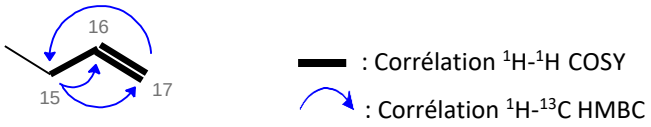
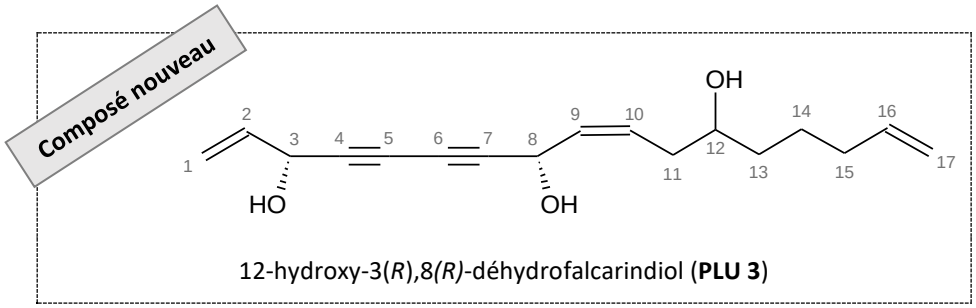
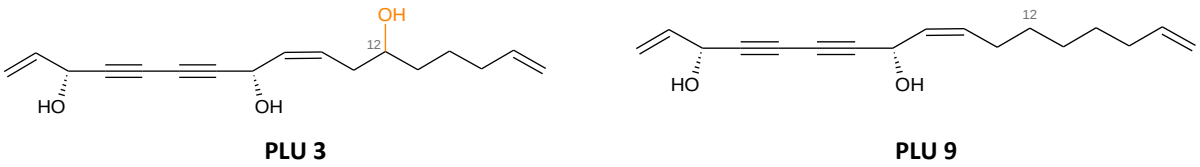


Figure 50 : Corrélations COSY et HMBC clés du deuxième groupe méthylidène du composé **PLU 3**.

Par conséquent, l'ensemble des données spectrales analysées a permis d'identifier le composé **PLU 3** comme étant le 12-hydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol. Il s'agit d'une nouvelle structure.



La structure de **PLU 3** est très proche de celle de **PLU 9** décrite précédemment (**Tableau XIII - Annexe V. 3. - Tome II - page 65**). La différence entre le composé **PLU 3** et **PLU 9** concerne uniquement le signal associé à l'atome de carbone C-12. Alors que ce dernier est lié à une fonction hydroxyle pour **PLU 3**, il correspond à un méthylène pour **PLU 9** (**Figure 51**). Aussi, la configuration absolue suggérée pour les carbones asymétriques C-3 et C-8 du composé **PLU 3** a été déduite de celle de **PLU 9**. Quant à la stéréochimie du carbone asymétrique C-12, il pourrait être envisagé de définir sa stéréochimie, soit par dichroïsme circulaire vibrationnel (VCD) et dichroïsme circulaire électronique (ECD), soit par RMN en ajoutant un agent chiral de solvatation ou de dérivation tel que le sel de Mosher.



PLU 3 **PLU 9**

Figure 51 : Structures des composés **PLU 3** (gauche) et **PLU 9** (droite).

- **Élucidation structurale du métabolite PLU 4**

Les données spectrales du métabolite **PLU 4** sont présentées en **Annexe V. 4. - Tome II - pages 69-73**.

Le composé **PLU 4** a été obtenu sous forme d'une poudre marron orangé. Sa formule moléculaire $C_{17}H_{22}O_3$ a été déterminée à partir de son spectre SMHR en mode ESI$^+$, révélant la présence d'un ion pseudomoléculaire $[M+Na]^+$ à *m/z* 297,1460 (valeur calculée : *m/z* 297,1461). Ce qui conduit à un nombre d'insaturations égal à 7. L'abondance d'un ion $[M-2H_2O+H]^+$ à *m/z* 239,1438

correspondant à une perte de deux molécules d'eau indique la présence d'un groupement hydroxyle sur la molécule.

L'analyse du spectre IRTF du composé **PLU 4** a montré des bandes d'absorptions maximales à 3353,34 cm^{-1} (O-H) ; 3081,67 cm^{-1} (CH sp^2) ; 2930,48 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2857,73 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1598,32 cm^{-1} (C=C) ; 1433,58 cm^{-1} (-CH-) ; 1371,32 cm^{-1} (O-H déformation dans le plan) ; 1220,25 cm^{-1} (C-C) et 1032,66 cm^{-1} (C-O).

Le composé **PLU 4** présente des spectres RMN ^{1}H et ^{13}C mono- et bidimensionnels (COSY, HSQC, HMBC et NOESY) similaires à ceux du composé **PLU 3** identifié précédemment. En effet, on retrouve les déplacements chimiques caractéristiques de deux groupes méthylidènes en 1 (δ_{13C} 116,7) et en 16 (δ_{13C} 139,9), de deux triples liaisons conjuguées en 4 (δ_{13C} 80,1) et en 6 (δ_{13C} 69,4), d'une double liaison *cis* en 9 (δ_{13C} 129,9), de 4 groupes méthylènes et de 3 carbones liés chacun à un atome d'oxygène.

Notons que l'analyse RMN ^{1}H réalisée n'a pas permis d'attribuer exactement les déplacements chimiques δ_{1H} 5,51 et 5,53 aux protons H-9 et H-10. Une séquence de découplage homonucléaire sélectif de proton (Meyer & Zangger, 2013 ; Saito *et al.*, 2020) a donc été entreprise. Ce découplage consiste à irradier un ou plusieurs protons à une fréquence de résonance afin de supprimer les couplages spin-spin existant avec le proton voisin. En effet, lorsqu'un proton est irradié, celui-ci absorbe de l'énergie et n'exerce alors plus d'influence sur le proton voisin. Ce dernier n'étant plus perturbé par le couplage, le spectre acquis est alors simplifié.

Le proton H-8 (δ_{1H} 5,20) a été irradié en premier lieu. Le spectre RMN ^{1}H de **PLU 4** avec l'homodécouplage montre l'absence de couplage à δ_{1H} 5,53 (**Figure 52**).

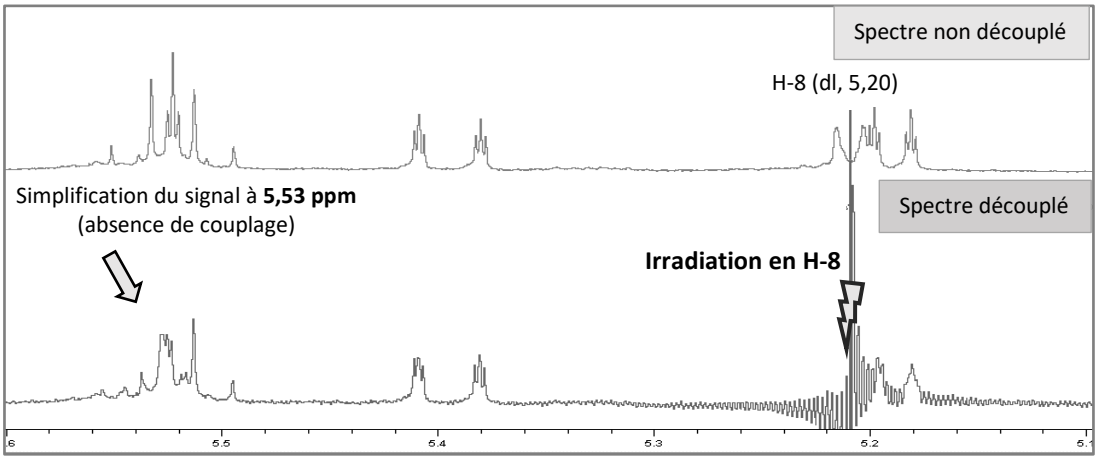


Figure 52 : Spectres RMN ^{1}H non découplé (haut) et après irradiation en H-8 (bas) de **PLU 4**.

Le proton H-11 (δ_{1H} 4,42) a été par la suite irradié. Cette irradiation a conduit à une perte de couplage des signaux à δ_{1H} 5,51, observés sur le spectre RMN ^{1}H homodécouplé de **PLU 4** (**Figure 53**).

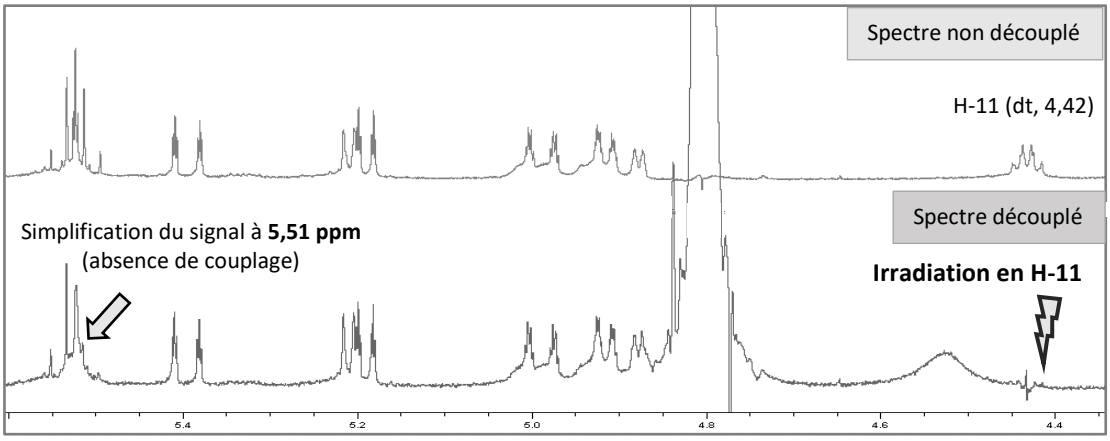


Figure 53 : Spectre RMN ^{1}H non découplé (haut) et après irradiation en H-11 (bas) de **PLU 4**.

Ces résultats ont permis de déduire que le proton résonant à δ_{1H} 5,53 est voisin du proton H-8 (δ_{1H} 5,20) et que le proton résonant à δ_{1H} 5,51 est voisin du proton H-11 (δ_{1H} 4,42). Les déplacements chimiques δ_{1H} 5,51 et 5,53 ont été, par conséquent, attribués à H-10 et H-9 respectivement.

La différence entre les structures de **PLU 3** et de **PLU 4** concerne les signaux H-11 et H-12. Pour le composé **PLU 4**, le déplacement chimique du carbone C-11 (δ_{13C} 68,3) indique la présence d'un groupe hydroxyle sur ce carbone ; le carbone C-12 résonant à δ_{13C} 38,3 correspond, quant à lui, à un groupe méthylène. Les corrélations du proton H-11 (δ_{1H} 4,42) avec les carbones C-9 (δ_{13C} 129,9) et C-13 (δ_{13C} 26,0) et du proton H-12 (δ_{1H} 1,48 et 1,56) avec les carbones C-11 et C-13 confirment, par ailleurs, cet enchainement de la structure (**Figure 54**).

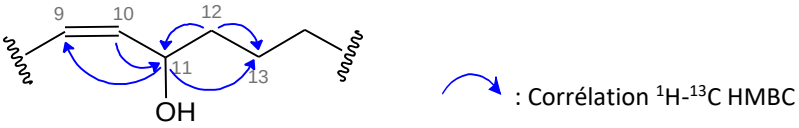
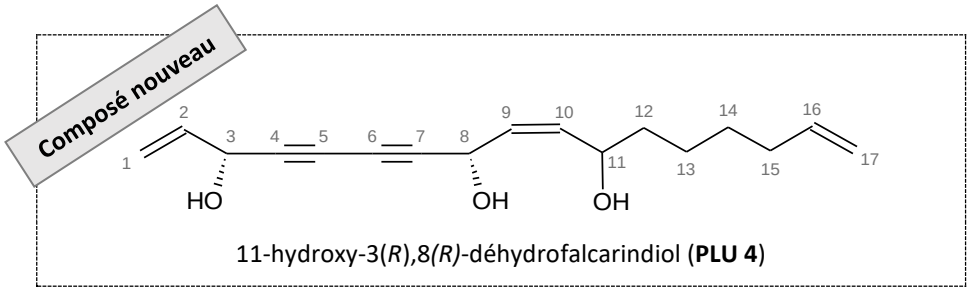


Figure 54 : Corrélations HMBC clés du motif C-9 à C-14 de **PLU 4**.

Ces données analytiques conduisent à la structure du 11-hydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol, qui est un composé nouveau. La stéréochimie du carbone C-11 devra être envisagée pour compléter l'identification. Une comparaison des déplacements chimiques ^{1}H et ^{13}C de ce composé avec ceux de **PLU 9** a été effectuée et présentée dans le **Tableau XIV - Annexe V. 4. - Tome II - page 70**.



- **Élucidation structurale du métabolite PLU 5**

Les données spectrales du métabolite **PLU 5** sont présentées en **Annexe V. 5. - Tome II - pages 74-78**.

Le métabolite **PLU 5** a été isolé sous forme de poudre marron. L'étude de son spectre SMHR obtenu en mode ESI$^+$ a permis de déterminer sa formule brute $C_{19}H_{24}O_4$, soit 8 insaturations. En effet, la présence d'un ion pseudomoléculaire $[M+Na]^+$ à *m/z* 339,1567 (valeur calculée : *m/z* 339,1567) a été révélée ainsi qu'un ion très intense $[M-H_2O-CH_3COOH+H]^+$ à *m/z* 239,1438, suggérant la présence d'un groupement hydroxy.

L'analyse du spectre IRTF du composé **PLU 5** a montré des bandes d'absorptions maximales à 3394,49 cm^{-1} (O-H) ; 2932,96 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2860,53 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1725,49 cm^{-1} (C=O) ; 1596,93 cm^{-1} (C=C) ; 1371,15 cm^{-1} (O-H déformation dans le plan) ; 1242,56 cm^{-1} (C-C) et 1024,05 cm^{-1} (C-O).

Les spectres RMN ^{1}H et ^{13}C du composé **PLU 5** présentent une forte similitude avec ceux de **PLU 3** décrits précédemment. Sur le spectre RMN ^{1}H, leur différence se situe uniquement par la présence d'un signal supplémentaire sous forme de singulet à δ_{1H} 2,04, correspondant à un groupe acétate attribué à H-19. Le spectre RMN ^{13}C de **PLU 5** montre deux carbones supplémentaires ont été observés. Il s'agit du carbonyle d'une fonction ester C-18 (δ_{13C} 172,7) et du carbone d'un groupe méthyle C-19 (δ_{13C} 21,2). Les corrélations hétéronucléaires ^{1}H-^{13}C HMBC entre le proton H-19 et le carbone C-18 et entre le proton H-12 (δ_{1H} 4,90) et ce même carbone permettent de relier ce groupe acétyle à l'oxygène porté par C-12 (δ_{13C} 74,5) (**Figure 55**).

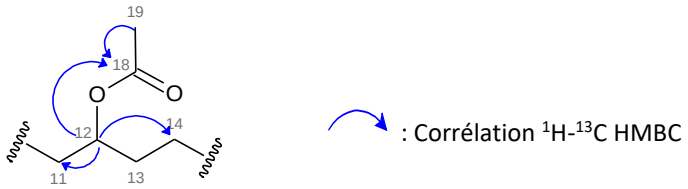
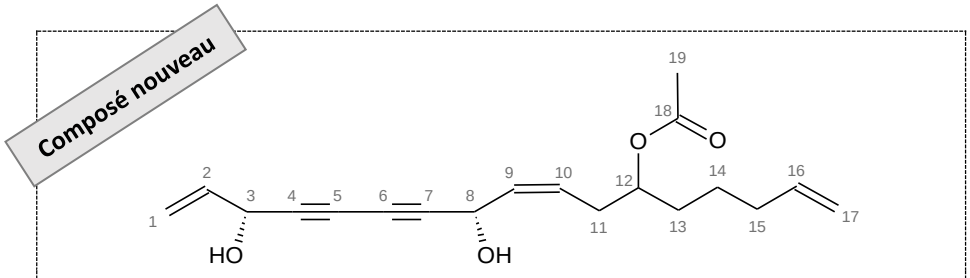


Figure 55 : Corrélations HMBC clés du motif lié à C-12 du composé **PLU 5**.

Les données spectrales obtenues ont permis d'attribuer au composé **PLU 5** la structure du 12-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol. Il s'agit d'un composé nouveau. La stéréochimie du carbone asymétrique C-12 reste à déterminer.



12-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 5**)

Une comparaison des données des analyses RMN ^{1}H et ^{13}C du composé **PLU 5** aux données spectrales du composé **PLU 3** est présentée dans le **Tableau XV - Annexe V. 5. - Tome II - page 75**. Ces deux composés ne se distinguent finalement qu'au niveau de l'atome de carbone C-12. Dans la structure de **PLU 3**, ce carbone est lié à une fonction hydroxyle tandis que dans **PLU 5**, il est lié à une fonction acétate.

- **Élucidation structurale du métabolite PLU 6**

Les données spectrales du métabolite **PLU 6** sont présentées en **Annexe V. 6. - Tome II - pages 79-83**.

Le métabolite **PLU 6** se présente sous la forme d'une poudre marron. Sa formule moléculaire $C_{19}H_{24}O_4$ a été déduite à partir de l'ion pseudomoléculaire $[M+Na]^+$ à *m/z* 339,1573 (valeur calculée : *m/z* 339,1567) observé sur son spectre SMHR en mode ESI^+. Le nombre d'insaturations calculé à partir de cette formule brute est de 8. Un ion fragment $[M-H_2O-CH_3COOH+H]^+$ de masse *m/z* 239,1437, très intense, est également observé. Ce qui indique un groupement hydroxy sur la molécule.

Les bandes d'absorptions maximales caractéristiques observées sur le spectre IRTF du composé **PLU 6** sont : 3394,54 cm^{-1} (O-H) ; 2933,31 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2865,35 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1724,68 cm^{-1} (C=O) ; 1594,75 cm^{-1} (C=C) ; 1460,41 cm^{-1} (-CH-) ; 1371,90 cm^{-1} (O-H déformation dans le plan) ; 1242,20 cm^{-1} (C-C) et 1023,84 cm^{-1} (C-O).

Les données spectrales RMN ^{1}H et ^{13}C de **PLU 6** mettent en évidence une forte similarité avec ceux de **PLU 5**. En effet, on retrouve la chaîne aliphatique 3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol ainsi que le groupe acétoxy. L'ensemble des corrélations ^{1}H-^{1}H COSY et ^{1}H-^{13}C HMBC confirme cet enchaînement de la structure (**Figure 56**).

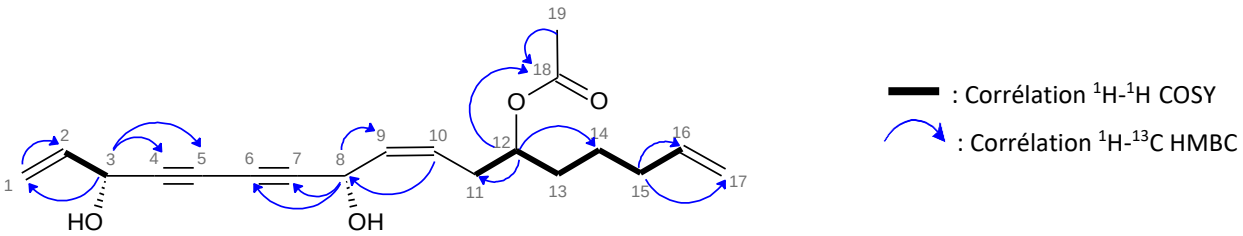


Figure 56 : Corrélations COSY et HMBC clés du composé **PLU 6**.

Il est à noter toutefois que la différence entre **PLU 5** et **PLU 6** concerne le signal du proton H-12. Ce dernier est un doublet de triplet à δ_{1H} 2,36 et un doublet de triplet à 2,44 sur le spectre RMN ^{1}H de **PLU 5**, tandis que sur celui de **PLU 6**, il correspond à un triplet résonant à δ_{1H} 2,40. Le déplacement chimique du carbone C-12 (δ_{13C} 33,2) reste similaire pour les deux composés (**Tableau XVI - Annexe V. 6. - Tome II - page 80**). Il est fort probable que le composé **PLU 6** soit un épimère du composé **PLU 5**, qui ne diffère que par la stéréochimie du carbone C-12. Cette dernière sera donc nécessaire pour

pouvoir compléter la caractérisation structurale et pour permettre la distinction entre les deux épimères. Nous supposerons, pour l'instant, que la fonction acétate est de configuration *(R)* pour **PLU 5** et *(S)* pour **PLU 6**. Une projection de Newman, représentée dans la **figure 57**, permet de mieux voir la différence entre ces deux épimères.

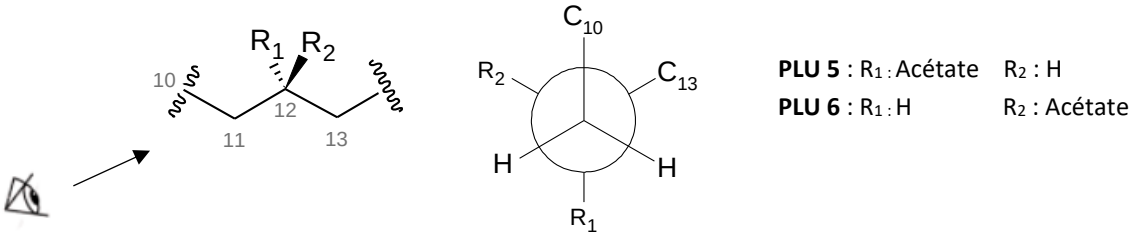
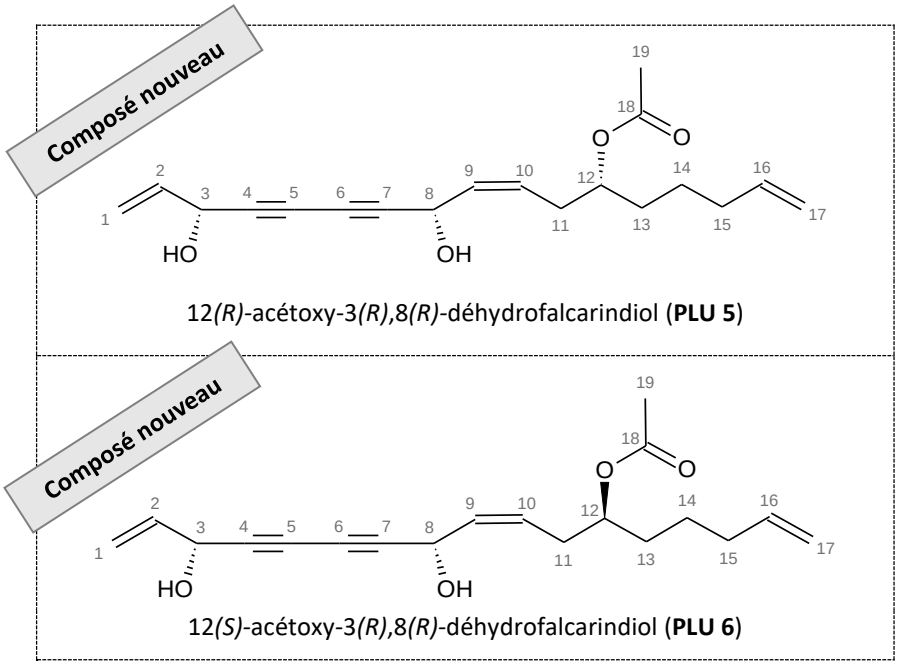


Figure 57 : Projection de Newman des deux épimères **PLU 5** et **PLU 6** (axe 11-12).



- **Élucidation structurale du métabolite PLU 7**

Les données spectrales du métabolite **PLU 7** sont présentées en **Annexe V. 7. - Tome II - pages 84-88**.

Le composé **PLU 7**, isolé sous la forme d'une poudre marron, possède une formule moléculaire $C_{17}H_{24}O_4$ indiquant 6 insaturations, obtenue à partir de son spectre SMHR en mode ESI$^+$ avec un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 293,1941 (valeur calculée : *m/z* 293,1747). Un pic abondant à *m/z* 292,1912 est également observé sur le spectre SMHR.

L'analyse du spectre IRTF du composé **PLU 7** a montré des bandes d'absorptions maximales à 3360,24 cm^{-1} (O-H) ; 3077,62 cm^{-1} (CH *sp*^{2}) ; 2926,89 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2856,08 cm^{-1} (CH_2

symétrique) ; 1598,98 cm^{-1} (C=C) ; 1378,74 cm^{-1} (O-H déformation dans le plan) ; 1260,62 cm^{-1} (C-C) et 1024,19 cm^{-1} (C-O).

L'étude des spectres RMN ^{1}H et ^{13}C du composé **PLU 7** a mis en évidence des signaux similaires à ceux observés pour le composé **PLU 9** identifié précédemment (**Tableau XVII - Annexe V. 7. - Tome II - page 85**). La différence entre les deux structures est observée au niveau des carbones C-9 et C-10. Le spectre RMN ^{1}H de **PLU 7** signale l'absence des protons oléfiniques entre δ_{1H} 5,50 et 5,70 et la présence supplémentaire de proton résonant à δ_{1H} 3,58 (H-9) et à δ_{1H} 4,24 (H-10). Les déplacements chimiques des carbones C-9 (δ_{13C} 64,2) et C-10 (δ_{13C} 76,5) indiquent, par ailleurs, la présence de deux groupements hydroxyles liés respectivement à ces carbones. Cet emplacement est également justifié par les corrélations ^{1}H-^{13}C HMBC du proton H-9 avec les carbones C-7 (δ_{13C} 81,4) et C-8 (δ_{13C} 64,7) et du proton H-10 avec les carbones C-11 (δ_{13C} 36,1) et C-12 (δ_{13C} 27,6) (**Figure 58**).

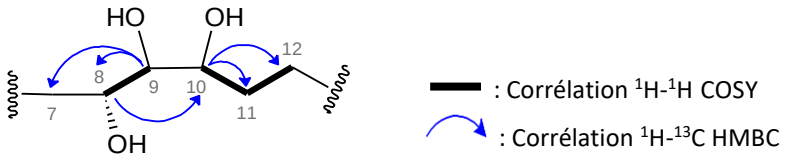
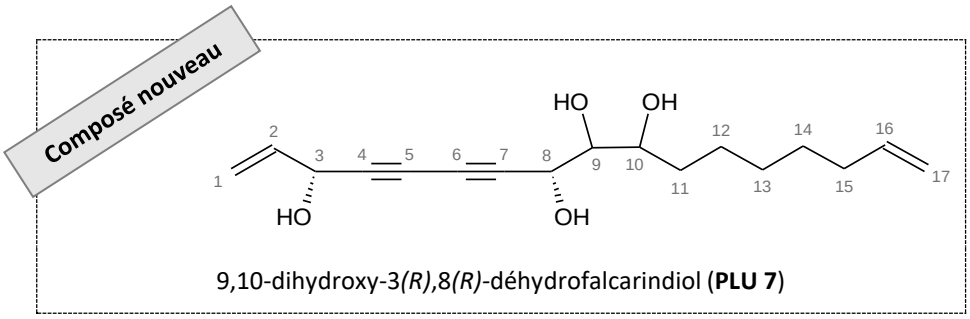


Figure 58 : Corrélations COSY et HMBC clés du motif C-7 à C-12 du composé **PLU 7**.

L'ensemble de ces données spectrales permet ainsi d'identifier le composé **PLU 7** comme étant le 9,10-dihydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol. Il s'agit d'un composé nouveau. Toutefois, la stéréochimie des carbones C-9 et C-10 reste à définir.



- **Élucidation structurale du métabolite PLU 8**

Les données spectrales du métabolite **PLU 8** sont présentées en **Annexe V. 8. - Tome II - pages 89-93**.

Le composé **PLU 8** a été obtenu sous forme de poudre marron. Sa formule moléculaire $C_{19}H_{24}O_4$ a été attribuée sur la base des données du spectre SMHR en mode ESI^+ révélant un ion $[M-H_2O+H]^+$ à *m/z* 299,1640 (valeur calculée : *m/z* 299,1642). Le nombre d'insaturations déduit s'élève à 8.

Les bandes d'absorptions maximales caractéristiques observées sur le spectre IRTF du composé **PLU 8** sont : 3395,83 cm^{-1} (O-H) ; 3077,39 cm^{-1} (CH sp^2) ; 2931,15 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ;

2858,84 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 2235,44 cm^{-1} (C≡C conjugué) ; 1732,41 cm^{-1} (C=O) ; 1640,39 cm^{-1} (C=C) ; 1372,20 cm^{-1} (O-H déformation dans le plan) ; 1241,50 cm^{-1} (C-C) et 1022,26 cm^{-1} (C-O).

Les données spectrales du composé **PLU 8** sont proches de celles des épimères **PLU 5** et **PLU 6** identifiés précédemment (**Tableau XVIII - Annexe V. 8. - Tome II - page 90**). La différence se situe uniquement sur l'emplacement du groupe acétate en C-12 dans la structure de **PLU 5** et **PLU 6** et en C-11 dans la structure de **PLU 8**. En effet, le spectre ^1H-^{13}C HMBC a révélé des corrélations entre le proton H-11 (δ_{1H} 5,55) et le carbone C-18 (δ_{13C} 172,1) et entre le proton H-19 (δ_{1H} 2,02) et ce même carbone (**Figure 59**).

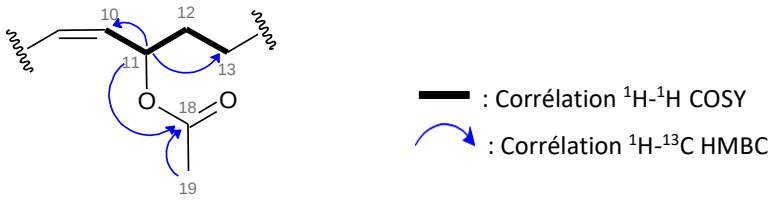
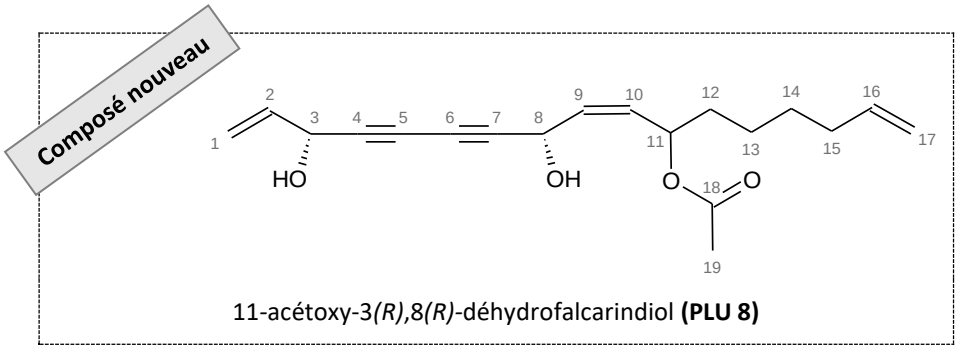


Figure 59 : Corrélations COSY et HMBC clés du motif lié à C-12 du composé **PLU 8**.

Ces données spectrales conduisent à la structure du 11-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol, qui est un composé nouveau. La stéréochimie du carbone asymétrique C-11 n'a pas été déterminée lors de notre étude ; il sera nécessaire de la déterminer afin de compléter cette identification.



III. 2. 3. Stratégie d'application du réseau moléculaire

III. 2. 3. 1. Généralités

Dans la recherche de molécules issues des produits naturels, deux outils s'avèrent indispensables pour la caractérisation structurale d'une molécule : la RMN et la spectrométrie de masse (SM). La RMN s'est positionnée comme l'outil le plus important pour réaliser cette tâche. La SM, quant à elle, permet principalement d'accéder aux formules brutes des composés isolés, à côté de l'analyse élémentaire (Chambers *et al.*, 2012).

Cependant, l'isolement et l'élucidation structurale des molécules sont des tâches ardues, chronophages et nécessitent l'usage de techniques analytiques modernes. Dans ce contexte, la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse tandem (CL-SM^2) est devenue l'une des techniques préliminaires phares utilisées pour annoter efficacement et de manière précoce les composés déjà connus d'un mélange afin d'éviter l'isolement et la caractérisation de métabolites. Cette approche est connue sous le nom de « déréplication » (Gaudêncio & Pereira, 2015 ; Wolfender *et al.*, 2015).

Lors d'une analyse par CL-SM^2, le spectromètre de masse tandem sélectionne un ion précurseur, puis cet ion est fragmenté par dissociation induite par collision. Les fragments ainsi formés sont analysés soit en mode basse résolution en masse (instrument de type quadripôle ou trappe d'ion, en particulier) ou en mode haute résolution en masse (instrument de type temps de vol ou orbitrap) afin d'obtenir un spectre SM^2. Ce dernier est composé uniquement d'ions produits par la fragmentation de l'ion précurseur et donc riche en informations structurales, contrairement aux spectres SM (dans lesquels tous les ions intacts sont détectés) (Nothias-Scaglia *et al.*, 2015). Toutefois, cette analyse implique l'interprétation de plusieurs milliers de spectres SM^2 ; ce qui devient très rapidement une tâche laborieuse à réaliser. Dans ce contexte, afin d'accélérer le processus d'annotation, la technique du réseau moléculaire (molecular networking) a été conçue.

Le réseau moléculaire ou réseau de similarité spectrale est une approche bio-informatique innovante récente, qui permet de comparer et d'organiser les spectres SM^2 expérimentaux, liés à la structure d'une molécule et de les visualiser sous la forme d'une carte de similarité spectrale, mettant en lumière l'existence de groupes spectraux ainsi que leurs degrés de similarité (Raheem *et al.*, 2019). En effet, une similarité spectrale (ou l'indice cosine score noté CS) est attribuée entre chaque paire de spectre SM^2 comparés. Cette valeur est comprise entre 0 et 1. Lorsque cette valeur est égale à 0, les deux spectres n'ont aucun ion fragment en commun et lorsqu'elle est égale à 1, les deux structures sont totalement identiques (Frank *et al.*, 2011). Les spectres SM^2 des composés identiques sont alors fusionnés à l'aide d'un algorithme MS-Cluster en un seul nœud ou spectre consensus (Frank *et al.*, 2011).

Généralement, la similarité spectrale apparaît lorsque le CS est supérieur à 0,7 et qu'au moins 6 ions fragments communs sont détectés (Nothias-Scaglia *et al.*, 2015). Ce qui signifie que les deux métabolites ont une structure chimique proche. Ils sont alors regroupés et représentés, sur le réseau, sous forme de nœuds liés entre eux au sein d'un cluster. Par la suite, un alignement spectral est effectué, permettant des recherches de similarité même lorsque les masses des ions précurseurs ne sont pas identiques (**Figure 60**).

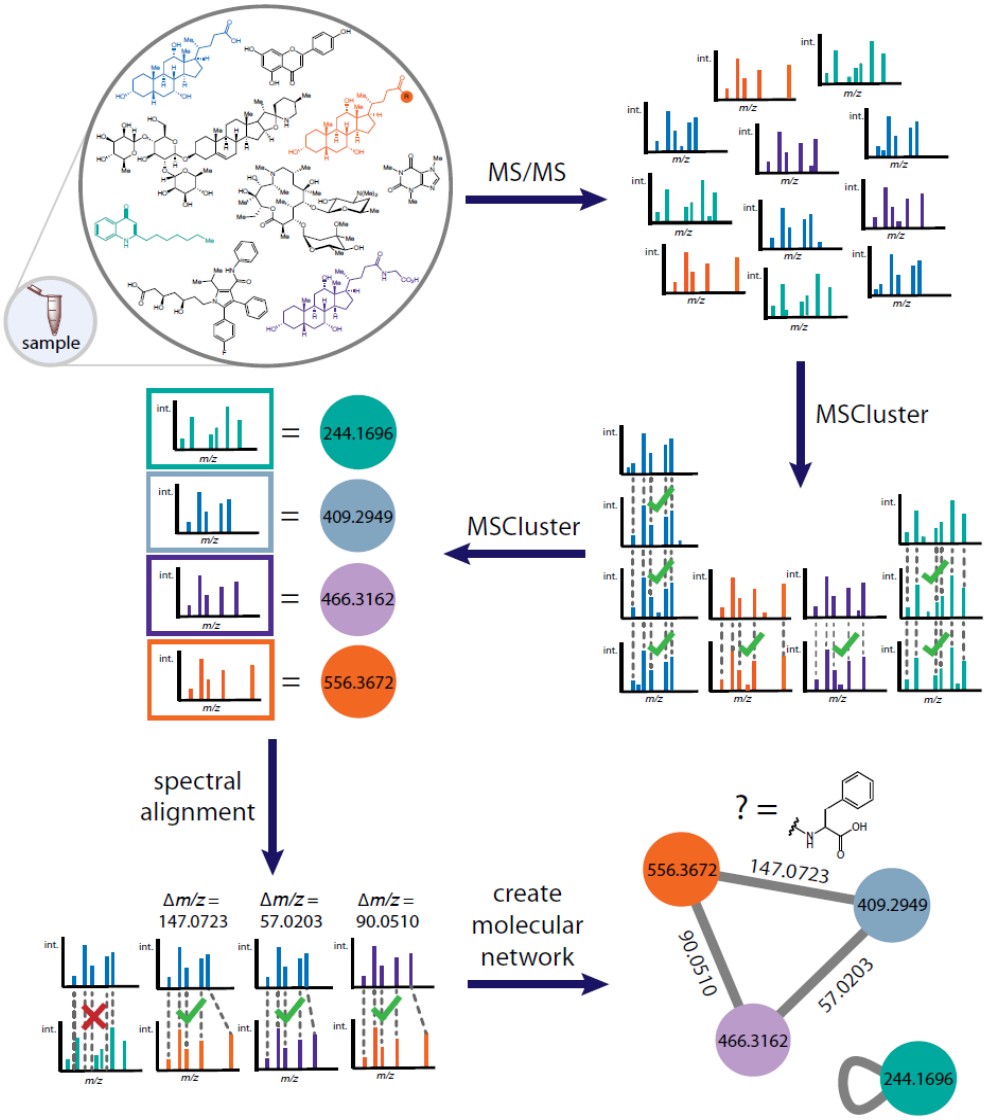


Figure 60 : Représentation schématique du processus de création d'un réseau moléculaire à partir des spectres SM^2 acquis pour les métabolites dans des mélanges complexes.
Extrait de Aron *et al.,* 2019.

Ces spectres, une fois organisés, sont comparés à ceux de la base de données spectrales communautaires GNPS (Global Natural Product Social molecular networking) (Wang *et al.*, 2016) ainsi que les différentes bases de données spectrales telles que HMDB (Human Metabolome Database) (Wishart *et al.*, 2018), ReSpect (Sawada *et al.*, 2012) et MassBank (Horai *et al.*, 2010) regroupant des spectres SM^2 d'environ 80 000 composés (Metabolomicnsa, 2021). Les spectres sont également comparés à ceux des bases de données NIST (Linstrom & Mallard, 2001), DNP (Dictionnary of Natural Product), MarinLit (Blunt *et al.*, 2018) et MetLin (Guijas *et al.*, 2018). D'autres bases de données spectrales *in silico* telles que ISDB (*In Silico* Database) regroupant 200 000 structures (Allard *et al.*, 2016 ; Sorokina & Steinbeck, 2020), Metfrag (Ruttkies *et al.*, 2016) et CFM-ID (Allen *et al.*, 2015) sont également utilisées.

Le réseau moléculaire est visualisé soit à partir du logiciel Cytoscape (Otasek *et al.*, 2019 ; Shannon *et al.*, 2003), soit à partir du logiciel MetGem (Olivon *et al.*, 2018) après avoir prétraité les spectres SM^2 à l'aide du logiciel MZmine (Elie *et al.*, 2019 ; Olivon *et al.*, 2017).

III. 2. 3. 2. Déréplication des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. lucida*

La déréplication des fractions de P. lucida a été effectuée à la Station marine d'Endoume de l'Institut Méditerranéen de la Biodiversité et d'Écologie marine et continentale (IMBE), Université d'Aix-Marseille avec l'aide du Docteur Stéphane GREFF.

L'analyse des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. lucida* par chromatographie liquide ultrahaute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CLUHP-SM^2) en mode positif a permis de générer le réseau moléculaire présenté dans la **figure 61**. Notons que les données brutes obtenues à partir de l'analyse CLUHP-SM^2 ont été calibrées et mises sous la forme de fichiers au format .mgf ou .mzXML ou .mzML (avec le logiciel MSConvert) avant de les envoyer sur la plateforme internet GNPS (http://gnps.ucsd.edu).

Lors de la soumission des données à la plateforme GNPS, les valeurs de paramétrages d'acquisition des données (CS, le ''Minimum Cluster size'' ou le nombre minimum d'ions pour former un cluster, le ''Minimum Matched Fragment Ions'' ou le nombre minimum d'ions fragments en commun pour deux spectres …) doivent être bien ajustées afin d'obtenir un réseau moléculaire de bonne qualité (Olivon *et al.*, 2017b). Le réseau moléculaire généré sous GNPS est ensuite importé puis visualisé sous le logiciel Cytoscape v3.8.2 pour faciliter l'interprétation des résultats.

Par ailleurs, les spectres MS^2 des composés isolés (**PLU 2** à **PLU 9**) ont été déposés dans les bibliothèques spectrales du GNPS, afin d'effectuer un processus d'annotation efficace. Cela contribue également à compléter la base de données du GNPS et permettra à tout chimiste des produits naturels de détecter ces composés.

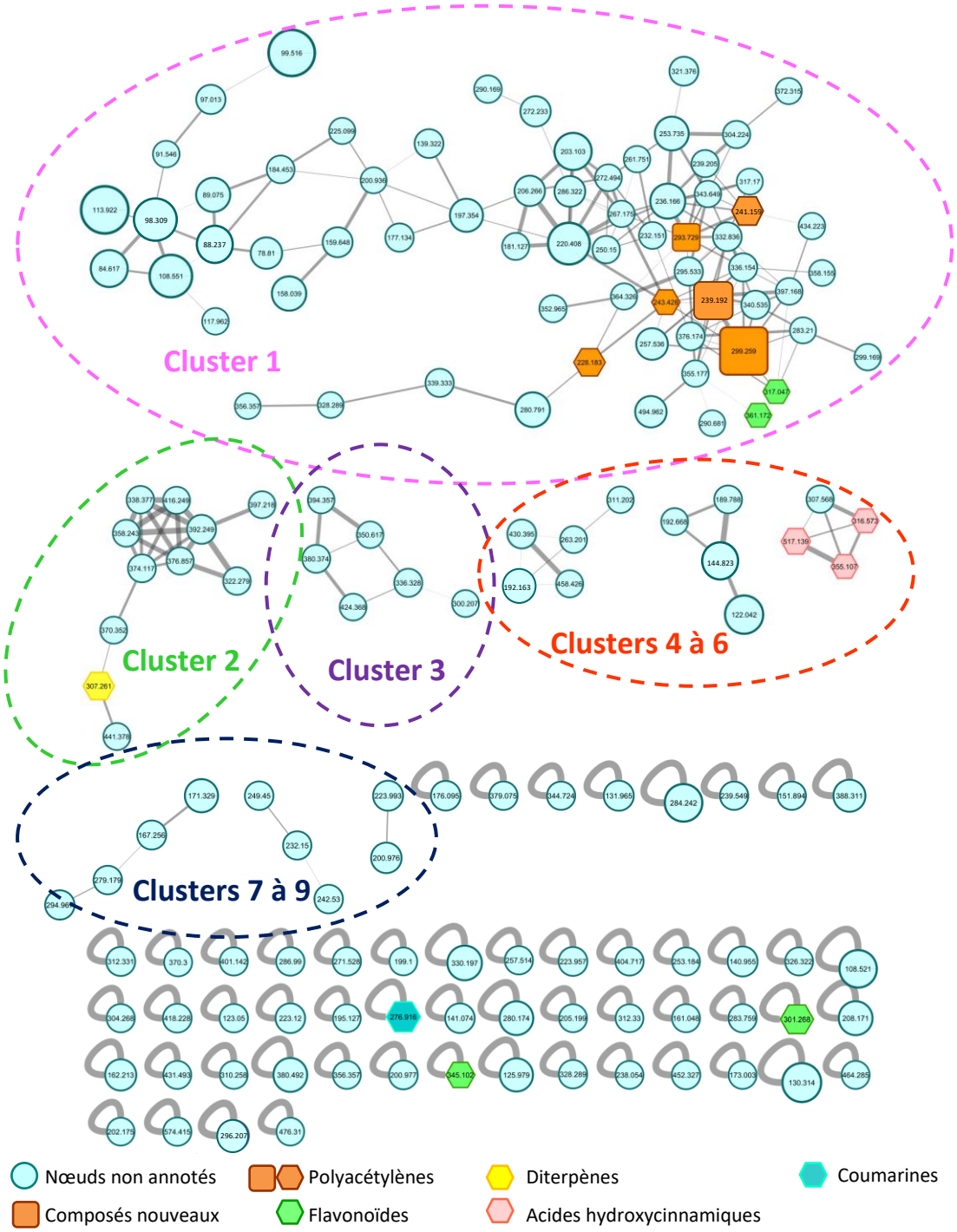


Figure 61 : Réseau moléculaire visualisé sur Cytoscape à partir des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida*.

Cette représentation montre les interconnections des différents composés présents dans les deux fractions rassemblées de l'extrait brut de *P. lucida*. Les composés sont représentés sous forme de nœud et leurs connexions tiennent compte des voies de fragmentation des composés. Les liaisons entre ces nœuds apparaissent sur le réseau moléculaire dès lors que le CS est supérieur à 0,60 et qu'au moins six ions fragments communs avec les SM^2 dans les bases de données ont été détectés. Elles sont symbolisées par des liaisons plus ou moins épaisses, proportionnelles aux valeurs du CS.

Le rapport *m/z* de l'ion précurseur est inséré au centre de chaque nœud et la taille des nœuds est corrélée à l'intensité de ces ions précurseurs. Toutefois, toutes les molécules ne sont pas présentes car certaines ne sont pas ionisables. En outre, quelques ions moléculaires sont instables et se fragmentent dans la source et les ions fragments sont alors détectés sur le réseau moléculaire.

Ainsi, le réseau moléculaire obtenu pour les fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait de *P. lucida* a permis de mettre en évidence 160 nœuds et 8 clusters dont les nœuds sont au minimum de 3.

La stratégie d'annotation des nœuds du réseau est la suivante :

1- La première annotation s'applique aux métabolites présents dans *P. lucida* ayant une similarité structurale (CS supérieur à 0,7) et une équivalence de masse des ions précurseurs avec ceux référencés dans GNPS.

2- La deuxième annotation est basée sur la détermination des formules brutes des ions précurseurs détectés dans l'échantillon avec le logiciel Data Analysis.

3- L'exploration des bases de données MetFrag, MetLin, DNP et CFM-ID est ensuite entreprise afin de trouver des analogues structuraux.

4- Enfin, les molécules isolées et identifiées par RMN ont été analysées dans les mêmes conditions que ces fractions pour servir de standard et confirmer les annotations.

La plateforme GNPS présente l'avantage de pouvoir annoter les nœuds d'un cluster de manière continue grâce à un outil de partage des données que l'on appelle « MassIVE datasets ». Cet outil permet de réviser périodiquement l'annotation en fonction de la mise à jour des banques de données du GNPS. Ainsi, les données de cette analyse par CLUHP-SM^2 ont été déposées dans ce répertoire public (http://massive.ucsd.edu, MSV000088035)

III. 2. 3. 2. 1. Annotation du cluster 1

Le cluster 1 est constitué de 67 nœuds. L'exploration de ce cluster, présenté dans la **figure 62**, a mis en évidence la présence de composés appartenant à la famille des polyacétylènes et des flavonoïdes.

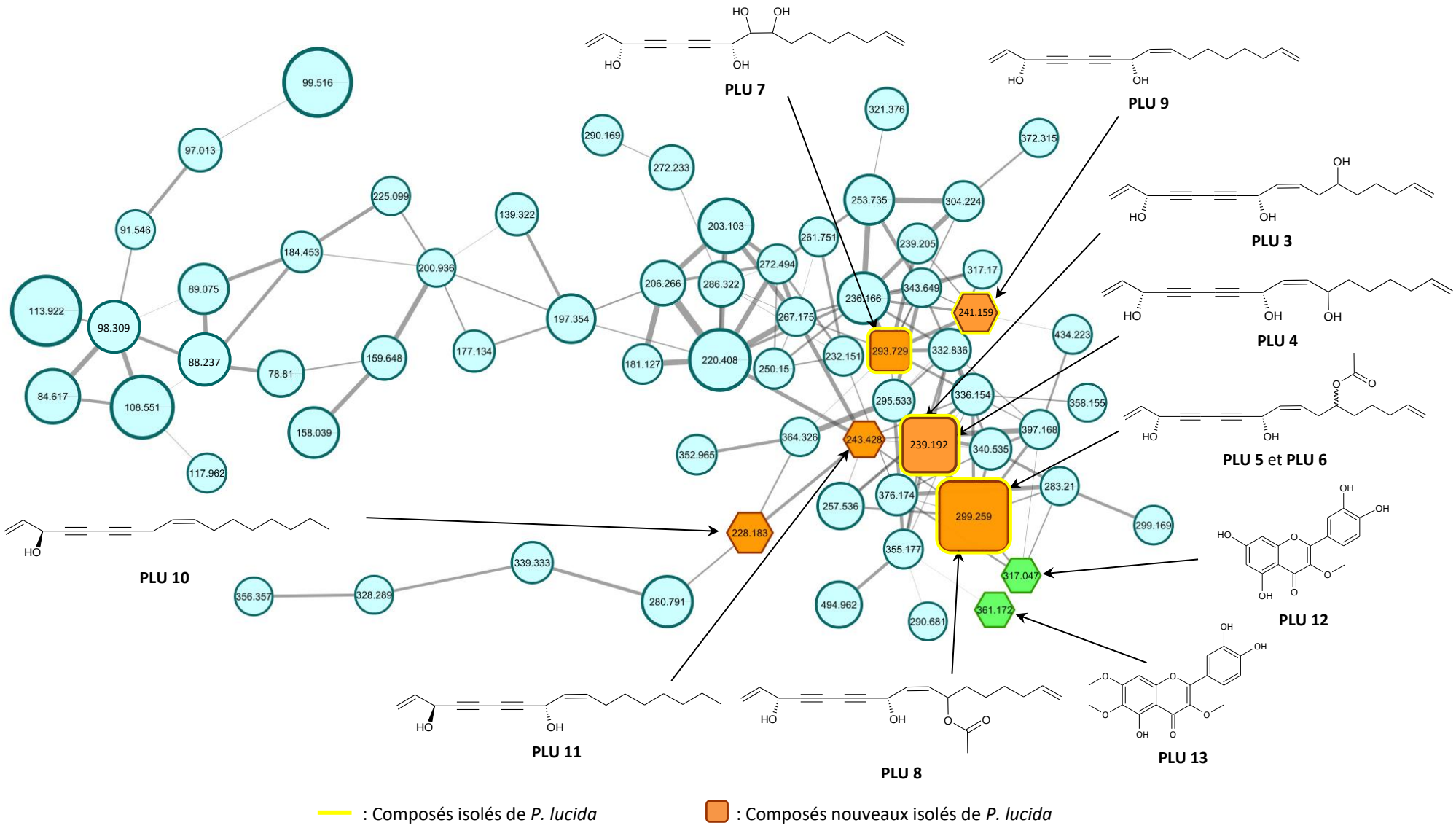


Figure 62 : Propositions d'annotation des nœuds du cluster 1.

- ***Les polyacétylènes***

La recherche d'analogues structuraux dans les bases de données GNPS ainsi que l'injection des molécules pures dans les mêmes conditions que les fractions indiquent une correspondance des spectres SM^2 avec des polyacétylènes de type falcarinol (**Figure 66 - Annexe VI. 1. - Tome II - pages 100-101**).

En général, les polyacétylènes sont plus stables à la fragmentation en mode positif. Les ions $[M+Na]^+$ sont en effet plus abondants qu'en mode négatif (Kramer *et al.*, 2011). Ce qui justifie, par ailleurs, le choix du mode d'ionisation positif utilisé lors de cette étude.

En mode d'ionisation positif, les polyacétylènes de types falcarinol, en particulier, se fragmentent parfois à la source en perdant une molécule d'eau. Sur le spectre SM, l'ion $[M-H_2O+H]^+$ est ainsi très abondant et l'ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ est quasiment absent (Huang *et al.*, 2011 ; Kramer *et al.*, 2011 ; Pferschy-Wenzig *et al.*, 2009 ; Schmiech *et al.*, 2009 ; Søltoft *et al.*, 2010). Par conséquent, la majorité des spectres SM^2 ont été acquis avec un clivage de la fonction OH.

Parmi les polyacétylènes isolés de *P. lucida*, tous ont pu être positionnés. En effet l'ion $[M-H_2O+H]^+$ à *m/z* 239,192 correspond à la fois aux deux isomères **PLU 3** et **PLU 4**. L'ion $[M-H_2O+H]^+$ à *m/z* 241,159 correspond à **PLU 9** et l'ion [M+H] à 293,729 est attribué à **PLU 7**. Pour l'ion $[M-H_2O+H]^+$ à *m/z* 299,259 une correspondance a été établie avec d'une part, les deux épimères **PLU 5** et **PLU 6** et d'autre part, le métabolite **PLU 8** (**Figure 66 - Annexe VI. 1. - Tome II - page 100**).

Il est à noter que le réseau moléculaire obtenu n'a pas permis de discriminer les isomères de structure. Il serait intéressant de visualiser le réseau avec le logiciel MetGem (https://metgem.github.io/) en faisant un prétraitement des spectres SM^2 sur le logiciel MZmine 2. La combinaison des capacités d'analyses des données de MZmine 2 et GNPS permet en effet de discriminer ces isomères en fonction de leur temps de rétention.

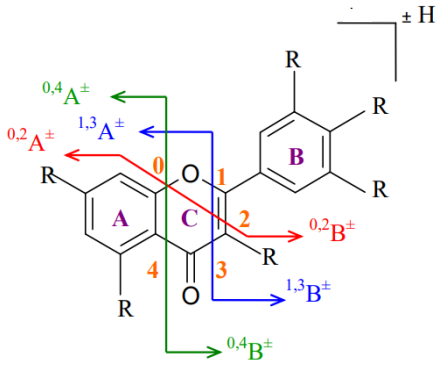
La recherche d'analogues structuraux avec la base de données *in silico* Metfrag, après avoir établi la masse de l'ion précurseur grâce au logiciel Data Analysis, a indiqué une correspondance de la masse exacte et des spectres SM^2 des ions à *m/z* 228,183 et 243,142 avec respectivement le falcarinol (**PLU 10**) et le falcarindiol (**PLU 11**) (**Figure 66 - Annexe VI. 1. - Tome II - page 101**).

- ***Les flavonoïdes***

L'analyse d'une autre partie du cluster 1 révèle la présence de composés appartenant à la famille des flavonoïdes.

La fragmentation en Spectrométrie de Masse des flavonoïdes a déjà fait l'objet de nombreuses études (Cuyckens & Claeys, 2004 ; Gu *et al.*, 2012 ; Pinheiro & Justino, 2012 ; Vihakas, 2014). Aussi pour les génines (flavonoïdes aglycones), les mécanismes de fragmentation les plus courants impliquent la coupure entre deux liaisons carbone (C-C) du cycle C. Les cycles A et B restent intacts.

Les ions fragments ainsi produits sont notés $^{i,j}A^{\pm}$ et $^{i,j}B^{\pm}$ où *i* et *j* correspondent aux liaisons du noyau C qui ont été rompues. La formation de ces ions peut s'expliquer par des réactions de type rétro Diels-Alder qui donne le nombre et le type de substituants portés par les cycles A et B (Cuyckens & Claeys, 2004) (**Figure 63**). Ces données de la littérature ont permis d'annoter deux nœuds de ce même cluster du réseau moléculaire.



R : substituants des flavonoïdes
0, **1**, **2**, **3**, **4** : numéros de liaisons du cycle C qui subissent une rupture lors de la fragmentation

Figure 63 : Voies de fragmentation des flavonoïdes aglycones en SM^2.

La recherche d'analogues structuraux dans les bases de données du GNPS indique que les ions précurseurs à *m/z* 317,047 et 361,172 (**Figure 67 - Annexe VI. 1. - Tome II - page 101**) correspondent respectivement à la 3-*O*-méthylquercétine (**PLU 12**) et au chrysosplénol D (**PLU 13**). Les deux composés ont déjà été isolés simultanément à partir des feuilles de l'espèce *P. trinervia* (Wang *et al.*, 1989).

Comparés aux flavones, les flavonols *O*-méthylés tels que **PLU 12** et **PLU 13**, présentent des spectres SM^2 complexes car la présence d'un groupement méthoxy offre plus de possibilités de fragmentation. Prenons le cas de l'ion $[M+H]^+$ à *m/z* 361,172 ; la coupure se fait au niveau des liaisons 0 et 2 du cycle C. L'ion $^{0,2}B^+$ à *m/z* 137,0612, justifiant un cycle B dihydroxylé, a été observé sur le spectre SM^2. Par ailleurs, on observe également, en intensité très importante, les ions fragments $[M+H-CH_3]^+$ à *m/z* 346,068 et $[M+H-2CH_3]^+$ à *m/z* 331,046 qui indiquent une perte successive de deux groupes méthyles présents chez les flavonols *O*-méthylés mais absents chez les flavones.

L'ensemble des propositions d'annotation des nœuds du cluster 1 est résumé dans le **tableau X**.

Tableau X : Description des nœuds annotés du cluster 1.

N°	*m/z*	Ion préc.	Formule brute	Analogue structural	Source	Référence
PLU 3	239,192	$[M+H-H_2O]^+$	$C_{17}H_{22}O_3$	12-hydroxy-3(*R*),8(*R*)-déhydrofalcarindiol	*Psiadia lucida*	-
PLU 4	239,192	$[M+H-H_2O]^+$	$C_{17}H_{22}O_3$	11-hydroxy-3(*R*),8(*R*)-déhydrofalcarindiol	*Psiadia lucida*	-
PLU 5	299,259	$[M+H-H_2O]^+$	$C_{19}H_{24}O_4$	12*(R)*-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol	*Psiadia lucida*	-
PLU 6	299,259	$[M+H-H_2O]^+$	$C_{19}H_{24}O_4$	12*(S)*-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol	*Psiadia lucida*	-
PLU 7	293,729	$[M+H]^+$	$C_{17}H_{24}O_4$	9,10-dihydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol	*Psiadia lucida*	-
PLU 8	299,259	$[M+H-H_2O]^+$	$C_{19}H_{24}O_4$	11-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol	*Psiadia lucida*	-
PLU 9	241,159	$[M+H-H_2O]^+$	$C_{17}H_{22}O_2$	3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol	*Bidens leucantha*	Bohlmann *et al.*, 1962
PLU 10	228,183	$[M+H-H_2O]^+$	$C_{17}H_{24}O_2$	falcarinol	*Falcaria vulgaris*	Bohlmann *et al.*, 1966
PLU 11	243,142	$[M+H-H_2O]^+$	$C_{17}H_{24}O$	falcarindiol	*Falcaria vulgaris*	Bohlmann *et al.*, 1966
PLU 12	317,047	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{12}O_7$	3-*O*-méthylquercétine	*Nicotiana tabacum*	Yang *et al.*, 1960
PLU 13	361,172	$[M+H]^+$	$C_{18}H_{16}O_8$	chrysosplénol D	*Artemisia arborescens*	Mazur & Meisels, 1955

Ion préc. : ion précurseur

III. 2. 3. 2. 2. Annotation du cluster 2

La déréplication du cluster 2, composé de 11 nœuds (**Figure 64**), révèle la présence d'un composé appartenant à la famille des diterpènes.

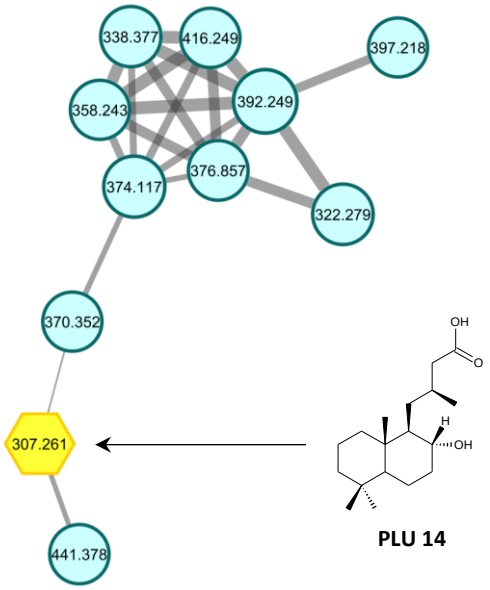


Figure 64 : Proposition d'annotation des nœuds du cluster 2.

La recherche d'analogues structuraux dans les bases de données du GNPS et *in silico* Metfrag de l'ion précurseur $[M+H+H_2O]^+$ à *m/z* 307,261 observé sur le cluster 2 et les ions fragments à m/z 137,132 ; 123,117 ; 109,101 ; 95,085 et 81,070 (**Figure 68 - Annexe VI. 2. - Tome II - page 102**) a conduit à la structure de l'acide labdanolique (**PLU 14**). Ce composé a déjà été isolé de *P. arguta* (Mahadeo *et al.*, 2019).

La proposition d'annotation du nœud annoté du cluster 2 est résumée dans le **tableau XI**.

Tableau XI : Description du nœud annoté du cluster 2.

N°	*m/z*	Ion préc.	Formule brute	Analogue structural	Source	Référence
PLU 14	355,107	$[M+H-H_2O]^+$	$C_{16}H_{18}O_9$	acide labdanolique	*Cistus ladaniferus*	Cocker *et al.*, 1956

Ion préc. : ion précurseur

III. 2. 3. 2. 3. Annotation du cluster 6

Le cluster 6 du réseau moléculaire est composé uniquement de 4 nœuds (**Figure 65**). La déréplication de ce cluster révèle la présence de 3 composés appartenant à la famille des acides hydroxycinnamiques.

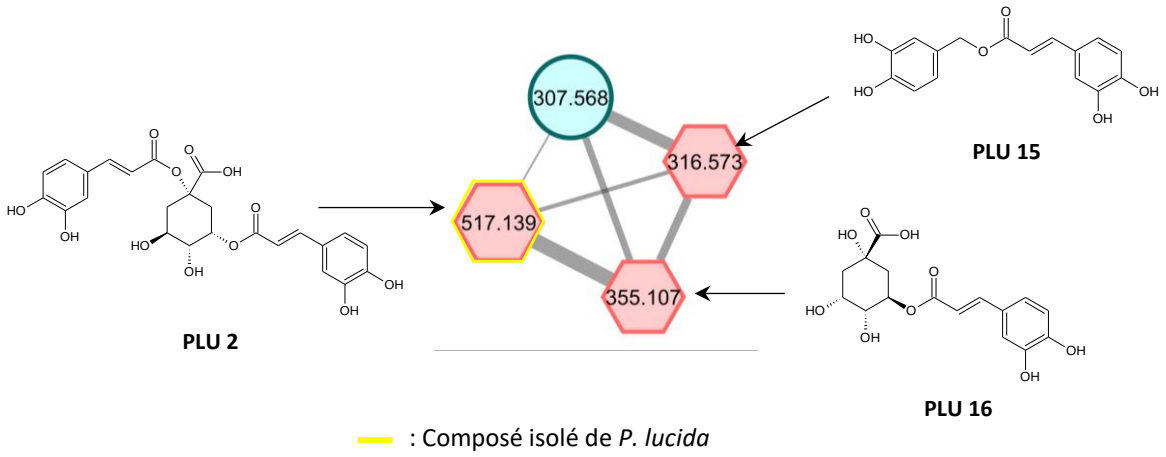


Figure 65 : Propositions d'annotation des nœuds du cluster 6.

La recherche d'analogues structuraux avec la base de données *in silico* Metfrag, après avoir établi la masse de l'ion précurseur avec le logiciel Data Analysis, des trois ions précurseurs à *m/z* 316,573 ; 355,107 et 517,139 indique une correspondance avec respectivement l'acide 9'-décarboxyrosmarinique (**PLU 15**), l'acide 5-*O*-caféoylquinique (**PLU 16**), communément appelé acide chlorogénique et l'acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique (PLU 2) (**Figure 69 - Annexe VI. 3. - Tome II - page 103**). En effet, ces trois ions pseudomoléculaires possèdent dans leurs spectres SM^2 un ion fragment très intense à *m/z* 163,039 et des ions fragments à *m/z* 135,044 et 145,028 qui sont caractéristiques

d'un groupement coumaroyle. L'injection des molécules pures dans les mêmes conditions que les fractions confirme, par ailleurs, cette annotation.

L'ensemble des propositions d'annotation des nœuds du cluster 6 est présenté dans le **tableau XII**.

Tableau XII : Description des nœuds annotés du cluster 6.

N°	*m/z*	Ion préc.	Formule brute	Analogue structural	Source	Référence
PLU 2	517,139	$[M+H]^+$	$C_{25}H_{24}O_2$	acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique	*Cynara scolymus*	Panizzi & Scarpati, 1954
PLU 15	316,573	$[M+H]^+$	$C_{17}H_{16}O_6$	acide 9'-décarboxyrosmarinique	*Teucrium pilosum*	El-Mousallamy *et al.*, 2000
PLU 16	355,107	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{18}O_9$	acide chlorogénique	*Coffea arabica*	Robiquet & Boutron, 1837

Ion préc. : ion précurseur

III. 2. 3. 2. 4. Annotation des nœuds non clustérisés

Une présence possible de flavonoïdes et de coumarines a été mise en lumière après l'analyse des nœuds non clustérisés présents sur le réseau. Trois nœuds ont conduit à des propositions cohérentes (**Figure 66**).

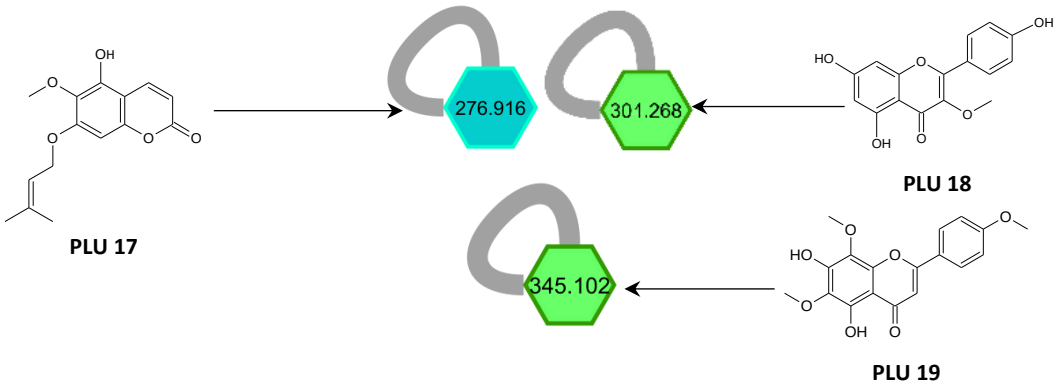


Figure 66 : Propositions d'annotation des nœuds non clustérisés.

- ***Les coumarines***

La déréplication des nœuds non clustérisés du réseau a permis de déterminer que les feuilles de *P. lucida* contiennent des coumarines.

En effet, le spectre de l'ion à *m/z* 276,916 (**Figure 70 - Annexe VI. 4. - Tome II - page 104**) montre une correspondance avec celui de l'isoobtusitine (**PLU 17**). En effet, on observe un pic de base à *m/z* 194,021 $[M+H-C_5H_8O-CH_3]^+$ justifiant une perte de méthyl et du motif *O*-prényle C_5H_8O.

- ***Les flavonoïdes***

L'analyse des spectres SM^2 des ions à *m/z* 301,268 et 345,102 (**Figure 71 - Annexe VI. 4. - Tome II - page 104**) de ce réseau moléculaire et la recherche dans les bases de données du GNPS ont mis en lumière la présence de composés appartenant à la famille des flavonoïdes.

Pour l'ion à *m/z* 301,268, une correspondance a été établie avec l'isokaempféride (**PLU 18**). La coupure se fait au niveau des liaisons 0 et 2 conduisant à un fragment $^{0,2}B^+$ à *m/z* 121,028 justifiant un cycle B monohydroxylé. Deux autres fragments intenses, $[M+H-CH_3]^+$ à *m/z* 286,047 relatif à une perte de méthyle et $[M+H-CH_3-CO]^+$ à *m/z* 258,052, sont également observés.

La fragmentation de l'ion à *m/z* 345,102, quant à lui, s'effectue au niveau des liaisons 1 et 3. Son spectre SM^2 est ainsi constitué principalement des ions fragments à *m/z* 330,073 $[M+H-CH_3]^+$, à *m/z* 315,050 $[M+H-2CH_3]^+$, à *m/z* 287,055 $[M+H-CH_3O-OH]^+$ et de l'ion à *m/z* 133,065 qui est l'ion $^{1,3}B^+$ témoignant la présence d'un cycle B monométhoxylé. Une correspondance avec la névadensine (**PLU 19**) est mise en évidence après une recherche dans les bases de données.

Les propositions d'annotation des nœuds non clustérisés sont présentées dans le **tableau XIII**.

Tableau XIII : Annotations des nœuds non clustérisés.

N°	*m/z*	Ion préc.	Formule brute	Analogue structural	Source	Référence
PLU 17	276,916	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{16}O_5$	isoobtusitine	*Psiadia dentata*	Fortin *et al.*, 2001
PLU 18	301,268	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{12}O_6$	isokaempféride	*Alpinia galanga*	Jahns, 1881
PLU 19	345,102	$[M+H]^+$	$C_{18}H_{16}O_7$	névadensine	*Iva nevadensis*	Farkas *et al.*, 1966

Ion préc. : ion précurseur

III. 2. 3. 3. Discussion

L'analyse des deux fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut des feuilles de *P. lucida* par CLUHP-SM^2 a permis de générer des spectres SM^2 qui ont été comparés et alignés pour construire un réseau moléculaire. L'exploration de ce réseau, constitué de 160 nœuds, a permis l'annotation de 18 nœuds. Ces annotations ont pu être réalisées grâce à la connaissance des voies de fragmentations mais aussi grâce aux différentes bases de données spectrales ainsi qu'à l'analyse des composés isolés en CLUHP-SM^2 dans les conditions chromatographiques identiques à celles appliquées aux fractions iso-hexanique et méthanolique.

Ces 18 métabolites annotés appartiennent à la famille des polyacétylènes, des flavonoïdes, des acides hydroxycinnamiques, des diterpènes et des coumarines.

- ***Les polyacétylènes***

L'annotation des nœuds du réseau a révélé que les feuilles de *P. lucida* contiennent 9 polyacétylènes de types falcarinol. À ce jour, les composés appartenant à cette famille chimique n'ont jamais été signalés dans le genre *Psiadia*. Cependant, parmi plus de 2000 polyacétylènes connus, plus de 1100 ont été retrouvés dans la famille des *Asteraceae* (Minto & Blacklock, 2008). En outre, il a été démontré que les polyacétylènes sont présents dans les tribus *Heliantheae*, *Cynareae*, *Anthemideae* et dans la tribu *Astereae* à laquelle appartient le genre *Psiadia* (Singh *et al.*, 2020). Citons comme exemple le pilosol A et le safynol isolés de *Bidens pilosa* (Silva *et al.*, 2011) et la déhydrofalcarinone, isolée de *Microglossa mespilifolia* (Gunstone & Scrimgeour, 1981). La présence de cette famille sur le réseau moléculaire est donc en accord avec les données antérieures. L'isolement et l'élucidation structurale des métabolites **PLU 3** à **PLU 9** lors de la présente thèse confirment, par ailleurs, ces annotations.

- ***Les flavonoïdes***

Le réseau moléculaire a mis en évidence la présence de 4 composés appartenant à la famille des flavonoïdes. Cette classe de composés fait partie des plus communes dans les espèces du genre *Psiadia*. Parmi les flavonoïdes annotés, 3 ont déjà été isolés des feuilles des espèces du genre *Psiadia*, à savoir la 3-*O*-méthylquercétine (**PLU 12**) et le chrysosplénol D (**PLU 13**), isolés de *P. trinervia* (Wang *et al.*, 1989) et l'isokaempféride (**PLU 18**), isolé de *P. dentata* (Robin *et al.*, 1998). La névadensine, quant à elle, n'a jamais été retrouvée dans ce genre ; cependant sa présence a déjà été signalée dans plusieurs espèces appartenant à la famille des *Asteraceae*, notamment les espèces *Baccharis nitida* (Chidiak *et al.*, 2007) et *Helianthus pumilus* (Herz & De Groote, 1977).

- ***Les acides hydroxycinnamiques***

L'exploration du réseau moléculaire a mis en lumière la présence de 3 composés appartenant à la famille des acides hydroxycinnamiques. Il s'agit de **PLU 2** (acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique), **PLU 15** (acide 9'-décarboxyrosmarinique) et **PLU 16** (acide chlorogénique). La présence de l'acide chlorogénique a déjà été détectée dans les feuilles de *P. terebinthina* lors des travaux de Marie *et al.* en 2006. Deux isomères de **PLU 2**, à savoir l'acide 3,4- et 3,5-di-*O*-caféoylquinique, ont été isolés à partir des feuilles de *P. viscosa* (Wang *et al.*, 1992). La présence de l'acide 9'-décarboxyrosmarinique chez les *Asteraceae* n'a encore jamais été rapportée dans la littérature. L'acide rosmarinique se révèle toutefois abondant dans quelques espèces appartenant à la famille des *Asteraceae*, telles que *Achillea millefolium* et *Artemisia absinthium* (Mekinić *et al.*, 2013).

- ***Les diterpènes***

Un seul diterpène a été détecté sur le réseau moléculaire. Il s'agit de l'acide labdanolique (**PLU 14**), précédemment isolé de l'espèce *P. arguta* (Mahadeo *et al.*, 2019). Par ailleurs, plusieurs

diterpènes ont été obtenus à l'issue de l'étude phytochimique de quelques espèces du genre *Psiadia.* L'espèce *P. punctulata*, entre autres, contient le kaurène psiadine et les trois trachylobanes, 6α,18,19-*ent*-trachylobantriol, 2α,17,18-*ent*-trachylobantriol et 2β,6α,18,19-*ent*-trachylobantétraol (Juma *et al.*, 2006 ; Mossa *et al.*, 1992). *P. arguta*, quant à elle, renferme des labdanes tels que le physanicandiol et l'acide anticopalique (Mahadeo *et al.*, 2019).

- ***Les coumarines***

L'interprétation du réseau moléculaire a permis de détecter la présence d'une coumarine, l'isoobtisitine (**PLU 17**) dans l'espèce *P. lucida*. Ces résultats soutiennent ceux des travaux antérieurs. En effet, l'investigation phytochimique de *P. dentata* a mené à l'isolement de ce composé (Fortin *et al.*, 2001).

L'ensemble des molécules isolées et/ou détectées par CLUHP-SM^2 de *P. lucida* est reporté dans le **Tableau XX - Annexe VII. - Tome II - pages 106-112**.

III. 2. 4. Évaluation des activités biologiques des métabolites isolés

L'extrait brut de *P. lucida* ayant révélé une activité biologique *in vitro* remarquable, à savoir une **activité antipaludique** (CI_{50} = 4,5 µg/mL), une **activité anti-inflammatoire** (CI_{50} = 0,06 µg/mL) et une **activité cytotoxique** sur les lignées cellulaires HepG2 (CI_{50} = 0,06 µg/mL) et HT 29 (CI_{50} = 0,05 µg/mL), les composés isolés de cette espèce ont donc également été évalués pour ces mêmes activités biologiques.

Il est à rappeler que le fractionnement de l'extrait brut de *P. lucida* a conduit à 9 composés dont 3 sont connus et 6 sont des structures nouvelles. Le réseau moléculaire établi à partir des fractions iso-hexanique et méthanolique de cette espèce a complété cette composition chimique, en mettant en évidence 10 composés connus supplémentaires (**PLU 10** à **19**). L'ensemble de ces composés mentionnés dans la littérature (**PLU 1**, **2**, **9** à **19**) manifeste diverses activités pharmacologiques synthétisées dans les **Tableaux XX et XXI - Annexe VII. - Tome II - pages 106-113**.

III. 2. 4. 1. Activité antipaludique

Les tests d'activité antipaludique des molécules isolées ont été réalisés par l'équipe du Professeur Michel FREDERICH au Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Liège, Belgique.

- **Principe**

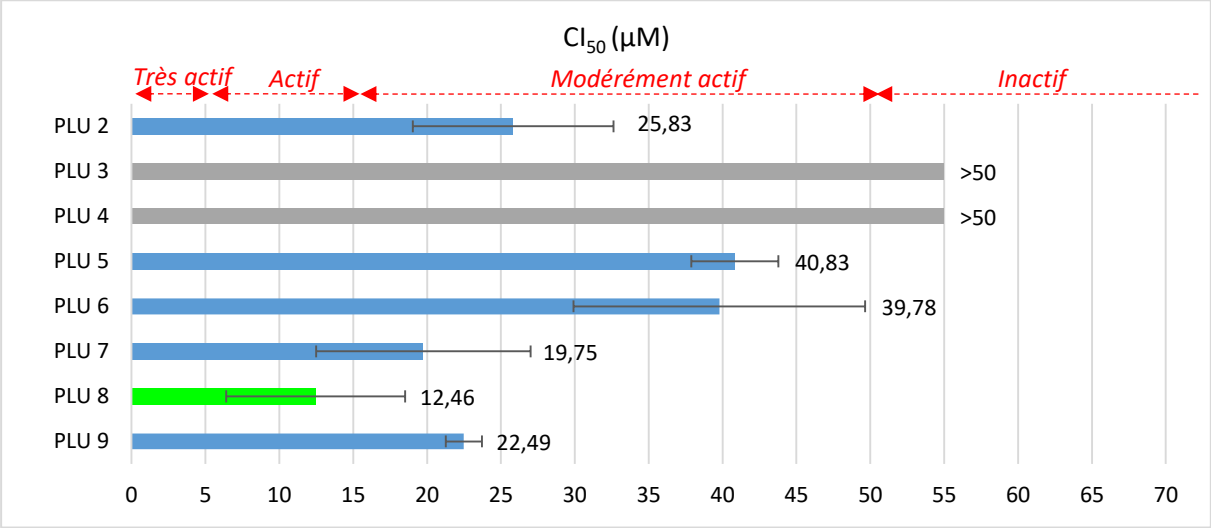
L'activité antipaludique des molécules isolées a été évaluée *in vitro* à travers la prolifération du parasite *Plasmodium falciparum* (souche 3D7, sensible à la chloroquine) (Jansen *et al.*, 2012). Les tests ont été effectués indépendamment en triplicat.

❖ **Résultats**

La concentration des molécules inhibant 50 % de la croissance parasitaire (CI_{50}) a été mesurée et les résultats sont présentés dans la **figure 67**. Le composé **PLU 1** (glycérol), étant disponible en trop faible quantité, n'a pas été testé.

Parmi les 8 composés testés :

- Le composé nouveau **PLU 8** a affiché une activité inhibitrice de la croissance du parasite *Plasmodium falciparum* avec une CI_{50} égale à 12,46 µg/mL.
- Les composés nouveaux **PLU 5, 6, 7** ainsi que les composés connus **PLU 2** et **9** manifestent une activité modérée avec des CI_{50} allant de 19,75 à 40,89 µg/mL.
- Les composés nouveaux **PLU 3** et **PLU 4** sont inactifs contre le parasite.



T : artémisinine (CI_{50} = 2,69 ng/mL)

Figure 67 : Résultats des tests antipaludiques des composés isolés de *P. lucida*.

III. 2. 4. 2. Activité anti-inflammatoire

Les tests d'activité anti-inflammatoire des molécules isolées ont été réalisés par l'équipe du Professeur Evelyne OLLIVIER et du Maître de Conférences Carole DI GIORGIO de l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE) de la Faculté de pharmacie de l'Université d'Aix-Marseille, France.

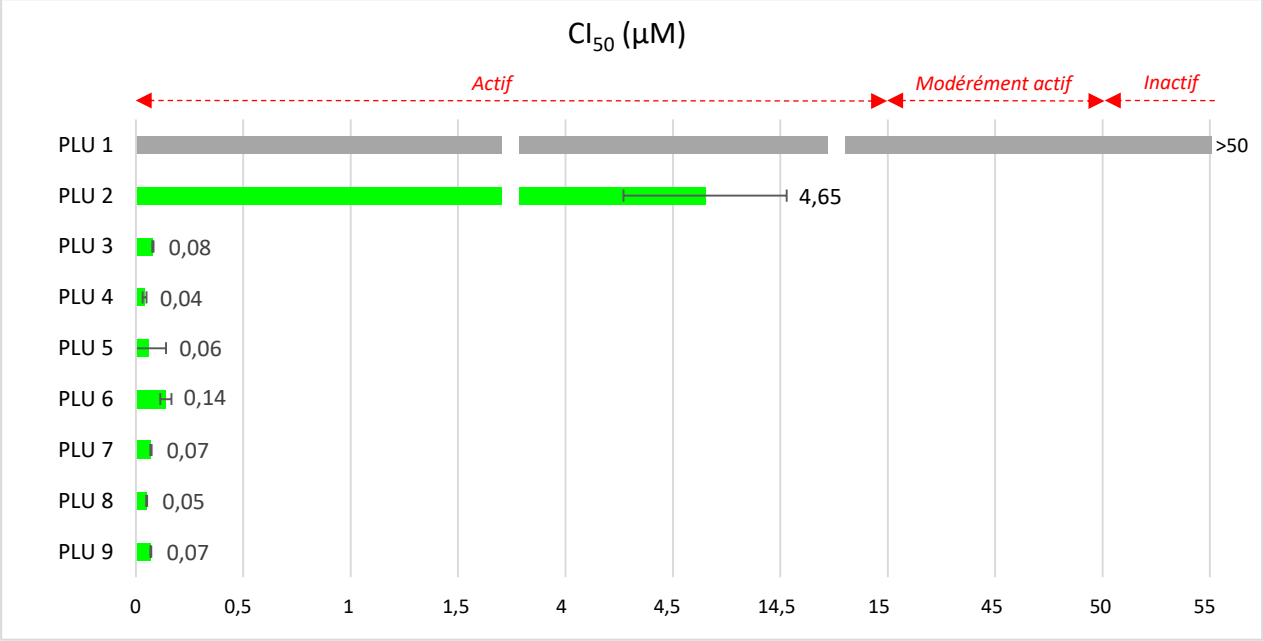
❖ **Principe**

L'activité anti-inflammatoire des molécules isolées a été évaluée *in vitro* sur des macrophages de souris immortalisés (lignée cellulaire RAW 264.7) en déterminant la concentration inhibant 50 % de la production d'oxyde nitrique. Une évaluation de la viabilité des cellules a été effectuée en parallèle pour valider l'activité (Iskandar *et al.*, 2018).

❖ **Résultats**

Les résultats des tests anti-inflammatoires sont présentés dans la **figure 68**. Parmi les métabolites testés, tous les composés, à l'exception de **PLU 1**, ont affiché une bonne activité anti-inflammatoire avec des concentrations inhibant 50 % de la production d'oxyde nitrique (CI_{50}) comprise entre 0,04 et 4,65 µg/mL.

En prenant en compte, dans un second temps, le résultat de l'évaluation de la viabilité cellulaire, seuls les composés actifs **PLU 2** et **PLU 9** ont montré des valeurs de CI_{50} supérieures à 100 µg/mL, soit aucune cytotoxicité. Les composés **PLU 3** à **8**, quant à eux, se révèlent être toxiques pour les cellules Raw avec des CI_{50} allant de 1,70 à 30,56 µg/mL ; ils ne peuvent donc pas être considérés comme des agents anti-inflammatoires potentiels.



T : Dexaméthasone (CI_{50} = 3,36 µg/mL)

Figure 68 : Résultats des tests anti-inflammatoires des composés isolés de *P. lucida*.

III. 2. 4. 3. Activité cytotoxique

Les tests de cytotoxicité des molécules isolées ont été réalisés par l'équipe du Professeur Evelyne OLLIVIER et du Maître de Conférences Carole DIORGIO de l'IMBE de la Faculté de pharmacie de l'Université d'Aix-Marseille, France.

❖ **Principe**

L'activité cytotoxique des molécules isolées a été évaluée *in vitro* sur les lignées cellulaires cancéreuses HEpG2, responsables du cancer du foie humain et HT 29, responsables du cancer du côlon (Hosry *et al.*, 2014).

❖ **Résultats**

Les résultats des tests cytotoxiques réalisés sur les métabolites isolés sont présentés dans la **figure 69**. Parmi les métabolites testés :

- Les composés nouveaux **PLU 5** et **PLU 8** sont très actifs vis-à-vis des deux lignées cellulaires cancéreuses HepG2 et HT 29. Le composé **PLU 4** n'est très actif que sur la lignée cellulaire HepG2. Leurs CI_{50} vont de 1,04 à 4,69 µg/mL.
- Les composés nouveaux **PLU 6** et **PLU 7** sont actifs sur les deux cibles avec des CI_{50} allant de 6,84 à 10,94 µg/mL. Le composé **PLU 4** n'est actif que sur la lignée cellulaire cancéreuse HT 29 avec une CI_{50} égale à 8,38 µg/mL.
- Le composé nouveau **PLU 3** a montré une cytotoxicité modérée avec des CI_{50} égales à 33,29 et 21,94 µg/mL vis-à-vis des lignées cellulaires cancéreuses HepG2 et HT 29 respectivement.
- Les métabolites connus **PLU 1**, **2** et **9** sont inactifs.

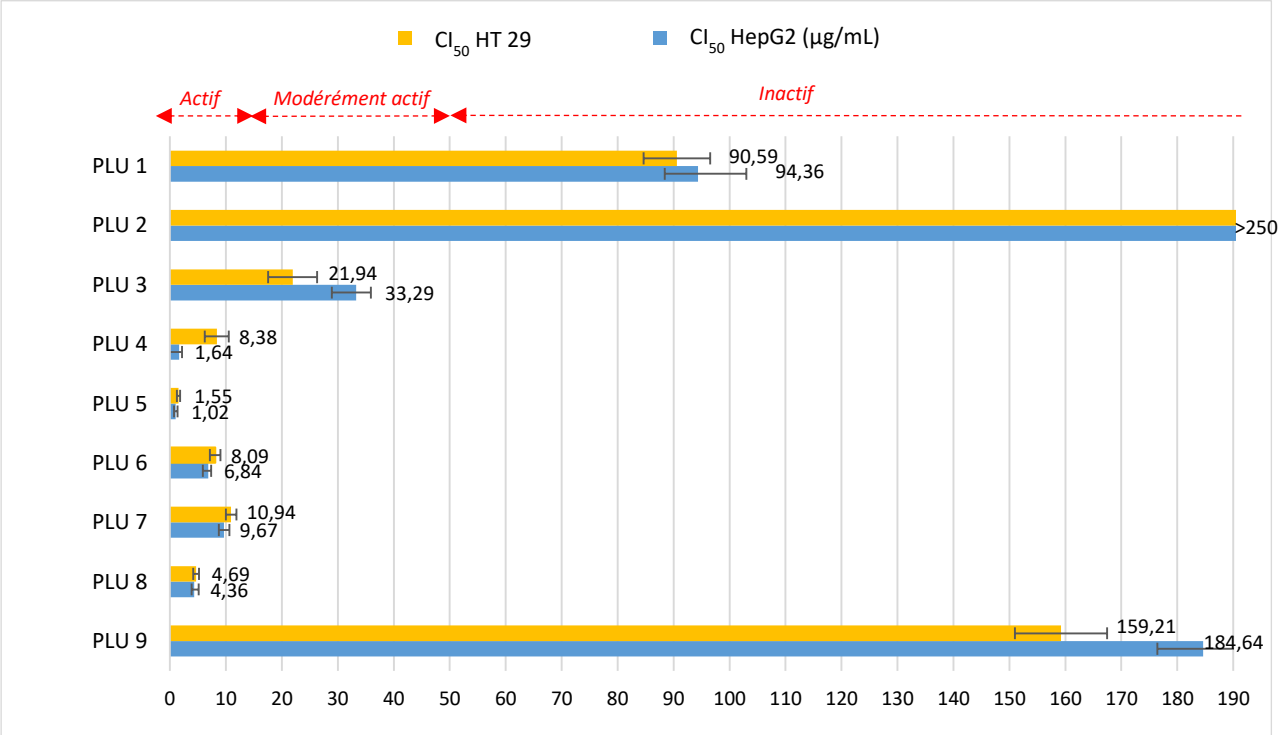


Figure 69 : Résultats des tests cytotoxiques des composés isolés de *P. lucida*.

III. 2. 4. 4. Discussion

L'espèce *P. lucida* a été choisie non seulement pour ses activités biologiques, à savoir ses activités anti-paludique et anti-inflammatoire et sa cytotoxicité envers les lignées cellulaires

cancéreuses HepG2 et HT 29, mais aussi en raison de la complexité de son profil chimique présentant plusieurs composés majoritaires dont la plupart est non répertoriée dans la littérature.

Les données de la littérature montrent que cette espèce contient des molécules dotées d'un large spectre d'activités biologiques. Ce sont, entre autres, des agents antidiabétiques, antimicrobiens, antioxydants, anti-inflammatoires et cytotoxiques. L'acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique (**PLU 2**), par exemple, s'est avéré avoir un effet antioxydant (Cao *et al.*, 2010 ; Pagano *et al.*, 2016 ; Parejo *et al.*, 2004 ; Slanina *et al.*, 1999) et neuroprotecteur (Gray *et al.*, 2014 ; Wei *et al.*, 2016 ; Xiao *et al.*, 2011). De même, le falcarindiol (**PLU 11**), détecté en CLUHP-SM^2, a montré une activité antimicrobienne (Lechner *et al.*, 2004 ; Lutomski *et al.*, 1992 ; Schinkovitz *et al.*, 2008 ; Stavri & Gibbons, 2005) et antifongique (Christensen & Brandt, 2006 ; Garrod *et al.*, 1978 ; Hansen & Boll, 1986 ; Harding & Heale, 1980 ; Kemp, 1978 ; Lutomski *et al.*, 1992 ; Olsson & Svensson, 1996).

Concernant particulièrement les trois activités (antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique) sélectionnées dans le cadre de notre étude, la littérature mentionne que :

- les composés **PLU 12** (3-*O*-méthylquercétine), **PLU 13** (chrysosplénol D) et **PLU 14** (acide labdanolique) sont actifs contre le paludisme,
- tous les composés connus isolés et/ou détectés par CLUHP-SM^2 de *P. lucida,* à l'exception de **PLU 15** (acide 9'-décarboxyrosmarinique) et **PLU 17** (isoobtusitine), possèdent des propriétés anti-inflammatoires,
- les métabolites spécialisés **PLU 9** à **PLU 15**, **PLU 18** (isokaempféride) et **PLU 19** (névadensine) manifestent une cytotoxicité sur diverses lignées cellulaires cancéreuses.

Les résultats de ces trois activités biologiques obtenus pour les molécules isolées dans la présente étude ont été comparés à ceux rapportés dans la littérature et sont présentés dans les **Tableaux XX et XXI - Annexe VII. - Tome II - pages 106-113**.

- **Activité antipaludique**

Six composés isolés de l'extrait brut de *P. lucida* ont démontré pour la première fois une activité antipaludique prometteuse. Il s'agit de **PLU 2** (acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique) et de **PLU 5** à **PLU 9** (polyacétylènes). Ces composés seraient à l'origine de l'activité antipaludique de l'extrait brut. Concernant particulièrement les composés connus **PLU 2** et **PLU 9** (3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol), aucun ouvrage ne fait mention de l'évaluation de leur activité antipaludique.

Il est à remarquer que l'extrait brut est très actif sur le parasite *Plasmodium falciparum* (CI_{50} = 4,54 µg/mL) alors que les molécules isolées ont des CI_{50} qui varient entre 12,46 et 40,89 µg/mL. Deux raisons pourraient expliquer cela. La première est le phénomène de synergie qui peut se produire entre les différents constituants de l'extrait. La seconde raison est la présence d'autres composés

minoritaires dans l'extrait brut qui n'ont pas été isolés lors de cette étude et qui pourraient être responsables de cette forte activité.

La déréplication des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida* a mis en évidence la présence possible de 3 composés ayant présenté une activité antipaludique dans la littérature. Il s'agit des composés **PLU 12** (3-*O*-méthylquercétine), **PLU 13** (chrysosplénol D) et **PLU 14** (acide labdanolique). Ces composés pourraient participer également à cette activité de l'extrait brut.

L'évaluation de l'activité antipaludique des polyacétylènes **PLU 3** à **PLU 9** a permis d'émettre une hypothèse quant à la relation structure-activité antipaludique. Tous les polyacétylènes testés ont une structure de base dérivée du composé **PLU 9** (3(*R*),8(*R*)-déhydrofalcarindiol). La différence entre chaque structure ne concerne que la partie entre C-9 et C-12. Ce qui laisse supposer que la présence ou l'absence de substituant dans cette partie semble avoir une influence sur l'activité antipaludique de la molécule.

- **Activité anti-inflammatoire**

Concernant l'activité anti-inflammatoire, tous les composés isolés à l'exception du glycérol (**PLU 1**) inhibent fortement la production de ON (CI_{50} entre 0,04 et 4,65 µg/mL). L'activité de l'extrait brut de *P. lucida* provient donc essentiellement de ces composés. Cette activité est en accord avec celle présentée dans les travaux antérieurs pour l'acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique (**PLU 2**) et le 3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 9**). Ce dernier, entre autres, est un puissant inhibiteur des enzymes cycloxygénase COX-1 qui est un médiateur inflammatoire (Dang *et al.*, 2005) et lipoxygénase 12-LOX impliquée dans la réponse de l'organisme végétal au traumatisme externe et au stress (Stavri *et al.*, 2005). Il est à noter qu'en raison de leur toxicité sur les cellules Raw, les composés nouveaux **PLU 3** à **PLU 8** (12-hydroxy-3(*R*),8*(R)-,* 11-hydroxy-3(*R*),8(*R*)-, 12*(R)*-acétoxy-3*(R)*,8*(R)-,* 12*(S)*-acétoxy-3*(R)*,8*(R)-,* 9,10-dihydroxy-3*(R)*,8*(R)*- et 11-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol) n'ont pas été considérés comme des agents anti-inflammatoires potentiels.

Quelques composés connus détectés par l'analyse CLUHP-SM^2 et ayant déjà montré une activité anti-inflammatoire dans les travaux antérieurs pourraient également participer à l'activité anti-inflammatoire décelée dans la présente étude. Il s'agit de **PLU 10** à **PLU 14** (falcarinol, falcarindiol, 3-*O*-méthylquercétine, chrysosplénol D et acide labdanolique), **PLU 16** (acide chlorogénique), **PLU 18** (isokaempféride) et **PLU 19** (névadensine).

Ces résultats permettent également de valider scientifiquement les propriétés anti-inflammatoires de cette espèce utilisée en médecine traditionnelle à Madagascar en cataplasme sur les plaies (Nicolas, 2012).

- **Activité cytotoxique**

La cytotoxicité de l'extrait brut de *P. lucida* serait principalement due aux composés nouveaux **PLU 3** à **PLU 8** (CI_{50} entre 1,02 et 33,29 µg/mL).

Il est à noter que le 3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 9**) a manifesté une activité cytotoxique au cours s travaux antérieurs (Stavri *et al.*, 2005). Cependant, cette activité n'a pas été retrouvée lors de nos tests. Cela peut s'expliquer par les cibles biologiques utilisées. En effet, les lignées cellulaires cancéreuses MDA231 et MCF7, responsables des cancers du sein, et les lignées cellulaires cancéreuses LS174T, SKCO1, COLO320DM et WIDR, responsables des cancers du côlon, ont été utilisées dans les travaux de Stavri (2005).

Plusieurs composés annotés du réseau moléculaire ont montré une cytotoxicité sur diverses lignées cellulaires cancéreuses. Il s'agit de **PLU 10** à **PLU 15**, **PLU 18** (isokaempféride) et **PLU 19** (névadensine). Ces composés pourraient également être responsables de l'activité cytotoxique de l'extrait brut.

Une analyse préliminaire structure-activité a été menée en s'appuyant sur le résultat des tests de cytotoxicité des polyacétylènes isolés. La comparaison des structures de ces derniers a mis en évidence que tous les composés nouveaux ont en commun une insaturation en C-16 et des substituants supplémentaires sur la chaîne aliphatique, en particulier en C-9, C-10, C-11 et C-12. Ils ont tous montré une forte cytotoxicité. Ce qui n'est pas le cas pour le 3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 9**). La présence supplémentaire d'une double liaison terminale et des substituants pourrait contribuer à une plus grande activité cytotoxique. L'étude de la relation structure-activité effectuée récemment sur les polyacétylènes C_{17} et C_{18} (Christensen, 2020) confirme cette hypothèse.

- **Activité antimicrobienne**

Les données de la littérature montrent que les composés connus, **PLU 1** et **PLU 9**, isolés de *P. lucida* ainsi que les composés détectés par analyse en CLUHP-SM^2, à savoir **PLU 10** à **PLU 13**, **PLU 16**, **PLU 18** et **PLU 19**, ont déjà démontré une activité antimicrobienne. Ces résultats sont en cohérence avec l'usage traditionnel de l'espèce. En effet, la décoction des feuilles de *P. lucida* est utilisée pour traiter les infections après l'accouchement ainsi que pour traiter la diarrhée (Rakotonandrasana, 2013) ; en outre, la plante possède des propriétés antiseptiques (Nicolas, 2012).

III. 2. 5. Conclusion

L'étude phytochimique approfondie de *P. lucida* a conduit à l'isolement du glycérol (**PLU 1**), de l'acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique (**PLU 2**), du déhydrofalcarindiol (**PLU 9**) et de 6 nouveaux composés appartenant à la famille des polyacétylènes (**PLU 3** à **PLU 8**). Ces 9 composés n'ont jamais été isolés

des espèces du genre *Psiadia*. Toutefois, deux isomères de **PLU 2**, à savoir l'acide 3,4- et 3,5-di-*O*-caféoylquinique, ont été retrouvés dans les feuilles de *P. viscosa* (Wang *et al.*, 1992).

Le réseau moléculaire obtenu à partir de l'analyse CLUHP-SM^2 des deux fractions iso-hexanique et méthanolique issues de l'extrait brut de *P. lucida* a mis en lumière la présence d'autres composés, à savoir des polyacétylènes tels que le falcarinol (**PLU 10**) et le falcarindiol (**PLU 11**), des flavonoïdes tels que l'isokaempféride (**PLU 18**) et la névadensine (**PLU 19**), des acides hydroxycinnamiques comme l'acide chlorogénique (**PLU 16**), un diterpène à savoir l'acide labdanolique (**PLU 14**) et une coumarine, l'isoobtusitine (**PLU 17**).

L'évaluation des activités antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique des composés isolés a montré que parmi les 9 composés :

- 6 composés présentent une activité antipaludique (CI_{50} entre 12,46 et 40,89 µg/mL). Il s'agit des composés **PLU 2** et **PLU 5** à **PLU 9**.
- 2 composés affichent une activité anti-inflammatoire avec une non-toxicité sur les cellules Raw : **PLU 2** (CI_{50} = 4,65 µg/mL) et **PLU 9** (CI_{50} = 0,07 µg/mL).
- 6 composés nouveaux **PLU 3** à **PLU 8** démontrent une cytotoxicité prometteuse sur les lignées cellulaires HepG2 et HT 29 (CI_{50} entre 1,02 et 33,29 µg/mL).

Les recherches bibliographiques effectuées sur les potentiels biologiques des métabolites spécialisés connus isolés et/ou détectés par l'analyse CLUHP-SM^2 de *P. lucida* a mis en évidence que cette espèce est une source de molécules biologiquement actives (**Tableaux XX et XXI - Annexe VII. - Tome II - pages 106-113**), notamment des agents antifongiques (**PLU 9**, **PLU 10**, **PLU 16**, …), antidiabétiques (**PLU 2**, **PLU 16**, …), antioxydants (**PLU 12**, **PLU 18**, **PLU 19**, …) et anti-inflammatoires (**PLU 1**, **PLU 13**, **PLU 14**, …). Les activités antimicrobienne et anti-inflammatoire des composés comme **PLU 2**, **PLU 9**, **PLU 13** et **PLU 18** justifient, par ailleurs, l'utilisation des feuilles de cette espèce par la pharmacopée locale. Ces différents résultats contribuent d'ores et déjà à la conservation et à la valorisation de cette espèce endémique de Madagascar.

Étude phytochimique de *Psiadia dentata*

Chapitre 3. Étude phytochimique de *Psiadia dentata*

À l'issue des criblages chimique et biologique réalisés sur les onze espèces réunionnaises, les extraits bruts de *P. dentata* présentaient des activités antiplasmodiale, anti-inflammatoire et cytotoxique intéressantes (Mahadeo, 2018). Cette espèce a donc été sélectionnée pour une étude phytochimique approfondie. Il est à rappeler que cette espèce est inscrite à la Pharmacopée française depuis 2019 (ANSM, 2021).

III. 3. 1. Collecte et identification

Les collectes des feuilles de P. dentata se sont déroulées en collaboration avec le Parc National de La Réunion avec l'aide de Messieurs Hermann THOMAS et Gabriel DEGUIGNE.

Les feuilles de *P. dentata* ont été collectées lors des travaux de thèse de Mahadeo K. (2018) sur quatre lieux différents à l'île de La Réunion : au Colorado, à Dos d'Ane, au Maïdo et à Montauban (**Figure 70**). Deux campagnes de collecte ont été réalisées en 2015 pour chaque localisation : la première en été et la deuxième en hiver. Huit lots de plante ont donc été obtenus (Mahadeo, 2018).

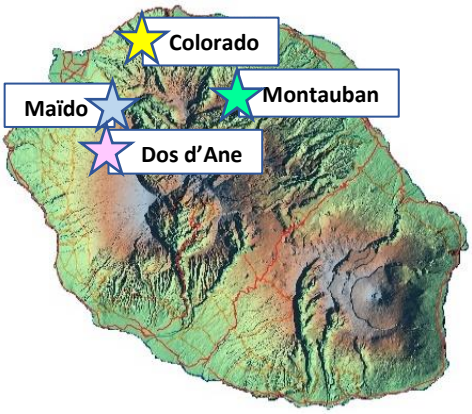


Figure 70 : Lieux de collecte de *P. dentata.*

Un échantillon de chaque lot a été déposé à l'Herbier de l'Université de La Réunion pour identification. Un numéro d'accession a été attribué à chaque échantillon (**Tableau XIV**).

Tableau XIV : Description des lieux de collecte de *P. dentata.*

Lieu de collecte	N° d'herbier (Été)	N° d'herbier (Hiver)	Points GPS	Alt. (m)
Colorado	REU13139	REU13501	20°54' 57,7''S / 55°25' 00,0''E	750
Dos d'Ane	REU13128	REU13480	20°58' 32,8''S / 55°23' 21,5''E	1320
Maïdo	REU13119	REU13497	21°1' 14,1''S / 55°21' 55,6''E	1375
Montauban	REU13487	REU13500	20°56' 57,6''S / 55°29' 38,3''E	580

Alt. = altitude

III. 3. 2. Extraction

L'extraction des composés non volatils a été effectuée dans le cadre des travaux de thèse de Mahadeo K. (2018). Les feuilles de *P. dentata* collectées ont d'abord été séchées à l'étuve à une température inférieure à 40 °C. Elles ont ensuite été broyées. L'extraction a été effectuée par de l'acétate d'éthyle (AcOEt) au moyen d'une extraction accélérée par solvant (Accelerated Solvent Extraction, ASE 300), répétée 4 fois afin d'épuiser le matériel végétal. L'AcOEt a été ensuite évaporé sous pression réduite et l'extrait brut obtenu pour chaque échantillon a été conservé au froid à 4 °C.

Les rendements d'extraction ont été calculés par rapport à la matière sèche extraite et sont présentés dans le **tableau XV** suivant.

Tableau XV : Rendements d'extraction des feuilles de *P. dentata.*

Localisation	Masse de poudre végétale (g)		Masse d'extrait brut (g)		Rendement (%)	
	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver
Colorado	48,3	51,8	6,7	7,2	13,9	13,9
Dos d'Ane	dm*	50,9	12,3	11,5	dm*	22,6
Maïdo	34,1	23,5	6,1	3,5	17,9	14,9
Montauban	51,7	42,7	8,6	8,2	16,6	19,2

dm : donnée manquante*

L'espèce *P. dentata* offre un bon rendement d'extraction variant de 6,1 à 19,3 % (Mahadeo, 2018).

III. 3. 3. Criblage biologique et choix de l'extrait brut pour le fractionnement

L'évaluation des activités antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique a été réalisée par Mahadeo K. Les tests antipaludique et cytotoxique ont été effectués au laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Liège, en Belgique, sous la direction du Professeur Michel FREDERICH. Les tests anti-inflammatoires ont été effectués au Centre de Recherche de l'Oxygène, Recherche et Développement, de l'Université de Liège, sous la direction du Docteur Ange MOUITHYS et du Docteur Thierry FRANCK.

Afin de sélectionner l'extrait brut à étudier, un criblage biologique a été effectué sur les 8 extraits bruts de *P. dentata*. Ces derniers ont été testés pour leurs **activités antipaludique**, **anti-inflammatoire** et **cytotoxique**.

❑ Principes

- L'activité antipaludique a été évaluée sur le parasite *Plasmodium falciparum* (souche 3D7, sensible à la chloroquine). La concentration des extraits bruts inhibant 50 % de la croissance parasitaire (CI_{50}) a été calculée.

- L'activité anti-inflammatoire a été évaluée sur l'enzyme Horseradish Peroxydase (HRP). La concentration des extraits bruts à laquelle 50 % de la prolifération de l'enzyme est inhibée a été calculée.

- La cytotoxicité de chaque extrait a été évaluée sur les cellules cancéreuses HeLa, responsables du cancer du col de l'utérus. La CI_{50} représente la concentration de l'échantillon à laquelle 50 % de la prolifération cellulaire est inhibée.

❑ Résultats

Les résultats du criblage biologique des extraits bruts de *P. dentata* sont exposés dans le **tableau XVI** suivant (Mahadeo, 2018).

Tableau XVI : Résultats du criblage biologique des extraits bruts de *P. dentata.*

Lieu de collecte	Activité antipaludique (CI_{50} en µg/mL)		Activité anti-inflammatoire (CI_{50} en µg/mL)		Activité cytotoxique (CI_{50} en µg/mL)	
Saison	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver
Colorado	8,4	16,8	3,9	2,3	41,1	33,9
Dos d'Ane	27,7	16,1	7,9	14,1	33,4	11,6
Maïdo	16,6	34,3	12,7	25,2	19,0	21,2
Montauban	14,4	15,4	9,6	3,3	48,3	35,3

L'évaluation des activités biologiques des extraits bruts de *P. dentata* a été effectuée en s'appuyant sur un classement présenté dans les **tableaux XVII** et **XVII** (Bero *et al.*, 2009 ; Bero & Quetin-Leclercq, 2011).

Tableau XVII : Interprétation des résultats des tests antipaludiques et cytotoxiques.

CI_{50} > 50 µg/mL	Non actif
15 < CI_{50} < 50 µg/mL	Activité modérée
5 < CI_{50} < 15 µg/mL	Actif
CI_{50} < 5 µg/mL	Très actif

Tableau XVIII : Interprétation des résultats des tests anti-inflammatoires.

CI_{50} > 50 µg/mL	Non actif
15 < CI_{50} < 50 µg/mL	Activité modérée
CI_{50} < 15 µg/mL	Actif

En se référant à ces classements, parmi les huit extraits bruts testés, sept se sont montrés actifs voire très actifs sur les cibles biologiques, avec des CI_{50} allant de 2,3 à 14,4 µg/mL. Il s'agit des extraits bruts de *P. dentata* collectée en été et en hiver au Colorado, à Dos d'Ane, à Montauban et l'extrait brut de *P. dentata* collectée en été au Maïdo.

Parmi les sept extraits bruts, deux manifestent une activité biologique sur deux cibles à la fois (antipaludique et anti-inflammatoire). Ce sont les extraits bruts des spécimens collectés pendant la période estivale au Colorado et à Montauban.

Ces deux extraits ont donc été présélectionnés pour les étapes de purification. Afin de comparer les deux échantillons et de choisir un extrait brut à fractionner, un profilage chimique par CLHP-CAD a été effectué sur les deux échantillons (**Figure 71**).

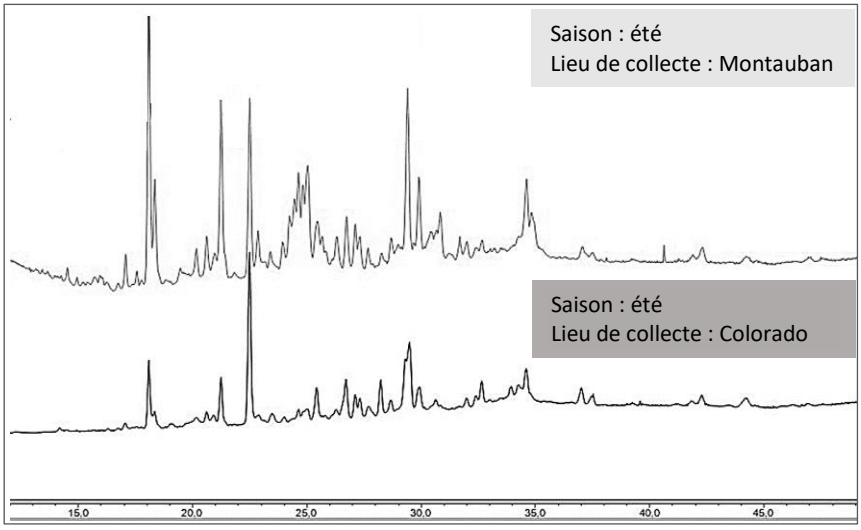


Figure 71 : Profils CLHP-CAD de deux extraits bruts de *P. dentata* bioactifs (antipaludique et anti-inflammatoire).

L'analyse comparative des profils chromatographiques montre que les deux spécimens présentent des profils chimiques quelque peu différents. Le spécimen provenant de Montauban présente un profil plus riche avec notamment des composés ayant un temps de rétention aux alentours de 25 min. En outre, il donne un rendement d'extraction plus élevé que celui du Colorado.

- Par conséquent, l'extrait brut de ***P. dentata*** collectée pendant la saison estivale à **Montauban** a été sélectionné pour les étapes de fractionnements et de purification des principes actifs.

III. 3. 4. Fractionnement et isolement des métabolites spécialisés

À partir de l'extrait brut de *P. dentata* sélectionné, plusieurs techniques ont été combinées pour l'isolement des métabolites spécialisés, notamment l'extraction liquide-liquide, la Chromatographie Liquide Moyenne Pression (CLMP) et la Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP).

Les diverses étapes du fractionnement ont été suivies par analyse par CLHP couplée à un détecteur à barrettes de photodiodes (DAD) et un détecteur d'aérosol chargé (CAD) ou un détecteur évaporatif à diffusion de lumière (ELSD) et/ou par CCM.

III. 3. 4. 1. Fractionnement de l'extrait brut par extraction liquide-liquide

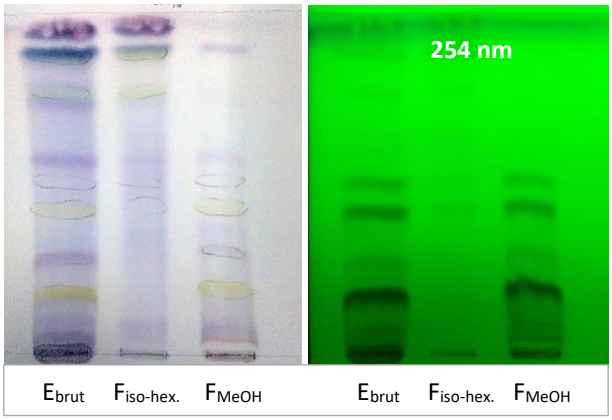
Huit grammes de l'extrait brut AcOEt (récolte Montauban - été) ont été fractionnés par extraction liquide-liquide au moyen d'isohexane et de méthanol non miscibles. L'opération a été réalisée 3 fois puis les fractions iso-hexaniques ont été rassemblées (m = 4,5 g) ; les fractions méthanoliques également (m = 3,4 g). L'extrait brut, les fractions iso-hexanique et méthanolique ont ensuite été soumis à un criblage chimique et biologique.

❑ Criblage chimique

Le criblage chimique a été réalisé par CCM et par CLHP-DAD-CAD.

- **Criblage chimique par CCM**

Le criblage chimique a tout d'abord été réalisé par CCM sur plaque de silice en phase normale éluée par un mélange de cyclohexane et d'AcOEt de proportion volumique 75/25 (v/v) et révélée aux UV (254 nm) et par une solution de vanilline en présence d'acide sulfurique. Les résultats de ce criblage sont présentés dans la **figure 72** ci-après.



Conditions opératoires de la CCM

Concentration : 10 mg/mL
Dépôt : 10 µL
Elution : Cyclohexane/AcOEt (75/25) (*v/v*)
Révélation : Vanilline sulfurique

Figure 72 : Profils CCM de l'extrait brut AcOEt et des deux fractions de *P. dentata.*

Les résultats du criblage chimique par CCM montrent que les composés apolaires ont été observés dans la fraction iso-hexanique et les composés les plus polaires semblent avoir été concentrés dans la fraction méthanolique.

❑ Criblage chimique par CLHP

Les extraits bruts ont été par la suite analysés par CLHP sur une colonne en phase inverse couplée à un détecteur DAD et un détecteur CAD (**Figure 73**).

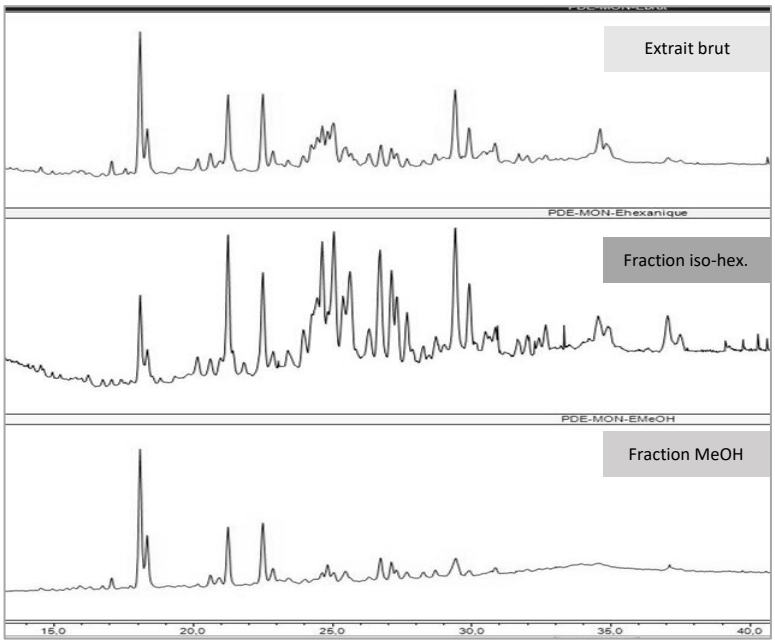


Figure 73 : Profils CLHP-CAD de l'extrait brut AcOEt et des deux fractions de *P. dentata.*

Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm Éluants : H_2O+0,1% AF/ACN+0,1% AF
Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min), 10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min) Débit : 0,7 mL/min

À l'issue des résultats du criblage chimique par CLHP, le fractionnement est peu concluant. En effet, la fraction iso-hexanique est à l'image de l'extrait brut avec une plus forte concentration des composés élués entre 23 et 29 minutes. La fraction méthanolique, quant à elle, est beaucoup moins riche en nombre de métabolites que la fraction iso-hexanique. Elle contient principalement des composés polaires élués entre 17 et 24 minutes.

❑ Criblage biologique

Les tests d'activité anti-inflammatoire et cytotoxique ont été réalisés par l'équipe du Professeur Evelyne OLLIVIER et du Maître de Conférences Carole DI GIORGIO de l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE) de la Faculté de Pharmacie de l'Université d'Aix-Marseille, France.

L'extrait brut et les deux fractions ont été testés sur différentes cibles biologiques afin d'identifier les fractions bioactives et ainsi orienter la suite du fractionnement.

▪ Activité anti-inflammatoire

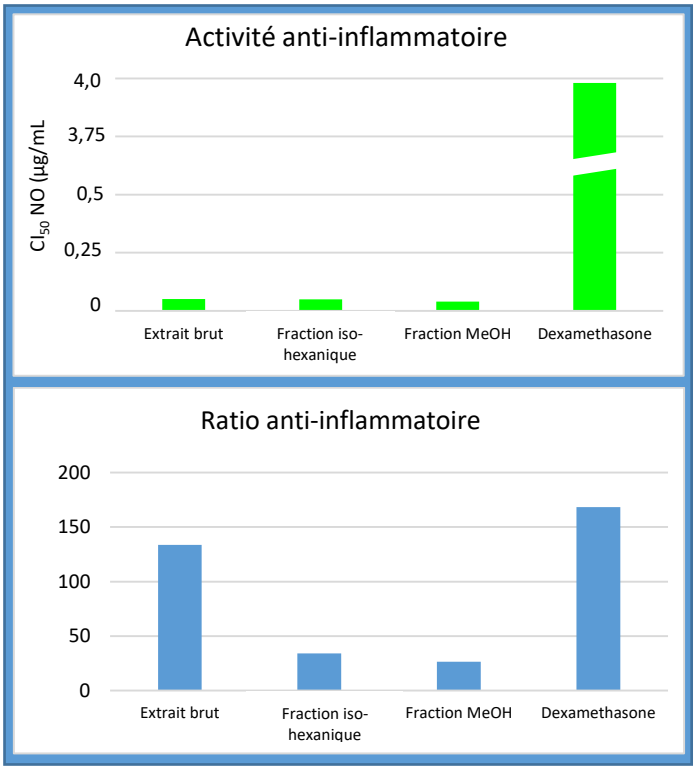
❖ Principe

L'activité anti-inflammatoire des fractions et de l'extrait brut a été évaluée *in vitro* sur des macrophages de souris immortalisés (lignée cellulaire RAW 264.7) en déterminant la concentration inhibant 50 % de la production de l'oxyde nitrique. Une évaluation de la viabilité des cellules a été

effectuée en parallèle pour valider l'activité. Le ratio anti-inflammatoire, qui est le rapport entre la concentration inhibitrice de la viabilité cellulaire et la concentration inhibitrice de la production d'ON, a également été calculé (Iskandar *et al.*, 2018).

❖ Résultats et discussion

Les résultats des tests anti-inflammatoires sont exposés dans la **figure 74** suivante.



T : Dexaméthasone (CI_{50} = 3,98 µg/mL)

Figure 74 : Activité anti-inflammatoire de l'extrait brut AcOEt et des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. dentata.*

Ces résultats mettent en évidence que l'extrait brut et les fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. dentata* manifestent une activité anti-inflammatoire avec des CI_{50} entre 0,04 et 0,05 µg/mL.

Les valeurs respectives du ratio anti-inflammatoire qui sont égales à 26,5 et 33,9 pour les fractions iso-hexanique et méthanolique et 133,7 pour l'extrait brut indiquent que l'extrait brut se révèle moins cytotoxique sur les cellules Raw que les fractions.

- **Activité cytotoxique**

❖ **Principe**

L'activité cytotoxique a été évaluée *in vitro* sur les cellules cancéreuses HEpG2, responsables du cancer du foie humain et sur les cellules HT 29, responsables du cancer du côlon en déterminant la concentration de l'échantillon à laquelle 50 % de la prolifération cellulaire est inhibée (Hosry *et al.*, 2014).

❖ **Résultats et discussion**

Les résultats des tests cytotoxiques sont exposés dans la **figure 75** suivante.

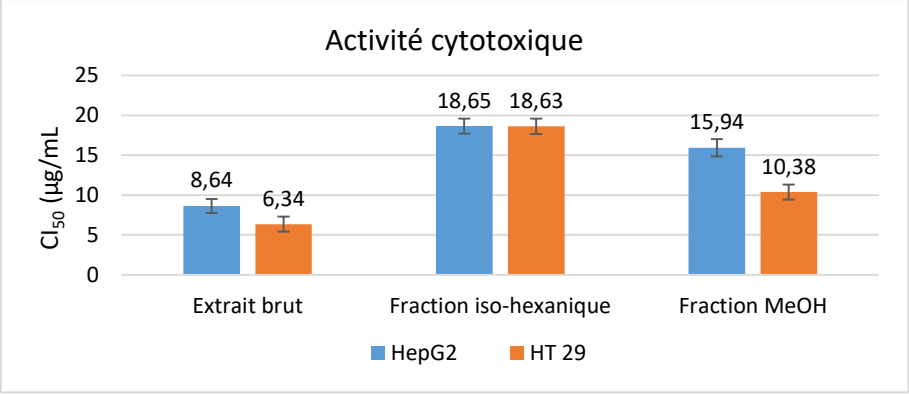


Figure 75 : Activité cytotoxique de l'extrait brut AcOEt et des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. dentata.*

La fraction iso-hexanique de *P. dentata* est modérément active sur les deux lignées cellulaires cancéreuses HepG2 et HT 29 avec des CI_{50} 18,65 et 18,63 µg/mL respectivement. La fraction méthanolique, quant à elle, est modérément active sur les lignées cellulaires cancéreuses Hep G2 (CI_{50} = 15,94 µg/mL) et active sur les lignées cellulaires cancéreuses HT 29 (CI_{50} = 10,38 µg/mL).

Il faut toutefois noter que l'extrait brut affiche une forte activité cytotoxique sur les deux lignées cellulaires cancéreuses. Cette cytotoxicité n'a été retrouvée ni dans la fraction iso-hexanique ni dans la fraction méthanolique. Cela pourrait être dû à des phénomènes de synergie entre les différents constituants de l'extrait.

❑ En conclusion, à l'issue des résultats des criblages chimique et biologique réalisés, il a finalement été envisagé l'isolement des métabolites spécialisés contenus dans les deux fractions iso-hexanique et méthanolique.

III. 3. 4. 2. Purification de la fraction iso-hexanique

Les travaux de purification des fractions ont débuté par la fraction iso-hexanique. L'isolement des métabolites spécialisés à partir de cette fraction, décrit ci-après, est illustré dans la **figure 76** donnée au paragraphe III. 3. 4. 4. - page 159.

Un total de 4,25 g de la fraction iso-hexanique a d'abord été fractionné par CLMP sur une colonne de silice normale. L'élution a été réalisée au moyen d'un gradient de solvant de polarité croissante isohexane/AcOEt/MeOH. L'opération a été effectuée 9 fois avec une masse d'environs 450 mg (soit un total de 4,25 g). Cela a permis l'obtention de 8 fractions.

Les analyses par CLHP-DAD-CAD des 8 fractions obtenues montrent que :

- La fraction F1 est composée majoritairement d'acides gras et de caroténoïdes ;
- La fraction F2 contient la majorité des métabolites de la fraction iso-hexanique qui sont élués entre 23 et 29 minutes.
- Les fractions F3 et F5 présentent des profils chimiques très proches de la fraction F4 ;
- La fraction F6 affiche un profil chimique proche de F7.

En conséquence, quatre fractions ont été sélectionnées pour la suite des travaux de fractionnement et d'isolement des métabolites spécialisés. Il s'agit de **F2, F4, F7** et **F8**.

- **Fractionnement de F2, F4 et F7**

Les fractions F2 (50 mg), F4 (45 mg) et F7 (70 mg) ont été soumises à un fractionnement par CLHP semi-préparative sur une colonne en phase inverse (Gemini C18, 5 µm, 250 x 10 mm) éluée par un gradient eau + 0,1 % d'acide formique/acétonitrile + 0,1 % d'acide formique. La pureté de tous les composés obtenus a été vérifiée par une analyse en CLHP-DAD-CAD.

À partir de la fraction F2, six composés notés **PDE 1** (0,2 mg), **PDE 2** et **3** (0,6 mg), **PDE 4** (0,3 mg), **PDE 5** (0,3 mg) et **PDE 6** (0,8 mg) ont été isolés. Notons que les composés **PDE 2** et **3** ont été obtenus en mélange.

À partir de la fraction F4, six composés ont été obtenus. Il s'agit de **PDE 7**, isolé en mélange avec **PDE 4** (1,3 mg), **PDE 8** (0,8 mg), **PDE 9** et **10** isolés en mélange (0,9 mg) et **PDE 11**, isolé en mélange avec **PDE 10** (0,3 mg).

À partir de la fraction F7, neuf composés ont été isolés. Il s'agit de **PDE 12** (0,5 mg), **PDE 13** et **14** (1,1 mg) qui ont été obtenus en mélange, **PDE 15** (0,6 mg), **PDE 16** (1,3 mg), **PDE 17** et **PDE 18** (3,8 mg) et le mélange **PDE 2** et **3** (2,1 mg) également isolé de la fraction F2.

- **Fractionnement de F8**

La purification de la fraction F8 a été réalisée par Guillaume SMAGGHE, étudiant de l'Université de Liège, en Belgique durant son stage ERASMUS au Laboratoire de Chimie et de Biotechnologie des Produits Naturels (CHEMBIOPRO) de l'Université de La Réunion, France.

Dans un premier temps, 550 mg de cette fraction ont été soumis à un fractionnement par CLMP sur une colonne de silice en phase normale éluée au moyen d'un gradient d'isohexane/AcOEt de polarité croissante. Sept sous-fractions, notées SF1 à SF7, ont été obtenues à l'issue de ce fractionnement. Les analyses par CLHP-DAD-CAD de ces sous-fractions ont permis de détecter la présence des composés **PDE 19** et **PDE 20** dans les sous-fractions SF4 et SF5. Ces deux sous-fractions ont donc été rassemblées (SF4+5) et soumises à un deuxième fractionnement par CLMP sur une colonne de silice en phase normale. Dix nouvelles sous-fractions ont été obtenues.

Afin de récupérer les deux composés, la sous fraction SF4+5.6 (6,7 mg), qui contient le composé **PDE 19**, et la sous fraction SF4+5.8 (11,1 mg), qui contient le composé **PDE 20**, ont été chacune soumise à une autre purification par CLHP semi-préparative sur colonne en phase inverse (Gemini C18, 5 µm, 250 x 10 mm) éluée à l'aide d'un gradient eau + 0,1 % d'acide formique/acétonitrile + 0,1 % d'acide formique. Les deux composés **PDE 19** et **PDE 20** ont été purifiés à hauteur de 0,4 mg et 0,5 mg respectivement. La pureté de ces métabolites isolés a été vérifiée par une analyse CLHP-DAD-CAD.

III. 3. 4. 3. Purification de la fraction méthanolique

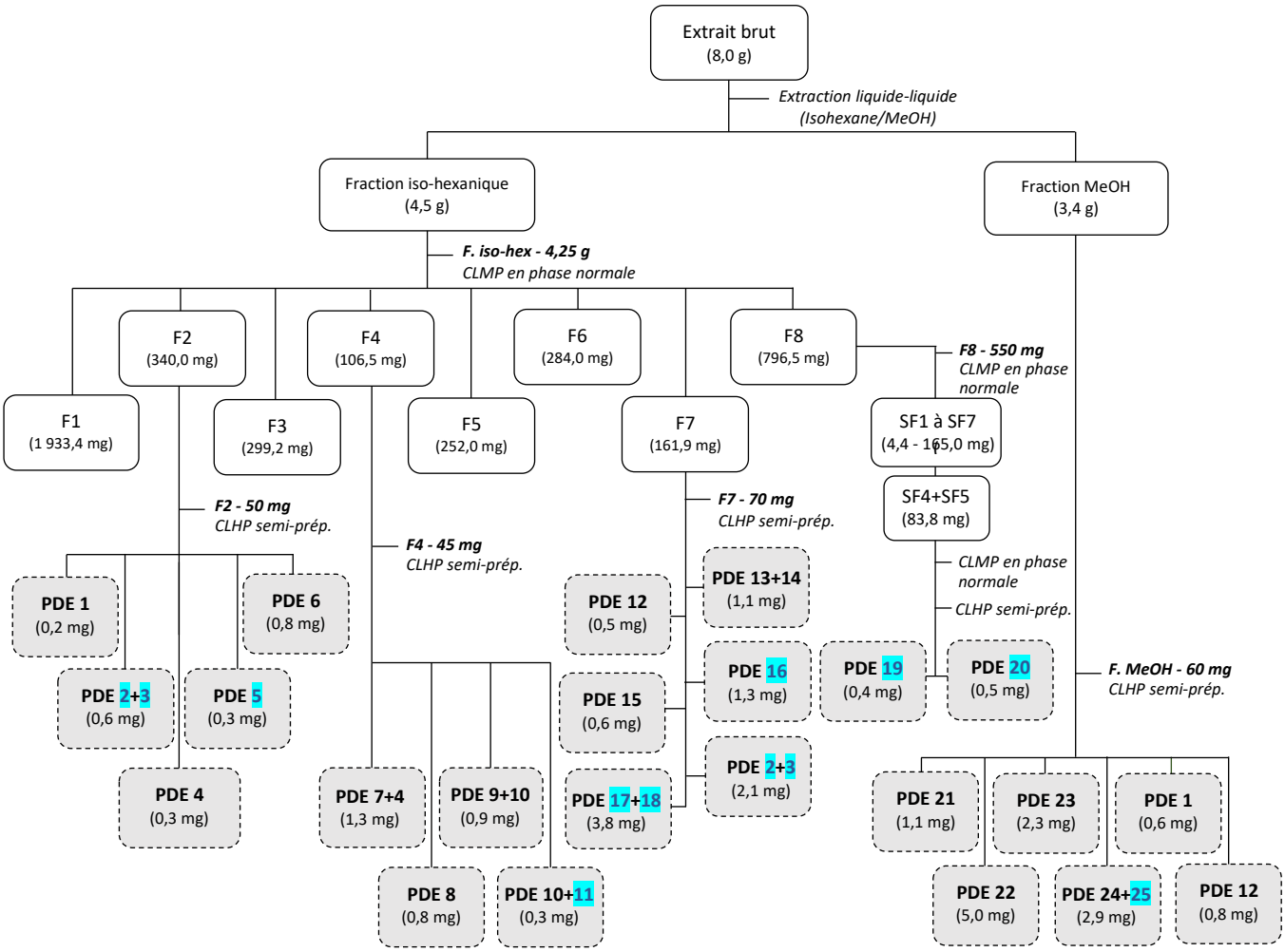
La suite des travaux de purification a concerné la fraction MeOH. L'isolement des métabolites spécialisés à partir de la fraction méthanolique décrit ci-après est illustré dans la **figure 76** donnée au paragraphe III. 3. 4. 4. - page 159.

60 mg de cette fraction ont été purifiés par CLHP semi-préparative en phase inverse. L'élution a été réalisée au moyen d'un gradient eau + 0,1 % d'acide formique/acétonitrile + 0,1 % d'acide formique. Ce fractionnement a permis d'obtenir sept composés. Il s'agit de **PDE 21** (1,1 mg), **PDE 22** (5,0 mg), **PDE 23** (2,3 mg), **PDE 24** et **25** (2,9 mg) isolés en mélange et deux autres composés qui ont déjà été purifiés des fractions F2 et F7 de la fraction iso-hexanique : **PDE 1** (0,6 mg) et **PDE 12** (0,8 mg). Le contrôle de pureté de ces produits a été réalisé par une analyse CLHP-DAD-CAD.

III. 3. 4. 4. Synthèse du fractionnement opéré sur l'extrait brut de *P. dentata* collectée en été à Montauban (La Réunion)

Le fractionnement de l'extrait brut de *P. dentata* collectée à Montauban a finalement conduit à l'isolement de 25 métabolites **PDE 1** à **PDE 25** purs ou en mélange. Le fractionnement réalisé est

synthétisé dans la **figure 76** ci-après. Le profil CLHP-CAD de l'extrait brut avec l'annotation de ces 25 métabolites est présenté dans la **Figure 155 - Annexe VIII. 21. - Tome II - page 202**.



PDE X : Composés nouveaux isolés de *P. dentata*

Figure 76 : Fractionnement de l'extrait brut de *P. dentata* pour l'isolement des métabolites **PDE 1** à **PDE 25**.

III. 3. 5. Élucidation structurale des métabolites spécialisés isolés

L'identification des composés isolés a été réalisée au Spectropole d'Aix-Marseille Université durant un séjour de recherche sous la direction du Docteur Gaëtan HERBETTE.

L'élucidation structurale a été réalisée au moyen de diverses techniques analytiques :

- la polarimétrie (pouvoir rotatoire),
- l'infrarouge (IRTF),
- la spectrométrie de masse haute résolution (SMHR),

- la résonance magnétique nucléaire (RMN) monodimensionnelle (^{1}H, ^{13}C), bidimensionnelle homonucléaire (^{1}H-^{1}H COSY, ^{1}H-^{1}H NOESY) et hétéronucléaire (^{1}H-^{13}C HSQC et ^{1}H-^{13}C HMBC).

La combinaison de toutes ces techniques a conduit à l'élucidation structurale de :

- 15 composés mentionnés dans la littérature,
- 10 composés de structure nouvelle.

Les déplacements chimiques des atomes de carbone ont été attribués dans la majorité des cas à partir des spectres ^{1}H-^{13}C HSQC et ^{1}H-^{13}C HMBC. Les données analytiques des 25 composés figurent en **Annexe VIII - Tome II - pages 115-201**. Leur élucidation structurale est détaillée ci-après.

III. 3. 5. 1. Métabolites spécialisés connus

Les 15 métabolites spécialisés connus peuvent être regroupés en 3 familles à savoir : les coumarines, les diterpènes et les flavonoïdes (**Figure 77**). Ces derniers constituent la très grande majorité des métabolites isolés. L'élucidation structurale de ces composés est détaillée ci-après.

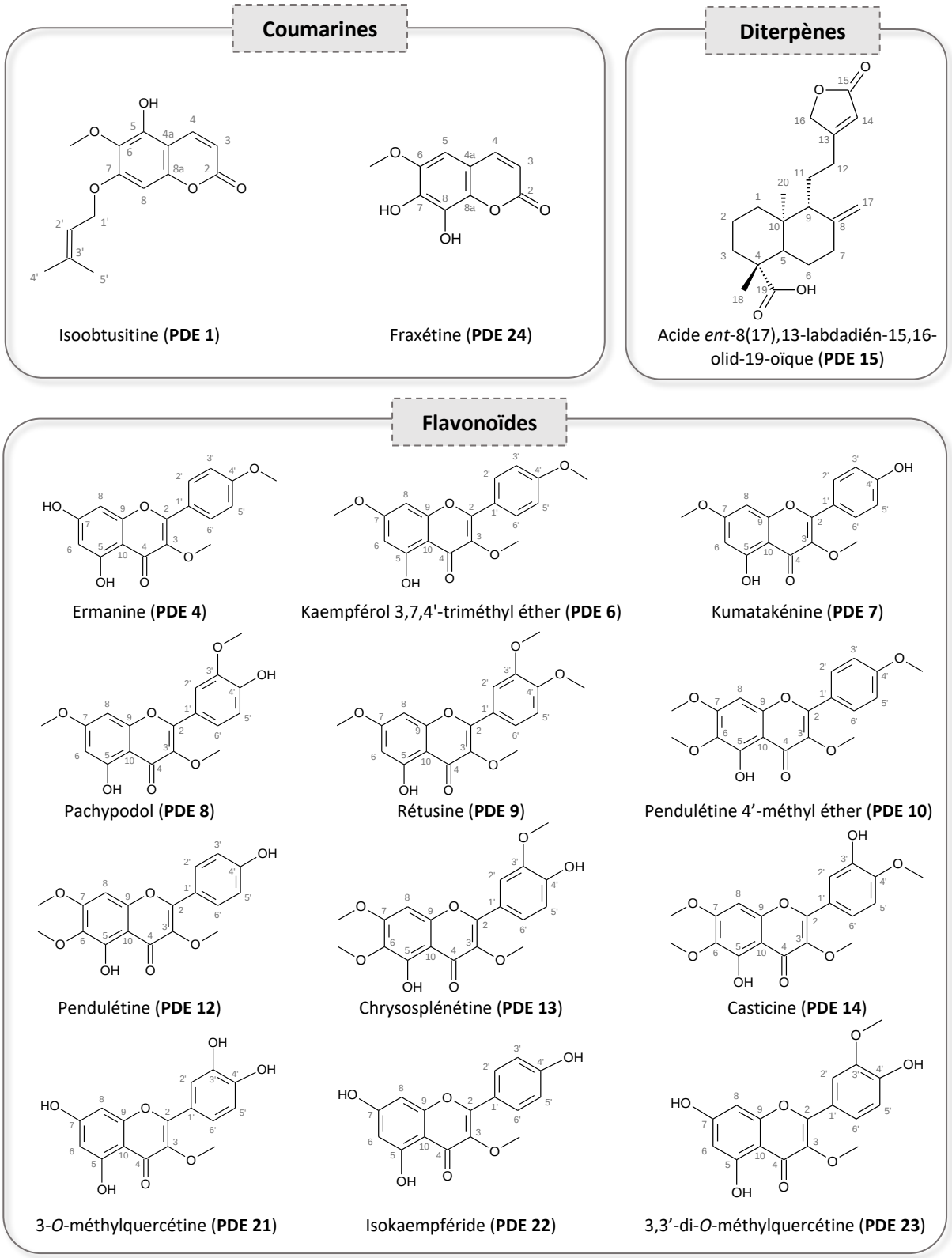


Figure 77 : Métabolites spécialisés connus isolés de *P. dentata*.

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 1**

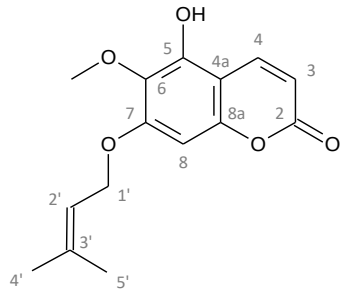
Les données spectrales du métabolite **PDE 1** sont présentées en **Annexe VIII. 1. - Tome II - pages 116-119**.

Le composé **PDE 1** a été isolé sous forme d'une poudre jaune. Sa formule moléculaire $C_{15}H_{16}O_5$ a été attribuée sur la base de son spectre SMHR en mode ESI^+, révélant un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 277,1000 (valeur calculée : *m/z* 277,1071). Cette formule moléculaire indique que la structure comprend 8 insaturations.

Le spectre RMN ^1H montre la présence de deux groupements méthyles en position 4' (δ_{1H} 1,82) et 5' (δ_{1H} 1,80), d'un groupe méthoxy (δ_{1H} 3,78) lié au carbone C-6, d'un groupement méthylène en 1'(δ_{1H} 4,65) et de quatre groupements éthyléniques en 3 (δ_{1H} 6,15), 4 (δ_{1H} 8,12), 8 (δ_{1H} 6,52) et 2' (δ_{1H} 5,52).

Le spectre RMN ^{13}C montre la présence de 10 atomes de carbone aromatiques et éthyléniques, d'un carbone d'une fonction lactone C-2 (δ_{13C} 163,8), d'un groupement méthoxy (δ_{13C} 61,3) lié à C-6 (δ_{13C} 134,6) et de deux groupements méthyles en 4' (δ_{13C} 26,0) et 5' (δ_{13C} 18,3).

L'ensemble des corrélations homonucléaires ^1H-^1H COSY et hétéronucléaires ^1H-^{13}C HMBC permettent d'identifier une coumarine avec une substitution en C-7 (δ_{13C} 157,4) par un groupement *O*-prényle. L'hypothèse de structure obtenue correspond à l'isoobtusitine précédement décrite par Fortin (Fortin *et al.*, 2001). Une comparaison des spectres RMN ^1H et ^{13}C de l'isoobtusitine avec ceux observés pour **PDE 1** est présenté dans le **Tableau XXII - Annexe VIII. 1. - Tome II - page 116**.



Isoobtusitine **(PDE 1)**

Cette élucidation structurale de l'isoobtusitine a permis de confirmer l'étude métabolomique effectuée par Mahadeo K. sur les composés non volatils des espèces du genre *Psiadia* de La Réunion. En effet, les déplacements chimiques caractéristiques de l'isoobtusitine ont été retrouvés sur les spectres RMN ^1H des extraits bruts de *P. dentata* collectée sur quatre lieux géographiques à La Réunion (Mahadeo, 2018).

L'isoobtusitine a été isolée pour la première fois en 2001 de *P. dentata* (Fortin *et al.*, 2001). Il est à noter que jusqu'à ce jour, c'est la première et la seule coumarine isolée du genre *Psiadia* (Murray, 1991). Cette appellation a été établie en se référant à son isomère l'obtusidine présentant une fonction hydroxy en C-8, isolé des parties aériennes de *Haplophyllum obtusifolium (Rutaceae)* (Matkarimov *et al.*, 1982).

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 4**

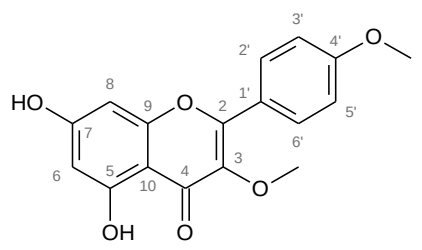
Les données spectrales du métabolite **PDE 4** sont présentées en **Annexe VIII. 3. - Tome II - pages 125-128**.

Le composé **PDE 4**, isolé sous la forme d'une poudre jaune, possède une formule moléculaire $C_{17}H_{14}O_6$, déterminée à partir de son spectre SMHR en mode ESI^+ avec un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 315,0884 (valeur calculée : *m/z* 315,0863), soit 11 insaturations.

L'étude du spectre RMN ^1H du composé **PDE 4** a mis en évidence la présence de 6 protons aromatiques H-6 (δ_{1H} 6,21), H-8 (δ_{1H} 6,43), H-2' et H-6' (δ_{1H} 8,09), H-3' et H-5' (δ_{1H} 7,09) et deux groupes méthoxy (δ_{1H} 3,79) et (δ_{1H} 3,90) liés respectivement à C-3 et C-4'.

Le spectre RMN ^{13}C présente 17 atomes de carbones : une fonction cétone C-4 (δ_{13C} 176,0) ; 6 carbones *sp²* liés à un oxygène (δ_{13C} 139,5 - 176,0) ; 6 carbones *sp²* non substitués (δ_{13C} 94,5 - 131,0), 2 carbones *sp²* substitués C-10 (δ_{13C} 106,1) et C-1' (δ_{13C} 123,9) et deux carbones du groupe méthoxy (δ_{13C} 55,8 et 60,2).

L'analyse SMHR combinée à l'ensemble des données spectrales RMN 1D et 2D a permis d'identifier le composé **PDE 4** comme étant la 5,7-dihydroxy-3,4'-diméthoxyflavone, appelée aussi ermanine. Les déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C de cette dernière (Castillo *et al.*, 2015) et ceux du composé **PDE 4** sont présentés dans le **Tableau XXIV - Annexe VIII. 3. - Tome II - page 125**.



Ermanine **(PDE 4)**

L'ermanine a été isolée pour la première fois en 1971 des bourgeons de *Betula ermani (Betulaceae)* (Wollenweber, 1971). Elle est aussi présente dans plusieurs plantes telles que les parties aériennes de *Tanacetum microphyllum (Asteraceae)* (Martinez *et al.*, 1997), les résines de *Passiflora foetida (Passifloraceae)* (Echeverri *et al.*, 1991) et les résines de *Baccharis dracunculifolia (Asteraceae)* (Filho *et al.*, 2009). Elle fait également partie des molécules déjà isolées des feuilles de *P. dentata* (Jakobsen *et al.*, 2001 ; Robin, 1999).

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 6**

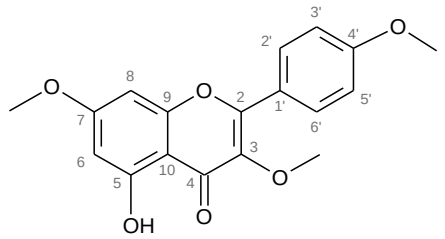
Les données spectrales du métabolite **PDE 6** sont présentées en **Annexe VIII. 5. - Tome II - pages 134-136**.

Le composé **PDE 6**, de couleur jaune pâle, a été obtenu sous forme pâteuse. Il possède une formule moléculaire $C_{18}H_{16}O_6$, déterminée à partir de son spectre SMHR en mode ESI^+ avec un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 329,1028 (valeur calculée : *m/z* 329,1020). Le nombre d'insaturations calculé à partir de cette formule moléculaire est égal à 11.

Le spectre RMN ^1H de **PDE 6** présente 6 protons aromatiques H-6 (δ_{1H} 6,36), H-8 (δ_{1H} 6,65), H-2' et H-6' (δ_{1H} 7,10) et H-3' et H-5' (δ_{1H} 8,11). Il met également en évidence trois groupes méthoxy, un à δ_{1H} 3,81 et deux à δ_{1H} 3,90, liés respectivement à C-3, C-7 et C-4'.

L'analyse des données de la RMN ^{13}C met en évidence une fonction cétone en C-4 (δ_{13C} 168,2), 6 carbones sp^2 liés à un oxygène (δ_{13C} 140,0-168,2), 6 carbones sp^2 non substitués (δ_{13C} 93,2-131,3) et 2 carbones sp^2 substitués C-10 (δ_{13C} 106,9) et C-1' (δ_{13C} 123,8).

L'ensemble des données spectrales indique la structure finale qui est le kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther. Par ailleurs, ces données sont en accord avec ceux du même composé présentés dans la littérature (Rossi *et al.*, 1997) (**Tableau XXVI - Annexe VIII. 5. - Tome II - page 134**).



Kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther **(PDE 6)**

Isolé pour la première fois des feuilles de *Cheilanthes farinosa* (*Pteridophyta*) (Erdtman *et al.*, 1966), le kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther a été retrouvé dans plusieurs autres plantes, à savoir les rhizomes de *Kaempferia parviflora (Zinzinberaceae)* (Yenjai *et al.*, 2004), le tronc et les écorces d'*Aniba canellila (Laureaceae)* (Rossi *et al.*, 1997), les rhizomes de *Zingimber zerumbet (Zingiberaceae)* (Jang *et al.*, 2004) et les parties aériennes de *Pallota saxatilis* ssp. *saxatilis (Lamiaceae)* (Çitoğlu *et al.*, 2008). C'est la première fois que le kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther est isolé du genre *Psiadia.*

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 7**

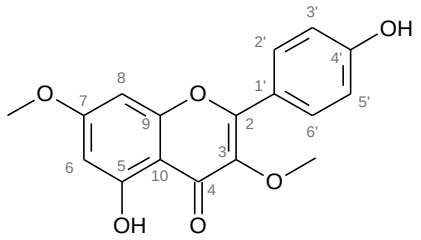
Les données spectrales du métabolite **PDE 7** sont présentées en **Annexe VIII. 6. - Tome II - pages 137-139**.

Le métabolite **PDE 7** a été obtenu en mélange avec **PDE 4**, sous forme de poudre jaune. Sa formule brute $C_{17}H_{14}O_6$ a été attribuée sur la base de son spectre SMHR en mode ESI^+ indiquant un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 315,0884 (valeur calculée : *m/z* 315,0863) correspondant à la formule moléculaire. Le nombre d'insaturations calculé à partir de cette formule brute est de 11.

La présence de deux composés a été décelée grâce au dédoublement de signaux observé sur le spectre RMN ^{1}H. L'intensité relative des signaux a permis d'évaluer les proportions relatives de **PDE 4** et **PDE 7**, à savoir 80 : 20 respectivement.

Le spectre RMN ^{1}H de **PDE 7** montre des protons aromatiques H-6 (δ_{1H} 6,31), H-8 (δ_{1H} 6,59), H-2'et H-6' (δ_{1H} 8,00), H-3'et H-5' (δ_{1H} 6,92) ainsi que deux groupes méthoxy en 3 (δ_{1H} 3,79) et en 7 (δ_{1H} 3,88).

Les données spectrales RMN 1D et 2D ont permis d'identifier le composé **PDE 7** comme étant la 5,4'-dihydroxy-3,7-diméthoxyflavone ou la kumatakénine. La comparaison des spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C de **PDE 7** avec les données antérieures publiées (Villaflores *et al.*, 2010) pour ce composé (**Tableau XXVII - Annexe VIII. 6. - Tome II - page 137**) a permis de conforter cette hypothèse de structure.



Kumatakénine **(PDE 7)**

La kumatakénine a été isolée pour la première fois à partir des graines d'*Alpinia japonica* (Kimura *et al.*, 1967a) et d'*Alpinia kumatake (Zingiberaceae)* (Kimura *et al.*, 1967b). Ce métabolite a également été isolé de plusieurs plantes telles que les bourgeons des fleurs de *Syzygium aromaticum (Myrtaceae)* (Woo *et al.*, 2017), les parties aériennes de *Ballota glandulosissima (Lamiaceae)* et la plante entière d'*Astragalus membranaceus (Fabaceae)* (Dungérdorzh & Petrenko, 1972). C'est la première fois que la kumatakénine a été isolée du genre *Psiadia*.

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 8**

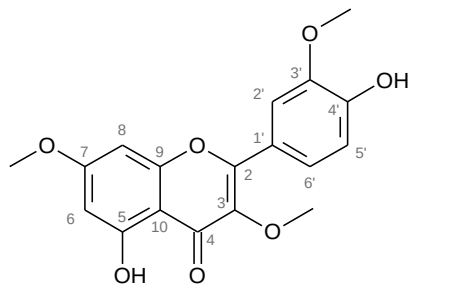
Les données spectrales du métabolite **PDE 8** sont présentées en **Annexe VIII. 7. - Tome II - pages 140-142**.

Le composé **PDE 8** est obtenu sous la forme de cristaux jaunes clairs. Sa formule moléculaire $C_{18}H_{16}O_7$ a été attribuée sur la base des données de SMHR en mode ESI^{+} révélant un ion pseudomoléculaire $[M+H]^{+}$ à *m/z* 345,0983 (valeur calculée : *m/z* 345,0969). Le nombre d'insaturations déduit s'élève à 11.

Sur le spectre RMN ^{1}H, on note la présence des protons H-6 (δ_{1H} 6,34) et H-8 (δ_{1H} 6,65 et trois autres protons H-2' (δ_{1H} 7,74), H-5' (δ_{1H} 6,95) et H-6' (δ_{1H} 7,69) ainsi que trois groupes méthoxy en 3 (δ_{1H} 3,81), 7 (δ_{1H} 3,89) et 3' (δ_{1H} 3,95).

Le spectre RMN ^{13}C montre la présence de 15 atomes de carbone *sp²* (δ_{13C} 93,1 à 180,2) dont un carbone d'une fonction lactone C-4 (δ_{13C} 180,2) et de trois groupements méthoxy en 3 (δ_{13C} 60,6), 7 (δ_{13C} 56,5) et 3' (δ_{13C} 56,5).

L'ensemble des données spectrales RMN 1D et 2D et la comparaison des spectres RMN ^{1}H et ^{13}C (**Tableau XXVIII - Annexe VIII. 7. - Tome II - page 140**) avec les données disponibles dans la littérature (Çitoğlu *et al.*, 2003) a permis d'identifier le composé **PDE 8** comme étant la 5,4'-dihydroxy-3,7,3'-triméthoxyflavone ou le pachypodol.



Pachypodol **(PDE 8)**

Isolé pour la première fois du *Pachypodanthium confine* (*Annonaceae)* (Cavé *et al.*, 1973), le pachypodol a également été retrouvé dans les parties aériennes de *Croton ciliatoglanduliferus (Euphorbiaceae)* (González-Vázquez *et al.*, 2006), les feuilles de *Calycopteris floribunda (Combretaceae)* (Ali *et al.*, 2008) et les parties aériennes de *Pogostemon cablin (Lamiaceae)* (Kim *et al.*, 2019). Le pachypodol a déjà été isolé lors des travaux de Jakobsen et *al.* (2001) des feuilles de *Psiadia dentata*.

- **Élucidation structurale des métabolites PDE 9 et PDE 10**

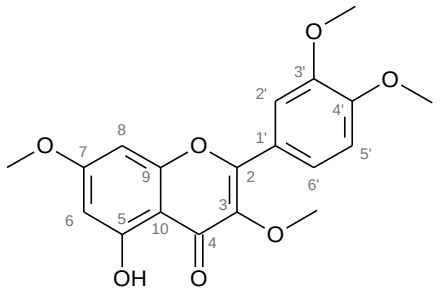
Les données spectrales des métabolites **PDE 9** et **PDE 10** sont présentées en **Annexe VIII. 8. - Tome II - pages 143-146**.

Les composés **PDE 9** et **PDE 10** sont deux isomères qui ont été obtenus en mélange sous forme d'une poudre jaune. Leur formule moléculaire a été déterminée à partir du spectre SMHR en mode ESI^+ du mélange révélant un ion pseudomoléculaire unique à *m/z* $[M+H]^+$ 359,1138 (valeur calculée : *m/z* 359,1125), correspondant à 11 insaturations.

L'étude du spectre RMN ^{1}H, en revanche, a révélé un dédoublement de signaux suggérant la présence de deux composés en mélange. À partir des intensités relatives de ces signaux dédoublés, la proportion 35 : 65 respectivement pour **PDE 9** et **PDE 10** a pu être évaluée.

Concernant **PDE 9**, l'étude des données spectrales a conduit à la structure de la 5-hydroxy-3,7,3',4'-tétraméthoxyflavone communément appelée rétusine. Après comparaison de l'ensemble des

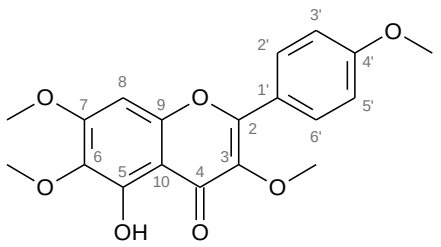
données spectrales pour ce composé avec les données de la littérature (Mai *et al.*, 2012), cette hypothèse de structure a été confirmée (**Tableau XXIX - Annexe VIII. 8. - Tome II - page 143**).



Rétusine **(PDE 9)**

La rétusine a été isolée pour la première fois du cactus *Ariocarpus retusus (Cactaceae)* (Domínguez *et al.*, 1968). Elle a aussi été isolée en tant que composé majoritaire des rhizomes d'*Amomum koenigii* J. F. Gmel (Phan *et al.*, 2020) et des parties aériennes d'*Origanum vulgare (Lamiaceae)* (Skoula *et al.*, 2008). On l'a retrouvée également dans les feuilles d'*Aglaia andamanica (Meliaceae)* (Puripattanavong *et al.*, 2000) ainsi que dans quelques espèces de la famille des *Asteraceae* telles que les parties aériennes d'*Artemisia rupestris* (Valant-Vetschera *et al.*, 2003) et les feuilles de *Parthenium sp.* (Harborne & Baxter, 1999). Cependant, elle n'a jamais été isolée du genre *Psiadia*.

Concernant **PDE 10**, l'analyse des données spectrales a permis l'identification de la 5-hydroxy-3,6,7,4'-tétraméthoxyflavone ou pendulétine 4'-méthyl éther. Les données spectrales de **PDE 10** sont en accord avec les données publiées pour cette molécule en 2006 par Paula *et al.* (**Tableau XXX - Annexe VIII. 8. - Tome II - page 144**).



Pendulétine 4'-méthyl éther **(PDE 10)**

Isolée pour la première fois des feuilles et des branches de *Dodonaea lobulata (Sapindaceae)* (Dawson *et al.*, 1966), la pendulétine 4'-méthyl éther a également été retrouvée dans les feuilles de *Perityle vaseyi (Asteraceae)* (Southwick *et al.*, 1972) et dans plusieurs plantes telles que les parties aériennes de *Ballota inaequidens (Lamiaceae)* (Çitoğlu *et al.*, 2005) et les feuilles de *Callicarpa longissima (Verbenaceae)* (Liu *et al.*, 2012). Elle a été isolée pour la première fois du genre *Psiadia* en 1991 dans les feuilles de l'espèce *P. punctulata* (Abou-Zaid *et al.*, 1991).

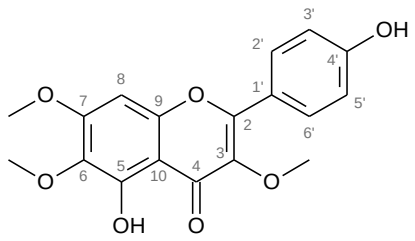
- **Élucidation structurale du métabolite PDE 12**

Les données spectrales du métabolite **PDE 12** sont présentées en **Annexe VIII. 10. - Tome II - pages 152-155**.

Le composé **PDE 12** a été isolé sous forme de poudre jaune. Sa formule moléculaire $C_{18}H_{16}O_7$ a été déterminée à partir de son spectre SMHR en mode ESI^+ révélant un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 345,0960 (valeur calculée : *m/z* 345,0969). Le nombre d'insaturations calculé à partir de cette formule brute est de 11.

L'étude du spectre RMN ^1H du composé **PDE 12** révèle la présence de 5 protons aromatiques H-8 (δ_{1H} 6,50), H-2' et H-6' (δ_{1H} 8,04), H-3' et H-5' (δ_{1H} 6,97) et 3 groupes méthoxy en 3 (δ_{1H} 3,86), en 6 (δ_{1H} 3,92) et en 7 (δ_{1H} 3,96).

L'ensemble des données spectrales RMN 1D et 2D a conduit à l'élucidation structurale de **PDE 12** comme étant la 5,4'-dihydroxy-3,6,7-triméthoxyflavone, appelée aussi pendulétine. La comparaison des déplacements chimiques ^1H et ^{13}C avec ceux du même composé dans la littérature (Bai *et al.*, 2010) a permis de confirmer cette hypothèse de structure (**Tableau XXXII - Annexe VIII. 10. - Tome II - page 152**).



Pendulétine **(PDE 12)**

La pendulétine, après avoir été isolée pour la première fois en 1957 de *Brickelia pendula (Asteraceae)* (Flores & Herrán, 1958a), a été synthétisée par le même équipe (Flores *et al.*, 1958b). Elle a également été isolée à partir d'autres plantes à savoir des feuilles de *Flourencia cernua (Asteraceae)* (Dillon *et al.*, 1976), des parties aériennes d'*Artemisia arbuscula (Asteraceae)* (Wollenweber & Dietz, 1980) et de *Dracocephalum multicaule (Lamiaceae)* (Oganesyan & Mnatsakanyan, 1992). Cependant, elle n'a jamais été isolée des espèces du genre *Psiadia*.

- **Élucidation structurale des métabolites PDE 13 et PDE 14**

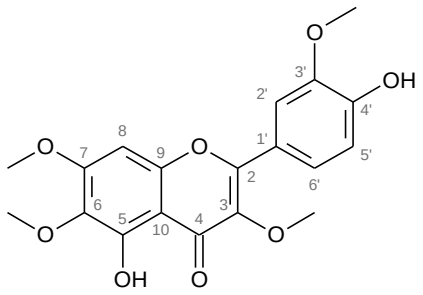
Les données spectrales des métabolites **PDE 13** et **PDE 14** sont présentées en **Annexe VIII. 11. - Tome II - pages 156-160**.

Les métabolites **PDE 13** et **PDE 14** ont été obtenus en mélange sous forme de poudre blanche. L'étude du spectre SMHR du mélange obtenu en mode ESI^+ a permir d'établir la formule moléculaire

$C_{19}H_{18}O_8$ soit 11 insaturations. En effet, son sepctre SMHR indique la présence d'un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ unique à *m/z* 375,1076 (valeur calculée : *m/z* 375,1074).

La présence des deux composés a été décelée grâce au dédoublement de signaux observé sur le spectre RMN ^{1}H. L'intensité relative des signaux a permis de déterminer les proportions relatives des métabolites constituant le mélange à savoir 65 : 35, respectivement pour **PDE 13** et **PDE 14**.

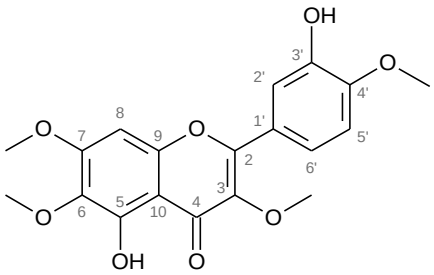
Concernant le métabolite **PDE 13**, l'analyse des spectres RMN et la comparaison de ces données avec celles de la littérature (Numonov *et al.*, 2013) a permis d'attribuer à **PDE 13** la structure de la 5,4'-dihydroxy-3,6,7,3'-tétraméthoxyflavone communément appelée chrysosplénétine (**Tableau XXXIII - Annexe VIII. 11. - Tome II - page 156**).



Chrysosplénétine **(PDE 13)**

Isolée pour la première fois des feuilles de *Lepidophyllum quadrangulaire (Asteraceae)* (Bohm & Stuessy, 2001), la chrysosplénétine a également été identifiée dans d'autres plantes telles que les feuilles de *Parthenium sp. (Asteraceae)* (Rodriguez, 1977), les feuilles de *Digitalis thapsi (Plantaginaceae)* (Teresa *et al.*, 1980) et les fleurs de *Chamomilla recutita (Asteraceae)* (Repčák *et al.*, 1999). Cette molécule est signalée pour la première fois pour le genre *Psiadia*.

Concernant le métabolite **PDE 14**, l'étude des spectres RMN et l'analyse comparative avec les données de la littérature (Brown *et al.*, 2003) mènent à la structure de la 5,3'-dihydroxy-3,6,7,4'-tétraméthoxyflavone ou la casticine. Le **Tableau XXXIV - Annexe VIII. 11. - Tome II - page 157** résume les données RMN du composé **PDE 14**.



Casticine **(PDE 14)**

La casticine a été retrouvée pour la première fois par M. Malet en 1903 dans les fruits de *Vitex agnus castus (Lamiaceae)* (Hörhammer *et al.*, 1964). Ensuite, elle a été trouvée plus tard dans les espèces *Vitex trifolia* et *Vitex negundo* (Sirait *et al.*, 1962) ainsi que dans six autres espèces du genre *Vitex* (Chan *et al.*, 2018). On l'a retrouvée aussi dans les feuilles de *Parthenium sp. (Asteraceae)* (Rodriguez, 1977) et dans les feuilles de quelques espèces du genre *Brickellia (Asteraceae)* (Roberts *et al.*, 1980 ; Timmermann *et al.*, 1979). En 1989, l'équipe de Wang a isolé la casticine des feuilles de *Psiadia trinervia* (Wang *et al.*, 1989).

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 15**

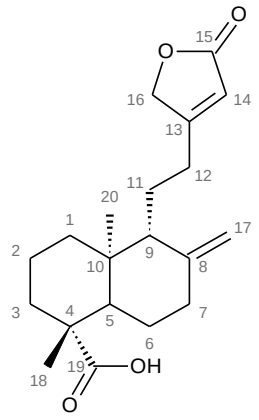
Les données spectrales du métabolite **PDE 15** sont présentées en **Annexe VIII. 12. - Tome II - pages 161-164**.

Le métabolite **PDE 15** se présente sous la forme d'une huile incolore. Son spectre SMHR en mode ESI^+ présente un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ de masse *m/z* 333,2062, soit une formule moléculaire $C_{20}H_{28}O_4$. La valeur théorique calculée pour cet ion est *m/z* 333,2060. À partir de cette formule brute, il a été déduit que le composé **PDE 15** possède 7 insaturations.

Le spectre RMN ^{1}H de **PDE 15** a mis en évidence la présence d'un squelette labdane caractérisé par les déplacements chimiques des protons H-1 à H-3, H-5 à H-7 et H-9 entre δ_{1H} 1,14 et 2,38, d'un groupe méthylidène H-17 (δ_{1H} 4,48 et 4,90), de deux groupements méthyles en position 4 (δ_{1H} 0,73) et 10 (δ_{1H} 1,16) et de trois protons d'un cycle lactonique H-14 (δ_{1H} 5,86) et H-16 (δ_{1H} 4,70 et 4,75).

Le spectre RMN ^{13}C montre la présence de 10 atomes de carbone caractéristiques d'un squelette labdane à savoir C-1 (δ_{13C} 38,6), C-2 (δ_{13C} 18,5), C-3 (δ_{13C} 37,1), C-4 (δ_{13C} 47,5), C-5 (δ_{13C} 49,7), C-6 (δ_{13C} 26,9), C-7 (δ_{13C} 37,9), C-8 (δ_{13C} 147,3), C-9 (δ_{13C} 56,4) et C-10 (δ_{13C} 39,2), d'un carbone du groupe methylidène en C-8, de trois groupements méthylènes C-11 (δ_{13C} 21,3), C-12 (δ_{13C} 27,6) et C-16 (δ_{13C} 73,3), d'un carbone éthylénique C-14 (δ_{13C} 115,3), de deux groupements méthyles en 4 (δ_{13C} 14,8) et 10 (δ_{13C} 16,5) et de carbone d'une fonction lactone C-15 (δ_{13C} 174,1) et d'une fonction acide C-19 (δ_{13C} 182,9).

L'ensemble des données spectrales RMN 1D et 2D a permis d'identifier un diterpène de squelette labdane relié à un cycle γ-lactone α,β-insaturé en 12. L'hypothèse de structure obtenue correspond à l'acide *ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olid-19-oïque. La comparaison des données spectrales RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 15** aux données de la littérature (Zdero *et al.*, 1990a) a permis de confirmer sa structure (**Tableau XXXV - Annexe VIII. 12. - Tome II - page 161**).



Acide *ent*-8(17),13-labdadién-15,16-olid-19-oïque **(PDE 15)**

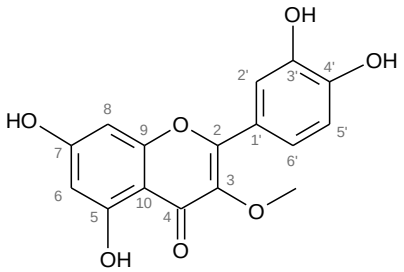
Isolé pour la première fois par Henrick en 1965 de *Ricinicarpos muricatus (Euphorbiaceae)* (Maniruddin & Ahmed, 1990), l'acide *ent*-8(17),13-labdadién-15,16-olid-19-oïque a également été retrouvé dans les parties aériennes de *Brickellia california (Asteraceae)* (Zdero *et al.*, 1990b) et dans quelques espèces du genre *Conyza (Asteraceae)* (Maniruddin & Ahmed, 1990 ; Zdero *et al.*, 1990a).

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 21**

Les données spectrales du métabolite **PDE 21** sont présentées en **Annexe VIII. 17. - Tome II - pages 185-188**.

Le métabolite **PDE 21** pur a été obtenu sous la forme d'une poudre jaune. Sa formule moléculaire $C_{16}H_{12}O_7$ a été établie à partir de son spectre SMHR, réalisé en mode ESI$^+$, indiquant un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 317,0649 (valeur calculée : *m/z* 317,0656). De cette formule, on en déduit 11 insaturations.

Par ailleurs, les données de la RMN ^{1}H et de la RMN ^{13}C du composé **PDE 21** étaient en tout point comparables à celles de la 5,7,3',4'-tétrahydroxy-3-méthoxyflavone, appelée aussi 3-*O*-méthylquercétine (Morales *et al.*, 2006) (**Tableau XL - Annexe VIII. 17. - Tome II - page 185**).



3-*O*-méthylquercétine **(PDE 21)**

La 3-*O*-méthylquercétine a été isolée pour la première fois en 1960 dans les fleurs de tabac *Nicotiana tabacum* (*Solanaceae*) (Yang *et al.*, 1960). Sa présence a également été signalée dans les

feuilles de tabac *Nicotiana tabacum* (*Solanaceae*) (Schwingel *et al.*, 2014 ; Watanabe & Wender, 1965) et dans plusieurs plantes telles que les feuilles d'*Aegialitis annulata (Plumbaginaceae)* (Harborne, 1967) et les fleurs de *Neopoerteria sp. (Cactaceae)* (Iwashina *et al.*, 1984). Dans la famille des *Asteraceae*, elle a également été signalée dans les parties aériennes de *Vernonia cinerea* et *V. patens* (Wagner *et al.*, 1972), d'*Eupatorium capillifolium* et d'*E. perfoliatum* (Herz *et al.*, 1972). Elle a déjà été isolée des feuilles de *P. trinervia (Asteraceae)*, une espèce du genre *Psiadia* endémique de Maurice (Wang *et al.*, 1989) et a été utilisée comme témoin pour l'évaluation des activités antivirales de quelques composés isolés de *P. dentata* (Robin *et al.*, 2001).

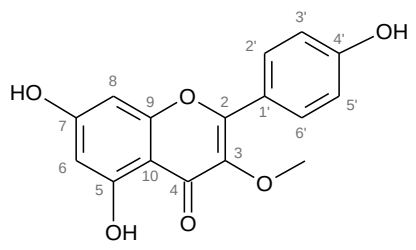
- **Élucidation structurale du métabolite PDE 22**

Les données spectrales du métabolite **PDE 22** sont présentées en **Annexe VIII. 18. - Tome II - pages 189-191**.

Le composé **PDE 22** a été isolé sous forme d'une poudre jaune. Sa formule moléculaire $C_{16}H_{12}O_6$ a été établie par ESI^+ - SMHR à partir de la molécule protonée $[M+H]^+$ à *m/z* 301,0723 (valeur calculée : *m/z* 301,0707). Le nombre d'insaturations déduit s'élève à 11.

Les données spectrales RMN ^1H et ^{13}C sont très proches de celles de **PDE 4** identifié précédemment comme étant l'ermanine. On retrouve les 6 protons aromatiques H-6 (δ_{1H} 6,28), H-8 (δ_{1H} 6,28), H-2' et H-6' (δ_{1H} 8,02) et H-3' et H-5' (δ_{1H} 6,96). Cependant pour **PDE 22**, un seul groupe méthoxy positionné en 3 (δ_{1H} 3,87) a été observé.

L'ensemble des données spectrales permet d'identifier le composé **PDE 22** comme étant l'isokaempféride. Cette structure a été confirmée par la comparaison du spectre RMN ^1H et ^{13}C de ce produit avec celui de la littérature (Bianchi *et al.*, 2019) (**Tableau XLI - Annexe VIII. 18. - Tome II - page 189**).



Isokaempféride **(PDE 22)**

Isolé pour la première fois des racines d'*Alpinia galanga (Zinginberaceae)* (Jahns, 1881), l'isokaempféride a aussi été isolé dans plusieurs plantes telles que les feuilles de *Pityrogramma triangularis* var. *triangularis (Pteridaceae)* (Smith, 1980) et les parties aériennes de *Dracocephalum multicaule (Lamiaceae)* (Oganesyan & Mnatsakanyan, 1992). Il a également été trouvé dans la famille des *Asteraceae*, notamment dans les feuilles de *Chrysothamnus viscidiflorus* (Urbatsch *et al.*, 1975),

d'*Ericameria diffusa* (Urbatsch *et al.*, 1976) et d'*Eupatorium tenuifolium* (Moreno *et al.*, 1980). L'étude phytochimique des feuilles de *P. trinervia* (Wang *et al.*, 1989), de *P. terebinthina* (Marie *et al.*, 2006) et de *P. dentata* (Robin *et al.*, 1998) ont également conduit à l'isolement de ce composé.

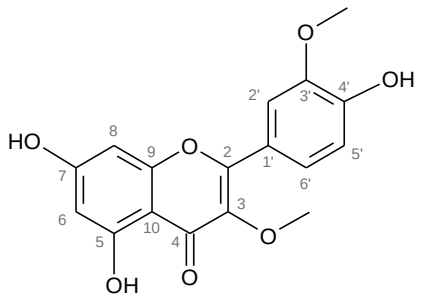
- **Élucidation structurale du métabolite PDE 23**

Les données spectrales du métabolite **PDE 23** sont présentées en **Annexe VIII. 19. - Tome II - pages 192-195**.

Le métabolite **PDE 23** a été obtenu sous forme d'une poudre jaune. Sa formule moléculaire $C_{17}H_{14}O_7$ a été attribuée sur la base de son spectre SMHR obtenu en mode ESI^+ indiquant la présence d'un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 331,0810 (valeur calculée : *m/z* 331,0812). Le nombre d'insaturations calculé à partir de cette formule moléculaire est égal à 11.

Cinq groupes de protons aromatiques H-6 (δ_{1H} 6,28), H-8 (δ_{1H} 6,41), H-2' (δ_{1H} 7,05), H-5' (δ_{1H} 7,67) et H-6' (δ_{1H} 7,70) et deux groupes méthoxy positionnés en 3 (δ_{1H} 3,86) et en 3' (δ_{1H} 3,98) ont été observées sur le spectre RMN ^{1}H de **PDE 23**.

Les données spectrales de **PDE 23** et la comparaison des spectres RMN ^{1}H et ^{13}C avec les données de la littérature (Wang *et al.*, 2010) (**Tableau XLII - Annexe VIII. 19. - Tome II - page 192**) ont permis d'attribuer à **PDE 23** la structure de la 5,7,4'-trihydroxy-3,3'-diméthoxyflavone, communément appelée 3,3'-di-*O*-méthylquercétine.



3,3'-di-*O*-méthylquercétine **(PDE 23)**

La 3,3'-di-*O*-méthylquercétine a été isolée pour la première fois, avec la 3-*O*-méthylquércétine (**PDE 21**) des fleurs de tabac *Nicotiana tabacum (Solanaceae)* (Yang *et al.*, 1960). Elle a également été retrouvée dans plusieurs plantes comme les bourgeons de l'espèce *Aesculus hippocastanum (Sapindaceae)* (Wollenweber & Egger, 1970), les parties aériennes d'*Artemesia heptapotamica (Asteraceae)* (Nedel'ko & Nikonov, 1987) et les inflorescences de *Cyperus alopecuroides (Cyperaceae)* (Nassar *et al.*, 2002). En 1989, ce composé a été isolé pour la première fois du genre *Psiadia*, notamment dans les feuilles de *P. trinervia (Asteraceae)* (Wang *et al.*, 1989).

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 24**

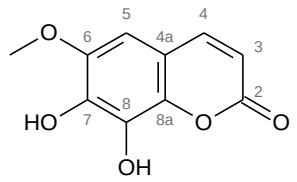
Les données spectrales du métabolite **PDE 24** sont présentées en **Annexe VIII. 20. - Tome II - pages 196-201**.

Le métabolite **PDE 24** a été obtenu en mélange avec **PDE 25** sous forme d'une poudre jaune pâle. Le spectre SMHR en mode ESI^+ du mélange a permis d'attribuer :

- une formule moléculaire $C_{10}H_8O_5$ pour **PDE 24** à partir de l'ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 209,0455 (valeur calculée : *m/z* 209,0445), soit 7 insaturations.
- une formule moléculaire $C_{15}H_{16}O_5$ pour **PDE 25** à partir de l'ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 277,1083 (valeur calculée : *m/z* 277,1071), soit 8 insaturations.

Le dédoublement de signaux observé sur le spectre RMN ^1H confirme la présence de deux composés en mélange. À partir des intensités relatives de ces signaux dédoublés, la proportion respective 65 : 35 entre les deux composés **PDE 24** et **PDE 25** a pu être évaluée.

Concernant le métabolite **PDE 24**, l'étude des données spectrales et la comparaison des données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de ce composé avec les données de la littérature (Yang *et al.*, 2017) (**Tableau XLIII - Annexe VIII. 20. - Tome II - page 196**) permet d'attribuer à **PDE 24** la structure de la fraxétine.



Fraxétine **(PDE 24)**

Isolée pour la première fois en 1857 de l'écorce de *Fraxinus excelsior (Oleaceae)* (Wessely & Demmer, 1928), la fraxétine a également été isolée de plusieurs plantes comme les écorces de la tige de *Jatropha podagrica (Euphorbiaceae)* (Minh *et al.*, 2019) et tous les organes de l'espèce *Echites hirsuta (Apocynaceae)* (Chien *et al.*, 1979). Elle a été retrouvée dans quelques espèces de la famille des *Asteraceae* telles que les fleurs, les tiges et les racines de *Rhanterium suaveolens* (Hitana *et al.*, 2019), la plante entière d'*Ajania salicifolia* (Shi *et al.*, 2017) et les parties aériennes de *Tanacetum alyssifolium* (Altay *et al.*, 2020). La fraxétine n'a jamais été isolée des espèces du genre *Psiadia*.

Concernant le métabolite **PDE 25**, de structure nouvelle, son élucidation structurale a été décrite au paragraphe III. 5. 2. - page 200.

III. 3. 5. 2. Métabolites spécialisés nouveaux

L'élucidation structurale des 10 composés nouveaux est détaillée ci-après.

- **Élucidation structurale des métabolites PDE 2 et PDE 3**

Les données spectrales des métabolites **PDE 2** et **PDE 3** sont présentées en **Annexe VIII. 2. - Tome II - pages 120-124**.

Les composés **PDE 2** et **PDE 3** ont été obtenus en mélange sous forme d'une poudre jaune. Leur formule moléculaire $C_{25}H_{36}O_6$ a été établie après une étude du spectre SMHR du mélange obtenu en mode ESI^+, indiquant la présence d'un ion pseudomoléculaire unique $[M+H]^+$ à *m/z* 433,2588 (valeur calculée : *m/z* 433,2585). Le nombre d'insaturations calculé à partir de cette formule brute est de 8.

L'analyse du spectre IRTF du mélange a montré par ailleurs des bandes d'absorptions maximales à 2925,27 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2853,41 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1757,45 cm^{-1} (C=O conjugué) ; 1645,63 cm^{-1} (C=C conjugué) et 1260,23 cm^{-1} (C-C).

La présence d'un mélange 50 : 50 de deux diastéréoisomères n'a été en réalité détectée qu'à partir du dédoublement des signaux sur le spectre RMN ^{13}C. La proportion 50 : 50 a été évaluée à partir de l'intensité relative des signaux observés.

L'étude des spectres RMN ^1H et RMN ^{13}C a permis de mettre en évidence, dans un premier temps, la présence d'une structure diterpénique de type labdane grâce aux déplacements chimiques caractéristiques suivants : C-1 (δ_{13C} 36,8 ; δ_{1H} 1,29 et 1,82), C-2 (δ_{13C} 24,4 ; δ_{1H} 1,73 et 1,91), C-3 (δ_{13C} 74,3 ; δ_{1H} 4,97), C-4 (δ_{13C} 42,9), C-5 (δ_{13C} 46,0 et 46,1 ; δ_{1H} 1,74), C-6 (δ_{13C} 23,3 ; δ_{1H} 1,37 et 1,75), C-7 (δ_{13C} 37,6 ; δ_{1H} 2,08 et 2,39), C-8 (δ_{13C} 147,2 et 147,3), C-9 (δ_{13C} 55,9 et 56,1 ; δ_{1H} 1,75) et C-10 (δ_{13C} 39,2). Ce diterpène est par ailleurs substitué par un méthyle en C-10 et disubstitué en C-4 (Souza *et al.*, 2015). Le déplacement chimique, déblindé, du proton H-3 (δ_{1H} 4,97) indique en outre qu'il est lié à un atome d'oxygène.

Sur le spectre RMN ^1H, des signaux singulets H-17 (δ_{1H} 4,51 et 4,89), typiques d'un groupe méthylidène ont également été observés. La corrélation hétéronucléaire ^1H-^{13}C HMBC entre ces protons H-17 et les carbones C-7 (δ_{13C} 37,6), C-8 (δ_{13C} 147,3) et C-9 (δ_{13C} 56,1) a permis de lier ce groupe au carbone C-8.

L'enchaînement carboné proposé (**Figure 78**) a été confirmé par l'ensemble des corrélations ^1H-^1H COSY et ^1H-^{13}C HMBC.

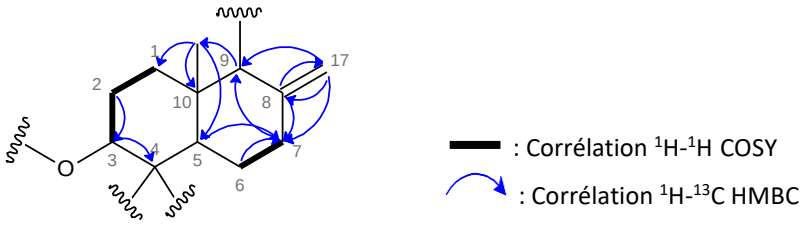


Figure 78 : Corrélations COSY et HMBC clés du squelette labdane de **PDE 2** et **PDE 3**.

Dans un second temps, deux groupes méthyles vinyliques H-4' (δ_{1H} 1,98) et H-5' (δ_{1H} 1,87) et un méthyne d'éthylène H-3' (δ_{1H} 6,12) ont été observés sur le spectre RMN ^{1}H. Les protons H-4' montrent une corrélation homonucléaire ^{1}H-^{1}H COSY avec le proton H-3'. Ceci caractérise un résidu angéloyle (Murakami *et al.*, 2000 ; Zhang & Li, 2007). Cette structure est également confirmée par la corrélation ^{1}H-^{13}C HMBC entre les protons H-5' (δ_{1H} 1,87) et les carbones C-1' (δ_{13C} 169,3), C-2' (δ_{13C} 127,7) et C-3' (δ_{13C} 139,5) ainsi qu'entre les protons H-4' (δ_{1H} 1,98) et ces mêmes carbones (**Figure 79**).

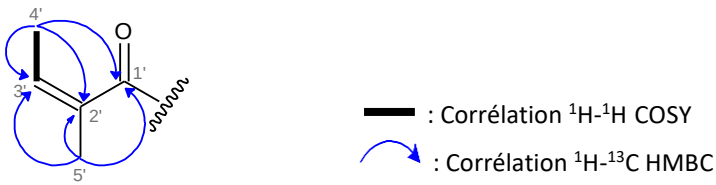


Figure 79 : Corrélations COSY et HMBC clés du motif angéloyle de **PDE 2** et **PDE 3**.

Les corrélations hétéronucléaires ^{1}H-^{13}C HMBC entre le proton H-3 (δ_{1H} 4,97) et le carbone C-1' (δ_{13C} 169,3) permettent de relier le groupe angéloyle à l'oxygène porté par C-3 (**Figure 82**).

Par ailleurs, H-3 montre des corrélations avec les carbones C-18 (δ_{13C} 13,0) (groupe méthyle) et C-19 (δ_{13C} 64,5) (groupement méthylène) ; de même, H-18 (δ_{1H} 0,68) et H-19 (δ_{1H} 2,91 et 3,36) sont corrélés au carbone C-4 (δ_{13C} 42,9) (**Figure 80**). Enfin, les signaux des protons méthyléniques reliés au carbone C-19 (δ_{13C} 64,5) sont déblindés, ce qui signifie qu'ils sont liés à un oxygène. Ce qui conduit à la structure ci-après.

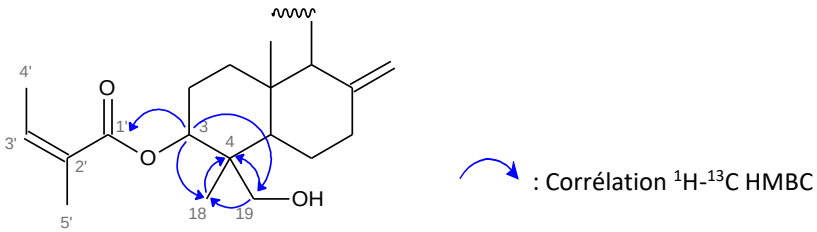


Figure 80 : Positions respectives des groupes méthyle, hydroxyméthyle et angéolyle sur le squelette labdane de **PDE 2** et **PDE 3**.

Dans un troisième temps, les corrélations ^{1}H-^{13}C HMBC entre les protons H-14 et H-16 résonant respectivement à δ_{1H} 5,86 et 5,97 sous forme de singulet et les carbones C-14, C-15 et C-16

résonant respectivement à δ_{13C} 117,3 ; 170,2 et 99,4 ont été étudiées. Ainsi, les corrélations observées entre le proton H-14 et les carbones C-15 et C-16 et entre le proton H-16 et les carbones C-14 et C-15 ont permis d'établir un cycle buténolide substitué en β (**Figure 81**). Le déplacement chimique du carbone C-16 (δ_{13C} 99,4) indique en outre la présence d'un second groupement hydroxyle sur ce carbone.

Enfin, le spectre RMN ^{1}H montre deux groupes de protons résonant entre 1,68-1,80 ppm (H-11) et 2,34-2,52 ppm (H-12). Il s'agit de groupements méthylènes. Les corrélations homonucléaires ^{1}H-^{1}H COSY entre le proton H-9 (δ_{1H} 1,75) et H-11 et entre les protons H-11 et H-12 indiquent l'enchaînement des carbones C-9, C-11 et C-12. En outre, les protons H-12 corrèlent avec le carbone C-14 (δ_{13C} 117,3) du cycle buténolide. Sachant que le carbone C-13 (δ_{13C} 171,4) est quaternaire, le cycle hydroxybuténolide est donc rattaché au carbone C-12. L'enchaînement du motif proposé est représenté dans la **figure 81**.

À noter toutefois que la stéréochimie du squelette labdane rattaché au motif angéloyle est discutée dans le paragraphe III. 3. 6. - page 192. Comme cette configuration est bien définie et que la majorité des signaux dédoublés observés sur le spectre RMN ^{13}C se trouve sur le cycle buténolide, il est fort probable que les deux diastéréoisomères **PDE 2** et **PDE 3** ne se distinguent que par la stéréochimie du carbone asymétrique C-16 c'est-à-dire la position du groupe hydroxyle en *R* ou *S*.

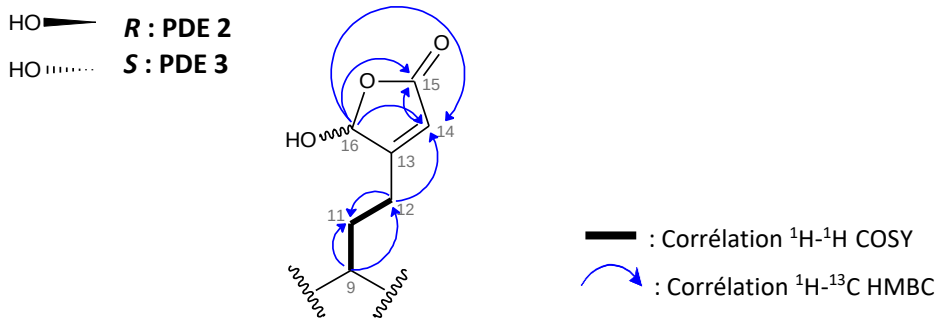
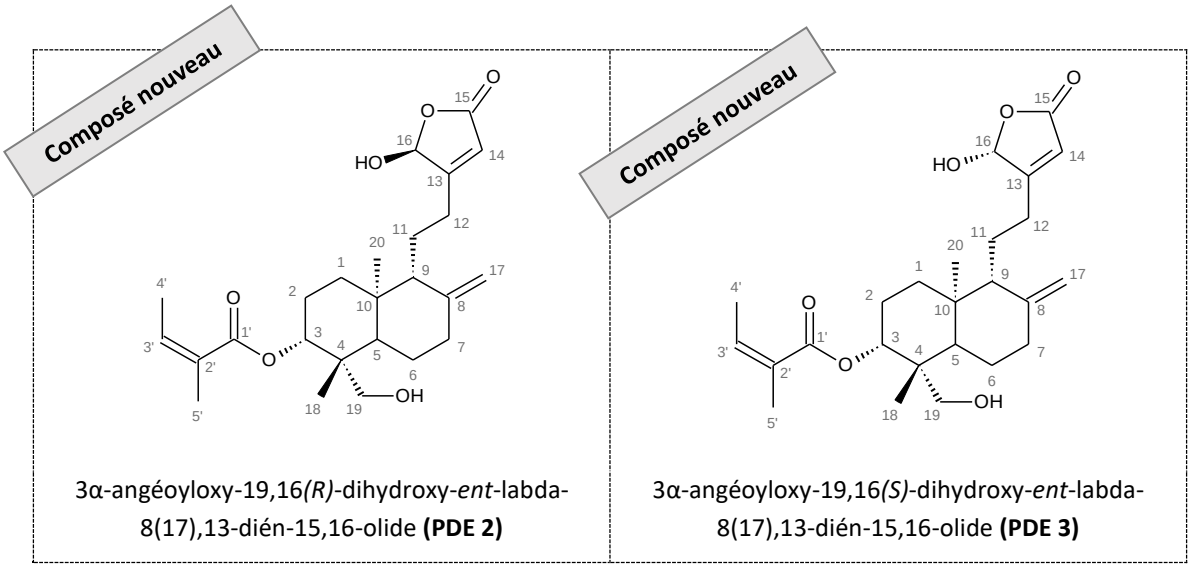


Figure 81 : Corrélations COSY et HMBC clés du motif buténolide de **PDE 2** et **PDE 3**.

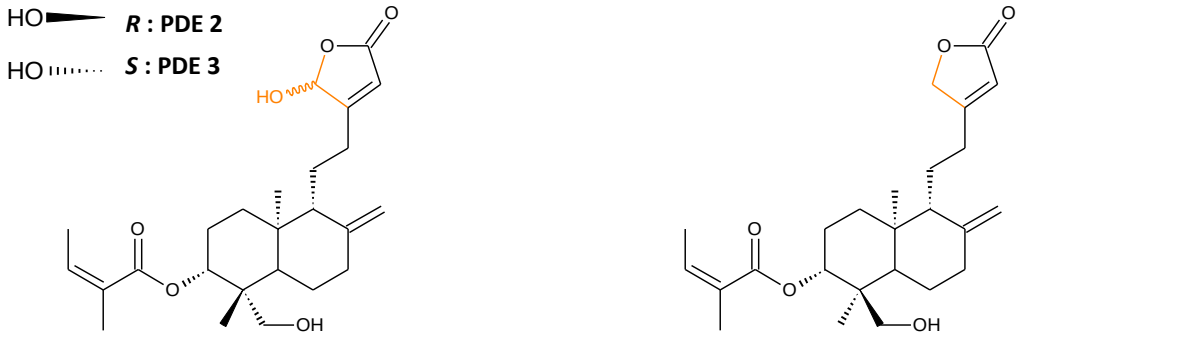
Par conséquent, l'ensemble des données spectrales analysées a permis d'identifier les composés **PDE 2** et **PDE 3** comme étant le 3α-angéoyloxy-19,16*(R)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide et le 3α-angéoyloxy-19,16*(S)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide. Il s'agit de deux nouvelles structures.



3α-angéoyloxy-19,16*(R)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide **(PDE 2)**

3α-angéoyloxy-19,16*(S)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide **(PDE 3)**

Il est à noter que la comparaison des données spectrales RMN ^{1}H et ^{13}C de ces composés aux données antérieures (**Tableau XXIII - Annexe VIII. 2. - Tome II - page 121**) a mis en évidence des similitudes avec le diterpène 3α-angéoyloxy-19-hydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide (**Figure 82**) de formule brute $C_{25}H_{36}O_5$. Ce composé a été isolé des parties aériennes de *Gutierrezia solbrigii (Asteraceae)* (Jakupovic *et al.*, 1985). Les structures des composés **PDE 2** et **PDE 3** diffèrent de celle du composé isolé par Jakupovic et son équipe au niveau du carbone C-16. Alors que ce dernier est rattaché à une fonction hydroxyle pour les composés **PDE 2** et **PDE 3**, il correspond à un méthylène pour le 3α-angéoyloxy-19-hydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide.



PDE 2 et **PDE 3**

3α-angéoyloxy-19-hydroxy-*ent*-labd-8(17),13-dién-15,16-olide

Figure 82 : Structures des composés **PDE 2** et **PDE 3** (gauche) et du 3α-angéoyloxy-19-hydroxy-*ent*-labd-8(17),13-dién-15,16-olide (droite).

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 5**

Les données spectrales du métabolite **PDE 5** sont présentées en **Annexe VIII. 4. - Tome II - pages 129-133**.

Le composé **PDE 5** a été isolé sous forme d'une pâte blanche. Sa formule brute $C_{22}H_{34}O_5$ a été obtenue à partir de son spectre SMHR en mode ESI^+ révélant un ion pseudomoléculaire à $[M+H]^+$ à *m/z* 379,2486 (valeur calculée : *m/z* 379,2400), soit 6 insaturations.

L'analyse du spectre IRTF du composé **PDE 5** a montré des bandes d'absorptions maximales à 3305,19 cm^{-1} (O-H d'une fonction acide) ; 2962,95 cm^{-1} (CH_3 asymétrique) ; 2922,93 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2853,19 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1714,84 cm^{-1} (C=O) et 1260,58 cm^{-1} (C-C).

Le composé **PDE 5** présente des spectres RMN ^1H et ^{13}C mono- et bidimensionnels (COSY, HSQC, HMBC et NOESY) similaires à ceux des composés **PDE 2** et **PDE 3** identifiés précédemment. En effet, on retrouve les déplacements chimiques caractéristiques du squelette labdane, substitué en C-3 par le groupe angéloyle, en C-4 (δ_{13C} 43,5) par un groupe méthyle et hydroxyméthyle, substitué en C-8 (δ_{13C} 147,4) par un groupe méthylène exocyclique et en C-10 (δ_{13C} 39,2) par un groupe méthyle. On retrouve aussi le motif linéaire liant C-9, C-11 et C-12.

La différence entre **PDE 5** et les deux diastéréoisomères **PDE 2** et **PDE 3** se situe au niveau du carbone C-12. Sur le spectre ^1H-^{13}C HMBC, les protons H-11 (δ_{1H} 1,68 et 1,90) et les protons H-12 (δ_{1H} 2,32 et 2,53) corrèlent avec le carbone C-13 dont le déplacement chimique δ_{13C} 177,2 est caractéristique d'une fonction carbonyle. Aucune autre tâche de corrélation n'a été observée pour ce carbone. En tenant en compte de la présence des vibrations OH à 3305,19 cm^{-1} et C=O à 1714,84 cm^{-1}, de la formule brute $C_{22}H_{34}O_5$ du composé et de l'ensemble des atomes déjà utilisés pour l'enchainement de la structure, nous en déduisons que le carbone C-12 est lié à un acide carboxylique (**Figure 83**).

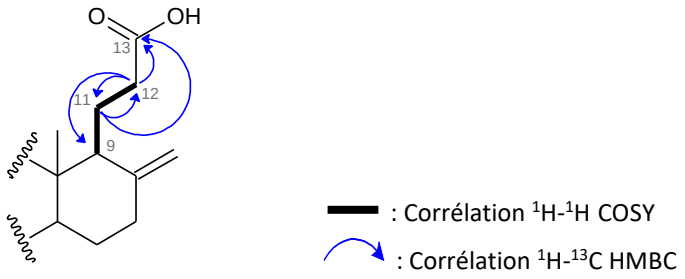
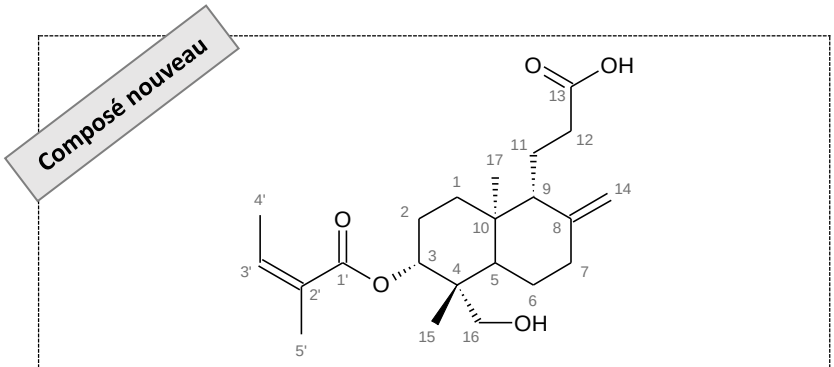


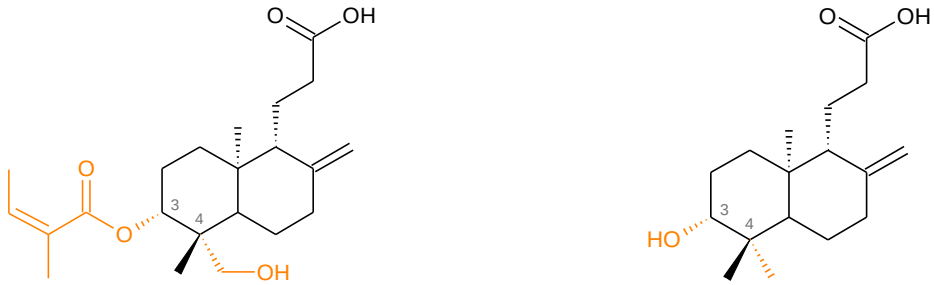
Figure 83 : Corrélations COSY et HMBC clés du motif lié à C-9 du composé **PDE 5**.

Les données spectrales obtenues ont permis d'attribuer au composé **PDE 5** la structure de l'acide 3α-angéoyloxy-16-hydroxy-*ent*-labda-8(17)-én-13-oïque. Il s'agit d'un composé nouveau. Sa stéréochimie est discutée dans le paragraphe III. 3. 6. - page 192.



Acide 3α-angéoyloxy-16-hydroxy-*ent*-labda-8(17)-én-13-oïque **(PDE 5)**

Une comparaison des données spectrales RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 5** aux données de la littérature (**Tableau XXV - Annexe VIII. 4. - Tome II - page 130**) a mis en évidence des similitudes en partie avec la structure de l'acide 3α-hydroxy-*ent*-labd-8(17)-én-13-oïque (**Figure 84**), un composé intermédiaire obtenu lors de la synthèse du Négundoine A (Tapia *et al.*, 2014). La différence relevée entre ces deux composés concerne les motifs rattachés à C-3 et C-4. Alors que le carbone C-3 est lié à un groupe hyxdroxy et que le carbone C-4 est substitué par deux groupements méthyles pour le dérivé de l'acide 3α-hydroxy-*ent*-labd-8(17)-én-13-oïque, ces mêmes carbones sont rattachés respectivement au groupement angéloyle et aux groupements méthyle et hydroxyméthyle pour **PDE 5**.



PDE 5 **Acide 3α-hydroxy-*ent*-labd-8(17)-én-13-oïque**

Figure 84 : Structures du composé **PDE 5** (gauche) et de l'acide 3α-hydroxy-*ent*-labd-8(17)-én-13-oïque (droite).

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 11**

Les données spectrales du métabolite **PDE 11** sont présentées en **Annexe VIII. 9. - Tome II - pages 147-151**.

Le métabolite **PDE 11** a été obtenu en mélange avec **PDE 10** et un autre dérivé de diterpène *ent*-labdane. Ils ont été obtenus sous la forme d'une huile blanche. Le spectre SMHR en mode ESI^{+} de **PDE 11** a révélé un ion pseudomoléculaire $[M+NH_4]^{+}$ à *m/z* 420,3108 correspondant à une formule moléculaire $C_{25}H_{38}O_4$, soit 7 insaturations. La valeur théorique calculée pour cet ion est *m/z* 420,3109.

L'analyse du spectre IRTF du composé **PDE 11** a montré des bandes d'absorptions maximales à 2961,09 cm^{-1} (CH_3 asymétrique) ; 2923,93 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2854,03 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1733,22 cm^{-1} (C=O conjugué) ; 1672,80 cm^{-1} (C=C conjugué) ; 1259,70 cm^{-1} (C-C) ; 1021,50 cm^{-1} (C-O) et 797,63 cm^{-1} (C-H aromatique).

La présence de 3 composés en mélange a été détectée grâce au détriplement de signaux observés sur le spectre RMN ^{1}H. L'intensité relative des signaux observés a permis d'évaluer leurs proportions relatives, à savoir 43 : 39 : 18 respectivement pour **PDE 11**, **PDE 10** et un autre dérivé de diterpène *ent*-labdane qui n'a pas pu être identifié.

L'étude des spectres RMN ^{1}H et ^{13}C du composé **PDE 11** a mis en évidence plusieurs signaux similaires à ceux observés pour les composés **PDE 2** et **PDE 3** identifiés précédemment. Il s'agit des signaux caractéristiques du squelette labdane, du groupe angéloyle, du groupe méthylène exocyclique en C-8 et du motif linéaire C-9, C-11 et C-12. Les corrélations des spectres RMN ^{1}H-^{1}H COSY et ^{1}H-^{13}C HMBC pour ces signaux permettent de confirmer la partie de la structure de **PDE 11** identique à celle des composés **PDE 2** et **PDE 3** (**Figure 85**).

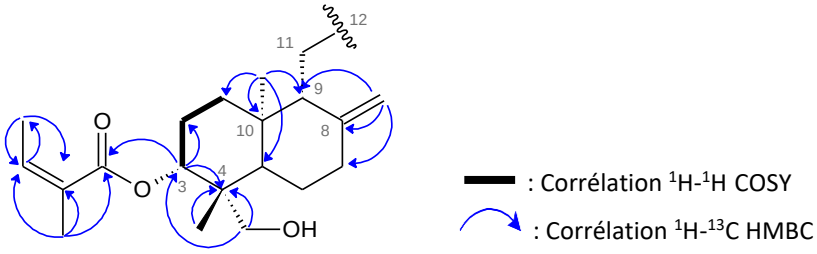


Figure 85 : Corrélations COSY et HMBC clés du squelette labdanique et du motif angéloyle de **PDE 11**.

La différence entre les structures de **PDE 11** et des deux diastéréoisomères **PDE 2** et **PDE 3** concerne le motif lié au carbone C-12. Le spectre RMN ^{1}H montre la présence supplémentaire de protons d'un groupe méthyle H-16 (δ_{1H} 2,22), d'un proton H-15 fortement déblindé à δ_{1H} 9,96 correspondant à une fonction aldéhyde et d'un proton éthylénique H-14 (δ_{1H} 5,83) couplant à 8,2 Hz avec le proton aldéhydique.

Les corrélations hétéronucléaires ^{1}H-^{13}C HMBC entre les protons H-16 (δ_{1H} 2,22) et les carbones C-14 (δ_{13C} 128,1), C-15 (δ_{13C} 193,6) (faible corrélation) et C-12 (δ_{13C} 40,5) ; entre le proton H-14 (δ_{1H} 5,83) et les carbones C-16 (δ_{13C} 17,6) et C-12 (δ_{13C} 40,5) et entre le proton aldéhydique H-15 (δ_{1H} 9,96) et le carbone C-14 (δ_{13C} 128,1) ont permis d'établir le motif structural de la chaîne carbonée liée au squelette labdanique en C-9 (**Figure 86**).

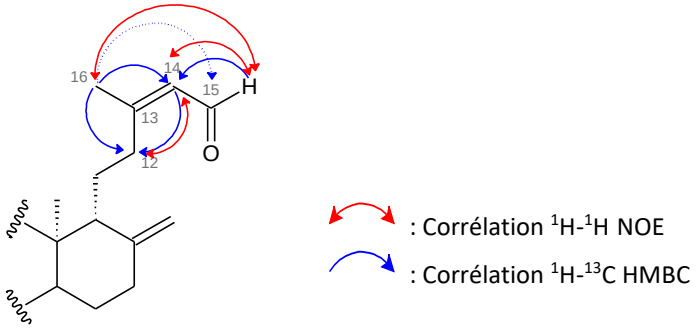
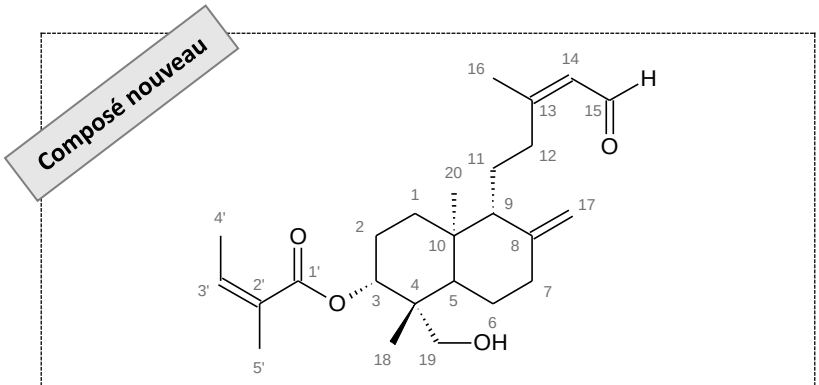


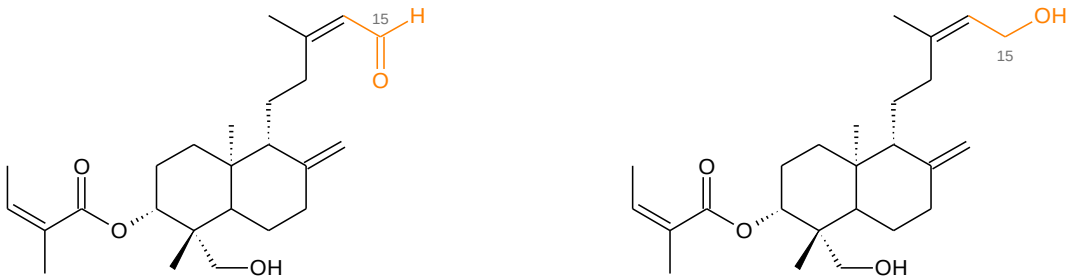
Figure 86 : Corrélations NOE et HMBC clés du substituant en C-12 de **PDE 11**.

Par conséquent, ces résultats permettent d'identifier le composé **PDE 11** comme étant le 3α-angéloyloxy-19-hydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-dién-15-al. Il s'agit d'un composé nouveau. Sa stéréochimie est discutée dans le paragraphe III. 3. 6. - page 192.



3α-angéloyloxy-19-hydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-dién-15-al **(PDE 11)**

Une comparaison des données spectrales du composé **PDE 11** aux données spectrales du 3α-angéloyloxy-15,19-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène (**Figure 87**), un composé ayant une structure proche de **PDE 11** a été réalisée (Bohlmann *et al.*, 1984) (**Tableau XXXI - Annexe VIII. 9. - Tome II - page 148**). La différence entre les deux composés est observée au niveau du carbone C-15. Dans la structure du 3α-angéloyloxy-15,19-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène, ce carbone est lié à une fonction hydroxyle tandis que dans **PDE 11**, il correspond à une fonction aldéhyde.



PDE 11 **3α-angéloyloxy-15,19-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène**

Figure 87 : Structures du composé **PDE 11** (gauche) et du 3α-angéloyloxy-15,18-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène (droite).

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 16**

Les données spectrales du métabolite **PDE 16** sont présentées en **Annexe VIII. 13. - Tome II - pages 165-169**.

Le composé **PDE 16** a été isolé sous forme d'une pâte blanche. Sa formule moléculaire $C_{27}H_{44}O_8$ a été établie sur la base de son spectre SMHR en mode ESI^- révélant un ion pseudomoléculaire $[M-H]^-$ à *m/z* 495,2049 (valeur calculée : *m/z* 495,2963). Le nombre d'insaturations calculé à partir de cette formule brute est de 6.

L'analyse du spectre IRTF du composé **PDE 16** a montré des bandes d'absorptions maximales à 2953,43 cm^{-1} (CH_3 asymétrique) ; 2928,60 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2854,20 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1691,99 cm^{-1} (C=O conjugué) ; 1644,44 cm^{-1} (C=C conjugué) et 1239,16 - 1259,70 cm^{-1} (C-C) et 1021,85 cm^{-1} (C-O).

Les données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de **PDE 16** mettent en évidence une similarité avec ceux de **PDE 2**, **PDE 3**, **PDE 5** et **PDE 11**. En effet, les déplacements chimiques caractéristiques du squelette labdane substitué en C-4 par un groupe méthyle et hydroxyméthyle, en C-3 par un groupement angéloyle, en C-8 par un groupe méthylène exocyclique ainsi que du motif linéaire C-9, C11 et C-12 ont été observés. Les différentes corrélations 2D (**Figure 88**) ont permis de confirmer cette partie de la structure.

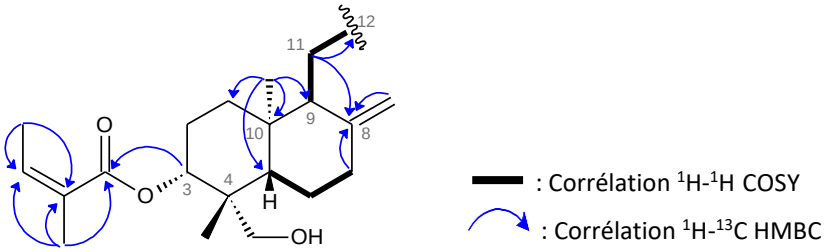


Figure 88 : Corrélations COSY et HMBC clés du squelette labdane et des substituants en C-3, C-4 et C-9 de **PDE 16**.

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C de **PDE 16** ont également montré trois signaux déblindés H-14 (δ_{1H} 3,95), H-15 (δ_{1H} 4,90) et H-16 (δ_{1H} 4,75) indiquant que ces protons sont proches d'un oxygène. Le déplacement chimique du carbone C-14 (δ_{13C} 80,4) montre que ce dernier est lié à une fonction hydroxyle. Deux groupes méthoxy CH_3O-15 (δ_{1H} 3,47) et CH_3O-16 (δ_{1H} 3,40) ont été également signalés.

Les corrélations hétéronucléaires ^1H-^{13}C HMBC entre les protons CH_3O-15 (δ_{1H} 3,47) et le carbone C-15 (δ_{13C} 110,7) et entre les protons CH_3O-16 (δ_{1H} 3,40) et le carbone à C-16 (δ_{13C} 109,0) montrent que les groupes méthoxy sont liés aux carbones C-15 et C-16. Sur le spectre ^1H-^{13}C HMBC, on observe également des corrélations entre le proton H-16 (δ_{1H} 4,75) et les carbones C-13 (δ_{13C} 81,5) (quaternaire), C-14 (δ_{13C} 80,4) et C-15 (δ_{13C} 110,7) et entre le proton H-14 (δ_{1H} 3,95) et les carbones C-12 (δ_{13C} 32,8) et C-15 (δ_{13C} 110,7) (**Figure 89**).

En tenant compte de toutes ces corrélations, de l'ensemble des atomes déjà utilisés pour l'enchaînement de la structure et du nombre d'insaturations qui reste, nous en déduisons que l'atome de carbone C-12 est lié à un cycle furandiol substitué par des groupes méthoxy. La configuration de ces groupes n'a pas été déterminée.

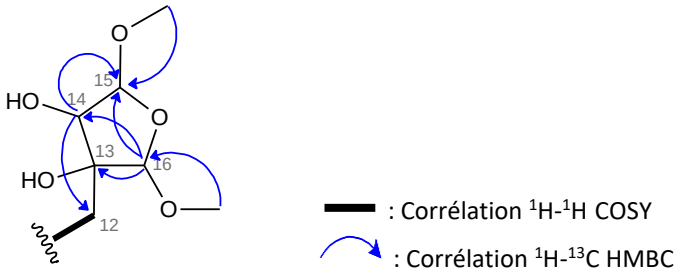
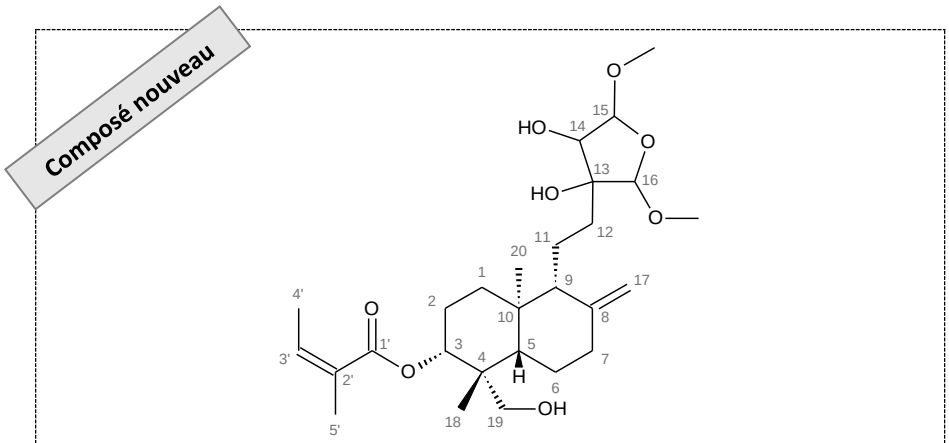


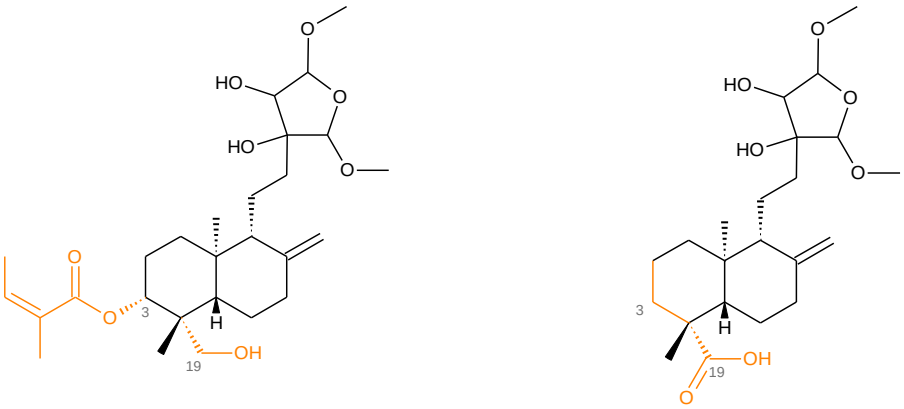
Figure 89 : Corrélations COSY et HMBC clés du cycle furandiol de **PDE 16**.

Par conséquent, l'ensemble des données spectrales analysées a permis d'identifier le composé **PDE 16** comme étant le 3α-angéoyloxy-19-hydroxy-15,16-diméthoxy-*ent*-labda-8(17)-én-furan-13,14-diol. Il s'agit d'une nouvelle structure. Sa stéréochimie est discutée dans le paragraphe III. 3. 6. - page 192.



3α-angéoyloxy-19-hydroxy-15,16-diméthoxy-*ent*-labda-8(17)-én-furan-13,14-diol
(PDE 16)

La comparaison des données spectrales RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 16** aux données de la littérature a mis en évidence une structure proche du conyzanol A de formule brute $C_{22}H_{36}O_7$ (Maniruddin & Ahmed, 1990) (**Tableau XXXVI - Annexe VIII. 13. - Tome II - page 166**). La différence entre les deux composés concerne les signaux associés aux carbones C-3 et C-19. Alors que le carbone C-3 est rattaché à un groupe angéloyle et que C-19 est lié à une fonction hydroxyle pour **PDE 16**, ils correspondent respectivement à un méthylène et une fonction acide carboxylique pour le conyzanol A (**Figure 90**).



PDE 16 **Conyzanol A**

Figure 90 : Structures du composé **PDE 16** (gauche) et du conyzanol A (droite).

- **Élucidation structurale des métabolites PDE 17 et PDE 18**

Les données spectrales des métabolites **PDE 17** et **PDE 18** sont présentées en **Annexe VIII. 14. - Tome II - pages 170-174**.

D'aspect pâteux et de couleur blanche, les métabolites **PDE 17** et **PDE 18**, obtenus en mélange, ont pour formule moléculaire $C_{25}H_{36}O_6$. Cette dernière a été attribuée à partir de son spectre SMHR en mode ESI^+ avec un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 433,2589 (valeur calculée : *m/z* 433,2585), soit 8 insaturations.

Les bandes d'absorptions maximales caractéristiques observées sur le spectre IRTF du mélange **PDE 17** et **PDE 18** sont : 3384,21 cm^{-1} (O-H) ; 2935,80 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2855,28 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1761,01 cm^{-1} (C=O d'un ester) ; 1708,84 cm^{-1} (C=O conjugué) ; 1643,42 cm^{-1} (C=C conjugué) ; 1603,04 cm^{-1} (C=C asymétrique) ; 1440,42 cm^{-1} (CH_3 asymétrique) ; 1386,47 cm^{-1} (CH_3 symétrique) ; 1236,97-1260,84 cm^{-1} (C-C) et 1041,42 cm^{-1} (C-O).

Un dédoublement de certains signaux a été observé dans le spectre RMN ^{13}C. Ceci indique la présence d'un mélange de deux diastéréoisomères en proportion 50 : 50. Cette proportion a été évaluée à partir de l'intensité relative des signaux observés sur le spectre.

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C du mélange **PDE 17** et **PDE 18** ont une forte similitude avec ceux des deux diastéréoisomères **PDE 2** et **PDE 3** décrits précédemment. La différence se situe au niveau du motif buténolide et des corrélations observées pour les deux groupes de protons H-14 (δ_{1H} 6,85) et H-15 (δ_{1H} 6,08) et les quatre carbones C-13 (δ_{13C} 138,6), C-14 (δ_{13C} 143,6), C-15 (δ_{13C} 96,9) et C-16 (δ_{13C} 171,8).

Les corrélations hétéronucléaires ^1H-^{13}C HMBC observées entre le proton oléfinique H-14 (δ_{1H} 6,85) et les carbones C-13 (δ_{13C} 138,6), C-15 (δ_{13C} 96,9) et C-16 (δ_{13C} 171,8) et entre le proton H-15 (δ_{1H} 6,08) et les carbones C-13 (δ_{13C} 138,6) et C-16 (δ_{13C} 171,8) ont permis d'établir un cycle α,β-insaturé γ-

lactone (Koo *et al.*, 2002). Par ailleurs, les corrélations des protons H-12 (δ_{1H} 2,16 et 2,46) avec les carbones C-14 (δ_{13C} 143,6) et C-16 (δ_{13C} 171,8) montrent que ce cycle est placé en C-12 (**Figure 91**).

Le déplacement chimique du carbone C-15 (δ_{13C} 96,9) indique la présence d'un groupement hydroxyle sur ce carbone. Remarquons que la majorité des signaux dédoublés observés sur le spectre RMN ^{13}C concerne les carbones du cycle buténolide ; il est fort probable que les deux diastéréoisomères **PDE 17** et **PDE 18** ne se distinguent que par la position du groupe hydroxyle en *R* ou *S* du carbone C-15.

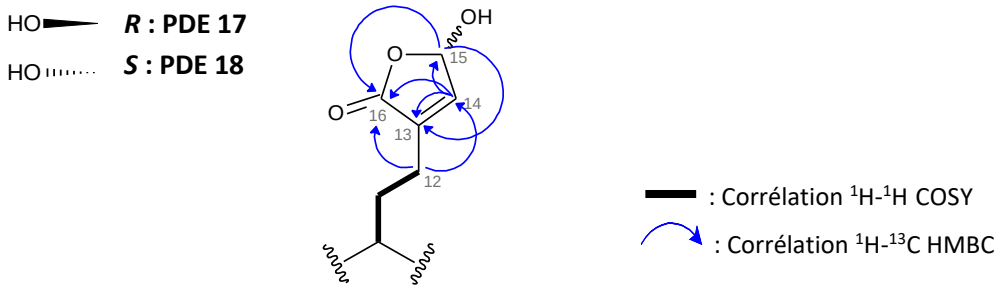
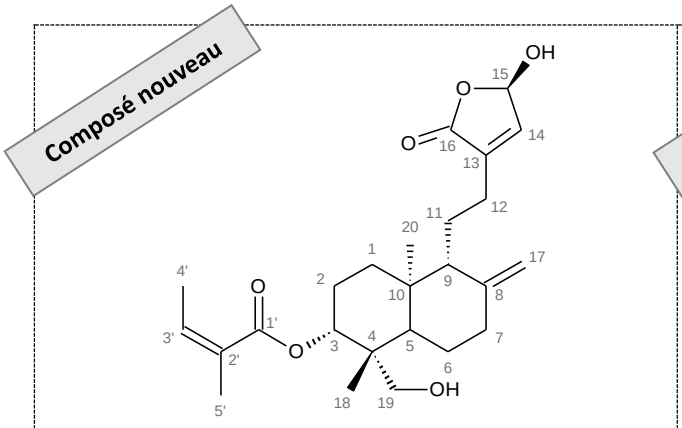
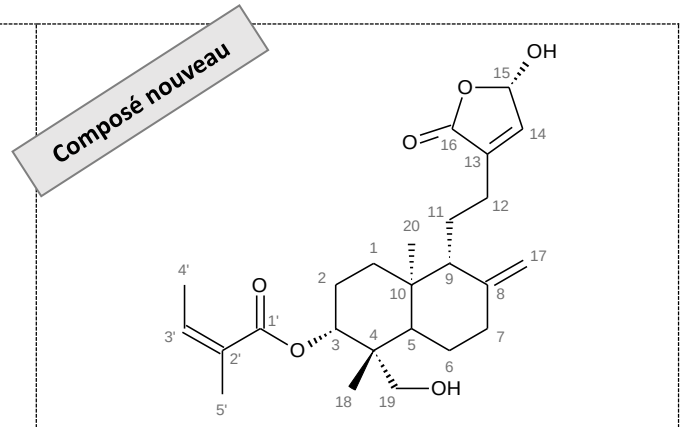


Figure 91 : Corrélations COSY et HMBC du cycle α,β-insaturé ɤ-lactone de **PDE 17** et **PDE 18**.

Ces résultats ont ainsi permis d'identifier les composés **PDE 17** et **PDE 18** comme étant le 3α-angéoyloxy-19,15*(R)*-dihydroxy-*ent*-andrograpanine et le 3α-angéoyloxy-19,15*(S)*-dihydroxy-*ent*-andrograpanine respectivement. Il s'agit de deux nouvelles structures. Leurs stéréochimies sont discutées dans le paragraphe III. 3. 6. - page 192.



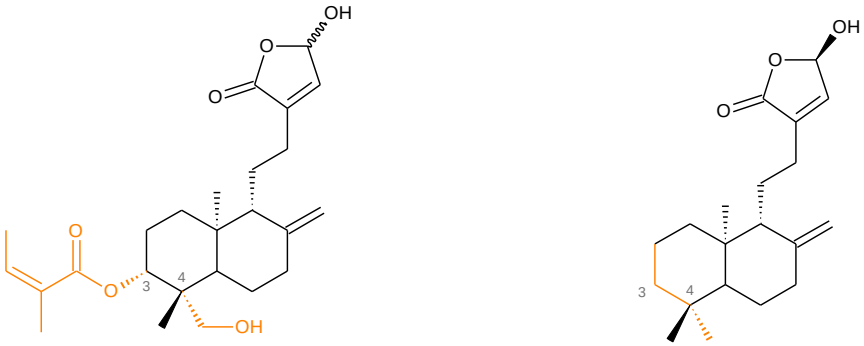
3α-angéoyloxy-19,15*(R)*-dihydroxy-*ent*-andrograpanine
(PDE 17)



3α-angéoyloxy-19,15*(S)*-dihydroxy-*ent*-andrograpanine
(PDE 18)

Une comparaison des données spectrales RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 17** et **PDE 18** aux données de la littérature a mis en évidence de grandes similitudes structurales entre **PDE 17**/**PDE 18** et la coronarine C de formule brute $C_{20}H_{30}O_3$, isolée des rhizomes de *Hedychium coronarium (Zingiberaceae)* (Itokawa *et al.*, 1988) (**Tableau XXXVII - Annexe VIII. 14. - Tome II - page 171**). Leurs différences se situent au niveau des atomes de carbone C-3 et C-4. Ces derniers sont liés au groupe angéloyle et au groupe hydroxyméthyle respectivement dans la structure de **PDE 17** et **PDE 18** tandis que dans la

structure de la coronarine C, C-3 ne porte pas de substituant et C-4 est lié à un groupement méthyle (**Figure 92**).



PDE 17 et **PDE 18** **Coronarine C**

Figure 92 : Structures des composés **PDE 17** et **PDE 18** (gauche) et de la coronarine C (droite).

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 19**

Les données spectrales du métabolite **PDE 19** sont présentées en **Annexe VIII. 15. - Tome II - pages 175-179**.

Le métabolite **PDE 19** a été isolé sous forme de cristaux blancs. L'étude de son spectre SMHR obtenu en mode ESI$^+$ a révélé la présence d'un ion pseudomoléculaire $[M+Na]^+$ à *m/z* 427,2815, soit une composition élémentaire $C_{25}H_{40}O_4Na^+$ (valeur calculée : *m/z* 427,2819). Le composé **PDE 19** a donc une formule brute $C_{25}H_{40}O_4$ et le nombre d'insaturations calculé à partir de cette formule brute est égal à 6.

Les bandes d'absorptions maximales caractéristiques observées sur le spectre IRTF de **PDE 19** sont : 3354,35 cm^{-1} (O-H) ; 2961,02 cm^{-1} (CH_3 asymétrique) ; 2926,18 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2854,89 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1713,48 cm^{-1} (C=O conjugué) ; 1603,04 cm^{-1} (C=C asymétrique) ; 1455,82 cm^{-1} (CH_3 asymétrique) ; 1384,15 cm^{-1} (CH_3 symétrique) ; 1260,77 cm^{-1} (C-C) ; 1027,08 - 1093,42 cm^{-1} (C-O).

Les données RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 19** révèlent des signaux caractéristiques d'un squelette labdane, d'un groupe angéloyle en C-3, d'un groupe méthylène exocyclique en C-8 et du motif linéaire C-9, C11 et C-12. Par ailleurs, deux signaux singulets H-18 (δ_{1H} 0,88) et H-19 (δ_{1H} 0,90) qui corrèlent avec les carbones C-3 (δ_{13C} 80,7), C-4 (δ_{13C} 38,5) et C-5 (δ_{13C} 55,1) en ^{1}H-^{13}C HMBC ont également été signalés. Ceci confirme la position des groupes méthyles H-18 et H-19 en 4 (**Figure 93**).

Plusieurs signaux déblindés ont également été révélés sur le spectre RMN ^{1}H de **PDE 19**. Il s'agit d'un triplet H-14 (δ_{1H} 5,62), d'un doublet de doublet H-15 (δ_{1H} 4,22) et de deux doublets H-16 (δ_{1H} 4,16 et 4,20). La corrélation homonucléaire ^{1}H-^{1}H COSY entre le proton à H-14 et H-15 indique que ces deux

protons sont portés par des carbones reliés entre eux. Par ailleurs, les déplacements chimiques de C-15 (δ_{13C} 59,1) et C-16 (δ_{13C} 61,5) montrent que ces carbones sont reliés chacun à un oxygène.

Les corrélations observées sur le spectre ^{1}H-^{13}C HMBC entre le proton H-14 (δ_{1H} 5,62) et les carbones C-12 (δ_{13C} 35,3) et C-15 (δ_{13C} 59,1) et entre les protons H-16 (δ_{1H} 4,16 et 4,20) et les carbones C-12 (δ_{13C} 35,3), C-13 (δ_{13C} 144,5) et C-14 (δ_{13C} 126,6) ont permis d'établir l'enchainement de la suite de la structure présenté dans la **figure 93**.

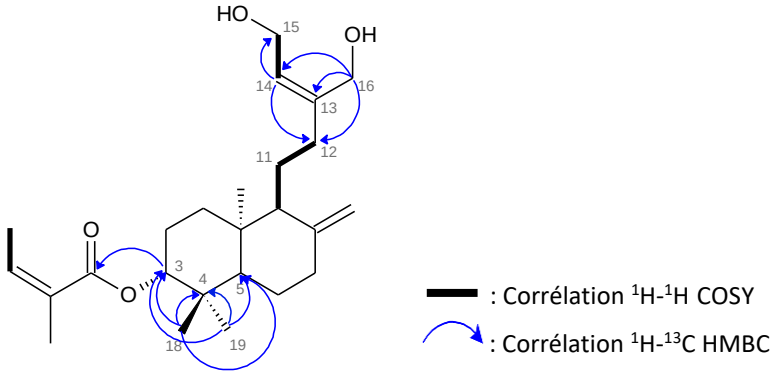
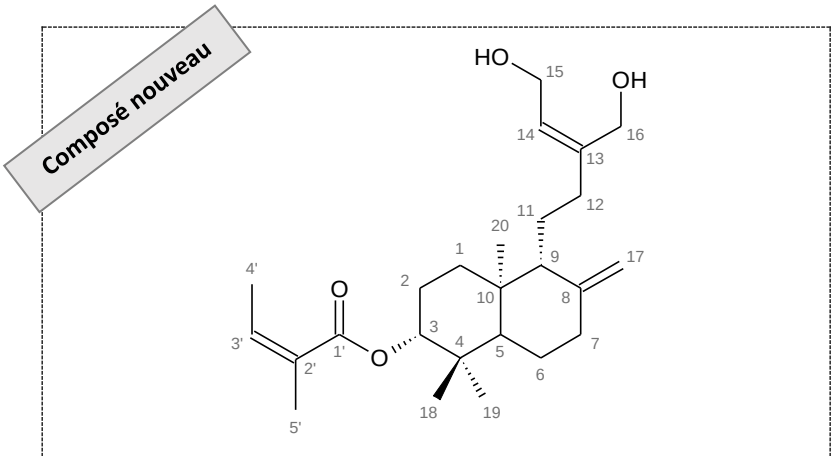


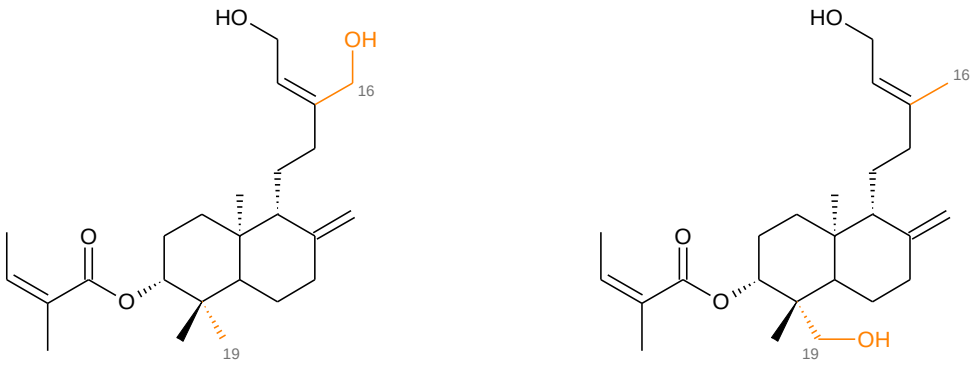
Figure 93 : Corrélations COSY et HMBC clés des substituants en C-3, C-4, C-9 et C-12 de **PDE 19**.

L'ensemble de ces données spectrales permet donc d'identifier le composé **PDE 19** comme étant le 3α-angéloyloxy-15,16-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène. Il s'agit d'un composé nouveau. Sa stéréochimie est discutée dans le paragraphe III. 3. 6. - page 192.



3α-angéloyloxy-15,16-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène **(PDE 19)**

Les données RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 19** montrent de fortes similitudes avec celles du 3α-angéloyloxy-15,19-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène de formule brute $C_{25}H_{40}O_4$ (Bohlmann *et al.*, 1984) (**Tableau XXXVIII - Annexe VIII. 15. - Tome II - page 176**). Ce composé a été isolé des parties aériennes de *Gutierrezia sarothrae (Asteraceae)*. La distinction entre ce composé et **PDE 19** se situe au niveau des carbones C-16 et C-19. En effet, les déplacements chimiques des protons sont respectivement δ_{1H} 1,68 (H-16) et δ_{1H} 2,97-3,35 (H-19) pour le 3α-angéloyloxy-15,19-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène et δ_{1H} 4,16-4,20 (H-16) et δ_{1H} 0,90 (H-19) pour **PDE 19** (**Figure 94**).



PDE 19 **3α-angéloyloxy-15,19-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène**

Figure 94 : Structures du composé **PDE 19** (gauche) et du 3α-angéloyloxy-15,19-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène (droite).

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 20**

Les données spectrales du métabolite **PDE 20** sont présentées en **Annexe VIII. 16. - Tome II - pages 180-184**.

Le métabolite **PDE 20** a été isolé sous forme de cristaux blancs. Son spectre SMHR réalisé en mode ESI$^+$ a conduit à l'observation d'un ion pseudomoléculaire $[M+Na]^+$ à *m/z* 443,2764, conduisant à la formule moléculaire $C_{25}H_{40}O_5$, soit 6 insaturations. La valeur calculée pour cet ion est *m/z* 443,2768.

L'analyse du spectre IRTF du composé **PDE 20** a montré des bandes d'absorptions maximales à 3296,73 cm^{-1} (O-H) ; 2964,59 cm^{-1} (CH_3 asymétrique) ; 2931,43 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2826,83 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1699,68 cm^{-1} (C=O conjugué) ; 1621,23 cm^{-1} (C=C conjugué) ; 1466,49 cm^{-1} (CH_3 asymétrique) ; 1356,73 cm^{-1} (CH_3 symétrique) ; 1270,11 cm^{-1} (C-C) ; 1028,48 - 1114,65 cm^{-1} (C-O).

Les données spectrales de **PDE 20** sont proches de celles de **PDE 19** identifié précédemment. La différence se situe uniquement au niveau du signal singulet de H-19 (δ_{1H} 0,90) correspondant à un groupe méthyle. Ce dernier est absent sur le spectre RMN ^{1}H de **PDE 20**. En revanche, la présence de deux doublets à δ_{1H} 2,92 et 3,35 (H-19), relatifs à un groupe hydroxyméthyle a été révélée.

La corrélation hétéronucléaire ^{1}H-^{13}C HMBC entre ces protons H-19 (δ_{1H} 2,92 et 3,35) et les carbones C-3 (δ_{13C} 74,3), C-4 (δ_{13C} 42,9), C-5 (δ_{13C} 46,1) et C-18 (δ_{13C} 13,1) a permis de placer ce groupe en C-4 (**Figure 95**).

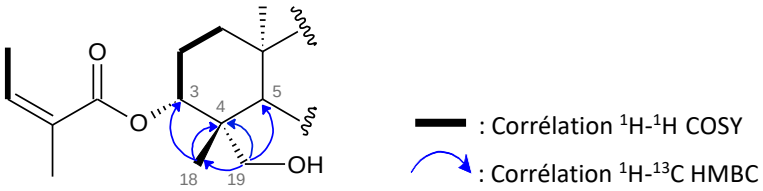
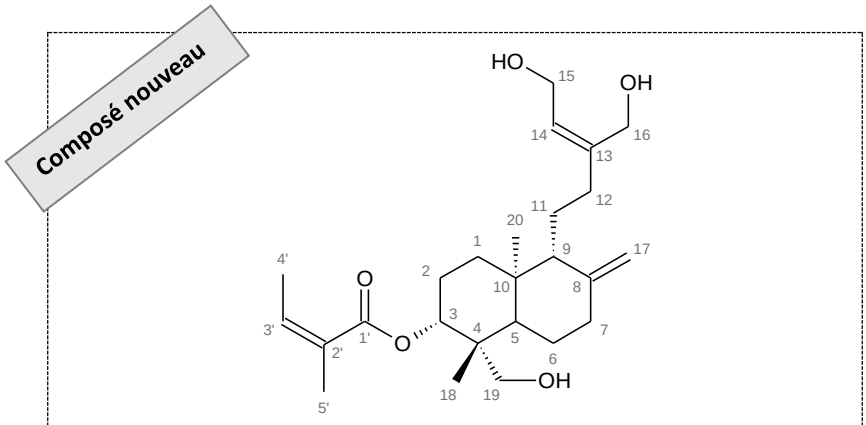


Figure 95 : Corrélations COSY et HMBC clés des substituants en C-4 de **PDE 20**.

Ainsi, les structures de **PDE 19** et de **PDE 20** se différentient uniquement au niveau du carbone C-19 où ce dernier est lié à une fonction hydroxyle pour **PDE 20** et correspond à un méthyle pour **PDE 19** (**Tableau XXXIX - Annexe VIII. 16. - Tome II - page 181**). Ce qui conduit à la structure du 3α-angéloyloxy-15,16,19-trihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène, qui est un composé nouveau. Sa stéréochimie est discutée dans le paragraphe III. 3. 6. - page 192.



3α-angéloyloxy-15,16,19-trihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène **(PDE 20)**

- **Élucidation structurale du métabolite PDE 25**

Les données spectrales du métabolite **PDE 25** sont présentées en **Annexe VIII. 20. - Tome II - pages 197-201**.

Le métabolite **PDE 25** a été obtenu en mélange avec **PDE 24** sous forme d'une poudre jaune pâle. Le spectre SMHR en mode ESI^+ du mélange a conduit, pour le composé **PDE 25**, à la formule moléculaire $C_{15}H_{16}O_5$, à partir d'un ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à *m/z* 277,1083 (valeur calculée : *m/z* 277,1071), soit 8 insaturations.

Il est à rappeler qu'à partir des intensités relatives des signaux dédoublés observés sur le spectre RMN ^1H du mélange, la proportion 65 : 35 entre les deux composés **PDE 24** et **PDE 25** respectivement, a pu être évaluée.

Concernant le métabolite **PDE 24**, son élucidation structurale, décrite au paragraphe III. 5. 1. - page 182, a conduit à la fraxétine, une coumarine connue.

Concernant le métabolite **PDE 25** :

- sur le spectre IRTF du mélange, les bandes d'absorptions maximales caractéristiques observées sont : 3293,20 cm^{-1} (O-H) ; 2967,92 cm^{-1} (CH_3 asymétrique) ; 2932,91 cm^{-1} (CH_2 asymétrique) ; 2856,57 cm^{-1} (CH_2 symétrique) ; 1699,54 cm^{-1} (C=O conjugué) ; 1620,18 cm^{-1} (C=C conjugué) ; 1503,30 cm^{-1} (C=C aromatique) 1467,15 cm^{-1} (CH_3 asymétrique) ; 1376,84 cm^{-1} (CH_3 symétrique) ; 1181,37 cm^{-1} (C-C isopropyl) ; 1028,69-1143,48 cm^{-1} (C-O), 804,08 - 926,57 cm^{-1} (C-H aromatique).

- sur le spectre RMN ^{1}H, deux doublets H-3 (δ_{1H} 6,13) et H-4 (δ_{1H} 8,13) couplant à 9,6 Hz indiquent un noyau 1,2 benzopyrone substitué en C-5 par un oxygène (Steck & Mazurek, 1972). Ce spectre révèle également la présence d'un singulet à δ_{1H} 1,41 correspondant à deux groupes méthyles (H-4' et H-5'), de deux triplets à δ_{1H} 1,88 (H-2') et δ_{1H} 2,82 (H-1') indiquant deux méthylènes et d'un singulet à δ_{1H} 3,78 représentant un groupe méthoxy. Ces données suggèrent que le composé **PDE 25** est une pyranocoumarine (Khan *et al.*, 1985).

Par ailleurs, les corrélations homonucléaires ^{1}H-^{1}H COSY entre les protons H-3 (δ_{1H} 6,13) et H-4 (δ_{1H} 8,13) et entre les protons H-1' (δ_{1H} 2,82) et H-2' (δ_{1H} 1,88) indiquent que ces protons sont deux à deux portés par deux carbones voisins. Les corrélations hétéronucleaires ^{1}H-^{13}C HMBC entre les protons H-4'/H-5' (δ_{1H} 1,41) et le carbone C-2' (δ_{13C} 32,6) et entre les protons à δ_{1H} 3,78 et le carbone C-8 (δ_{13C} 133,6) ont permis de placer les groupes méthyles en C-3' et le groupe méthoxy en C-8 respectivement. L'enchaînement de la structure est représenté dans la **figure 96**.

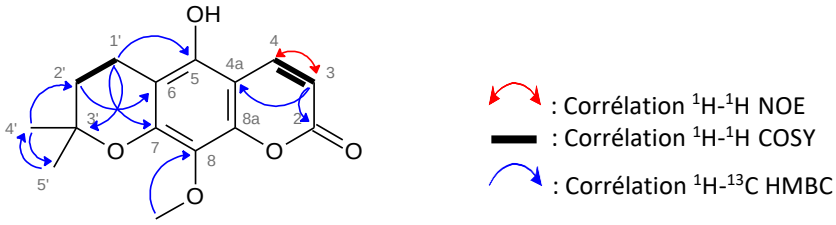
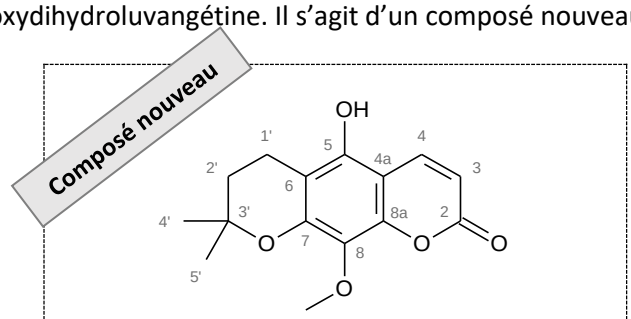


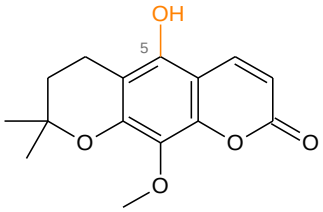
Figure 96 : Corrélations COSY, NOE et HMBC clés de **PDE 25**.

L'ensemble de ces données spectrales a permis de conclure que le composé **PDE 25**, correspond au 5-hydroxydihydroluvangétine. Il s'agit d'un composé nouveau.

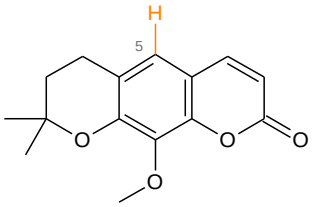


5-hydroxydihydroluvangétine **(PDE 25)**

Pour appuyer ces résultats, une comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H de ce composé avec ceux du dihydroluvangétine de formule brute $C_{15}H_{16}O_4$ a été effectuée (Mali *et al.*, 2002) (**Tableau XLIV - Annexe VIII. 20. - Tome II - page 197**). En effet, ces deux structures sont fortement similaires. Leurs structures varient uniquement au niveau du carbone C-5. Dans **PDE 25**, ce carbone est lié à un groupe hydroxy tandis que dans le dihydroluvangétine, il est rattaché à un hydrogène (**Figure 97**).



PDE 25



Dihydroluvangétine

Figure 97 : Structures du composé **PDE 25** (gauche) et du dihydroluvangétine (droite).

III. 3. 6. Stéréochimie des nouveaux diterpènes isolés

Les diterpènes de type labdane représentent un groupe diversifié de plus de 7000 métabolites qui se caractérisent par une squelette décaline bicyclique (Murphy *et al.*, 2018 ; Zerbe & Bohlmann, 2015). Afin d'établir la stéréochimie des nouveaux diterpènes, isolés de *P. dentata*, la compréhension de la biosynthèse des diterpènes de structure labdane constitue un élément clé.

Les diterpènes sont formés à partir de quatre unités isopréniques obtenues après condensation de deux acétylCoenzymeA (acétylCoA), un acide acétique activé, précurseur utilisé pour la formation des terpènes (Breitmaier & Voelter, 1986). Dans un premier temps, les deux acétylCoA s'assemblent en suivant le schéma de condensation de Claisen pour donner un analogue biologique, l'acétoacétate. Puis, l'acétoacétylCoA réagit de nouveau avec un acétylCoA. Cette condensation est suivie par une réduction enzymatique pour donner l'acide mévalonique. Une phosphorylation, suivie d'une décarboxylation permet d'obtenir l'isopentényllpyrophosphate IPP, un isoprène activé, dont l'addition sur un isomère aboutit à un monoterpène. Deux additions successives de ce monoterpène sur IPP permettent d'obtenir un diterpène (Villedieu-Percheron, 2011). Cette biosynthèse des diterpènes est présentée dans la **figure 98** ci-après.

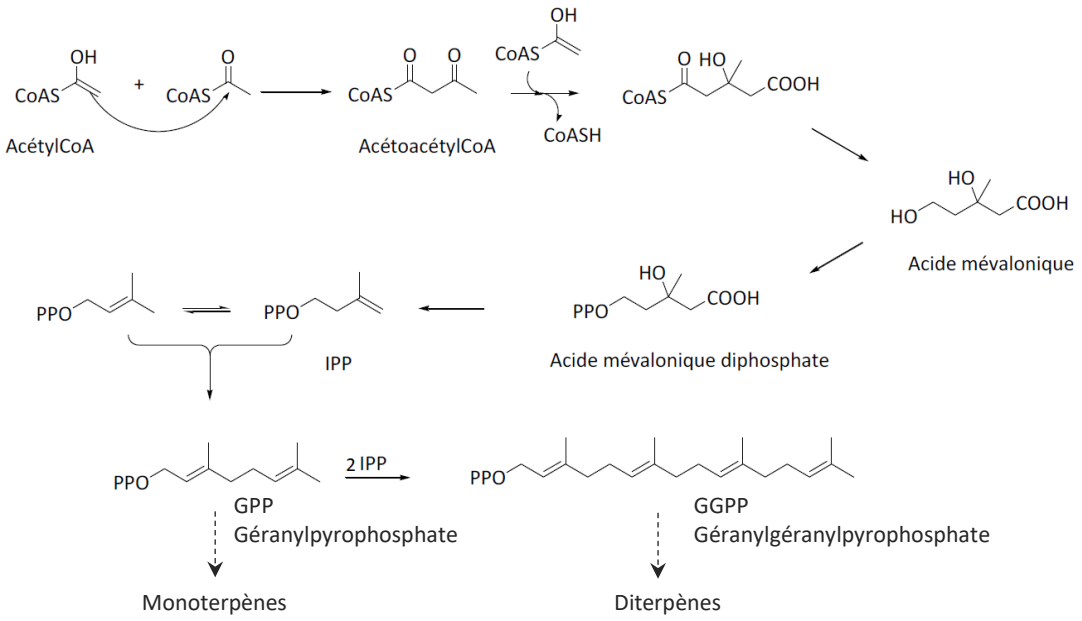


Figure 98 : Biosynthèse des diterpènes.

Une cyclisation enzymatique du diterpène linéaire, par le géranylgéranylpyrophosphate (2*E*,6*E*,10*E*-GGPP), permet d'aboutir plus précisément au noyau labdane. Le cation labdadiényle diphosphate est d'abord formé ; ce dernier aboutit ensuite soit à la formation de copalyl diphosphate (CPP), soit à celle du 8α-hydroxy-CPP. Ces deux composés sont des précurseurs des diterpènes de structure labdane (Demetzos & Dimas, 2001) (**Figure 99**).

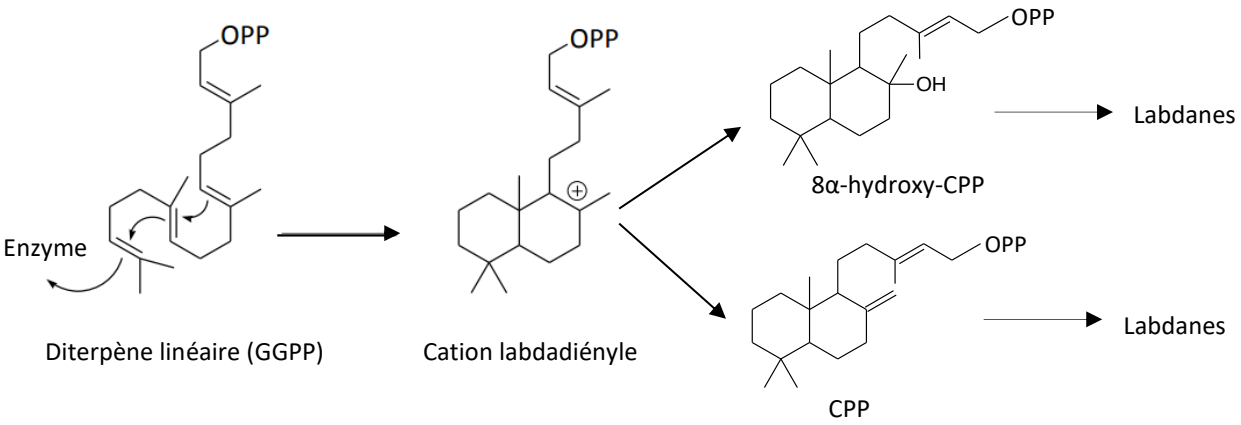


Figure 99 : Biosynthèse des diterpènes labdanes (Peters, 2010).

Selon la conformation du précurseur GGPP, le CPP biosynthétisé peut adopter quatre stéréochimies différentes (*normal-, ent-, syn-, syn-ent-*). Ce sont les configurations des carbones C-5, C-9 et C-10 qui s'en retrouvent modifiées (Peters, 2010) (**Figure 100**). Les séries *normal-* et *ent-*, où les carbones C-9 et C-10 sont de configuration *cis*, sont les classes les plus répandues (Hanson, 1989), tandis que la série *syn*-CPP est bien moins fréquente (Peters, 2010). La série *syn-ent*-CPP, quant à elle,

n'a été observée que dans les produits naturels issus de plantes du genre *Calceolaria* (Garbarino *et al.*, 2001).

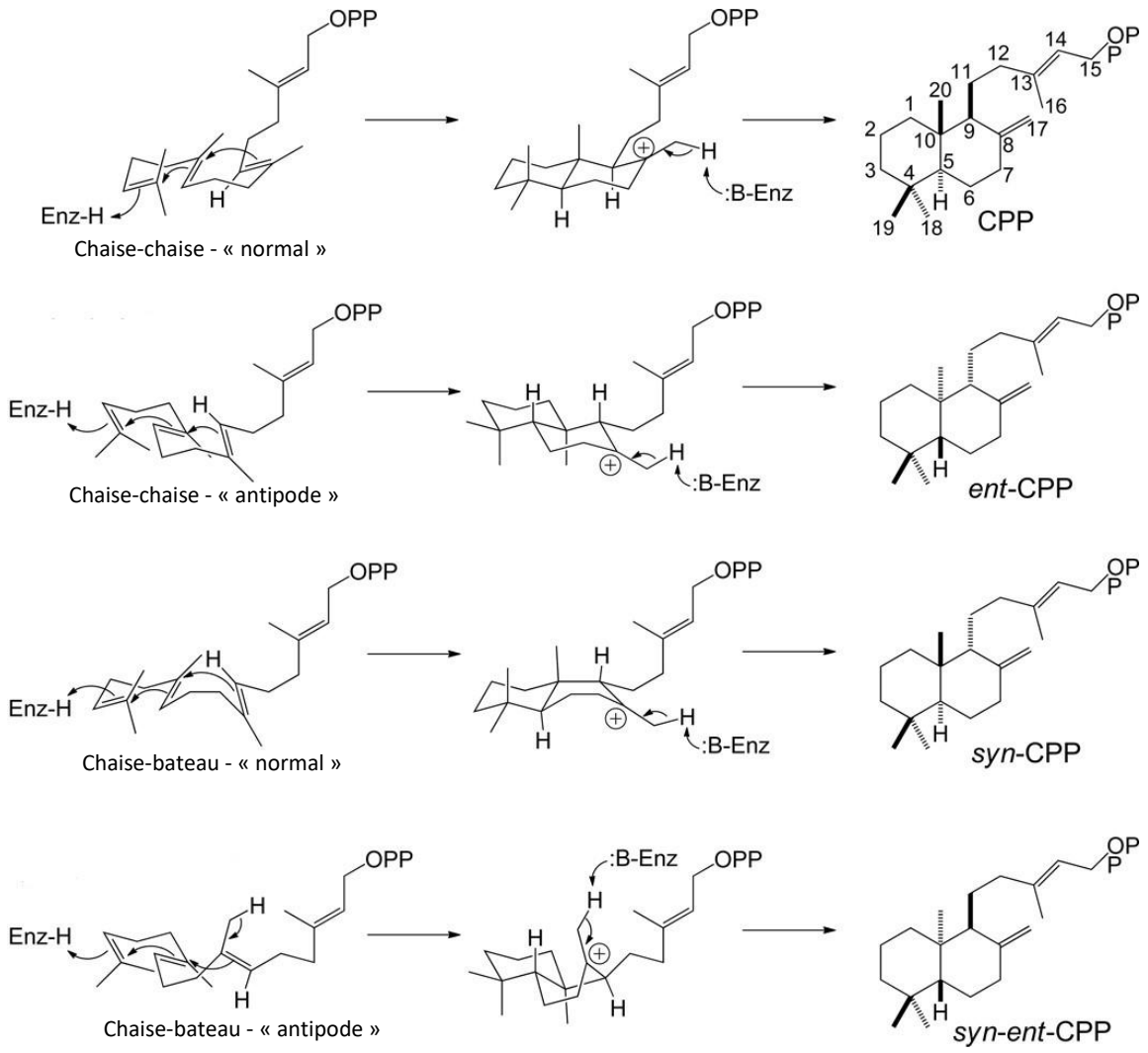


Figure 100 : Formation des 4 séries de stéréoisomères du CPP à partir du GGPP (Peters, 2010).

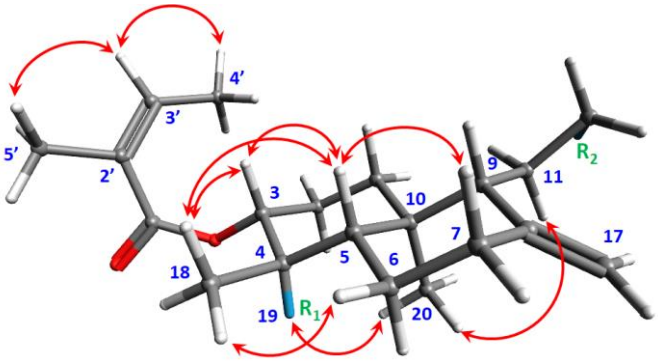
Étant donné que les séries *normal*- et *ent*- sont les plus représentées dans la nature, nous pouvons supposer dans un premier temps que chaque diterpène labdane isolé présente probablement l'une de ces deux stéréochimies.

En outre, la connaissance de la valeur du pouvoir rotatoire peut donner des informations sur la stéréochimie des molécules (Carman, 1966). En général, les rotations optiques du squelette *normal*-labdane et *ent*-labdane sont respectivement positives (Chen *et al.*, 2008 ; Wang *et al.*, 2008) et négatives (Chen *et al.*, 2008 ; Li *et al.*, 2013 ; Zhang *et al.*, 2017). Les valeurs du pouvoir rotatoire mesurées pour tous les nouveaux diterpènes isolés sont toutes négatives ($[\alpha]^{25}_{D}$ -145 à -30). Ces valeurs laissent supposer que ces nouveaux diterpènes font partie des *ent*-labdanes. Cette hypothèse est confortée par le composé **PDE 15** identifié comme étant l'acide *ent*-8(17),13-labdadién-15,16-olid-19-oïque, diterpène connu dont la stéréochimie est *ent*- (Zdero *et al.*, 1990a).

Afin de confirmer cette configuration, une étude du spectre ^{1}H-^{1}H NOESY de ces nouveaux labdanes a été entreprise. Les corrélations observées sur le spectre ^{1}H-^{1}H NOESY sont similaires pour le système bicyclique et le groupe angéloyle des 9 composés (**PDE 2**, **PDE 3**, **PDE 5**, **PDE 11**, **PDE 16** à **PDE 20**) (**Figure 101**).

- Concernant la configuration du système bicyclique, les corrélations observées entre les protons H-3 et H-5, les protons H-18 et H-5 ainsi que les protons H-18 et H-6 permettent de positionner le groupe méthyle en 18, le méthylène en 6 et les protons H-3 et H-5 du même côté du plan moyen du système bicyclique. Lorsque R_1 est un groupe hydroxyméthyle, une corrélation existe entre les protons H-19 et H-20. Ce qui permet de positionner H-19 et H-20 du même côté du plan. Les corrélations observées entre les protons H-11 et H-20 permettent également de positionner ces protons du même côté. Ces différentes corrélations ^{1}H-^{1}H NOE permettent ainsi de conclure que ces nouveaux diterpènes sont de configuration *ent*-.

- Concernant la stéréochimie de la double liaison du groupe angéloyle, les corrélations entre les protons H-3’ et H-4’ et entre les protons H-3’ et H-5’ permettent de positionner ces protons du même côté du plan. La configuration de la double liaison est donc *(Z)*.



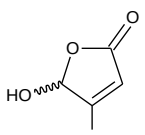
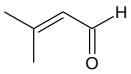
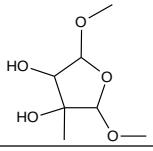
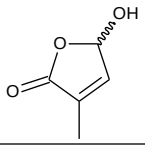
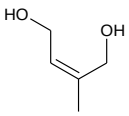
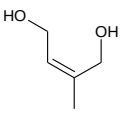
	PDE 2 et 3	PDE 5	PDE 11	PDE 16	PDE 17 et 18	PDE 19	PDE 20
R1	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_3	CH_2OH
R2							

Figure 101 : Corrélations NOE clés du noyau décaline et du groupement angéloyle des nouveaux labdanes isolés de *P. dentata.*

Toutefois, des données spectrales par dichroïsme circulaire et par cristallographie aux rayons X seront nécessaires pour confirmer la configuration absolue de ces diterpènes, en particulier la stéréochimie des carbones asymétriques situés sur la chaîne latérale et sur le cycle à 5.

III. 3. 7. Stratégie d'application du réseau moléculaire

III. 3. 7. 1. Déréplication des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. dentata*

La déréplication des fractions de P. dentata a été effectuée à la Station marine d'Endoume de l'Institut Méditerranéen de la Biodiversité et d'Écologie marine et continentale (IMBE), Université d'Aix-Marseille avec l'aide du Docteur Stéphane GREFF.

L'analyse des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. dentata* par CLUHP-SM^2 en mode positif ainsi que le traitement de données ont permis de générer le réseau moléculaire sous GNPS (**Figure 102**). Ce réseau moléculaire est ensuite importé puis visualisé sous le logiciel Cytoscape v3.8.2 pour faciliter l'interprétation des résultats. À noter que les données de cette analyse par CLUHP-SM^2 ont été déposées dans le répertoire public MassIVE du GNPS (http://massive.ucsd.edu, MSV000088099).

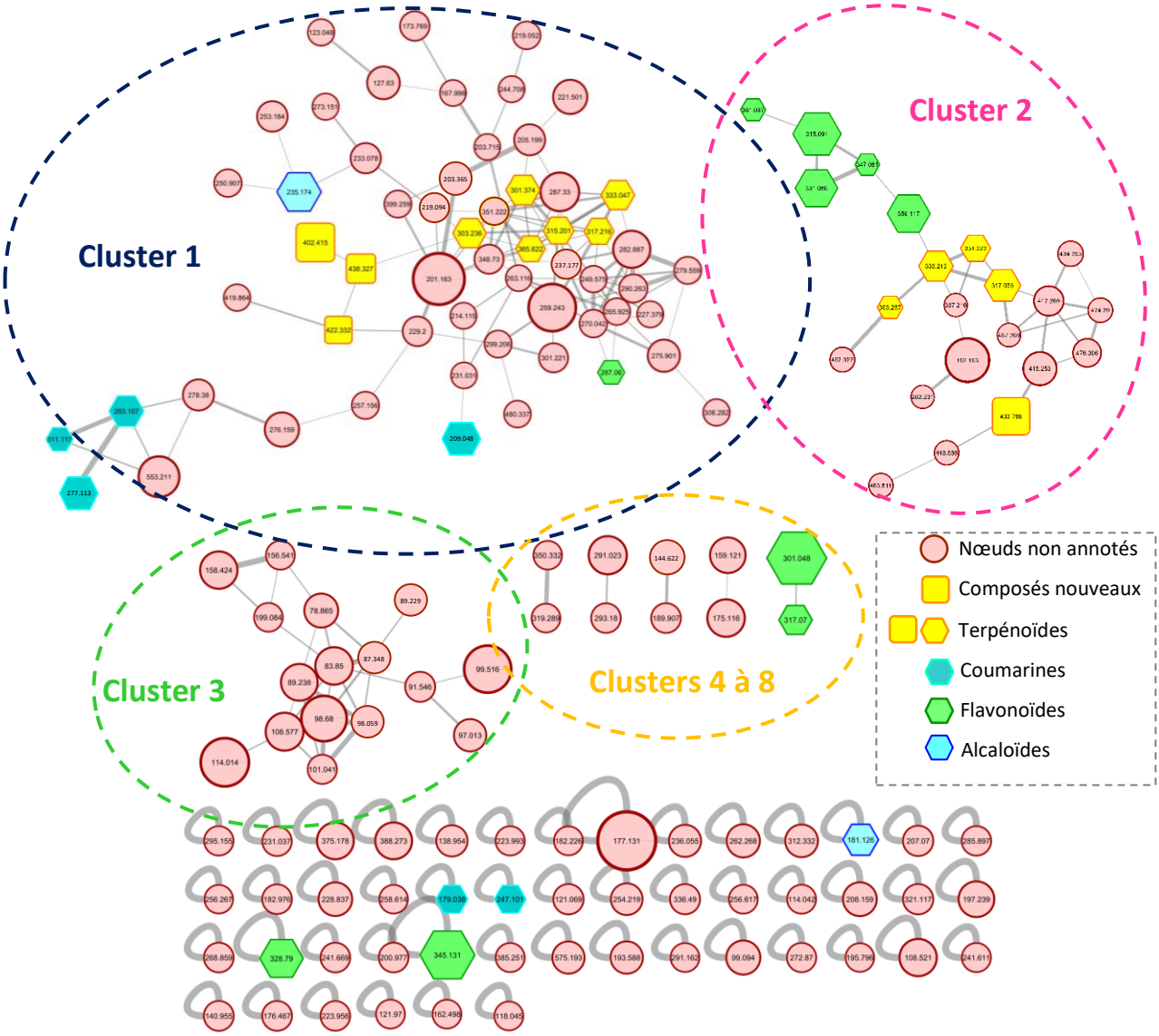


Figure 102 : Réseau moléculaire visualisé sur Cytoscape à partir des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. dentata*.

Le réseau moléculaire obtenu pour les fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait de *P. dentata* a permis de mettre en évidence 154 nœuds et 3 clusters dont les nœuds sont ≥ à 3. Notons que les liaisons entre ces nœuds apparaissent dès lors que le CS est supérieur à 0,62 et qu'au moins six ions fragments communs avec les SM^2 dans les bases de données ont été détectés.

III. 3. 7. 1. 1. Annotation du cluster 1

Le cluster 1 de ce réseau moléculaire contient 56 nœuds (**Figure 103**). Son analyse a mis en évidence plusieurs familles chimiques de métabolites notamment des coumarines, des terpénoïdes, des alcaloïdes et des flavonoïdes.

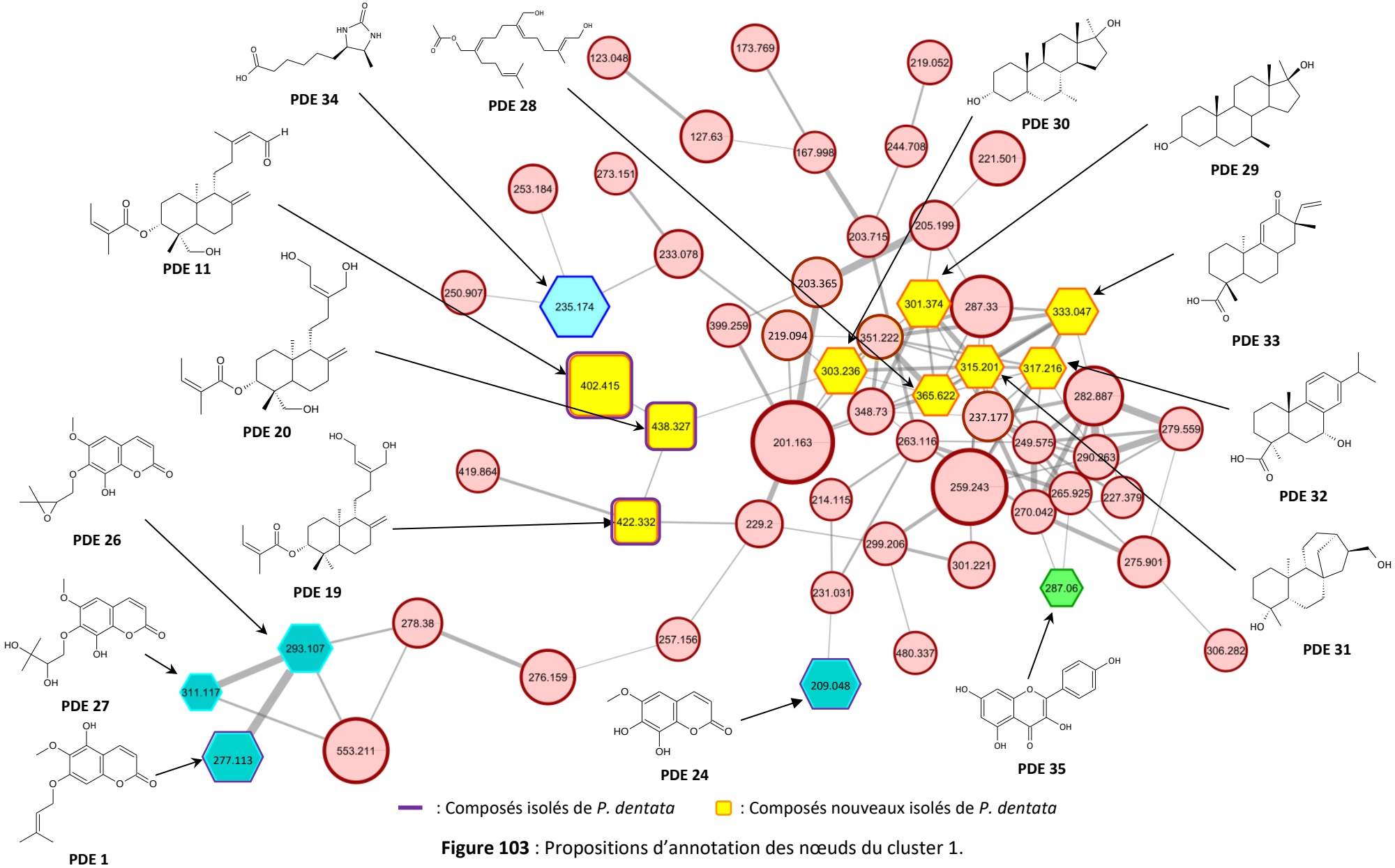


Figure 103 : Propositions d'annotation des nœuds du cluster 1.

- ***Les coumarines***

La recherche d'analogues structuraux avec les bases de données a montré une correspondance des spectres SM^2 pour les ions précurseurs à *m/z* 209,048 ; 277,113 ; 293,107 et 311,117 (**Figure 156 - Annexe IX. 1. - Tome II - page 204**) avec des coumarines.

En effet, le spectre SM^2 de l'ion à *m/z* 209,048 correspond à celui de la fraxétine (**PDE 24**), isolée de *P. dentata* lors des travaux de la présente thèse.

Le spectre SM^2 de l'ion à *m/z* 277,113, quant à lui, montre une correspondance avec celui de l'isoobtusitine (**PDE 1**). Un pic de base à *m/z* 194,021 $[M+H-C_5H_8O-CH_3]^+$ est observé sur ce spectre justifiant une perte de méthyl et du motif *O*-prényle C_5H_8O. Un autre ion fragment à *m/z* 209,044 $[M+H-C_5H_8]^+$ a également été observé.

À partir de l'ion à *m/z* 277,113, un analogue époxy à *m/z* 293,107 a pu être annoté. Il s'agit de la 7-(2',3'-époxy-3'-méthylbutoxy)-8-hydroxy-6-méthoxycoumarine (**PDE 26**). Ce composé possède un pic de base à *m/z* 194,021 correspondant à la perte d'un méthyle d'une part, et du groupe époxyde d'autre part ($[M+H-C_5H_8O-CH_3]^+$).

L'hydratation de l'ion à *m/z* 293,107 a fourni l'ion précurseur à *m/z* 311,117. La recherche dans les bases de données avec la masse de l'ion précurseur et les ions fragments à *m/z* 209,045 ; 194,021 ; 166,027 ; 163,038 ; 138,991 et 59,050 a conduit à la structure de la 7-(2',3'-dihydroxy-3'-méthylbutoxy)-8-hydroxy-6-méthoxycoumarine (**PDE 27**).

Les trois ions à *m/z* 277,113 (**PDE 1**) ; 293,107 (**PDE 26**) et 311,117 (**PDE 27**) se retrouvent du même côté sur le cluster 1 car leurs structures sont très proches. Ceci est également confirmé par les valeurs de CS égales à 0,95 pour **PDE 1** et **PDE 26** et 0,88 pour **PDE 26** et **PDE 27**.

- ***Les terpénoïdes***

L'analyse du cluster 1 a également mis en lumière la présence possible de diterpénoïdes et de triterpénoïdes.

La recherche d'analogues structuraux dans les bases de données internes de GNPS notamment MONA (Massbank of North America), HMBD et NIST ainsi que l'injection des molécules pures dans les mêmes conditions que les fractions indiquent une correspondance des spectres SM^2 pour les ions à *m/z* 365,622 (**PDE 28**) ; 402,415 (**PDE 11**) ; 422,432 (**PDE 19**) et 438,327 (**PDE 20**) avec des diterpènes (**Figure 157 - Annexe IX. 1. - Tome II - page 205**).

Parmi les nouveaux diterpènes isolés, les métabolites **PDE 11** (*m/z* 402,416), **PDE 19** (*m/z* 422,432) et **PDE 20** (*m/z* 438,327) se retrouvent sur un même côté du cluster 1. Ces 3 diterpènes ont une structure très proche caractérisée par un squelette labdane, un groupement angéloyle et un motif alkyle constitué de 6 carbones, relié au carbone C-9.

La même démarche a conduit à une correspondance pour les ions à *m/z* 301,374 (**PDE 29**) ; 303,236 (**PDE 30**) ; 315,201 (**PDE 31**) ; 317,216 (**PDE 32**) et 333,047 (**PDE 33**) avec des triterpènes, notamment des stéroïdes (**Figure 158 - Annexe IX. 1. - Tome II - pages 206-207**).

- ***Les alcaloïdes et les flavonoïdes***

La déréplication du cluster 1 avec GNPS a montré également la présence possible d'alcaloïdes et de flavonoïdes dans *P. dentata*. En effet, une correspondance spectrale pour les ions à *m/z* 235,174 (**PDE 34**) et 287,060 (**PDE 35**) (**Figure 159 - Annexe IX. 1. - Tome II - page 207**) avec le déthiobiotine et le kaempférol respectivement a été signalée. Le kaempférol a été isolé de *Kaempferia galanga*, tandis que la déthiobiotine est obtenu à partir de la bactérie *Bacillus sphaericus*.

L'ensemble des propositions d'annotation des nœuds du cluster 1 est résumé dans le **tableau XIX**.

Tableau XIX : Description des nœuds annotés du cluster 1.

N°	m/z	Ion préc.	Formule brute	Analogue structurel	Source	Référence
PDE 1	277,113	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{16}O_5$	isoobtusitine	*Psiadia dentata*	Fortin *et al.*, 2001
PDE 11	402,415	$[M+H]^+$	$C_{25}H_{38}O_4$	3α-angéloyloxy-19-hydroxy-*ent*-labda-8(17),13E-dién-15-al	*Psiadia dentata*	-
PDE 19	422,332	$[M+NH_4]^+$	$C_{25}H_{40}O_4$	3α-angéloyloxy-15,16-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13E-diène	*Psiadia dentata*	-
PDE 20	438,327	$[M+NH_4]^+$	$C_{25}H_{40}O_5$	3α-angéloyloxy-15,16,19-trihydroxy-*ent*-labda-8(17),13E-diène	*Psiadia dentata*	-
PDE 24	209,048	$[M+H]^+$	$C_{10}H_8O_5$	fraxétine	*Fraxinus excelsior*	Wessely & Demmer, 1928
PDE 26	293,107	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{16}O_6$	7-(2',3'-époxy-3-méthylbutoxy)-8-hydroxy-6-méthoxycoumarine	Synthèse	Maes *et al.*, 2006
PDE 27	311,117	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{18}O_7$	7-(2',3'-dihydroxy-3'-méthylbutoxy)-8-hydroxy-6-méthoxycoumarine	*Pterocaulon alopecuroides*	Vilegas *et al.*, 1995
PDE 28	365,622	$[M+H]^+$	$C_{22}H_{36}O_4$	acétate de 12-hydroxy-6-(hydroxyméthyl)-10-méthyl-2-(4-méthylpent-3-ényl)dodéca-2,6,10-triényl	*Ageratina anisochroma*	Tamayo-Castillo *et al.*, 1988
PDE 29	301,374	$[M+H]^+$	$C_{21}H_{36}O_2$	h_69_calustérone-m	Urine	Segaloff *et al.*, 1979
PDE 30	303,236	$[M-H_2O+H]^+$	$C_{21}H_{36}O_2$	h_58_bolastérone-m	Urine	Hatton & Catlin, 1987
PDE 31	315,201	$[M+H]^+$	$C_{19}H_{32}O_2$	annosquamosine C	*Annona squamosa*	Yang *et al.*, 2002
PDE 32	317,216	$[M+H]^+$	$C_{20}H_{38}O_3$	acide 7-hydroxycallitrisique	*Juniperus chinensis*	Lee *et al.*, 1994
PDE 33	333,047	$[M+NH_4]^+$	$C_{20}H_{28}O_3$	acide méthyl-*ent*-12-oxopimara-9(11),15-dién-19-oïque	*Mikania triangularis*	Knudsen *et al.*, 1986
PDE 34	235,174	$[M+Na]^+$	$C_{20}H_{28}O_3$	déthiobiotine	*Bacillus sphaericus*	Iwahara *et al.*, 1966
PDE 35	287,060	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{10}O_6$	kaempférol	*Kaempferia galanga*	Perkin & Wilkinson, 1902

Ion préc : ion précurseur

III. 3. 7. 1. 2. Annotation du cluster 2

Le cluster 2 est constitué de 22 nœuds (**Figure 104**). La déréplication de ce cluster avec GNPS a mis en évidence la présence de composés appartenant aux familles des flavonoïdes et des diterpénoïdes. Plusieurs composés déjà isolés du genre *Psiadia* et plus précisément de l'espèce *P. dentata* ont pu être positionnés.

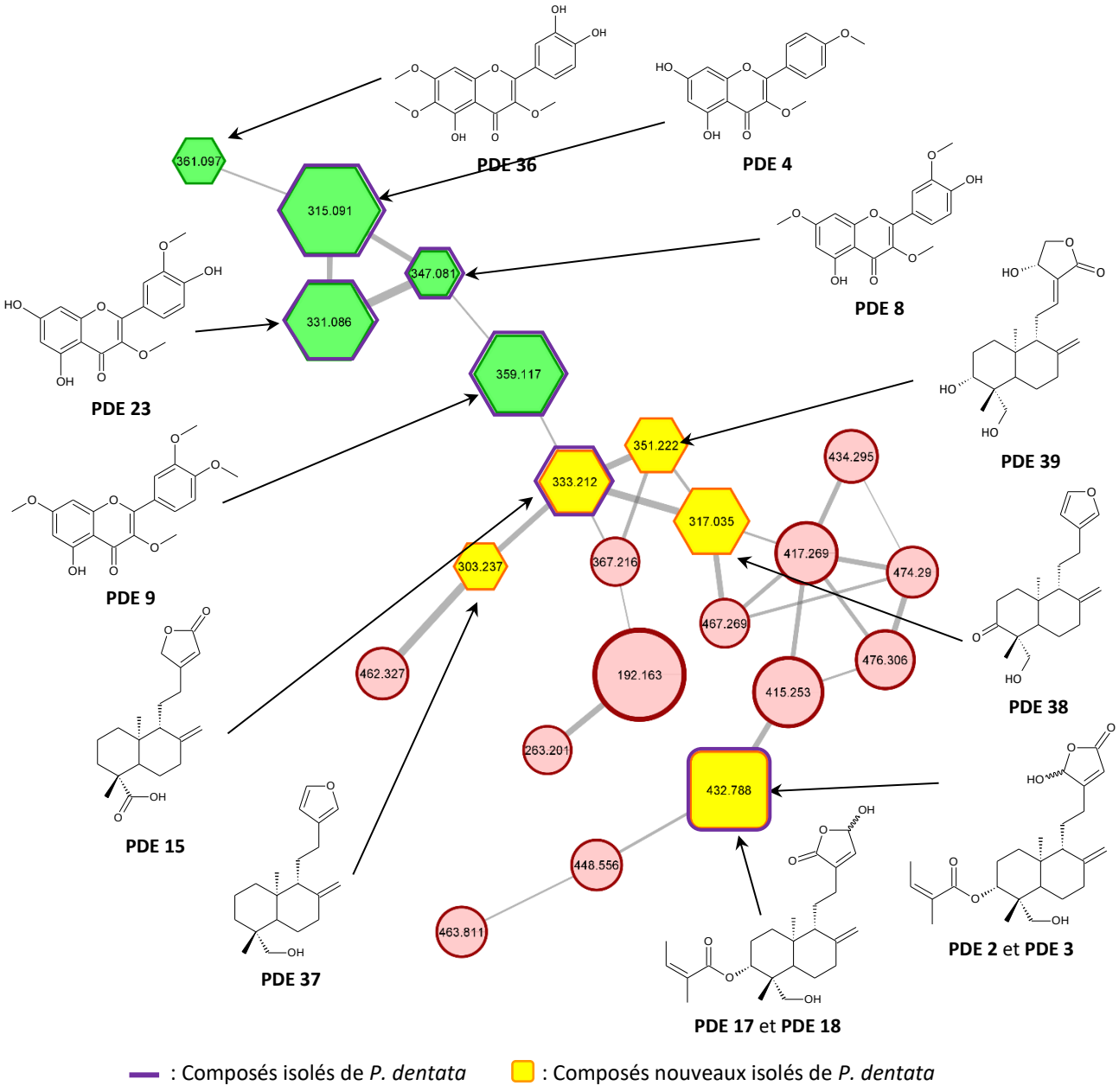


Figure 104 : Propositions d'annotation des nœuds du cluster 2.

- **Les flavonoïdes**

L'analyse d'une partie du cluster 2 révèle la présence de composés appartenant à la famille des flavonoïdes.

La recherche d'analogues structuraux indique que les spectres SM^2 des ions à *m/z* 315,091 ; 331,086 ; 347,081 ; 359,117 et 361,097 correspondent respectivement à ceux de l'ermanine (**PDE 4**), de la 3,3'-di-*O*-méthylquercétine (**PDE 23**), du pachypodol (**PDE 8**), de la rétusine (**PDE 9**) et du chrysosplénol D (**PDE 36**) (**Figure 160 - Annexe IX. 2. - Tome II - pages 208-209**). L'analyse des quatre flavonoïdes **PDE 4**, **PDE 8**, **PDE 9** et **PDE 23** isolés de *P. dentata* par CLUHP-SM^2 a permis de confirmer ces annotations. Le chrysosplénol D, quant à lui, a été isolé de l'espèce *P. trinervia* (Wang *et al.*, 1989). Ces cinq flavonoïdes se retrouvent bien sur un même cluster car ils sont structurellement proches.

- **Les diterpénoïdes**

L'analyse d'une autre partie du cluster 2 révèle la présence de composés appartenant à la famille des diterpènes.

La recherche d'analogues structuraux avec la base de données *in silico* Metfrag après avoir établi la masse de l'ion précurseur avec le logiciel Data Analysis, a indiqué une correspondance de la masse exacte et des spectres SM^2 des ions à *m/z* 303,237 ; 317,035 ; 333,212 et 351,222 avec respectivement le 6-déoxypsiadiol (**PDE 37**), le 3-oxo-19-hydroxy-13-furyl-*ent*-labda-8(17)-ène (**PDE 38**), l'acide *ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olid-19-oïque (**PDE 15**) et l'andrographolide (**PDE 39**) (**Figure 161 - Annexe IX. 2. - Tome II - pages 209-210**). Ces 4 molécules ont une structure relativement proche (squelette labdane, motif pentacyclique relié au squelette labdane par une chaine hydrocarbonée, groupe méthylène exocyclique), ce qui justifie leur position très proche sur le cluster 2.

Pour l'ion $[M+H]^+$ à *m/z* 432,788, une correspondance a été établie avec d'une part, les diastéréoisomères **PDE 2** et **PDE 3** et d'autre part, les diastéréoisomères **PDE 17** et **PDE 18**. L'analyse par CLUHP-SM^2 de ces composés purs isolés de *P. dentata* a permis d'établir ces annotations. Sur le réseau moléculaire, il est logique de ne pas les retrouver à côté des 5 diterpènes labdanes décrits précédemment, car leurs structures contiennent en plus un groupe angéloyle en position 3.

Toutefois, les 4 diastéréoisomères ne diffèrent que par la position du groupe hydroxyle sur le cycle à 5. Leurs masses moléculaires étant les mêmes, le réseau moléculaire obtenu n'a donc pas permis de discriminer ces isomères de structure. Il serait intéressant de visualiser le réseau avec le logiciel MetGem (https://metgem.github.io/) en faisant un prétraitement des spectres SM^2 sur le logiciel MZmine 2. La combinaison des capacités d'analyses des données de MZmine 2 et GNPS permet en effet de discriminer ces isomères en fonction de leur temps de rétention.

L'ensemble des propositions d'annotation des nœuds du cluster 2 est présenté dans le **tableau XX**.

Tableau XX : Annotation des nœuds du cluster 2.

N°	m/z	Ion préc.	Formule brute	Analogue structural	Source	Référence
PDE 2	432,788	$[M+H]^+$	$C_{25}H_{36}O_6$	3α-angéoyloxy-19,16(R)-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide	*Psiadia dentata*	-
PDE 3	432,788	$[M+H]^+$	$C_{25}H_{36}O_6$	3α-angéoyloxy-19,16(S)-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide	*Psiadia dentata*	-
PDE 4	315,091	$[M+H]^+$	$C_{17}H_{14}O_6$	ermanine	*Betula ermani*	Wollenweber, 1971
PDE 8	347,081	$[M+H]^+$	$C_{18}H_{16}O_7$	pachypodol	*Pachypodanthium confine*	Cavé *et al.*, 1973
PDE 9	359,117	$[M+H]^+$	$C_{19}H_{18}O_7$	rétusine	*Ariocarpus retusus*	Domínguez *et al.*, 1968
PDE 15	333,212	$[M+H]^+$	$C_{20}H_{28}O_4$	acide *ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olid-19-oïque	*Ricinicarpos muricatus*	Maniruddin & Ahmed, 1990
PDE 17	432,788	$[M+H]^+$	$C_{25}H_{36}O_6$	3α-angéoyloxy-19,15(R)-dihydroxy-*ent*-andrograpanine	*Psiadia dentata*	-
PDE 18	432,788	$[M+H]^+$	$C_{25}H_{36}O_6$	3α-angéoyloxy-19,15(S)-dihydroxy-*ent*-andrograpanine	*Psiadia dentata*	-
PDE 23	331,086	$[M+H]^+$	$C_{17}H_{14}O_7$	3,3'-di-*O*-méthylquercétine	*Nicotiana tabacum*	Yang *et al.*, 1960
PDE 36	361,097	$[M+H]^+$	$C_{18}H_{16}O_8$	chrysosplénol D	*Artemisia arborescens*	Mazur & Meisels, 1955
PDE 37	303,237	$[M+H]^+$	$C_{20}H_{30}O_2$	6-déoxypsiadiol	*Psiadia altissima*	Canonica *et al.*, 1967, 1969
PDE 38	317,035	$[M+H]^+$	$C_{20}H_{28}O_3$	3-oxo-19-hydroxy-13-furyl-*ent*-labda-8(17)-ène	*Gutierrezia grandis*	
PDE 39	351,222	$[M+H]^+$	$C_{20}H_{30}O_5$	andrographolide	*Andrographis paniculata*	Chakravarti & Chakravarti, 1952

Ion préc. : ion précurseur

III. 3. 7. 1. 3. Annotation du cluster 8

L'exploration du cluster 8 du réseau moléculaire, composé uniquement de 2 nœuds (**Figure 105**), a mis en évidence la présence de composés appartenant à la famille des flavonoïdes.

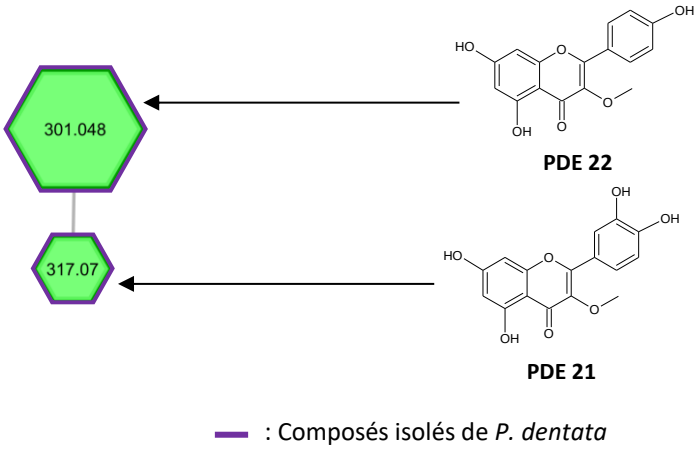


Figure 105 : Propositions d'annotation des nœuds du cluster 8.

La recherche d'analogues structuraux dans les bases de données du GNPS des deux ions précurseurs à *m/z* 301,048 (**PDE 22**) et 317,070 (**PDE 21**) (**Figure 162 - Annexe IX. 3. - Tome II - page 211**) observés sur ce cluster indique une correspondance avec des flavonols méthylés.

La fragmentation de l'ion $[M+H]^+$ à *m/z* 301,048 se fait au niveau des liaisons 0 et 2 et donne des ions relatifs à la fragmentation du squelette flavonique, notamment les ions $^{0,2}B^+$ à *m/z* 121,029 justifiant un cycle B monohydroxylé et $^{0,2}A^+$ à *m/z* 153,018 témoignant un cycle A dihydroxylé. On observe également deux fragments intenses à *m/z* 285,040 $[M+H-CH_3]^+$ et à *m/z* 286,047 $[M+H-O]^+$ correspondant respectivement à une perte de méthyle et d'oxygène. L'étude de ces spectres SM^2 ainsi que la recherche dans les bases de données a conduit à l'isokaempféride (**PDE 22**).

L'analyse du spectre SM^2 de l'ion $[M+H]^+$ à *m/z* 317,070 montre un pic de base à *m/z* 302,047 correspondant à l'ion $[M+H-CH_3]^+$, suivi des ions fragments à *m/z* 274,047 $[M+H-C_2H_3O]^+$, *m/z* 257,045 $[M+H-CH_3O-CO]^+$ et *m/z* 285,039 $[M+H-CH_3O]^+$. La coupure concerne les liaisons 1 et 3 et un ion fragment $^{1,3}A^+$ à *m/z* 153,018 est observé sur le spectre. La recherche d'analogues structuraux pour l'ion à *m/z* 317,070 a montré une correspondance avec la 3-*O*-méthylquercétine (**PDE 21**).

L'isokaempféride (**PDE 22**) et la 3-*O*-méthylquercétine (**PDE 21**) ont été isolés de *P. dentata* lors de cette thèse ; leurs analyses par CLUHP-SM^2 ont en conséquence servi d'étalons pour confirmer ces annotations.

Les propositions d'annotation des nœuds du cluster 8 sont présentées dans le **tableau XXI**.

Tableau XXI : Annotation des nœuds du cluster 8.

N°	m/z	Ion préc.	Formule brute	Analogue structural	Source	Référence
PDE 21	317,070	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{12}O_7$	3-*O*-méthylquercétine	*Nicotiana tabacum*	Yang *et al.*, 1960
PDE 22	301,048	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{12}O_6$	isokaempféride	*Alpinia galanga*	Jahns, 1881

Ion préc. : ion précurseur

III. 3. 7. 1. 4. Annotation des nœuds non clustérisés

L'analyse des nœuds non clustérisés présents sur le réseau indique la présence possible de flavonoïdes, de coumarines et d'alcaloïdes. 5 nœuds (**Figure 106**) ont conduit à des propositions cohérentes.

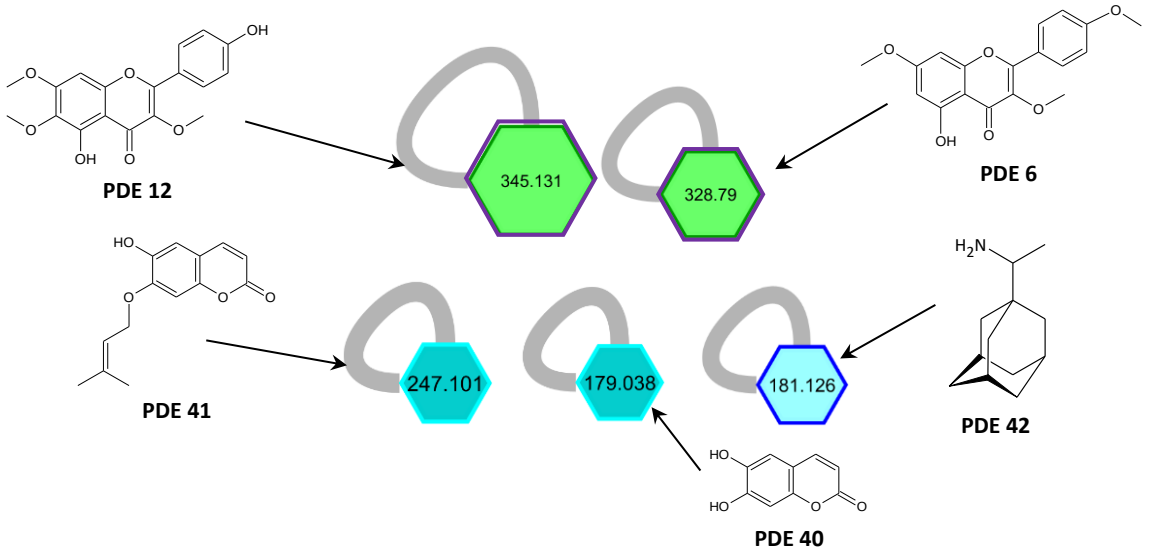


Figure 106 : Propositions d'annotation des nœuds non clustérisés.

- ***Les flavonoïdes***

Les spectres SM^2 des ions à *m/z* 328,790 et 345,131 (**Figure 163 - Annexe IX. 4. - Tome II - page 211**) montrent une correspondance avec des flavonoïdes.

Trois principaux ions fragments sont issus de l'ion $[M+H]^+$ à *m/z* 328,790. Il s'agit de l'ion *m/z* 135,044 correspondant à l'ion $^{0,2}B^+$ et justifiant un cycle B monométhoxylé, et des ions à *m/z* 314,072 $[M+H-CH_3]^+$ et à *m/z* 299,061 $[M+H-2CH_3]^+$ indiquant une perte successive de deux groupes méthyles. La recherche dans les bases de données indique une correspondance de l'ion à *m/z* 328,790 avec le kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther (**PDE 6**).

Le spectre SM^2 de l'ion à *m/z* 345,131, quant à lui, est constitué principalement des ions fragments à *m/z* 329,066 $[M+H-CH_3]^+$, à *m/z* 311,055 $[M+H-CH_3-OH]^+$, à *m/z* 287,055 $[M+H-CH_3O-OH]^+$ et de l'ion à *m/z* 121,029 qui est l'ion $^{0,2}B^+$. Une correspondance avec la pendulétine (**PDE 12**) est mise en évidence après une recherche dans les bases de données.

L'analyse par CLUHP-SM^2 de ces 2 flavonoïdes isolés de *P. dentata* a permis de confirmer ces annotations.

- ***Les coumarines***

La recherche d'analogues structuraux dans les bases de données du GNPS indique une correspondance de deux ions précurseurs à *m/z* 179,038 et 247,101 (**Figure 164 - Annexe IX. 4. - Tome II - page 212**) avec des coumarines.

La fragmentation d'une coumarine est caractérisée par un départ successif du groupement carbonyle CO (28 uma) (Cissé *et al.*, 2009).

Concernant tout d'abord le spectre SM^2 de l'ion précurseur à *m/z* 179,038, la présence des ions fragments à *m/z* 150,031 $[M+H-CO]^+$, à *m/z* 123,044 $[M+H-2CO]^+$ et à *m/z* 133,028 $[M+H-H_2O-CO]^+$ permet d'établir une correspondance avec l'esculétine (**PDE 40**).

La recherche dans ces mêmes bases de données de l'ion $[M+H]^+$ à *m/z* 247,101 indique une correspondance avec la prénylétine (**PDE 41**). Cette proposition d'annotation est renforcée par la présence sur le spectre SM^2 des ions fragments à *m/z* 179,034 $[M+H-C_5H_8]^+$, à *m/z* 151,039 $[M+H-CO]^+$, à *m/z* 133,029 $[M+H-H_2O-CO]^+$ et à *m/z* 123,044 $[M+H-2CO]^+$.

- ***Les alcaloïdes***

La recherche dans les bases de données du GNPS des nœuds uniques révèle la présence possible d'alcaloïdes.

Le spectre de l'ion à *m/z* 181,126 en particulier (**Figure 165 - Annexe IX. 4. - Tome II - page 212**) montre une correspondance avec un dérivé d'acide aminé, la rimantadine (**PDE 42**). En effet, on retrouve les différents ions fragments à *m/z* 163,112 $[M+H-NH_3]^+$, à *m/z* 135,117 $[M+H-NH_3-C_2H_4]^+$, à *m/z* 107,086 $[M+H-NH_3-2C_2H_4]^+$, à *m/z* 93,070 $[M+H-NH_3-C_2H_4-C_3H_6]^+$ et à *m/z* 81,070 $[M+H-NH_3-C_2H_4-C_4H_6]^+$.

Les propositions d'annotation des nœuds non clustérisés sont présentées dans le **tableau XXII**.

Tableau XXII : Annotations des nœuds non clustérisés.

N°	m/z	Ion préc.	Formule brute	Analogue structural	Source	Référence
PDE 6	328,79	$[M+H]^+$	$C_{18}H_{16}O_6$	kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther	*Cheilanthes farinosa*	Erdtman *et al*., 1966
PDE 12	345,131	$[M+H]^+$	$C_{18}H_{16}O_7$	pendulétine	*Brickelia pendula*	Flores & Herrán, 1958
PDE 40	179,038	$[M+H]^+$	$C_9H_6O_4$	esculétine	*Aesculus hyppocatanum*	Rochleder & Schwarz, 1853
PDE 41	247,101	$[M+H]^+$	$C_{14}H_{14}O_4$	prénylétine	*Ptaeroxylon obliquum*	Dean *et al.*, 1967
PDE 42	181,126	$[M+H]^+$	$C_{12}H_{21}N$	rimantadine	Synthèse	Stetter *et al.*, 1959

Ion préc. : ion précurseur

III. 3. 7. 2. Discussion

Une première exploration du réseau moléculaire obtenu à partir des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. dentata* a permis d'avoir un aperçu des métabolites présents dans cette espèce. En effet, parmi les 154 nœuds constituant le réseau moléculaire, 35 nœuds ont pu être annotés.

Les 35 composés annotés se répartissent en quatre grandes familles chimiques : les flavonoïdes, les terpénoïdes, les coumarines et les alcaloïdes.

- ***Les flavonoïdes***

L'exploration du réseau a révélé la présence possible de 10 flavonoïdes. 9 d'entre eux ont déjà été isolés de plusieurs espèces du genre *Psiadia* (Mahadeo *et al.*, 2018). Il s'agit de **PDE 4** (ermanine), **PDE 6** (kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther) , **PDE 8** (pachypodol), **PDE 9** (rétusine), **PDE 12** (pendulétine), **PDE 21** (3-*O*-méthylquercétine), **PDE 22** (isokaempféride) et **PDE 36** (chrysosplénol D). Ces composés ont été, pour la plupart, isolés des feuilles de *P. trinervia* (*Asteraceae*) (Wang *et al.*, 1989), de *P. terebinthina* (Marie *et al.*, 2006) et de *P. dentata* (Jakobsen *et al.*, 2001 ; Robin *et al.*, 1998). Seul le kaempférol n'a pas été retrouvé dans ce genre ; cependant il est présent dans diverses familles, notamment celle des A*steraceae* (Calderon-Montaño *et al.*, 2011 ; Tereschuk *et al.*, 2004) à laquelle appartient le genre *Psiadia*.

- ***Les terpénoïdes***

17 composés appartenant à la famille des terpénoïdes ont été révélés sur le réseau moléculaire. Ils se répartissent en 2 classes : les diterpènes (15) et les triterpènes (2).

Parmi les diterpènes, les composés nouveaux **PDE 2**, **PDE 3**, **PDE 11**, **PDE 17**, **PDE 18**, **PDE 19** et **PDE 20** ainsi que le composé connu **PDE 15** (acide *ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olid-19-oïque), isolés de *P. dentata* lors des travaux de la présente thèse ont été retrouvés. Notons également que

plusieurs ouvrages ont reporté l'isolement de diterpènes de squelettes labdane et kaurène au cours de l'étude chimique de quelques espèces du genre *Psiadia.* Prenons l'exemple des espèces *P. altissima* et *P. punctulata* pour lesquelles le psiadiol et le 6-déoxypsiadiol (**PDE 37**) (Canonica *et al.*, 1967, 1969) ainsi que l'acide *ent*-16β,17-dihydroxykauran-20-oïque, le 2-oxotrachyloban-18,19-diol et le trachyloban-2β,6β,19-triol (Midiwo *et al.*, 1997) ont été retrouvés. La présence des diterpènes sur le réseau moléculaire est donc en accord avec ces résultats antérieurs.

La présence de triterpènes sur le réseau est, quant à elle, soutenue par les résultats obtenus lors des travaux de thèse de Mahadeo K. (2018). En effet, deux triterpènes, l'α- et la β-amyrine, ont été isolés au cours de l'étude phytochimique de *P. arguta*.

Par ailleurs, l'étude métabolomique effectuée sur les composés non volatils de 11 espèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion a mis en évidence plusieurs signaux singulets entre 0,5 et 2,0 ppm sur le spectre RMN ^{1}H des extraits bruts à l'AcOEt de *P. melastomatoides* et de *P. retusa*. Ces signaux indiquent la présence possible de terpènes, notamment de diterpènes et de triterpènes dans ces deux espèces (Mahadeo, 2018).

- ***Les coumarines***

Cette déréplication des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. dentata* laisse supposer la présence de 6 coumarines dans l'espèce *P. dentata.* Parmi ces coumarines, **PDE 1** (isoobtusitine) et **PDE 24** (fraxétine) ont été isolées de l'espèce *P. dentata* lors des travaux de la présente thèse. L'isoobtusitine, en outre, a déjà été isolée de cette même espèce en 2001 par l'équipe de Fortin. Les composés **PDE 40** (esculétine) et **PDE 41** (prénylétine), quant à eux, ont déjà été retrouvés dans plusieurs espèces appartenant à la famille des *Asteraceae* (Rzodkiewicz *et al.*, 2016 ; Sari & Keçeci, 2019 ; Stein *et al.*, 2006 ; Urzúa, 2004) à laquelle appartient le genre *Psiadia*.

- ***Les alcaloïdes***

L'analyse du réseau moléculaire a mis en lumière la présence possible de deux composés appartenant à la famille des alcaloïdes dans *P. dentata*. Il s'agit de **PDE 34** (déthiobiotine) et **PDE 42** (rimantadine). Concernant plus particulièrement cette famille, à ce jour, aucun alcaloïde n'a été isolé des espèces du genre *Psiadia*. Notons toutefois que les criblages chimiques menés sur les extraits bruts de quelques espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar ont révélé la présence d'alcaloïdes dans les feuilles de *P. altissima* et de *P. lucida* après avoir effectué les tests aux réactifs de Dragendorff et de Wagner (Rakotoarison, 2008 ; Rakotomalala, 2014).

L'ensemble des molécules isolées et/ou détectées par CLHP-SM^{2} de *P. dentata* est reporté dans le **Tableau XLV - Annexe X. - Tome II - pages 214-226**.

III. 3. 8. Évaluation des activités biologiques des métabolites isolés

L'extrait brut de *P. dentata* (collecte estivale à Montauban) a été sélectionné pour une étude phytochimique en raison de ses activités biologiques multiples, à savoir une **activité antipaludique** (CI_{50} = 14,4 µg/mL), une **activité anti-inflammatoire** (CI_{50} = 9,6 µg/mL) et une **activité cytotoxique** sur les lignées cellulaires HepG2 (CI_{50} = 8,6 µg/mL), HT 29 (CI_{50} = 6,3 µg/mL) et HeLa (CI_{50} = 48,3 µg/mL).

Le fractionnement de cet extrait brut a permis d'obtenir 25 composés dont 15 connus et 10 nouveaux. De plus, le réseau moléculaire établi à partir des fractions iso-hexanique et méthanolique a complété cette composition chimique issue de l'isolement des composés, en mettant en évidence 17 composés supplémentaires (**PDE 26** à **42**) mentionnés dans la littérature.

Dans la littérature, il est fait mention des activités biologiques des 15 composés connus (**PDE 1**, **4**, **6**, **7** à **10**, **12** à **15** et **21** à **24**) isolés de l'extrait brut de *P. dentata* et des 8 composés (**PDE 31**, **32**, **35**, **36**, **39** à **42)** parmi les 17 connus annotés sur le réseau moléculaire. Une synthèse des principales propriétés pharmacologiques rapportées dans la littérature pour l'ensemble de composés connus est présentée dans les **Tableaux XLV et XLVI - Annexe X. - Tome II - pages 214-227**.

Afin de compléter les données issues de la littérature, les métabolites isolés ont été soumis aux trois tests d'activité pour lesquels l'extrait brut s'était montré bioactif.

III. 3. 8. 1. Activité antipaludique

Les tests d'activité antipaludique des molécules isolées ont été réalisés par l'équipe du Professeur Michel FREDERICH au Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Liège, Belgique.

❖ **Principe**

L'activité antipaludique des molécules isolées a été évaluée *in vitro* à travers la prolifération du parasite *Plasmodium falciparum* (souche 3D7, sensible à la chloroquine) (Jansen *et al.*, 2012). Les tests ont été effectués indépendamment en triplicat.

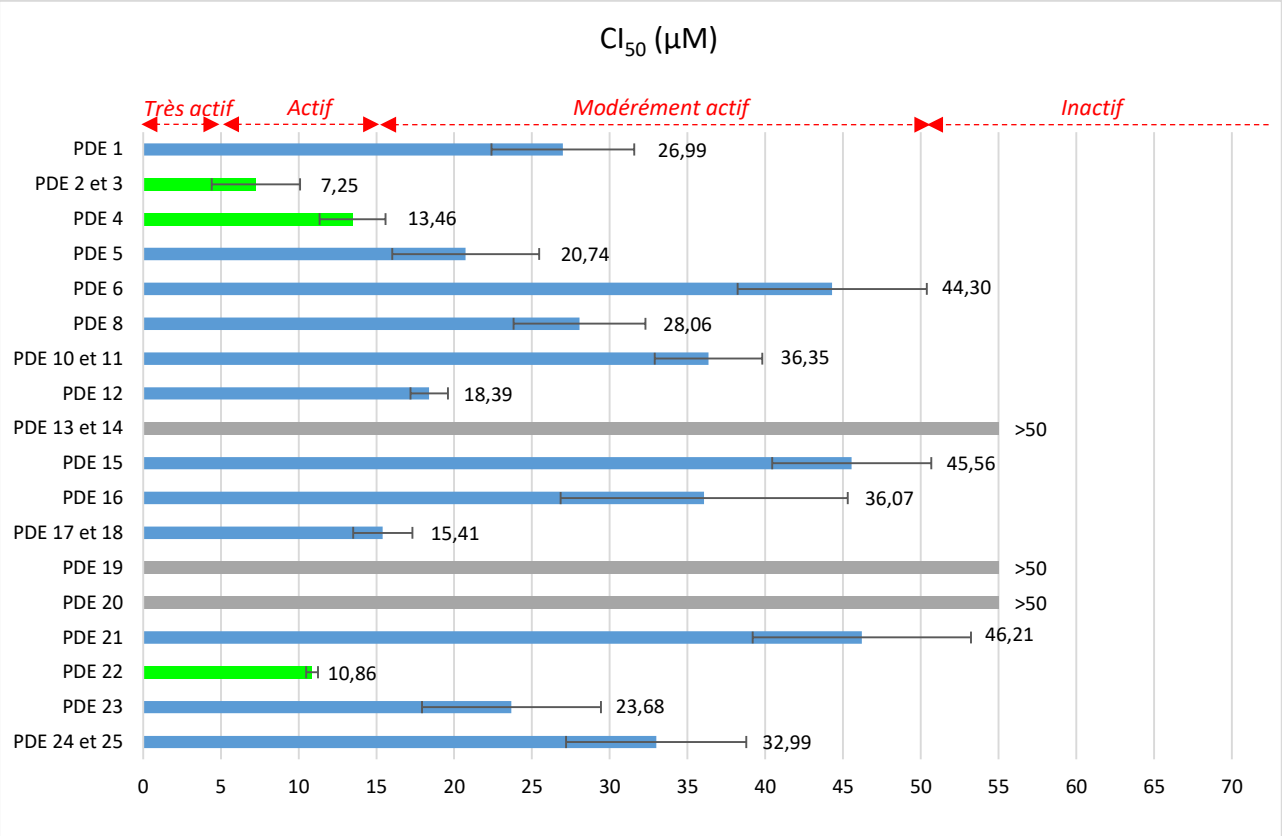
❖ **Résultats**

Les résultats sont présentés dans la **figure 107** mentionnant la concentration des molécules inhibant 50 % de la croissance parasitaire (CI_{50}). Notons que les métabolites **PDE 7** et le mélange **PDE 9** et **PDE 10** n'ont pas été testés en raison de leurs très faibles quantités disponibles.

Parmi les métabolites testés :

- Le mélange contenant les composés nouveaux **PDE 2** et **PDE 3**, les métabolites **PDE 4** et **PDE 22** ont affiché une activité inhibitrice de la croissance du parasite *Plasmodium falciparum* avec des CI_{50} entre 7,25 et 13,46 µg/mL.

- Les métabolites **PDE 1**, **PDE 5** à **PDE 12**, **PDE 15** à **PDE 18**, **PDE 21**, **PDE 23** à **PDE 25** affichent une activité modérée avec des CI_{50} allant de 15,41 à 46,21 µg/mL.
- Le mélange contenant les métabolites **PDE 13** et **PDE 14** ainsi que les métabolites **PDE 19** et **PDE 20** sont inactifs contre le parasite.



T : artémisinine (CI_{50} = 2,17 ng/mL)

Figure 107 : Résultats des tests antipaludiques des composés isolés de *P. dentata*.

III. 3. 8. 2. Activité anti-inflammatoire

Les tests d'activité anti-inflammatoire des molécules isolées ont été réalisés par l'équipe du Professeur Evelyne OLLIVIER et du Maître de Conférences Carole DI GIORGIO de l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE) de la Faculté de pharmacie de l'Université d'Aix-Marseille, France.

❖ **Principe**

L'activité anti-inflammatoire des molécules isolées a été évaluée *in vitro* sur des macrophages de souris immortalisés (lignée cellulaire RAW 264.7) en déterminant la concentration inhibant 50 % de la production d'oxyde nitrique. Une évaluation de la viabilité des cellules a été effectuée en parallèle pour valider l'activité (Iskandar *et al.*, 2018).

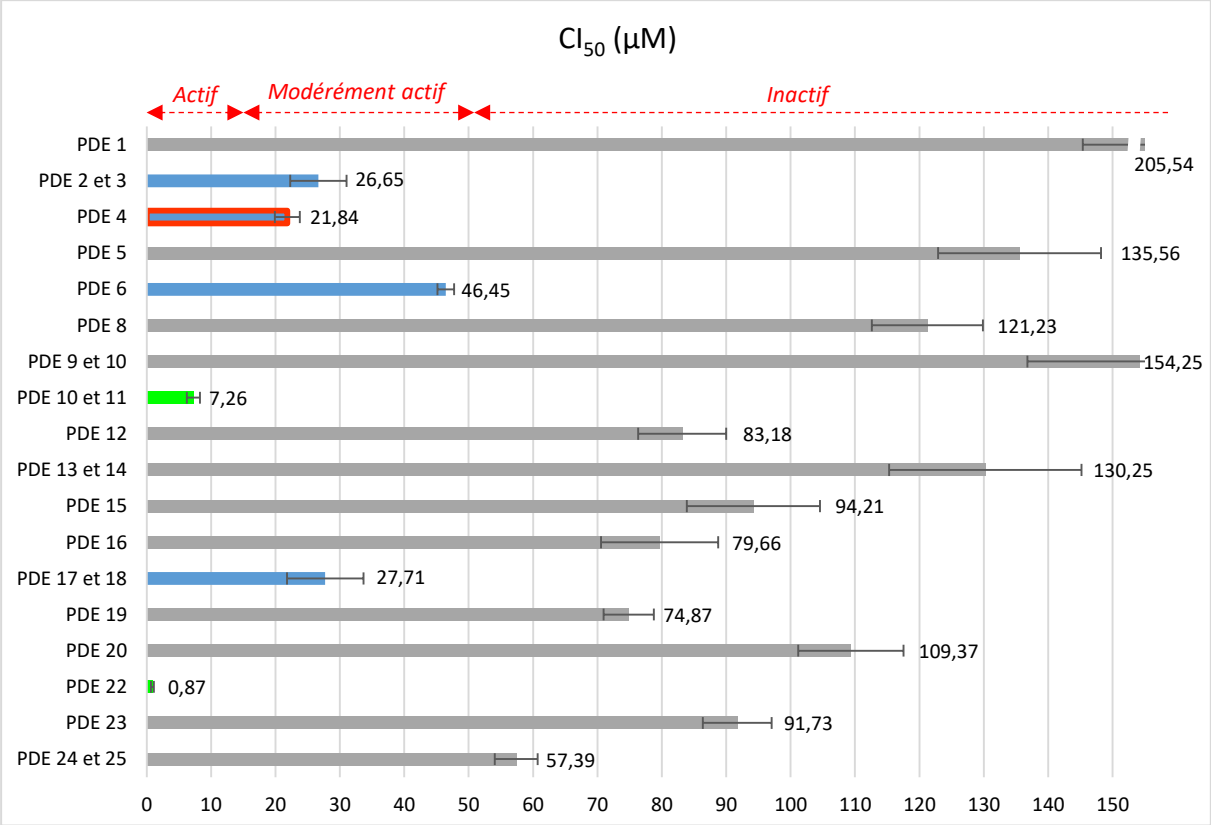
❖ Résultats

Les résultats des tests anti-inflammatoires sont présentés dans la **figure 108**. Notons que les composés **PDE 7** et **PDE 21** n'ont pas été testés en raison de leurs masses insuffisantes.

Parmi les métabolites testés :

- Le mélange contenant les composés nouveaux **PDE 10** et **PDE 11** ainsi que le métabolite **PDE 22** ont affiché une bonne activité inhibitrice de la production d'oxyde nitrique avec des CI_{50} respectives 7,26 et 0,87 µg/mL.
- Le mélange de **PDE 2** et **PDE 3**, les métabolites **PDE 4**, **PDE 6** et le mélange de **PDE 17** et **PDE 18** affichent une activité modérée avec des CI_{50} allant de 21,84 à 46,45 µg/mL.
- Les métabolites **PDE 1**, **PDE 5** et **PDE 8** à **PDE 10**, **PDE 12** à **PDE 16**, **PDE 19**, **PDE 20** et **PDE 23** à **PDE 25** sont inactifs avec des CI_{50} entre 57,39 et 205,54 µg/mL.

Toutefois, l'évaluation de la viabilité cellulaire de ces composés a montré des valeurs de CI_{50} supérieures à 100 µg/mL (supérieures à 250 µg/mL pour le plus grand nombre d'entre eux) à l'exception de **PDE 4** qui affiche une CI_{50} égale à 22,27 µg/mL. Ce dernier inhibe modérément la production d'oxyde nitrique et se révèle en même temps être toxique pour les cellules Raw. Il ne peut donc pas être considéré comme un agent anti-inflammatoire potentiel.



T : Dexaméthasone (CI_{50} = 3,36 µg/mL)

Figure 108 : Résultats des tests anti-inflammatoires des composés isolés de *P. dentata*.

III. 3. 8. 3. Activité cytotoxique

Les tests de cytotoxicité des molécules isolées ont été réalisés par l'équipe du Professeur Evelyne OLLIVIER et du Maître de Conférences Carole DIORGIO de l'IMBE de la Faculté de pharmacie de l'Université d'Aix-Marseille, France.

❖ **Principe**

L'activité cytotoxique des molécules isolées a été évaluée *in vitro* sur les cellules cancéreuses HEpG2, responsables du cancer du foie humain et sur les cellules HT 29, responsables du cancer du côlon (Hosry *et al.*, 2014).

❖ **Résultats**

Les résultats des tests cytotoxiques menés sur les métabolites isolés sont présentés dans la **figure 109**. Notons que les composés **PDE 7** et **PDE 21** n'ont pas été testés.

Parmi les composés testés, seul **PDE 4** a montré une cytotoxicité modérée avec des CI_{50} égales à 25,67 et 18,35 µg/mL vis-à-vis des lignées cellulaires HepG2 et HT 29 respectivement.

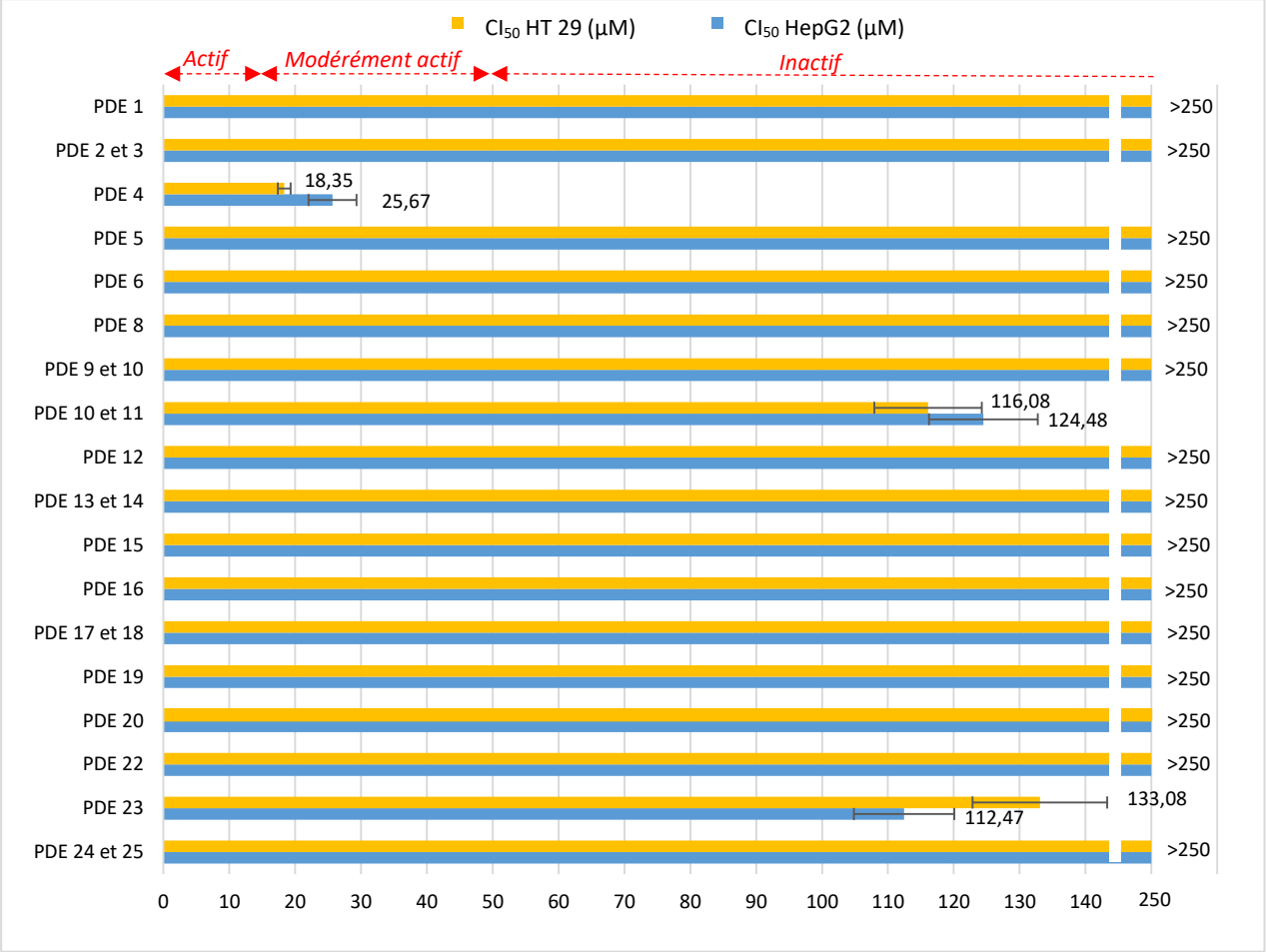


Figure 109 : Résultats des tests cytotoxiques des composés isolés de *P. dentata*.

III. 3. 8. 4. Discussion

La présente étude a permis de confirmer l'activité biologique relatée dans la littérature pour quelques-uns des métabolites isolés. En effet, des activités antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, antivirale et cytotoxique ont été recensées pour la majorité des métabolites connus isolés et/ou détectés sur le réseau moléculaire.

Concernant particulièrement les trois activités (antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique) sélectionnées dans le cadre de notre étude, la littérature mentionne que :

- les métabolites spécialisés **PDE 4**, **PDE 14**, **PDE 21** et **PDE 36** sont actifs contre le paludisme,
- les métabolites spécialisés **PDE 4**, **PDE 6** à **PDE 8**, **PDE 12**, **PDE 14**, **PDE 21** à **PDE 24**, **PDE 35**, **PDE 36** ainsi que **PDE 39** et **PDE 40** sont dotés de propriétés anti-inflammatoires,
- les métabolites spécialisés **PDE 4**, **PDE 6** à **PDE 9**, **PDE 12** à **PDE 14**, **PDE 21** à **PDE 24**, **PDE 35**, **PDE 36**, **PDE 39**, **PDE 40** et **PDE 42** révèlent une cytotoxicité.

Les résultats de ces trois activités biologiques obtenus dans le cadre de cette thèse pour les molécules isolées ont été comparés à ceux rapportés dans la littérature et sont présentés dans les **Tableaux XLV et XLVI - Annexe X. - Tome II - pages 214-227**.

- **Activité antipaludique**

Les résultats des tests menés sur les composés isolés ont révélé pour la première fois que les composés **PDE 1** à **PDE 3**, **PDE 5** à **PDE 12**, **PDE 15** à **PDE 18**, **PDE 22** à **PDE 25** présentent une activité antiplasmodiale. Pour deux autres composés, **PDE 4** (ermanine) (CI_{50} = 13,46 µg/mL) et **PDE 21** (3-*O*-méthylquercétine) (CI_{50} = 46,21 µg/mL), cette activité avait déjà été mentionnée (Al-Musayeib *et al.*, 2014 ; Filho *et al.*, 2009).

Il est à noter que le composé **PDE 14** (casticine) (CI_{50} > 50 µg/mL), quant à lui, a montré une activité antiplasmodiale lors des travaux de l'équipe d'Elford en 1987 et est resté inactif sur le parasite *Plasmodium falciparum* lors de nos tests.

La présence possible de **PDE 36** (chrysosplénol D), composé connu qui a été annoté sur le réseau moléculaire et qui a déjà révélé une activité antipaludique lors de travaux antérieurs (Liu *et al.*, 1992), peut également justifier l'activité de l'extrait brut de *P. dentata*.

- **Activité anti-inflammatoire**

Concernant l'activité anti-inflammatoire des composés isolés de *P. dentata*, l'activité de l'extrait brut serait principalement due aux composés connus **PDE 4** (ermanine), **PDE 6** (kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther), **PDE 10** (pendulétine 4'-méthyl éther) ainsi que **PDE 22** (isokaempféride) et les nouveaux diterpènes **PDE 2** et **3** (3α-angéoyloxy-19,16*(R)*- et 3α-angéoyloxy-19,16*(S)*-dihydroxy-*ent*-

labda-8(17),13-dién-15,16-olide respectivement), **PDE 11** (3α-angéloyloxy-15,19-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène), **PDE 17** et **18** (3α-angéoyloxy-19,15*(R)*- et le 3α-angéoyloxy-19,15*(S)*-dihydroxy-*ent*-andrograpanine respectivement).

Les résultats pour les composés **PDE 4** (CI_{50} = 21,84 µg/mL) et **PDE 22** (CI_{50} = 0,87 µg/mL) confirment ceux de travaux antérieurs (Abad *et al.*, 2004 ; Guerra *et al.*, 2006 ; Leal *et al.*, 2009 ; Martinez *et al.*, 1997). Les composés **PDE 6** (kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther) et **PDE 10** (pendulétine 4'-méthyl éther), qui n'avaient jamais été étudiés pour leur activité anti-inflammatoire, se sont révélés respectivement actif et modérément actif lors du présent test.

Le potentiel anti-inflammatoire de quelques composés, mis en lumière dans les travaux antérieurs (**Tableaux XLV et XLVI - Annexe X. - Tome II - pages 214-227**), n'a pas été retrouvé lors de nos tests. Il s'agit des composés **PDE 8** (pachypodol), **PDE 9** (rétusine)**, PDE 12** (pendulétine), **PDE 14** (casticine), **PDE 23** (3,3'-di-*O*-méthylquercétine) et **PDE 24** (fraxétine) (Chang *et al.*, 2020 ; Habib *et al.*, 2020 ; Hoi *et al.*, 2016 ; Horigome *et al.*, 2014). L'effet anti-inflammatoire des deux composés **PDE 7** (kumatakénine) et **PDE 21** (3-*O*-méthylquercétine), qui n'ont pu être testés lors de cette étude, a déjà été mentionné dans la littérature (Al-Dabbas *et al.*, 2006 ; Almeida *et al.*, 2021 ; Krenn *et al.*, 2009).

Étant donné que les composés **PDE 10** et **PDE 11** ont été obtenus en mélange et que ce mélange présente une activité anti-inflammatoire, alors que le mélange **PDE 9** et **PDE 10** reste inactif, on peut supposer que soit le composé nouveau **PDE 11** est responsable de cette activité, soit les deux composés (**PDE 10** et **PDE 11**) agissent en synergie pour inhiber la production d'oxyde nitrique.

L'analyse par CLUHP-SM^2 des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. dentata* a mis en lumière quatre composés ayant présenté une activité anti-inflammatoire dans la littérature. Il s'agit des composés **PDE 35** (kaempférol), **PDE 36** (chrysosplénol D), **PDE 39** (andrographolide) et **PDE 40** (esculétine). La présence possible de ces composés pourrait justifier également le potentiel anti-inflammatoire de l'extrait brut de *P. dentata*.

Par ailleurs, les feuilles de l'espèce *P. dentata* sont utilisées en cataplasme dans la pharmacopée locale pour traiter les abcès (Fortin *et al.*, 2001). La plante est également connue à La Réunion sous le nom de « Herbe trois jours » car réputée pour faire mûrir un furoncle en 72 heures (Lavergne, 2004). Elle est également utilisée pour soigner les piqûres d'insectes (Robin *et al.*, 1998). L'activité anti-inflammatoire de quelques composés connus et nouveaux isolés de cette espèce ainsi que celle des composés détectés par l'analyse CLUHP-SM^2 justifierait donc l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle.

- **Activité cytotoxique**

Concernant la cytotoxicité des composés isolés, l'activité de l'extrait brut de *P. dentata* sur les cellules cancéreuses HepG2 et HT 29 provient essentiellement du composé **PDE 4** (ermanine) (CI_{50} =

18,35 et 25,67 µg/mL respectivement). Cette activité est en accord avec celle présentée dans les travaux antérieurs. Ce composé a manifesté en effet une activité cytotoxique sur les lignées cellulaires cancéreuses du sein MCF-7 et de la bouche BHY (Banskota *et al.*, 1998 ; Salimi *et al.*, 2014).

En outre, la littérature a révélé une cytotoxicité du composé **PDE 7** (kumataténine) qui n'a pu être testé lors de ces travaux de thèse, et des composés **PDE 8** et **PDE 9**, **PDE 12** à **PDE 14** et **PDE 21** à **PDE 24**. Cependant, cette activité n'a pas été retrouvée lors de nos tests. Cela peut s'expliquer par le choix des lignées cellulaires cancéreuses qui diffère.

Plusieurs composés annotés du réseau moléculaire ont montré une cytotoxicité sur diverses lignées cellulaires cancéreuses. Il s'agit de **PDE 31**, **PDE 32**, **PDE 35**, **PDE 36**, **PDE 39**, **PDE 40** et **PDE 42**. Ces composés pourraient également être responsables de l'activité cytotoxique de l'extrait brut.

- **Activité antifongique**

L'espèce *P. dentata* constitue également une source précieuse de molécules antifongiques. En effet, plusieurs études ont déjà fait état d'une activité antifongique des composés connus isolés et détectés par CLUHP-SM^2, à savoir **PDE 6** (kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther), **PDE 7** (kumataténine) , **PDE 21** (3-*O*-méthylquercétine), **PDE 24** (fraxétine) et **PDE 41** (prénylétine). Ces résultats concordent avec l'usage traditionnel de la plante pour soigner les infections de la peau dues aux mycoses (Robin *et al.*, 1998).

Enfin, il est à noter que d'autres composés présents dans l'extrait brut de *P. dentata* et n'ayant pas été isolés ou annotés sur le réseau moléculaire pourraient également participer aux activités antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique de l'extrait brut.

III. 3. 9. Conclusion

L'étude phytochimique de ***P. dentata*** nous a permis d'isoler 12 flavonoïdes, 10 diterpènes et 3 coumarines. Parmi les 10 diterpènes, un seul composé est connu dans la littérature. Il s'agit de l'acide *ent*-8(17)-labda-13-dién-15,16-olid-19-oïque (**PDE 15**). Les 9 autres sont de structures nouvelles. Parmi les 3 coumarines, outre l'isoobtusitine (**PDE 1**) et la fraxétine (**PDE 24**), une nouvelle structure a été établie. Les flavonoïdes obtenus sont tous des composés connus. La plupart des composés isolés, notamment l'isoobtusitine (**PDE 1**), l'ermanine **(PDE 4**), le pachypodol (**PDE 8**), la pendulétine 4'-méthyl éther (**PDE 10**), la casticine (**PDE 14**), la 3-*O*-méthylquercétine (**PDE 21**), l'isokaempféride (**PDE 22**) et le 3,3'-di-*O*-méthylquercétine (**PDE 23**), ont déjà été isolés de quelques espèces du genre *Psiadia*.

Ces résultats du fractionnement de l'extrait brut ont été complétés par ceux obtenus par la déréplication des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. dentata* par l'analyse CLUHP-SM^2. En effet, le réseau moléculaire obtenu a permis de supposer la présence d'autres composés, à savoir des flavonoïdes tels que le kaempférol (**PDE 35**) et le chrysosplénol D (**PDE 36**), des

coumarines telles que l'esculétine (**PDE 40**) et la prénylétine (**PDE 41**), des terpénoïdes tels que l'annosquamosine C (**PDE 31**), le 6-déoxypsiadiol (**PDE 37**) et l'andrographolide (**PDE 39**) ainsi que quelques alcaloïdes comme la déthiobiotine (**PDE 34**) et la rimantadine (**PDE 42**).

Les composés isolés ont été testés par la suite afin d'évaluer leur potentiel antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique. Les résultats des tests menés ont montré que 21 composés possèdent une action antiproliférative sur le parasite *Plasmodium falciparum* dont 4 affichent une activité remarquable. Il s'agit du mélange contenant les composés nouveaux **PDE 2** et **3** (CI_{50} = 7,25 µg/mL) et des composés **PDE 4** (CI_{50} = 13,46 µg/mL) et **PDE 22** (CI_{50} = 10,86 µg/mL). Concernant l'activité anti-inflammatoire, 3 composés sont actifs : le mélange contenant le composé connu **PDE 10** et le composé nouveau **PDE 11** (CI_{50} = 7,26 µg/mL) ainsi que le composé **PDE 22** (CI_{50} = 0,87 µg/mL). Six autres composés présentent une activité modérée. Seul le composé **PDE 4** a manifesté une cytotoxicité sur les lignées cellulaires cancéreuses HepG2 et HT 29.

De plus, les recherches bibliographiques, menées sur les composés connus isolés de l'extrait brut de *P. dentata* et/ou détectés par l'analyse CLUHP-SM^2, ont montré que *P. dentata* renferme des métabolites aux diverses propriétés biologiques prometteuses telles que les activités antimicrobienne (**PDE 6**, **PDE 7**, **PDE 24**, …), antivirale (**PDE 1**, **PDE 4** et **PDE 22**, **PDE 42**, …), antioxydante (**PDE 8**, **PDE 35**, …) et cytotoxique (**PDE 14**, **PDE 22**, **PDE 39**, …) (**Tableaux XLV et XLVI - Annexe X. - Tome II - pages 214-227**). Les activités anti-inflammatoire, antifongique de quelques composés tels que **PDE 4**, **PDE 6**, **PDE 7, PDE 21, PDE 22** et **PDE 41** ont permis de justifier l'utilisation de cette espèce en médecine traditionnelle. Ces données ainsi que les résultats obtenus lors de ces travaux de thèse valorisent davantage cette espèce endémique de La Réunion et justifient pleinement l'intérêt de sa conservation.

Conclusion générale

Les travaux de thèse présentés dans ce manuscrit s'inscrivent dans le cadre du projet PHAR et ont été réalisés dans 5 laboratoires universitaires :

- le Laboratoire ChembioPro, de l'Université de La Réunion
- le Laboratoire de chimie organique, de l'École Supérieure Polytechnique d'Antananarivo, Madagascar
- le Laboratoire de Pharmacognosie, de l'Université de Liège, Belgique
- le Spectropole d'Aix-Marseille Université
- l'Institut Méditerranéen de la Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE), de l'Université d'Aix-Marseille.

Dans la continuité des travaux de thèse de Mahadeo K., soutenue en 2018, ces travaux avaient pour objectif d'étendre l'étude chimique des espèces du genre *Psiadia* aux espèces endémiques de Madagascar, et ce afin d'avoir une vue d'ensemble sur les espèces du genre *Psiadia* endémiques des trois îles : Madagascar, Maurice et La Réunion.

La **première partie** de ces travaux a été consacrée à une étude bibliographique relative au genre *Psiadia* et aux six espèces réunionnaises et malgaches étudiées (*P. altissima* avec ses deux variétés *altissima* et *stenophylla*, *P. dentata*, *P. hispida*, *P. leucophylla*, *P. lucida* et *P. salviifolia*). Cette recherche comprend les données botaniques de ces espèces, leurs utilisations traditionnelles et les données phytochimiques et pharmacologiques. Il en ressort que peu d'ouvrages présentent les usages traditionnels de ces espèces et très peu d'études ont été menées sur leurs compositions chimiques et leurs activités biologiques. Pour l'espèce *P. altissima*, endémique de Madagascar, les données de la littérature sur les usages traditionnels et la composition chimique ne présentent pas de distinction entre les 4 variétés (*altissima*, *andringitrensis*, *occidentalis* et *stenophylla*). Toutefois, nous avons supposé que ces données concernaient probablement la variété *P. altissima* var. *altissima* qui est la plus abondante sur l'île. Bien que 4 des espèces étudiées (*P. altissima* var. *altissima*, *P. dentata*, *P. lucida* et *P. salviifolia*) soient dotées d'activités biologiques (antibactérienne, antifongique, broncho-relaxant, cicatrisante, antivirale, antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique), seules les espèces *P. altissima* et *P. dentata* ont été étudiées pour la recherche de principes actifs. Ces études, décrites dans la littérature, ont conduit à la caractérisation de 3 diterpènes pour l'espèce *P. altissima* et de 6 composés phénoliques, dont 5 flavonoïdes et une coumarine, pour l'espèce *P. dentata*. Cette dernière est, par ailleurs, inscrite à la Pharmacopée française dans la liste A depuis 2019.

La **deuxième partie** de ces travaux a été consacrée à l'étude comparative de la composition chimique des huiles essentielles (HE) des feuilles de 5 espèces du genre *Psiadia* endémiques de

Madagascar. Ces travaux ont montré que les espèces *P. altissima* avec ses deux variétés *altissima* et *stenophylla*, *P. hispida* et *P. salviifolia* possèdent un profil chimique, relativement proche, constitué principalement d'hydrocarbures monoterpéniques (63,1-78,7 %) et sesquiterpéniques (5,7-25,7 %). Le lieu de collecte n'a pas d'influence sur la composition de l'HE de *P. altissima* var. *altissima*. L'espèce *P. leucophylla*, quant à elle, présente une composition chimique différente de celles des autres espèces, se caractérisant par une teneur élevée en sesquiterpènes hydrocarbonés (66,4 %) et en diterpènes oxygénés (6,4 %). Enfin, l'espèce *P. lucida*, quant à elle, présente un profil chimique variable en fonction du lieu de collecte. En effet, le spécimen d'Angavokely est riche en monoterpènes hydrocarbonés (28,6 %) et oxygénés (60,5 %) ; tandis que ceux d'Andasibe et d'Ankaratra sont riches en sesquiterpènes hydrocarbonés (25,6-46,6 %) et oxygénés (32,0-32,9 %).

La **troisième partie** du travail a été consacrée à l'étude des composés non volatils des espèces étudiées afin de découvrir des molécules, à haute valeur ajoutée dans le domaine de la santé.

La ***première étape*** de ce travail comprenait un criblage chimique et biologique des cinq espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar. Les cibles biologiques choisies étaient le parasite *Plasmodium falciparum*, responsable du paludisme, les macrophages de souris stimulés par un composé pro-inflammatoire et les lignées cellulaires cancéreuses HepG2 (du cancer de foie humain) et HT 29 (cancer du côlon). Le criblage chimique a mis en évidence une richesse en métabolites secondaires pour toutes les espèces étudiées, une composition chimique similaire pour l'espèce *P. altissima*, quel que soit le lieu de collecte et une variabilité géographique de la composition chimique de l'espèce *P. lucida*. Le criblage biologique a révélé un potentiel antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique pour l'ensemble des extraits. Toutefois, deux espèces présentaient un fort intérêt pharmacologique : *P. lucida* collectée à Ankaratra, pour sa forte activité antipaludique et sa cytotoxicité sur les lignées cellulaires cancéreuses HepG2 et HT 29 et *P. altissima* var. *altissima* collectée à Moramanga, pour sa forte activité anti-inflammatoire et sa faible toxicité en même temps sur les cellules Raw. L'espèce *P. lucida* a été privilégiée pour une étude phytochimique approfondie dans le cadre de cette thèse. Toutefois, celle de *P. altissima* var. *altissima* sera envisagée ultérieurement.

Les criblages chimique et biologique réalisés sur les onze espèces réunionnaises, menés dans le cadre des travaux de thèse de K. Mahadeo (2018) ont mis en lumière l'espèce *P. dentata*, présentant non seulement une activité antipaludique, mais également un potentiel anti-inflammatoire et moyennement cytotoxique. Cette espèce a également été sélectionnée pour une étude phytochimique approfondie dans le cadre de la présente thèse.

La ***deuxième étape*** de ces travaux a été consacrée à l'étude phytochimique de ces deux espèces sélectionnées. Les travaux entrepris pour chaque espèce comprenaient d'une part, l'isolement, l'élucidation structurale et l'évaluation des activités biologiques de leurs métabolites

spécialisés et d'autre part, la réalisation de réseaux moléculaires à partir des fractions iso-hexanique et méthanolique issues de leurs extraits bruts afin de détecter la présence d'autres métabolites bioactifs.

L'étude phytochimique de *P. lucida* a conduit à l'obtention de 9 métabolites spécialisés appartenant à la famille des acides hydroxycinnamiques et des polyacétylènes, dont 6 sont de structure nouvelle (*). Ces 9 composés n'ont jamais été isolés des espèces du genre *Psiadia* :

- glycérol (**PLU 1**)
- acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique (**PLU 2**)
- 12-hydroxy-3(*R*),8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 3**)*
- 11-hydroxy-3(*R*),8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 4**)*
- 12*(R)*-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 5**)*
- 12*(S)*-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 6**)*
- 9,10-dihydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 7**)*
- 11-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol **(PLU 8)***
- 3*(R)*,8*(S)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 9**)

Parmi ces composés isolés : 6 présentent une activité antipaludique (**PLU 2** et **PLU 5** à **PLU 9**), 2 affichent une activité anti-inflammatoire et se révèlent en même temps être non toxiques sur les cellules Raw (**PLU 2** et **PLU 9**). Les six composés nouveaux (**PLU 3** à **PLU 8**) démontrent, quant à eux, une cytotoxicité prometteuse sur HepG2 et HT 29.

L'exploration du réseau moléculaire de *P. lucida*, constitué de 160 nœuds, révèle une diversité chimique bien plus importante. En effet, la déréplication a permis de supposer la présence de 10 autres composés appartenant à la famille des polyacétylènes, des flavonoïdes, des acides hydroxycinnamiques, des diterpènes et des coumarines. Les nœuds qui n'ont pu être annotés démontrent, en outre, une certaine originalité structurale. Ces 10 composés annotés sont connus pour être bioactifs (antidiabétiques, antimicrobiens, antioxydants, anti-inflammatoires, …) dans des travaux antérieurs.

L'étude phytochimique de *P. dentata* a permis d'obtenir 25 métabolites spécialisés appartenant à la famille des flavonoïdes, des diterpènes et des coumarines. 10 composés sont de structure nouvelle (*). Les 25 composés sont :

- isoobtusitine (**PDE 1**)
- 3α-angéoyloxy-19,16*(R)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide (**PDE 2**)*
- 3α-angéoyloxy-19,16*(S)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide (**PDE 3**)*
- ermanine (**PDE 4**)
- acide 3α-angéoyloxy-16-hydroxy-*ent*-labda-8(17)-én-13-oïque (**PDE 5**)*

- kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther (**PDE 6**)
- kumatakénine (**PDE 7**)
- pachypodol (**PDE 8**)
- rétusine (**PDE 9**)
- pendulétine 4'-méthyl éther (**PDE 10**)
- 3α-angéloyloxy-19-hydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-dién-15-al (**PDE 11**)*
- pendulétine (**PDE 12**)
- chrysosplénétine (**PDE 13**)
- casticine (**PDE 14**)
- acide *ent*-8(17),13-labdadién-15,16-olid-19-oïque (**PDE 15**)
- 3α-angéoyloxy-19-hydroxy-15,16-diméthoxy-*ent*-labda-8(17)-én-furan-13,14-diol (**PDE 16**)*
- 3α-angéoyloxy-19,15*(R)*-dihydroxy-*ent*-andrograpanine (**PDE 17**)*
- 3α-angéoyloxy-19,15*(S)*-dihydroxy-*ent*-andrograpanine (**PDE 18**)*
- 3α-angéloyloxy-15,16-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène (**PDE 19**)*
- 3α-angéloyloxy-15,16,19-trihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène (**PDE 20**)*
- 3-*O*-méthylquercétine (**PDE 21**)
- isokaempféride (**PDE 22**)
- 3,3'-di-*O*-méthylquercétine (**PDE 23**)
- fraxétine (**PDE 24**)
- 5-hydroxydihydroluvangétine (**PDE 25**)*

Parmi ces composés, 8 ont déjà été isolés à partir des espèces du genre *Psiadia* (**PDE 1**, **PDE 4**, **PDE 8**, **PDE 14** et **PDE 21** à **PDE 23**).

L'évaluation de leurs activités biologiques a montré que 21 composés présentent une activité antipaludique dont 4 affichent une activité remarquable (**PDE 2**, **PDE 3**, **PDE 4** et **PDE 22**), 8 composés affichent une activité anti-inflammatoire (**PDE 2**, **PDE 3**, **PDE 6**, **PDE 10**, **PDE 11**, **PDE 17**, **PDE 18** et **PDE 22**). Seul le composé **PDE 4** a manifesté une cytotoxicité sur les lignées cellulaires cancéreuses HepG2 et HT 29.

La génération d'un réseau moléculaire, composé de 154 nœuds, a permis de mettre en évidence la présence de 17 autres composés appartenant à la famille des flavonoïdes, des terpénoïdes, des coumarines et des alcaloïdes. Ces composés sont connus pour être bioactifs.

Ces résultats obtenus lors de l'étude phytochimique de *P. lucida* et de *P. dentata* justifient, par ailleurs, leurs utilisations en médecine traditionnelle.

Au regard des résultats obtenus au cours de cette thèse, plusieurs pistes d'étude pourraient être envisagées :

- Plusieurs molécules isolées des deux espèces *P. lucida* et *P. dentata* sont dotées de potentiel bioactif *in vitro*. Il serait intéressant d'évaluer les activités biologiques de ces composés *in vivo* afin d'apprécier l'activité réelle de ces molécules et de comprendre leur mécanisme d'action.

- Faute de temps, l'extrait brut de *P. altissima* var. *altissima*, n'a pu être exploré. Cependant, cet extrait s'est révélé être une source de métabolites spécialisés biologiquement actifs. Pour exploiter ce potentiel, une étude phytochimique complète sur cette espèce pourra être envisagée. Par ailleurs, une réalisation du réseau moléculaire de l'extrait brut permettra d'orienter le fractionnement des composés bioactifs. Afin de prédire plus finement les molécules d'intérêts sur le réseau, il conviendrait d'évaluer les activités biologiques des fractions générées.

- Le réseau moléculaire obtenu par cytoscape n'a pas permis de distinguer les isomères présents dans les deux espèces *P. lucida* et *P. dentata.* Il conviendrait ainsi de réaliser le réseau moléculaire à partir du logiciel Metgem après avoir prétraité les spectres SM^2 à l'aide du logiciel MZmine. La création de ce réseau *via* Metgem prend en compte les temps de rétention de chaque composé, ce qui permettra probablement, par la suite, de distinguer ces isomères.

- La configuration absolue des polyacétylènes isolés de *P. lucida* et des nouveaux diterpènes isolés de *P. dentata* n'a pas été déterminée lors de la présente thèse. Ceci pourra être examiné, soit par dichroïsme circulaire vibrationnel (VCD) et dichroïsme circulaire électronique (ECD), soit par RMN en ajoutant un agent chiral de solvatation ou de dérivation tel que le sel de Mosher.

- Plusieurs espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar restent encore inexploitées. L'étude chimique de ces espèces pourra être envisagée afin de constituer des informations utiles à leur préservation et à leur valorisation.

- Il serait également intéressant pour l'ensemble des espèces du genre *Psiadia* de la zone Océan Indien de mener une analyse par CLUHP-SM^2 de leurs extraits bruts, dans les mêmes conditions opératoires, en vue d'une comparaison de leur profil chromatographique et ainsi permettre une identification rapide des métabolites spécifiques à chaque espèce. Ceci permettra également d'établir une base de données sur le genre *Psiadia*.

Partie expérimentale

I. Procédures générales

I. 1. Le matériel végétal

Les espèces étudiées dans le cadre de cette thèse ont été collectées :

- à La Réunion, pendant les saisons estivale et hivernale au cours de l'année 2015,
- à Madagascar, entre Octobre 2018 et Janvier 2019.

Les descriptions de la collecte sont données respectivement dans les **Tableau I - Tome I - page 2** et **Tableau I - Annexe I - Tome II - page 4**. Les feuilles fraîches ont été utilisées pour l'étude des composés volatils et les feuilles séchées à l'air libre ont été utilisées pour la réalisation des extraits bruts.

I. 2. Les solvants

L'extraction, les analyses par CCM et le fractionnement par chromatographie sur colonne ouverte et par CLMP ont été réalisés au moyen de solvants (Fisher Scientific et Carlo Erba) de qualité analytique (99 % de pureté).

Les fractionnements et les analyses effectués en CLHP et en CLUHP ont été effectués avec les solvants de qualité CLHP (100 % de pureté). L'eau utilisée a été purifiée à partir d'un système Millipore (Simplicity).

Les analyses par RMN ont été réalisées avec des solvants deutérés (Euriso-top).

I. 3. Les réactifs

- Acide formique (AF) (Carlo Erba) (99 %)
- Acide sulfurique concentré (Carlo Erba) (95 %)
- Vanilline sulfurique (Merck) (99 %)
- Sulfate de sodium (Fisher Scientific) (98 %)

I. 4. Les techniques chromatographiques

I. 4. 1. La Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

Les analyses par CCM ont été réalisées en phase normale sur des plaques analytiques en aluminium recouvertes d'un gel de silice 60 Å de 0,2 mm d'épaisseur et imprégnées d'un indicateur de

fluorescence à l'UV 254 nm. Les plaques ont été éluées avec un mélange binaire de solvants dont la polarité est fonction du type de molécules étudiées et de la séparation désirée.

I. 4. 2. La Chromatographie Liquide à Moyenne Pression (CLMP)

Les séparations par CLMP ont été effectuées en phase normale au moyen d'un système Sepacore (Buchi) muni de deux modules de pompes C-605, d'un programmateur de pompe C-615 et d'un collecteur de fractions C-660. Les colonnes utilisées (230 x 15 mm et 100 x 15 mm) ont été remplies avec un gel de silice (Macherey-Nagel MN Kieselgel 60, 0,063-0,2 µm). Les solvants utilisés ont été préalablement filtrés (**Figure 110**).

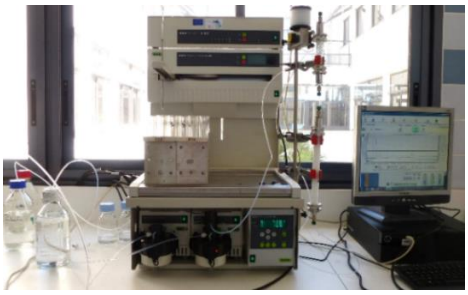


Figure 110 : Appareil CLMP pour le fractionnement (*Laboratoire ChemBioPro*).

I. 4. 3. La chromatographie sur colonne ouverte

Les fractionnements sur colonne ouverte ont été réalisés en utilisant une colonne de diamètre intérieur de 1 cm, remplie avec un gel de silice normale (Macherey-Nagel MN Kieselgel 60, 0,063-0,2 µm). L'élution a été effectuée au moyen d'un mélange binaire de solvant de polarité croissante qui s'écoule sous l'effet de la gravité.

I. 4. 4. La Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP)

Les CLHP analytiques et semi-préparatives ont été réalisées sur trois systèmes différents :

❖ **Une chaîne d'auto-purification Waters 2545** (**Figure 111**), pilotée par le logiciel MassLynx. Le système est couplé en série à :

- un détecteur UV à barrette de photodiodes DAD (190-800 nm, Waters 2998),
- un détecteur évaporatif à diffusion de lumière DEDL (Waters 2424) équipé d'un générateur de diazote de type Alliance (Thermo Scientific),
- un collecteur automatique (Waters 2767) piloté par un logiciel FractionLynx.

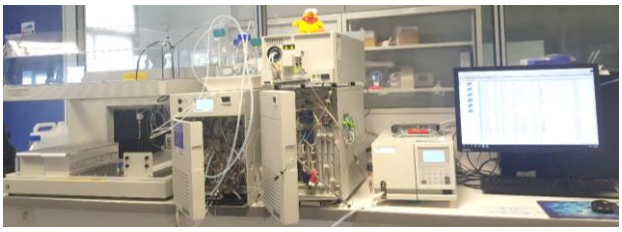


Figure 111 : Système d'auto-purification Waters 2545 (*Laboratoire ChemBioPro*).

❖ **Une chaîne analytique Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific)** (**Figure 112**), pilotée par le logiciel Chroméléon. Le système est couplé en série à :

- un détecteur UV à barrette de diodes DAD (190-800 nm, Thermo Scientific),
- un détecteur d'aérosols chargés (CAD) Corona Ultra RS équipé d'un générateur de diazote de type Alliance (Thermo Scientific),
- un collecteur automatique AFC-3000 (Thermo Scientific).

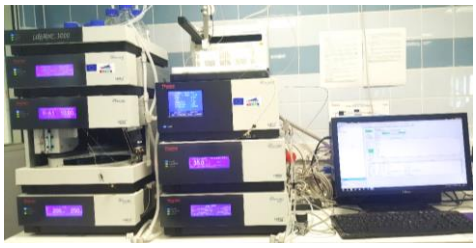


Figure 112 : Chaîne CLHP analytique Dionex Ultimate 3000 (*Laboratoire ChemBioPro*).

❖ **Une chaîne analytique Agilent Technologies 1100 séries** (**Figure 113**), pilotée par le logiciel Chemstation. Le système est couplé en série à :

- un détecteur UV à barrette de photodiodes DAD (190-600 nm) (Serie Agilent 1100 G1315B),
- un spectromètre de masse SM (Serie Agilent 1100 G1956A) équipé d'un générateur d'azote de type Claino.

Figure 113 : Chaîne CLHP analytique Agilent (*Laboratoire ChemBioPro*).

Les colonnes analytiques et semi-préparatives utilisées ont été les suivantes :

- La colonne analytique Phenomenex Gemini C18 (3 µm), 4,6 x 150 mm

- La colonne analytique Kinetex biphényl (5 µm), 4,6 x 250 mm
- La colonne analytique Synergi hydro C18 (3 µm), 4,6 x 150 mm
- La colonne semi-préparative Phenomenex Gemini C18 (5 µm), 10 x 250 mm

I. 4. 5. La Chromatographie Gazeuse (CG)

Les analyses qualitatives et quantitatives par chromatographie gazeuse (CG) ont été réalisées sur deux systèmes différents :

- **Un chromatographe Agilent Technologies 6890 Network**, couplé à un spectromètre de masse (Agilent Technologies 5973 Network) (CG-SM) et équipé d'une colonne capillaire apolaire SPB-5 (**Figure 114**) pour les analyses qualitatives.

Figure 114 : Chromatographe couplé à un spectromètre de masse (*Laboratoire ChemBioPro*).

- **Un chromatographe Varian CP-3800**, couplé à un détecteur à ionisation de flamme (CG-DIF) et équipé d'une colonne capillaire apolaire SPB-5 (**Figure 115**) pour les analyses quantitatives.

Figure 115 : Chromatographe couplé à un détecteur à ionisation de flamme (*Laboratoire ChemBioPro*).

I. 5. Les analyses physiques et spectrales

I. 5. 1. Le pouvoir rotatoire

Les pouvoirs rotatoires $[\alpha]_D$ ont été mesurés à 25 °C à l'aide d'un polarimètre Anton Paar MCP200 équipé d'une lampe au Sodium à 589 nm et d'une cellule d'échantillon de 10 x 5 mm. Les échantillons ont été solubilisés dans un volume de 0,7 mL de chloroforme $CHCl_3$ ou de MeOH.

I. 5. 2. La spectroscopie Infra-Rouge

Les spectres d'absorption Infra-Rouge ont été mesurés à l'aide d'un spectromètre IRTF Bruker Tensor 27 piloté par le logiciel OPUS 7.2 et équipé d'un ATR Platinium Diamond. La mesure a été effectuée entre 4000 et 400 cm^{-1} et le nombre de scan accumulés est de 20 (**Figure 116**).

Figure 116 : Spectromètre IRTF (*Spectropole, Aix-Marseille Université*).

I. 5. 3. La Spectrométrie de Masse Haute Résolution (SMHR)

Les analyses par SHMR ont été réalisées sur 2 systèmes différents :

❖ **Une chaîne CLUHP Dionex Ultimate 3000** (Thermo Scientific) (**Figure 117**) pilotée par le logiciel Chroméléon. Le système est couplé en série à :

- un détecteur UV à barrette de diodes DAD (190-800 nm, Thermo Scientific),
- un spectromètre de masse haute résolution (SMHR) QqTOF équipé d'une source d'ionisation Electrospray ESI (Impact II, Bruker Daltonics).

La colonne utilisée pour l'analyse des échantillons est la colonne Luna C18 (1,6 µm), 2,1 x 150 mm. Les échantillons ont été solubilisés dans de l'AcOEt ou du MeOH. Les spectres de masses ont été obtenus en mode d'ionisation positif ESI^+ ou négatif ESI^- à *m/z* 50 - 1200. Une solution contenant 25 mL d'eau, 50 mL d'isopropanol, 500 µL de NaOH 1M, 75 µL d'acide acétique et 25 µL d'acide formique a été utilisée pour calibrer systématiquement le spectromètre de masse. Ce calibrant est automatiquement injecté avant chaque analyse d'échantillon pour une calibration de masse interne.

Figure 117 : Appareil UHPLC couplé à un spectromètre de masse haute résolution (*Station marine d'Endoume - IMBE, Aix-Marseille Université*).

❖ **Un spectromètre de masse haute résolution SYNAPT G2 HDMS** (Waters) équipé d'une source d'ionisation à pression atmosphérique (API) assistée pneumatiquement et d'un analyseur temps de

vol (TOF) (**Figure 118**). Les échantillons ont été dissous dans 300 µL de dichlorométhane puis dilué au 1/10 dans une solution de MeOH à 3 mM d'acétate d'ammonium et à 0,1 mM de chlorure de sodium. La solution de l'extrait est introduite dans la source d'ionisation par infusion à un débit de 10 µL/min. Les mesures ont été effectuées en triplicat avec un étalonnage externe. Les spectres de masses ont été obtenus dans les conditions suivantes :

- tension électrospray : 2,8 kV
- tension d'orifice : 20 V
- débit du gaz de nébulisation (N_2) : 100 L/h

Figure 118 : Spectromètre de masse SYNAPT G2 HDMS (*Spectropole, Aix-Marseille Université*).

I. 5. 4. La spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres RMN ont été enregistrés sur 2 spectromètres :

❖ **Un spectromètre Bruker Avance III 600 MHz** équipé d'une sonde BBFO+ et d'un passeur d'échantillons SampleJet, qui permet de réaliser en mode automatique et manuel et adapté à tous noyaux étudiables en RMN. Le passeur d'échantillons SampleJet comprend un stockage de 30 tubes à température ambiante et un stockage de 5 racks de 96 tubes réfrigérés (~ +5 °C) (**Figure 119**). Cet appareil a été utilisé pour le criblage chimique.

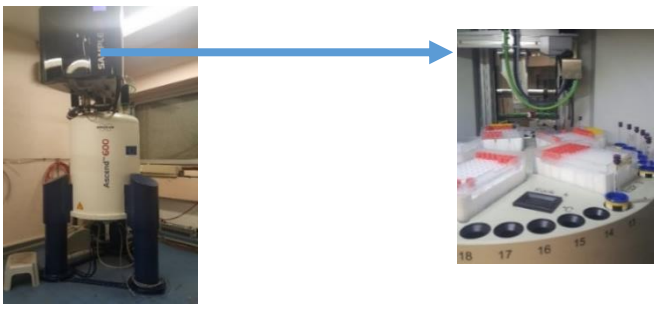


Figure 119 : Spectromètre BRUKER Avance III - 600 MHz équipé d'une sonde BBFO$^+$ (*Spectropole, Aix-Marseille Université*).

❖ **Un spectromètre Bruker Avance II 600MHz** équipé d'une cryosonde triple résonance TCI (^{1}H, ^{13}C, ^{15}N) reliée à une unité cryogénique. L'antenne et le préamplificateur de la sonde sont refroidis à 20 K par de l'hélium liquide (**Figure 120**). Le bruit de fond électronique est fortement diminué

permettant de multiplier par 4 la sensibilité en proton/carbone et ainsi diminuer d'un facteur 16 la durée des expériences sur les échantillons standards. Cet appareil a été utilisé pour la caractérisation structurale des composés isolés.

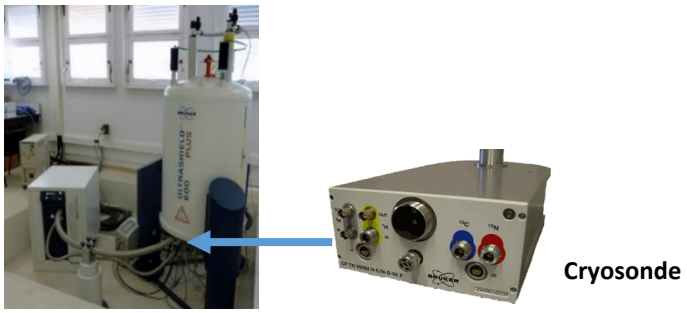


Figure 120 : Spectromètre BRUKER Avance III - 600MHz Cryosonde (*CNRS Joseph Aiguier*).

Les échantillons ont été dissous dans du méthanol deutéré (CD_3OD) 99,9 % -d ou du chloroforme deutéré ($CDCl_3$). Les déplacements chimiques δ, exprimés en partie par million (ppm), ont été référencés sur les pics de solvants CD_3OD (δ_{1H} : 3,31 ppm ; δ_{13C} : 49,0 ppm) et $CDCl_3$ (δ_{1H} : 7,26 ppm ; δ_{13C} : 77,16 ppm). Les constantes de couplages *J* sont exprimées en Hertz (Hz).

La multiplicité des signaux est donnée comme suit : *s* (singulet), *d* (doublet), *t* (triplet), *q* (quadruplet), *m* (multiplet), *dd* (doublet de doublet), *dt* (doublet de triplet), *td* (triplet de doublet), *dq* (doublet de quadruplet), *qd* (quadruplet de doublet), *dsxt* (doublet de sextuplet), *dm* (doublet de multiplet), *tspt* (triplet de septuplet), *qq* (quadruplet de quadruplet), *ddd* (doublet de doublet de doublet), *ddt* (doublet de doublet de triplet), *dtd* (doublet de triplet de doublet), *ddq* (doublet de doublet de quadruplet), *l* (signal large). L'attribution des signaux des protons et des carbones a été effectuée à partir des expériences 1D (^1H, ^1H homodecoupling, ^{13}C) et 2D (^1H-^1H COSY, ^1H-^{13}C HSQC, ^1H-^{13}C HMBC et ^1H-^1H NOESY), avec le traitement des données réalisé avec le logiciel TopSpin 4.1.1 (Bruker).

II. Étude comparative des composés volatils des espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar

II. 1. Extraction

L'HE de chaque espèce a été extraite par hydrodistillation à l'aide d'un montage de type Clevenger. Pour cela, les feuilles fraîches ont été introduites dans un ballon contenant de l'eau. Le mélange a été ensuite porté à ébullition pendant 3 à 4 h. Le distillat a été récupéré et les traces d'eau ont été éliminées en ajoutant du sulfate de sodium. Les HE obtenues ont été alors pesées et conservées à 4 °C. Le bilan d'extraction des HE est présenté dans le **Tableau II - Annexe II - Tome II - page 4**.

II. 2. Analyse qualitative par CG-SM des HE

L'analyse qualitative des HE a été effectuée par CG-SM selon les conditions d'analyses détaillées ci-après :

❖ Chromatographie en phase gazeuse :

- Colonne : SPB-5 (L = 60 m, di = 0,32 mm, e = 0,25 µm)
- Gaz vecteur : hélium
- Débit de gaz vecteur : 0,7 mL/min
- Température de l'injecteur : 250 °C
- Mode d'injection : SPLIT
- Volume injecté : 0,01 µL d'HE pure
- Programmation de la température : 60 °C à 250 °C (4 °C/min) ; 250 °C (50 min)

❖ Spectrométrie de masse :

- Mode d'ionisation : impact électronique
- Courant d'ionisation : 70 eV
- Gamme de masse : 20 à 400 uma

Deux tables d'alcanes (C_8 à C_{22}) et (C_8 à C_{28}) ont été injectées dans les mêmes conditions afin de calculer les Indices de Rétention Relatifs (IRR) de chaque composé. L'IRR a été calculé selon l'équation suivante définie en programmation de température :

$$IRR = 100 \times [n + \frac{t(X) - t(C_n)}{t(C_{n+1}) - t(C_n)}]$$

Avec :

X : composé à identifier

C : hydrocarbure

n et n+1 : nombre d'atomes de carbone des deux paraffines qui encadrent le composé X

t(X): temps de rétention du composé X

$t(C_n)$ et $t(C_{n+1})$: temps de rétention des deux paraffines encadrant le composé X

Les IRR calculés et les spectres de masses ont été comparés à ceux de la littérature (Adams, 2001, 2017) et des bases de données informatisées Nist02 et Wiley7n.

II. 3. Analyse quantitative par CG-DIF des HE

L'analyse quantitative des HE a été réalisée par CG-DIF. Le pourcentage relatif de chaque signal a été déterminé par rapport à l'ensemble des signaux du mélange analysé. Les conditions d'analyses sont les suivantes :

❖ **Chromatographie en phase gazeuse :**

- Colonne : SPB-5 (L = 60 m, di = 0,32 mm, e = 0,25 µm)
- Gaz vecteur : hélium
- Débit de gaz vecteur : 1,0 mL/min
- Température de l'injecteur : 250 °C
- Injection en mode SPLITLESS
- Volume injecté : 0,01 µL d'HE
- Programmation de la température : 60 °C à 250 °C (4 °C/min) ; 250 °C (50 min)

❖ **Détecteur à ionisation de flamme :**

- Température : 270 °C

II. 4. Fractionnement de l'HE de *P. lucida* collectée à Angavokely

L'HE de *P. lucida* provenant d'Angavokely (1 g) comprenant les composés volatils majoritaires inconnus **1** et **2** a été fractionnée par chromatographie sur colonne ouverte (L = 25 cm, di = 1 cm). L'élution a été réalisée au moyen de deux solvants, isohexane (450 mL) puis acétate d'éthyle (450 mL) de polarité croissante. Deux fractions ont été obtenues, une fraction hydrocarbonée (383,0 mg) et une fraction oxygénée (330,6 mg) respectivement, puis ont été analysées par CG-SM. Les résultats ont permis de détecter la présence du **composé 1** dans la fraction hydrocarbonée et du **composé 2** dans la fraction oxygénée.

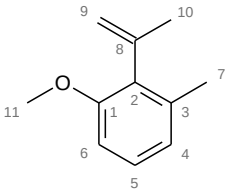
250 mg de la fraction hydrocarbonée ont été soumis à un fractionnement par chromatographie sur colonne ouverte (L = 24 cm, di = 1 cm) éluée au moyen d'un gradient d'isohexane et d'AcOEt de polarité croissante. Le **composé 1** a été isolé à hauteur de 4,4 mg.

275 mg de la fraction oxygénée ont été purifiés par chromatographie sur colonne ouverte (L = 23 cm, di = 1 cm) éluée au moyen d'un gradient d'isohexane et d'AcOEt de polarité croissante. Le **composé 2** n'a pas été obtenu pur à l'issue de ce fractionnement. Une seconde purification de la fraction enrichie en **composé 2** a été entreprise. 50 mg de cette fraction a été purifiée par chromatographie sur colonne ouverte (L = 18 cm, di = 1 cm) éluée au moyen d'un gradient d'isohexane et d'AcOEt de polarité croissante. Le **composé 2** a été obtenu à hauteur de 0,9 mg.

La pureté de ces deux composés a été vérifiée par une analyse en CG-SM.

II. 5. Caractérisation des deux composés isolés de l'HE

❖ **2-isopropényl-3-méthylanisole (Composé 1)**



Aspect : huile incolore

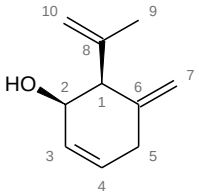
Formule brute : $C_{11}H_{14}O$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 163,0729 (calculée pour $C_{11}H_{15}O^+$: 163,1117)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 7,15 (H-5, t, *8,1*) ; 6,85 (H-4, dm, *7,6*) ; 6,75 (H-6, d, *8,2*) ; 5,31 (H-10b, m) ; 4,81 (H-10a, m) ; 3,82 (H-11, m) ; 2,27 (H-7, s) ; 2,01 (H-9, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 156,3 (C-1), 142,6 (C-8), 136,4 (C-3), 132,6 (C-2), 127,3 (C-5), 122,5 (C-4), 115,1 (C-10), 108,1 (C-6), 55,8 (C-11), 23,5 (C-9), 19,7 (C-7).

❖ **Carquéjol (Composé 2)**



Aspect : huile jaune pâle

Formule brute : $C_{10}H_{14}O$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 151,0971 (calculée pour $C_{10}H_{15}O^+$: 151,1117)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 5,87 (H-3, ddt, *10,1 ; 3,4 ; 2,4*) ; 5,76 (H-4, dtd, *10,0* ; *3,5* ; *1,3*) ; 5,23 (H-10b, m) ; 5,04 (H-10a, m) ; 4,96 (H-7b, q, *1,5*) ; 4,92 (H-7a, m) ; 4,41 (H-2, m) ; 3,14 (H-1, dl, *4,6*) ; 2,87 (H-5b, m) ; 2,78 (H-5a, m) ; 1,78 (H-9, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 143,2 (C-6), 142,8 (C-8), 131,1 (C-3), 128,3 (C-4), 112,7 (C-10), 111,7 (C-7), 68,9 (C-2), 54,4 (C-1), 33,4 (C-5), 24,1 (C-9).

III. Criblages chimique et biologique des extraits bruts de *Psiadia* de Madagascar

III. 1. Obtention des extraits bruts

L'extraction des plantes a été réalisée à l'AcOEt grâce au système d'extraction accélérée par solvant (ASE 300, Accelerated Solvent Extractor, Dionex). Elle a été opérée à une température de 40

°C et une pression de 100 Bars, en 5 cycles avec un temps de purge de 120 secondes et un temps de pause de 5 minutes.

Quatre extractions successives ont été effectuées pour épuiser le matériel végétal. L'AcOEt a ensuite été évaporé sous pression réduite et les extraits bruts obtenus ont été conservés au froid à 4 °C.

Le rendement d'extraction a été calculé par rapport à la matière sèche extraite. Ces rendements sont donnés dans le **tableau XXIII** ci-après.

Tableau XXIII : Rendements d'extraction des feuilles de *Psiadia* endémiques de Madagascar.

Espèce	Lieu de collecte	Masse des feuilles séchées (g)	Masse d'extraits bruts (g)	Rendement (%)
P. altissima* var. *altissima	Ambositra	237,40	19,87	**8,4**
	Moramanga	361,20	34,13	**9,5**
P. altissima* var. *stenophylla	Behenjy	284,20	34,05	**12,0**
P. hispida	Angavokely	165,60	11,14	**6,7**
P. leucophylla	Angavobe	282,10	24,32	**8,6**
P. lucida	Andasibe	88,20	3,67	**4,2**
	Angavokely	282,80	16,85	**6,0**
	Ankaratra	222,60	17,54	**7,9**
P. salviifolia	Antsirabe	290,30	36,42	**12,6**

III. 2. Criblage chimique

Afin d'obtenir l'empreinte chimique des extraits bruts, ces derniers ont été soumis à :

❖ **une analyse par CCM** avec les conditions d'analyse suivantes :

- Échantillon : 10 mg/mL dans l'AcOEt
- Dépôt : 10 µL
- Élution : Cyclohexane/AcOEt (70/30) (*v/v*)
- Révélation : Vanilline sulfurique

La vanilline sulfurique est un réactif universel obtenu en dissolvant 1 g de poudre de vanilline dans 100 mL d'éthanol absolu et en ajoutant 2 mL d'acide sulfurique concentré. Après pulvérisation, les plaques sont chauffées 2 à 4 minutes dans une étuve à 105 °C.

❖ **une analyse par CLHP-DAD-CAD** avec les conditions d'analyse suivantes :

- Chromatographe : chaîne analytique Dionex Ultimate 3000
- Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min), 10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min)
- Débit : 0,7 mL/min

❖ **une analyse par RMN ^{1}H** effectuée sur le spectromètre Bruker Ultrashield Avance 600 MHz. Les extraits bruts ont été dissous dans du chloroforme deutéré ($CDCl_3$) à 10 mg/mL. La séquence utilisée est zg30 et le nombre de scans cumulés est de 32.

III. 3. Criblage biologique

Afin de valoriser les espèces étudiées et de sélectionner les espèces biologiquement intéressantes pour une étude phytochimique, les extraits bruts ont été testés sur trois cibles biologiquement différentes.

III. 3. 1. Tests antiplasmodiaux *in vitro*

L'évaluation de l'inhibition de la prolifération parasitaire érythrocytaire est faite *in vitro* par la méthode colorimétrique en mesurant l'activité de la lactate déshydrogénase plasmodiale. Les cultures cellulaires ont été effectuées stérilement sous une hotte à flux laminaire.

❖ **Souches de *Plasmodium falciparum***

La souche 3D7, utilisée dans le laboratoire de Liège, chloroquino-sensible, originaire d'Afrique de l'Ouest, a été fournie par le Malaria Research and Reference Reagent Resource Center (MR_4).

❖ **Préparation du milieu de culture complet**

Le milieu stock est préparé par addition de 10 mL de glucose à 100 g/L (Sigma) et d'hypoxanthine à 2,5 g/L (Sigma) à 500 mL de milieu RPMI 1640 contenant 25 mM d'HEPES et de 300 mg/L de L-glutamine (Gibco) et 32 mM de $NaHCO_3$ (Gibco).

Pour préparer le milieu complet qui se conserve à 4 °C pendant 7 - 14 jours, 50 mL de plasma humain de groupe A^+ ou O^+ décomplémenté (chauffé 45 minutes à 56 °C et centrifugé 5 minutes à 3500 tours/min) et 5 mL de gentamycine (Gibco) à 10 mg/mL ont été ajoutés au milieu stock. Le plasma provient du centre de transfusion sanguine de la Croix-Rouge de Belgique.

❖ **Culture *in vitro* du parasite**

Le stade érythrocytaire asexué de *P. falciparum* est cultivé dans des flacons contenant du milieu complet à un taux d'hématocrite de 3 %, à 37 °C et dans un environnement réduit en oxygène (5 % CO_2, 5 % O_2 et 90 % de N_2). La culture est contrôlée par des frottis sanguins afin de maintenir une parasitémie d'environ 4 %. Ces frottis sont préalablement réalisés sur une lame de verre et sont fixés pendant 3 minutes au May-Grünwald (Merck, 101424) puis colorés pendant 15 minutes avec une solution de Giemsa (Merck, 109204) à 6 % dans du tampon phosphate à pH 7,4 (Sigma P4417). La parasitémie est calculée en comptant au microscope optique (G100X) le nombre de globules rouges

parasités par rapport au nombre de globules rouges non parasités. Les souches de *P. falciparum* peuvent être congelées et conservées à -195,79 °C dans l'azote liquide.

- **Synchronisation de *P. falciparum***

L'objectif de la synchronisation de la culture est de mettre tous les parasites au même stade de développement, en l'occurrence le stade "jeune trophozoïte". La technique utilisée est celle mise au point par Lambros et Vanderberg en 1979 qui utilise le sorbitol. Le sorbitol provoque par choc osmotique la lyse des globules rouges parasités aux stades schizontes. Les formes anneaux (jeunes trophozoïtes) sont donc les seules à survivre.

Pour synchroniser une culture, il faut une parasitémie supérieure à 5 %. La culture est alors centrifugée à 2000 tours/min pendant 5 minutes, le volume de surnageant est remplacé par un même volume d'une solution de sorbitol (Merck, 107759) à 5 % dans l'eau distillée stérile et incubée 10 minutes à température ambiante en remuant de temps en temps. La suspension est ensuite centrifugée et le culot est lavé au moins 3 fois avec du milieu complet. Après la dernière synchronisation, l'hématocrite est ajusté à 3 %.

- **Évaluation de l'activité antiplasmodiale**

Les extraits bruts ont été dissous dans du DMSO (Merck) ou du MeOH à 10 mg/mL. Cette solution mère a ensuite été diluée au 1/10ème dans du milieu complet. La même solution mère a été préparée pour les composés purs mais elle est ensuite diluée à 1/20ème dans du milieu de culture complet. Chaque échantillon a été testé deux (extrait brut) ou trois fois (composé pur) indépendamment.

Les tests ont été réalisés dans des microplaques 96 puits (Nunc, 167008). Huit concentrations de chaque échantillon testé sont placées dans 2 colonnes de plaque. Les concentrations ont été préparées par dilutions successives au 1/2 (allant de 50 µg/mL à 0,39 µg/mL). 225 µL de culture parasitaire, ajustée à 2 % de parasitémie et 1 % d'hématocrite, sont ajoutées dans tous les puits. Un témoin négatif (250 µL de sang non parasité à un hématocrite de 1 %) et un témoin positif (250 µL de sang parasité à 2 % et à un hématocrite d'1 %) sont chacun placés dans 8 puits de deux colonnes. Le témoin contrôle utilisé est l'artémisinine (98 %, Sigma). La plaque est placée dans une boîte hermétique contenant un sachet de gaz GENbox microaer (BioMérieux, 96125) puis incubée 48 heures à 37 °C.

- **Évaluation de la parasitémie par colorimétrie**

La croissance parasitaire est évaluée par une méthode colorimétrique en mesurant l'activité de l'enzyme parasitaire, la lactate déshydrogénase (LDH). Cette enzyme, dont une forme analogue est aussi présente dans les cellules humaines et intervenant dans la glycolyse

anaérobie, est capable de transformer le pyruvate en L-lactate en utilisant comme coenzyme le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD+). Dans notre cas, le NAD+ est remplacé par un analogue, le 3-acétyl pyridine adénine dinucléotide (APAD), qui a 300 fois plus d'affinité pour la LDH parasitaire que pour la LDH humaine (Makler *et al.*, 1998). Un sel de tétrazolium est ajouté à la solution lors de la mesure au spectrophotomètre. Ce sel est réduit par l'APAD réduite durant la transformation du lactate en pyruvate pour former un colorant, le formazan (**Figure 121**).

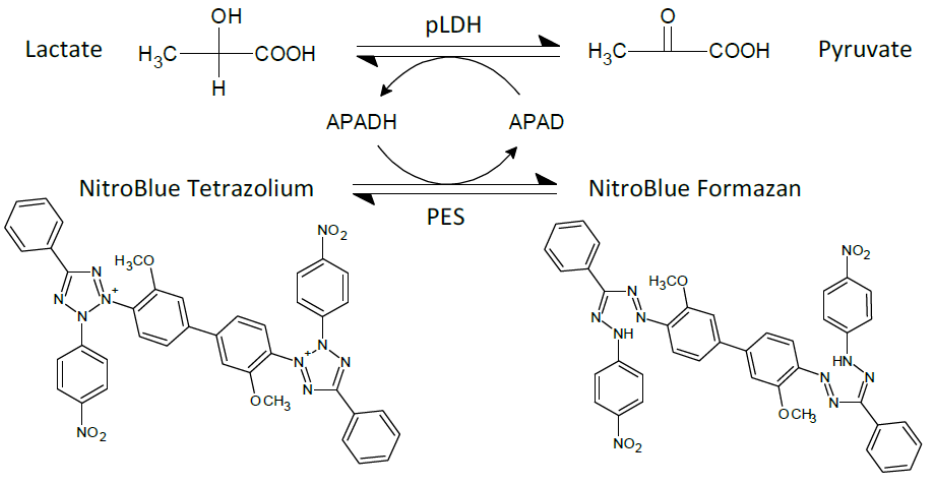


Figure 121 : Réactions enzymatiques conduisant à la formation du formazan.

Après 48 heures, les plaques à 96 puits ont été congelées pendant une nuit à 20 °C puis décongelées à 37 °C pendant 45 minutes. 20 µL de chaque contenu de puits homogénéisé ont été transférés dans une nouvelle plaque. 100 µL de la solution tampon TRIS pH 8 (Sigma, T6664) (contenant 1 mL de Triton X-100 (Sigma, X100), 10 mg de saponine (Alfa Aesar, A18820), 1 g de lithium L-lactate (Sigma L2250) et 50 mg d'APAD (Sigma A5251) ont été ajoutés à chaque puits et les plaques ont été mises à incuber à 37 °C pendant 30 minutes. 20 µL d'une solution contenant un mélange 50 : 50 (*v : v*) des solutions NBT (1 mL) et PES (1 mL) ont été ajoutées à l'abri de la lumière et incubées 30 à 45 minutes. La solution NBT a été préparée en dissolvant 100 mg de NBT (chlorure de bleu de nitrotétrazolium, Sigma N6639) dans 100 mL d'eau distillée. La solution PES, quant à elle, a été obtenue en dissolvant 5 mg de PES (éthosulfate de phénazine, Sigma, P4544) dans 50 mL de tampon TRIS préparé précédemment. Les deux solutions, NBT et PES, sont conservés à -20 °C. L'absorbance est enfin mesurée à 570 nm au moyen d'un spectrophotomètre (Stat Fax 2100).

L'activité des extraits bruts ou des composés purs testés est exprimée en CI_{50} (µg/mL ou µM). C'est la concentration de l'échantillon à laquelle 50 % de la croissance parasitaire est inhibée.

III. 3. 2. Tests anti-inflammatoire *in vitro*

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* est basée sur la capacité des macrophages de souris immortalisés RAW 264.7 à générer une forte réponse inflammatoire suite à une stimulation avec des composés pro-inflammatoires qui sont ici des lipopolysaccharides (LPS) de la paroi externe d'*Escherichia coli*. Cette réponse se traduit par la libération de ON (monoxyde d'azote).

- **Cellules souches utilisées**

Les tests ont été réalisés sur des macrophages de souris immortalisés (lignée cellulaire RAW 264.7, Sigma Aldrich), à faible nombre de passages (<50).

- **Préparation des extraits bruts et/ou composés purs**

Les échantillons à tester sont dilués dans du DMSO à trois concentrations différentes : 0,1 ; 1 et 10 µg/mL. Le contrôle négatif est le DMSO, 1 % (*v : v*) et le contrôle positif est la Dexaméthasone à 0,1 ; 1 et 10 µM.

- **Milieu de culture**

Le milieu complet de culture est le Dulbecco's Minimum Essentiel Medium (DMEM) (PAN BIOTECH, 1874561) supplémenté avec de la pénicilline 100 IU/mL et de la streptomycine 100 µg/mL (PAN BIOTECH, 945514) avec de 10 % de sérum de veau activé (PAN BIOTECH, P56314) dont le pH est égal à 7,2, fraîchement préparé et stocké. Ce milieu se conserve pendant une semaine.

- **Méthodes**

Les cellules RAW 264.7 sont introduites dans les plaques à 96 puits à une concentration de 1.10^5 cellules/mL (200 µL/puits) et incubées à 37 °C (5 % CO_2) pendant 24 heures. À la fin de la période d'incubation, le milieu de culture a été décanté et remplacé par 100 µL de milieu contenant les produits à tester aux trois concentrations différentes. Ensuite, les cellules ont été incubées pendant une heure. À la fin de cette 2ème période d'incubation, les LPS d'*E. coli* ont été ajoutés au milieu de culture à 1 µg/mL et les cellules ont été incubées à 37 °C (5 % CO_2) pendant 24 heures.

- *Évaluation de la libération du monoxyde d'azote ON*

La libération de ON a été mesurée dans le surnageant de la culture par la réaction de Griess. 50 µL des surnageants ont été transférés dans les puits d'une plaque de 96 puits, 50 µL du réactif de Griess modifié (Sigma) ont été ajoutés par la suite dans chaque puits. Après une période d'incubation de 15 minutes à température ambiante, la densité optique (DO) de chaque puits a été lue à 540 nm avec un lecteur de fluorescence-luminescence (Reader 140 Infinite M200 Pro (TECAN)).

- *Évaluation de la viabilité cellulaire*

Parallèlement, pendant la libération du ON, la viabilité cellulaire a été mesurée pour valider le test. Le réactif WST-1 a été utilisé pour mesurer la respiration cellulaire mitochondriale. Le milieu de culture a été clarifié et 50 µL de réactif WST- 1 (dilution 1/10) ont été ajoutés dans chaque puits. Après une période d'incubation de 30 minutes à 37 °C (5 % de CO_2), la densité optique (DO) de chaque puits a été lue à 450 nm par le même lecteur de fluorescence-luminescence. Les résultats obtenus (inhibition de la libération de ON et l'inhibition de la viabilité cellulaire) pour les puits traités avec l'extrait brut ou le composé pur ont été comparés à ceux des puits témoins non traités (DMSO) (témoin négatif) et convertis en valeurs de pourcentage.

Le calcul de la CI_{50} a été la suivante :

$$\text{\% de libération du NO} = \frac{\text{DO moyenne des puits testés - DO moyenne du blanc}}{\text{DO moyenne du contrôle négatif - DO moyenne du blanc)}} \times 100$$

$$\text{\% de viabilité cellulaire} = \frac{\text{DO moyenne des puits testés - DO moyenne du blanc}}{\text{DO moyenne du contrôle négatif - DO moyenne du blanc)}} \times 100$$

Les CI_{50} NO ont été calculées à l'aide du logiciel Table curve Version 2.0.

Le ratio anti-inflammatoire est le rapport entre la concentration inhibitrice de la viabilité cellulaire sur la concentration inhibitrice de la production de ON dans le milieu de culture. Il a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Ratio anti-inflammatoire} = \frac{CI_{50} \text{ de viabilité cellulaire}}{CI_{50} \text{ de libération de ON}} \times 100$$

III. 3. 3. Tests de cytotoxicité *in vitro*

L'évaluation de la cytotoxicité a été basée sur la réduction de la capacité de fixation du colorant rouge neutre par les lysosomes des cellules altérées après 24 heures de traitement. Le rouge neutre est un colorant cationique faible qui pénètre facilement les membranes cellulaires par non-diffusion, s'accumulant de manière intracellulaire dans les lysosomes.

- **Lignées cellulaires cancéreuses utilisées**

Les lignées cellulaires cancéreuses HepG2 (carcinome hépatocellulaire) (ATCC HTB-38™) et HT 29 (adénocarcinome colorectal) (ATCC HTB-38™), à faible nombre de passages (<50), ont été utilisées pour évaluer la cytotoxicité des extraits bruts et des composés purs.

❖ **Préparation des extraits bruts et/ou composés purs**

Les échantillons à tester sont dilués dans du DMSO à trois concentrations différentes : 0,1 ; 1 et 10 µg/mL. Le contrôle négatif est une solution saline Hanks' Balanced Salt Solution (HBBS, Sigma) et le contrôle positif est un milieu complet contenant 10 % de sérum de veau fœtal.

❖ **Milieu de culture**

Le milieu complet de culture est le Dulbecco's Minimum Essentiel Medium (DMEM) (PAN BIOTECH, 1874561) supplémenté avec de la pénicilline 100 IU/mL et de la streptomycine 100 µg/mL (PAN BIOTECH, 945514) avec de 10 % de sérum de veau activé (PAN BIOTECH, P56314) dont le pH est égal à 7,2, fraîchement préparé et stocké. Ce milieu se conserve pendant une semaine.

❖ **Méthodes**

Les cellules Hep G2 et HT 29 ont été cultivées dans le milieu complet de culture DMEM. Une suspension de 1.10^5 cellules/mL (100 µL/puits) a été ensuite introduite dans les plaques de 96 puits et incubée à 37 °C (5 % CO_2) pendant 24 heures. À la fin de la période d'incubation, le milieu de culture a été décanté et remplacé par 100 µL de milieu contenant les produits à tester aux trois concentrations différentes. Ensuite, les cellules ont été incubées à 37 °C (5 % CO_2) pendant 24 heures. À la fin de cette 2ème période d'incubation, les cellules ont été lavées, placées dans du milieu contenant du colorant rouge neutre (50 µg/mL de colorant) puis incubées pendant 3 heures à 37 °C (5 % CO_2).

Ensuite, le milieu a été éliminé et les cellules ont été lavées trois fois avec 0,2 mL de HBSS pour éliminer l'excès de colorant. Le milieu rouge neutre a été éliminé et la solution déshydratante (50 % d'éthanol, 1 % d'acide acétique, 49 % d'eau distillée ; 50 µL par puits) a été ajoutée dans les puits. Ensuite, les plaques ont été agitées pendant 15 à 20 minutes à température ambiante dans l'obscurité. Tous les tests ont été réalisés en triplicata. La viabilité cellulaire (c'est-à-dire l'augmentation du rouge neutre libéré) a été mesurée par un lecteur de fluorescence-luminescence Infinite M200 Pro (TECAN). La densité optique (DO) de chaque puits a été lue à 540 nm.

Les résultats obtenus pour les puits traités avec l'extrait brut ou le composé pur ont été comparés à ceux des puits témoins non traités (HBSS, viabilité à 100 %) et convertis en valeurs de pourcentage.

III. 3. 4. Interprétation des résultats

Les résultats pour les différents tests sont classés en fonction des valeurs des CI_{50} obtenues (Bero *et al.*, 2009 ; Bero & Quetin-Leclercq, 2011).

Pour les activités antiplasmodiale et cytotoxique :

CI_{50} > 50 µg/mL	Non actif
15 < CI_{50} < 50 µg/mL	Activité modérée
5 < CI_{50} < 15 µg/mL	Actif
CI_{50} < 5 µg/mL	Très actif

Pour l'activité anti-inflammatoire

CI_{50} > 50 µg/mL	Non actif
15 < CI_{50} < 50 µg/mL	Activité modérée
CI_{50} < 15 µg/mL	Actif

À noter que seuls ont été considérés les résultats pour lesquels l'extrait brut et le composé pur affichent une activité anti-inflammatoire, tout en présentant une non toxicité supplémentaire qui se traduit par une CI_{50} de viabilité cellulaire >100 µg/mL, conduisant donc un rapport anti-inflammatoire élevé.

IV. Étude phytochimique de *Psiadia lucida*

IV. 1. Fractionnement et isolement des métabolites spécialisés de *P. lucida*

❖ Fractionnement 1

L'extrait brut *P. lucida* collectée à Ankaratra (Madagascar) (6 g), obtenu par une extraction accélérée par solvant (ASE) avec de l'AcOEt, a été fractionné par extraction liquide-liquide, réalisé six fois, au moyen d'isohexane et de MeOH non miscibles. Ce fractionnement a permis l'obtention de deux fractions : **fraction iso-hexanique** (3,1 g) et **fraction méthanolique** (2,7 g). Les deux fractions ont été analysées par CLHP-DAD-CAD dans les mêmes conditions opératoires que l'extrait brut.

- Chromatographe : chaîne analytique Dionex Ultimate 3000
- Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient : 80 : 10 à 10 : 90 (45 min), 10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min)
- Débit : 0,7 mL/min

❖ Fractionnement 2

800 mg de la fraction méthanolique ont été fractionnés par CLMP (2 x 400 mg) en phase inverse selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : système Sepacore
- Colonne : 230 x 15 mm
- Phase stationnaire : gel de silice modifiée C18 (RP-18)
- Débit : 15 mL/min
- Éluants : H_2O/ACN 90 : 10 (6 min) ; H_2O/ACN 70 : 30 (6 min) ; H_2O/ACN 50 : 50 (6 min) ; H_2O/ACN 30 : 70 (6 min) ; H_2O/ACN 10 : 90 (6 min) ; ACN 100 % (21 min) ; DCM 100 % (15 min).

Ce fractionnement a donné lieu à 2 fractions : F1 (345,6 mg), F2 (249,2 mg) analysées dans les mêmes conditions opératoires que l'extrait brut et la fraction méthanolique.

❖ Fractionnement 3

La fraction **F1** (275 mg), contenant les composés **PLU 1** à **PLU 9**, a été fractionnée par CLHP semi-préparative, selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : chaîne d'auto-purification Waters 2545
- Colonne : Gemini C18 (5 µm), 250 x 10 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/MeOH + 0,1 % AF
- Gradient : 90 : 10 à 30 : 70 (42 min)
- Débit : 4,5 mL/min
- Détection : DAD, DEDL

Quatre composés ont été purifiés à partir de cette fraction. Il s'agit de **PLU 1** (3,8 mg), **PLU 7** (4,5 mg), **PLU 8** (12,9 mg) et **PLU 9** (4,0 mg). Les fractions F1.1, F1.2, F1.3 et F1.4, contenant majoritairement les composés **PLU 2** à **PLU 6** ont été retravaillées.

❖ Fractionnement 4

7,8 mg de la fraction F1.1 ont été purifiés par CLHP analytique, selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : chaîne analytique Dionex Ultimate 3000
- Colonne : Gemini C18 (3 µm), 150 x 4,6 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient : 25 : 75 (20 min)
- Débit : 0,7 mL/min
- Détection : DAD

À l'issue de ce fractionnement, le composé **PLU 2** (3,1 mg) a été obtenu.

❖ Fractionnement 5

6,6 mg de la fraction F1.2 ont été fractionnés par CLHP analytique, selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : chaîne analytique Dionex Ultimate 3000
- Colonne : Gemini C18 (3 µm), 150 x 4,6 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient : 60 : 40 (20 min)

- Débit : 0,7 mL/min
- Détection : DAD

Ce fractionnement a permis l'obtention des deux composés **PLU 3** (2,0 mg) et **PLU 4** (2,6 mg).

❖ Fractionnement 6

8,3 mg de la fraction F1.3 ont été fractionnés par CLHP analytique, selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : chaîne analytique Dionex Ultimate 3000
- Colonne : Gemini C18 (3 µm), 150 x 4,6 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient : 54 : 46 (20 min)
- Débit : 0,7 mL/min
- Détection : DAD

Ce fractionnement a conduit à l'obtention des mêmes composés **PLU 3** (0,4 mg) et **PLU 4** (3,5 mg).

❖ Fractionnement 7

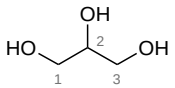
Afin d'obtenir les composés **PLU 5** et **PLU 6**, 9,9 mg de la fraction F1.4 ont été fractionnés par CLHP analytique, selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : chaîne analytique Dionex Ultimate 3000
- Colonne : Gemini C18 (3 µm), 150 x 4,6 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient : 54 : 46 (20 min)
- Débit : 0,7 mL/min
- Détection : DAD

Les deux composés **PLU 5** et **PLU 6** ont été purifiés à hauteur de 4,5 mg et 4,0 mg respectivement.

IV. 2. Caractérisation des métabolites spécialisés isolés de *P. lucida*

❖ Glycérol (PLU 1)



Aspect : pâte marron

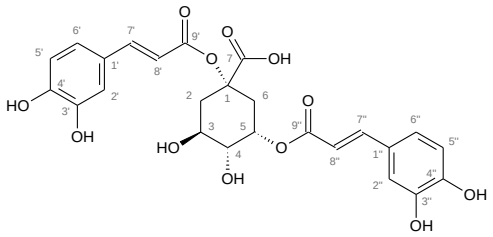
Formule brute : $C_3H_8O_3$

SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 112,9793 (calculée pour $C_3H_6O_3Na^+$: 113,0220)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 3,65 (H-2, t, *5,7*) ; 3,59 (H-1, dd, *11,2* ; *4,8*) ; 3,51 (H-3, dd, *11,2* ; *5,9*).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 74,5 (C-2), 62,5 (C-1, C-3).

❖ Acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique (PLU 2)



Aspect : cristaux jaune

Formule brute : $C_{25}H_{24}O_{12}$

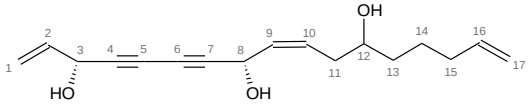
SMHR (ESI$^-$) : *m/z* 515,0919 (calculée pour $C_{25}H_{23}O_{12}^-$: 515,1195)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 7,58 (H-7', H-7'', d, *15,9*) ; 7,06 (H-2', H-2'', d, *2,0*) ; 6,96 (H-6', H-6'', dd, *7,9* ; *2,5*) ; 6,78 (H-5', H-5'', d, *8,2*) ; 6,31 (H-8', d, *16,0*) ; 6,28 (H-8'', d, *16,0*) ; 5,40 (H-5, td, *8,8* ; *3,9*) ; 4,28 (H-3, ql, *3,9*) ; 3,77 (H-4, dd, *8,3* ; *2,3*) ; 2,59 (H-6b, dl, *14,3*) ; 2,50 (H-2b, dd, *15,0* ; *4,5*) ; 2,40 (H-2a, dd, *14,7* ; *3,2*) ; 2,05 (H-6a, dd, *9,5* ; *13,5*).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 175,8 (C-7), 168,8 (C-9''), 168,2 (C-9'), 149,6 (C-4', C-4''), 147,3 (C-7'), 147,2 (C-7''), 146,9 (C-3''), 141,9 (C-3'), 127,8 (C-1', C-1''), 123,1 (C-6', C-6''), 116,5 (C-5', C-5''), 115,6 (C-8'), 115,2 (C-2', C-2'', C-8''), 81,7 (C-1), 73,2 (C-4), 71,6 (C-5), 69,8 (C-3), 37,3 (C-6), 35,9 (C-2).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006710441 $[M+H]^+$

❖ 12-hydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (PLU 3)



Aspect : poudre marron orangé

Formule brute : $C_{17}H_{22}O_3$

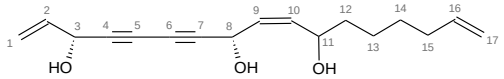
SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 297,1459 (calculée pour $C_{17}H_{22}O_3Na^+$: 297,1461)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 5,91 (H-2, ddd, *17,1* ; *10,2* ; *5,5*) ; 5,82 (H-16, ddd, *17,1* ; *10,2* ; *6,8*) ; 5,67 (H-10, dtd, *10,7* ; *7,5* ; *1,1*) ; 5,58 (H-9, ddt, *10,7* ; *8,3* ; *1,5*) ; 5,40 (H-1b, dtl, *17,1* ; *1,4*) ; 5,19 (H-1a, dt, *10,2* ; *1,3*) ; 5,16 (H-8, dtl, *8,3* ; *1,0*) ; 5,02 (H-17b, ddt, *17,1* ; *2,1* ; *1,6*) ; 4,93 (H-17a, ddt, *10,2* ; *2,1* ; *1,2*) ; 4,88 (H-3, dm, *5,5*) ; 3,61 (H-12, m) ; 2,29 (H-11, m) ; 2,06 (H-15, m) ; 1,56 (H-14b, m) ; 1,50 (H-13b, m) ; 1,44 (H-13a, m) ; 1,43 (H-14a, m).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 139,9 (C-16), 138,0 (C-2), 131,4 (C-9), 130,3 (C-10), 116,6 (C-1), 115,0 (C-17), 80,9 (C-7), 79,8 (C-4), 71,8 (C-12), 70,1 (C-5), 68,9 (C-6), 63,8 (C-3), 58,9 (C-8), 37,2 (C-13), 36,4 (C-11), 34,8 (C-15), 26,2 (C-14).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006710438 $[M+H-2H_2O]^+$

❖ 11-hydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (PLU 4)



Aspect : poudre marron orangé

Formule brute : $C_{17}H_{22}O_3$

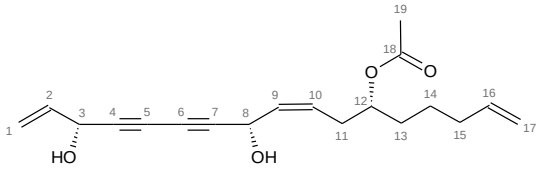
SMHR (ESI⁺) : *m/z* 297,1460 (calculée pour $C_{17}H_{22}O_3Na^+$: 297,1461)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 5,91 (H-2, ddd, *17,1* ; *10,2* ; *5,5*) ; 5,81 (H-16, ddt, *17,1* ; *10,3* ; *6,8*) ; 5,53 (H-9, m) ; 5,51 (H-10, m) ; 5,40 (H-1b, dtl, *17,0* ; *1,4*) ; 5,19 (H-1a, dtl, *10,2* ; *1,3*) ; 5,20 (H-8, dl, *7,7*) ; 5,00 (H-17b, dql, *17,1* ; *1,8*) ; 4,92 (H-17a, dm, *10,1*) ; 4,88 (H-3, dm, *5,6*) ; 4,42 (H-11, dt, *7,3* ; *5,8*) ; 2,06 (H-15, m) ; 1,56 (H-12b, m) ; 1,48 (H-12a, m) ; 1,41 (H-14, m) ; 1,39 (H-13, m).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 139,9 (C-16), 138,0 (C-2), 137,1 (C-10), 129,9 (C-9), 116,7 (C-1), 115,0 (C-17), 80,9 (C-7), 80,1 (C-4), 69,8 (C-5), 69,4 (C-6), 68,3 (C-11), 63,5 (C-3), 59,0 (C-8), 38,3 (C-12), 34,9 (C-15), 30,2 (C-14), 26,0 (C-13).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006710443 $[M+H-2H_2O]^+$

❖ 12*(R)*-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (PLU 5)



Aspect : poudre marron

Formule brute : $C_{19}H_{24}O_4$

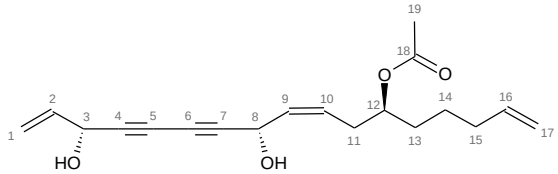
SMHR (ESI⁺) : *m/z* 339,1567 (calculée pour $C_{19}H_{24}O_4Na^+$: 339,1567)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 5,91 (H-2, ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,6*) ; 5,80 (H-16, ddt, *17,0* ; *10,3* ; *6,8*) ; 5,59 (H-9, ddl, *10,8* ; *8,0*) ; 5,55 (H-10, dtl, *11,4* ; *7,1*) ; 5,40 (H-1b, dtl, *17,0* ; *1,2*) ; 5,19 (H-1a, dt, *10,1* ; *1,3*) ; 5,17 (H-8, dl, *7,8*) ; 5,00 (H-17b, dql, *17,0* ; *1,6*) ; 4,94 (H-17a, ddt, *10,2* ; *2,1* ; *1,0*) ; 4,90 (H-12, m) ; 4,88 (H-3, dl, *5,4*) ; 2,44 (H-11b, dt, *14,7* ; *7,4*) ; 2,36 (H-11a, dt, *14,6* ; *5,4*) ; 2,06 (H-15, m) ; 2,04 (H-19, s) ; 1,59 (H-13, m) ; 1,45 (H-14b, m) ; 1,39 (H-14a, m).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 172,7 (C-18), 139,5 (C-16), 138,0 (C-2), 132,3 (C-9), 128,8 (C-10), 116,7 (C-1), 115,3 (C-17), 80,9 (C-7), 80,0 (C-4), 74,5 (C-12), 70,0 (C-5), 69,0 (C-6), 63,8 (C-3), 58,7 (C-8), 34,5 (C-15), 34,3 (C-13), 33,3 (C-11), 25,8 (C-14), 21,2 (C-19).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006710436 $[M+Na]^+$

❖ 12*(S)*-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (PLU 6)



Aspect : poudre marron

Formule brute : $C_{19}H_{24}O_4$

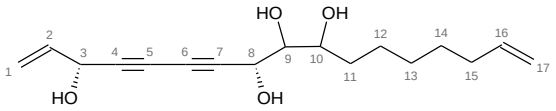
SMHR (ESI⁺) : *m/z* 339,1573 (calculée pour $C_{19}H_{24}O_4Na^+$: 339,1567)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 5,91 (H-2, ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,6*) ; 5,80 (H-16, ddt, *17,0* ; *10,3* ; *6,8*) ; 5,58 (H-9, dd, *10,8* ; *7,6*) ; 5,54 (H-10, dtl, *10,9* ; *7,3*) ; 5,40 (H-1b, dtl, *17,0* ; *1,2*) ; 5,19 (H-1a, dt, *10,1* ; *1,3*) ; 5,16 (H-8, dl, *7,6*) ; 4,99 (H-17b, dql, *17,0* ; *1,6*) ; 4,93 (H-17a, dm, *10,3*) ; 4,90 (H-12, d, *6,1*) ; 4,88 (H-3, dl, *5,4*) ; 2,40 (H-11, t, *6,3*) ; 2,06 (H-15, m) ; 2,03 (H-19, s) ; 1,59 (H-13, m) ; 1,45 (H-14b, m) ; 1,39 (H-14a, m).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 172,7 (C-18), 139,5 (C-16), 138,0 (C-2), 132,4 (C-9), 128,4 (C-10), 116,7 (C-1), 115,3 (C-17), 80,7 (C-7), 79,9 (C-4), 74,6 (C-12), 70,0 (C-5), 69,3 (C-6), 63,8 (C-3), 58,9 (C-8), 34,8 (C-15), 34,1 (C-13), 33,2 (C-11), 25,8 (C-14), 21,1 (C-19).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006710437 $[M+Na]^+$

❖ 9,10-dihydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (PLU 7)



Aspect : poudre marron

Formule brute : $C_{17}H_{24}O_4$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 293,1941 (calculée pour $C_{17}H_{25}O_4^+$: 293,1747)

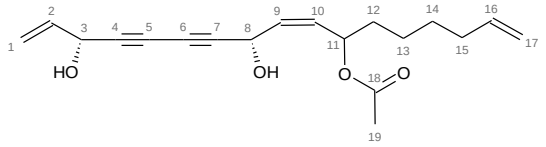
$[\alpha]_D^{25}$: +42 (*c* 0,36 mg/100 mL de MeOH)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 5,91 (H-2, ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,6*) ; 5,80 (H-16, ddtl, *17,0* ; *10,3* ; *6,8*) ; 5,40 (H-1b, dtl, *17,0* ; *1,2*) ; 5,19 (H-1a, dt, *10,2* ; *1,3*) ; 5,01 (H-17b, dql, *17,0* ; *1,8*) ; 4,95 (H-17a, dm, *10,0*) ; 4,89 (H-3, d, *5,3*) ; 4,43 (H-8, d, *8,7*) ; 4,24 (H-10, ddd, *9,2* ; *5,0* ; *1,8*) ; 3,58 (H-9, dd, *8,6* ; *1,7*) ; 2,06 (H-15, m) ; 1,87 (H-11b, m) ; 1,77 (H-11a, m) ; 1,54 (H-12b, m) ; 1,44 (H-12a, m) ; 1,41 (H-14, m) ; 1,40 (H-13, m).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 139,5 (C-16), 138,0 (C-2), 116,6 (C-1), 114,9 (C-17), 81,4 (C-7), 79,9 (C-4), 76,5 (C-10), 70,0 (C-5), 69,3 (C-6), 64,7 (C-8), 64,2 (C-9), 63,8 (C-3), 36,1 (C-11), 34,5 (C-15), 29,9 (C-14), 29,6 (C-13), 27,6 (C-12).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006710435 $[M+H-H_2O]^+$

❖ 11-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (PLU 8)



Aspect : poudre marron

Formule brute : $C_{19}H_{24}O_4$

SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 299,1640 (calculée pour $C_{19}H_{23}O_3^+$: 299,1642)

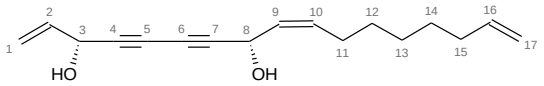
$[\alpha]_D^{25}$: +97 (*c* 0,404 mg/100 mL de MeOH)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 5,91 (H-2, ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,6*) ; 5,80 (H-16, ddtl, *16,8* ; *10,0* ; *6,9*) ; 5,65 (H-9, dd, *10,3* ; *8,6*) ; 5,55 (H-11, m) ; 5,51 (H-10, ddd, *10,4* ; *8,9* ; *1,1*) ; 5,40 (H-1b, dtl, *17,1* ; *1,3*) ; 5,27 (H-8, dtl, *8,5* ; *1,1*) ; 5,20 (H-1a, dtl, *10,1* ; *1,2*) ; 4,99 (H-17b, dql, *17,0* ; *1,8*) ; 4,92 (H-17a, dm, *10,2*) ; 4,89 (H-3, dl, *5,8*) ; 2,06 (H-15, m) ; 2,02 (H-19, s) ; 1,70 (H-12b, m) ; 1,59 (H-12a, m) ; 1,41 (H-14, m) ; 1,35 (H-13, m).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 172,1 (C-18), 139,7 (C-16), 137,9 (C-2), 132,7 (C-9), 132,1 (C-10), 116,7 (C-1), 115,0 (C-17), 80,7 (C-7), 79,9 (C-4), 71,1 (C-11), 70,0 (C-5), 69,2 (C-6), 63,7 (C-3), 59,0 (C-8), 35,3 (C-12), 34,6 (C-15), 29,6 (C-14), 25,4 (C-13), 21,1 (C-19).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006710433 $[M+H-H_2O]^+$

❖ **3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (PLU 9)**



Aspect : poudre marron

Formule brute : $C_{17}H_{22}O_2$

SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 241,1591 (calculée pour $C_{17}H_{21}O^+$: 241,1587)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 5,91 (H-2, ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,5*) ; 5,82 (H-16, ddt, *17,1* ; *10,3* ; *6,8*) ; 5,55 (H-10, dtd, *10,6* ; *7,6* ; *1,2*) ; 5,47 (H-9, ddt, *10,6* ; *8,4* ; *1,4*) ; 5,40 (H-1b, dt, *17,1* ; *1,4*) ; 5,19 (H-1a, dt, *10,2* ; *1,3*) ; 5,16 (H-8, dt, *8,4* ; *0,9*) ; 4,99 (H-17b, ddtl, *17,1* ; *2,0* ; *1,6*) ; 4,92 (H-17a, ddt, *10,2* ; *2,3* ; *1,1*) ; 4,88 (H-3, ddt, *5,6* ; *1,4* ; *0,7*) ; 2,12 (H-11, m) ; 2,06 (H-15, m) ; 1,41 (H-12, H-14, m) ; 1,34 (H-13, m).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 140,0 (C-16), 138,0 (C-2), 134,0 (C-10), 129,8 (C-9), 116,7 (C-1), 114,8 (C-17), 81,0 (C-7), 79,7 (C-4), 70,1 (C-5), 68,7 (C-6), 63,8 (C-3), 58,8 (C-8), 34,8 (C-15), 30,2 (C-12), 29,9 (C-14), 29,7 (C-13), 28,5 (C-11).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006710439 $[M+H-H_2O]^+$

IV. 3. Déréplication des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida*

❖ Profilage chimique

L'analyse CLUHP des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. lucida* a été réalisée sur un système CLUHP Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific) couplé à un SMHR selon les conditions suivantes :

- Colonne : Luna C18, 150 x 2,1 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF

- Gradient : 90 : 10 à 0 : 100 (15 min)
- Débit : 0,5 mL/min
- Volume injecté : 0,2 µL

Les spectres de masses ont été acquis en mode positif et négatif selon les conditions opératoires suivantes :

- gaz de nébulisation N_2 : 3,5 bars
- température de séchage du gaz : 200 °C
- débit du gaz N_2 : 4 L/min
- tension capillaire : 3000 V
- énergie d'ionisation : 20 à 40 eV

Les données brutes obtenues ont été automatiquement calibrées, en utilisant le calibrant interne comme référence, avec le logiciel Bruker Compass DataAnalysis 5.0.

❖ Réalisation du réseau moléculaire avec GNPS et Cytoscape

Les données des analyses CLUHP-SM^2 (.d), une fois calibrées, ont été converties au format .mzXML (mode centroïde) avec le logiciel MS-Convert de l'application ProteoWizard (http://proteowizard.sourceforge.net/). Les fichiers convertis ont ensuite été envoyés sur la plateforme GNPS (http://gnps.ucsd.edu) à l'aide d'un client FTP tel que Filezilla. Il est nécessaire de créer un compte avec GNPS pour pouvoir soumettre les données et créer le réseau moléculaire. Les spectres ont été traités en éliminant les ions situés dans un intervalle de ± 17 Da autour du *m/z* du précurseur. La liste des spectres SM^2 a été traitée avec l'algorithme MS-Cluster avec une tolérance de masse de 0,02 Da pour l'ion précurseur et les ions fragments afin de créer des spectres consensus. Les spectres consensus contenant moins de deux spectres n'ont pas été retenus. Le réseau a ensuite été généré en spécifiant les paramètres suivants :

- Score cosinus minimum (Min Pairs Cos) : 0,60
- Nombre minimum de fragments communs (Minimum Matched Fragment Ions) : 6
- Nombre maximum de nœuds voisins pour un sommet donné (Network TopK) : 10
- Taille minimum des clusters (Minimum Cluster Size) : 2
- Nombre maximum de sommets connectés (Maximum Connected Component Size) : 100

L'ensemble des résultats a été comparé aux spectres de la banque spectrale GNPS. Pour ce faire, le spectre expérimental et le spectre de la librairie doivent avoir un score CS supérieure à 0,7 et au moins 6 fragments en commun. Le réseau moléculaire généré et les résultats peuvent être pré-visualisés directement en ligne sur GNPS avec le lien https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=8aa1111a6ed44051b039c1e4391026d6.

Les données GNPS ont ensuite été visualisées hors ligne avec le logiciel Cytoscape v3.8.2 en téléchargeant le fichier .graphml obtenu par GNPS. Le réseau moléculaire montre des spectres consensus ayant le même ion précurseur sous forme de nœuds. Les connections entre les nœuds,

représentées par des traits, apparaissent lorsqu'au moins 6 ions fragments sont détectés et un indice CS supérieur à 0,60. L'épaisseur des traits est proportionnelle à l'indice CS. Plus des lignes sont épaisses, plus les nœuds sont proches structurellement. Ce réseau peut être personnalisé en modifiant de nombreuses propriétés des nœuds, des bords et des réseaux tels que les couleurs, les tailles, les formes et les étiquettes.

- **Annotation des nœuds**

Les nœuds ont été annotés par :

1- la comparaison des spectres expérimentaux avec ceux référencés dans la base de données GNPS.

2- la détermination des formules brutes des ions précurseurs avec l'outil « Smart Formula » de Data Analysis.

3- l'étude des différents profils de fragmentation.

4 - l'exploration d'autres bases de données telles que :

- Metfrag (https://msbi.ipb-halle.de/MetFrag/)
- Metlin (https://metlin.scripps.edu/)
- DNP (http://dnp.chemnetbase.com/)
- CFM-ID (https://cfmid.wishartlab.com/)

5- l'analyse par CLUHP-SM^2 des molécules identifiées par RMN dans les mêmes conditions que les fractions pour servir de standard.

V. Étude phytochimique de *Psiadia dentata*

V. 1. Fractionnement et isolement des métabolites spécialisés de *P. dentata*

- **Fractionnement 1**

L'extrait brut de *P. dentata* collectée à Montauban (La Réunion) en été (8 g), obtenu par une extraction accélérée par solvant (ASE) avec de l'AcOEt, a été fractionné par extraction liquide-liquide, réalisé trois fois, au moyen d'isohexane et de MeOH non miscibles. Ce fractionnement a donné lieu à deux fractions : **fraction iso-hexanique** (4,5 g) et **fraction méthanolique** (3,4 g). Les deux fractions ont été analysées par CLHP-DAD-CAD dans les mêmes conditions opératoires que l'extrait brut.

- Chromatographe : chaîne analytique Dionex Ultimate 3000
- Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient : 90 : 10 à 10 : 90 (30 min), 10 : 90 à 0 : 100 (20 min), 0 : 100 (20 min)

- Débit : 0,7 mL/min

❖ Fractionnement 2

4,25 g de la fraction iso-hexanique ont été fractionnés par CLMP (9 x 450 mg) en phase normale selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : système Sepacore
- Colonne : 230 x 15 mm
- Phase stationnaire : gel de silice
- Débit : 15 mL/min
- Éluants : Isohexane/AcOEt 95 : 5 (15 min) ; isohexane/AcOEt 90 : 10 (15 min) ; isohexane/AcOEt 85 : 15 (15 min) ; isohexane/AcOEt 80 : 20 (15 min) ; isohexane/AcOEt 75 : 25 (15 min) ; isohexane/AcOEt 70 : 30 (15 min) ; isohexane/AcOEt 60 : 40 (15 min) ; isohexane/AcOEt 50 : 50 (15 min) ; AcOEt 100 % (15 min) ; MeOH 100 % (10 min).

Ce fractionnement a permis l'obtention de 8 fractions : **F1** (1 933,4 mg), **F2** (340,0 mg), **F3** (299,2 mg), **F4** (106,5 mg), **F5** (252,0 mg), **F6** (284,0 mg), **F7** (161,9 mg), **F8** (796,5 mg).

❖ Fractionnement 3

La fraction **F2** (50 mg), contenant les composés **PDE 1** à **PDE 6**, a été fractionnée par CLHP semi-préparative, selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : chaîne analytique Agilent Technologies 1100 séries
- Colonne : Gemini C18 (5 µm), 250 x 10 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient : 40 : 60 à 25 : 75 (35 min), 0 : 100 (5 min), 40 : 60 (10 min)
- Débit : 4,5 mL/min
- Détection : DAD

A l'issue de ce fractionnement, 6 composés **PDE 1** (0,2 mg), **PDE 2** et **3** (0,6 mg), **PDE 4** (0,3 mg), **PDE 5** (0,3 mg) et **PDE 6** (0,8 mg) ont été isolés.

❖ Fractionnement 4

La fraction **F4** (45 mg) a été fractionnée par CLHP semi-préparative, afin d'obtenir les composés **PDE 7** à **PDE 11**, selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : chaîne analytique Agilent Technologies 1100 séries
- Colonne : Gemini C18 (5 µm), 250 x 10 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient : 50 : 50 à 15 : 85 (25 min), 0 : 100 (5 min), 50 : 50 (10 min)
- Débit : 4,5 mL/min
- Détection : DAD

Ce fractionnement a conduit à l'obtention des composés **PDE 7**, isolé en mélange avec **PDE 4** (1,3 mg), **PDE 8** (0,8 mg), **PDE 9** et **10** isolés en mélange (0,9 mg) et **PDE 11**, isolé en mélange avec **PDE 10** (0,3 mg).

❖ Fractionnement 5

La fraction **F7** (70 mg), contenant les composés **PDE 12** à **PDE 18**, a été fractionnée par CLHP semi-préparative, selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : chaîne d'auto-purification Waters 2545
- Colonne : Gemini C18 (5 µm), 250 x 10 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient : 55 : 45 (15 min), 45 : 55 à 40 : 60 (35 min), 5 : 95 (5 min)
- Débit : 4,5 mL/min
- Détection : DAD, DEDL

Neuf composés ont été isolés à partir de cette fraction. Il s'agit de **PDE 12** (0,5 mg), **PDE 13** et **14** (1,1 mg) qui ont été obtenus en mélange, **PDE 15** (0,6 mg), **PDE 16** (1,3 mg), **PDE 17** et **PDE 18** (3,8 mg) et le mélange **PDE 2** et **3** (2,1 mg) précédemment obtenus.

❖ Fractionnement 6

La fraction **F8** (550,0 mg) a été purifiée par CLMP selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : système Sepacore
- Colonne : 230 x 15 mm
- Phase stationnaire : Gel de silice
- Débit : 15 mL/min
- Éluants : Isohexane/AcOEt 90 : 10 (10 min) ; isohexane/AcOEt 80 : 20 (10 min) ; isohexane/AcOEt 70 : 30 (15 min) ; isohexane/AcOEt 60 : 40 (25 min) ; isohexane/AcOEt 50 : 50 (30 min) ; isohexane/AcOEt 40 : 60 (15 min) ; isohexane/AcOEt 20 : 80 (15 min) ; isohexane/AcOEt 10 : 90 (15 min) ; AcOEt 100 % (15 min) ; MeOH 100 % (15 min).

Ce fractionnement a permis d'obtenir 7 fractions : **SF1** (30,4 mg), **SF2** (65,0 mg), **SF3** (4,4 mg), **SF4** (56,7 mg), **SF5** (31,6 mg), **SF6** (17,1 mg), **SF7** (165,0 mg).

❖ Fractionnement 7

Les fractions **SF4** et **SF5**, contenant les composés **PDE 19** et **PDE 20**, ont été rassemblés puis 83,5 mg ont été fractionnées par CLMP selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : système Sepacore
- Colonne : 100 x 15 mm
- Phase stationnaire : Gel de silice
- Débit : 10 mL/min

- Éluants : Isohexane/AcOEt 100 : 0 à 50 : 50 (40 min) ; isohexane/AcOEt 50 : 50 à 0 : 100 (15 min) ; MeOH 100 % (15 min).

10 sous-fractions : **SF45.1** (2,5 mg), **SF45.2** (1,1 mg), **SF45.3** (0,8 mg), **SF45.4** (1,7 mg), **SF45.5** (1,4 mg), **SF45.6** (6,7 mg), **SF45.7** (11,3 mg), **SF45.8** (11,1 mg), **SF45.9** (10,5 mg), **SF45.10** (13,1 mg) ont été obtenues à l'issue de ce fractionnement.

❖ Fractionnement 8

Les sous-fractions **SF45.6** (6,7 mg) et **SF45.8** (11,1 mg) contiennent respectivement les composés **PDE 19** et **PDE 20**. Ces deux fractions ont été chacune soumises à un fractionnement CLHP semi-préparative selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : chaîne analytique Dionex Ultimate 3000
- Colonne : Gemini C18 (5 µm), 250 x 10 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient (**SF45.6**) : 50 : 50 (38 min), 50 : 50 à 35 : 65 (15 min), 35 : 65 (30 min)
- Gradient (**SF45.8**) : 50 : 50 (25 min), 50 : 50 à 0 : 100 (1 min), 0 : 100 (10 min)
- Débit : 4,5 mL/min
- Détection : DAD

Les deux composés **PDE 19** et **PDE 20** ont été purifiés à hauteur de 0,4 mg et 0,5 mg respectivement.

❖ Fractionnement 9

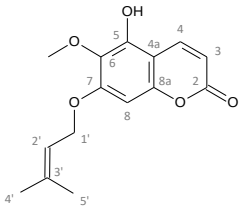
60 mg de la fraction méthanolique ont été fractionnés par CLHP semi-préparative, afin purifier les composés **PDE 21** à **PDE 25**, selon les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : chaîne analytique Dionex Ultimate 3000
- Colonne : Gemini C18 (5 µm), 250 x 10 mm
- Éluants : H_2O + 0,1 % AF/ACN + 0,1 % AF
- Gradient : 10 : 90 à 2 : 98 (15 min), 2 : 98 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min)
- Débit : 4,5 mL/min
- Détection : DAD

Ce fractionnement a permis d'obtenir les cinq composés **PDE 21** (1,1 mg), **PDE 22** (5,0 mg), **PDE 23** (2,3 mg), **PDE 24** et **25** (2,9 mg) isolés en mélange et deux autres composés **PDE 1** (0,6 mg) et **PDE 12** (0,8 mg) qui ont déjà été purifiés précédemment.

V. 2. Caractérisation des métabolites spécialisés isolés de *P. dentata*

❖ Isoobtusitine (PDE 1)



Aspect : poudre jaune

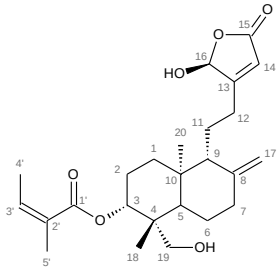
Formule brute : $C_{15}H_{16}O_5$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 277,1000 (calculée pour $C_{15}H_{17}O_5^+$: 277,1071)

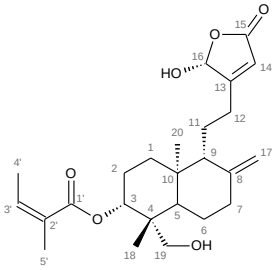
RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 8,12 (H-4, d, *9,6*) ; 6,52 (H-8, sl) ; 6,15 (H-3, d, *9,6*) ; 5,52 (H-2', tspt, *1,4 ; 6,8*) ; 4,65 (H-1', dl, *6,8*) ; 3,78 (C<u>H</u>$_3$O-6, s) ; 1,82 (H-4', dl, *1,4*) ; 1,80 (H-5', dl, *1,4*).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 163,8 (C-2), 157,4 (C-7), 153,2 (C-8a), 141,3 (C-4), 140,0 (C-3'), 134,6 (C-6), 120,2 (C-2'), 111,0 (C-3), 104,8 (C-4a), 93,5 (C-8), 66,8 (C-1'), 61,3 (<u>C</u>H$_3$O-6), 26,0 (C-4'), 18,3 (C-5').

❖ 3α-angéoyloxy-19,16*(R)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide (PDE 2) et 3α-angéoyloxy-19,16*(S)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide (PDE 3)



(**PDE 2**)



(**PDE 3**)

Aspect : poudre jaune

Formule brute : $C_{25}H_{36}O_6$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 433,2588 (calculée pour $C_{25}H_{37}O_6^+$: 433,2585)

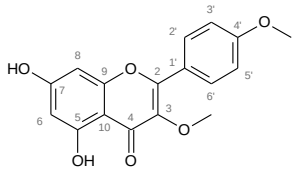
$[\alpha]_D^{25}$: - 145 (*c* 0,02 mg/100 mL de $CDCl_3$)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 6,12 (H-3', ddq, *14,7* ; *7,3* ; *1,5*) ; 5,97 (H-16, s) ; 5,86 (H-14, s) ; 4,97 (H-3, dd, *12,1* ; *4,4*) ; 4,89 (H-17b, sl) ; 4,51 (H-17a, sl) ; 3,36 (H-19b, d, *12,7*) ; 2,91 (H-19a, d, *12,5*) ; 2,52 (H-12b, m) ; 2,39 (H-7b, m) ; 2,34 (H-12a, m) ; 2,08 (H-7a, m) ; 1,98 (H-4', dq, *7,3* ; *1,4*) ; 1,91 (H-2b, m) ; 1,87 (H-5', m) ; 1,82 (H-1b, m) ; 1,80 (H-11b, m) ; 1,75 (H-9, m) ; 1,75 (H-6b, m) ; 1,74 (H-5, m) ; 1,73 (H-2a, m) ; 1,68 (H-11a, m) ; 1,37 (H-6a, m) ; 1,29 (H-1a, m) ; 0,77 (H-20, s) ; 0,68 (H-18, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 171,4 (C-13), 170,2 ; 170,1 (C-15), 169,3 (C-1'), 147,3 ; 147,2 (C-8), 139,5 (C-3'), 127,7 (C-2'), 117,3 (C-14), 107,3 ; 107,1 (C-17), 99,4 ; 99,1 (C-16), 74,3 (C-3), 64,5 (C-19), 56,1 ; 55,9 (C-9), 46,1 ; 46,0 (C-5), 42,9 (C-4), 39,2 (C-10), 37,6 (C-7), 36,8 (C-1), 26,9 ; 26,7 (C-12), 24,4 (C-2), 23,3 (C-6), 21,2 ; 21,0 (C-11), 20,8 (C-5'), 16,1 (C-4'), 15,3 (C-20), 13,0 (C-18).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006716147 $[M+H]^+$

❖ Ermanine (PDE 4)



Aspect : poudre jaune

Formule brute : $C_{17}H_{14}O_6$

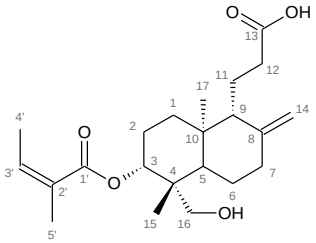
SMHR (ESI⁺) : *m/z* 315,0884 (calculée pour $C_{17}H_{15}O_6^+$: 315,0863)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 8,09 (H-2', H-6', d, *9,1*) ; 7,09 (H-3', H-5', d, *9,1*) ; 6,43 (H-8, d, *2,1*) ; 6,21 (H-6, d, *2,1*) ; 3,90 ($C\underline{H}_3O$-4', s) ; 3,79 ($C\underline{H}_3O$-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 176,0 (C-4), 164,3 (C-7), 163,5 (C-4'), 158,9 (C-5), 157,5 (C-2), 155,0 (C-9), 139,7 (C-3), 131,0 (C-2', C-6'), 123,9 (C-1'), 114,8 (C-3', C-5'), 106,1 (C-10), 99,6 (C-6), 94,5 (C-8), 60,2 ($\underline{C}H_3O$-3, s), 55,8 ($\underline{C}H_3O$-4').

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006716161 $[M+H]^+$

❖ Acide 3α-angéoyloxy-16-hydroxy-*ent*-labda-8(17)-én-13-oïque (PDE 5)



Aspect : pâte blanche

Formule brute : $C_{22}H_{34}O_5$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 378,2486 (calculée pour $C_{22}H_{35}O_5^+$: 378,2400)

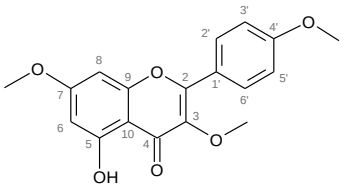
$[\alpha]_D^{25}$: - 50 (*c* 0,02 mg/100 mL de $CDCl_3$)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 6,12 (H-3', qq, *12,1* ; *1,5*) ; 5,01 (H-3, dd, *12,2* ; *4,3*) ; 4,88 (H-14b, sl) ; 4,52 (H-14a, sl) ; 3,35 (H-16b, d, *12,6*) ; 2,92 (H-16a, d, *12,6*) ; 2,53 (H-12b, m) ; 2,39 (H-7b, m) ; 2,32 (H-12a, m) ; 2,07 (H-7a) ; 1,99 (H-4', dq, *7,0* ; *1,5*) ; 1,90 (H-2b, m) ; 1,90 (H-11b, m) ; 1,88 (H-5', m) ; 1,86 (H-1b, m) ; 1,76 (H-5, m) ; 1,75 (H-6b, m) ; 1,73 (H-9, m) ; 1,73 (H-2a, m) ; 1,68 (H-11a, m) ; 1,37 (H-6a, m) ; 1,34 (H-1a, m) ; 0,77 (H-17, s) ; 0,69 (H-15, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 177,2 (C-13), 169,3 (C-1'), 147,4 (C-8), 139,2 (C-3'), 127,7 (C-2'), 107,1 (C-14), 74,3 (C-3), 64,5 (C-16), 55,8 (C-9), 46,6 (C-5), 43,5 (C-4), 39,2 (C-10), 37,8 (C-7), 36,9 (C-1), 32,4 (C-12), 24,3 (C-2), 23,3 (C-6), 20,9 (C-5'), 19,1 (C-11), 16,1 (C-4'), 15,2 (C-17), 12,6 (C-15).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006716148 $[M+H]^+$

❖ Kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther (PDE 6)



Aspect : pâte jaune pâle

Formule brute : $C_{18}H_{16}O_6$

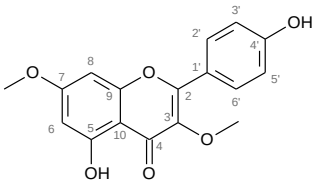
SMHR (ESI⁺) : *m/z* 329,1028 (calculée pour $C_{18}H_{17}O_6^+$: 329,1020)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 8,11 (H-2', H-6', d, *9,0*) ; 7,10 (H-3', H-5', d, *9,0*) ; 6,65 (H-8, d, *2,2*) ; 6,36 (H-6, d, *2,2*) ; 3,90 (C$\underline{H}_3$O-4', s) ; 3,90 (C$\underline{H}_3$O-7, s) ; 3,81 (C$\underline{H}_3$O-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 168,2 (C-4), 167,7 (C-7), 163,6 (C-4'), 162,8 (C-5), 158,6 (C-9), 157,7 (C-2), 140,0 (C-3), 131,3 (C-2', C-6'), 123,8 (C-1'), 115,2 (C-3', C-5'), 106,9 (C-10), 99,0 (C-6), 93,2 (C-8), 60,6 ($\underline{C}H_3$O-3, s), 56,5 ($\underline{C}H_3$O-7), 55,9 ($\underline{C}H_3$O-4').

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006716163 $[M+H]^+$

❖ Kumatakénine (PDE 7)



Aspect : poudre jaune

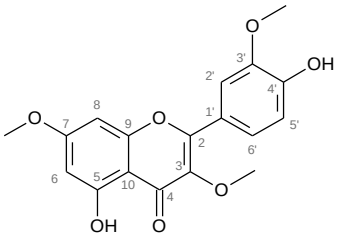
Formule brute : $C_{17}H_{14}O_6$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 315,0884 (calculée pour $C_{17}H_{15}O_6^+$: 315,0863)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 8,00 (H-2', H-6', d, *9,0*) ; 6,92 (H-3', H-5', d, *9,0*) ; 6,59 (H-8, sl) ; 6,31 (H-6, s) ; 3,88 (C$\underline{H}_3$O-7, s) ; 3,79 (C$\underline{H}_3$O-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 179,9 (C-4), 167,0 (C-7), 162,6 (C-5), 161,7 (C-4'), 158,1 (C-2), 158,0 (C-9), 139,9 (C-3), 131,7 (C-2', C-6'), 122,2 (C-1'), 116,6 (C-3', C-5'), 106,6 (C-10), 99,1 (C-6), 93,1 (C-8), 60,6 ($\underline{C}H_3$O-3, s), 56,6 ($\underline{C}H_3$O-7).

❖ Pachypodol (PDE 8)



Aspect : cristaux jaunes clairs

Formule brute : $C_{18}H_{16}O_7$

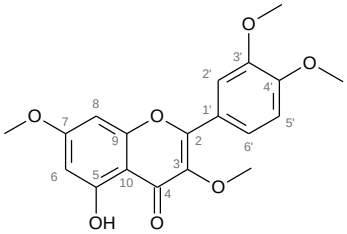
SMHR (ESI⁺) : *m/z* 345,0983 (calculée pour $C_{18}H_{17}O_7^+$: 345,0969)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 7,74 (H-2', d, *1,9*) ; 7,69 (H-6', dd, *8,5 ; 2,0*), 6,95 (H-5', d, *8,4*) ; 6,65 (H-8, dl, *2,0*) ; 6,34 (H-6, d, *2,0*) ; 3,95 (C<u>H</u>$_3$O-3', s) ; 3,89 (C<u>H</u>$_3$O-7, s) ; 3,81 (C<u>H</u>$_3$O-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 180,2 (C-4), 167,2 (C-7), 163,1 (C-5), 158,4 (C-9), 158,1 (C-2), 150,8 (C-4'), 149,4 (C-3'), 139,8 (C-3), 123,8 (C-6'), 122,8 (C-1'), 116,4 (C-5'), 112,7 (C-2'), 106,9 (C-10), 99,0 (C-6), 93,1 (C-8), 60,6 (<u>C</u>H$_3$O-3, s), 56,5 (<u>C</u>H$_3$O-7), 56,5 (<u>C</u>H$_3$O-3').

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006716162 $[M+H]^+$

❖ **Rétusine (PDE 9)**



Aspect : poudre jaune

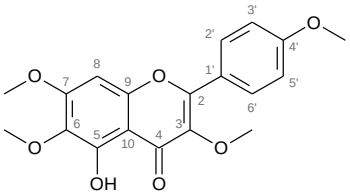
Formule brute : $C_{19}H_{18}O_7$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 359,1138 (calculée pour $C_{19}H_{19}O_7^+$: 359,1125)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 7,80 (H-6', dd, *8,4 ; 2,1*) ; 7,75 (H-2', d, *1,8*) ; 7,13 (H-5', d, *8,6*) ; 6,67 (H-8, d, *2,0*) ; 6,35 (H-6, d, *2,0*) ; 3,93 (C<u>H</u>$_3$O-4', s) ; 3,92 (C<u>H</u>$_3$O-3', s) ; 3,90 (C<u>H</u>$_3$O-7, s) ; 3,83 (C<u>H</u>$_3$O-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 167,3 (C-7), 160,4 (C-5), 158,3 (C-9), 156,8 (C-2), 153,2 (C-4'), 150,4 (C-3'), 133,5 (C-3), 124,1 (C-1'), 123,6 (C-6'), 112,8 (C-2'), 112,4 (C-5'), 106,8 (C-10), 99,2 (C-6), 93,3 (C-8), 61,1 (<u>C</u>H$_3$O-3, s), 56,5 (<u>C</u>H$_3$O-3'), 56,5 (<u>C</u>H$_3$O-4'), 56,3 (<u>C</u>H$_3$O-7).

❖ **Pendulétine 4'-méthyl éther (PDE 10)**



Aspect : poudre jaune

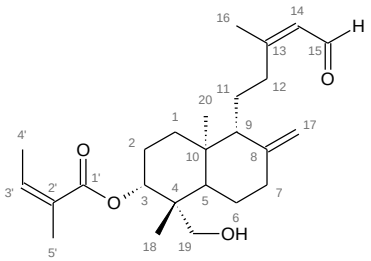
Formule brute : $C_{19}H_{18}O_7$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 359,1138 (calculée pour $C_{19}H_{19}O_7^+$: 359,1125)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 8,12 (H-2', H-6', d, *8,9*) ; 7,10 (H-3', H-5', d, *8,9*) ; 6,80 (H-8, sl) ; 3,97 (C<u>H</u>$_3$O-7, s) ; 3,90 (C<u>H</u>$_3$O-4', s) ; 3,84 (C<u>H</u>$_3$O-6, s) ; 3,82 (C<u>H</u>$_3$O-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 163,4 (C-4'), 160,5 (C-7), 157,8 (C-2), 154,2 (C-9), 139,8 (C-3), 133,5 (C-6), 131,5 (C-2', C-6'), 123,8 (C-1'), 115,2 (C-3', C-5'), 107,1 (C-10), 92,1 (C-8), 61,2 (C̲H$_3$O-6), 60,6 (C̲H$_3$O-3, s), 57,0 (C̲H$_3$O-7), 56,4 (C̲H$_3$O-4').

❖ **3α-angéloyloxy-19-hydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-dién-15-al (PDE 11)**



Aspect : huile blanche

Formule brute : $C_{25}H_{38}O_4$

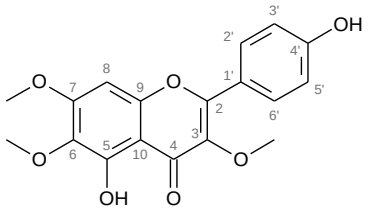
SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 420,3108 (calculée pour $C_{25}H_{42}O_4N^+$: 420,3109)

[α]$_D^{25}$: - 30 (*c* 0,04 mg/100 mL de $CDCl_3$)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 9,96 (H-15, d, *8,2*) ; 6,09 (H-3', qql, *7,2* ; *1,4*) ; 5,83 (H-14, dsxt, *8,2* ; *1,2*) ; 4,97 (H-3, dd, *12,0* ; *4,5*) ; 4,92 (H-17b, sl) ; 4,57 (H-17a, dl, *1,2*) ; 3,30 (H-19b, dl, *11,6*) ; 3,13 (H-19a, dl, *11,6*) ; 2,41 (H-12b, m) ; 2,40 (H-7b, m) ; 2,22 (H-16, d, *2,2*) ; 2,13 (H-12a, m) ; 2,07 (H-7a, m) ; 1,96 (H-4', dql, *7,2* ; *1,4*) ; 1,87 (H-5', qtl, *1,4*) ; 1,85 (H-1b, m) ; 1,80 (H-2b, m) ; 1,76 (H-11b, m) ; 1,75 (H-6, m) ; 1,75 (H-2a, m) ; 1,73 (H-5, m) ; 1,71 (H-9, m) ; 1,62 (H-11a, m) ; 1,29 (H-1a, m) ; 0,81 (H-20, s) ; 0,76 (H-18, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 193,6 (C-15), 169,1 (C-1'), 168,0 (C-13), 148,9 (C-8), 138,8 (C-3'), 129,5 (C-2'), 128,1 (C-14), 107,5 (C-17), 75,5 (C-3), 64,6 (C-19), 57,2 (C-9), 47,3 (C-5), 43,1 (C-4), 40,5 (C-12), 40,1 (C-10), 38,6 (C-7), 37,6 (C-1), 24,8 (C-2), 24,7 (C-6), 22,6 (C-11), 20,9 (C-5'), 17,6 (C-16), 16,1 (C-4'), 15,5 (C-20), 14,0 (C-18).

❖ **Pendulétine (PDE 12)**



Aspect : poudre jaune

Formule brute : $C_{18}H_{16}O_7$

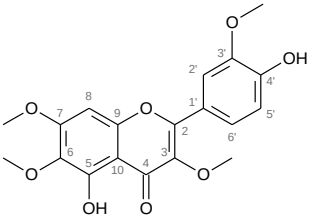
SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 345,0960 (calculée pour $C_{18}H_{17}O_7^+$: 345,0969)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 8,04 (H-2', H-6', d, *8,8*) ; 6,97 (H-3', H-5', d, *8,8*) ; 6,50 (H-8, s) ; 3,96 (C̲H$_3$O-7, s) ; 3,92 (C̲H$_3$O-6, s) ; 3,86 (C̲H$_3$O-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 178,4 (C-4), 158,9 (C-7), 158,2 (C-4'), 156,4 (C-2), 152,7 (C-5), 152,3 (C-9), 138,9 (C-3), 132,4 (C-6), 130,6 (C-2', C-6'), 123,2 (C-1'), 115,8 (C-3', C-5'), 106,8 (C-10), 90,5 (C-8), 61,1 (C̲H$_3$O-6), 60,3 (C̲H$_3$O-3, s), 56,5 (C̲H$_3$O-7).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006716152 $[M+H]^+$

❖ Chrysosplénétine (PDE 13)



Aspect : poudre blanche

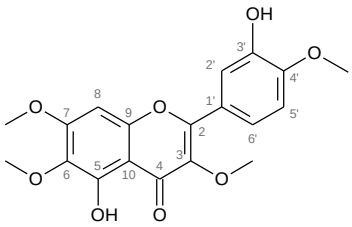
Formule brute : $C_{19}H_{18}O_8$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 375,1076 (calculée pour $C_{19}H_{19}O_8^+$: 375,1074)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 7,71 (H-2', d, *1,9*) ; 7,68 (H-6', dd, *8,4* ; *2,0*) ; 7,05 (H-5', d, *8,5*) ; 6,50 (H-8, s) ; 3,99 (C<u>H</u>$_3$O-3', s) ; 3,96 (C<u>H</u>$_3$O-7, s) ; 3,93 (C<u>H</u>$_3$O-6, s) ; 3,86 (C<u>H</u>$_3$O-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 178,1 (C-4), 159,1 (C-7), 156,0 (C-2), 152,7 (C-5), 152,6 (C-9), 148,4 (C-4'), 146,7 (C-3'), 138,9 (C-3), 132,4 (C-6), 123,1 (C-6'), 122,8 (C-1'), 114,8 (C-5'), 111,2 (C-2'), 106,9 (C-10), 90,6 (C-8), 61,2 (<u>C</u>H$_3$O-6, s), 60,4 (<u>C</u>H$_3$O-3), 56,6 (<u>C</u>H$_3$O-7), 56,4 (<u>C</u>H$_3$O-3').

❖ Casticine (PDE 14)



Aspect : poudre blanche

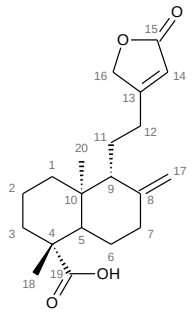
Formule brute : $C_{19}H_{18}O_8$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 375,1076 (calculée pour $C_{19}H_{19}O_8^+$: 375,1074)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 7,74 (H-6', dd, *8,6* ; *2,2*) ; 7,66 (H-2', d, *2,0*) ; 6,97 (H-5', d, *8,6*) ; 6,51 (H-8, s) ; 4,00 (C<u>H</u>$_3$O-4', s) ; 3,96 (C<u>H</u>$_3$O-7, s) ; 3,92 (C<u>H</u>$_3$O-6, s) ; 3,87 (C<u>H</u>$_3$O-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 178,1 (C-4), 159,1 (C-7), 156,0 (C-2), 152,7 (C-5), 152,6 (C-9), 148,4 (C-4'), 146,7 (C-3'), 138,9 (C-3), 132,4 (C-6), 123,1 (C-6'), 122,8 (C-1'), 114,4 (C-2'), 110,6 (C-5'), 106,9 (C-10), 90,6 (C-8), 61,2 (<u>C</u>H$_3$O-6, s), 60,4 (<u>C</u>H$_3$O-3), 56,6 (<u>C</u>H$_3$O-7), 56,4 (<u>C</u>H$_3$O-4').

❖ Acide *ent*-8(17),13-labdadién-15,16-olid-19-oïque (PDE 15)



Aspect : huile incolore

Formule brute : $C_{20}H_{28}O_4$

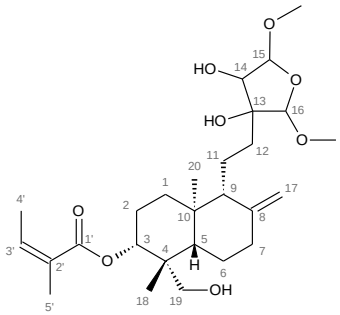
SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 333,2062 (calculée pour $C_{20}H_{29}O_4^+$: 333,2060)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 5,86 (H-14, q, *1,5*) ; 4,90 (H-17b, sl) ; 4,75 (H-16b, dd, *17,4* ; *1,3*) ; 4,70 (H-16a, dd, *17,4* ; *1,3*) ; 4,48 (H-17a, sl) ; 2,56 (H-12b, m) ; 2,38 (H-7b, dq, *12,8* ; *2,2*) ; 2,25 (H-12a, m) ; 2,04 (H-7a) ; 1,96 (H-5, dd, *12,4* ; *2,8*) ; 1,79 (H-1b, m) ; 1,79 (H-3b, m) ; 1,78 (H-11b, m) ; 1,74 (H-9, m) ; 1,66 (H-3a, m) ; 1,66 (H-11a, m) ; 1,64 (H-2, m) ; 1,49 (H-6b, dd, *12,8* ; *4,3*) ; 1,39 (H-6a, dm, *12,9*) ; 1,16 (H-20, s) ; 1,14 (H-1a, m) ; 0,73 (H-18, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 182,9 (C-19), 174,1 (C-15), 171,0 (C-13), 147,3 (C-8), 115,3 (C-14), 107,4 (C-17), 73,3 (C-16), 56,4 (C-9), 49,7 (C-5), 47,5 (C-4), 39,2 (C-10), 38,2 (C-1), 37,9 (C-7), 37,7 (C-3), 27,6 (C-12), 26,9 (C-6), 21,3 (C-11), 18,5 (C-2), 16,5 (C-20), 14,8 (C-18).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006716153 $[M+H]^+$

❖ 3α-angéoyloxy-19-hydroxy-15,16-diméthoxy-*ent*-labda-8(17)-én-furan-13,14-diol (PDE 16)



Aspect : pâte blanche

Formule brute : $C_{27}H_{44}O_8$

SMHR (ESI$^-$) : *m/z* 495,2049 (calculée pour $C_{27}H_{43}O_8^-$: 495,2963)

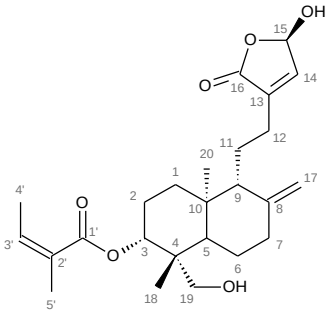
$[\alpha]_D^{25}$: - 51 (*c* 0,04 mg/100 mL de $CDCl_3$)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 6,11 (H-3', qql, *7,2* ; *1,4*) ; 5,00 (H-3, dd, *12,1* ; *4,5*) ; 4,90 (H-15, dl, *3,6*) ; 4,84 (H-17b, sl) ; 4,75 (H-16, s) ; 4,58 (H-17a, sl) ; 3,95 (H-14, dl, *3,6*) ; 3,47 (C<u>H</u>$_3$O-15, s) ; 3,40 (C<u>H</u>$_3$O-16, s) ; 3,34 (H-19b, dl, *12,5*) ; 2,92 (H-19a, dl, *12,5*) ; 2,56 (<u>H</u>O-14) ; 2,44 (<u>H</u>O-13) ; 2,38 (H-7b, dddl, *12,9* ; *4,2* ; *2,3*) ; 2,06 (H-7a, tdl, *12,9* ; *4,6*) ; 1,99 (H-4', dq, *7,2* ; *1,4*) ; 1,90 (H-2b, m) ; 1,90 (H-11b, m) ; 1,88 (H-5', qtl, *1,4*) ; 1,82 (H-12b, m) ; 1,82 (H-1b, m) ; 1,74 (H-6b, m) ; 1,74 (H-5, m) ; 1,73 (H-11a, m) ; 1,70 (H-2a, m) ; 1,66 (H-9, m) ; 1,46 (H-12a, m) ; 1,37 (H-6a, m) ; 1,28 (H-1a, m) ; 0,76 (H-20, s) ; 0,68 (H-18, s).

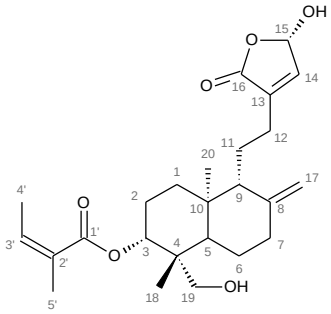
RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 169,2 (C-1'), 147,8 (C-8), 138,9 (C-3'), 127,9 (C-2'), 110,7 (C-15), 109,0 (C-16), 107,3 (C-17), 81,5 (C-13), 80,4 (C-14), 74,4 (C-3), 64,9 (C-19), 57,0 (C-9), 56,5 ($\underline{C}H_3O$-15), 55,4 ($\underline{C}H_3O$-16), 46,3 (C-5), 43,0 (C-4), 39,3 (C-10), 37,8 (C-7), 36,8 (C-1), 32,8 (C-12), 24,5 (C-2), 24,5 (C-11), 23,4 (C-6), 20,8 (C-5'), 16,0 (C-4'), 15,3 (C-20), 13,0 (C-18).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006716149 $[M-CH_3OH+H]^+$

- **3α-angéoyloxy-19,15*(R)*-dihydroxy-*ent*-andrograpanine (PDE 17) et 3α-angéoyloxy-19,15*(S)*-dihydroxy-*ent*-andrograpanine (PDE 18)**



(**PDE 17**)



(**PDE 18**)

Aspect : pâte blanche

Formule brute : $C_{25}H_{36}O_6$

SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 433,2589 (calculée pour $C_{25}H_{37}O_6^+$: 433,2585)

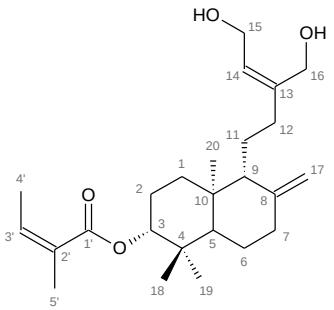
$[\alpha]_D^{25}$: - 145 (*c* 0,02 mg/100 mL de $CDCl_3$)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 6,85 (H-14, m) ; 6,11 (H-3', ddq, *14,2* ; *7,1* ; *1,3*) ; 6,08 (H-15, dt, *6,3* ; *1,9*) ; 4,97 (H-3, dt, *11,9* ; *4,5*) ; 4,89 (H-17b, sl) ; 4,58 (H-17a, d, *3,5*) ; 3,36 (H-19b, d, *12,6*) ; 2,91 (H-19a, d, *12,6*) ; 2,46 (H-12b, m) ; 2,39 (H-7b, dm, *12,4*) ; 2,16 (H-12a, m) ; 2,08 (H-7a, m) ; 1,98 (H-4', dq, *7,4* ; *1,6*) ; 1,89 (H-2b, m) ; 1,88 (H-5', m) ; 1,82 (H-1b, m) ; 1,74 (H-5, m) ; 1,74 (H-11b, m) ; 1,73 (H-9, m) ; 1,73 (H-6b, m) ; 1,71 (H-2a, m) ; 1,64 (H-11a, m) ; 1,36 (H-6a, m) ; 1,26 (H-1a, m) ; 0,75 (H-20, s) ; 0,68 (H-18, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 171,8 ; 172,0 (C-16), 169,3 (C-1'), 147,2 (C-8), 143,6 (C-14), 139,3 (C-3'), 138,5 ; 138,6 (C-13), 127,7 (C-2'), 107,3 (C-17), 96,9 ; 97,0 (C-15), 74,4 (C-3), 64,5 (C-19), 55,6 ; 55,7 (C-9), 46,1 (C-5), 42,9 (C-4), 39,1 (C-10), 37,6 (C-7), 36,8 (C-1), 24,3 ; 24,4 (C-12), 23,3 (C-2), 23,1 (C-6), 21,6 ; 21,7 (C-11), 20,8 (C-5'), 16,1 (C-4'), 15,3 (C-20), 13,0 (C-18).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006716159 $[M+NH_4]^+$

- **3α-angéloyloxy-15,16-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène (PDE 19)**



Aspect : cristaux blancs

Formule brute : $C_{25}H_{40}O_4$

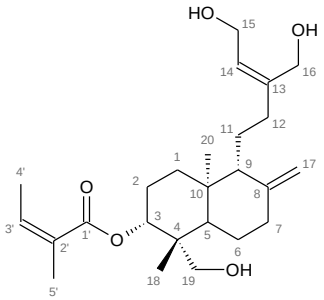
SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 427,2815 (calculée pour $C_{25}H_{40}O_4Na^+$: 427,2819)

$[\alpha]_D^{25}$: - 54 (*c* 0,04 mg/100 mL de $CDCl_3$)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 6,03 (H-3', qq, *12,0* ; *1,5*) ; 5,62 (H-14, t, *6,8*) ; 4,99 (H-3, dd, *11,9* ; *4,0*) ; 4,87 (H-17b, sl) ; 4,56 (H-17a, sl) ; 4,22 (H-15, dd, *6,7 ; 2,9*) ; 4,20 (H-16b, d, 1*2,3*) ; 4,16 (H-16a, d, 1*2,5*) ; 2,41 (H-7b, m) ; 2,33 (H-12b, m) ; 2,02 (H-7a, m) ; 1,96 (H-4', dql, *7,2* ; *1,5*) ; 1,92 (H-12a, m) ; 1,89 (H-5', m) ; 1,81 (H-1b, m) ; 1,80 (H-2b, m) ; 1,75 (H-6b, m) ; 1,65 (H-2a, m) ; 1,61 (H-11b, m) ; 1,61 (H-9, m) ; 1,52 (H-11a, m) ; 1,41 (H-6a, dd, *12,9* ; *4,2*) ; 1,25 (H-1a, m) ; 1,21 (H-5, m) ; 0,90 (H-19, s) ; 0,88 (H-18, s) ; 0,72 (H-20, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 168,2 (C-1'), 148,2 (C-8), 144,5 (C-13), 138,1 (C-3'), 128,5 (C-2'), 126,6 (C-14), 107,3 (C-17), 80,7 (C-3), 61,5 (C-16), 59,1 (C-15), 56,4 (C-9), 55,1 (C-5), 39,8 (C-10), 38,5 (C-4), 38,2 (C-7), 37,3 (C-1), 35,2 (C-12), 28,7 (C-19), 25,0 (C-2), 24,3 (C-6), 22,4 (C-11), 21,1 (C-5'), 17,3 (C-18), 16,2 (C-4'), 15,1 (C-20).

❖ 3α-angéloyloxy-15,16,19-trihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène (PDE 20)



Aspect : cristaux blancs

Formule brute : $C_{25}H_{40}O_5$

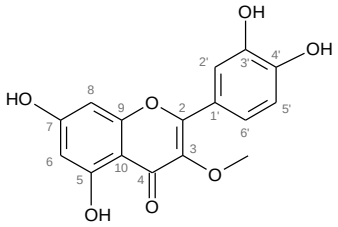
SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 443,2764 (calculée pour $C_{25}H_{40}O_5Na^+$: 443,2768)

$[\alpha]_D^{25}$: - 135 (*c* 0,02 mg/100 mL de $CDCl_3$)

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 6,12 (H-3', qq, *12,1* ; *1,4*) ; 5,62 (H-14, t, *7,1*) ; 5,00 (H-3, dd, *12,0* ; *4,4*) ; 4,87 (H-17b, sl) ; 4,56 (H-17a, sl) ; 4,22 (H-15, dd, *6,8 ; 3,2*) ; 4,19 (H-16b, d, 1*2,4*) ; 4,16 (H-16a, d, 1*2,3*) ; 3,35 (H-19b, d, *12,7*) ; 2,92 (H-19a, d, *12,7*) ; 2,39 (H-7b, m) ; 2,32 (H-12b, m) ; 2,08 (H-7a, m) ; 1,96 (H-4', dql, *7,3* ; *1,4*) ; 1,92 (H-12a, m) ; 1,91 (H-2b, m) ; 1,88 (H-5', m) ; 1,84 (H-1b, m) ; 1,76 (H-6b, m) ; 1,75 (H-5, m) ; 1,72 (H-2a, m) ; 1,71 (H-9, m) ; 1,64 (H-11b, m) ; 1,51 (H-11a, m) ; 1,35 (H-6a, dd, *13,1* ; *4,2*) ; 1,28 (H-1a, m) ; 0,76 (H-20, s) ; 0,68 (H-18, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$), δ en ppm : 169,1 (C-1'), 147,2 (C-8), 144,5 (C-13), 139,1 (C-3'), 127,5 (C-2'), 126,3 (C-14), 107,0 (C-17), 74,3 (C-3), 64,6 (C-19), 61,2 (C-16), 58,8 (C-15), 56,1 (C-9), 46,1 (C-5), 42,9 (C-4), 39,1 (C-10), 37,7 (C-7), 36,1 (C-1), 34,8 (C-12), 24,4 (C-2), 23,4 (C-6), 22,5 (C-11), 20,9 (C-5'), 16,2 (C-4'), 15,4 (C-20), 13,1 (C-18).

❖ 3-*O*-méthylquercétine (PDE 21)



Aspect : poudre jaune

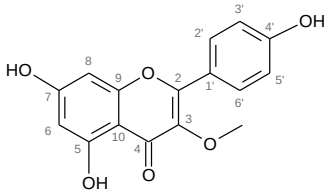
Formule brute : $C_{16}H_{12}O_7$

SMHR (ESI⁺) : *m/z* 317,0649 (calculée pour $C_{16}H_{13}O_7^+$: 317,0656)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 7,63 (H-2', d, *2,1*) ; 7,54 (H-6', dd, *8,5* ; *2,2*) ; 6,91 (H-5', d, *8,5*) ; 6,40 (H-8, d, *2,1*) ; 6,20 (H-2, d, *2,1*) ; 3,79 (C$\underline{H}_3$O-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 179,7 (C-4), 165,8 (C-5), 163,1 (C-9), 158,5 (C-7), 156,4 (C-2), 148,0 (C-4'), 144,4 (C-3'), 137,6 (C-3), 121,0 (C-1'), 120,3 (C-6'), 114,8 (C-2'), 114,7 (C-5'), 105,8 (C-10), 97,9 (C-6), 92,9 (C-8), 58,7 ($\underline{C}H_3$O-3).

❖ Isokaempféride (PDE 22)



Aspect : poudre jaune

Formule brute : $C_{16}H_{12}O_6$

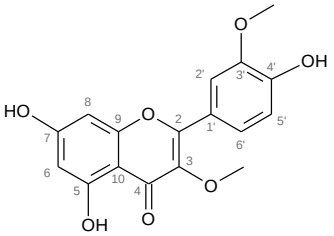
SMHR (ESI⁺) : *m/z* 301,0723 (calculée pour $C_{16}H_{13}O_6^+$: 301,0707)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 8,00 (H-2', H-6', d, *9,0*) ; 6,93 (H-3', H-5', d, *9,0*) ; 6,40 (H-8, d, *2,2*) ; 6,20 (H-2, d, *2,1*) ; 3,77 (C$\underline{H}_3$O-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 172,1 (C-4), 162,9 (C-5), 157,2 (C-9), 156,9 (C-7), 149,4 (C-2), 145,6 (C-4'), 138,6 (C-3), 122,7 (C-2', C-6'), 122,5 (C-1'), 114,5 (C-3', C-5'), 106,1 (C-10), 98,8 (C-6), 93,8 (C-8), 60,2 ($\underline{C}H_3$O-3, s).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006716158 $[M+H]^+$

❖ 3,3'-di-*O*-méthylquercétine (PDE 23)



Aspect : poudre jaune

Formule brute : $C_{17}H_{14}O_7$

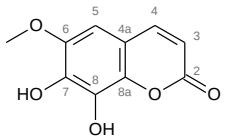
SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 331,0810 (calculée pour $C_{17}H_{15}O_7^+$: 331,0812)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 7,70 (H-2', d, *2,0*) ; 7,67 (H-6', dd, *8,5* ; *1,8*) ; 7,05 (H-5', d, *8,5*) ; 6,41 (H-8, d, *2,2*) ; 6,28 (H-2, d, *2,4*) ; 3,98 (C<u>H</u>$_3$O-3', s) ; 3,86 (C<u>H</u>$_3$O-3, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 172,1 (C-4), 157,8 (C-5), 157,2 (C-9), 156,9 (C-7), 149,4 (C-2), 146,2 (C-3'), 145,6 (C-4'), 138,6 (C-3), 122,7 (C-6'), 122,5 (C-1'), 114,5 (C-5'), 110,8 (C-2'), 106,1 (C-10), 98,8 (C-6), 93,8 (C-8), 63,4 (<u>C</u>H$_3$O-3'), 60,2 (<u>C</u>H$_3$O-3).

Identifiant GNPS : CCMSLIB00006716154 $[M+H]^+$

❖ Fraxétine (PDE 24)



Aspect : poudre jaune pâle

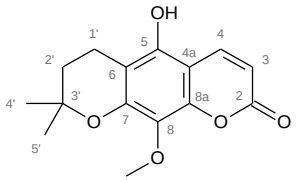
Formule brute : $C_{10}H_8O_5$

SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 209,0455 (calculée pour $C_{10}H_9O_5^+$: 209,0445)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 8,09 (H-4, dd, *9,6* ; *0,6*) ; 6,32 (H-5, d, *0,6*) ; 6,09 (H-3, d, *9,6*) ; 3,78 (C<u>H</u>$_3$O-6, s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 164,2 (C-2), 156,0 (C-8a), 153,1 (C-7), 141,6 (C-4), 133,4 (C-6), 110,3 (C-3), 103,9 (C-4a), 96,0 (C-5), 61,3 (<u>C</u>H$_3$O-6).

❖ 5-hydroxydihydroluvangétine (PDE 25)



Aspect : poudre jaune pâle

Formule brute : $C_{15}H_{16}O_5$

SMHR (ESI$^+$) : *m/z* 277,1083 (calculée pour $C_{15}H_{17}O_5^+$: 277,1071)

$[\alpha]_D^{25}$: - 63 (*c* 0,04 mg/100 mL de MeOH)

RMN ^{1}H (600 MHz, CD_3OD), δ en ppm (m, *J en Hz*) : 8,13 (H-4, d, *9,6*) ; 6,13 (H-3, d, *9,6*) ; 3,78 (C<u>H</u>$_3$O-8, s) ; 2,82 (H-1', t, *6,8*) ; 1,88 (H-2', t, *6,8*) ; 1,41 (H-4', H-5', s).

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD), δ en ppm : 163,9 (C-2), 152,6 (C-5), 150,5 (C-7), 141,6 (C-4), 133,6 (C-8), 110,0 (C-3), 103,9 (C-4a), 102,1 (C-6), 77,0 (C-3'), 61,4 (<u>C</u>H$_3$O-8), 32,6 (C-2'), 27,0 (C-4', C-5'), 17,1 (C-1').

V. 3. Déréplication des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. dentata*

Le profilage chimique, la réalisation du réseau moléculaire à partir des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. dentata* ainsi que l'annotation des nœuds ont été réalisés avec les mêmes conditions opératoires et les mêmes étapes que celles des fractions iso-hexanique et méthanolique de l'extrait brut de *P. lucida*, présentées dans le paragraphe IV. 3 - page 252. Le seul paramètre qui change est l'indice CS qui définit l'apparition des liaisons entre les nœuds et qui est égal à 0,62 pour *P. dentata.* À noter que le réseau moléculaire généré et les résultats peuvent être pré-visualisés en ligne sur le site du GNPS avec le lien :

https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=12c133ae14b240a8ae5e74b60068bd92.

Références bibliographiques

Publications, ouvrages, chapitres d'ouvrages et thèses.

Abad, M.J., Bermejo, P., Alvarez, M., Guerra, J.A., Silván, A.M. & Villar, A.M. (2004). Flavonoids and a sesquiterpene lactone from *Tanacetum microphyllum* inhibit anti-inflammatory mediators in LPS-stimulated mouse peritoneal macrophages. *Planta Medica*, 70 (1), 34-38. https://doi.org/10.1055/s-2004-815452.

Abdalla, S., Zarga, M.A., Afifi, F., al-Khalil, S., Mahasneh, A. & Sabri, S. (1989). Effects of 3,3'-di-*O*-methylquercetin on guinea-pig isolated smooth muscle. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 41 (2), 138-141. https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1989.tb06413.x.

Abou-Zaid, M.M., El-Karemy, Z., El-Negoumy, S.I., Altosaar, I. & Saleh, N.A.M. (1991). The flavonoids of *Psiadia Punctulata*. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 5 (1), 37-40. https://doi.org/10.4314/bcse.v5i1.

Abu-Gharbieh, E. & Shehab, N.G. (2017). Therapeutic potentials of *Crataegus azarolus* var. *eu- azarolus* Maire leaves and its isolated compounds. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17 (1), 218-231. https://doi.org/10.1186/s12906-017-1729-9.

Ackland, M.L., van de Waarsenburg, S. & Jones, R. (2005). Synergistic antiproliferative action of the flavonols quercetin and kaempferol in cultured human cancer cell lines. *In Vivo (Athens, Greece)*, 19 (1), 69-76.

Adams, R.P. (2001). *Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy.* 3rd Ed. Allured Publishing Corporation. Illinois USA. 456 p. (ISBN: 978-0931710858).

Adams, R.P. (2017). *Identification of essential oil components by gaz chromatography/ mass spectrometry.* 5th Ed. Texensis Publishing Gruver, Texas USA. 804 p. (ISBN: 978-0-9981557-2-2).

Ahrens, M.J. & Thompson, D.L. (2013). Effect of emulin on blood glucose in type 2 diabetics. *Journal of Medicinal Food*, 16 (3), 211-215. https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0069.

Alam, G., Wahyuono, S., Ganjar, I.G., Hakim, L., Timmerman, H. & Verpoorte, R. (2002). Tracheospasmolytic activity of viteosin-A and vitexicarpin isolated from *Vitex trifolia*. *Planta Medica*, 68 (11), 1047-1049. https://doi.org/10.1055/s-2002-35650.

Alan, F.T. (1967). La configuration du « carquéjol » (Isopropényl-2-methylène-3-cyclohexène-4-ol) et la conformation privilégiée de l'ortho-néo-isomenthol. *Helvetica Chimica Acta.* 50 (3), 963-978. https://doi.org/10.1002/hlca.19670500320.

Alanko, J., Kurahashi, Y., Yoshimoto, T., Yamamoto, S. & Baba, K. (1994). Panaxynol, a polyacetylene compound isolated from oriental medicines, inhibits mammalian lipoxygenases. *Biochemical Pharmacology*, 48 (10), 1979-1981. https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90598-3.

Al-Dabbas, M.M., Kitahara, K., Suganuma, T., Hashimoto, F. & Tadera, K. (2006). Antioxidant and *alpha*-amylase inhibitory compounds from aerial parts of *Varthemia iphionoides* Boiss. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70 (9), 2178-2184. https://doi.org/10.1271/bbb.60132.

Alhusainy, W., Paini, A., Punt, A., Louisse, J., Spenkelink, A., Vervoort, J., Delatour, T., Scholz, G., Schilter, B., Adams, T., van Bladeren, P.J. & Rietjens, I.M.C.M. (2010). Identification of nevadensin as an important herb-based constituent inhibiting estragole bioactivation and physiology-based biokinetic modeling of its possible *in vivo* effect. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 245 (2), 179-190. https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.02.017.

Ali, H.-A., Chowdhury, A., Rahman, A., Borkowski, T., Nahar, D.L. & Sarker, S. (2008). Pachypodol, a flavonol from the leaves of *Calycopteris floribunda*, inhibits the growth of CaCo2 colon cancer cell line *in vitro*. *Phytotherapy research*, 22, 1684-1687. https://doi.org/10.1002/ptr.2539.

Ali, M.Y., Jannat, S., Jung, H.A., Choi, R.J., Roy, A. & Choi, J.S. (2016). Anti-Alzheimer's disease potential of coumarins from *Angelica decursiva* and *Artemisia capillaris* and structure-activity analysis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9 (2), 103-111. https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.01.014.

Allard, P.-M., Péresse, T., Bisson, J., Gindro, K., Marcourt, L., Pham, V.C., Roussi, F., Litaudon, M. & Wolfender, J.-L. (2016). Integration of molecular networking and *in-silico* MS/MS fragmentation for natural products dereplication. *Analytical Chemistry*, 88 (6), 3317-3323. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04804.

Allen, F., Greiner, R. & Wishart, D. (2015). Competitive fragmentation modeling of ESI-MS/MS spectra for putative metabolite identification. *Metabolomics*, 11 (1), 98-110. https://doi.org/10.1007/s11306-014-0676-4.

Almeida, V.M., Dias, Ê.R., Souza, B.C., Cruz, J.N., Santos, C.B.R., Leite, F.H.A., Queiroz, R.F. & Branco, A. (2021). Methoxylated flavonols from *Vellozia dasypus* Seub ethyl acetate active myeloperoxidase extract: *in vitro* and

in silico assays. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 1-10. https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1900916.

Al-Musayeib, N.M., Mohamed, G.A., Ibrahim, S.R.M. & Ross, S.A. (2014). New thiophene and flavonoid from *Tagetes minuta* leaves growing in Saudi Arabia. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19 (3), 2819-2828. https://doi.org/10.3390/molecules19032819.

Alonso-Castro, A.J., Juárez-Vázquez, M. del C. & Campos-Xolalpa, N. (2016). Medicinal plants from Mexico, Central America, and the Caribbean used as immunostimulants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, id. 4017676. https://doi.org/10.1155/2016/4017676.

Altay, A., Köksal, E., Ulutaş, Y., Şimşek, S., Akşit, H., Alp, C., Kandemir, A. & Demirtaş, İ. (2020). Isolation, characterization and antiproliferative activity of secondary metabolites from *Tanacetum alyssifolium* (Bornm.) Grierson. *Records of Natural Products,* 15 (2), 122-129. https://doi.org/10.25135/rnp.201.20.07.1702.

Alves Galvão, M.G., Rocha Crispino Santos, M.A. & Alves da Cunha, A.J.L. (2014). Amantadine and rimantadine for influenza A in children and the elderly. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1(11), 1-125. https://doi.org/10.1002/14651858.CD002745.pub4.

Alwash, M.S., Aqma, W.S., Ahmad, W.Y. & Ibrahim, N. (2020). Transcriptomic response in *Pseudomonas aeruginosa* towards treatment with a kaempferol isolated from *Melastoma malabathricum* Linn leaves. *International Journal of Microbiology*, 2020 (11), 1-14. https://doi.org/10.1155/2020/6915483.

Al-Yahya, M.A., Hifnawy, M.S., Mossa, J.S., El-Feraly, F.S., McPhail, D.R. & McPhail, A.T. (1987). X-ray structure of psiadiarabin, a flavone from *Psiadia arabica*. *Phytochemistry*, 26 (9), 2648-2649. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)83901-1.

Amina, M., Alam, P., Parvez, M.K., Al-Musayeib, N.M., Al-Hwaity, S.A., Al-Rashidi, N.S. & Al-Dosari, M.S. (2018). Isolation and validated HPTLC analysis of four cytotoxic compounds, including a new sesquiterpene from aerial parts of *Plectranthus cylindraceus. Natural Product Research*, 32 (7), 804-809. https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1363750.

Amoros, M., Simões, C.M., Girre, L., Sauvager, F. & Cormier, M. (1992). Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *Journal of Natural Products*, 55 (12), 1732-1740. https://doi.org/10.1021/np50090a003.

Andrews, R.E., Parks, L.W. & Spence, K.D. (1980). Some effects of Douglas fir terpenes on certain microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 40 (2), 301-304. https://doi.org/10.1128/aem.40.2.301-304.1980.

Andriamanantoanina, H., Mananjarasoa, E., Ramaroson, L., Casabianca, H. & Grenier-Loustalot, M.F. (2004). Composition and antimicrobial activity of the leaf of *Psiadia lucida* (Cass.) Drake (*Asteraceae*). *Journal of Essential Oil Research*, 16 (6), 623-625. https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698811.

Andrianarison, E.R., Rakotosaona, R., Andrianaivoravelona, O.J. & Andrianarison, R.J. (2015a). Composition chimique et activité antimicrobienne d'huiles essentielles de *Psiadia salviifolia Baker* (*Asteraceae*) ou « kijitina » provenant de la région Amoron'i Mania à Madagascar. *Mada-hary*, 4, 1-9.

Andrianarison, E.R., Rakotosaona, R., Andrianaivoravelona, O.J. & Andrianarison, R.J. (2015b). Screening phytochimique et activité antimicrobienne d'extraits non volatils de *Psiadia salviifolia* (*Asteraceae*) ou « kijitina » provenant de la région Amoron'i Mania à Madagascar. *Mada-hary*, 4, 1-10.

Anis, I., Ahmed, S., Malik, A., Yasin, A. & Choudary, M.I. (2002). Enzyme inhibitory constituents from *Duranta repens. Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 50 (4), 515-518. https://doi.org/10.1248/cpb.50.515.

Antonelli, A., Fry, C., Smith, R., Simmonds, M., Kersey, P., Pritchard, H., Abbo, M., Acedo, C., Adams, J., Ainsworth, A., Allkin, B., Annecke, W., Bachman, S., Bacon, K., Bárrios, S., Barstow, C., Battison, A., Bell, E., Bensusan, K. & Zhang, B. (2020). *State of the World's Plants and Fungi 2020.* Royal Botanic Gardens, Kew London. 100 p. https://doi.org/10.34885/172.

Arita, M., Philipov, S. & Galabov, A.S. (2015). Phosphatidylinositol 4-kinase III *beta* is the target of oxoglaucine and pachypodol (Ro 09-0179) for their anti-poliovirus activities, and is located at upstream of the target step of brefeldin A. *Microbiology and Immunology*, 59 (6), 338-347. https://doi.org/10.1111/1348-0421.12261.

Aron, A.T., Gentry, E., McPhail, K.L., Nothias, L.F., Nothias-Esposito, M., Bouslimani, A., Petras, D., Gauglitz, J.M., Sikora, N., Vargas, F., J. van der Hooft, J.J., Ernst, M., Kang, K.B., Aceves, C.M., Caraballo-Rodríguez, A.M., Koester, I., Weldon, K.C., Bertrand, S., Roullier, C., Sun, K., Tehan, R.M., Boya, C.A., Martin H., C., Gutiérrez, M., Ulloa, A.M., Mora, J.A.T., Mojica-Flores, R., Lakey-Beitia, J., Vásquez-Chaves, V., I. Calderón, A., Tayler, N., Keyzers, R.A., Tugizimana, F., Ndlovu, N., Aksenov, A.A., Jarmusch, A.K., Schmid, R., Truman, A.W., Bandeira, N., Wang, M. &

Dorrestein, P. (2019). Reproducible molecular networking of untargeted mass spectrometry data using GNPS. Nature Protocols, 15 (6), 1954-1991. https://doi.org/10.26434/chemrxiv.9333212.v1.

Arroo, R.R.J., Sari, S., Barut, B., Özel, A., Ruparelia, K.C. & Şöhretoğlu, D. (2020). Flavones as tyrosinase inhibitors: kinetic studies *in vitro* and *in silico*. *Phytochemical analysis*, 31 (3), 314-321. https://doi.org/10.1002/pca.2897.

Astutik, S., Pretzsch & Kimengsi, J. (2019). Asian medicinal plants' production and utilization potentials: A review. *Sustainability*, 11 (19), id. 5483. https://doi.org/10.3390/su11195483.

Atanasov, A.G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E.-M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S., Heiss, E.H., Rollinger, J.M., Schuster, D., Breuss, J.M., Bochkov, V., Mihovilovic, M.D., Kopp, B., Bauer, R., Dirsch, V.M. & Stuppner, H. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances*, 33 (8), 1582-1614. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001.

Atmaca, M., Bilgin, H.M., Obay, B.D., Diken, H., Kelle, M. & Kale, E. (2011). The hepatoprotective effect of coumarin and coumarin derivates on carbon tetrachloride-induced hepatic injury by antioxidative activities in rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 67 (4), 569-576. https://doi.org/10.1007/s13105-011-0103-5.

Aumeeruddy-Elalfi, Z., Gurib-Fakim, A. & Mahomoodally, F. (2015). Antimicrobial, antibiotic potentiating activity and phytochemical profile of essential oils from exotic and endemic medicinal plants of Mauritius. *Industrial Crops and Products*, 71, 197-204. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.058.

Autard, M. (2017). Place et intérêt de l'aromathérapie en cancérologie. Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie - Université d'Aix- Marseille.

Autore, G., Rastrelli, L., Lauro, M.R., Marzocco, S., Sorrentino, R., Sorrentino, U., Pinto, A. & Aquino, R. (2001). Inhibition of nitric oxide synthase expression by a methanolic extract of *Crescentia alata* and its derived flavonols. *Life Sciences*, 70 (5), 523-534. https://doi.org/10.1016/s0024-3205(01)01425-4.

Awale, S., Linn, T.Z., Li, F., Tezuka, Y., Myint, A., Tomida, A., Yamori, T., Esumi, H. & Kadota, S. (2011). Identification of chrysoplenetin from *Vitex negundo* as a potential cytotoxic agent against PANC-1 and a panel of 39 human cancer cell lines (JFCR-39). *Phytotherapy research*, 25 (12), 1770-1775. https://doi.org/10.1002/ptr.3441.

Awang, K., Abdullah, N.H., Hadi, A.H.A. & Fong, Y.S. (2012). Cardiovascular activity of labdane diterpenes from *Andrographis paniculata* in isolated rat hearts. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 11, id. 876458. https://doi.org/10.1155/2012/876458.

Bagdas, D., Etoz, B.C., Gul, Z., Ziyanok, S., Inan, S., Turacozen, O., Gul, N.Y., Topal, A., Cinkilic, N., Tas, S., Ozyigit, M.O. & Gurun, M.S. (2015). *In vivo* systemic chlorogenic acid therapy under diabetic conditions: Wound healing effects and cytotoxicity/genotoxicity profile. *Food and Chemical Toxicology*, 81, 54-61. https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.04.001.

Bai, N., He, K., Zhou, Z., Lai, C.-S., Zhang, L., Quan, Z., Shao, X., Pan, M.-H. & Ho, C.-T. (2010). Flavonoids from *Rabdosia rubescens* exert anti-inflammatory and growth inhibitory effect against human leukemia HL-60 cells. *Food Chemistry*, 122 (3), 831-835. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.071.

Bajko, E., Kalinowska, M., Borowski, P., Siergiejczyk, L. & Lewandowski, W. (2016). 5-*O*-Caffeoylquinic acid: A spectroscopic study and biological screening for antimicrobial activity. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 471-479. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.024.

Baker, J.G. (1887). Further contributions to the flora of Madagascar. *Journal of the Linnean Society of London, Botany*, 22 (149), 473-537. https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1887.tb02431.x.

Ban, N.K., Thoa, N.T.K., Linh, T.M., Trang, D.T., Van Kiem, P., Nhiem, N.X., Tai, B.H., Van Minh, C., Song, J.-H., Ko, H.-J. & Kim, S.H. (2018). Labdane-type diterpenoids from *Vitex limonifolia* and their antivirus activities. *Journal of Natural Medicines*, 72 (1), 290-297. https://doi.org/10.1007/s11418-017-1125-2.

Banskota, A.H., Tezuka, Y., Adnyana, I.K., Xiong, Q., Hase, K., Tran, K.Q., Tanaka, K., Saiki, I. & Kadota, S. (2000a). Hepatoprotective effect of *Combretum quadrangulare* and its constituents. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 23 (4), 456-460. https://doi.org/10.1248/bpb.23.456.

Banskota, A.H., Tezuka, Y., Prasain, J.K., Matsushige, K., Saiki, I. & Kadota, S. (1998). Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities. *Journal of Natural Products*, 61 (7), 896-900. https://doi.org/10.1021/np980028c.

Banskota, A.H., Tezuka, Y., Tran, K.Q., Tanaka, K., Saiki, I. & Kadota, S. (2000b). Methyl quadrangularates A-D and related triterpenes from *Combretum quadrangulare*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 48 (4), 496-504. https://doi.org/10.1248/cpb.48.496.

Baron, R. & Dorr, L.J. (1906). Compendium des plantes malgaches. *Taxon*, 36 (1), 39-46. https://doi.org/10.2307/1221349.

Basabe, P., de Román, M., Marcos, I.S., Diez, D., Blanco, A., Bodero, O., Mollinedo, F., Sierra, B.G. & Urones, J.G. (2010). Prenylflavonoids and prenyl/alkyl-phloroacetophenones: Synthesis and antitumour biological evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45 (9), 4258-4269. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.06.025.

Basak, A., Cooper, S., Roberge, A.G., Banik, U.K., Chrétien, M. & Seidah, N.G. (1999). Inhibition of proprotein convertases-1, -7 and furin by diterpines of *Andrographis paniculata* and their succinoyl esters. *The Biochemical Journal*, 338 (1), 107-113. https://doi.org/10.1042/bj3380107.

Bean, W.J., Threlkeld, S.C. & Webster, R.G. (1989). Biologic potential of amantadine-resistant influenza A virus in an avian model. *The Journal of Infectious Diseases*, 159 (6), 1050-1056. https://doi.org/10.1093/infdis/159.6.1050.

Beatriz, A., Araújo, Y.J.K. & Lima, D.P. de (2011). Glycerol: a brief history and their application in stereoselective syntheses. *Química Nova*, 34 (2), 306-319. https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000200025.

Belshe, R.B., Burk, B., Newman, F., Cerruti, R.L. & Sim, I.S. (1989). Resistance of influenza A virus to amantadine and rimantadine: results of one decade of surveillance. *The Journal of Infectious Diseases*, 159 (3), 430-435. https://doi.org/10.1093/infdis/159.3.430.

Bernart, M.W., Cardellina, J.H., Balaschak, M.S., Alexander, M.R., Shoemaker, R.H. & Boyd, M.R. (1996). Cytotoxic falcarinol oxylipins from *Dendropanax arboreus. Journal of Natural Products*, 59 (8), 748-753. https://doi.org/10.1021/np960224o.

Bero, J., Frédérich, M. & Quetin-Leclercq, J. (2009). Antimalarial compounds isolated from plants used in traditional medicine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61 (11), 1401-1433. https://doi.org/10.1211/jpp.61.11.0001.

Bero, J. & Quetin-Leclercq, J. (2011). Natural products published in 2009 from plants traditionally used to treat malaria. *Planta Medica*, 77 (6), 631-640. https://doi.org/10.1055/s-0030-1250405.

Betts, R.F. (1989). Amantadine and rimantadine for the prevention of influenza A. *Seminars in Respiratory Infections*, 4 (4), 304-310.

Bianchi, S.E., Kaiser, S., Pittol, V., Doneda, E., Souza, K.C.B.D. & Bassani, V.L. (2019). Semi-preparative isolation and purification of phenolic compounds from *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C. by high-performance counter-current chromatography. *Phytochemical Analysis*, 30 (2), 182-192. https://doi.org/10.1002/pca.2803.

Bianchi, S.E., Pegues, M.A., Dias, C.K., Mascia, F., Doneda, E., Pittol, V., Rao, V.A., Klamt, F. & Bassani, V.L. (2020). Achyrocline satureioides compounds, achyrobichalcone and 3-*O*-methylquercetin, induce mitochondrial dysfunction and apoptosis in human breast cancer cell lines. *IUBMB life*, 72 (10), 2133-2145. https://doi.org/10.1002/iub.2348.

Blunt, J.W., Carroll, A.R., Copp, B.R., Davis, R.A., Keyzers, R.A. & Prinsep, M.R. (2018). Marine natural products. *Natural Product Reports*, 35 (1), 8-53. https://doi.org/10.1039/C7NP00052A.

Bobe, G., Albert, P.S., Sansbury, L.B., Lanza, E., Schatzkin, A., Colburn, N.H. & Cross, A.J. (2010). Interleukin-6 as a potential indicator for prevention of high-risk adenoma recurrence by dietary flavonols in the polyp prevention trial. *Cancer Prevention Research (Philadelphia)*, 3 (6), 764-775. https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-09-0161.

Boff, L., Silva, I.T., Argenta, D.F., Farias, L.M., Alvarenga, L.F., Pádua, R.M., Braga, F.C., Leite, J.P.V., Kratz, J.M. & Simões, C.M.O. (2016). *Strychnos pseudoquina* A. St. Hil.: a Brazilian medicinal plant with promising *in vitro* antiherpes activity. *Journal of Applied Microbiology*, 121 (6), 1519-1529. https://doi.org/10.1111/jam.13279.

Boghrati, Z., Naseri, M., Rezaie, M., Pham, N., Quinn, R.J., Tayarani-Najaran, Z. & Iranshahi, M. (2016). Tyrosinase inhibitory properties of phenylpropanoid glycosides and flavonoids from *Teucrium polium* L. var. *gnaphalodes*. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 19 (8), 804-811. https://dx.doi.org/10.22038/ijbms.2016.7460.

Bohlmann, F., Arndt, C., Bornowski, H. & Kleine, K.-M. (1962). Polyacetylenverbindungen, XXXVII. Über die Polyine der *Gattung bidens* L. *Chemische Berichte*, 95 (6), 1315-1319. https://doi.org/10.1002/cber.19620950602.

Bohlmann, F., Niedballa, U. & Rode, K.-M. (1966). Polyacetylenverbindungen, CXVIII. Über neue Polyine mit C17-Kette. *Chemische Berichte*, 99 (11), 3552-3558. https://doi.org/10.1002/cber.19660991122.

Bohlmann, F. & Swita, A. (1978). New terpene derivatives from *Piqueria trinervia*. *Phytochemistry*, 17 (3), 560-561. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)89369-3.

Bohlmann, F., Zdero, C., King, R.M. & Robinson, H. (1984). Gutierrezial and further diterpenes from *Gutierrezia sarothrae*. *Phytochemistry*, 23 (9), 2007-2012. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84959-6.

Bohm, B. & Stuessy, T. (2001). *Flavonoids of the sunflower family (Asteraceae).* Springer Verlag, Vienna Italia. 840 p. (ISBN: 978-3211834794). https://doi.org/10.2307/4111137.

Boiteau, P. (1979). *Précis de matière médicale malgache*. 1st Ed. La Librairie de Madagascar, Antananarivo Madagascar. 97 p.

Boiteau, P. (1999). *Dictionnaire des noms malgaches de végétaux.* 4 volumes. Alzieu, Grenoble France. 1958 p. (ISBN: 978-2-910717-40-7).

Borchardt, J.K. (2002). The beginnings of drug therapy: Ancient mesopotamian medicine. *Drug news & perspectives*, 15 (3), 187-192. https://doi.org/10.1358/dnp.2002.15.3.840015.

Bosser, J., Guého, J. & Jeffrey, C. (1993). *Flore des Mascareignes: La Réunion, Maurice, Rodrigues. 109. Composées.* Reduit, Port Louis Maurice ; The Sugar Industry Research Institute, l'Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération (ORSTOM), Paris ; The Royal Botanic Gardens, Kew London. 261 p. (ISBN: 2-7099-1407-7).

Bradesi, P., A, B., Tomi, F. & Casanova, J. (1996). L'analyse des mélanges complexes par RMN du Carbone-13-Partie 2. *Canadian Journal of Applied Spectroscopy*, 41 (1), 41-50.

Brahmachari, G. (2014). *Limnophila* (*Scrophulariaceae*): Chemical and pharmaceutical aspects - an update. *The Open Natural Products Journal*, 7 (1), 1-14. http://dx.doi.org/10.2174/1874848101407010001.

Brahmachari, G., Jash, S., Mandal, L., Mondal, A. & Roy, R. (2008). Cyclooxygenase (COX) - Inhibitory flavonoid from *Limnophila heterophylla*. *Rasayan Journal of Chemistry*, 1 (2), 288-291.

Brahmachari, G., Mandal, N.C., Jash, S.K., Roy, R., Mandal, L.C., Mukhopadhyay, A., Behera, B., Majhi, S., Mondal, A. & Gangopadhyay, A. (2011). Evaluation of the antimicrobial potential of two flavonoids isolated from *Limnophila* plants. *Chemistry & Biodiversity*, 8 (6), 1139-1151. https://doi.org/10.1002/cbdv.201000264.

Breitmaier, E. & Voelter, W. (1986). *Carbon-13 NMR spectroscopy: high-resolution methods and applications in organic chemistry and biochemistry.* 3rd Ed. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim German. 531 p. (ISBN: 978-3527264667).

Brooks, M.J., Burtseva, E.I., Ellery, P.J., Marsh, G.A., Lew, A.M., Slepushkin, A.N., Crowe, S.M. & Tannock, G.A. (2012). Antiviral activity of arbidol, a broad-spectrum drug for use against respiratory viruses, varies according to test conditions. *Journal of Medical Virology*, 84 (1), 170-181. https://doi.org/10.1002/jmv.22234.

Brown, G.D., Liang, G.-Y. & Sy, L.-K. (2003). Terpenoids from the seeds of *Artemisia annua. Phytochemistry*, 64 (1), 303-323. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00294-2.

Bruu, A.L. & Orstavik, I. (1992). Amantadine and rimantadine against influenza A. *Tidsskrift for Den Norske Laegeforening*, 112 (16), 2102-2104.

Bundy, R., Walker, A.F., Middleton, R.W., Wallis, C. & Simpson, H.C.R. (2008). Artichoke leaf extract (*Cynara scolymus*) reduces plasma cholesterol in otherwise healthy hypercholesterolemic adults: a randomized, double blind placebo controlled trial. *Phytomedicine*, 15 (9), 668-675. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.03.001.

Cai, L. (1996). Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *Journal of Natural Products*, 59 (10), 987-990. https://doi.org/10.1021/np960451q.

Calderon-Montaño, M., Burgos-Moron, E., Pérez-Guerrero, C. & López-Lázaro, M. (2011). A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 11 (4), 298-344. https://doi.org/10.2174/138955711795305335.

Canonica, L., Rindone, B., Scolastico, C., Ferrari, G. & Casagrande, C. (1967). Structure and stereochemistry of psiadiol, a new diterpenoid. *Tetrahedron Letters*, 8 (28), 2639-2643. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)89966-4.

Canonica, L., Rindone, B., Scolastico, C., Ferrari, G. & Casagrande, C. (1969). Costituenti estrattivi della *Psiadia altissima* Benth & Hook. *Gazetta Chimica Italiana,* 99, 260-275.

Cao, X., Xiao, H., Zhang, Y., Zou, L., Chu, Y. & Chu, X. (2010). 1,5-Dicaffeoylquinic acid-mediated glutathione synthesis through activation of Nrf2 protects against OGD/reperfusion-induced oxidative stress in astrocytes. *Brain Research*, 1347, 142-148. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.05.072.

Cao, Y., Zang, Y., Huang, X. & Cheng, Z. (2019). Chemical constituents from *Artemisia rupestris* and their neuraminidase inhibitory activity. *Natural Product Research*, 35 (11), 1775-1782. https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1639178.

Carman, R. (1966). Optical rotation and structure in the labdane series of diterpenoids. *Australian Journal of Chemistry*, 19 (4), 629-642. https://doi.org/10.1071/CH9660629.

Carnat, A., Heitz, A., Fraisse, D., Carnat, A.-P. & Lamaison, J.-L. (2000). Major dicaffeoylquinic acids from *Artemisia vulgaris*. *Fitoterapia*, 71 (5), 587-589. https://doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00163-5.

Castillo, Q.A., Triana, J., Eiroa, J.L., Padrón, J.M., Plata, G.B., Abel-Santos, E.V., Báez, L.A., Rodríguez, D.C., Jiménez, M.A. & Pérez-Pujols, M.F. (2015). Flavonoids from *Eupatorium illitum* and their antiproliferative activities. *Pharmacognosy Journal,* 7 (3), 178-181. https://doi.org/10.5530/pj.2015.3.6.

Castrillo, J.L. & Carrasco, L. (1987). Action of 3-methylquercetin on poliovirus RNA replication. *Journal of Virology*, 61 (10), 3319-3321. https://doi.org/10.1128/JVI.61.10.3319-3321.1987.

Cavé, A., Bouquet, A. & Paris, R.R. (1973). Pachypodol (5,4'-dihydroxy 3,7,3'-trimethoxy flavone or 3,7,3'-quercetol trimethylether), a new flavonoid isolated from *Pachypodanthium confine* Engler and Diels (*Annonaceae*). *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De l'Academie Des Sciences. Serie D: Sciences Naturelles*, 276 (12), 1899-1901.

Certo, G., Costa, R., D'Angelo, V., Russo, M., Albergamo, A., Dugo, G. & Germanò, M.P. (2017). Anti-angiogenic activity and phytochemical screening of fruit fractions from *Vitex agnus castus*. *Natural Product Research*, 31 (24), 2850-2856. https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1303696.

Céspedes, C.L., Avila, J.G., Martínez, A., Serrato, B., Calderón-Mugica, J.C. & Salgado-Garciglia, R. (2006). Antifungal and antibacterial activities of Mexican tarragon (*Tagetes lucida*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (10), 3521-3527. https://doi.org/10.1021/jf053071w.

Chakravarti, D. & Chakravarti, R.N. (1952). Andrographolide. Part I. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 1697-1700. https://doi.org/10.1039/JR9520001697.

Chambers, M.C., Maclean, B., Burke, R., Amodei, D., Ruderman, D.L., Neumann, S., Gatto, L., Fischer, B., Pratt, B., Egertson, J., Hoff, K., Kessner, D., Tasman, N., Shulman, N., Frewen, B., Baker, T.A., Brusniak, M.-Y., Paulse, C., Creasy, D., Flashner, L., Kani, K., Moulding, C., Seymour, S.L., Nuwaysir, L.M., Lefebvre, B., Kuhlmann, F., Roark, J., Rainer, P., Detlev, S., Hemenway, T., Huhmer, A., Langridge, J., Connolly, B., Chadick, T., Holly, K., Eckels, J., Deutsch, E.W., Moritz, R.L., Katz, J.E., Agus, D.B., MacCoss, M., Tabb, D.L. & Mallick, P. (2012). A cross-platform toolkit for mass spectrometry and proteomics. *Nature biotechnology*, 30 (10), 918-920. https://doi.org/10.1038/nbt.2377.

Chan, E.W.C., Wong, S.K. & Chan, H.T. (2018). Casticin from *Vitex* species: a short review on its anticancer and anti-inflammatory properties. *Journal of Integrative Medicine*, 16 (3), 147-152. https://doi.org/10.1016/j.joim.2018.03.001.

Chandrasekaran, C.V., Thiyagarajan, P., Deepak, H.B. & Agarwal, A. (2011). *In vitro* modulation of LPS/calcimycin induced inflammatory and allergic mediators by pure compounds of *Andrographis paniculata* (King of bitters) extract. *International Immunopharmacology*, 11 (1), 79-84. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.10.009.

Chang, C.-J. & Geahlen, R.L. (1992). Protein-tyrosine kinase inhibition: Mechanism-based discovery of antitumor agents. *Journal of Natural Products*, 55 (11), 1529-1560. https://doi.org/10.1021/np50089a001.

Chang, H.-C., Wang, S.-W., Chen, C.-Y., Hwang, T.-L., Cheng, M.-J., Sung, P.-J., Liao, K.-W. & Chen, J.-J. (2020). Secoiridoid glucosides and anti-inflammatory constituents from the stem bark of *Fraxinus chinensis*. *Molecules*, 25 (24), id. 5911. https://doi.org/10.3390/molecules25245911.

Chang, H.-T., Chou, C.-T., Lin, Y.-S., Shieh, P., Kuo, D.-H., Jan, C.-R. & Liang, W.-Z. (2016). Esculetin, a natural coumarin compound, evokes Ca(2+) movement and activation of Ca(2+)-associated mitochondrial apoptotic pathways that involved cell cycle arrest in ZR-75-1 human breast cancer cells. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 37 (4), 4665-4678. https://doi.org/10.1007/s13277-015-4286-1.

Chang, W.S., Lin, C.C., Chuang, S.C. & Chiang, H.C. (1996). Superoxide anion scavenging effect of coumarins. *The American Journal of Chinese Medicine*, 24 (1), 11-17. https://doi.org/10.1142/S0192415X96000037.

Chayrov, R., Parisis, N.A., Chatziathanasiadou, M.V., Vrontaki, E., Moschovou, K., Melagraki, G., Sbirkova-Dimitrova, H., Shivachev, B., Schmidtke, M., Mitrev, Y., Sticha, M., Mavromoustakos, T., Tzakos, A.G. & Stankova, I. (2020).

Synthetic analogues of aminoadamantane as influenza viral inhibitors-*in vitro*, *in silico* and QSAR Studies. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25 (17), id. 3989. https://doi.org/10.3390/molecules25173989.

Cheek, M., Lughadha, E.N., Kirk, P., Lindon, H., Carretero, J., Looney, B., Douglas, B., Haelewaters, D., Gaya, E., Llewellyn, T., Ainsworth, A.M., Gafforov, Y., Hyde, K., Crous, P., Hughes, M., Walker, B.E., Forzza, R.C., Wong, K.M. & Niskanen, T. (2020). New scientific discoveries: Plants and fungi. *Plants, People, Planet,* 2 (5), 371-388. https://doi.org/10.1002/ppp3.10148.

Chen, H., Ma, Y.-B., Huang, X.-Y., Geng, C.-A., Zhao, Y., Wang, L.-J., Guo, R.-H., Liang, W.-J., Zhang, X.-M. & Chen, J.-J. (2014). Synthesis, structure-activity relationships and biological evaluation of dehydroandrographolide and andrographolide derivatives as novel anti-hepatitis B virus agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24 (10), 2353-2359. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.03.060.

Chen, J.-J., Cho, J.-Y., Hwang, T.-L. & Chen, I.-S. (2008a). Benzoic acid derivatives, acetophenones, and anti-inflammatory constituents from *Melicope semecarpifolia*. *Journal of Natural Products*, 71 (1), 71-75. https://doi.org/10.1021/np0704349.

Chen, J.-J., Lee, H.-H., Shih, C.-D., Liao, C.-H., Chen, I.-S. & Chou, T.-H. (2007). New dihydrochalcones and anti-platelet aggregation constituents from the leaves of *Muntingia calabura*. *Planta Medica*, 73 (6), 572-577. https://doi.org/10.1055/s-2007-967196.

Chen, J.-J., Tsai, T.-H., Liao, H.-R., Chen, L.-C., Kuo, Y.-H., Sung, P.-J., Chen, C.-L. & Wei, C.-S. (2016). New sesquiterpenoids and anti-platelet aggregation constituents from the rhizomes of *Curcuma zedoaria*. *Molecules*, 21 (10), id. 1385. https://doi.org/10.3390/molecules21101385.

Chen, L., Zhu, H., Wang, R., Zhou, K., Jing, Y. & Qiu, F. (2008b). *Ent*-labdane diterpenoid lactone stereoisomers from *Andrographis paniculata*. *Journal of Natural Products*, 71 (5), 852-855. https://doi.org/10.1021/np0704452.

Chen, X., Ying, X., Sun, W., Zhu, H., Jiang, X. & Chen, B. (2018). The therapeutic effect of fraxetin on ethanol-induced hepatic fibrosis by enhancing ethanol metabolism, inhibiting oxidative stress and modulating inflammatory mediators in rats. *International Immunopharmacology*, 56, 98-104. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.01.027.

Cheung, H.-Y., Cheung, S.-H., Li, J., Cheung, C.-S., Lai, W.-P., Fong, W.-F. & Leung, F.-M. (2005). Andrographolide isolated from *Andrographis paniculata* induces cell cycle arrest and mitochondrial-mediated apoptosis in human leukemic HL-60 cells. *Planta Medica*, 71 (12), 1106-1111. https://doi.org/10.1055/s-2005-873128.

Chidiak, S., Guada, M., Buitrago, D. & Morales, A. (2007). Flavonoids isolate from specie *Baccharis nitida* (Ruiz et Pavon Pers). *Ciencia*, 15 (3), 361-365.

Chien, M.M., Svoboda, G.H., Schiff, P.L., Slatkin, D.J. & Knapp, J.E. (1979). Chemical constituents of *Echites hirsuta* (*Apocynaceae*). *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68 (2), 247-249. https://doi.org/10.1002/jps.2600680236.

Cho, A.-S., Jeon, S.-M., Kim, M.-J., Yeo, J., Seo, K.-I., Choi, M.-S. & Lee, M.-K. (2010). Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (3), 937-943. https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.01.003.

Cho, J.H., Shin, J.-C., Cho, J.-J., Choi, Y.H., Shim, J.-H. & Chae, J.-I. (2015). Esculetin (6,7-dihydroxycoumarin): a potential cancer chemopreventive agent through suppression of Sp1 in oral squamous cancer cells. *International Journal of Oncology*, 46 (1), 265-271. https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2700.

Choi, H.G., Je, I.-G., Kim, G.J., Nam, J.-W., Shim, S.H., Kim, S.-H. & Choi, H. (2017). Chemical constituents of the root of *Angelica tenuissima* and their anti-allergic inflammatory activity. *Natural Product Communications*, 12 (5), 779-780. https://doi.org/10.1177/1934578X1701200523.

Choi, S.Y., Ahn, E.-M., Song, M.-C., Kim, D.W., Kang, J.H., Kwon, O.-S., Kang, T.-C. & Baek, N.-I. (2005). *In vitro* GABA-transaminase inhibitory compounds from the root of *Angelica dahurica*. *Phytotherapy research*, 19 (10), 839-845. https://doi.org/10.1002/ptr.1424.

Choi, Y.J., Lee, Y.H. & Lee, S.-T. (2015). Galangin and kaempferol suppress phorbol-12-myristate-13-acetate-induced matrix metalloproteinase-9 expression in human fibrosarcoma HT-1080 cells. *Molecules and Cells*, 38 (2), 151-155. https://doi.org/10.14348/molcells.2015.2229.

Choudhary, M.I., Azizuddin, Jalil, S., Nawaz, S.A., Khan, K.M., Tareen, R.B., & Atta-ur-Rahman (2009). Anti-inflammatory and lipoxygenase inhibitory compounds from *Vitex agnus-castus*. *Phytotherapy research*, 23 (9), 1336-1339. https://doi.org/10.1002/ptr.2639.

Chougouo, R.D.K., Nguekeu, Y.M.M., Dzoyem, J.P., Awouafack, M.D., Kouamouo, J., Tane, P., McGaw, L.J. & Eloff, J.N. (2016). Anti-inflammatory and acetylcholinesterase activity of extract, fractions and five compounds isolated from the leaves and twigs of *Artemisia annua* growing in Cameroon. *SpringerPlus*, 5 (1), id. 1525. https://doi.org/10.1186/s40064-016-3199-9.

Christensen, L.P. (2020). Bioactive C17 and C18 acetylenic oxylipins from terrestrial plants as potential lead compounds for anticancer drug development. *Molecules*, 25 (11), id. 2568. https://doi.org/10.3390/molecules25112568.

Christensen, L.P. & Brandt, K. (2006). Bioactive polyacetylenes in food plants of the *Apiaceae* family: Occurrence, bioactivity and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41 (3), 683-693. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.01.057.

Chu, C.Y., Tsai, Y.Y., Wang, C.J., Lin, W.L. & Tseng, T.H. (2001). Induction of apoptosis by esculetin in human leukemia cells. *European Journal of Pharmacology*, 416 (1), 25-32. https://doi.org/10.1016/s0014-2999(01)00859-7.

Chung, H.S., Chang, L.C., Lee, S.K., Shamon, L.A., van Breemen, R.B., Mehta, R.G., Farnsworth, N.R., Pezzuto, J.M. & Kinghorn, A.D. (1999). Flavonoid constituents of *Chorizanthe diffusa* with potential cancer chemopreventive activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (1), 36-41. https://doi.org/10.1021/jf980784o.

Chung, S.Y., Jang, D.S., Han, A.-R., Jang, J.O., Kwon, Y., Seo, E.-K. & Lee, H.J. (2007). Modulation of *P*-glycoprotein-mediated resistance by kaempferol derivatives isolated from *Zingiber zerumbet*. *Phytotherapy research*, 21 (6), 565-569. https://doi.org/10.1002/ptr.2113.

Cimanga, K., De Bruyne, T., Apers, S., Pieters, L., Totté, J., Kambu, K., Tona, L., Bakana, P., van Ufford, L.Q., Beukelman, C., Labadie, R. & Vlietinck, A.J. (1999). Complement-inhibiting constituents of *Bridelia ferruginea* stem bark. *Planta Medica*, 65 (3), 213-217. https://doi.org/10.1055/s-1999-14059.

Cissé, L., Tine, A., Kaboré, L. & Saba, A. (2009). Mass spectrometry study of coumarins: correlation between charges of atoms and fragmentation processes. *Spectroscopy Letters; an International Journal for Rapid Communication*, 42 (2), 95-99. https://doi.org/10.1080/00387010802428666.

Çitoğlu, G., Tanker, M. & Yilmaz, B. (2008). Note flavonoid aglycones from *Ballota saxatilis* subsp. *saxatilis*. *Pharmaceutical Biology*, 37 (2), 158-160. https://doi.org/10.1076/phbi.37.2.158.6087.

Çitoğlu, G.S., Sever, B., Antus, S., Baitz-Gács, E. & Altanlar, N. (2003). Antifungal flavonoids from *Ballota glandulosissima*. *Pharmaceutical Biology*, 41 (7), 483-486. https://doi.org/10.1080/13880200308951339.

Çitoğlu, G.S., Sever, B., Antus, S., Baitz-Gács, E. & Altanlar, N. (2005). Antifungal diterpenoids and flavonoids from *Ballota inaequidens*. *Pharmaceutical Biology*, 42 (8), 659-663. https://doi.org/10.1080/13880200490902626.

Clericuzio, M., Tinello, S., Burlando, B., Ranzato, E., Martinotti, S., Cornara, L. & La Rocca, A. (2012). Flavonoid oligoglycosides from *Ophioglossum vulgatum* L. having wound healing properties. *Planta Medica*, 78 (15), 1639-1644. https://doi.org/10.1055/s-0032-1315149.

Clubbe, C., Cable, S. & Ralimanana, H. (2020). Madagascar: A biodiversity hotspot still revealing its botanical treasures. *Curtis's Botanical Magazine*, 37 (3), 250-259. https://doi.org/10.1111/curt.12339.

Cocker, J.D., Halsall, T.G. & Bowers, A. (1956). The chemistry of gum labdanum. Part I. Some acidic constituents. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 4259-4262. https://doi.org/10.1039/JR9560004259.

Cordemoy, E.J. de (1895). *Flore de l'Ile de La Réunion (phanérogames, cryptogames vasculaires, muscinées): avec l'indication des propriétés économiques et industrielles des plantes.* Librairie des Sciences Naturelles Paul Klincksieck, Paris France. Réédité en 1972, J. Cramer & H. K. Swann Editions, New York USA. 575 p. (ISBN: 3-7682 -0758-7).

Cortes-Morales, J.A., Olmedo-Juárez, A., Trejo-Tapia, G., González-Cortazar, M., Domínguez-Mendoza, B.E., Mendoza-de Gives, P. & Zamilpa, A. (2019). *In vitro* ovicidal activity of *Baccharis conferta* Kunth against *Haemonchus contortus. Experimental Parasitology*, 197 (12), 20-28. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.01.003.

Costa-Lotufo, L.V., Jimenez, P.C., Wilke, D.V., Leal, L.K.A.M., Cunha, G.M.A., Silveira, E.R., Canuto, K.M., Viana, G.S.B., Moraes, M.E.A., de Moraes, M.O. & Pessoa, C. (2003). Antiproliferative effects of several compounds isolated from *Amburana cearensis* A. C. Smith. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 58 (9-10), 675-680. https://doi.org/10.1515/znc-2003-9-1014.

Cragg, G.M. & Newman, D.J. (2013). Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1830 (6), 3670-3695. https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.008.

Crespo, I., García-Mediavilla, M.V., Gutiérrez, B., Sánchez-Campos, S., Tuñón, M.J. & González-Gallego, J. (2008). A comparison of the effects of kaempferol and quercetin on cytokine-induced pro-inflammatory status of

cultured human endothelial cells. *The British Journal of Nutrition*, 100 (5), 968-976. https://doi.org/10.1017/S0007114508966083.

Csapi, B., Hajdú, Z., Zupkó, I., Berényi, Á., Forgo, P., Szabó, P. & Hohmann, J. (2010). Bioactivity-guided isolation of antiproliferative compounds from *Centaurea arenaria. Phytotherapy Research*, 24 (11), 1664-1669. https://doi.org/10.1002/ptr.3187.

Csupor-Löffler, B., Hajdú, Z., Zupkó, I., Réthy, B., Falkay, G., Forgo, P. & Hohmann, J. (2009). Antiproliferative effect of flavonoids and sesquiterpenoids from *Achillea millefolium* S.L. on cultured human tumour cell lines. *Phytotherapy research*, 23 (5), 672-676. https://doi.org/10.1002/ptr.2697.

Cunsolo, F., Ruberto, G., Amico, V. & Piattelli, M. (1993). Bioactive metabolites from sicilian marine fennel, *Crithmum maritimum. Journal of Natural Products*, 56 (9), 1598-1600. https://doi.org/10.1021/np50099a022.

Cuyckens, F. & Claeys, M. (2004). Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *Journal of mass spectrometry*, 39 (1), 1-15. https://doi.org/10.1002/jms.585.

Dabeek, W.M. & Marra, M.V. (2019). Dietary quercetin and kaempferol: Bioavailability and potential cardiovascular-related bioactivity in humans. *Nutrients*, 11 (10), id. 2288. https://doi.org/10.3390/nu11102288.

Dai, W., Bi, J., Li, F., Wang, S., Huang, X., Meng, X., Sun, B., Wang, D., Kong, W., Jiang, C. & Su, W. (2019). Antiviral efficacy of flavonoids against enterovirus 71 infection *in vitro* and in newborn mice. *Viruses*, 11 (7), id. 625. https://doi.org/10.3390/v11070625.

Dale, J.A. & Mosher, H.S. (1973). Nuclear Magnetic Resonance enantiomer regents. Configurational correlations *via* nuclear magnetic resonance chemical shifts of diastereomeric mandelate, *O*-methylmandelate, and *alpha*.-methoxy-.*alpha*.-trifluoromethylphenylacetate (MTPA) esters. *Journal of the American Chemical Society*, 95 (2), 512-519. https://doi.org/10.1021/ja00783a034.

Dang, N.H., Zhang, X., Zheng, M., Son, K.H., Chang, H.W., Kim, H.P., Bae, K. & Kang, S.S. (2005). Inhibitory constituents against cyclooxygenases from *Aralia cordata* Thunb. *Archives of Pharmacal Research*, 28 (1), 28-33. https://doi.org/10.1007/BF02975131.

Danthu, P., Rakotobe, M., Mauclère, P., Andrianoelisoa, H., Behra, O., Rahajanirina, V., Mathevon, B., Ralembofetra, E. & Collas de Chatelperron, P. (2008). Essential oil production increases value of *Psiadia altissima* fallows in Madagascar's eastern forests. *Agroforestry Systems*, 72 (2), 127-135. https://doi.org/10.1007/s10457-007-9067-4.

Daruty, C. (1911). *Plantes médicinales de l'Ile Maurice et des pays intertropicaux comprenant un formulaire thérapeutique.* 2nd Ed. The Mauritius Stationery and printing establishment, Maurice. 157 p.

Dawson, R.M., Jarvis, M.W., Jefferies, P.R., Payne, T.G. & Rosich, R.S. (1966). Acidic constituents of *Dodonaea lobulata*. *Australian Journal of Chemistry*, 19 (11), 2133-2142. https://doi.org/10.1071/ch9662133.

De Pascual, J.T., Gonzalez, M.S., Muriel, M.R. & Bellido, I.S. (1983). 2-Methyl-2-hydroxymethylchromenes from *Artemisia campestris* subsp. *glutinosa*. *Phytochemistry*, 22 (11), 2587-2589. https://doi.org/10.1016/0031-9422(83)80171-X.

Dean, F.M., Parton, B., Somvichien, N. & Taylor, D.A.H. (1967). The coumarins of *Ptaeroxylon obliquum*. *Tetrahedron Letters*, 8 (23), 2147-2151. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)90785-8.

Debray, M. (1975). Médecine et pharmacopée traditionnelles à Madagascar. *Etudes Médicales,* 1975 (1), 69-83.

Deeter, R.G. & Khanderia, U. (1986). Recent advances in antiviral therapy. *Clinical Pharmacy*, 5 (12), 961-976.

Demetzos, C. & Dimas, K. (2001). Labdane-type diterpenes: Chemistry and biological activity. *Studies in Natural Products Chemistry*, 25, 235-292. https://doi.org/10.1016/S1572-5995(01)80009-0.

Deng, S., Wang, Y., Inui, T., Chen, S.-N., Farnsworth, N.R., Cho, S., Franzblau, S.G. & Pauli, G.F. (2008). Anti-TB polyynes from the roots of *Angelica sinensis*. *Phytotherapy research*, 22 (7), 878-882. https://doi.org/10.1002/ptr.2303.

Dennis, R. (1973). Essential oil of *Psiadia salviifolia*. *Phytochemistry*, 12 (11), 2705-2708. https://doi.org/10.1016/0031-9422(73)85084-8.

Dennis, R. & Jackson, B.P. (1974). Morphology and anatomy of the aerial parts of *Psiadia salviifolia* Baker from Madagascar. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 69 (4), 261-275. https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1974.tb01630.x.

Descheemaeker, A. (1979). *Ravi-maitso, Plantes médicinales malgaches*. 1st Ed. Imprimerie Saint Paul, Fianarantsoa Madagascar. 110 p.

Diallo, I. (2019). Potentiels anti-oxydants et anti-inflammatoires de sporophores de *Lentinula edodes* (Shiitake) sous différentes conditions de culture. Thèse de doctorat. Université de Montpellier. 201 p.

Dillon, M., Mabry, T., Besson, E., Bouillant, M. & Chopin, J. (1976). New flavonoids from *Flourensia cernua. Phytochemistry*, 15 (6), 1085-1086. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84420-9.

Djebara, A., Ciavatta, M.L., Mathieu, V., Colin, M., Bitam, F., Carbone, M. & Gavagnin, M. (2019). Oxygenated C17 polyacetylene metabolites from Algerian *Eryngium tricuspidatum* L. roots: Structure and biological activity. *Fitoterapia*, 138, id. 104355. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104355.

Dok-Go, H., Lee, K.H., Kim, H.J., Lee, E.H., Lee, J., Song, Y.S., Lee, Y.-H., Jin, C., Lee, Y.S. & Cho, J. (2003). Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten. Brain Research*, 965 (1), 130-136. https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)04150-1.

Domínguez, X.A., Ramírez, R.H., Ugaz, O.L., D, J.G. & Ketcham, R. (1968). Chemical study of the cactus *Ariocarpus retusus*. *Planta Medica*, 16 (2), 182-183. https://doi.org/10.1055/s-0028-1099897.

Dong, A., Fang, Y., Zhang, L., Xie, J., Wu, X., Zhang, L., Lian, X., Chen, Y., Luo, J. & Liu, M. (2011). Caffeic acid 3,4-dihydroxy-phenethyl ester induces cancer cell senescence by suppressing twist expression. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 339 (1), 238-247. https://doi.org/10.1124/jpet.111.181081.

Dong, X.-P., Che, C.-T. & Farnsworth, N.R. (1987). Cytotoxic Flavonols from *Gutierrezia microcephala. Journal of Natural Products*, 50 (2), 337-338. https://doi.org/10.1021/np50050a065.

Du, B., Zhu, F. & Xu, B. (2018). An insight into the anti-inflammatory properties of edible and medicinal mushrooms. *Journal of Functional Foods*, 47 (2), 334-342. https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.06.003.

Du, J. & Gao, L. (1992). Chemical constituents of the leaves of *Acanthopanax trifoliatus* (Linn) Merr. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 17 (6), 356-383.

Dugas, A.J., Castañeda-Acosta, J., Bonin, G.C., Price, K.L., Fischer, N.H. & Winston, G.W. (2000). Evaluation of the total peroxyl radical-scavenging capacity of flavonoids: Structure-activity relationships. *Journal of Natural Products*, 63 (3), 327-331. https://doi.org/10.1021/np990352n.

Duncan, S.H., Flint, H.J. & Stewart, C.S. (1998). Inhibitory activity of gut bacteria against *Escherichia coli* O157 mediated by dietary plant metabolites. *FEMS microbiology letters*, 164 (2), 283-288. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13099.x.

Dungérdorzh, D. & Petrenko, V.V. (1972). Kumatakenin from *Astragalus membranaceus. Chemistry of Natural Compounds*, 8 (3), 382-382. https://doi.org/10.1007/BF00563758.

Echeverri, F., Cardona, G., Torres, F., Pelaez, C., Quiñones, W. & Renteria, E. (1991). Ermanin: An insect deterrent flavonoid from *Passiflora foetida* resin. *Phytochemistry*, 30 (1), 153-155. https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)84116-A.

Eckels, P.C., Banerjee, A., Moore, E.E., McLaughlin, N.J.D., Gries, L.M., Kelher, M.R., England, K.M., Gamboni-Robertson, F., Khan, S.Y. & Silliman, C.C. (2009). Amantadine inhibits platelet-activating factor induced clathrin-mediated endocytosis in human neutrophils. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 297 (4), 886-897. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00416.2008.

Ekalaksananan, T., Sookmai, W., Fangkham, S., Pientong, C., Aromdee, C., Seubsasana, S. & Kongyingyoes, B. (2015). Activity of andrographolide and its derivatives on HPV16 pseudovirus infection and viral oncogene expression in cervical carcinoma cells. *Nutrition and Cancer*, 67 (4), 687-696. https://doi.org/10.1080/01635581.2015.1019630.

Elford, B.C., Roberts, M.F., Phillipson, J.D. & Wilson, R.J. (1987). Potentiation of the antimalarial activity of qinghaosu by methoxylated flavones. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81 (3), 434-436. https://doi.org/10.1016/0035-9203(87)90161-1.

Elgorashi, E., van Heerden, F. & van Staden, J. (2008). Kaempferol, a mutagenic flavonol from *Helichrysum simillimum*. *Human & Experimental Toxicology*, 27 (11), 845-849. https://doi.org/10.1177/0960327108099532.

Elie, N., Santerre, C. & Touboul, D. (2019). Generation of a molecular network from electron ionization mass spectrometry sata by combining MZmine2 and MetGem software. *Analytical Chemistry*, 91 (18), 11489-11492. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02802.

El-Mousallamy, A.M.D., Hawas, U.W. & Hussein, S.A.M. (2000). Teucrol, a decarboxyrosmarinic acid and its 4'-*O*-triglycoside, teucroside from *Teucrium pilosum. Phytochemistry*, 8 (55), 927-931. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00218-1.

Elsohly, H.N., el-Feraly, F.S., Joshi, A.S. & Walker, L.A. (1997). Antiviral flavonoids from *Alkanna orientalis. Planta Medica*, 63 (4), 384-384. https://doi.org/10.1055/s-2006-957713.

Enomoto, S., Okada, Y., Güvenc, A., Erdurak, C.S., Coşkun, M., Coşkun, M. & Okuyama, T. (2004). Inhibitory effect of traditional Turkish folk medicines on aldose reductase (AR) and hematological activity, and on AR inhibitory activity of quercetin-3-*O*-methyl ether isolated from *Cistus laurifolius* L. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 27 (7), 1140-1143. https://doi.org/10.1248/bpb.27.1140.

Erazo, S., Delporte, C., Negrete, R., García, R., Zaldívar, M., Iturra, G., Caballero, E., López, J.L. & Backhouse, N. (2006). Constituents and biological activities of *Schinus polygamus. Journal of Ethnopharmacology*, 107 (3), 395-400. https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.03.028.

Erdenetsogt, U., Nadmid, S., Paulus, C., Chanagsuren, G., Dolgor, E., Gotov, C., Dahse, H.-M., Luzhetskyy, A. & Dagvadorj, E. (2020). Bioactive flavonoids from plant extract of *Pyrethrum pulchrum* and its acute toxicity. *Natural Product Research*, Short communication, 1-4. https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1806271.

Erdtman, H., Novotný, L. & Romanuk, M. (1966). Flavonols from the fern *Cheilanthes farinosa* (forsk.) kaulf. *Tetrahedron*, 22 (8), 71-74. https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)82170-0.

Etemadi-Tajbakhsh, N., Faramarzi, M.-A. & Delnavazi, M.-R. (2020). 1,5-dicaffeoylquinic acid, an *α*-glucosidase inhibitor from the root of *Dorema ammoniacum* D. Don. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 15 (5), 429-436. https://doi.org/10.4103/1735-5362.297845.

Fadul, E., Nizamani, A., Rasheed, S., Adhikari, A., Yousuf, S., Parveen, S., Gören, N., Alhazmi, H.A., Choudhary, M.I. & Khalid, A. (2020). Anti-glycating and anti-oxidant compounds from traditionally used anti-diabetic plant *Geigeria alata* (DC) Oliv. & Hiern. *Natural Product Research*, 34 (17), 2456-2464. https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1542388.

Fajinmi, O., Olarewaju, O. & Staden, J. (2017). Traditional Use of Medicinal and Aromatic Plants in Africa. In book: *Medicinal and Aromatic Plants of the World - Africa* Volume 3. 61-76. https://doi.org/10.1007/978-94-024-1120-1_3.

Fan, W. (1999). Possible mechanisms of paclitaxel-induced apoptosis. *Biochemical Pharmacology*, 57 (11), 1215-1221. https://doi.org/10.1016/s0006-2952(99)00006-4.

Fan, X., Lin, S., Zhu, C., Liu, Y., Hu, J., Chen, X., Wang, W., Chen, N. & Shi, J. (2011). Aromatic constituents of *Heteroplexis micocephal* and their bioactivities. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 36 (1), 48-56.

Farkas, L., Nogradi, M., Sudarsanam, V. & Herz, W. (1966). Constituents of *Iva* species. V. Isolation, structure, and synthesis of Nevadensin, a new flavone from *Iva nevadensis* M. E. Jones and *Iva acerosa* (Nutt.) Jackson. *The Journal of Organic Chemistry*, 31 (10), 3228-3232. https://doi.org/10.1021/jo01348a031.

Feng, X., Zhou, Q., Liu, C. & Tao, M.-L. (2012). Drug screening study using glioma stem-like cells. *Molecular Medicine Reports*, 6 (5), 1117-1120. https://doi.org/10.3892/mmr.2012.1040.

Feng, X.-L., Zhan, X.-X., Zuo, L.-S.-Y., Mo, X.-F., Zhang, X., Liu, K.-Y., Li, L. & Zhang, C.-X. (2021). Associations between serum concentration of flavonoids and breast cancer risk among Chinese women. *European Journal of Nutrition*, 60 (3), 1347-1362. https://doi.org/10.1007/s00394-020-02331-z.

Fernandez-Puntero, B., Barroso, I., Iglesias, I., Benedí, J. & Villar, A. (2001). Antioxidant activity of Fraxetin: *in vivo* and *ex vivo* parameters in normal situation *versus* induced stress. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 24 (7), 777-784. https://doi.org/10.1248/bpb.24.777.

Ferrante, L.M.S. de, Mayer, B., Vasconcelos, E.C. & Oliveira, C.M.R. de (2007). GC/FID-based authentication of *Baccharis trimera*: a quality control study of products commercialized in Curitiba and metropolitan region (Brazil). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17 (3), 356-360. https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000300009.

Fiamegos, Y.C., Kastritis, P.L., Exarchou, V., Han, H., Bonvin, A.M.J.J., Vervoort, J., Lewis, K., Hamblin, M.R. & Tegos, G.P. (2011). Antimicrobial and efflux pump inhibitory activity of caffeoylquinic acids from *Artemisia absinthium* against gram-positive pathogenic bacteria. *PloS One*, 6 (4), id. 18127. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018127.

Filho, A.A. da S., Resende, D.O., Fukui, M.J., Santos, F.F., Pauletti, P.M., Cunha, W.R., Silva, M.L.A., Gregório, L.E., Bastos, J.K. & Nanayakkara, N.P.D. (2009). *In vitro* antileishmanial, antiplasmodial and cytotoxic activities of phenolics

and triterpenoids from *Baccharis dracunculifolia* D. C. (*Asteraceae*). *Fitoterapia*, 80 (8), 478-482. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.06.007.

Flores, S.E. & Herrán, J. (1958). The structure of pendulin and penduletin: a new flavonol glucoside isolated from *Brickelia pendula. Tetrahedron*, 2 (3), 308-315. https://doi.org/10.1016/0040-4020(58)88052-7.

Flores, S.E., Herrán, J. & Menchaca, H. (1958). The synthesis of penduletin. *Tetrahedron*, 4 (1), 132-134. https://doi.org/10.1016/0040-4020(58)88011-4.

Forgo, P., Zupkó, I., Molnár, J., Vasas, A., Dombi, G. & Hohmann, J. (2012). Bioactivity-guided isolation of antiproliferative compounds from *Centaurea jacea* L. *Fitoterapia*, 83 (5), 921-925. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.04.006.

Fortin, H., Tomasi, S., Jaccard, P., Robin, V. & Boustie, J. (2001). A prenyloxycoumarin from *Psiadia dentata*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 49 (5), 619-621. https://doi.org/10.1248/cpb.49.619.

Fortin, H., Vigor, C., Devehat, F.L.-L., Robin, V., Bosse, B.L., Boustie, J. & Amoros, M. (2002). *In vitro* antiviral activity of thirty-six plants from La Reunion Island. *Fitoterapia,* 73 (4), 346-350. https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00080-1.

Frank, A.M., Monroe, M.E., Shah, A.R., Carver, J.J., Bandeira, N., Moore, R.J., Anderson, G.A., Smith, R.D. & Pevzner, P.A. (2011). Spectral archives: extending spectral libraries to analyze both identified and unidentified spectra. *Nature Methods*, 8 (7), 587-591. https://doi.org/10.1038/nmeth.1609.

Freitas, S., Costa, S., Azevedo, C., Carvalho, G., Freire, S., Barbosa, P., Velozo, E., Schaer, R., Tardy, M., Meyer, R. & Nascimento, I. (2011). Flavonoids inhibit angiogenic cytokine production by human glioma cells. *Phytotherapy research*, 25 (6), 916-921. https://doi.org/10.1002/ptr.3338.

Freund, G. (1968). The metabolic effects of glycerol administered to diabetic patients. *Archives of Internal Medicine*, 121 (2), 123-129. https://doi.org/10.1001/archinte.1968.03640020011003.

Fukai, T., Sakagami, H., Toguchi, M., Takayama, F., Iwakura, I., Atsumi, T., Ueha, T., Nakashima, H. & Nomura, T. (2000). Cytotoxic activity of low molecular weight polyphenols against human oral tumor cell lines. *Anticancer Research*, 20 (4), 2525-2536.

Fylaktakidou, K.C., Hadjipavlou-Litina, D.J., Litinas, K.E. & Nicolaides, D.N. (2004). Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/ antioxidant activities. *Current Pharmaceutical Design*, 10 (30), 3813-3833. https://doi.org/10.2174/1381612043382710.

Ganapaty, S., Chandrashekhar, V.M., Chitme, H.R. & Narsu, M.L. (2007). Free radical scavenging activity of gossypin and nevadensin: An *in-vitro* evaluation. *Indian Journal of Pharmacology*, 39 (6), 281-283. https://doi.org/10.4103/0253-7613.39147.

Ganbold, M., Shimamoto, Y., Ferdousi, F., Tominaga, K. & Isoda, H. (2019). Antifibrotic effect of methylated quercetin derivatives on TGFβ-induced hepatic stellate cells. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 20, id. 110678. https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2019.100678.

Garayev, E., Di Giorgio, C., Herbette, G., Mabrouki, F., Chiffolleau, P., Roux, D., Sallanon, H., Ollivier, E., Elias, R. & Baghdikian, B. (2018). Bioassay-guided isolation and UHPLC-DAD-ESI-MS/MS quantification of potential anti-inflammatory phenolic compounds from flowers of *Inula montana* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 226, 176-184. https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.08.005.

Garbarino, J., Fraga, B., Hernandez, M., Chamy, M. & Piovano, M. (2001). Chemistry and biotransformations in the *Scrophulariaceae* family. *Pure and Applied Chemistry*, 73 (3), 579-582. https://doi.org/10.1351/pac200173030579.

Garrod, B., Lewis, B.G. & Coxon, D.T. (1978). *Cis*-heptadeca-1,9-diene-4,6-diyne-3,8-diol, an antifungal polyacetylene from carrot root tissue. *Physiological Plant Pathology*, 13 (2), 241-246. https://doi.org/10.1016/0048-4059(78)90039-5.

Gaudêncio, S.P. & Pereira, F. (2015). Dereplication: racing to speed up the natural products discovery process. *Natural Product Reports*, 32 (6), 779-810. https://doi.org/10.1039/c4np00134f.

Geng, Y., Zhu, S., Lu, Z., Xu, H.-Y., Shi, J.-S. & Xu, Z.-H. (2014). Anti-inflammatory activity of mycelial extracts from medicinal mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 16 (4), 319-325. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v16.i4.20.

Gentry, A.H. (1993). Tropical forest biodiversity and the potential for new medicinal plants. *ACS symposium series (USA)*, 534 (2), 13-24. http://dx.doi.org/10.1021/bk-1993-0534.ch002.

Gerber, D.W., Byerrum, R.U., Gee, R.W. & Tolbert, N.E. (1988). Glycerol concentrations in crop plants. *Plant Science*, 56 (1), 31-38. https://doi.org/10.1016/0168-9452(88)90182-3.

Giraud-Techer, S., Amédée, J., Girard-Valenciennes, E., Thomas, H., Brillant, S., Grondin, I., Marodon, C. & Smadja, J. (2016). Plantes médicinales de La Réunion inscrites à la Pharmacopée française. *Ethnopharmacologia*, 56, 7-33.

Golkar, P., Taghizadeh, M. & Jalali, S.A.H. (2019). Determination of phenolic compounds, antioxidant and anticancer activity of *Chrozophora tinctoria* accessions collected from different regions of Iran. *Journal of Food Biochemistry*, 43 (11), id. 13036. https://doi.org/10.1111/jfbc.13036.

Gong, C., Xu, C., Ji, L. & Wang, Z. (2013). A novel semi-synthetic andrographolide analogue A5 inhibits tumor angiogenesis *via* blocking the VEGFR2-p38/ERK1/2 signal pathway. *Bioscience Trends*, 7 (5), 230-236.

Gong, J.-H., Shin, D., Han, S.-Y., Kim, J.-L. & Kang, Y.-H. (2012). Kaempferol suppresses eosionphil infiltration and airway inflammation in airway epithelial cells and in mice with allergic asthma. *The Journal of Nutrition*, 142 (1), 47-56. https://doi.org/10.3945/jn.111.150748.

González-Vázquez, R., King Díaz, B., Aguilar, M.I., Diego, N. & Lotina-Hennsen, B. (2006). Pachypodol from *Croton ciliatoglanduliferus* Ort. as water-splitting enzyme inhibitor on thylakoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (4), 1217-1221. https://doi.org/10.1021/jf051897s.

Gorissen, K.J., Benning, D., Berghmans, T., Snoeijs, M.G., Sosef, M.N., Hulsewe, K.W.E. & Luyer, M.D.P. (2012). Risk of anastomotic leakage with non-steroidal anti-inflammatory drugs in colorectal surgery. *The British Journal of Surgery*, 99 (5), 721-727. https://doi.org/10.1002/bjs.8691.

Gray, N.E., Morré, J., Kelley, J., Maier, C.S., Stevens, J.F., Quinn, J.F. & Soumyanath, A. (2014). Caffeoylquinic acids in *Centella asiatica* protect against amyloid-*β* toxicity. *Journal of Alzheimer's disease*, 40 (2), 359-373. https://doi.org/10.3233/JAD-131913.

Gu, D., Yang, Y., Abdulla, R. & Aisa, H. (2012). Characterization and identification of chemical compositions in the extract of *Artemisia rupestris* L. by liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry*, 26 (1), 83-100. https://doi.org/10.1002/rcm.5289.

Guay, D.R. (1994). Amantadine and rimantadine prophylaxis of influenza A in nursing homes. A tolerability perspective. *Drugs & Aging*, 5 (1), 8-19. https://doi.org/10.2165/00002512-199405010-00002.

Guerra, J.A., Molina, M.F., Abad, M.J., Villar, A.M. & Bermejo, P. (2006). Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids isolated from *Tanacetum microphyllum*. *International Immunopharmacology*, 6 (11), 1723-1728. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2006.08.012.

Guijas, C., Montenegro-Burke, J.R., Domingo-Almenara, X., Palermo, A., Warth, B., Hermann, G., Koellensperger, G., Huan, T., Uritboonthai, W., Aisporna, A.E., Wolan, D.W., Spilker, M.E., Benton, H.P. & Siuzdak, G. (2018). Metlin: A technology platform for identifying knowns and unknowns. *Analytical Chemistry*, 90 (5), 3156-3164. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04424.

Gunstone, F.D. & Scrimgeour, C.M. (1981). Natural acetylenic and olefinic compounds, excluding marine natural products. *Aliphatic and Related Natural Product Chemistry,* 2, 1-19. https://doi.org/10.1039/9781847555564-00001.

Guo, X., Shen, L., Tong, Y., Zhang, J., Wu, G., He, Q., Yu, S., Ye, X., Zou, L., Zhang, Z. & Lian, X.-Y. (2013). Antitumor activity of caffeic acid 3,4-dihydroxyphenethyl ester and its pharmacokinetic and metabolic properties. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 20 (10), 904-912. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.04.002.

Gurib-Fakim, A., Bourrel, C., Kodja, H. & Govinden, J. (1995). Chemical composition of the essential oils of *Psiadia lithospermifolia* (Lam.) Cordem. and *P. viscosa* (Lam.) A. J. Scott of the *Asteraceae* Family. *Journal of Essential Oil Research*, 7 (5), 533-535. https://doi.org/10.1080/10412905.1995.9698579.

Habib, E.S., El-Bsoumy, E., Ibrahim, A.K., Helal, M.A., El-Magd, M.A. & Ahmed, S.A. (2020). Anti-inflammatory effect of methoxyflavonoids from *Chiliadenus montanus* (*Jasonia montana*) growing in Egypt. *Natural Product Research*, Short communication, 1-5. https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1802272.

Haidari, F., Keshavarz, S.A., Mohammad Shahi, M., Mahboob, S.-A. & Rashidi, M.-R. (2011). Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) and its flavonol constituents, kaempferol and quercetin, on serum uric acid levels, biomarkers of oxidative stress and liver xanthine oxidoreductase A activity in oxonate-induced hyperuricemic rats. *Iranian journal of pharmaceutical research*, 10 (4), 811-819. https://doi.org/10.22037/IJPR.2011.1016.

Hajdú, Z., Hohmann, J., Forgo, P., Martinek, T., Dervarics, M., Zupkó, I., Falkay, G., Cossuta, D. & Máthé, I. (2007). Diterpenoids and flavonoids from the fruits of *Vitex agnus-castus* and antioxidant activity of the fruit extracts and their constituents. *Phytotherapy research*, 21 (4), 391-394. https://doi.org/10.1002/ptr.2021.

Hall, C.B., Dolin, R., Gala, C.L., Markovitz, D.M., Zhang, Y.Q., Madore, P.H., Disney, F.A., Talpey, W.B., Green, J.L. & Francis, A.B. (1987). Children with influenza A infection: treatment with rimantadine. *Pediatrics*, 80 (2), 275-282.

Hammer, K.A., Carson, C.F. & Riley, T.V. (2003). Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of Applied Microbiology*, 95 (4), 853-860. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02059.x.

Han, H., Du, B., Pan, X., Liu, J., Zhao, Q., Lian, X., Qian, M. & Liu, M. (2010). CADPE inhibits PMA-stimulated gastric carcinoma cell invasion and matrix metalloproteinase-9 expression by FAK/MEK/ERK-mediated AP-1 activation. *Molecular cancer research*, 8 (11), 1477-1488. https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-10-0114.

Hansen, L. & Boll, P.M. (1986). Polyacetylenes in *araliaceae*: Their chemistry, biosynthesis and biological significance. *Phytochemistry*, 25 (2), 285-293. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)85468-0.

Hanson, J.R. (1989). Diterpenoids. *Natural Product Reports*, 6 (4), 347-358. https://doi.org/10.1039/NP9890600347.

Harborne, J.B. (1967). Comparative biochemistry of the flavonoids-IV.: Correlations between chemistry, pollen morphology and systematics in the family *plumbaginaceae*. *Phytochemistry*, 6 (10), 1415-1428. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)82884-8.

Harborne, J.B. & Baxter, H. (1999). *The handbook of natural flavonoids. Volume 1 and Volume 2*. 2nd Ed. John Wiley and Sons, New Jersey USA. 1800 p. (ISBN : 978-0471958932).

Harding, V.K. & Heale, J.B. (1980). Isolation and identification of the antifungal compounds accumulating in the induced resistance response of carrot root slices to *Botrytis cinerea*. *Physiological Plant Pathology*, 17 (3), 277-289. https://doi.org/10.1016/S0048-4059(80)80021-X.

Hasan, A., Sadiq, A., Abbas, A., Mughal, E., Khan, K.M. & Ali, M. (2010). Isolation and synthesis of flavonols and comparison of their antioxidant activity. *Natural Product Research*, 24 (11), 995-1003. https://doi.org/10.1080/14786410902847302.

Hashim, S.E., Sirat, H.M., Yen, K.H., Ismail, I.S. & Matsuki, S.N. (2015). Antioxidant and *α*-glucosidase inhibitory constituents from *Hornstedtia* species of Malaysia. *Natural Product Communications*, 10 (9), 1561-1563. https://doi.org/10.1177/1934578X1501000919.

Hassoun, S.M., Abdel-Rahman, N., Eladl, E.I. & El-Shishtawy, M.M. (2017). Antiangiogenic activity of vitexicarpine in experimentally induced hepatocellular carcinoma: Impact on vascular endothelial growth factor pathway. *Tumour Biology*, 39 (6), 1-11. https://doi.org/10.1177/1010428317707376.

Hatton, C.K. & Catlin, D.H. (1987). Detection of androgenic anabolic steroids in urine. *Clinics in Laboratory Medicine*, 7 (3), 655-668. https://doi.org/10.1016/S0272-2712(18)30737-6.

He, J.-B., Yuan, S.-J., Du, J.-Q., Hu, X.-R. & Wang, Y. (2009). Voltammetric and spectral characterization of two flavonols for assay-dependent antioxidant capacity. *Bioelectrochemistry (Amsterdam, Netherlands)*, 75 (2), 110-116. https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2009.02.006.

Heckel, É. (1910). *1- Les Plantes utiles de Madagascar, par M. Edouard Heckel. 2- Fragments biologiques de la flore de Madagascar (« Dioscorea, Adansonia, Coffea », etc), par MM. Henri Jumelle et H. Perrier de La Bathie*. Musée colonial, Marseille France. 468 p.

Heidari-Sureshjani, M., Tabatabaei-Yazdi, F., Alizadeh-Behbahani, B. & Mortazavi, A. (2015). Antimicrobial effect of aqueous, ethanol, methanol and glycerin extracts of *Satureja bachtiarica* on *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 17 (7), id. 1011. https://doi.org/10.17795/zjrms1011.

Heilmann, J., Merfort, I. & Weiss, M. (1995). Radical scavenger activity of different 3',4'-dihydroxyflavonols and 1,5-dicaffeoylquinic acid studied by inhibition of chemiluminescence. *Planta Medica*, 61 (5), 435-438. https://doi.org/10.1055/s-2006-958131.

Herz, W. & De Groote, R. (1977). Desacetyleupaserrin and nevadensin from *Helianthus pumilus*. *Phytochemistry*, 16 (8), 1307-1308. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)94387-5.

Herz, W., Gibaja, S., Bhat, S.V. & Srinivasan, A. (1972). Dihydroflavonols and other flavonoids of *Eupatorium* species. *Phytochemistry*, 11 (9), 2859-2863. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86525-5.

Hibasami, H., Mitani, A., Katsuzaki, H., Imai, K., Yoshioka, K. & Komiya, T. (2005). Isolation of five types of flavonol from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) and induction of apoptosis by some of the flavonols in human promyelotic leukemia HL-60 cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 15 (5), 805-809. http://dx.doi.org/10.3892/ijmm.15.5.805.

Hinds, L., Kenny, O., Hossain, M.B., Walsh, D., Sheehy, E., Evans, P., Gaffney, M. & Rai, D.K. (2017). Evaluating the antibacterial properties of polyacetylene and glucosinolate compounds with further identification of their presence within various carrot (*Daucus carota*) and broccoli (*Brassica oleracea*) cultivars using high-performance liquid chromatography with a diode array detector and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65 (33), 7186-7191. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02029.

Hirobe, C., Qiao, Z.-S., Takeya, K. & Itokawa, H. (1997). Cytotoxic flavonoids from *Vitex agnus-castus*. *Phytochemistry*, 46 (3), 521-524. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00127-1.

Hitana, M., Dupas, C., Oulahal, N., Degraeve, P., Najaa, H., Bouhamda, T., Fattouch, S. & Neffati, M. (2019). Assessment of antioxidant activities of an endemic species from Tunisia: *Rhanterium sueaveolens* Desf related to its phenolic composition. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22, id. 101355. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101355.

Hnatyszyn, O., Moscatelli, V., Rondina, R., Costa, M., Arranz, C., Balaszczuk, A., Coussio, J. & Ferraro, G. (2004). Flavonoids from *Achyrocline satureioides* with relaxant effects on the smooth muscle of Guinea pig corpus cavernosum. *Phytomedicine*, 11 (4), 366-369. https://doi.org/10.1078/0944711041495182.

Hoi, T.M., Thai, T.V., Ha, C.T.T., Anh, H.T.V., Minh, P.X.B. & Dat, N.T. (2016). Flavonoids from *Anoectochilus annamensis* and their Anti-inflammatory Activity. *Natural Product Communications*, 11 (5), 613-614. http://dx.doi.org/10.1177/1934578X1601100514.

Hombourger, S. (2017). Place des signalisations autophagique et neurotrophiques dans le Gliobastome Multiforme : implications pour les cellules souches cancéreuses. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 219 p.

Hong, G., He, X., Shen, Y., Chen, X., Yang, F., Yang, P., Pang, F., Han, X., He, W. & Wei, Q. (2019). Chrysosplenetin promotes osteoblastogenesis of bone marrow stromal cells *via* Wnt/*β*-catenin pathway and enhances osteogenesis in estrogen deficiency-induced bone loss. *Stem Cell Research & Therapy*, 10 (1), 277-298. https://doi.org/10.1186/s13287-019-1375-x.

Hong, S.H., Jeong, H.-K., Han, M.H., Park, C. & Choi, Y.H. (2014). Esculetin suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators and cytokines by inhibiting nuclear factor-κB translocation in RAW 264.7 macrophages. *Molecular Medicine Reports*, 10 (6), 3241-3246. https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2613.

Hontaas, A. (2014). Prise en charge des patients cancéreux à l'officine. Thèse de doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatier. 130 p.

Horai, H., Arita, M., Kanaya, S., Nihei, Y., Ikeda, T., Suwa, K., Ojima, Y., Tanaka, K., Tanaka, S., Aoshima, K., Oda, Y., Kakazu, Y., Kusano, M., Tohge, T., Matsuda, F., Sawada, Y., Hirai, M.Y., Nakanishi, H., Ikeda, K., Akimoto, N., Maoka, T., Takahashi, H., Ara, T., Sakurai, N., Suzuki, H., Shibata, D., Neumann, S., Iida, T., Tanaka, K., Funatsu, K., Matsuura, F., Soga, T., Taguchi, R., Saito, K. & Nishioka, T. (2010). MassBank: a public repository for sharing mass spectral data for life sciences. *Journal of Mass Spectrometry*, 45 (7), 703-714. https://doi.org/10.1002/jms.1777.

Hörhammer, L., Wagner, H., Rösler, H., Graf, E. & Farkas, L. (1964). Synthese und strukturbeweis des casticins. *Chemische Berichte*, 97 (10), 2857-2859. https://doi.org/10.1002/cber.19640971015.

Horigome, S., Yoshida, I., Tsuda, A., Harada, T., Yamaguchi, A., Yamazaki, K., Inohana, S., Isagawa, S., Kibune, N., Satoyama, T., Katsuda, S., Suzuki, S., Watai, M., Hirose, N., Mitsue, T., Shirakawa, H. & Komai, M. (2014). Identification and evaluation of anti-inflammatory compounds from *Kaempferia parviflora. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 78 (5), 851-860. https://doi.org/10.1080/09168451.2014.905177.

Hosry, L., Giorgio, C., Birer, C., Habib, J., Tueni, M., Bun, S., Herbette, G., De Méo, M., Ollivier, E. & Elias, R. (2014). *In vitro* cytotoxic and anticlastogenic activities of saxifragifolin B and cyclamin isolated from *Cyclamen persicum* and *Cyclamen libanoticum. Pharmaceutical biology*, 52 (9), 1134-1140. https://doi.org/10.3109/13880209.2013.879600.

Hou, L., Zhou, B., Yang, L. & Liu, Z.-L. (2004). Inhibition of human low density lipoprotein oxidation by flavonols and their glycosides. *Chemistry and Physics of Lipids*, 129 (2), 209-219. https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2004.02.001.

Hou, Y., Aboukhatwa, M.A., Lei, D.-L., Manaye, K., Khan, I. & Luo, Y. (2010). Anti-depressant natural flavonols modulate BDNF and *beta* amyloid in neurons and hippocampus of double TgAD mice. *Neuropharmacology*, 58 (6), 911-920. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.11.002.

Hsia, C.-W., Lin, K.-C., Lee, T.-Y., Hsia, C.-H., Chou, D.-S., Jayakumar, T., Velusamy, M., Chang, C.-C. & Sheu, J.-R. (2019). Esculetin, a coumarin derivative, prevents thrombosis: inhibitory signaling on PLCγ2-PKC-AKT activation in human platelets. *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (11), id. 2713. https://doi.org/10.3390/ijms20112731.

Hu, Y., Hou, T.-T., Zhang, Q.-Y., Xin, H.-L., Zheng, H.-C., Rahman, K. & Qin, L.-P. (2007a). Evaluation of the estrogenic activity of the constituents in the fruits of *Vitex rotundifolia* L. for the potential treatment of premenstrual syndrome. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59 (9), 1307-1312. https://doi.org/10.1211/jpp.59.9.0016.

Hu, Y., Xin, H.-L., Zhang, Q.-Y., Zheng, H.-C., Rahman, K. & Qin, L.-P. (2007b). Anti-nociceptive and anti-hyperprolactinemia activities of Fructus Viticis and its effective fractions and chemical constituents. *Phytomedicine*, 14 (10), 668-674. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2007.01.008.

Huang, H.C., Lai, M.W., Wang, H.R., Chung, Y.L., Hsieh, L.M. & Chen, C.C. (1993). Antiproliferative effect of esculetin on vascular smooth muscle cells: possible roles of signal transduction pathways. *European Journal of Pharmacology*, 237 (1), 39-44. https://doi.org/10.1016/0014-2999(93)90090-5.

Huang, H.-Q., Su, J., Zhang, X., Shan, L. & Zhang, W.-D. (2011). Qualitative and quantitative determination of polyacetylenes in different *Bupleurum* species by high performance liquid chromatography with diode array detector and mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218 (8), 1131-1138. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.007.

Huang, K., Liang, X., Zhong, Y., He, W. & Wang, Z. (2015). 5-Caffeoylquinic acid decreases diet-induced obesity in rats by modulating PPARα and LXRα transcription. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95 (9), 1903-1910. https://doi.org/10.1002/jsfa.6896.

Huang, M., Su, E., Zheng, F. & Tan, C. (2017). Encapsulation of flavonoids in liposomal delivery systems: the case of quercetin, kaempferol and luteolin. *Food & Function*, 8 (9), 3198-3208. https://doi.org/10.1039/c7fo00508c.

Huang, S.-X., Mou, J.-F., Luo, Q., Mo, Q.-H., Zhou, X.-L., Huang, X., Xu, Q., Tan, X.-D., Chen, X. & Liang, C.-Q. (2019). Anti-hepatitis B virus activity of esculetin from *Microsorium fortunei in vitro* and *in vivo*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24 (19), id. 3475. https://doi.org/10.3390/molecules24193475.

Huan-yu, G., Yan-yu, L. a. N., Shang-gao, L., Jun-hong, L.I.U., Yu, H. a. N., Lin, Z. & Yong-Jun, L.I. (2014). Caffeoylquinic acid derivatives from *Inula cappa*. *Natural Product Research and Development*, 26 (12), 1948-1952.

Humbert, H. (1955). *Une merveille de la nature à Madagascar : premiere exploration botanique du massif du Marojejy et de ses satellites*. Volume 6. Institut scientifique de Madagascar. 271 p.

Humbert, H. (1960a). *Flore de Madagascar et des Comores (plantes vasculaires)*. Museum national d'histoire naturelle, Laboratoire de phanérogamie, Paris France. 339 p.

Humbert, H. (1923). *Les composées de Madagascar*. Imprimerie E. Lanier, Caen France. 334 p.

Hunyadi, A., Martins, A., Hsieh, T.-J., Seres, A. & Zupkó, I. (2012). Chlorogenic acid and rutin play a major role in the *in vivo* anti-diabetic activity of *Morus alba* leaf extract on type II diabetic rats. *PloS One*, 7 (11), id. 50619. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050619.

Huong, D.T., Luong, D.V., Thảo, T. & Sung, T.V. (2005). A new flavone and cytotoxic activity of flavonoid constituents isolated from *Miliusa balansae* (*Annonaceae*). *Die Pharmazie*, 60 (8), 627-629. https://doi.org/10.1002/CHIN.200550192.

Imran, M., Irfan, A., Ibrahim, M., Assiri, M.A., Khalid, N., Ullah, S. & Al-Sehemi, A.G. (2020). Carbonic anhydrase and cholinesterase inhibitory activities of isolated flavonoids from *Oxalis corniculata* L. and their first-principles investigations. *Industrial Crops and Products*, 148 (4), id. 112285. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112285.

Ishitsuka, H., Ohsawa, C., Ohiwa, T., Umeda, I. & Suhara, Y. (1982). Antipicornavirus flavone Ro 09-0179. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 22 (4), 611-616. https://doi.org/10.1128/AAC.22.4.611.

Iskandar, S., Gnansounou, S.M., Robin, M., Lorquin, J., Di Giorgio, C. & Piccerelle, P. (2018). Antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective activities of a plant extract derived from traditional chinese medicine: SuHeXiang Wan (AT000). *Chemistry and Advanced Materials*, 3 (2), 36-59.

Ison, M.G. (2017). Antiviral treatments. *Clinics in Chest Medicine*, 38 (1), 139-153. https://doi.org/10.1016/j.ccm.2016.11.008.

Itokawa, H., Morita, H., Katou, I., Takeya, K., Cavalheiro, A.J., de Oliveira, R.C., Ishige, M. & Motidome, M. (1988). Cytotoxic diterpenes from the rhizomes of *Hedychium coronarium. Planta Medica*, 54 (4), 311-315. https://doi.org/10.1055/s-2006-962442.

Ivarsen, E., Fretté, X.C., Christensen, K.B., Christensen, L.P., Engberg, R.M., Grevsen, K. & Kjaer, A. (2014). Bioassay-guided chromatographic isolation and identification of antibacterial compounds from *Artemisia annua* L. that inhibit *Clostridium perfringens* Growth. *Journal of AOAC International*, 97 (5), 1282-1290. https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGEIvarsen.

Iwahara, S., Emoto, Y., Tochikura, T. & Ogata, K. (1966). Studies on biosynthesis of biotin by microorganisms. *Agricultural and Biological Chemistry*, 30 (1), 64-67. https://doi.org/10.1080/00021369.1966.10858555.

Iwai, K., Narita, Y., Fukunaga, T., Nakagiri, O., Kamiya, T., Ikeguchi, M. & Kikuchi, Y. (2012). Study on the postprandial glucose responses to a chlorogenic acid-rich extract of decaffeinated green coffee beans in rats and healthy human subjects. *Food Science and Technology Research*, 18 (6), 849-860. https://doi.org/10.3136/fstr.18.849.

Iwashina, T., Ootani, S. & Hayashi, K. (1984). Neochilenin, a new glycoside of 3-*O*-methylquercetin, and other flavonols in the tepals of *Neochilenia*, *Neoporteria* and *Parodia* species (*Cactaceae*). *The botanical magazine*, 97 (1), 23-30. https://doi.org/10.1007/BF02488144.

Jadhav, A.K. & Karuppayil, S.M. (2021). *Andrographis paniculata* (Burm. F) Wall ex Nees: Antiviral properties. *Phytotherapy research,* 273, 1-9. https://doi.org/10.1002/ptr.7145.

Jahns, E. (1881). Ueber das Kämpferid. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 14 (2), 2385-2390. https://doi.org/10.1002/cber.188101402174.

Jakobsen, T.H., Marcussen, H.V., Adsersen, A., Strasberg, D., Smitt, U.W. & Jaroszewski, J.W. (2001). 3-Methoxyflavones and a novel coumarin from *Psiadia dentata. Biochemical Systematics and Ecology*, 29 (9), 963-965. https://doi.org/10.1016/S0305-1978(01)00040-0.

Jakupovic, J., Baruah, R.N., Bohlmann, F., King, R.M. & Robinson, H. (1985). New alicyclic diterpenes and ent-labdanes from *Gutierrezia solbrigii. Tetrahedron*, 41 (20), 4537-4544. https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)82348-6.

Jang, D.S., Han, A.-R., Park, G., Jhon, G.-J. & Seo, E.-K. (2004). Flavonoids and aromatic compounds from the rhizomes of *Zingiber zerumbet. Archives of Pharmacal Research*, 27 (4), 386-389. https://doi.org/10.1007/BF02980078.

Jansen, O., Tits, M., Angenot, L., Nicolas, J.-P., De Mol, P., Nikiema, J.-B. & Frédérich, M. (2012). Anti-plasmodial activity of *Dicoma tomentosa* (*Asteraceae*) and identification of urospermal A-15-*O*-acetate as the main active compound. *Malaria Journal*, 11 (1), id. 289. https://doi.org/10.1186/1475-2875-11-289.

Jayaprakasam, B., Alexander-Lindo, R., Dewitt, D. & Nair, M. (2007). Terpenoids from Stinking Toe (*Hymneae courbaril*) fruits with cyclooxygenase and lipid peroxidation inhibitory activities. *Food Chemistry*, 105, 485-490. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.004.

Jefferson, T.O., Demicheli, V., Deeks, J.J. & Rivetti, D. (2000). Amantadine and rimantadine for preventing and treating influenza A in adults. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2, id. CD001169. https://doi.org/10.1002/14651858.CD001169.

Jefferson, T.O., Demicheli, V., Deeks, J.J. & Rivetti, D. (2001). Amantadine and rimantadine for preventing and treating influenza A in adults. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2, id. CD001169. https://doi.org/10.1002/14651858.CD001169.

Jefferson, T.O., Demicheli, V., Deeks, J.J. & Rivetti, D. (2002). Amantadine and rimantadine for preventing and treating influenza A in adults. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3, id. CD001169. https://doi.org/10.1002/14651858.CD001169.

Jeon, Y.-J., Jang, J.-Y., Shim, J.-H., Myung, P.K. & Chae, J.-I. (2015). Esculetin, a coumarin derivative, exhibits anti-proliferative and pro-apoptotic activity in G361 human malignant melanoma. *Journal of Cancer Prevention*, 20 (2), 106-112. https://doi.org/10.15430/JCP.2015.20.2.106.

Jeong, H.J., Ryu, Y.B., Park, S.-J., Kim, J.H., Kwon, H.-J., Kim, J.H., Park, K.H., Rho, M.-C. & Lee, W.S. (2009). Neuraminidase inhibitory activities of flavonols isolated from *Rhodiola rosea* roots and their *in vitro* anti-influenza viral activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17 (19), 6816-6823. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.08.036.

Jeong, N.-H., Yang, E.-J., Jin, M., Lee, J.Y., Choi, Y.-A., Park, P.-H., Lee, S.-R., Kim, S.-U., Shin, T.-Y., Kwon, T.K., Jang, Y.H., Song, K.-S. & Kim, S.-H. (2018). Esculetin from *Fraxinus rhynchophylla* attenuates atopic skin inflammation by inhibiting the expression of inflammatory cytokines. *International Immunopharmacology*, 59, 209-216. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.04.005.

Jiang, J.-S., Chien, H.-C., Chen, C.-M., Lin, C.-N. & Ko, W.-C. (2007). Potent suppressive effects of 3-*O*-methylquercetin 5,7,3',4'-*O*-tetraacetate on ovalbumin-induced airway hyperresponsiveness. *Planta Medica*, 73 (11), 1156-1162. https://doi.org/10.1055/s-2007-981587.

Jiang, J.-S., Shih, C.-M., Wang, S.-H., Chen, T.-T., Lin, C.-N. & Ko, W.-C. (2006). Mechanisms of suppression of nitric oxide production by 3-*O*-methylquercetin in RAW 264.7 cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 103 (2), 281-287. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.08.005.

Jiang, M.-Y., Yang, C.-T., Pu, X.-Y., Fu, G., Wang, W., Li, Y.-X., Feng, L., Niu, hi-R., Tan, J.-L. & Huang, X.-Z. (2019). Polyacetylenes from the roots of *Aralia dumetorum. Records of Natural Products*, 13 (5), 424-428. https://doi.org/10.25135/rnp.119.18.09.940.

Jiménez-Estrada, M., Navarro, A., Flores, M.V., Reyes Chilpa, R., Hernández, B., Anaya, A.L. & Lotina-Hennsen, B. (1996). Transformation of terpene Piquerol A to hydroquinone and phenolic derivatives. Effect of these compounds on weeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 (9), 2839-2841. https://doi.org/10.1021/jf9406626.

Jin, H.R., Zhao, J., Zhang, Z., Liao, Y., Wang, C.-Z., Huang, W.-H., Li, S.-P., He, T.-C., Yuan, C.-S. & Du, W. (2012). The antitumor natural compound falcarindiol promotes cancer cell death by inducing endoplasmic reticulum stress. *Cell Death & Disease*, 3 (8), id. 376. https://doi.org/10.1038/cddis.2012.122.

Jin, S., Chang, C., Zhang, L., Liu, Y., Huang, X. & Chen, Z. (2015). Chlorogenic acid improves late diabetes through adiponectin receptor signaling pathways in db/db mice. *PloS One*, 10 (4), id. 0120842. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120842.

Johnson, D.C. (1988). Antiviral drugs for common respiratory diseases. What's here, what's to come. *Postgraduate Medicine*, 83 (2), 136-148. https://doi.org/10.1080/00325481.1988.11700143.

Johnston, K.L., Clifford, M.N. & Morgan, L.M. (2003). Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78 (4), 728-733. https://doi.org/10.1093/ajcn/78.4.728.

Jonville, M.C. (2011). Étude de la composition chimique et des potentialités antipaludiques de plantes utilisées en médecine traditionnelle au Cambodge et dans l'archipel des Mascareignes. Thèse de doctorat. Université de Liège, Belgique. 236 p.

Jonville, M.C., Kodja, H., Strasberg, D., Pichette, A., Ollivier, E., Frederich, M., Angenot, L. & Legault, J. (2011). Antiplasmodial, anti-inflammatory and cytotoxic activities of various plant extracts from the Mascarene Archipelago. *Journal of Ethnopharmacology,* 136 (3), 525-531. http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2010.06.013.

José M. S., Emilio Q., Ricardo R. (2015). The assignment of the Absolute Configuration by NMR using Chiral Derivatizing Agents: A pratical guide. OUP USA. 264 p. (ISBN: 978-0199996803)

Juma, B.F., Midiwo, J.O., Yenesew, A., Waterman, P.G., Heydenreich, M. & Peter, M.G. (2006). Three *ent*-trachylobane diterpenes from the leaf exudates of *Psiadia punctulata. Phytochemistry*, 67 (13), 1322-1325. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.04.007.

Jung, C.H., Lee, J.Y., Park, J.H., Cho, B.J., Sim, S.S. & Kim, C.J. (2010). Flavonols attenuate the immediate and late-phase asthmatic responses to aerosolized-ovalbumin exposure in the conscious guinea pig. *Fitoterapia*, 81 (7), 803-812. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.04.011.

Jung, H.-J., Min, B.-S., Park, J.-Y., Kim, Y.-H., Lee, H.-K. & Bae, K.-H. (2002). Gymnasterkoreaynes A−F, cytotoxic plyacetylenes from *Gymnaster koraiensis*. *Journal of Natural Products*, 65 (6), 897-901. https://doi.org/10.1021/np0104018.

Jung, J.E., Kim, H.S., Lee, C.S., Park, D.-H., Kim, Y.-N., Lee, M.-J., Lee, J.W., Park, J.-W., Kim, M.-S., Ye, S.K. & Chung, M.-H. (2007). Caffeic acid and its synthetic derivative CADPE suppress tumor angiogenesis by blocking STAT3-mediated VEGF expression in human renal carcinoma cells. *Carcinogenesis*, 28 (8), 1780-1787. https://doi.org/10.1093/carcin/bgm130.

Kajiya, K., Ichiba, M., Kuwabara, M., Kumazawa, S. & Nakayama, T. (2001). Role of lipophilicity and hydrogen peroxide formation in the cytotoxicity of flavonols. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65 (5), 1227-1229. https://doi.org/10.1271/bbb.65.1227.

Kaneko, T., Baba, N. & Matsuo, M. (2003). Protection of coumarins against linoleic acid hydroperoxide-induced cytotoxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 142 (3), 239-254. https://doi.org/10.1016/S0009-2797(02)00077-7.

Kapil, A., Koul, I.B., Banerjee, S.K. & Gupta, B.D. (1993). Antihepatotoxic effects of major diterpenoid constituents of *Andrographis paniculata*. *Biochemical Pharmacology*, 46 (1), 182-185. https://doi.org/10.1016/0006-2952(93)90364-3.

Kapoor, L.D. (2018). *CRC handbook of Ayurvedic medicinal plants*. *CRC handbook of Ayurvedic medicinal plants.* 1st Ed. *CRC Press,* Florida USA. 424 p. (ISBN: 978-1315891897). https://doi.org/10.1201/9781351070997.

Karthika, K. & Paulsamy, S. (2015). TLC and HPTLC fingerprints of various secondary metabolites in the stem of the traditional medicinal climber, *Solena amplexicaulis. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77 (1), 111-116. https://doi.org/10.4103/0250-474X.151591.

Karunanidhi, A., Thomas, R., van Belkum, A. & Neela, V. (2013). *In vitro* antibacterial and antibiofilm activities of chlorogenic acid against clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* including the trimethoprim/sulfamethoxazole resistant strain. *BioMed Research International*, 4, id. 392058. https://doi.org/10.1155/2013/392058.

Kemp, M.S. (1978). Falcarindiol: An antifungal polyacetylene from *Aegopodium podagraria. Phytochemistry*, 17 (5), 1002-1002. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)88669-0.

Kempuraj, D., Madhappan, B., Christodoulou, S., Boucher, W., Cao, J., Papadopoulou, N., Cetrulo, C.L. & Theoharides, T.C. (2005). Flavonols inhibit proinflammatory mediator release, intracellular calcium ion levels and protein kinase C theta phosphorylation in human mast cells. *British Journal of Pharmacology*, 145 (7), 934-944. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706246.

Keriko, J.M., Nakajima, S., Baba, N. & Iwasa, J. (1997). Eicosanyl *p*-coumarates from a Kenyan plant, *Psiadia punctulata*: Plant growth inhibitors. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 61 (12), 2127-2128. https://doi.org/10.1271/bbb.61.2127.

Khan, A., Kunesch, G., Chuilon, S. & Ravisé, A. (1985). Structure and biological activity of xanthyletin: a new phytoalexin of CITRUS. *Fruits*, 40 (12), 807-811.

Khan, A., Sharma, P., Khan, F., Ajayakumar, P.V., Shanker, K. & Samad, A. (2016). *In silico* and *in vitro* studies on begomovirus induced andrographolide biosynthesis pathway in *Andrographis paniculata* for combating inflammation and cancer. *Molecular Informatics*, 35 (6-7), 253-261. https://doi.org/10.1002/minf.201501010.

Khan, M.T.H., Ather, A., Thompson, K.D. & Gambari, R. (2005). Extracts and molecules from medicinal plants against herpes simplex viruses. *Antiviral Research*, 67 (2), 107-119. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.05.002.

Kikuchi, H., Yuan, B., Nishimura, Y., Imai, M., Furutani, R., Kamoi, S., Seno, M., Fukushima, S., Hazama, S., Hirobe, C., Ohyama, K., Hu, X.-M., Takagi, N., Hirano, T. & Toyoda, H. (2013). Cytotoxicity of *Vitex agnus-castus* fruit extract and its major component, casticin, correlates with differentiation status in leukemia cell lines. *International Journal of Oncology*, 43 (6), 1976-1984. https://doi.org/10.3892/ijo.2013.2133.

Kim, C.-S., Kim, J., Lee, Y.M., Sohn, E., Jo, K. & Kim, J.S. (2011). Inhibitory effects of chlorogenic acid on aldose reductase activity *in vitro* and cataractogenesis in galactose-fed rats. *Archives of Pharmacal Research*, 34 (5), 847-852. https://doi.org/10.1007/s12272-011-0519-z.

Kim, C.-S., Kim, J., Lee, Y.M., Sohn, E. & Kim, J.S. (2016). Esculetin, a coumarin derivative, inhibits aldose reductase activity *in vitro* and cataractogenesis in galactose-fed rats. *Biomolecules & Therapeutics*, 24 (2), 178-183. https://doi.org/10.4062/biomolther.2015.101.

Kim, D.-W., Jung, D.-H., Sung, J., Min, I.S. & Lee, S.-J. (2021). Tart cherry extract containing chlorogenic acid, quercetin, and kaempferol inhibits the mitochondrial apoptotic cell death elicited by airborne PM10 in human epidermal keratinocytes. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10 (3), id. 443. https://doi.org/10.3390/antiox10030443.

Kim, E.K., Kim, J.H., Jeong, S., Choi, Y.W., Choi, H.J., Kim, C.Y. & Kim, Y.-M. (2019). Pachypodol, a methoxyflavonoid isolated from *Pogostemon cablin* Bentham exerts antioxidant and cytoprotective effects in HepG2 cells: Possible role of ERK-dependent Nrf2 activation. *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (17), id. 4082. https://doi.org/10.3390/ijms20174082.

Kim, H., Yi, J.-M., Kim, N.S., Lee, Y.J., Kim, J., Oh, D.-S., Oh, S.-M., Bang, O.-S. & Lee, J. (2012a). Cytotoxic compounds from the fruits of *Vitex rotundifolia* against human cancer cell lines. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 55 (3), 433-437. https://doi.org/10.1007/s13765-012-2027-3.

Kim, J.-H., Lim, H.-S., Ha, H., Seo, C.-S. & Shin, H.-K. (2012b). Inulae Flos and its compounds inhibit TNF-*α*- and IFN-*γ*-induced chemokine production in HaCaT human keratinocytes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012 (3), id. 280351. https://doi.org/10.1155/2012/280351.

Kim, J.M., Lee, P., Son, D., Kim, H. & Kim, S.Y. (2003). Falcarindiol inhibits nitric oxide-mediated neuronal death in lipopolysaccharide-treated organotypic hippocampal cultures. *Neuroreport*, 14 (15), 1941-1944. https://doi.org/10.1097/00001756-200310270-00012.

Kim, J.Y., Lim, H.J. & Ryu, J.-H. (2008). *In vitro* anti-inflammatory activity of 3-*O*-methyl-flavones isolated from *Siegesbeckia glabrescens*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18 (4), 1511-1514. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.12.052.

Kim, J.-Y. & Shim, S.H. (2019). Anti-atherosclerotic effects of fruits of *Vitex rotundifolia* and their isolated compounds *via* inhibition of human LDL and HDL oxidation. *Biomolecules*, 9 (11), id. 727. https://doi.org/10.3390/biom9110727.

Kim, S.H., Naveen Kumar, Ch., Kim, H.J., Kim, D.H., Cho, J., Jin, C. & Lee, Y.S. (2009). Glucose-containing flavones-their synthesis and antioxidant and neuroprotective activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19 (21), 6009-6013. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.09.062.

Kimura, Y., Okuda, H., Arichi, S., Baba, K. & Kozawa, M. (1985). Inhibition of the formation of 5-hydroxy-6,8,11,14-eicosatetraenoic acid from arachidonic acid in polymorphonuclear leukocytes by various coumarins. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 834 (2), 224-229. https://doi.org/10.1016/0005-2760(85)90159-6.

Kimura, Y. & Sumiyoshi, M. (2015). Antitumor and antimetastatic actions of dihydroxycoumarins (esculetin or fraxetin) through the inhibition of M2 macrophage differentiation in tumor-associated macrophages and/or G1 arrest in tumor cells. *European Journal of Pharmacology*, 746, 115-125. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.10.048.

Kimura, Y., Takido, M. & Takahashi, S. (1967a). Studies on the constituents of *Alpinia.* XI. On the constituents of the seeds of *Alpinia japonica* Miq. *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 87 (9), 1132-1133. https://doi.org/10.1248/yakushi1947.87.9_1132.

Kimura, Y., Takido, M., Takahashi, S. & Kimishima, M. (1967b). Studies on the constituents of *Alpinia*, IX. On the constituents of the seeds of *Alpinia kumatake* Makino. *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 87 (4), 440-443. https://doi.org/10.1248/yakushi1947.87.4_440.

Kinnunen, T. & Koskela, M. (1991). Antibacterial and antifungal properties of propylene glycol, hexylene glycol, and 1,3-butylene glycol *in vitro*. *Acta Dermato-Venereologica*, 71 (2), 148-150. http://dx.doi.org/10.2340/0001555571148150.

Kiss, H., Fust, A., Nagy, Z.Z. & Nemeth, J. (2018). The anti-inflammatory effect of isotonic glycerol in Sjögren's syndrome-related dry eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 59 (9), 4870-4870.

Knudsen, F.S., Vilegas, W., Oliveira, F. & Roque, N.F. (1986). Pimaradiene diterpenes from *Mikania triangularis. Phytochemistry*, 25 (5), 1240-1242. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81593-9.

Ko, W.C., Kuo, S.W., Sheu, J.R., Lin, C.H., Tzeng, S.H. & Chen, C.M. (1999). Relaxant effects of quercetin methyl ether derivatives in isolated guinea pig trachea and their structure-activity relationships. *Planta Medica*, 65 (3), 273-275. https://doi.org/10.1055/s-2006-960776.

Kobaek-Larsen, M., El-Houri, R.B., Christensen, L.P., Al-Najami, I., Fretté, X. & Baatrup, G. (2017). Dietary polyacetylenes, falcarinol and falcarindiol, isolated from carrots prevents the formation of neoplastic lesions in the colon of azoxymethane-induced rats. *Food & Function*, 8 (3), 964-974. https://doi.org/10.1039/c7fo00110j.

Kobayakawa, J., Sato-Nishimori, F., Moriyasu, M. & Matsukawa, Y. (2004). G2-M arrest and antimitotic activity mediated by casticin, a flavonoid isolated from Viticis Fructus (*Vitex rotundifolia* Linne fil.). *Cancer Letters*, 208 (1), 59-64. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2004.01.012.

Koch, A., Tamez, P., Pezzuto, J. & Soejarto, D. (2005). Evaluation of plants used for antimalarial treatment by the Maasai of Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*, 101 (1-3), 95-99. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.03.011.

Koh, D., Ahn, H., Chung, H.-S., Lee, H., Kim, Y., Lee, J., Kim, D., Hong, M., Shin, M. & Bae, H. (2011). Inhibitory effects of casticin on migration of eosinophil and expression of chemokines and adhesion molecules in A549 lung epithelial cells *via* NF-κB inactivation. *Journal of Ethnopharmacology*, 136 (3), 399-405. https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.01.014.

Kokwaro, J.O. (1976). *Medicinal plants of East Africa*. East African Literature Bureau, Kampala Kenya. 384 p. (ISBN: 978-9966846846).

Komsta, L., Waksmundzka-Hajnos, M. & Sherma, J. (2013). *Thin layer chromatography in drug analysis.* CRC Press, Florida USA. 1067 p. (ISBN: 978-1466507159).

Konstantinopoulou, M., Karioti, A., Skaltsas, S. & Skaltsa, H. (2003). Sesquiterpene lactones from *Anthemis altissima* and their anti-helicobacter pylori activity. *Journal of Natural Products*, 66 (5), 699-702. https://doi.org/10.1021/np020472m.

Koo, K.A., Sung, S.H. & Kim, Y.C. (2002). A new neuroprotective pinusolide derivative from the leaves of *Biota orientalis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50 (6), 834-836. https://doi.org/10.1248/cpb.50.834.

Kozuma, K., Tsuchiya, S., Kohori, J., Hase, T. & Tokimitsu, I. (2005). Antihypertensive effect of green coffee bean extract on mildly hypertensive subjects. *Hypertension Research*, 28 (9), 711-718. https://doi.org/10.1291/hypres.28.711.

Kramer, M., Mühleis, A., Conrad, J., Leitenberger, M., Beifuss, U., Carle, R. & Kammerer, D.R. (2011). Quantification of polyacetylenes in apiaceous plants by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 66 (7-8), 319-327. https://doi.org/10.1515/znc-2011-7-801.

Krenn, L., Wollenweber, E., Steyrleuthner, K., Görick, C. & Melzig, M.F. (2009). Contribution of methylated exudate flavonoids to the anti-inflammatory activity of *Grindelia robusta*. *Fitoterapia*, 80 (5), 267-269. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.03.001.

Kubina, R., Iriti, M. & Kabała-Dzik, A. (2021). Anticancer potential of selected flavonols: Fisetin, kaempferol, and quercetin on head and neck cancers. *Nutrients*, 13 (3), id. 845. https://doi.org/10.3390/nu13030845.

Kubo, I., Kinst-Hori, I., Chaudhuri, S.K., Kubo, Y., Sánchez, Y. & Ogura, T. (2000). Flavonols from *Heterotheca inuloides*: tyrosinase inhibitory activity and structural criteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 8 (7), 1749-1755. https://doi.org/10.1016/s0968-0896(00)00102-4.

Kuete, V., Ango, P.Y., Yeboah, S.O., Mbaveng, A.T., Mapitse, R., Kapche, G.D.W.F., Ngadjui, B.T. & Efferth, T. (2014). Cytotoxicity of four *Aframomum* species (*A. arundinaceum*, *A. alboviolaceum*, *A. kayserianum* and *A. polyanthum*) towards multi-factorial drug resistant cancer cell lines. *BMC complementary and alternative medicine*, 14 (1), id. 340. https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-340.

Kumar, R.A., Sridevi, K., Kumar, N.V., Nanduri, S. & Rajagopal, S. (2004). Anticancer and immunostimulatory compounds from *Andrographis paniculata. Journal of Ethnopharmacology*, 92 (2-3), 291-295. https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.03.004.

Kuo, P.-L., Huang, Y.-T., Chang, C.-H. & Chang, J.-K. (2006). Bone morphogenetic protein-2 and -4 (BMP-2 and -4) mediates fraxetin-induced maturation and differentiation in human osteoblast-like cell lines. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29 (1), 119-124. https://doi.org/10.1248/bpb.29.119.

Küpeli, E. & Yesilada, E. (2007). Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. *Journal of Ethnopharmacology*, 112 (3), 524-530. https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.04.011.

Kwon, O.S., Choi, J.S., Islam, M.N., Kim, Y.S. & Kim, H.P. (2011). Inhibition of 5-lipoxygenase and skin inflammation by the aerial parts of *Artemisia capillaris* and its constituents. *Archives of Pharmacal Research*, 34 (9), 1561-1569. https://doi.org/10.1007/s12272-011-0919-0.

Labbé, D., Provençal, M., Lamy, S., Boivin, D., Gingras, D. & Béliveau, R. (2009). The flavonols quercetin, kaempferol, and myricetin inhibit hepatocyte growth factor-induced medulloblastoma cell migration. *The Journal of Nutrition*, 139 (4), 646-652. https://doi.org/10.3945/jn.108.102616.

Lacy, A. & O'Kennedy, R. (2004). Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *Current Pharmaceutical Design*, 10 (30), 3797-3811. https://doi.org/10.2174/1381612043382693.

Lage, P.S., de Andrade, P.H.R., Lopes, A. de S., Chávez Fumagalli, M.A., Valadares, D.G., Duarte, M.C., Pagliara Lage, D., Costa, L.E., Martins, V.T., Ribeiro, T.G., Filho, J.D. de S., Tavares, C.A.P., de Pádua, R.M., Leite, J.P.V. & Coelho, E.A.F. (2013). *Strychnos pseudoquina* and its purified compounds present an effective in vitro antileishmanial activity. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2013 (1), id. 304354. https://doi.org/10.1155/2013/304354.

Laguerre, M., Chen, B., Lecomte, J., Villeneuve, P., McClements, D.J. & Decker, E.A. (2011). Antioxidant properties of chlorogenic acid and its alkyl esters in stripped corn oil in combination with phospholipids and/or water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (18), 10361-10366. https://doi.org/10.1021/jf2026742.

Laguerre, M., López Giraldo, L.J., Lecomte, J., Figueroa-Espinoza, M.-C., Baréa, B., Weiss, J., Decker, E.A. & Villeneuve, P. (2009). Chain length affects antioxidant properties of chlorogenate esters in emulsion: The cutoff theory behind the polar paradox. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (23), 11335-11342. https://doi.org/10.1021/jf9026266.

Lambros, C. & Vanderberg, J.P. (1979). Synchronization of *Plasmodium falciparum* erythrocytic stages in culture. *The Journal of Parasitology*, 65 (3), 418-420. https://doi.org/10.2307/3280287.

Lan, J.-E., Li, X.-J., Zhu, X.-F., Sun, Z.-L., He, J.-M., Zloh, M., Gibbons, S. & Mu, Q. (2019). Flavonoids from *Artemisia rupestris* and their synergistic antibacterial effects on drug-resistant *Staphylococcus aureus. Natural Product Research*, 35 (11), 1881-1886. https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1639182.

Landi-Librandi, A.P., de Oliveira, C.A., Azzolini, A.E.C.S., Kabeya, L.M., Del Ciampo, J.O., Bentley, M.V.L.B. & Lucisano-Valim, Y.M. (2011). *In vitro* evaluation of the antioxidant activity of liposomal flavonols by the HRP-H2O2-luminol system. *Journal of Microencapsulation*, 28 (4), 258-267. https://doi.org/10.3109/02652048.2011.559283.

Landry, P. (1975). Le concept d'espèce et la taxinomie du genre *Amelanchier* (Rosacées). *Bulletin de la Société Botanique de France*, 122 (5-6), 243-251. https://doi.org/10.1080/00378941.1975.10839332.

Lang, S.J., Schmiech, M., Hafner, S., Paetz, C., Steinborn, C., Huber, R., Gaafary, M.E., Werner, K., Schmidt, C.Q., Syrovets, T. & Simmet, T. (2019). Antitumor activity of an *Artemisia annua* herbal preparation and identification of active ingredients. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 62, id. 152962. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152962.

Lang, S.J., Schmiech, M., Hafner, S., Paetz, C., Werner, K., El Gaafary, M., Schmidt, C.Q., Syrovets, T. & Simmet, T. (2020). Chrysosplenol D, a flavonol from *Artemisia annua*, induces ERK1/2-mediated apoptosis in triple negative human breast cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (11), id. 4090. https://doi.org/10.3390/ijms21114090.

Lau, A.J. & Chang, T.K.H. (2015). 3-Hydroxyflavone and structural analogues differentially activate pregnane X receptor: Implication for inflammatory bowel disease. *Pharmacological Research*, 100, 64-72. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.07.031.

Lavergne, R. (2004). *Plantes médicinales de la pharmacopée réunionnaise d'aujourd'hui*. Editions Orphie, Saint-denis La Réunion. 102 p. (ISBN: 978-2877632270).

Leal, L.K.A.M., Canuto, K.M., da Silva Costa, K.C., Nobre-Júnior, H.V., Vasconcelos, S.M., Silveira, E.R., Ferreira, M.V.P., Fontenele, J.B., Andrade, G.M. & de Barros Viana, G.S. (2009). Effects of amburoside A and isokaempferide, polyphenols from *Amburana cearensis*, on rodent inflammatory processes and myeloperoxidase activity in human neutrophils. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 104 (3), 198-205. https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2008.00329.x.

Leal, L.K.A.M., Costa, M.F., Pitombeira, M., Barroso, V.M., Silveira, E.R., Canuto, K.M. & Viana, G.S.B. (2006). Mechanisms underlying the relaxation induced by isokaempferide from *Amburana cearensis* in the guinea-pig isolated trachea. *Life Sciences*, 79 (1), 98-104. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.12.024.

Lechner, D., Stavri, M., Oluwatuyi, M., Pereda-Miranda, R. & Gibbons, S. (2004). The anti-staphylococcal activity of *Angelica dahurica* (Bai Zhi). *Phytochemistry*, 65 (3), 331-335. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2003.11.010.

Lee, C., Lee, J.W., Jin, Q., Lee, H.J., Lee, S.-J., Lee, D., Lee, M.K., Lee, C.K., Hong, J.T., Lee, M.K. & Hwang, B.Y. (2013a). Anti-inflammatory constituents from the fruits of *Vitex rotundifolia. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23 (21), 6010-6014. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.08.004.

Lee, C.-K., Fang, J.-M. & Cheng, Y. (1994). Abietanes from leaves of *Juniperus chinensis. Phytochemistry*, 35 (4), 983-986. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90652-6.

Lee, G., Park, H.-G., Choi, M.-L., Kim, Y.-H., Park, Y.-B., Song, K.-S., Cheong, C. & Bae, Y.-S. (2000). Falcarindiol, a polyacetylenic compound isolated from *Peucedanum japonicum*, inhibits mammalian DNA topoisomerase I. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 10 (3), 394-398.

Lee, H., Jung, K.-H., Lee, H., Park, S., Choi, W. & Bae, H. (2015a). Casticin, an active compound isolated from *Vitex fructus*, ameliorates the cigarette smoke-induced acute lung inflammatory response in a murine model. *International Immunopharmacology*, 28 (2), 1097-1101. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.07.041.

Lee, J.-H., Kim, Y.-G., Cho, H.S., Ryu, S.Y., Cho, M.H. & Lee, J. (2014). Coumarins reduce biofilm formation and the virulence of *Escherichia coli* O157:H7. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 21 (8-9), 1037-1042. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.04.008.

Lee, S.M., Lee, Y.J., Kim, Y.C., Kim, J.S., Kang, D.G. & Lee, H.S. (2012). Vascular protective role of vitexicarpin isolated from *Vitex rotundifolia* in human umbilical vein endothelial cells. *Inflammation*, 35 (2), 584-593. https://doi.org/10.1007/s10753-011-9349-x.

Lee, S.-W., Hung, W.-J. & Chen, Z.-T. (2017). A new flavonol from the kino of *Eucalyptus citriodora. Natural Product Research*, 31 (1), 37-42. https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1209667.

Lee, S.-Y., Lim, T.-G., Chen, H., Jung, S.K., Lee, H.-J., Lee, M.-H., Kim, D.J., Shin, A., Lee, K.W., Bode, A.M., Surh, Y.-J. & Dong, Z. (2013b). Esculetin suppresses proliferation of human colon cancer cells by directly targeting *β*-catenin. *Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.)*, 6 (12), 1356-1364. https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-13-0241.

Lee, Y.H., Kim, H.J., Yoo, H., Jung, S.Y., Kwon, B.J., Kim, N.-J., Jin, C. & Lee, Y.S. (2015b). Synthesis of (2-amino)ethyl derivatives of quercetin 3-*O*-methyl ether and their antioxidant and neuroprotective effects. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23 (15), 4970-4979. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.05.023.

Li, D., Wang, N., Zhang, J., Ma, S., Zhao, Z. & Ellis, E.M. (2017a). Hepatoprotective effect of 7-hydroxycoumarin against methyl glyoxal toxicity *via* activation of Nrf2. *Chemico-Biological Interactions*, 276, 203-209. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.02.020.

Li, D.-Z., Tang, C., Quinn, R.J., Feng, Y., Ke, C.-Q., Yao, S. & Ye, Y. (2013a). *Ent*-labdane diterpenes from the stems of *Mallotus japonicus. Journal of Natural Products*, 76 (9), 1580-1585. https://doi.org/10.1021/np400241p.

Li, F., Zhang, B., Chen, G. & Fu, X. (2017b). The novel contributors of anti-diabetic potential in mulberry polyphenols revealed by UHPLC-HR-ESI-TOF-MS/MS. *Food Research International*, 100 (1), 873-884. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.052.

Li, G., Wang, X., Xu, Y., Zhang, B. & Xia, X. (2014). Antimicrobial effect and mode of action of chlorogenic acid on *Staphylococcus aureus. European Food Research and Technology*, 238 (4), 589-596. https://doi.org/10.1007/s00217-013-2140-5.

Li, J., Huang, W., Zhang, H., Wang, X. & Zhou, H. (2007). Synthesis of andrographolide derivatives and their TNF-*alpha* and IL-6 expression inhibitory activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17 (24), 6891-6894. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.10.009.

Li, J., Mottamal, M., Li, H., Liu, K., Zhu, F., Cho, Y.-Y., Sosa, C.P., Zhou, K., Bowden, G.T., Bode, A.M. & Dong, Z. (2012). Quercetin-3-methyl ether suppresses proliferation of mouse epidermal JB6 P+ cells by targeting ERKs. *Carcinogenesis*, 33 (2), 459-465. https://doi.org/10.1093/carcin/bgr281.

Li, L., Henry, G.E. & Seeram, N.P. (2009a). Identification and bioactivities of resveratrol oligomers and flavonoids from *Carex folliculata* seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (16), 7282-7287. https://doi.org/10.1021/jf901716j.

Li, T., Zhang, L. & Huo, X. (2018). Inhibitory effects of aesculetin on the proliferation of colon cancer cells by the Wnt/*β*-catenin signaling pathway. *Oncology Letters*, 15 (5), 7118-7122. https://doi.org/10.3892/ol.2018.8244.

Li, W., Du, B., Wang, T., Wang, S. & Zhang, J. (2009b). Kaempferol induces apoptosis in human HCT116 colon cancer cells *via* the Ataxia-Telangiectasia Mutated-p53 pathway with the involvement of p53 upregulated modulator of apoptosis. *Chemico-Biological Interactions*, 177 (2), 121-127. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.10.048.

Li, W.-X., Cui, C.-B., Cai, B., Wang, H.-Y. & Yao, X.-S. (2005). Flavonoids from *Vitex trifolia* L. inhibit cell cycle progression at G2/M phase and induce apoptosis in mammalian cancer cells. *Journal of Asian Natural Products Research*, 7 (4), 615-626. https://doi.org/10.1080/10286020310001625085.

Li, X., Liu, Y., Hou, X., Peng, H., Zhang, L., Jiang, Q., Shi, M., Ji, Y., Wang, Y. & Shi, W. (2013b). Chlorogenic acid inhibits the replication and viability of enterovirus 71 *in vitro*. *PloS On*, 8 (9), id. 76007. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076007.

Li, Y. & Shen, Y. (2016). Casticin attenuates rheumatoid arthritis through PKC-NF-κB signaling *in vitro* and *in vivo*. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 9 (3), 2879-2887.

Li, Y.-J., Guo, Y., Yang, Q., Weng, X.-G., Yang, L., Wang, Y.-J., Chen, Y., Zhang, D., Li, Q., Liu, X.-C., Kan, X.-X., Chen, X., Zhu, X.-X., Kmoníèková, E. & Zídek, Z. (2015). Flavonoids casticin and chrysosplenol D from *Artemisia annua* L.

inhibit inflammation *in vitro* and *in vivo*. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 286 (3), 151-158. https://doi.org/10.1016/j.taap.2015.04.005.

Lim, J.C.W., Chan, T.K., Ng, D.S.W., Sagineedu, S.R., Stanslas, J. & Wong, W.S.F. (2012). Andrographolide and its analogues: versatile bioactive molecules for combating inflammation and cancer. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 39 (3), 300-310. https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2011.05633.x.

Lin, C.-C., Chen, K.-B., Tsai, C.-H., Tsai, F.-J., Huang, C.-Y., Tang, C.-H., Yang, J.-S., Hsu, Y.-M., Peng, S.-F. & Chung, J.-G. (2019a). Casticin inhibits human prostate cancer DU 145 cell migration and invasion *via* Ras/Akt/NF-κB signaling pathways. *Journal of Food Biochemistry*, 43 (7), id. 12902. https://doi.org/10.1111/jfbc.12902.

Lin, C.N., Lu, C.M., Lin, H.C., Ko, F.N. & Teng, C.M. (1995). Novel antiplatelet naphthalene from *Rhamnus nakaharai*. *Journal of Natural Products*, 58 (12), 1934-1940. https://doi.org/10.1021/np50126a023.

Lin, H.-C., Li, C.-C., Yang, Y.-C., Chiu, T.-H., Liu, K.-L., Lii, C.-K. & Chen, H.-W. (2019b). *Andrographis paniculata* diterpenoids and ethanolic extract inhibit TNFα-induced ICAM-1 expression in EA.hy926 cells. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 52, 157-167. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.09.205.

Lin, S., Liu, M., Wang, S., Li, S., Yang, Y. & Shi, J. (2008). Coumarins from branch of *Fraxinus sieboldiana* and their antioxidative activity. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 33 (14), 1708-1710.

Lin, S., Zhang, H., Han, T., Wu, J., Rahman, K. & Qin, L. (2007). *In vivo* effect of casticin on acute inflammation. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 5 (5), 573-576. https://doi.org/10.3736/jcim20070520.

Linstrom, P.J. & Mallard, W.G. (2001). The NIST chemistry webBook: A chemical data resource on the internet. *Journal of Chemical & Engineering Data,* 46 (5), 1059-1063. https://doi.org/10.1021/je000236i.

Liou, C.-J., Cheng, C.-Y., Yeh, K.-W., Wu, Y.-H. & Huang, W.-C. (2018). Protective effects of casticin from *Vitex trifolia* alleviate eosinophilic airway inflammation and oxidative stress in a murine asthma model. *Frontiers in Pharmacology*, 9, id. 635. https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00635.

Liou, C.-J., Len, W.-B., Wu, S.-J., Lin, C.-F., Wu, X.-L. & Huang, W.-C. (2014). Casticin inhibits COX-2 and iNOS expression *via* suppression of NF-κB and MAPK signaling in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 158, 310-316. https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.10.046.

Liu, C.-C., Zhang, Y., Dai, B.-L., Ma, Y.-J., Zhang, Q., Wang, Y. & Yang, H. (2017). Chlorogenic acid prevents inflammatory responses in IL-1*β*-stimulated human SW-1353 chondrocytes, a model for osteoarthritis. *Molecular Medicine Reports*, 16 (2), 1369-1375. https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6698.

Liu, J., Yang, J., Hou, Y., Zhu, Z., He, J., Zhao, H., Ye, X., Li, D., Wu, Z., Huang, Z., Hao, B. & Yao, K. (2019). Casticin inhibits nasopharyngeal carcinoma growth by targeting phosphoinositide 3-kinase. *Cancer Cell International*, 19 (1), id. 348. https://doi.org/10.1186/s12935-019-1069-6.

Liu, K.C., Yang, S.L., Roberts, M.F., Elford, B.C. & Phillipson, J.D. (1992). Antimalarial activity of *Artemisia annua* flavonoids from whole plants and cell cultures. *Plant Cell Reports*, 11 (12), 637-640. https://doi.org/10.1007/BF00236389.

Liu, Y.-W., Cheng, Y.-B., Liaw, C.-C., Chen, C.-H., Guh, J.-H., Hwang, T.-L., Tsai, J.-S., Wang, W.-B. & Shen, Y.-C. (2012). Bioactive diterpenes from *Callicarpa longissima. Journal of Natural Products*, 75 (4), 689-693. https://doi.org/10.1021/np200932k.

Lou, Z., Wang, H., Zhu, S., Ma, C. & Wang, Z. (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *Journal of Food Science*, 76 (6), 398-403. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02213.x.

Lu, J., Wang, P., Wang, Q., Wang, Y. & Jiang, M. (2018). Validated 1H and 13C Nuclear Magnetic Resonance methods for the quantitative determination of glycerol in drug injections. *Molecules*, 23 (5), id. 1177. https://doi.org/10.3390/molecules23051177.

Lu, T.-M., Ko, H.-H., Ng, L.-T. & Hsieh, Y.-P. (2015). Free-radical-scavenging, antityrosinase, and cellular melanogenesis inhibitory activities of synthetic isoflavones. *Chemistry & Biodiversity*, 12 (6), 963-979. https://doi.org/10.1002/cbdv.201400208.

Luís, Â., Silva, F., Sousa, S., Duarte, A.P. & Domingues, F. (2014). Antistaphylococcal and biofilm inhibitory activities of gallic, caffeic, and chlorogenic acids. *Biofouling*, 30 (1), 69-79. https://doi.org/10.1080/08927014.2013.845878.

Luo, C., Wang, A., Wang, X., Li, J., Liu, H., Wang, M., Wang, L., Lai, D. & Zhou, L. (2015). A new proline-containing flavonol glycoside from *Caragana leucophloea* Pojark. *Natural Product Research*, 29 (19), 1811-1819. https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1007974.

Lutomski, J., Luan, T.C. & Hoa, T.T. (1992). Polyacetylenes in the *Araliaceae* family. Part IV. *Herba Polonica*, 38 (3), 137-140.

Ma, J., Li, N. & Li, X. (2009). Caffeoylquinic acid derivatives from leaves of *Lonicera japonica*. *China journal of Chinese materia medica*, 34 (18), 2346-2348.

Mabalirajan, U., Dinda, A.K., Sharma, S.K. & Ghosh, B. (2009). Esculetin restores mitochondrial dysfunction and reduces allergic asthma features in experimental murine model. *Journal of Immunology*, 183 (3), 2059-2067. https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900342.

Madan, V., Sanz, M.A. & Carrasco, L. (2005). Requirement of the vesicular system for membrane permeabilization by Sindbis virus. *Virology*, 332 (1), 307-315. https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.11.001.

Maes, D., Syngel, K.V., Debenedetti, S. & De Kimpe, N. (2006). Synthesis of purpurasol, a highly oxygenated coumarin from *Pterocaulon purpurascens. Tetrahedron*, 62 (18), 4426-4429. https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.02.055.

Magwa, M.L., Gundidza, M., Gweru, N. & Humphrey, G. (2006). Chemical composition and biological activities of essential oil from the leaves of *Sesuvium portulacastrum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 103 (1), 85-89. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.07.024.

Mahadeo, K. (2018). Étude métabolomique et valorisation pharmacologique et biotechnologique d'éspèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion et de l'île Maurice. Thèse de doctorat. Université de La Réunion. 412 p.

Mahadeo, K., Grondin, I., Kodja, H., Govinden-Soulange, J., Jhaumeer-Laulloo, S.B., Frédérich, M. & Gauvin-Bialecki, A. (2018). The genus *Psiadia*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 210, 48-68. https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.08.023.

Mahadeo, K., Herbette, G., Grondin, I., Jansen, O., Kodja, H., Soulange, J., Jhaumeer-Laulloo, S., Clerc, P., Gauvin-Bialecki, A. & Frederich, M. (2019). Antiplasmodial diterpenoids from *Psiadia arguta*. *Journal of Natural Products*, 82 (5), 1361-1366. http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00698.

Mahboob, T., Azlan, A.-M., Tan, T.-C., Samudi, C., Sekaran, S.D., Nissapatorn, V. & Wiart, C. (2016). Anti-encystment and amoebicidal activity of *Lonicera japonica* Thunb. and its major constituent chlorogenic acid *in vitro*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9 (9), 866-871. https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.07.008.

Mai, A.-O., Wafaa, H., Ms, A. & Aj, A.-R. (2012). Phytochemical and biological studies of *Solanum schimperianum* Hochst. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 20 (4), 371-379. https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.010.

Makler, M.T., Palmer, C.J. & Ager, A.L. (1998). A review of practical techniques for the diagnosis of malaria. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 92 (4), 419-433. https://doi.org/10.1080/00034989859401.

Mali, R.S., Joshi, P.P., Sandhu, P.K. & Manekar-Tilve, A. (2002). Efficient syntheses of 6-prenylcoumarins and linear pyranocoumarins: Total synthesis of suberosin, toddaculin, *O*-methylapigravin (*O*-methylbrosiperin), *O*-methylbalsamiferone, dihydroxanthyletin, xanthyletin and luvangetin. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 1 (3), 371-376. https://doi.org/10.1039/b109597h.

Maniruddin, A. & Ahmed, A. (1990). Terpenoids from *Conyza stricta*. *Phytochemistry*, 29 (8), 2715-2716. https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)85226-6.

Marie, D., Gurib-Fakim, A., Gray, A. & Waterman, P. (2006). Constituents of *Psiadia terebinthina* A.J. Scott, an endemic *Asteraceae* from Mauritius. *Natural Product Research*, 20 (13), 1169-1175. https://doi.org/10.1080/14786410600898847.

Marques, V. & Farah, A. (2009). Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. *Food Chemistry*, 113 (4), 1370-1376. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.086.

Marshall, L., Ghosh, M.M., Boyce, S.G., MacNeil, S., Freedlander, E. & Kudesia, G. (1995). Effect of glycerol on intracellular virus survival: implications for the clinical use of glycerol-preserved cadaver skin. *Burns*, 21 (5), 356-361. https://doi.org/10.1016/0305-4179(95)00006-2.

Martín-Aragón, S., Benedí, J.M. & Villar, A.M. (1997). Modifications on antioxidant capacity and lipid peroxidation in mice under fraxetin treatment. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 49 (1), 49-52. https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1997.tb06751.x.

Martinez, J., Silván, A.M., Abad, M.J., Bermejo, P., Villar, A. & Söllhuber, M. (1997). Isolation of two flavonoids from *Tanacetum microphyllum* as PMA-induced ear edema inhibitors. *Journal of Natural Products*, 60 (2), 142-144. https://doi.org/10.1021/np960163u.

Martini, N.D., Katerere, D.R.P. & Eloff, J.N. (2004). Biological activity of five antibacterial flavonoids from *Combretum erythrophyllum* (*Combretaceae*). *Journal of Ethnopharmacology*, 93 (2), 207-212. https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.030.

Martino, R., Arcos, M.L.B., Alonso, R., Sülsen, V., Cremaschi, G. & Anesini, C. (2016). Polyphenol-rich fraction from *Larrea divaricata* and its main flavonoid quercetin-3-methyl ether induce apoptosis in lymphoma cells through nitrosative stress. *Phytotherapy research*, 30 (7), 1128-1136. https://doi.org/10.1002/ptr.5615.

Martins, I.L., Charneira, C., Gandin, V., Ferreira da Silva, J.L., Justino, G.C., Telo, J.P., Vieira, A.J.S.C., Marzano, C. & Antunes, A.M.M. (2015). Selenium-containing chrysin and quercetin derivatives: Attractive scaffolds for cancer therapy. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58 (10), 4250-4265. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00230.

Masamoto, Y., Ando, H., Murata, Y., Shimoishi, Y., Tada, M. & Takahata, K. (2003). Mushroom tyrosinase inhibitory activity of esculetin isolated from seeds of *Euphorbia lathyris* L. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67 (3), 631-634. https://doi.org/10.1271/bbb.67.631.

Matkarimov, A.D., Batirov, E.Kh., Malikov, V.M. & Seitmuratov, E. (1982). A study of the coumarins of *Haplophyllum obtusifolium*. The structure of obtusidin and of obtusiprenin. *Chemistry of Natural Compounds*, 18 (2), 157-160. https://doi.org/10.1007/BF00577182.

Maya, M.R., Ramanaiah, I., Venkatakrishna, K., Rameshkumar, K., Veeramanikandan, V., Eyini, M. & Balaji, P. (2019). Investigation of bioactive compounds of *Capsicum frutescence* and *Annona muricata* by Chromatographic Techniques. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9 (4), 485-495. https://doi.org/10.22270/jddt.v9i4.3083.

Mazur, Y. & Meisels, A. (1955). The isolation of 5-hydroxy-3, 6, 7, 3', 4'-pentamethoxyflavone from *Artemisia arborescens*. *The Bulletin of Research Council of Israel,* 5A, 67-69.

Medina, M., Iuga, C. & Alvarez-Idaboy, J. (2014). Antioxidant activity of fraxetin and its regeneration in aqueous media. A density functional theory study. *RSC Advances*, 4, 52920-52932. https://doi.org/10.1039/C4RA08394F.

Mekinić, I.G., Burcul, F., Blazević, I., Skroza, D., Kerum, D. & Katalinić, V. (2013). Antioxidative/acetylcholinesterase inhibitory activity of some *Asteraceae* plants. *Natural Product Communications*, 8 (4), 471-474. http://dx.doi.org/10.1177/1934578X1300800416.

Mesaik, M.A., Azizuddin, Murad, S., Khan, K.M., Tareen, R.B., Ahmed, A., Atta-ur-Rahman & Choudhary, M.I. (2009). Isolation and immunomodulatory properties of a flavonoid, casticin from *Vitex agnus-castus*. *Phytotherapy Research*, 23 (11), 1516-1520. https://doi.org/10.1002/ptr.2492.

Metzger, B.T., Barnes, D.M. & Reed, J.D. (2008). Purple carrot (*Daucus carota* L.) polyacetylenes decrease lipopolysaccharide-induced expression of inflammatory proteins in macrophage and endothelial cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (10), 3554-3560. https://doi.org/10.1021/jf073494t.

Meyer, J.S., Shimazu, K., Ohuchi, T., Okamoto, S., Koto, A., Fukuuchi, Y. & Ericsson, A.D. (1974). Cerebral metabolic effects of glycerol infusion in diabetics with stroke. *Journal of the Neurological Sciences*, 21 (1), 1-22. https://doi.org/10.1016/0022-510X(74)90101-4.

Meyer, N.H. & Zangger, K. (2013). Simplifying proton NMR spectra by instant homonuclear broadband decoupling. *Angewandte Chemie International Edition*, 52 (28), 7143-7146. https://doi.org/10.1002/anie.201300129.

Miao, Z., Zhang, L., Gu, M., Huang, J., Wang, X., Yan, J., Xu, Y. & Wang, L. (2021). Preparation of fraxetin long circulating liposome and its anti-enteritis effect. *AAPS PharmSciTech*, 22 (3), id. 110. https://doi.org/10.1208/s12249-021-01940-z.

Midiwo, J., Owuor, F.A.O., Juma, B.F. & Waterman, P.G. (1997). Diterpenes from the leaf exudate of *Psiadia punctulata*. *Phytochemistry*, 45 (1), 117-120. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00812-6.

Minh, T.N., Xuan, T.D., Tran, H.-D., Van, T.M., Andriana, Y., Khanh, T.D., Quan, N.V. & Ahmad, A. (2019). Isolation and purification of bioactive compounds from the stem bark of *Jatropha podagrica*. *Molecules*, 24 (5), id. 889. https://doi.org/10.3390/molecules24050889.

Minteguiaga, M., Dellacassa, E., Iramain, M.A., Catalán, C.A.N. & Brandán, S.A. (2017). A structural and spectroscopic study on carquejol, a relevant constituent of the medicinal plant *Baccharis trimera* (Less.) DC. (*Asteraceae*). *Journal of Molecular Structure*, 1150, 8-20. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.08.068.

Minto, R.E. & Blacklock, B.J. (2008). Biosynthesis and function of polyacetylenes and allied natural products. *Progress in Lipid Research*, 47 (4), 233-306. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2008.02.002.

Miyazawa, M., Okuno, Y., Nakamura, S. & Kosaka, H. (2000). Antimutagenic activity of flavonoids from pogostemon cablin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (3), 642-647. https://doi.org/10.1021/jf990160y.

Miyazawa, M., Shimamura, H., Bhuva, R.C., Nakamura, S. & Kameoka, H. (1996). Antimutagenic activity of falcarindiol from *Peucedanum praeruptorum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 (11), 3444-3448. https://doi.org/10.1021/jf960025a.

Mo, Z., Li, L., Yu, H., Wu, Y. & Li, H. (2019). Coumarins ameliorate diabetogenic action of dexamethasone *via* Akt activation and AMPK signaling in skeletal muscle. *Journal of Pharmacological Sciences*, 139 (3), 151-157. https://doi.org/10.1016/j.jphs.2019.01.001.

Moghaddam, G., Ebrahimi, S.A., Rahbar-Roshandel, N. & Foroumadi, A. (2012). Antiproliferative activity of flavonoids: influence of the sequential methoxylation state of the flavonoid structure. *Phytotherapy research*, 26 (7), 1023-1028. https://doi.org/10.1002/ptr.3678.

Molina-Jimenez, M., Sanchez-Reus, M. & Benedi, J. (2003). Effect of fraxetin and myricetin on rotenone-induced cytotoxicity in SH-SY5Y cells: comparison with N-acetylcysteine. *European Journal of Pharmacology*, 472 (1-2), 81-87. https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01902-2.

Molina-Jiménez, M.F., Sánchez-Reus, M.I., Andres, D., Cascales, M. & Benedi, J. (2004). Neuroprotective effect of fraxetin and myricetin against rotenone-induced apoptosis in neuroblastoma cells. *Brain Research*, 1009 (1-2), 9-16. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.02.065.

Moon, H.-I., Cho, S.-B., Lee, J.-H., Lee, Y.-C., Lee, J.-H., Lee, C.-H. & Kim, S.-K. (2011). Protective effects of methoxyflavone derivatives from black galingale against glutamate induced neurotoxicity in primary cultured rat cortical cells. *Phytotherapy research*, 25 (8), 1215-1217. https://doi.org/10.1002/ptr.3390.

Morales, G., Sierra, P., Paredes, A., Loyola, L.A. & Borquez, J. (2006). Constituents of *Helenium atacamense* Cabr. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 51 (1), 769-772. https://doi.org/10.4067/S0717-97072006000100002.

Moreno, B., Monache G., D., Monache F., D. & Marini-Bettolo G., B. (1980). Flavones and kauranoid diterpenes from *Eupatorium tinifolium* H.B.K. Researches on plant antitumor principles. *Farmaco Edizione Scientifica*, 35 (6), 457-464.

Moscatelli, V., Hnatyszyn, O., Acevedo, C., Megías, J., Alcaraz, M.J. & Ferraro, G. (2006). Flavonoids from *Artemisia copa* with anti-inflammatory activity. *Planta Medica*, 72 (1), 72-74. https://doi.org/10.1055/s-2005-873177.

Moss, G.P., Baxter, H., Harborne, J.B. & Moss, G.P. (2009). *Phytochemical dictionary: A handbook of bioactive compounds from plants.* 2nd Ed. Taylor & Francis, London. 2871 p. (ISBN: 978-0748406203).

Mossa, J.S., El-domiaty, M., Al-meshal, I., El-Feraly, F., Hufford, C.D., McPhail, D. & McPhail, A. (1992). A flavone and diterpene from *Psiadia arabica*. *Phytochemistry*, 31 (8), 2863-2868. https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83648-I.

Mostafa, A.E., El-Hela, A.A., Mohammad, A.-E.I., Jacob, M., Cutler, S.J. & Ross, S.A. (2014). New secondary metabolites from *Dodonaea viscosa*. *Phytochemistry Letters*, 8 (1), 10-15. https://doi.org/10.1016/j.phytol.2013.12.008.

Mubarak, A., Bondonno, C.P., Liu, A.H., Considine, M.J., Rich, L., Mas, E., Croft, K.D. & Hodgson, J.M. (2012). Acute effects of chlorogenic acid on nitric oxide status, endothelial function, and blood pressure in healthy volunteers: a randomized trial. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (36), 9130-9136. https://doi.org/10.1021/jf303440j.

Mukherjee, A.K., Basu, S., Sarkar, N. & Ghosh, A.C. (2001). Advances in cancer therapy with plant based natural products. *Current Medicinal Chemistry*, 8 (12), 1467-1486. https://doi.org/10.2174/0929867013372094.

Murakami, T., Nakamura, J., Kageura, T., Matsuda, H. & Yoshikawa, M. (2000). Bioactive saponins and glycosides. XVII. Inhibitory effect on gastric emptying and accelerating effect on gastrointestinal transit of tea saponins: structures of assamsaponins F, G, H, I, and J from the seeds and leaves of the tea plant. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 48 (11), 1720-1725. https://doi.org/10.1248/cpb.48.1720.

Murali, R., Srinivasan, S. & Ashokkumar, N. (2013). Antihyperglycemic effect of fraxetin on hepatic key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochimie*, 95 (10), 1848-1854. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2013.06.013.

Murillo, J.I., Encarnación-Dimayuga, R., Malmstrøm, J., Christophersen, C. & Franzblau, S.G. (2003). Antimycobacterial flavones from *Haplopappus sonorensis*. *Fitoterapia*, 74 (3), 226-230. https://doi.org/10.1016/s0367-326x(03)00033-9.

Murphy, K.M., Ma, L.-T., Ding, Y., Schmelz, E.A. & Zerbe, P. (2018). Functional characterization of two class II diterpene synthases indicates additional specialized diterpenoid pathways in maize (*Zea mays*). *Frontiers in Plant Science*, 9, id. 1542. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01542.

Murray, R.D.H. (1991). *Naturally occurring plant coumarins. Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe / Progress in the chemistry of organic natural products*. Springer, Vienna. 351 p. (ISBN: 978-3-7091-9143-9). https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9141-5_2.

Mussard, E., Jousselin, S., Cesaro, A., Legrain, B., Lespessailles, E., Esteve, E., Berteina-Raboin, S. & Toumi, H. (2020). *Andrographis paniculata* and its bioactive diterpenoids protect dermal fibroblasts against inflammation and oxidative stress. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9 (5), id. 342. https://doi.org/10.3390/antiox9050432.

Muthuswamy, S. & Rupasinghe, H.P.V. (2007). Fruit phenolics as natural antimicrobial agents: Selective antimicrobial activity of catechin, chlorogenic acid and phloridzin. *Journal of food, agriculture & environment*, 5 (3), 81-85.

Nam, A.-M. (2014). Contribution de la RMN 13C à l'analyse des huiles végétales, huiles essentielles et résines (*Olea europaea, Pinus halepensis* et *Cedrus atlantica*). Thèse de doctorat. Université Pascal Paoli.

Nasri, R., Bidel, L.P.R., Rugani, N., Perrier, V., Carrière, F., Dubreucq, E. & Jay-Allemand, C. (2019). Inhibition of CpLIP2 lipase hydrolytic activity by four flavonols (galangin, kaempferol, quercetin, myricetin) compared to orlistat and their binding mechanisms studied by quenching of fluorescence. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24 (16), id. 2888. https://doi.org/10.3390/molecules24162888.

Nassar, M.I., Abdel-Razik, A.F., El-Khrisy, E.E.-D.A.M., Dawidar, A.-A.M., Bystrom, A. & Mabry, T.J. (2002). A benzoquinone and flavonoids from *Cyperus alopecuroides*. *Phytochemistry*, 60 (4), 385-387. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00060-2.

Naves, Y.-R. (1959). Etudes sur les matières végétales volatiles CLXI. Présence de lédol dans l'huile essentielle de carquéja. *Helvetica Chimica Acta*, 42 (6), 1996-1998. https://doi.org/10.1002/hlca.19590420630.

Nedel'ko, E.S. & Nikonov, G.K. (1987). Methyl ethers of quercetin from *Artemesia heptapotamica. Chemistry of Natural Compounds*, 23 (2), 254-255. https://doi.org/10.1007/BF00598777.

Nemesio-Gorriz, M., Menezes, R.C., Paetz, C., Hammerbacher, A., Steenackers, M., Schamp, K., Höfte, M., Svatoš, A., Gershenzon, J. & Douglas, G.C. (2020). Canditate metabolites for ash dieback tolerance in *Fraxinus excelsior*. *Journal of Experimental Botany*, 71 (19), 6074-6083. https://doi.org/10.1093/jxb/eraa306.

Newman, D.J. & Cragg, G.M. (2020). Natural products as surces of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83 (3), 770-803. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285.

Nguyen Duc, T., Casareto, B., Ramphul, C., Toyoda, K., Suzuki, T., Fujiwara, T. & Yoshimi, S. (2018). Glycerol enhances growth and antimicrobial properties of selected vibrio bacteria associated with the coral *Montipora digitata*. *Research Journal of Microbiology*, 13 (3), 127-137. https://doi.org/10.3923/jm.2018.127.137.

Nicasio, P., Aguilar-Santamaría, L., Aranda, E., Ortiz, S. & González, M. (2005). Hypoglycemic effect and chlorogenic acid content in two *Cecropia* species. *Phytotherapy Research*, 19 (8), 661-664. https://doi.org/10.1002/ptr.1722.

Nicolas, J.-P. (2012). *Plantes médicinales du Nord de Madagascar: Ethnobotanique antakarana et informations scientifiques.* Jardins du monde, Brasparts, Antsiranana Madagascar. 296 p. (ISBN: 978-2-9543726-0-0).

Nikkilä, E.A. & Ojala, K. (1964). Hyperglyceridemia induced by glycerol feeding. *Life Sciences*, 3 (9), 1021-1023. https://doi.org/10.1016/0024-3205(64)90114-6.

Ninomiya, K., Matsumoto, T., Chaipech, S., Miyake, S., Katsuyama, Y., Tsuboyama, A., Pongpiriyadacha, Y., Hayakawa, T., Muraoka, O. & Morikawa, T. (2016). Simultaneous quantitative analysis of 12 methoxyflavones with melanogenesis inhibitory activity from the rhizomes of *Kaempferia parviflora. Journal of Natural Medicines*, 70 (2), 179-189. https://doi.org/10.1007/s11418-015-0955-z.

Nothias-Scaglia, L.-F., Esposito, M., Costa, J., Paolini, J., Touboul, D. & Litaudon, M. (2015). Les réseaux moléculaires, une approche bio-informatique globale pour interpréter les données de spectrométrie de masse tandem. *Spectra Analyse*, 307, 73-78.

Nöthlings, U., Murphy, S.P., Wilkens, L.R., Henderson, B.E. & Kolonel, L.N. (2007). Flavonols and pancreatic cancer risk: the multiethnic cohort study. *American Journal of Epidemiology*, 166 (8), 924-931. https://doi.org/10.1093/aje/kwm172.

Nourozi, E., Hosseini, B., Maleki, R. & Abdollahi Mandoulakani, B. (2019). Iron oxide nanoparticles: a novel elicitor to enhance anticancer flavonoid production and gene expression in *Dracocephalum kotschyi* hairy-root cultures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99 (14), 6418-6430. https://doi.org/10.1002/jsfa.9921.

Numonov, S., Usmanova, S. & Aisa, H. (2013). A triterpenoid and flavonoids from *Dracocephalum heterophyllum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 48 (6), 1109-1110. https://doi.org/10.1007/s10600-013-0483-6.

Nurul Islam, M., Jung, H.A., Sohn, H.S., Kim, H.M. & Choi, J.S. (2013). Potent *α*-glucosidase and protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors from *Artemisia capillaris. Archives of Pharmacal Research*, 36 (5), 542-552. https://doi.org/10.1007/s12272-013-0069-7.

Oganesyan, G.B. & Mnatsakanyan, V.A. (1992). Flavonoids of *Dracocephalum multicaule*. *Chemistry of Natural Compounds*, 28 (6), 626-626. https://doi.org/10.1007/BF00630447.

Oh, S.-Y., Kim, Y.-H., Kang, M.-K., Lee, E.-J., Kim, D.-Y., Oh, H., Kim, S.-I., Na, W., Kang, I.-J. & Kang, Y.-H. (2021). Aesculetin inhibits airway thickening and mucus overproduction induced by urban particulate matter through blocking inflammation and oxidative stress involving TLR4 and EGFR. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10 (3), id. 494. https://doi.org/10.3390/antiox10030494.

Ohnuma, T., Komatsu, T., Nakayama, S., Nishiyama, T., Ogura, K. & Hiratsuka, A. (2009). Induction of antioxidant and phase 2 drug-metabolizing enzymes by falcarindiol isolated from *Notopterygium incisum* extract, which activates the Nrf2/ARE pathway, leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 488 (1), 34-41. https://doi.org/10.1016/j.abb.2009.06.006.

Ohtani, I., Kusumi, T., Kashman, Y. & Kakisawa, H. (1991). High-field FT NMR application of Mosher's method. The absolute configurations of marine terpenoids. *Journal of the American Chemical Society*, 113 (11), 4092-4096. https://doi.org/10.1021/ja00011a006.

Okoko, T. & Oruambo, I.F. (2009). Inhibitory activity of quercetin and its metabolite on lipopolysaccharide-induced activation of macrophage U937 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 47 (4), 809-812. https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.013.

Okuyama, E., Okamoto, Y., Yamazaki, M. & Satake, M. (1996). Pharmacologically active components of a Peruvian medicinal plant, huanarpo (*Jatropha cilliata*). *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 44 (2), 333-336. https://doi.org/10.1248/cpb.44.333.

Olivon, F., Elie, N., Grelier, G., Roussi, F., Litaudon, M. & Touboul, D. (2018). MetGem software for the generation of molecular networks based on the t-SNE algorithm. *Analytical Chemistry*, 90 (23), 13900-13908. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b03099.

Olivon, F., Grelier, G., Roussi, F., Litaudon, M. & Touboul, D. (2017a). MZmine 2 data-preprocessing to enhance molecular networking reliability. *Analytical Chemistry*, 89 (15), 7836-7840. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b01563.

Olivon, F., Roussi, F., Litaudon, M. & Touboul, D. (2017b). Optimized experimental workflow for tandem mass spectrometry molecular networking in metabolomics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409 (24), 5767-5778. https://doi.org/10.1007/s00216-017-0523-3.

Olsson, K. & Svensson, R. (1996). The influence of polyacetylenes on the susceptibility of carrots to storage diseases. *Journal of Phytopathology*, 144 (9-10), 441-447. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1996.tb00321.x.

OMS (2020). *World malaria report 2020: 20 years of global progress and challenges.* Annual report. World Health Organization Press, Geneve, Switzerland. 299 p. (ISBN: 978-92-4-001579-1).

Ong, K.W., Hsu, A. & Tan, B.K.H. (2013). Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. *Biochemical Pharmacology*, 85 (9), 1341-1351. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.02.008.

Ono, M., Yanaka, T., Yamamoto, M., Ito, Y. & Nohara, T. (2002). New diterpenes and norditerpenes from the fruits of *Vitex rotundifolia*. *Journal of Natural Products*, 65 (4), 537-541. https://doi.org/10.1021/np0105331.

Otasek, D., Morris, J.H., Bouças, J., Pico, A.R. & Demchak, B. (2019). Cytoscape automation: empowering workflow-based network analysis. *Genome Biology*, 20 (1), id. 185. https://doi.org/10.1186/s13059-019-1758-4.

Ottavioli, J. (2009). Contribution de la RMN 13C à l'analyse d'huiles essentielles et d'oléorésines : caractérisation de genévriers et du pin maritime de Corse. Thèse de doctorat. Université Pascal Paoli. 237 p.

Pagano, I., Piccinelli, A.L., Celano, R., Campone, L., Gazzerro, P., De Falco, E. & Rastrelli, L. (2016). Chemical profile and cellular antioxidant activity of artichoke by-products. *Food & Function*, 7 (12), 4841-4850. https://doi.org/10.1039/c6fo01443g.

Pan, B., Fang, S., Zhang, J., Pan, Y., Liu, H., Wang, Y., Li, M. & Liu, L. (2020). Chinese herbal compounds against SARS-CoV-2: Puerarin and quercetin impair the binding of viral S-protein to ACE2 receptor. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 3518-3527. https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.11.010.

Panizzi, L. & Scarpati, M.L. (1954). Constitution of cynarine, the active principle of the artichoke. *Nature*, 174, 1062-1963. https://doi.org/10.1038/1741062a0.

Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Schmeda-Hirschmann, G., Burillo, J. & Codina, C. (2004). Bioguided isolation and identification of the nonvolatile antioxidant compounds from fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (7), 1890-1897. https://doi.org/10.1021/jf030717g.

Parichatikanond, W., Suthisisang, C., Dhepakson, P. & Herunsalee, A. (2010). Study of anti-inflammatory activities of the pure compounds from *Andrographis paniculata* (burm.f.) Nees and their effects on gene expression. *International Immunopharmacology*, 10 (11), 1361-1373. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.08.002.

Park, C.H., Kim, K.H., Lee, I.K., Lee, S.Y., Choi, S.U., Lee, J.H. & Lee, K.R. (2011). Phenolic constituents of *Acorus gramineus*. *Archives of Pharmacal Research*, 34 (8), 1289-1296. https://doi.org/10.1007/s12272-011-0808-6.

Park, Y., Sung, J., Yang, J., Ham, H., Kim, Y., Jeong, H.-S. & Lee, J. (2017). Inhibitory effect of esculetin on free-fatty-acid-induced lipid accumulation in human HepG2 cells through activation of AMP-activated protein kinase. *Food Science and Biotechnology*, 26 (1), 263-269. https://doi.org/10.1007/s10068-017-0035-0.

Patti, A.M., Al-Rasadi, K., Katsiki, N., Banerjee, Y., Nikolic, D., Vanella, L., Giglio, R.V., Giannone, V.A., Montalto, G. & Rizzo, M. (2015). Effect of a natural supplement containing *Curcuma longa*, guggul, and chlorogenic acid in patients with metabolic syndrome. *Angiology*, 66 (9), 856-861. https://doi.org/10.1177/0003319714568792.

Paula, V.F., Cruz, M.P. & Barbosa, L.C. de A. (2006). Chemical constituents of *Bombacopsis glabra* (*bombacaceae*). *Química Nova*, 29 (2), 213-215. https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200007.

Paya, M., Goodwin, P.A., De Las Heras, B. & Hoult, J.R. (1994). Superoxide scavenging activity in leukocytes and absence of cellular toxicity of a series of coumarins. *Biochemical Pharmacology*, 48 (3), 445-451. https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90273-9.

Pekkarinen, S.S., Heinonen, I.M. & Hopia, A.I. (1999). Flavonoids quercetin, myricetin, kaemferol and (+)-catechin as antioxidants in methyl linoleate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79 (4), 499-506. http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1097-0010(19990315)79:43.0.co;2-u.

Perkin, A.G. & Wilkinson, E.J. (1902). LXII.-Colouring matter from the flowers of *Delphinium Consolida*. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 81, 585-591. https://doi.org/10.1039/CT9028100585.

Pernet, R. & Meyer, G. (1957). *Pharmacopées de Madagascar.* Institut de Recherche Scientifique Tananarive-Tsimbazaza, Madagascar. 86 p.

Pernet, R. (1964). Ethno-botanique et plantes médicinales à Madagascar: bilan d'un siècle d'études. *Bulletin de l'Académie Malgache,* 42 (1), 31-33.

Peters, R.J. (2010). Two rings in them all: The labdane-related diterpenoids. *Natural Product Reports*, 27 (11), 1521-1530. https://doi.org/10.1039/C0NP00019A.

Pettit, G.R., Meng, Y., Herald, D.L., Stevens, A.M., Pettit, R.K. & Doubek, D.L. (2005). Antineoplastic agents 540. The indian *Gynandropsis gynandra* (*Capparidaceae*). *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 15 (2), 59-68. https://doi.org/10.3727/096504005775082039.

Pferschy-Wenzig, E.-M., Getzinger, V., Kunert, O., Woelkart, K., Zahrl, J. & Bauer, R. (2009). Determination of falcarinol in carrot (*Daucus carota* L.) genotypes using liquid chromatography/mass spectrometry. *Food Chemistry*, 114 (3), 1083-1090. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.042.

Phan, M.G., Do, T.V.H. & Nguyen, Q.B. (2020). Methylated flavonols from *Amomum koenigii* J.F.Gmel. and their antimicrobial and antioxidant activities. *Biochemistry Research International*, 2020 (19), id. 4812312. https://doi.org/10.1155/2020/4812312.

Phang, J.M., Poore, C.M., Lopaczynska, J. & Yeh, G.C. (1993). Flavonol-stimulated efflux of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene in multidrug-resistant breast cancer cells. *Cancer Research*, 53 (24), 5977-5981.

Phromnoi, K., Yodkeeree, S., Anuchapreeda, S. & Limtrakul, P. (2009). Inhibition of MMP-3 activity and invasion of the MDA-MB-231 human invasive breast carcinoma cell line by bioflavonoids. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30 (8), 1169-1176. https://doi.org/10.1038/aps.2009.107.

Pinheiro, P. & Justino, G. (2012). *Phytochemicals: A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health - Structural analysis of flavonoids and related compounds - A review of spectroscopic applications* - IntechOpen, London. 550 p. (ISBN: 978-9535102960). https://doi.org/10.5772/29152.

Pollini, L., Tringaniello, C., Ianni, F., Blasi, F., Manes, J. & Cossignani, L. (2020). Impact of ultrasound extraction parameters on the antioxidant properties of *Moringa Oleifera* leaves. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9 (4), id. 277. https://doi.org/10.3390/antiox9040277.

Potapovich, M.V., Metelitsa, D.I. & Shadyro, O.I. (2012). Antioxidant activity of hydroxy derivatives of coumarin. *Prikladnaia Biokhimiia I Mikrobiologiia*, 48 (3), 282-288. http://dx.doi.org/10.1134/S0003683812030106.

Prajapati, S., Tomar, B., Srivastava, A., Narkhede, Y.B., Gaikwad, A.N., Lahiri, A. & Mulay, S.R. (2021). 6,7-Dihydroxycoumarin ameliorates crystal-induced necroptosis during crystal nephropathies by inhibiting MLKL phosphorylation. *Life Sciences*, 271 (9), id. 119193. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119193.

Prouillet, C., Mazière, J.-C., Mazière, C., Wattel, A., Brazier, M. & Kamel, S. (2004). Stimulatory effect of naturally occurring flavonols quercetin and kaempferol on alkaline phosphatase activity in MG-63 human osteoblasts through ERK and estrogen receptor pathway. *Biochemical Pharmacology*, 67 (7), 1307-1313. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2003.11.009.

Puripattanavong, J., Weber, S., Brecht, V. & Frahm, A.W. (2000). Phytochemical investigation of *Aglaia andamanica*. *Planta Medica*, 66 (8), 740-745. https://doi.org/10.1055/s-2000-9901.

Purup, S., Larsen, E. & Christensen, L.P. (2009). Differential effects of falcarinol and related aliphatic C(17)-polyacetylenes on intestinal cell proliferation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (18), 8290-8296. https://doi.org/10.1021/jf901503a.

Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A. & Oksman-Caldentey, K.M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, 90 (4), 494-507. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01271.x.

Qiao, Z., Cheng, Y., Liu, S., Ma, Z., Li, S. & Zhang, W. (2019). Casticin inhibits esophageal cancer cell proliferation and promotes apoptosis by regulating mitochondrial apoptotic and JNK signaling pathways. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 392 (2), 177-187. https://doi.org/10.1007/s00210-018-1574-5.

Rafidison, V., Ratsimandresy, F., Rakotondrafara, A., Rakotondrajaona, R., Rasamison, V., Rakotoarisoa, F. & Rakotonandrasana, S.R. (2019). Synthèse et analyse de données sur les inventaires de plantes médicinales de Madagascar. *Ethnobotany Research and Applications*, 18 (40), 1-19. https://doi.org/10.32859/era.18.40.1-19.

Ragasa, C.Y., Lapina, M.C., Lee, J.J., Mandia, E.H. & Rideout, J.A. (2008). Secondary metabolites from *Tectona philippinensis. Natural Product Research*, 22 (9), 820-824. https://doi.org/10.1080/14786410701640551.

Raheem, D.J., Tawfike, A.F., Abdelmohsen, U.R., Edrada-Ebel, R. & Fitzsimmons-Thoss, V. (2019). Application of metabolomics and molecular networking in investigating the chemical profile and antitrypanosomal activity of British bluebells (*Hyacinthoides non-scripta*). *Scientific Reports*, 9 (1), 2547. https://doi.org/10.1038/s41598-019-38940-w.

Rakotoarison, R.L. (2008). Activites antibacteriennes de deux espèces de *Psiadia* (*Asteraceae*). Mémoire de DEA. Université d'Antananarivo, Madagascar. 102 p.

Rakotomalala, H. (2014). Étude chimique et biochimique d'une plante endémique de Madagascar : *Psiadia altissima* var. *altissima* Benth. et Hook. ou Dingadingana. Mémoire de DEA. Université d'Antananarivo, Madagascar. 186 p.

Rakotomalala, N.H., Razafimandefitra, A., Rabehaja, D. & Rasolondramanitra, J. (2016). Étude de la composition chimique des huiles essentielles de *Psiadia altissima* (*Asteraceae*), plante médicinale endémique de Madagascar. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie,* 12 (3), 1-11.

Rakotonandrasana, S. (2013). Les plantes médicinales de l'aire protégée de Zahamena (Madagascar) et de ses environs: richesse floristique et endémicité. *Scripta Botanica Belgica,* 50, 356-362.

Rakotondrafara, A., Rakotondrajaona, R., Rakotoarisoa, M., Ratsimbason, M., Rasamison, V. & Rakotonandrasana, S.R. (2018). Ethnobotany of medicinal plants used by the Zafimaniry clan in Madagascar. *The Journal of Phytopharmacology*, 7(6), 483-494. http://dx.doi.org/10.31254/phyto.2018.7606.

Ramanoelina, A.R.P., Terrom, G.P., Bianchini, J.P. & Coulanges, P. (1987). Contribution à l'étude de l'action antibactérienne de quelques huiles essentielles extraites de plantes malgaches. *Archive de l'Institut Pasteur de Madagascar,* 56 (1), 261-271.

Ramanoelina, P.A.R., Rasoarahona, J.R.E., Masotti, V., Viano, J., Gaydou, E.M. & Bianchini, J.-P. (1994). Chemical composition of the leaf oil of *Psiadia altissima* (*Compositeae*). *Journal of Essential Oil Research*, 6 (6), 565-570. https://doi.org/10.1080/10412905.1994.9699347.

Randriamahefa, M. & Rakotozafy, A. (1979). *Tari-dalana ahafantarana ny raokandro Malagasy*. 1st Ed. Institut de Recherche Scientifique de Madagascar, 405 p.

Randrianjohany, E. (1996). La diversité des plantes aromatiques de Madagascar - Plantes aromatiques et médicinales à Madagascar. *Compte rendu de séminaire CIRAD-CITE-GRET*, 7-16.

Razafindraibe, M., Kuhlman, A.R., Rabarison, H., Rakotoarimanana, V., Rajeriarison, C., Rakotoarivelo, N., Randrianarivony, T., Rakotoarivony, F., Ludovic, R., Randrianasolo, A. & Bussmann, R.W. (2013). Medicinal plants used by women from Agnalazaha littoral forest (Southeastern Madagascar). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9 (1), id. 73. https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-73.

Razafindrambao, R. (1971). *Contribution à l'inventaire des plantes médicinales des hauts plateaux de Madagascar.* Debray, Maurice ; ORSTOM, Paris France. 130 p.

Razafintsalama, V. (2018). Contribution à la valorisation des plantes médicinales de Madagascar. Mémoire de HDR. Université d'Antananarivo, Madagascar. 80 p.

Rebernik, M., Snoj, T., Klemenčič, M. & Novinec, M. (2019). Interplay between tetrameric structure, enzymatic activity and allosteric regulation of human dipeptidyl-peptidase I. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 675 (2), id. 108121. https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.108121.

Reddy, G.B.S., Melkhani, A.B., Kalyani, G.A., Rao, J.V., Shirwaikar, A., Kotian, M., Ramani, R., Aithal, K.S., Udupa, A.L., Bhat, G. & Srinivasan, K.K. (1991). Chemical and pharmacological investigations of *Limnophila conferta* and *Limnophila heterophylla. International Journal of Pharmacognosy*, 29 (2), 145-153. https://doi.org/10.3109/13880209109082868.

Reddy, L., Odhav, B. & Bhoola, K.D. (2003). Natural products for cancer prevention: a global perspective. *Pharmacology & Therapeutics*, 99 (1), 1-13. https://doi.org/10.1016/S0163-7258(03)00042-1.

Rehman, S., Ashfaq, U.A., Ijaz, B. & Riazuddin, S. (2018). Anti-hepatitis C virus activity and synergistic effect of *Nymphaea alba* extracts and bioactive constituents in liver infected cells. *Microbial Pathogenesis*, 121, 198-209. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.023.

Ren, S., Xing, Y., Wang, C., Jiang, F., Liu, G., Li, Z., Jiang, T., Zhu, Y. & Piao, D. (2020). Fraxetin inhibits the growth of colon adenocarcinoma cells *via* the Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 signalling pathway. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 125 (3), id. 105777. https://doi.org/10.1016/j.biocel.2020.105777.

Repčák, M., Švehlíková, V., Imrich, J. & Pihlaja, K. (1999). Jaceidin and chrysosplenetin chemotypes of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27 (7), 727-732. https://doi.org/10.1016/S0305-1978(98)00124-0.

Resende, F.A., de Oliveira, A.P.S., de Camargo, M.S., Vilegas, W. & Varanda, E.A. (2013). Evaluation of estrogenic potential of flavonoids using a recombinant yeast strain and MCF7/BUS cell proliferation assay. *PloS One*, 8 (10), id. 74881. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074881.

Resende, F.A., Vilegas, W., Dos Santos, L.C. & Varanda, E.A. (2012). Mutagenicity of flavonoids assayed by bacterial reverse mutation (Ames) test. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17 (5), 5255-5268. https://doi.org/10.3390/molecules17055255.

Ribeiro, A., Piló-Veloso, D., Romanha, A.J. & Zani, C.L. (1997). Trypanocidal flavonoids from *Trixis vauthieri*. *Journal of Natural Products*, 60 (8), 836-838. https://doi.org/10.1021/np970196p.

Rivero-Cruz, I., Acevedo, L., Guerrero, J.A., Martínez, S., Bye, R., Pereda-Miranda, R., Franzblau, S., Timmermann, B.N. & Mata, R. (2005). Antimycobacterial agents from selected Mexican medicinal plants. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57 (9), 1117-1126. https://doi.org/10.1211/jpp.57.9.0007.

Roberts, M.F., Timmermann, B.N. & Mabry, T.J. (1980). 6-Methoxyflavonols from *Brickellia veronicaefolia* (*compositae*). *Phytochemistry*, 19 (1), 127-129. https://doi.org/10.1016/0031-9422(80)85028-X.

Robin, V. (1999). Criblage antiviral de sept plantes endémiques de l'île de La Réunion. Étude de l'activite antipoliovirus de *Psiadia dentata* (cass.) DC, *Asteraceae* : isolement et identification des composés actifs (flavonoïdes) recherche, par biologie moleculaire, du mécanisme de l'action inhibitrice.Thèse de doctorat. Université de Rennes 1.

Robin, V., Boustie, J., Amoros, M. & Girre, L. (1998). *In vitro* antiviral activity of seven *Psiadia* species, *Asteraceae*: isolation of two antipoliovirus flavonoids from *Psiadia dentata*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 4 (1), 61-64. http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-7158.1998.tb00319.x.

Robin, V., Irurzun, A., Amoros, M., Boustie, J. & Carrasco, L. (2001). Antipoliovirus flavonoids from *Psiadia Dentata*. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 12 (5), 283-291. https://doi.org/10.1177/095632020101200503.

Robiquet, P.-J. & Boutron, M. (1837). Ueber den Kaffee. *Annalen der Pharmacie*, 23 (1), 93-95. https://doi.org/10.1002/jlac.18370230111.

Rochleder, F. & Schwarz, R. (1853). Ueber einige Bitterstoffe. *Journal für Praktische Chemie*, 59 (1), 193-207. https://doi.org/10.1002/prac.18530590123.

Rodriguez, E. (1977). Ecogeographic distribution of secondary constituents in *Parthenium* (*compositae*). *Biochemical Systematics and Ecology*, 5 (3), 207-218. https://doi.org/10.1016/0305-1978(77)90006-0.

Roheem, F.O., Mat Soad, S.Z., Ahmed, Q.U., Ali Shah, S.A., Latip, J. & Zakaria, Z.A. (2019). Evaluation of the enzyme inhibitory and antioxidant activities of *Entada spiralis* stem bark and isolation of the active constituents. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24 (6), id. 1006. https://doi.org/10.3390/molecules24061006.

Rose, A.F., Jones, K.C., Haddon, W.F. & Dreyer, D.L. (1981). Grindelane diterpenoid acids from *Grindelia humilis*: Feeding deterrency of diterpene acids towards aphids. *Phytochemistry*, 20 (9), 2249-2253. https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)80123-9.

Rossi, F., Jullian, V., Pawlowiez, R., Kumar-Roiné, S., Haddad, M., Darius, H.T., Gaertner-Mazouni, N., Chinain, M. & Laurent, D. (2012). Protective effect of *Heliotropium foertherianum* (*Boraginaceae*) folk remedy and its active compound, rosmarinic acid, against a Pacific ciguatoxin. *Journal of Ethnopharmacology*, 143 (1), 33-40. https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.05.045.

Rossi, M.H., Yoshida, M. & Soares Maia, J.G. (1997). Neolignans, styrylpyrones and flavonoids from an *Aniba* species. *Phytochemistry*, 45 (6), 1263-1269. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00075-7.

Royal Botanic Gardens. (2017). *State of the world's plants, 2017*. Royal Botanic Garden, Kew London. 100 p. (ISBN: 978-1-84246-647-6).

Ruan, S.-N., Lu, Y. & Chen, D.-F. (2013). Anti-complementary constituents of *Pogostemon cablin*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 38 (13), 2129-2135.

Rubio, V., García-Pérez, A.I., Tejedor, M.C., Herráez, A. & Diez, J.C. (2017). Esculetin neutralises cytotoxicity of t-BHP but not of H2O2 on human leukaemia NB4 cells. *BioMed Research International*, 2017 (5), 1-9. https://doi.org/10.1155/2017/9491045.

Ruttkies, C., Schymanski, E.L., Wolf, S., Hollender, J. & Neumann, S. (2016). MetFrag relaunched: incorporating strategies beyond *in silico* fragmentation. *Journal of Cheminformatics*, 8 (3), 1-19. https://doi.org/10.1186/s13321-016-0115-9.

Ryu, B., Kim, H.M., Lee, J.S., Lee, C.K., Sezirahiga, J., Woo, J.-H., Choi, J.-H. & Jang, D.S. (2016). New flavonol glucuronides from the flower buds of *Syzygium aromaticum* (Clove). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (15), 3048-3053. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00337.

Rzodkiewicz, P., Gąsińska, E., Gajewski, M., Bujalska-Zadrożny, M., Szukiewicz, D. & Maśliński, S. (2016). Esculetin reduces leukotriene B4 level in plasma of rats with adjuvant-induced arthritis. *Reumatologia*, 54 (4), 161-164. https://doi.org/10.5114/reum.2016.62469.

Sadhu, S.K., Okuyama, E., Fujimoto, H., Ishibashi, M. & Yesilada, E. (2006). Prostaglandin inhibitory and antioxidant components of *Cistus laurifolius*, a Turkish medicinal plant. *Journal of Ethnopharmacology*, 108 (3), 371-378. https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.05.024.

Saegeman, V.S.M., Ectors, N.L., Lismont, D., Verduyckt, B. & Verhaegen, J. (2008). Short- and long-term bacterial inhibiting effect of high concentrations of glycerol used in the preservation of skin allografts. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*, 34 (2), 205-211. https://doi.org/10.1016/j.burns.2007.02.009.

Saeidnia, S., Gohari, A.R., Ito, M., Kiuchi, F. & Honda, G. (2005). Bioactive constituents from *Dracocephalum subcapitatum* (O. Kuntze) Lipsky. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 60 (1-2), 22-24. https://doi.org/10.1515/znc-2005-1-204.

Sae-wong, C., Tansakul, P. & Tewtrakul, S. (2009). Anti-inflammatory mechanism of *Kaempferia parviflora* in murine macrophage cells (RAW 264.7) and in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 124 (3), 576-580. https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.04.059.

Saito, N., Komatsu, T., Suematsu, T., Miyamoto, T. & Ihara, T. (2020). Unique usage of a classical selective homodecoupling sequence for high-resolution quantitative 1H NMR. *Analytical Chemistry*, 92 (20), 13652-13655. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c03154.

Salimi, M., Ardestaniyan, M.H., Mostafapour Kandelous, H., Saeidnia, S., Gohari, A.R., Amanzadeh, A., Sanati, H., Sepahdar, Z., Ghorbani, S. & Salimi, M. (2014). Anti-proliferative and apoptotic activities of constituents of chloroform extract of *Juglans regia* leaves. *Cell Proliferation*, 47 (2), 172-179. https://doi.org/10.1111/cpr.12090.

Samyn, J.-M. (1999). *Plantes utiles de hautes terres de Madagascar*. 1st Ed. Librairie d'Antananarivo Madagascar. 80 p.

Sánchez, M.P. (2006). Polysaccharides ayant une activité immunomodulatrice chez les champignons indigènes du Québec. Thèse de doctorat. Université de Laval, Quebec.

Sandoval, I.V. & Carrasco, L. (1997). Poliovirus infection and expression of the poliovirus protein 2B provoke the disassembly of the golgi complex, the organelle target for the antipoliovirus drug Ro-090179. *Journal of Virology*, 71 (6), 4679-4693. https://doi.org/10.1128/JVI.71.6.4679-4693.1997.

Sangaiah, R. & Rao, G.S.K. (1981). Revision of the structure assigned to a monoterpene isolated from *Piqueria trinervia. Tetrahedro Letters*. 20 (19), 1843-1844. http://dx.doi.org/10.1016/s0040-4039(01)90456-3.

Santana-Gálvez, J., Cisneros-Zevallos, L. & Jacobo-Velázquez, D.A. (2017). Chlorogenic acid: Recent advances on its dual role as a food additive and a nutraceutical against metabolic syndrome. *Molecules*, 22 (3), id. 358. https://doi.org/10.3390/molecules22030358.

Santos, E.O.L., Kabeya, L.M., Figueiredo-Rinhel, A.S.G., Marchi, L.F., Andrade, M.F., Piatesi, F., Paoliello-Paschoalato, A.B., Azzolini, A.E.C.S. & Lucisano-Valim, Y.M. (2014). Flavonols modulate the effector functions of healthy individuals' immune complex-stimulated neutrophils: a therapeutic perspective for rheumatoid arthritis. *International Immunopharmacology*, 21 (1), 102-111. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.04.014.

Sari, A. & Keçeci, Z. (2019). Phytochemical ivestigations on chemical constituents of *Taraxacum bessarabicum* (Hornem.) Hand.-Mazz. subsp. *bessarabicum* (Hornem.) Hand.-Mazz. *Iranian journal of pharmaceutical research*, 18 (1), 400-405.

Sasaki, K., Alamed, J., Weiss, J., Villeneuve, P., López Giraldo, L.J., Lecomte, J., Figueroa-Espinoza, M.-C. & Decker, E.A. (2010). Relationship between the physical properties of chlorogenic acid esters and their ability to inhibit lipid oxidation in oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 118 (3), 830-835. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.070.

Sawada, Y., Nakabayashi, R., Yamada, Y., Suzuki, M., Sato, M., Sakata, A., Akiyama, K., Sakurai, T., Matsuda, F., Aoki, T., Hirai, M.Y. & Saito, K. (2012). RIKEN tandem mass spectral database (ReSpect) for phytochemicals: A plant-specific MS/MS-based data resource and database. *Phytochemistry*, 82, 38-45. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.07.007.

Schetter, A.J., Heegaard, N.H.H. & Harris, C.C. (2010). Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways. *Carcinogenesis*, 31 (1), 37-49. https://doi.org/10.1093/carcin/bgp272.

Schimmer, O. & Eschelbach, H. (1997). Esculetin in *Alchemilla speciosa*: identification and antimutagenic properties. *Die Pharmazie*, 52 (6), 476-478.

Schinkovitz, A., Stavri, M., Gibbons, S. & Bucar, F. (2008). Antimycobacterial polyacetylenes from *Levisticum officinale*. *Phytotherapy Research*, 22 (5), 681-684. https://doi.org/10.1002/ptr.2408.

Schmiech, L., Alayrac, C., Witulski, B. & Hofmann, T. (2009). Structure determination of bisacetylenic oxylipins in carrots (*Daucus carota* L.) and enantioselective synthesis of falcarindiol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (22), 11030-11040. https://doi.org/10.1021/jf9031475.

Schwingel, L.C., Schwingel, G.O., Storch, N., Barreto, F. & Bassani, V.L. (2014). 3-*O*-methylquercetin from organic *Nicotiana tabacum* L. trichomes: Influence of the variety, cultivation and extraction parameters. *Industrial Crops and Products*, 55, 56-62. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.054.

Segaloff, A., Carriere, B.T. & Gabbard, R.B. (1979). The *in vivo* metabolism of 7*β*,17-dimethyltestosterone-6,7-3H. *Steroids*, 34 (7), 835-847. https://doi.org/10.1016/0039-128X(79)90096-5.

Selloum, L., Reichl, S., Müller, M., Sebihi, L. & Arnhold, J. (2001). Effects of flavonols on the generation of superoxide anion radicals by xanthine oxidase and stimulated neutrophils. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 395 (1), 49-56. https://doi.org/10.1006/abbi.2001.2562.

Setzer, W., Setzer, M., Moriarity, D., Bates, R. & Haber, W. (1999). Biological activity of the essential oil of *Myrcianthes* sp. nov. "Black fruit" from Monteverde, Costa Rica. *Planta Medica*, 65 (5), 468-469. https://doi.org/10.1055/s-2006-960816.

Sezer, E.D., Oktay, L.M., Karadadaş, E., Memmedov, H., Selvi Gunel, N. & Sözmen, E. (2019). Assessing anticancer potential of blueberry flavonoids, quercetin, kaempferol, and gentisic acid, through oxidative stress and apoptosis parameters on HCT-116 cells. *Journal of Medicinal Food*, 22 (11), 1118-1126. https://doi.org/10.1089/jmf.2019.0098.

Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N.S., Wang, J.T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B. & Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, 13 (11), 2498-2504. https://doi.org/10.1101/gr.1239303.

Shen, J.-K., Du, H., Yang, M., Wang, Y.-G. & Jin, J. (2009). Casticin induces leukemic cell death through apoptosis and mitotic catastrophe. *Annals of Hematology*, 88 (8), 743-752. https://doi.org/10.1007/s00277-008-0677-3.

Sherman, K.E., Sickler, J., Aranda-Michel, J., Weber, F.L., Martin, S., Whiting, J. & Hanto, D. (1999). Rimantadine for treatment of hepatitis C infection in liver transplant recipients. *Liver Transplantation and Surgery*, 5 (1), 25-28. https://doi.org/10.1002/lt.500050103.

Shi, Z.-N., Wu, H.-R., Pang, X.-Y., Chen, J.-R. & Zhu, Y. (2017). Secondary metabolites from *Ajania salicifolia* and their chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 70, 162-167. https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.11.012.

Shin, H.S., Satsu, H., Bae, M.-J., Totsuka, M. & Shimizu, M. (2017). Catechol groups enable reactive oxygen species scavenging-mediated suppression of PKD-NFkappaB-IL-8 signaling pathway by chlorogenic and caffeic acids in human intestinal cells. *Nutrients*, 9 (2), id. 165. https://doi.org/10.3390/nu9020165.

Sichaem, J., Nguyen, H.-H., Nguyen, V.-H., Mac, D.-H., Mai, D.-T., Nguyen, H.-C., Tran, T.-N.-M., Pham, N.-K.-T., Nguyen, H.-H., Niamnont, N. & Duong, T.-H. (2019). A new labdane-type diterpenoid from the leaves of *Vitex negundo* L. *Natural Product Research*, 35 (2), 1-6. https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1672687.

Silva, E.L.E., Lobo, J.F.R., Vinther, J.M., Borges, R.M. & Staerk, D. (2016). High-resolution *α*-glucosidase inhibition profiling combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR for identification of antidiabetic compounds in *Eremanthus crotonoides* (*Asteraceae*). *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21 (6), id. 782. https://doi.org/10.3390/molecules21060782.

Silva, F.L., Fischer, D.C.H., Fechine Tavares, J., Sobral Silva, M., Filgueiras de Athayde-Filho, P. & Barbosa-Filho, J.M. (2011). Compilation of secondary metabolites from *Bidens pilosa* L. *Molecules*, 16 (2), 1070-1102. https://doi.org/10.3390/molecules16021070.

Simons, C.C.J.M., Hughes, L.A.E., Arts, I.C.W., Goldbohm, R.A., van den Brandt, P.A. & Weijenberg, M.P. (2009). Dietary flavonol, flavone and catechin intake and risk of colorectal cancer in the Netherlands cohort study. *International Journal of Cancer*, 125 (12), 2945-2952. https://doi.org/10.1002/ijc.24645.

Singh, L., Kaur, A., Garg, S., Singh, A.P. & Bhatti, R. (2020a). Protective effect of esculetin, natural coumarin in mice model of fibromyalgia: Targeting pro-inflammatory cytokines and MAO-A. *Neurochemical Research*, 45 (10), 2364-2374. https://doi.org/10.1007/s11064-020-03095-y.

Singh, R., Tiwari, P., Sharma, B., Guerrero-Perilla, C. & Coy-Barrera, E. (2020b). *Analysis of polyacetylenes - Recent Advances in Natural Products Analysis.* Elsevier Science Publishing Co Inc., USA. 878 p. (ISBN: 978-0128164556). https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00023-8.

Sirait, M., Rimpler, H. & Hänsel, R. (1962). Flavonoide aus *Vitex agnus castus* L. *Experientia*, 18 (2), 72-72. https://doi.org/10.1007/BF02138262.

Siriwong, S., Teethaisong, Y., Thumanu, K., Dunkhunthod, B. & Eumkeb, G. (2016). The synergy and mode of action of quercetin plus amoxicillin against amoxicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *BMC pharmacology & toxicology*, 17 (1), 39-53. https://doi.org/10.1186/s40360-016-0083-8.

Skoula, M., Grayer, R.J., Kite, G.C. & Veitch, N.C. (2008). Exudate flavones and flavanones in *Origanum* species and their interspecific variation. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36 (8), 646-654. https://doi.org/10.1016/j.bse.2008.05.003.

Slanina, J., Paulová, H., Humpa, O., Bochorakova, H. & Taborska, E. (1999). 1,5-Dicaffeoylquinic acid, an antioxidant component of *Cynara cardunculus* leaves. *Scripta Medica*, 72 (1), 9-18.

Smadja, J. & Marodon, C. (2016). *Le grand livre des plantes médicinales de l'île de La Réunion inscrites à la pharmacopée française. Tome 1*. Orphie, Saint-Denis, La Réunion. 231 p. (ISBN: 979-10-298-0092-4).

Smith, D.M. (1980). Flavonoid analysis of the *Pityrogramma triangularis* Complex. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 107 (2), 134-145. https://doi.org/10.2307/2484218.

Soga, S., Ota, N. & Shimotoyodome, A. (2013). Stimulation of postprandial fat utilization in healthy humans by daily consumption of chlorogenic acids. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77 (8), 1633-1636. https://doi.org/10.1271/bbb.130147.

Şöhretoğlu, D., Barut, B., Sari, S., Özel, A. & Arroo, R. (2020). *In vitro* and *in silico* assessment of DNA interaction, topoisomerase I and II inhibition properties of chrysosplenetin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163 (4), 1053-1059. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.049.

Solecki, R.S. (1975). Shanidar IV, a Neanderthal flower burial in Northern Iraq. *Science*, 190 (4217), 880-881. https://doi.org/10.1126/science.190.4217.880.

Søltoft, M., Eriksen, M.R., Träger, A.W.B., Nielsen, J., Laursen, K.H., Husted, S., Halekoh, U. & Knuthsen, P. (2010). Comparison of polyacetylene content in organically and conventionally grown carrots using a fast ultrasonic liquid extraction method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (13), 7673-7679. https://doi.org/10.1021/jf101921v.

Song, J., Ham, J., Hong, T., Song, G. & Lim, W. (2021). Fraxetin suppresses cell proliferation and induces apoptosis through mitochondria dysfunction in human hepatocellular carcinoma cell lines Huh7 and Hep3B. *Pharmaceutics*, 13 (1), id. 112. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010112.

Song, J.Y., He, X.Z., Chen, X.F., Hu, J.Y., Luo, G.Y. & Mo, Y.Z. (1985). Hypotensive effect of nevadensin. *Acta Pharmacologica Sinica*, 6 (2), 99-102.

Song, Y., Zhang, X., Lei, G. & Dang, C. (2010). Vitexicarpin affects proliferation and apoptosis in mutated p53 breast cancer cell. *Chinese journal of preventive medicine*, 90 (10), 703-707. http://dx.doi.org/10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2010.10.016.

Sorokina, M. & Steinbeck, C. (2020). Review on natural products databases: where to find data in 2020. *Journal of Cheminformatics*, 12 (1), id. 20. https://doi.org/10.1186/s13321-020-00424-9.

Sosa, T., Chaves, N., Alias, J.C., Escudero, J.C., Henao, F. & Gutiérrez-Merino, C. (2004). Inhibition of mouth skeletal muscle relaxation by flavonoids of *Cistus ladanifer* L.: a plant defense mechanism against herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, 30 (6), 1087-1101. https://doi.org/10.1023/b:joec.0000030265.45127.08.

Southwick, L., Mabry, T., Averett, J. & Powell, A. (1972). Penduletin 4'-*O*-methyl ether from *Perityle vaseyi*. *Phytochemistry*, 11 (7), 2351-2351. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)88411-3.

Souza, F.S. de, Silva, S. de O., Alves, C.N., Guilhon, G.M.S.P., Faria, L.J.G. de, Brasil, D. do S.B. & Muller, A.H. (2015). Spectroscopic data of labdane diterpenes: a theoretical analysis *via* NMR and DFT. *Quimica Nova*, 38 (5), 645-650. http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20150057.

Souza, P.O., Bianchi, S.E., Figueiró, F., Heimfarth, L., Moresco, K.S., Gonçalves, R.M., Hoppe, J.B., Klein, C.P., Salbego, C.G., Gelain, D.P., Bassani, V.L., Zanotto Filho, A. & Moreira, J.C.F. (2018). Anticancer activity of flavonoids isolated from *Achyrocline satureioides* in gliomas cell lines. *Toxicology in vitro*, 51 (376), 23-33. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2018.04.013.

Stavri, M., Ford, C.H.J., Bucar, F., Streit, B., Hall, M.L., Williamson, R.T., Mathew, K.T. & Gibbons, S. (2005). Bioactive constituents of *Artemisia monosperma. Phytochemistry*, 66 (2), 233-239. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.11.010.

Stavri, M. & Gibbons, S. (2005). The antimycobacterial constituents of dill (*Anethum graveolens*). *Phytotherapy research*, 19 (11), 938-941. https://doi.org/10.1002/ptr.1758.

Steck, W. & Mazurek, M. (1972). Identification of natural coumarins by Nmr spectroscopy. *Lloydia*, 35 (4), 418-439.

Stein, A.C., Alvarez, S., Avancini, C., Zacchino, S. & von Poser, G. (2006). Antifungal activity of some coumarins obtained from species of *Pterocaulon* (*Asteraceae*). *Journal of Ethnopharmacology*, 107 (1), 95-98. https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.02.009.

Steinmetz, E.F. (1961). Crude vegetable drugs and their galenical preparations *versus* active principles derived therefrom. *Quarterly Journal of Crude Drug Research*, 1 (1), 3-5. https://doi.org/10.3109/13880206109066640.

Stermitz, F.R., Scriven, L.N., Tegos, G. & Lewis, K. (2002). Two flavonols from *Artemisa annua* which potentiate the activity of berberine and norfloxacin against a resistant strain of *Staphylococcus aureus*. *Planta Medica*, 68 (12), 1140-1141. https://doi.org/10.1055/s-2002-36347.

Stetter, H., Schwarz, M. & Hirschhorn, A. (1959). Über verbindungen mit urotropin-struktur, XII. Monofunktionelle adamantan-derivate. *Chemische Berichte*, 92 (7), 1629-1635. https://doi.org/10.1002/cber.19590920722.

Strate, L.L., Liu, Y.L., Huang, E.S., Giovannucci, E.L. & Chan, A.T. (2011). Use of aspirin or nonsteroidal anti-inflammatory drugs increases risk for diverticulitis and diverticular bleeding. *Gastroenterology*, 140 (5), 1427-1433. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.02.004.

Suebsasana, S., Pongnaratorn, P., Sattayasai, J., Arkaravichien, T., Tiamkao, S. & Aromdee, C. (2009). Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory and toxic effects of andrographolide derivatives in experimental animals. *Archives of Pharmacal Research*, 32 (9), 1191-1200. https://doi.org/10.1007/s12272-009-1902-x.

Suksamrarn, A., Poomsing, P., Aroonrerk, N., Punjanon, T., Suksamrarn, S. & Kongkun, S. (2003). Antimycobacterial and antioxidant flavones from *Limnophila geoffrayi. Archives of Pharmacal Research*, 26 (10), 816-820. https://doi.org/10.1007/BF02980026.

Sulakhiya, K., Keshavlal, G.P., Bezbaruah, B.B., Dwivedi, S., Gurjar, S.S., Munde, N., Jangra, A., Lahkar, M. & Gogoi, R. (2016). Lipopolysaccharide induced anxiety- and depressive-like behaviour in mice are prevented by chronic pre-treatment of esculetin. *Neuroscience Letters*, 611, 106-111. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.11.031.

Sun, B., Wang, B. & Xu, M. (2019). Esculetin inhibits histamine-induced expression of inflammatory cytokines and mucin in nasal epithelial cells. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 46 (9), 821-827. https://doi.org/10.1111/1440-1681.13128.

Sun, L., Zhu, H., Gan, L., Mo, J., Feng, F. & Zhou, C. (2012). Constituents from the bark of *Annona squamosa* and their anti-tumor activity. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 37 (14), 2100-2104.

Sun, S., Du, G.-J., Qi, L.-W., Williams, S., Wang, C.-Z. & Yuan, C.-S. (2010). Hydrophobic constituents and their potential anticancer activities from devil's club (*Oplopanax horridus* Miq.). *Journal of Ethnopharmacology*, 132 (1), 280-285. https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.08.026.

Sun, Y., Du, L., Zhou, L., Zhang, W., Miao, F., Yang, X. & Geng, H. (2011). Study on antibacterial active components from *Viola yedoensis*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 36 (19), 2666-2671.

Sung, W.S. & Lee, D.G. (2010). Antifungal action of chlorogenic acid against pathogenic fungi, mediated by membrane disruption. *Pure and Applied Chemistry*, 82 (1), 219-226. https://doi.org/10.1351/PAC-CON-09-01-08.

Suriyo, T., Pholphana, N., Rangkadilok, N., Thiantanawat, A., Watcharasit, P. & Satayavivad, J. (2014). *Andrographis paniculata* extracts and major constituent diterpenoids inhibit growth of intrahepatic cholangiocarcinoma cells by inducing cell cycle arrest and apoptosis. *Planta Medica*, 80 (7), 533-543. https://doi.org/10.1055/s-0034-1368399.

Sussman, L.K. (1980). Herbal medicine on Mauritius. *Journal of Ethnopharmacology*, 2 (3), 259-278. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(80)81005-1.

Suzuki, A., Yamamoto, N., Jokura, H., Yamamoto, M., Fujii, A., Tokimitsu, I. & Saito, I. (2006). Chlorogenic acid attenuates hypertension and improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension*, 24 (6), 1065-1073. https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000226196.67052.c0.

Suzuki, R., Matsushima, Y., Okudaira, N., Sakagami, H. & Shirataki, Y. (2016). Cytotoxic components against human oral squamous cell carcinoma isolated from *Andrographis paniculata*. *Anticancer Research*, 36 (11), 5931-5935. https://doi.org/10.21873/anticanres.11180.

Szél, E., Polyánka, H., Szabó, K., Hartmann, P., Degovics, D., Balázs, B., Németh, I.B., Korponyai, C., Csányi, E., Kaszaki, J., Dikstein, S., Nagy, K., Kemény, L. & Erős, G. (2015). Anti-irritant and anti-inflammatory effects of glycerol and xylitol in sodium lauryl sulphate-induced acute irritation. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 29 (12), 2333-2341. https://doi.org/10.1111/jdv.13225.

Talib, W.H., Zarga, M.H.A. & Mahasneh, A.M. (2012). Antiproliferative, antimicrobial and apoptosis inducing effects of compounds isolated from *Inula viscosa*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17 (3), 3291-3303. https://doi.org/10.3390/molecules17033291.

Tamayo-Castillo, G., Jakupovic, J., Bohlmann, F., Rojas, A., Castro, V. & King, R.M. (1988). Germacranolides and other constituents from *Ageratina* species. *Phytochemistry*, 27 (9), 2893-2897. https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80683-6.

Tan, K.W., Killeen, D.P., Li, Y., Paxton, J.W., Birch, N.P. & Scheepens, A. (2014). Dietary polyacetylenes of the falcarinol type are inhibitors of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *European Journal of Pharmacology*, 723 (1), 346-352. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.11.005.

Tan Lim, A.M., Oyong, G.G., Tan, M.C.S., Chang Shen, C., Ragasa, C.Y. & Cabrera, E.C. (2021). Quorum quenching activity of *Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees andrographolide compounds on metallo-*β*-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* PA22 and PA247 and their effect on lasR gene expression. *Heliyon*, 7 (5), id. 07002. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07002.

Tan, Y., Liu, C. & Chen, R. (2010). Phenolic constituents from stem bark of *Morus wittiorum* and their anti-inflammation and cytotoxicity. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 35 (20), 2700-2703.

Tang, M., Xie, X., Shi, M., Xin, W., Zheng, G., Zhang, Y., Zhang, Z. & Lian, X. (2021). Antileukemic effect of caffeic acid 3,4-dihydroxyphenetyl ester. Evidences for its mechanisms of action. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 80, id. 153383. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153383.

Tapia, R., Bouanou, H., Alvarez, E., Alvarez-Manzaneda, R., Chahboun, R. & Alvarez-Manzaneda, E. (2014). Stereoselective transformations of (+)-abietic acid into (+)-vitedoin B and (+)-negundoin A. *The Journal of Organic Chemistry*, 79 (10), 4405-4413. https://doi.org/10.1021/jo5003533.

Teel, R.W. & Castonguay, A. (1992). Antimutagenic effects of polyphenolic compounds. *Cancer Letters*, 66 (2), 107-113. https://doi.org/10.1016/0304-3835(92)90222-h.

Teng, C.-M., Kuo, S.-C., Ko, F.-N., Lee, J.-C., Lee, L.-G., Chen, S.-C. & Huang, T.-F. (1989). Antiplatelet actions of panaxynol and ginsenosides isolated from ginseng. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 990 (3), 315-320. https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80051-0.

Teresa, J., Díaz, F., Sanchez, F., Hernandez, J. & Grande, M. (1980). Flavonoids from *Digitalis thapsi* leaves. *Planta Medica*, 38, 271-272. https://doi.org/10.1055/s-2008-1074875.

Tereschuk, M.L., Baigorí, M.D., De Figueroa, L.I.C. & Abdala, L.R. (2004). Flavonoids from Argentine *Tagetes* (*Asteraceae*) with antimicrobial activity. *Methods in Molecular Biology*, 268, 317-330. https://doi.org/10.1385/1-59259-766-1:317.

Tewtrakul, S. & Subhadhirasakul, S. (2008). Effects of compounds from *Kaempferia parviflora* on nitric oxide, prostaglandin E2 and tumor necrosis factor-*alpha* productions in RAW264.7 macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 120 (1), 81-84. https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.07.033.

Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S. & Kummee, S. (2008). Anti-allergic activity of compounds from *Kaempferia parviflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, 116 (1), 191-193. https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.042.

Thiruvengadam, M., Praveen, N., Yu, B.R., Kim, S.H. & Chung, I.M. (2014). Polyphenol composition and antioxidant capacity from different extracts of *Aster scaber. Acta Biologica Hungarica*, 65 (2), 144-155. https://doi.org/10.1556/ABiol.65.2014.2.3.

Thisoda, P., Rangkadilok, N., Pholphana, N., Worasuttayangkurn, L., Ruchirawat, S. & Satayavivad, J. (2006). Inhibitory effect of *Andrographis paniculata* extract and its active diterpenoids on platelet aggregation. *European Journal of Pharmacology*, 553 (1-3), 39-45. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.09.052.

Thom, E. (2007). The effect of chlorogenic acid enriched coffee on glucose absorption in healthy volunteers and its effect on body mass when used long-term in overweight and obese people. *The Journal of International Medical Research*, 35 (6), 900-908. https://doi.org/10.1177/147323000703500620.

Thuong, P.T., Hung, T.M., Ngoc, T.M., Ha, D.T., Min, B.S., Kwack, S.J., Kang, T.S., Choi, J.S. & Bae, K. (2010). Antioxidant activities of coumarins from Korean medicinal plants and their structure-activity relationships. *Phytotherapy research*, 24 (1), 101-106. https://doi.org/10.1002/ptr.2890.

Thuong, P.T., Pokharel, Y.R., Lee, M.Y., Kim, S.K., Bae, K., Su, N.D., Oh, W.K. & Kang, K.W. (2009). Dual anti-oxidative effects of fraxetin isolated from *Fraxinus rhinchophylla*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 32 (9), 1527-1532. https://doi.org/10.1248/bpb.32.1527.

Timmermann, B.N., Mues, R., Mabry, T.J. & Powell, A.M. (1979). 6-Methoxyflavonoids from *Brickellia laciniata* (*compositae*). *Phytochemistry*, 18 (11), 1855-1858. https://doi.org/10.1016/0031-9422(79)83069-1.

Torres Castañeda, H.G., Colmenares Dulcey, A.J. & Isaza Martínez, J.H. (2016). Flavonoid glycosides from *Siparuna gigantotepala* leaves and their antioxidant activity. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 64 (5), 502-506. https://doi.org/10.1248/cpb.c15-00788.

Torres, R., Faini, F., Modak, B., Urbina, F., Labbé, C. & Guerrero, J. (2006). Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry*, 67 (10), 984-987. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.03.016.

Tóth, A., Végh, K., Alberti, Á., Béni, S. & Kéry, Á. (2016). A new ultra-high pressure liquid chromatography method for the determination of antioxidant flavonol aglycones in six *Lysimachia* species. *Natural Product Research*, 30 (20), 2372-2377. https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1174233.

Tranchant, J., Arpino, P., Prévôt, A., Serpinet, J., Vergnol, A. & Witier, P. (1995). *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*. 4th Ed. Masson, Paris France. 700 p. (ISBN: 2978-2225846816).

Truniger, V. & Boos, W. (1993). Glycerol uptake in *Escherichia coli* is sensitive to membrane lipid composition. *Research in Microbiology*, 144 (7), 565-574. https://doi.org/10.1016/0923-2508(93)90006-n.

Tugba Degirmencioglu, H., Guzelmeric, E., Yuksel, P.I., Kırmızıbekmez, H., Deniz, I. & Yesilada, E. (2019). A new type of anatolian propolis: Evaluation of its chemical composition, activity profile and botanical origin. *Chemistry & Biodiversity*, 16 (12), id. 1900492. https://doi.org/10.1002/cbdv.201900492.

Turkekul, K., Colpan, R.D., Baykul, T., Ozdemir, M.D. & Erdogan, S. (2018). Esculetin inhibits the survival of human prostate cancer cells by inducing apoptosis and arresting the cell cycle. *Journal of Cancer Prevention*, 23 (1), 10-17. https://doi.org/10.15430/JCP.2018.23.1.10.

Tuzun, B.S., Hajdu, Z., Orban-Gyapai, O., Zomborszki, Z.P., Jedlinszki, N., Forgo, P., Kıvcak, B. & Hohmann, J. (2017). Isolation of chemical constituents of *Centaurea virgata* Lam. and xanthine oxidase inhibitory activity of the plant extract and compounds. *Medicinal Chemistry*, 13 (5), 498-502. https://doi.org/10.2174/1573406413666161219161946.

Tzeng, Y.-M., Lee, Y.-C., Cheng, W.-T., Shih, H.-N., Wang, H.-C., Rao, Y.K. & Lee, M.-J. (2012). Effects of andrographolide and 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide on cultured primary astrocytes and PC12 cells. *Life Sciences*, 90 (7-8), 257-266. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2011.11.004.

Ulčakar, L. & Novinec, M. (2020). Inhibition of human cathepsins B and L by caffeic acid and its derivatives. *Biomolecules*, 11 (1), id. 31. https://doi.org/10.3390/biom11010031.

Urbatsch, L.E., Bacon, J.D. & Mabry, T.J. (1975). Flavonol methyl ethers from *Chrysothamnus viscidiflorus*. *Phytochemistry*, 14 (10), 2279-2282. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)91116-6.

Urbatsch, L.E., Mabry, T.J., Miyakado, M., Ohno, N. & Yoshioka, H. (1976). Flavonol methyl ethers from *Ericameria diffusa*. *Phytochemistry*, 15, 440-441.

Urzúa, A. (2004). Secondary metabolites in the epiculticle of *Haplopappus Foliosus* D.C. (*Asteraceae*). *Journal of the Chilean Chemical Society*, 49 (2), 137-141. https://doi.org/10.4067/S0717-97072004000200006.

Usia, T., Iwata, H., Hiratsuka, A., Watabe, T., Kadota, S. & Tezuka, Y. (2004). Sesquiterpenes and flavonol glycosides from *Zingiber aromaticum* and their CYP3A4 and CYP2D6 inhibitory activities. *Journal of Natural Products*, 67 (7), 1079-1083. https://doi.org/10.1021/np030556a.

Ustün, O., Ozçelik, B., Akyön, Y., Abbasoglu, U. & Yesilada, E. (2006). Flavonoids with anti-helicobacter pylori activity from *Cistus laurifolius* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 108 (3), 457-461. https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.06.001.

Valant-Vetschera, K.M., Fischer, R. & Wollenweber, E. (2003). Exudate flavonoids in species of *Artemisia* (*Asteraceae-Anthemideae*): new results and chemosystematic interpretation. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31 (5), 487-498. https://doi.org/10.1016/S0305-1978(02)00178-3.

Valdiani, A., Talei, D., Tan, S.G., Abdul Kadir, M., Maziah, M., Rafii, M.Y. & Sagineedu, S.R. (2014). A classical genetic solution to enhance the biosynthesis of anticancer phytochemicals in *Andrographis paniculata* Nees. *PloS One*, 9 (2), id. 87034. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087034.

Van Baare, J., Buitenwerf, J., Hoekstra, M.J. & du Pont, J.S. (1994). Virucidal effect of glycerol as used in donor skin preservation. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*, 20 (1), 77-80. https://doi.org/10.1016/0305-4179(94)90096-5.

Van Den Dool, H. & Dec. Kratz, P. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*, 11, 463-471. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80947-X.

Van Dijk, A.E., Olthof, M.R., Meeuse, J.C., Seebus, E., Heine, R.J. & van Dam, R.M. (2009). Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on glucose tolerance. *Diabetes Care*, 32 (6), 1023-1025. https://doi.org/10.2337/dc09-0207.

VanPool, C. (2019). Ancient medicinal plants of South America. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116 (23), 11087-11089. https://doi.org/10.1073/pnas.1906805116.

Vera, N., Zampini, C., Isla, M.I. & Bardón, A. (2007). Antioxidant and XOD inhibitory coumarins from *Pterocaulon polystachyum* DC. *Natural Product Communications*, 2 (5), 551-556. https://doi.org/10.1177/1934578X0700200508.

Vihakas, M. (2014). Flavonoids and other phenolic compounds: characterization and interactions with lepidopteran and sawfly larvae. Thèse de doctorat. Université de Turun, Turquie. 129 p. (ISBN: 978-951-29-5905-1).

Vilegas, W., Boralle, N., Cabrera, A., Bernardi, A.C., Pozetti, G.L. & Arantes, S.F. (1995). Coumarins and a flavonoid from *Pterocaulon alopecuroides*. *Phytochemistry*, 38 (4), 1017-1019. https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)00726-A.

Villaflores, O.B., Macabeo, A.P.G., Gehle, D., Krohn, K., Franzblau, S.G. & Aguinaldo, A.M. (2010). Phytoconstituents from *Alpinia purpurata* and their *in vitro* inhibitory activity against *Mycobacterium tuberculosis. Pharmacognosy Magazine*, 6 (24), 339-344. https://doi.org/10.4103/0973-1296.71785.

Villedieu-Percheron, E. (2011). Étude d'une famille de diterpènes d'origine naturelle ayant une activité anti-inflammatoire. Thèse de doctorat. Université d'Orléans. 291 p.

Vlietinck, A.J., Vanden Berghe, D.A., Van Hoof, L.M., Vrijsen, R. & Boeyé, A. (1986). Antiviral activity of 3-methoxyflavones. *Progress in Clinical and Biological Research*, 213, 537-540.

Vrijsen, R., Everaert, L., Van Hoof, L.M., Vlietinck, A.J., Vanden Berghe, D.A. & Boeyé, A. (1987). The poliovirus-induced shut-off of cellular protein synthesis persists in the presence of 3-methylquercetin, a flavonoid which blocks viral protein and RNA synthesis. *Antiviral Research*, 7 (1), 35-42. https://doi.org/10.1016/0166-3542(87)90037-4.

Wagner, H. & Bladt, S. (1996). *Plant drug analysis: A Thin Layer Chromatography atlas*. 2nd Ed. Springer-Verlag and Heidelberg GmbH, Berlin German. 384 p. (ISBN: 978-3-642-00573-2).

Wagner, H., Iyengar, M.A., Seligmann, O., Hörhammer, L. & Herz, W. (1972). Flavonoides in *Vernonia arten. Phytochemistry*, 11 (10), 3086-3087. https://doi.org/10.1016/0031-9422(72)80116-X.

Wahyuono, S. (1991). Potential anti-infective agents isolated from *Artemisia pacifica* Nutt and *Guardiola platyphylla* Gray (fam. *Asteraceae*). Thèse de doctorat. Université d'Arizona, USA. 170 p.

Wang, C., Zeng, L., Zhang, T., Liu, J. & Wang, W. (2016a). Casticin inhibits lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *European Journal of Pharmacology*, 789, 172-178. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.07.035.

Wang, C.J., Hsieh, Y.J., Chu, C.Y., Lin, Y.L. & Tseng, T.H. (2002). Inhibition of cell cycle progression in human leukemia HL-60 cells by esculetin. *Cancer Letters*, 183 (2), 163-168. https://doi.org/10.1016/s0304-3835(02)00031-9.

Wang, C.N., Shiao, Y.J., Kuo, Y.H., Chen, C.C. & Lin, Y.L. (2000). Inducible nitric oxide synthase inhibitors from *Saposhnikovia divaricata* and *Panax quinquefolium*. *Planta Medica*, 66 (7), 644-647. https://doi.org/10.1055/s-2000-8624.

Wang, G., Lu, M., Yao, Y., Wang, J. & Li, J. (2017). Esculetin exerts antitumor effect on human gastric cancer cells through IGF-1/PI3K/Akt signaling pathway. *European Journal of Pharmacology*, 814, 207-215. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.08.025.

Wang, G.-F., Shi, L.-P., Ren, Y.-D., Liu, Q.-F., Liu, H.-F., Zhang, R.-J., Li, Z., Zhu, F.-H., He, P.-L., Tang, W., Tao, P.-Z., Li, C., Zhao, W.-M. & Zuo, J.-P. (2009a). Anti-hepatitis B virus activity of chlorogenic acid, quinic acid and caffeic acid *in vivo* and *in vitro*. *Antiviral Research*, 83 (2), 186-190. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2009.05.002.

Wang, H., Cai, B., Cui, C., Zhang, D. & Yang, B. (2005a). Vitexicarpin, a flavonoid from *Vitex trifolia* L., induces apoptosis in K562 cells *via* mitochondria-controlled apoptotic pathway. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 40 (1), 27-31.

Wang, H., Zou, D., Xie, K. & Xie, M. (2014a). Antibacterial mechanism of fraxetin against *Staphylococcus aureus*. *Molecular Medicine Reports*, 10 (5), 2341-2345. https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2529.

Wang, J. (2018). Casticin alleviates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses and expression of mucus and extracellular matrix in human airway epithelial cells through Nrf2/Keap1 and NF-κB pathways. *Phytotherapy research*, 32 (7), 1346-1353. https://doi.org/10.1002/ptr.6067.

Wang, J., Gao, H., Zhao, J., Wang, Q., Zhou, L., Han, J., Yu, Z. & Yang, F. (2010). Preparative separation of phenolic compounds from *Halimodendron halodendron* by high-speed counter-current chromatography. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15 (9), 5998-6007. https://doi.org/10.3390/molecules15095998.

Wang, J., Lou, J., Luo, C., Zhou, L., Wang, M. & Wang, L. (2012). Phenolic compounds from *Halimodendron halodendron* (Pall.) voss and their antimicrobial and antioxidant activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 13 (9), 11349-11364. https://doi.org/10.3390/ijms130911349.

Wang, J., Lu, M.L., Dai, H.L., Zhang, S.P., Wang, H.X. & Wei, N. (2015). Esculetin, a coumarin derivative, exerts *in vitro* and *in vivo* antiproliferative activity against hepatocellular carcinoma by initiating a mitochondrial-dependent apoptosis pathway. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 48 (3), 245-253. https://doi.org/10.1590/1414-431X20144074.

Wang, L., Lee, I.-M., Zhang, S.M., Blumberg, J.B., Buring, J.E. & Sesso, H.D. (2009b). Dietary intake of selected flavonols, flavones, and flavonoid-rich foods and risk of cancer in middle-aged and older women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89 (3), 905-912. https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26913.

Wang, M., Carver, J.J., Phelan, V.V., Sanchez, L.M., Garg, N., Peng, Y., Nguyen, D.D., Watrous, J., Kapono, C.A., Luzzatto-Knaan, T., Porto, C., Bouslimani, A., Melnik, A.V., Meehan, M.J., Liu, W.-T., Crüsemann, M., Boudreau, P.D., Esquenazi, E., Sandoval-Calderón, M., Kersten, R.D., Pace, L.A., Quinn, R.A., Duncan, K.R., Hsu, C.-C., Floros, D.J., Gavilan, R.G., Kleigrewe, K., Northen, T., Dutton, R.J., Parrot, D., Carlson, E.E., Aigle, B., Michelsen, C.F., Jelsbak, L., Sohlenkamp, C., Pevzner, P., Edlund, A., McLean, J., Piel, J., Murphy, B.T., Gerwick, L., Liaw, C.-C., Yang, Y.-L., Humpf, H.-U., Maansson, M., Keyzers, R.A., Sims, A.C., Johnson, A.R., Sidebottom, A.M., Sedio, B.E., Klitgaard, A., Larson, C.B., Boya P, C.A., Torres-Mendoza, D., Gonzalez, D.J., Silva, D.B., Marques, L.M., Demarque, D.P., Pociute, E., O'Neill, E.C., Briand, E., Helfrich, E.J.N., Granatosky, E.A., Glukhov, E., Ryffel, F., Houson, H., Mohimani, H., Kharbush, J.J., Zeng, Y., Vorholt, J.A., Kurita, K.L., Charusanti, P., McPhail, K.L., Nielsen, K.F., Vuong, L., Elfeki, M., Traxler, M.F., Engene, N., Koyama, N., Vining, O.B., Baric, R., Silva, R.R., Mascuch, S.J., Tomasi, S., Jenkins, S., Macherla, V., Hoffman, T., Agarwal, V., Williams, P.G., Dai, J., Neupane, R., Gurr, J., Rodríguez, A.M.C., Lamsa, A., Zhang, C., Dorrestein, K., Duggan, B.M., Almaliti, J., Allard, P.-M., Phapale, P., Nothias, L.-F., Alexandrov, T., Litaudon, M., Wolfender, J.-L., Kyle, J.E., Metz, T.O., Peryea, T., Nguyen, D.-T., VanLeer, D., Shinn, P., Jadhav, A., Müller, R., Waters, K.M., Shi, W., Liu, X., Zhang, L., Knight, R., Jensen, P.R., Palsson, B.Ø., Pogliano, K., Linington, R.G., Gutiérrez, M., Lopes, N.P., Gerwick, W.H., Moore, B.S., Dorrestein, P.C. & Bandeira, N. (2016b). Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular networking. *Nature Biotechnology*, 34 (8), 828-837. https://doi.org/10.1038/nbt.3597.

Wang, Q., Zhuang, D., Feng, W., Ma, B., Qin, L. & Jin, L. (2020). Fraxetin inhibits interleukin-1*β*-induced apoptosis, inflammation, and matrix degradation in chondrocytes and protects rat cartilage *in vivo*. *Saudi pharmaceutical journa*, 28 (12), 1499-1506. https://doi.org/10.1016/j.jsps.2020.09.016.

Wang, X., Yang, C., Zhang, Q., Wang, C., Zhou, X., Zhang, X. & Liu, S. (2019). *In vitro* anticancer effects of esculetin against human leukemia cell lines involves apoptotic cell death, autophagy, G0/G1 cell cycle arrest and modulation of Raf/MEK/ERK signalling pathway. *Journal of Balkan Union of Oncology*, 24 (4), 1686-1691.

Wang, Y., Cao, J. & Zeng, S. (2005b). Involvement of *P*-glycoprotein in regulating cellular levels of *Ginkgo* flavonols: quercetin, kaempferol, and isorhamnetin. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57 (6), 751-758. https://doi.org/10.1211/0022357056299.

Wang, Y., Hamburger, M., Gueho, J. & Hostettmann, K. (1989). Antimicrobial flavonoids from *Psiadia trinervia* and their methylated and acetylated derivatives. *Phytochemistry*, 28 (9), 2323-2327. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97976-7.

Wang, Y., Hamburger, M., Gueho, J. & Hostettmann, K. (1992). Cyclohexanecarboxylic-acid derivatives from *Psiadia trinervia*. *Helvetica Chimica Acta*, 75 (1), 269-275. https://doi.org/10.1002/hlca.19920750122.

Wang, Y.-Q., Weng, Z.-M., Dou, T.-Y., Hou, J., Wang, D.-D., Ding, L.-L., Zou, L.-W., Yu, Y., Chen, J., Tang, H. & Ge, G.-B. (2018). Nevadensin is a naturally occurring selective inhibitor of human carboxylesterase 1. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120B, 1944-1954. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.178.

Wang, Y.-Z., Tang, C.-P., Ke, C.-Q., Weiss, H.-C., Gesing, E.-R. & Ye, Y. (2008). Diterpenoids from the pericarp of *Platycladus orientalis*. *Phytochemistry*, 69 (2), 518-526. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.07.023.

Wang, Z., Yang, L., Cui, S., Liang, Y. & Zhang, X. (2014b). Synthesis and anti-hypertensive effects of the twin drug of nicotinic acid and quercetin tetramethyl ether. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19 (4), 4791-4801. https://doi.org/10.3390/molecules19044791.

Ward, N.C., Hodgson, J.M., Woodman, R.J., Zimmermann, D., Poquet, L., Leveques, A., Actis-Goretta, L., Puddey, I.B. & Croft, K.D. (2016). Acute effects of chlorogenic acids on endothelial function and blood pressure in healthy men and women. *Food & Function*, 7 (5), 2197-2203. https://doi.org/10.1039/c6fo00248j.

Watanabe, R. & Wender, S.H. (1965). Flavonoid and certain related phenolic compounds in parts of the tobacco flower. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 112 (1), 111-114. https://doi.org/10.1016/0003-9861(65)90017-2.

Watanabe, T., Arai, Y., Mitsui, Y., Kusaura, T., Okawa, W., Kajihara, Y. & Saito, I. (2006). The blood pressure-lowering effect and safety of chlorogenic acid from green coffee bean extract in essential hypertension. *Clinical and Experimental Hypertension*, 28 (5), 439-449. https://doi.org/10.1080/10641960600798655.

Webster, D.E., He, Y., Chen, S.-N., Pauli, G.F., Farnsworth, N.R. & Wang, Z.J. (2011). Opioidergic mechanisms underlying the actions of *Vitex agnus-castus* L. *Biochemical Pharmacology*, 81 (1), 170-177. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2010.09.013.

Wee, H.-N., Neo, S.-Y., Singh, D., Yew, H.-C., Qiu, Z.-Y., Tsai, X.-R.C., How, S.-Y., Yip, K.-Y.C., Tan, C.-H. & Koh, H.-L. (2020). Effects of *Vitex trifolia* L. leaf extracts and phytoconstituents on cytokine production in human U937 macrophages. *BMC complementary medicine and therapies*, 20 (1), id. 91. https://doi.org/10.1186/s12906-020-02884-w.

Wei, B.L., Lu, C.M., Tsao, L.T., Wang, J.P. & Lin, C.N. (2001). *In vitro* anti-inflammatory effects of quercetin 3-*O*-methyl ether and other constituents from *Rhamnus* species. *Planta Medica*, 67 (8), 745-747. https://doi.org/10.1055/s-2001-18339.

Wei, M., Chen, L., Liu, J., Zhao, J., Liu, W. & Feng, F. (2016). Protective effects of a chotosan fraction and its active components on *β*-amyloid-induced neurotoxicity. *Neuroscience Letters*, 617, 143-149. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.02.019.

Wei, S., Ji, H., Yang, B., Ma, L., Bei, Z., Li, X., Dang, H., Yang, X., Liu, C., Wu, X. & Chen, J. (2015). Impact of chrysosplenetin on the pharmacokinetics and anti-malarial efficacy of artemisinin against *Plasmodium berghei* as well as *in vitro* CYP450 enzymatic activities in rat liver microsome. *Malaria Journal*, 14 (1), id. 432. https://doi.org/10.1186/s12936-015-0929-3.

Wéry, M. & Paskoff, S. (1995). *Protozoologie médicale*. De Boeck, Paris France. 276 p. (ISBN: 978-2804120481).

Wessely, F. & Demmer, E. (1928). Dïe konstitution des Fraxetins. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 61 (6), 1279-1284. https://doi.org/10.1002/cber.19280610616.

Wiart, C., Kumar, K., Yusof, M.Y., Hamimah, H., Fauzi, Z.M. & Sulaiman, M. (2005). Antiviral properties of *ent*-labdene diterpenes of *Andrographis paniculata* nees, inhibitors of herpes simplex virus type 1. *Phytotherapy research*, 19 (12), 1069-1070. https://doi.org/10.1002/ptr.1765.

Widyarman, A.S., Drestia, A.M., Bachtiar, E.W. & Bachtiar, B.M. (2018). The anti-inflammatory effects of glycerol-supplemented probiotic *Lactobacillus reuteri* on infected epithelial cells *in vitro*. *Contemporary Clinical Dentistry*, 9 (2), 298-303. https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_53_18.

Wintermeyer, S.M. & Nahata, M.C. (1995). Rimantadine: a clinical perspective. *The Annals of Pharmacotherapy*, 29 (3), 299-310. https://doi.org/10.1177/106002809502900312.

Wishart, D.S., Feunang, Y.D., Marcu, A., Guo, A.C., Liang, K., Vázquez-Fresno, R., Sajed, T., Johnson, D., Li, C., Karu, N., Sayeeda, Z., Lo, E., Assempour, N., Berjanskii, M., Singhal, S., Arndt, D., Liang, Y., Badran, H., Grant, J., Serra-Cayuela, A., Liu, Y., Mandal, R., Neveu, V., Pon, A., Knox, C., Wilson, M., Manach, C. & Scalbert, A. (2018). HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018. *Nucleic Acids Research*, 46 (1), 608-617. https://doi.org/10.1093/nar/gkx1089.

Witaicenis, A., Seito, L.N., da Silveira Chagas, A., de Almeida, L.D., Luchini, A.C., Rodrigues-Orsi, P., Cestari, S.H. & Di Stasi, L.C. (2014). Antioxidant and intestinal anti-inflammatory effects of plant-derived coumarin derivatives. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 21 (3), 240-246. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.09.001.

Wolfender, J.-L., Marti, G., Thomas, A. & Bertrand, S. (2015). Current approaches and challenges for the metabolite profiling of complex natural extracts. *Journal of Chromatography A*, 1382, 136-164. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.091.

Wollenweber, E. (1971). Ermanin, ein neuer natürlicher Kämpferol-methyläther aus dem knospenexkret von *Betula ermani*. *Tetrahedron Letters,* 12 (21), 1767-1768. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)87456-6.

Wollenweber, E. & Dietz, V.H. (1980). Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants. *Phytochemistry*, 20 (5), 869-932. https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)83001-4.

Wollenweber, E. & Egger, K. (1970). Methyläther des myricetins, quercetins und kämpferols im knospenöl von *Aesculus hippocastanum*. *Tetrahedron Letters*, 11 (19), 1601-1604. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)98034-7.

Won, C., Lee, C.S., Lee, J.-K., Kim, T.-J., Lee, K.-H., Yang, Y.M., Kim, Y.-N., Ye, S.-K. & Chung, M.-H. (2010). CADPE suppresses cyclin D1 expression in hepatocellular carcinoma by blocking IL-6-induced STAT3 activation. *Anticancer Research*, 30 (2), 481-488.

Woo, J.-H., Ahn, J.-H., Jang, D.S., Lee, K.-T. & Choi, J.-H. (2017). Effect of kumatakenin isolated fom cloves on the apoptosis of cancer cells and the alternative activation of tumor-associated macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65 (36), 7893-7899. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01543.

Wu, B., Wang, R., Li, S., Wang, Y., Song, F., Gu, Y. & Yuan, Y. (2019a). Antifibrotic effects of fraxetin on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis by targeting NF-κB/IκBα, MAPKs and Bcl-2/Bax pathways. *Pharmacological reports*, 71 (3), 409-416. https://doi.org/10.1016/j.pharep.2019.01.008.

Wu, C.-R., Huang, M.-Y., Lin, Y.-T., Ju, H.-Y. & Ching, H. (2007). Antioxidant properties of Cortex Fraxini and its simple coumarins. *Food Chemistry*, 104 (4), 1464-1471. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.023.

Wu, J., Yi, J., Wu, Y., Chen, X., Zeng, J., Wu, J. & Peng, W. (2019b). 3, 3'-dimethylquercetin inhibits the proliferation of human colon cancer RKO cells through inducing G2/M cell cycle arrest and apoptosis. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 19 (3), 402-409. https://doi.org/10.2174/1871520618666181106120718.

Wu, X., Li, Z., Yang, Z., Zheng, C., Jing, J., Chen, Y., Ye, X., Lian, X., Qiu, W., Yang, F., Tang, J., Xiao, J., Liu, M. & Luo, J. (2012). Caffeic acid 3,4-dihydroxy-phenethyl ester suppresses receptor activator of NF-κB ligand–induced osteoclastogenesis and prevents ovariectomy-induced bone loss through inhibition of mitogen-activated protein kinase/activator protein 1 and Ca2+–nuclear factor of activated T-cells cytoplasmic 1 signaling pathways. *Journal of Bone and Mineral Research*, 27 (6), 1298-1308. https://doi.org/10.1002/jbmr.1576.

Xiao, H., Cao, xu, Wang, L., Run, X., Su, Y., Tian, C., Sun, S. & Liang, Z. (2011). 1,5-dicaffeoylquinic acid protects primary neurons from amyloid *β* 1-42-induced apoptosis *via* PI3K/Akt signaling pathway. *Chinese medical journal*, 124 (17), 2628-2635. https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2011.17.012.

Xie, J., Bai, J., Sheng, X., Cao, J. & Xie, W. (2011). Proliferation inhibition of human cervical cancer HeLa cells by casticin *in vitro*. *The Chinese-German Journal of Clinical Oncology*, 10 (1), 47-50. https://doi.org/10.1007/s10330-011-0711-0.

Xin, C., Zhang, Y., Zhao, M., Wang, Z. & Cheng, C. (2021). Polyditerpene acid from *Pinus koraiensis* pinecones inhibits the progression of hepatocarcinoma. *Arabian Journal of Chemistry*, 14 (4), 103069. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103069.

Xu, Y., Hu, Z.B., Feng, S. & Fan, G. (1979). Studies on the anti-tuberculosis principles from *Lysionotus pauciflora* Maxim. I. Isolation and identification of nevadensin (author's transl). *Acta pharmaceutica Sinica*, 14 (7), 447-448.

Xu, Z., Zhou, J., Ren, T., Du, H., Liu, H., Li, Y. & Zhang, C. (2020). Salt stress decreases seedling growth and development but increases quercetin and kaempferol content in *Apocynum venetum. Plant Biology,* 22 (5), 813-821. https://doi.org/10.1111/plb.13128.

Yamauchi, K., Mitsunaga, T., Afroze, S.H. & Uddin, M.N. (2017). Structure-activity relationships of methylquercetin on anti-migration and anti-proliferation activity in B16 melanoma cells. *Anticancer Research*, 37 (4), 1575-1579. http://dx.doi.org/10.21873/anticanres.11487.

Yang, C., Braymer, H., Murphy, E., Chorney, W., Scully, N. & Wender, S. (1960). Methyl ethers of quercetin in Tobacco flowers. *The Journal of Organic Chemistry*, 25 (11), 2063-2064. https://doi.org/10.1021/jo01081a624.

Yang, G., Bao, L., Zhang, X., Wang, Y., Li, Q., Zhang, W. & Ye, W. (2009). Studies on flavonoids and their antioxidant activities of *Artemisia annua*. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 32 (11), 1683-1686.

Yang, G.-Z., Li, Y.-F., Yu, X. & Mei, Z.-N. (2007). Terpenoids and flavonoids from *Laggera pterodonta*. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 42 (5), 511-515.

Yang, J., Yang, Y., Tian, L., Sheng, X.-F., Liu, F. & Cao, J.-G. (2011a). Casticin-induced apoptosis involves death receptor 5 upregulation in hepatocellular carcinoma cells. *World Journal of Gastroenterology*, 17 (38), 4298-4307. https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i38.4298.

Yang, J.L., Shen, Z.M., Sun, Y.F., Han, J.X. & Xu, B. (1985). Cultured human hepatoma cells (BEL-7404) for anticancer drugs screening. *Acta Pharmacologica Sinica*, 6 (2), 144-148.

Yang, J.-Y., Park, J.-H., Lee, M.-J., Lee, J.-H. & Lee, H.-S. (2017). Antimicrobial effects of 7,8-dihydroxy-6-methoxycoumarin and 7-hydroxy-6-methoxycoumarin analogues against foodborne pathogens and the antimicrobial mechanisms associated with membrane permeability. *Journal of Food Protection*, 80 (11), 1784-1790. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-050.

Yang, L., Ding, W., Xu, Y., Wu, D., Li, S., Chen, J. & Guo, B. (2016). New insights into the antibacterial activity of hydroxycoumarins against *Ralstonia solanacearum*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21 (4), id. 468. https://doi.org/10.3390/molecules21040468.

Yang, M.C., Kwon, H.C., Kim, Y.-J., Lee, K.R. & Yang, H.O. (2010). Oploxynes A and B, polyacetylenes from the stems of *Oplopanax elatus. Journal of Natural Products*, 73 (5), 801-805. https://doi.org/10.1021/np900628j.

Yang, T., Shi, H., Wang, Z. & Wang, C. (2013). Hypolipidemic effects of andrographolide and neoandrographolide in mice and rats. *Phytotherapy research*, 27 (4), 618-623. https://doi.org/10.1002/ptr.4771.

Yang, Y., Kinoshita, K., Koyama, K., Takahashi, K., Tai, T., Nunoura, Y. & Watanabe, K. (1999). Anti-emetic principles of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. *Phytomedicine*, 6 (2), 89-93. https://doi.org/10.1016./S0944-7113(99)80041-5.

Yang, Y.-L., Chang, F.-R., Wu, C.-C., Wang, W.-Y. & Wu, Y.-C. (2002). New *ent*-kaurane diterpenoids with anti-platelet aggregation activity from *Annona squamosa. Journal of Natural Products*, 65 (10), 1462-1467. https://doi.org/10.1021/np020191e.

Yang, Z.-F., Bai, L.-P., Huang, W., Li, X.-Z., Zhao, S.-S., Zhong, N.-S. & Jiang, Z.-H. (2014). Comparison of *in vitro* antiviral activity of tea polyphenols against influenza A and B viruses and structure-activity relationship analysis. *Fitoterapia*, 93, 47-53. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.12.011.

Yang, Z.-G., Jia, L.-N., Shen, Y., Ohmura, A. & Kitanaka, S. (2011b). Inhibitory effects of constituents from *Euphorbia lunulata* on differentiation of 3T3-L1 cells and nitric oxide production in RAW264.7 cells. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 16 (10), 8305-8318. https://doi.org/10.3390/molecules16108305.

Yang, Z.-Z., Yu, Y.-T., Lin, H.-R., Liao, D.-C., Cui, X.-H. & Wang, H.-B. (2018). *Lonicera japonica* extends lifespan and healthspan in *Caenorhabditis elegans. Free Radical Biology and Medicine*, 129, 310-322. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.035.

Yanishlieva, N.V. & Marinova, E.M. (1996). Antioxidative effectiveness of some natural antioxidants in sunflower oil. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 203 (3), 220-223. https://doi.org/10.1007/BF01192867.

Yao, Y., Zhao, X., Xin, J., Wu, Y. & Li, H. (2018). Coumarins improved type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin in mice *via* antioxidation. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 96 (8), 765-771. https://doi.org/10.1139/cjpp-2017-0612.

Ye, Q., Zhang, Q., Zheng, C., Wang, Y. & Qin, L. (2010). Casticin, a flavonoid isolated from *Vitex rotundifolia*, inhibits prolactin release *in vivo* and *in vitro. Acta Pharmacologica Sinica*, 31 (12), 1564-1568. https://doi.org/10.1038/aps.2010.178.

Yenjai, C., Prasanphen, K., Daodee, S., Wongpanich, V. & Kittakoop, P. (2004). Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Fitoterapia*, 75 (1), 89-92. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2003.08.017.

Yin, J., Wang, H. & Lu, G. (2018). Umbelliferone alleviates hepatic injury in diabetic db/db mice *via* inhibiting inflammatory response and activating Nrf2-mediated antioxidant. *Bioscience Reports*, 38 (4), id. 0444. https://doi.org/10.1042/BSR20180444.

Ying, W., Masao, T., Felicitas, K., Matthias, H. & Kurt, H. (1990). Polyacetylenes from *Artemisia borealis* and their biological activities. *Phytochemistry*, 29 (10), 3101-3105. https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)80165-D.

You, K.M., Son, K.H., Chang, H.W., Kang, S.S. & Kim, H.P. (1998). Vitexicarpin, a flavonoid from the fruits of *Vitex rotundifolia*, inhibits mouse lymphocyte proliferation and growth of cell lines *in vitro*. *Planta Medica*, 64 (06), 546-550. https://doi.org/10.1055/s-2006-957511.

Young, J.F., Christensen, L.P., Theil, P.K. & Oksbjerg, N. (2008). The polyacetylenes falcarinol and falcarindiol affect stress responses in myotube cultures in a biphasic manner. *Dose-Response*, 6 (3), 239-251. https://doi.org/10.2203/dose-response.08-008.Young.

Young, J.F., Duthie, S.J., Milne, L., Christensen, L.P., Duthie, G.G. & Bestwick, C.S. (2007). Biphasic effect of falcarinol on CaCO-2 cell proliferation, DNA damage, and apoptosis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (3), 618-623. https://doi.org/10.1021/jf0616154.

Yukawa, G.S., Mune, M., Otani, H., Tone, Y., Liang, X.-M., Iwahashi, H. & Sakamoto, W. (2004). Effects of coffee consumption on oxidative susceptibility of low-density lipoproteins and serum lipid levels in humans. *Biochemistry. Biokhimiia*, 69 (1), 70-74. https://doi.org/10.1023/b:biry.0000016354.05438.0f.

Zapata-Torres, G., Opazo, F., Salgado, C., Muñoz, J.P., Krautwurst, H., Mascayano, C., Sepúlveda-Boza, S., Maccioni, R.B. & Cassels, B.K. (2004). Effects of natural flavones and flavonols on the kinase activity of Cdk5. *Journal of Natural Products*, 67 (3), 416-420. https://doi.org/10.1021/np034011s.

Zapesochnaya, G.G., Kurkin, V.A., Kudryavtseva, T.V., Karasartov, B.S., Cholponbaev, K.S., Tyukavkina, N.A. & Ruchkin, V.E. (1992). Dicaffeolyquinic acids from *Helichrysum italicum* and *Achillea cartilaginea. Chemistry of Natural Compounds*, 28 (1), 40-44. https://doi.org/10.1007/BF00629790.

Zaragozá, C., Monserrat, J., Mantecón, C., Villaescusa, L., Zaragozá, F. & Álvarez-Mon, M. (2016). Antiplatelet activity of flavonoid and coumarin drugs. *Vascular Pharmacology*, 87, 139-149. https://doi.org/10.1016/j.vph.2016.09.002.

Zaragozá, C., Zaragozá, F., Gayo-Abeleira, I. & Villaescusa, L. (2021). Antiplatelet activity of coumarins: *In vitro* assays on COX-1. *Molecules*, 26 (10), id. 3036. https://doi.org/10.3390/molecules26103036.

Zdero, C., Ahmed, A.A., Bohlmann, F. & Mungai, G.M. (1990a). Diterpenes and sesquiterpene xylosides from east african *Conyza* species. *Phytochemistry*, 29 (10), 3167-3172. http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(90)80180-o.

Zdero, C., Bohlmann, F. & King, R.M. (1990b). Guaianolides and labdanes from *Brickellia* species. *Phytochemistry,* 30 (5), 1591-1595. http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(91)84214-d.

Zerbe, P. & Bohlmann, J. (2015). Plant diterpene synthases: exploring modularity and metabolic diversity for bioengineering. *Trends in Biotechnology*, 33 (7), 419-428. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.04.006.

Zhang, B., Liu, L., Zhao, S., Wang, X., Liu, L. & Li, S. (2013a). Vitexicarpin acts as a novel angiogenesis inhibitor and its target network. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013 (9), id. 278405. https://doi.org/10.1155/2013/278405.

Zhang, B.-Y., Yin, H.-X. & Zhang, D. (2017). Two new *ent*-labdane diterpenes from the roots of *Euphorbia yinshanica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 53 (2), 295-297. https://doi.org/10.1007/s10600-017-1973-8.

Zhang, G., Xu, Y. & Zhou, H.-F. (2019a). Esculetin inhibits proliferation, invasion, and migration of laryngeal cancer in vitro and in vivo by inhibiting Janus Kinas (JAK)-signal transducer and activator of transcription-3 (STAT3) activation. *Medical Science Monitor*, 25, 7853-7863. https://doi.org/10.12659/MSM.916246.

Zhang, G.-J., Li, Y.-H., Jiang, J.-D., Yu, S.-S., Qu, J., Ma, S.-G., Liu, Y.-B. & Yu, D.-Q. (2013b). Anti-coxsackie virus B diterpenes from the roots of *Illicium jiadifengpi*. *Tetrahedron*, 69 (3), 1017-1023. https://doi.org/10.1016/j.tet.2012.11.089.

Zhang, J., Feng, M. & Guan, W. (2021). Naturally occurring aesculetin coumarin exerts antiproliferative effects in gastric cancer cells mediated *via* apoptotic cell death, cell cycle arrest and targeting PI3K/AKT/M-TOR signalling pathway. *Acta Biochimica Polonica*, 68 (1), 109-113. https://doi.org/10.18388/abp.2020_5463.

Zhang, L.-J., Yeh, S.-F., Yu, Y.-T., Kuo, L.-M.Y. & Kuo, Y.-H. (2011). Antioxidative flavonol glucuronides and anti-HBsAg flavonol from *Rotala rotundifolia. Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 1 (1), 57-63. https://doi.org/10.1016/s2225-4110(16)30057-8.

Zhang, Q., Yang, W., Liu, J., Liu, H., Lv, Z., Zhang, C., Chen, D. & Jiao, Z. (2020). Identification of six flavonoids as novel cellular antioxidants and their structure-activity relationship. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020 (1), id. 4150897. https://doi.org/10.1155/2020/4150897.

Zhang, Q., Zhao, X.-H. & Wang, Z.-J. (2009). Cytotoxicity of flavones and flavonols to a human esophageal squamous cell carcinoma cell line (KYSE-510) by induction of G2/M arrest and apoptosis. *Toxicology in vitro*, 23 (5), 797-807. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.04.007.

Zhang, X., Wang, L., Mu, H., Wang, D. & Yu, Y. (2019b). Synergistic antibacterial effects of *Buddleja albiflora* metabolites with antibiotics against *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 68 (1), 38-47. https://doi.org/10.1111/lam.13084.

Zhang, Y., Wang, L., Deng, Y., Zhao, P., Deng, W., Zhang, J., Luo, J. & Li, R. (2019c). Fraxetin suppresses proliferation of non-small-cell lung cancer cells *via* preventing activation of signal transducer and activator of transcription 3. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 248 (1), 3-12. https://doi.org/10.1620/tjem.248.3.

Zhang, Y.-L., Pan, Q.-M., Zhang, G.-J. & Liang, D. (2019d). Study on chemical constituents of stems and leaves of *Sapium discolor*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 44 (17), 3738-3744. https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20190614.201.

Zhang, Z. & Li, S. (2007). Cytotoxic triterpenoid saponins from the fruits of *Aesculus pavia* L. *Phytochemistry*, 68 (15), 2075-2086. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.05.020.

Zhao, C.-N., Yao, Z.-L., Yang, D., Ke, J., Wu, Q.-L., Li, J.-K. & Zhou, X.-D. (2020). Chemical constituents from *Fraxinus hupehensis* and their antifungal and herbicidal activities. *Biomolecules*, 10 (1), id. 74. https://doi.org/10.3390/biom10010074.

Zhao, D.-D., Zhao, Q.-S., Liu, L., Chen, Z.-Q., Zeng, W.-M., Lei, H. & Zhang, Y.-L. (2014). Compounds from *Dryopteris fragrans* (L.) Schott with cytotoxic activity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19 (3), 3345-3355. https://doi.org/10.3390/molecules19033345.

Zhou, C.-X., Sun, L.-R., Feng, F., Mo, J.-X., Zhu, H., Yang, B., He, Q.-J. & Gan, L.-S. (2013a). Cytotoxic diterpenoids from the stem bark of *Annona squamosa* L. *Helvetica Chimica Acta*, 96 (4), 656-662. https://doi.org/10.1002/hlca.201200249.

Zhou, L., Dong, X., Wang, L., Shan, L., Li, T., Xu, W., Ding, Y., Lai, M., Lin, X., Dai, M., Bai, X., Jia, C. & Zheng, H. (2017). Casticin attenuates liver fibrosis and hepatic stellate cell activation by blocking TGF-β/Smad signaling pathway. *Oncotarget*, 8 (34), 56267-56280. https://doi.org/10.18632/oncotarget.17453.

Zhou, Y., Tian, L., Long, L., Quan, M., Liu, F. & Cao, J. (2013b). Casticin potentiates TRAIL-induced apoptosis of gastric cancer cells through endoplasmic reticulum stress. *PloS One*, 8 (3), id. 58855. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058855.

Zhu, Q.-C., Wang, Y., Liu, Y.-P., Zhang, R.-Q., Li, X., Su, W.-H., Long, F., Luo, X.-D. & Peng, T. (2011). Inhibition of enterovirus 71 replication by chrysosplenetin and penduletin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 44 (3), 392-398. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2011.08.030.

Zhu, X.X., Yang, L., Li, Y.J., Zhang, D., Chen, Y., Kostecká, P., Kmoníčková, E. & Zídek, Z. (2013). Effects of sesquiterpene, flavonoid and coumarin types of compounds from *Artemisia annua* L. on production of mediators of angiogenesis. *Pharmacological reports*, 65 (2), 410-420. https://doi.org/10.1016/s1734-1140(13)71016-8.

Zidorn, C., Jöhrer, K., Ganzera, M., Schubert, B., Sigmund, E.M., Mader, J., Greil, R., Ellmerer, E.P. & Stuppner, H. (2005). Polyacetylenes from the *Apiaceae* vegetables carrot, celery, fennel, parsley, and parsnip and their cytotoxic activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (7), 2518-2523. https://doi.org/10.1021/jf048041s.

Zimmerman, R.K., Ruben, F.L. & Ahwesh, E.R. (1997). Influenza, influenza vaccine, and amantadine/rimantadine. *The Journal of Family Practice*, 45 (2), 107-124.

Zschocke, S., Lehner, M. & Bauer, R. (1997). 5-Lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitory active constituents from Qianghuo (*Notopterygium incisum*). *Planta Medica*, 63 (3), 203-206. https://doi.org/10.1055/s-2006-957653.

Sites internet

http://www.instituteofayurveda.org - [2020-10-21]

http://www.theplantlist.org - [2021-09-22]

https://www.ansm.sante.fr - [2021-09-07]

https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/botanicals - [2021-06-10]

https://www.inserm.fr - [2021-02-12]

https://www.mascarine.cbnm.org - [2021-09-19]

https://www.metabolomicsna.org - [2021-03-18]

https://www.prota4u.org - [2021-0-22]

https://www.tropicos.org - [2021-09-19]

https://www.uicn.fr - [2021-08-26]

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification du genre *Psiadia.* 25
Tableau II : Résultats des tests d'activités cytotoxiques de l'espèce *P. dentata*. 44
Tableau III : Familles chimiques et composés majoritaires de chaque espèce du genre *Psiadia* de Madagascar. 84
Tableau IV : Rendements d'extraction des feuilles des espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar. 88
Tableau V : Interprétation des résultats du test antipaludique. 93
Tableau VI : Interprétation des résultats du test anti-inflammatoire. 96
Tableau VII : Interprétation des résultats du test cytotoxique. 99
Tableau VIII : Interprétation des résultats des tests anti-inflammatoires. 107
Tableau IX : Interprétation des résultats des tests cytotoxiques. 108
Tableau X : Description des nœuds annotés du cluster 1. 134
Tableau XI : Description du nœud annoté du cluster 2. 135
Tableau XII : Description des nœuds annotés du cluster 6. 136
Tableau XIII : Annotations des nœuds non clustérisés. 137
Tableau XIV : Description des lieux de collecte de *P. dentata.* 149
Tableau XV : Rendements d'extraction des feuilles de *P. dentata.* 150
Tableau XVI : Résultats du criblage biologique des extraits bruts de *P. dentata.* 151
Tableau XVII : Interprétation des résultats des tests antipaludiques et cytotoxiques. 151
Tableau XVIII : Interprétation des résultats des tests anti-inflammatoires. 151
Tableau XIX : Description des nœuds annotés du cluster 1. 201
Tableau XX : Annotation des nœuds du cluster 2. 204
Tableau XXI : Annotation des nœuds du cluster 8. 206
Tableau XXII : Annotations des nœuds non clustérisés. 208
Tableau XXIII : Rendements d'extraction des feuilles de *Psiadia* endémiques de Madagascar. 239

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Distribution du genre *Psiadia* 25
Figure 2 : Feuilles de quelques espèces du genre *Psiadia* 26
Figure 3 : Localisation de toutes les espèces du genre *Psiadia* à Madagascar. 29
Figure 4 : Localisation de toutes les espèces du genre *Psiadia* à La Réunion 29
Figure 5 : Répartition de *P. altissima* var. *altissima* à Madagascar 33
Figure 6 : Composé volatil majoritaire de l'HE de *P. altissima* 34
Figure 7 : Métabolites spécialisés isolés de *P. altissima*. 35
Figure 8 : Répartition de *P. altissima* var. *stenophylla* à Madagascar 38
Figure 9 : Répartition de *P. dentata* à La Réunion 40
Figure 10 : Composés volatils caractéristiques de l'HE de *P. dentata* de La Réunion 41
Figure 11 : Composés volatils caractéristiques du groupe *P. dentata, P. anchusifolia, P. argentea, P. callocephala, P. melastomatoides* et *P. montana* 41
Figure 12 : Métabolites spécialisés isolés de *P. dentata* de La Réunion 42
Figure 13 : Répartition de *P. hispida* à Madagascar. 46
Figure 14 : Répartition de *P. leucophylla* à Madagascar. 48
Figure 15 : Répartition de *P. lucida* à Madagascar 50
Figure 16 : Composés volatils majoritaires de l'HE de *P. lucida* 51
Figure 17 : Répartition de *P. salviifolia* à Madagascar 54
Figure 18 : Composés volatils présents dans l'HE de *P. salviifolia.* 55
Figure 19 : Composés volatils majoritaires de l'HE de *P. salviifolia.* 56
Figure 20 : Zones de collecte à Madagascar des 5 espèces du genre *Psiadia* sélectionnées. 62
Figure 21 : Histogramme présentant les rendements des HE des espèces du genre *Psiadia* de Madagascar. 63
Figure 22 : Procédure générale d'analyse et de caractérisation des composés volatils d'une HE. 66
Figure 23 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. altissima* var. *altissima* (Ambositra). 67
Figure 24 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. altissima* var. *altissima* (Moramanga). 68
Figure 25 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. altissima* var. *stenophylla* (Behenjy) 69
Figure 26 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. hispida* (Angavokely). 70
Figure 27 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. leucophylla* (Angavobe). 71
Figure 28 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. lucida* (Andasibe). 72
Figure 29 : Fractionnement de l'HE de P. *lucida* collectée à Angavokely pour l'isolement des composés **1** et **2**. 73
Figure 30 : Corrélations COSY et HMBC clés du cycle benzénique du composé **1**. 74
Figure 31 : Corrélations HMBC clés des substituts du cycle benzénique du composé **1**. 75
Figure 32 : Corrélations COSY et HMBC clés du composé **2**. 76

Figure 33 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. lucida* (Angavokely). 77
Figure 34 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. lucida* (Ankaratra). 78
Figure 35 : Répartition des familles chimiques et des composés majoritaires de l'HE des feuilles de *P. salviifolia* (Antsirabe). 79
Figure 36 : Activité antipaludique des extraits bruts des espèces du genre *Psiadia* de Madagascar... 93
Figure 37 : Activité anti-inflammatoire des extraits bruts des espèces du genre *Psiadia* de Madagascar. 96
Figure 38 : Répartition estimative des nombres de cas de cancer dans le monde en 2020..... 98
Figure 39 : Activité cytotoxique des extraits bruts des espèces du genre *Psiadia* de Madagascar..... 99
Figure 40 : Profils CLHP-CAD de l'extrait brut AcOEt et des deux fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida.* 106
Figure 41 : Activité anti-inflammatoire de l'extrait brut AcOEt et des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida.* 107
Figure 42 : Activité cytotoxique de l'extrait brut AcOEt et des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida.* 108
Figure 43 : Profils CLHP-CAD de la fraction méthanolique de *P. lucida* et des fractions F1 et F2 obtenues par CLMP. 109
Figure 44 : Fractionnement de l'extrait brut de *P. lucida* pour l'isolement des métabolites **PLU 1** à **PLU 9**..... 111
Figure 45 : Métabolites spécialisés connus isolés de *P. lucida*. 112
Figure 46 : Corrélations COSY et HMBC clés du premier groupe méthylidène du composé **PLU 3**.... 116
Figure 47 : Corrélations HMBC clés du motif lié à C-3 du composé **PLU 3**. 117
Figure 48 : Couplages des protons et corrélations COSY et HMBC clés du premier groupe méthylidène du composé **PLU 3**. 117
Figure 49 : Corrélations COSY et HMBC clés de la chaîne aliphatique du composé **PLU 3**..... 117
Figure 50 : Corrélations COSY et HMBC clés du deuxième groupe méthylidène du composé **PLU 3**. 118
Figure 51 : Structures des composés **PLU 3** (gauche) et **PLU 9** (droite)..... 118
Figure 52 : Spectres RMN ^{1}H non découplé (haut) et après irradiation en H-8 (bas) de **PLU 4**..... 119
Figure 53 : Spectre RMN ^{1}H non découplé (haut) et après irradiation en H-11 (bas) de **PLU 4**. 120
Figure 54 : Corrélations HMBC clés du motif C-9 à C-14 de **PLU 4**..... 120
Figure 55 : Corrélations HMBC clés du motif lié à C-12 du composé **PLU 5**. 121
Figure 56 : Corrélations COSY et HMBC clés du composé **PLU 6**. 122
Figure 57 : Projection de Newman des deux épimères **PLU 5** et **PLU 6** (axe 11-12)..... 123
Figure 58 : Corrélations COSY et HMBC clés du motif C-7 à C-12 du composé **PLU 7**. 124
Figure 59 : Corrélations COSY et HMBC clés du motif lié à C-12 du composé **PLU 8**..... 125
Figure 60 : Représentation schématique du processus de création d'un réseau moléculaire à partir des spectres SM^{2} acquis pour les métabolites dans des mélanges complexes. 127
Figure 61 : Réseau moléculaire visualisé sur Cytoscape à partir des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. lucida*..... 129
Figure 62 : Propositions d'annotation des nœuds du cluster 1. 131
Figure 63 : Voies de fragmentation des flavonoïdes aglycones en SM^{2}. 133
Figure 64 : Proposition d'annotation des nœuds du cluster 2. 134
Figure 65 : Propositions d'annotation des nœuds du cluster 6. 135

Figure 66 : Propositions d'annotation des nœuds non clustérisés. 136
Figure 67 : Résultats des tests antipaludiques des composés isolés de *P. lucida*. 140
Figure 68 : Résultats des tests anti-inflammatoires des composés isolés de *P. lucida*. 141
Figure 69 : Résultats des tests cytotoxiques des composés isolés de *P. lucida*. 142
Figure 70 : Lieux de collecte de *P. dentata.* 149
Figure 71 : Profils CLHP-CAD de deux extraits bruts de *P. dentata* bioactifs (antipaludique et anti-inflammatoire). 152
Figure 72 : Profils CCM de l'extrait brut AcOEt et des deux fractions de *P. dentata.* 153
Figure 73 : Profils CLHP-CAD de l'extrait brut AcOEt et des deux fractions de *P. dentata.* 154
Figure 74 : Activité anti-inflammatoire de l'extrait brut AcOEt et des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. dentata.* 155
Figure 75 : Activité cytotoxique de l'extrait brut AcOEt et des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. dentata.* 156
Figure 76 : Fractionnement de l'extrait brut de *P. dentata* pour l'isolement des métabolites **PDE 1** à **PDE 25**. 159
Figure 77 : Métabolites spécialisés connus isolés de *P. dentata*. 161
Figure 78 : Corrélations COSY et HMBC clés du squelette labdane de **PDE 2** et **PDE 3**. 176
Figure 79 : Corrélations COSY et HMBC clés du motif angéloyle de **PDE 2** et **PDE 3**. 176
Figure 80 : Positions respectives des groupes méthyle, hydroxyméthyle et angéolyle sur le squelette labdane de **PDE 2** et **PDE 3**. 176
Figure 81 : Corrélations COSY et HMBC clés du motif buténolide de **PDE 2** et **PDE 3**. 177
Figure 82 : Structures des composés **PDE 2** et **PDE 3** (gauche) et du 3α-angéoyloxy-19-hydroxy-*ent*-labd-8(17),13-dién-15,16-olide (droite). 178
Figure 83 : Corrélations COSY et HMBC clés du motif lié à C-9 du composé **PDE 5**. 179
Figure 84 : Structures du composé **PDE 5** (gauche) et de l'acide 3α-hydroxy-*ent*-labd-8(17)-én-13-oïque (droite). 180
Figure 85 : Corrélations COSY et HMBC clés du squelette labdanique et du motif angéloyle de **PDE 11**. 181
Figure 86 : Corrélations NOE et HMBC clés du substituant en C-12 de **PDE 11**. 182
Figure 87 : Structures du composé **PDE 11** (gauche) et du 3α-angéloyloxy-15,18-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène (droite). 182
Figure 88 : Corrélations COSY et HMBC clés du squelette labdane et des substituants en C-3, C-4 et C-9 de **PDE 16**. 183
Figure 89 : Corrélations COSY et HMBC clés du cycle furandiol de **PDE 16**. 184
Figure 90 : Structures du composé **PDE 16** (gauche) et du conyzanol A (droite). 185
Figure 91 : Corrélations COSY et HMBC du cycle α,β-insaturé ɤ-lactone de **PDE 17** et **PDE 18**. 186
Figure 92 : Structures des composés **PDE 17** et **PDE 18** (gauche) et de la coronarine C (droite). 187
Figure 93 : Corrélations COSY et HMBC clés des substituants en C-3, C-4, C-9 et C-12 de **PDE 19**. ... 188
Figure 94 : Structures du composé **PDE 19** (gauche) et du 3α-angéloyloxy-15,19-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène (droite). 189
Figure 95 : Corrélations COSY et HMBC clés des substituants en C-4 de **PDE 20**. 189
Figure 96 : Corrélations COSY, NOE et HMBC clés de **PDE 25**. 191
Figure 97 : Structures du composé **PDE 25** (gauche) et du dihydroluvangétine (droite). 192
Figure 98 : Biosynthèse des diterpènes. 193
Figure 99 : Biosynthèse des diterpènes labdanes 193

Figure 100 : Formation des 4 séries de stéréoisomères du CPP à partir du GGPP 194
Figure 101 : Corrélations NOE clés du noyau décaline et du groupement angéloyle des nouveaux labdanes isolés de *P. dentata.* 195
Figure 102 : Réseau moléculaire visualisé sur Cytoscape à partir des fractions iso-hexanique et méthanolique de *P. dentata*..... 197
Figure 103 : Propositions d'annotation des nœuds du cluster 1. 198
Figure 104 : Propositions d'annotation des nœuds du cluster 2. 202
Figure 105 : Propositions d'annotation des nœuds du cluster 8. 205
Figure 106 : Propositions d'annotation des nœuds non clustérisés. 206
Figure 107 : Résultats des tests antipaludiques des composés isolés de *P. dentata*..... 211
Figure 108 : Résultats des tests anti-inflammatoires des composés isolés de *P. dentata*. 212
Figure 109 : Résultats des tests cytotoxiques des composés isolés de *P. dentata*..... 213
Figure 110 : Appareil CLMP pour le fractionnement (*Laboratoire ChemBioPro*)..... 230
Figure 111 : Système d'auto-purification Waters 2545 (*Laboratoire ChemBioPro*). 231
Figure 112 : Chaîne CLHP analytique Dionex Ultimate 3000 (*Laboratoire ChemBioPro*). 231
Figure 113 : Chaîne CLHP analytique Agilent (*Laboratoire ChemBioPro*). 231
Figure 114 : Chromatographe couplé à un spectromètre de masse (*Laboratoire ChemBioPro*)..... 232
Figure 115 : Chromatographe couplé à un détecteur à ionisation de flamme (*Laboratoire ChemBioPro*). 232
Figure 116 : Spectromètre IRTF (*Spectropole, Aix-Marseille Université*). 233
Figure 117 : Appareil UHPLC couplé à un spectromètre de masse haute résolution (*Station marine d'Endoume - IMBE, Aix-Marseille Université*)..... 233
Figure 118 : Spectromètre de masse SYNAPT G2 HDMS (*Spectropole, Aix-Marseille Université*)..... 234
Figure 119 : Spectromètre BRUKER Avance III - 600 MHz équipé d'une sonde BBFO$^+$ (*Spectropole, Aix-Marseille Université*)..... 234
Figure 120 : Spectromètre BRUKER Avance III - 600MHz Cryosonde (*CNRS Joseph Aiguier*). 235
Figure 121 : Réactions enzymatiques conduisant à la formation du formazan. 242

LEXIQUE

Acuminé : qualifie un organe végétal dont le sommet est terminé brusquement en une pointe fine.

Akène : fruit sec indéhiscent à graine non adhérente à la paroi interne du fruit.

Anastomose : fusion physique et fonctionnelle des organes de deux végétaux, en général appartenant à la même espèce, et via les racines.

Anthère : partie de l'étamine d'une fleur qui est un peu plus grosse et qui renferme le polllen dans deux loges polliniques.

Apprimé : poil couché et appliqué sur l'organe qui le porte mais non soudé à celui-ci.

Aranéeux : couvert de poils peu nombreux répartis comme une toile d'araignée.

Axillaire : se dit d'un bourgeon se développant dans l'angle formé par la tige au niveau d'une bractée ou d'une feuille.

Bractée : petite feuille colorée, située à la base d'un pédoncule floral.

Caduc, Caduque (adj.) : caractérise un organe (feuille, pétale, sépale) qui meurt et tombe après avoir accompli sa tache durant un cycle de vie annuel.

Calice : enveloppe protectrice la plus externe de la fleur, entourant la corolle et formée par l'ensemble des sépales, généralement de couleur verte.

Campanulé : qualifie un calice ou une corolle en forme de clochette, renversée ou dressée.

Canaliculé : qualifie un organe couvert d'un ou de plusieurs petit sillon peu profond en forme de gouttière.

Capitule : inflorescence formée de fleurs sessiles serrées sur un réceptacle.

Corolle : enveloppe de la fleur constituée des pétales et ordinairement colorée.

Corymbe : ensemble des fleurs en forme de parasol, réunis au même niveau bien que leurs pédoncules soient de longueurs différentes.

Costulé : muni de petites côtes.

Cunéiforme : partie qui va en s'élargissant de la base au sommet.

Deprimé : qualifie un organe plus ou moins creux et affaissé.

Expectorant : qui aide à rejeter par la bouche, lorsqu'on tousse, les sécrétions provenant des voies respiratoires.

Furoncle : gros bouton rempli de pus, provenant de l'infection d'un follicule pilosébacé par un staphylocoque.

Gale : maladie contagieuse de la peau, provoquée par un acarien parasite, et caractérisée par l'apparition de sillons creusés sous l'épiderme et par des démangeaisons.

Glabre : dépourvu de recouvrement tel que poils, écailles.

Glabrescent : presque glabre.

Glutineuse : recouverte d'une substance gluante ou collante.

Hérissé : se dit d'un organe muni de poils raides.

Indûment : ensemble de la pilosité.

Inflorescence : groupe de fleurs s d'un individu.

Involucre : ensemble de petites feuilles entourant la base de certaines fleurs.

Juvénile : organisme vivant ou un organe qui n'a pas atteint le stade adulte ou le stade de maturité.

Lâchement : de manière lâche.

Lancéolé : se dit d'une feuille en forme de fer de lance.

Liane : plante grimpante ou volubile.

Ligule : petite lame membraneuse à la face supérieure des feuilles des graminées.

Ligulé : en forme de languette.

Limbe : partie la plus importante, généralement large et aplatie, d'une feuille.

Morbidité : nombre des malades dans un groupe donné et pendant un temps déterminé.

Mucronulé : qualifie une terminaison d'organe en forme de très court mucron ou une feuille qui se termine par un très petit mucron.

Oblong (-ue) : bien plus long que large et arrondi aux deux bouts.

Obtuse : qualifie un organe (feuille, pétale, sépale...) à sommet arrondi.

Obtusiusule : Légèrement obtus.

Panicule : inflorescence complexe, en forme de grappe composée, dont les éléments sont soit des grappes, soit des cymes.

Papilleuse : couverte de papilles, de petites rugosités coniques ou hémisphériques.

Pennatinerve : feuille dont les nervures sont pennées.

Penninervé : se dit d'une feuille dont la nervure principale porte, de part et d'autre, des nervures secondaires disposées comme les barbes d'une plume.

Proéminent : qui est plus en relief que ce qui l'environne.

Pubescent : qualifie un organe densément couvert de poils fins et mous.

Saillant : qualifie une pièce dépassant nettement celles qui l'entourent.

Serreté : qualifie le contour d'une feuille lorsqu'il est découpé en dents de scie inclinées vers l'apex.

Sérrulé : qualifie un organe, généralement une feuille, dont la marge est munie de dents recourbées vers le sommet, comme celles d'une scie.

Tomentum : pilosité dense et continue de poils longs et feutrés.

Trinervé : qui comporte trois nervures.

Tubuleuse : en forme de tube allongé

Vermifuge : qui permet l’élimination des vers parasites de l’intestin.

Vernisée : enduit de vernis.

Lantomalala Elsa RAZAFINDRABENJA
ChemBioPro – Université de La Réunion

Thèse de doctorat en Chimie
03 Novembre 2021

Résumé

Les travaux de thèse exposés dans ce manuscrit portent sur l'étude chimique de plantes du genre *Psiadia.* Deux axes de recherche ont été menés parallèlement. Le premier a été consacré aux criblages chimique et biologique de cinq espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar. Le criblage chimique avait pour objectif d'identifier les biomarqueurs de ces espèces. Il comprend, d'une part, des analyses par CCM, CLHP-UV-CAD et RMN ^{1}H, pour l'étude des composés non volatils, et d'autre part, des analyses par CG-SM et CG-DIF pour l'étude des composés volatils. Le criblage biologique a permis, quant à lui, de déceler les espèces présentant des propriétés biologiques prometteuses. Les cibles biologiques choisies étaient le parasite *Plasmodium falciparum*, pour l'activité anti-paludique, les macrophages de souris stimulés par un composé pro-inflammatoire pour l'activité anti-inflammatoire et les lignées cellulaires cancéreuses HepG2 (cancer de foie humain) et HT 29 (cancer du côlon) pour l'activité cytotoxique. À l'issue de ce criblage, l'ensemble des extraits s'est révélé riche en métabolites et ayant un potentiel antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique. Le deuxième axe de recherche a été consacré à l'étude phytochimique détaillée d'une espèce endémique de La Réunion (*P. dentata*) et d'une espèce endémique de Madagascar (*P. lucida*), sélectionnées en raison de leurs fortes activités biologiques. L'extraction, l'isolement et l'élucidation structurale de leurs métabolites ont été entrepris par différentes techniques chromatographiques (CLMP, CLHP…) et spectroscopiques (UV, IRTF, SMHR, RMN 1D et 2D). Trente-quatre métabolites spécialisés appartenant à la famille des acides hydroxycinnamiques, des polyacétylènes, des flavonoïdes, des diterpènes et des coumarines ont été isolés de ces deux plantes. Seize sont de structures nouvelles. La valorisation des molécules isolées a ensuite été envisagée *via* l'évaluation de leurs activités biologiques. Vingt-sept composés se sont montrés actifs contre le parasite *P. falciparum* (isokaempféride,3α-angéoyloxy-19,16*(R)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide, …), dix ont montré une activité anti-inflammatoire et se sont révélés en même temps être non toxiques pour les cellules Raw (3α-angéoyloxy-19,15(*R*)-dihydroxy-*ent*-andrograpanine, 3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol, …) et sept ont manifesté une cytotoxicité prometteuse sur cellules HepG2 et HT 29 (11-hydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol, ermanine, …). Par ailleurs, une approche bio-informatique par génération de réseaux moléculaires à partir des analyses CLUHP-SM^{2} des fractions issues des deux espèces a permis de déceler la présence de 27 autres composés tels que le falcarinol et l'acide labdanolique, connus pour être bioactifs.

Mots clés : *Psiadia*, *Psiadia lucida*, *Psiadia dentata*, RMN, CG-SM, CG-DIF, CLHP, CLUHP-SM^{2}, activité antipaludique, activité anti-inflammatoire, activité cytotoxique, réseau moléculaire.

Abstract

The work described in this manuscript concerns the chemical study of species belonging to the genus *Psiadia*. Two research topics were carried out. The first one consists of chemical and biological screening of five species of the genus *Psiadia* endemics to Madagascar. The aim of the chemical screening was to identify biomarkers in these species. Its includes analyses using TLC, HPLC and ^{1}H NMR for non-volatile compounds, and analyses using GC-MS and GC-FID for volatile compounds. Biological screening allowed to detect species with promising biological activities. The biological targeted were *Plasmodium falciparum*, that causes malaria, mouse macrophages stimulated by pro-inflammatory compounds, HepG2 (human liver cancer) and HT 29 (human colon cancer) cell lines. All the extracts are rich in metabolites and exerted antiplasmodial, anti-inflammatory and cytotoxic activities. The second research topic was devoted to a phytochemical study of *P. dentata*, endemic to Reunion Island and *P. lucida*, endemic to Madagascar. These two plants were selected because of their noteworthy biological activities. The extraction, isolation and identification were undertaken by various chromatographic (MPLC, HPLC ...) and spectroscopic (UV, IR, HRMS, 1D and 2D NMR) techniques. Thirty-four metabolites including hydroxycinnamic acids, polyacetylenes, flavonoïds, diterpenes and coumarins were isolated from these two plants. Sixteen are new compounds. The biological activities of the isolated compounds were then evaluated. Twenty-seven compounds (isokaempferide, 3α-angeoyloxy-19,16(*R*)-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dien-15,16-olide ...) were active against *P. falciparum*, ten (3α-angeoyloxy-19,15(*R*)-dihydroxy-*ent*-andrograpanin, 3(*R*),8(*R*)-dehydrofalcarindiol ...) exhibited anti-inflammatory activity and at the same time showed no toxicity to healthy cells and seven (11-hydroxy-3(R),8(R)-dehydrofalcarindiol, ermanine …) displayed promising cytotoxicity on HepG2 and HT 29 cells. Furthermore, a bioinformatics approach by generation of molecular networking from LC-MS^{2} analyses of these two species fractions involved that 27 others compounds such as falcarinol and labdanolic acid were present in these species and most of them are known to be bioactive.

Keywords: *Psiadia*, *Psiadia dentata*, *Psiadia lucida*, NMR, GC-MS, GC-FID, HPLC, UHPLC-MS^{2}, antiplasmodial activity, anti-inflammatory activity, cytotoxic activity, molecular networking.

UNIVERSITÉ DE LA RÉUNION
École Doctorale Sciences Technologies Santé

THÈSE DE DOCTORAT
Soutenue publiquement le 03 Novembre 2021

Par

Lantomalala Elsa RAZAFINDRABENJA

Étude chimique et valorisation pharmacologique d'espèces du genre *Psiadia* endémiques de La Réunion et de Madagascar

TOME II

Composition du jury

BIALECKI Anne, Professeur, Université de La Réunion	**Directrice de thèse**
GRONDIN Isabelle, MCF-HDR, Université de La Réunion	**Co-directrice de thèse**
FREDERICH Michel, Professeur, Université de Liège	**Encadrant**
HERBETTE Gaëtan, Ingénieur de Recherche, Aix-Marseille Université	**Examinateur**
EL KALAMOUNI Chaker, MCF-HDR, Université de La Réunion	**Examinateur**
MAMBU Lengo Angèle, Professeur, Université de Limoges	**Rapporteur**
VOUTQUENNE-NAZABADIOKO Laurence, Professeur, Université de Reims	**Rapporteur**

NOTES AUX LECTEURS

Ce mémoire est constitué de deux Tomes. Le Tome II complète le Tome I précédent et comprend :

- la majorité des tableaux et des figures,
- l'ensemble des spectres (UV, IRTF, SM et RMN) des extraits bruts et des composés isolés.

Les tableaux et les figures se trouvant respectivement dans les Tomes I et II ont été numérotés indépendamment.

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE I : Description de la collecte des 5 espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar 2

ANNEXE II : Compositions chimiques des huiles essentielles de *Psiadia* de Madagascar 2

ANNEXE III : Données spectrales des métabolites isolés de l'huile essentielle de *P. lucida* collectée à Angavokely 2

ANNEXE IV : Résultats du criblage chimique des extraits bruts de *Psiadia* de Madagascar 2

ANNEXE V : Données spectrales des métabolites isolés de *Psiadia lucida* 2

ANNEXE VI : Spectres de masse SM^2 des nœuds annotés sur le réseau moléculaire de *Psiadia lucida* 2

ANNEXE VII : Activités biologiques des composés isolés et/ou détectés par CLUHP-SM^2 de *Psiadia lucida* 2

ANNEXE VIII : Données spectrales des métabolites isolés de *Psiadia dentata* 2

ANNEXE IX : Spectres de masse SM^2 des nœuds annotés sur le réseau moléculaire de *Psiadia dentata* 2

ANNEXE X : Activités biologiques des composés isolés et/ou détectés par CLUHP-SM^2 de *Psiadia dentata* 2

ANNEXE XI : Méthode générale proposée par Dale & Mosher en 1973 pour déterminer une stéréochimie 2

ANNEXE I

Description de la collecte des 5 espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar

Tableau I : Descriptions de la collecte des 5 espèces du genre *Psiadia* de Madagascar.

Espèce	Image	Lieu de collecte	Date de collecte	N° d'herbier (Madagascar)	N° d'herbier (La Réunion)	Point GPS	Alt. (m)
P. altissima* var. *altissima		Ambositra	30 Oct. 2018	RIR 3183	REU024088	20°24'33,9" S/47°14'34,2"E	1 270
		Moramanga	02 Nov. 2018	RIR 3196	REU024089	18°58'16,7"S/48°19'16,7"E	919
P. altissima* var. *stenophylla		Behenjy	31 Oct. 2018	RIR 3189	REU024090	19°15'22,7"S/47°28'53,0"E	1 395
P. hispida		Angavokely	14 Janv. 2019	RZK 8265	REU024086	18°55'38,1"S/47°44'13,2"E	1 758
P. leucophylla		Angavobe	02 Nov. 2018	RIR 3193	REU024087	18°55'34,9"S/47°45'07,8"E	1 743
P. lucida		Andasibe	14 Janv. 2019	RIR 3195	REU024082	18°55'18,8"S/48°25'30,9"E	967
		Angavokely	01 Nov. 2018	RIR 3191	REU024081	18°55'18,2"S/47°44'19,2"E	1 602
		Ankaratra	31 Oct. 2018	RIR 3186	REU024079	19°21'16,4"S/47°18'31,4"E	1 803
P. salviifolia		Antsirabe	30 Oct. 2018	RIR 3185	REU024085	19°52'32,7"S/47°05'18,7"E	1 648

Alt. = altitude

ANNEXE II

Compositions chimiques des huiles essentielles de *Psiadia* de Madagascar

Tableau II : Rendements d'extraction des HE des espèces malgaches étudiées.

Psiadia	Lieu de collecte	Masse des feuilles (kg)	Masse de l'HE (g)	Rendement (%)	Couleur des HE
P. altissima* var. *altissima	Ambositra	1,08	5,42	**0,50**	Jaune pâle
	Moramanga	0,99	2,46	**0,25**	Jaune claire
P. altissima* var. *stenophylla	Behenjy	3,13	3,13	**0,30**	Jaune claire
P. hispida	Angavokely	0,81	6,49	**0,80**	Jaune pâle
P. leucophylla	Angavobe	1,03	0,41	**0,04**	Jaune claire
P. lucida	Andasibe	0,43	0,17	**0,04**	Jaune foncée
	Angavokely	1,01	6,21	**0,62**	Jaune pâle
	Ankaratra	0,88	1,21	**0,14**	Jaune foncée
P. salviifolia	Antsirabe	1,04	1,92	**0,19**	Jaune claire

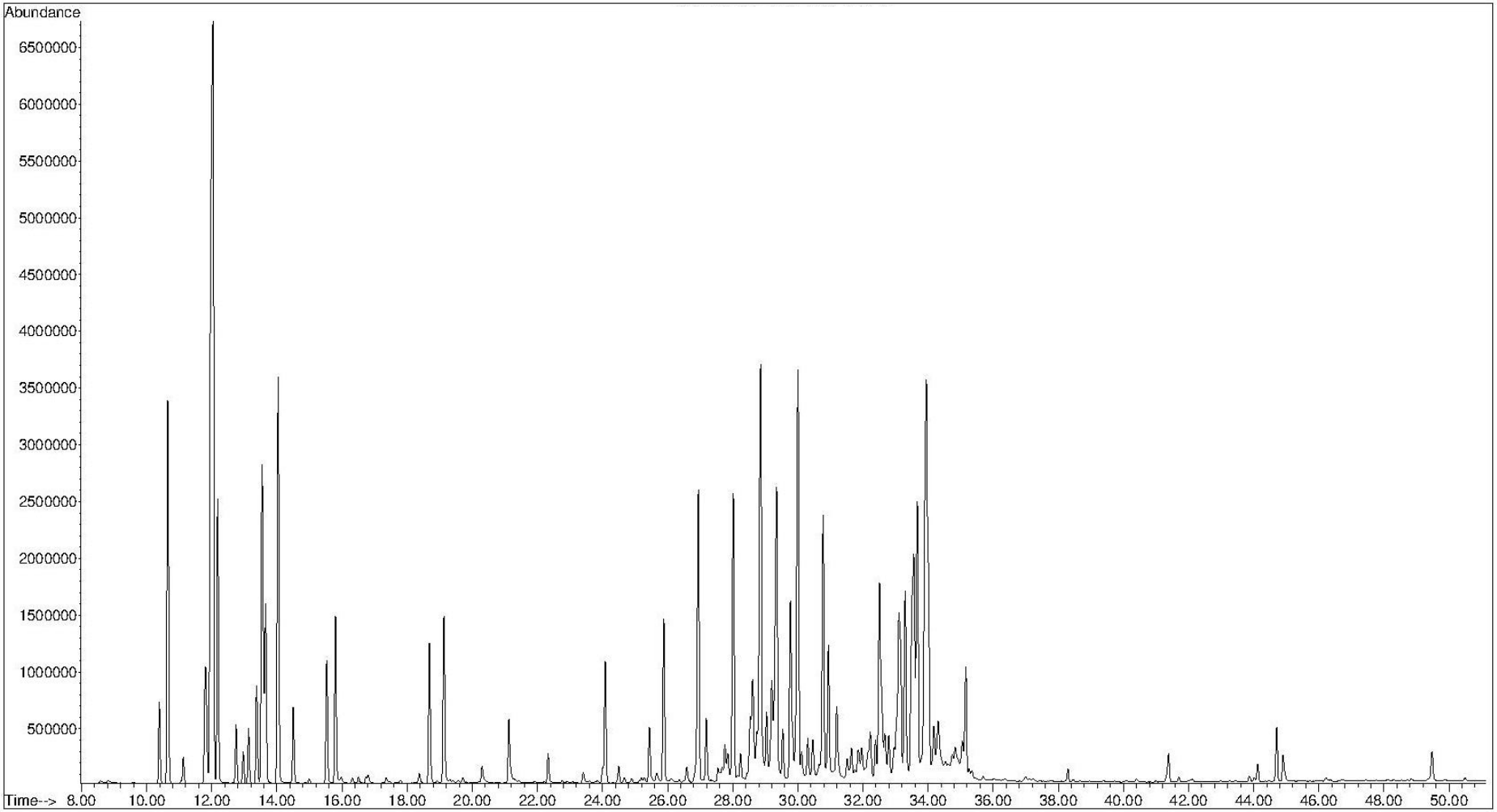


Figure 1 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de *P. altissima* var. *altissima* collectées à Ambositra.

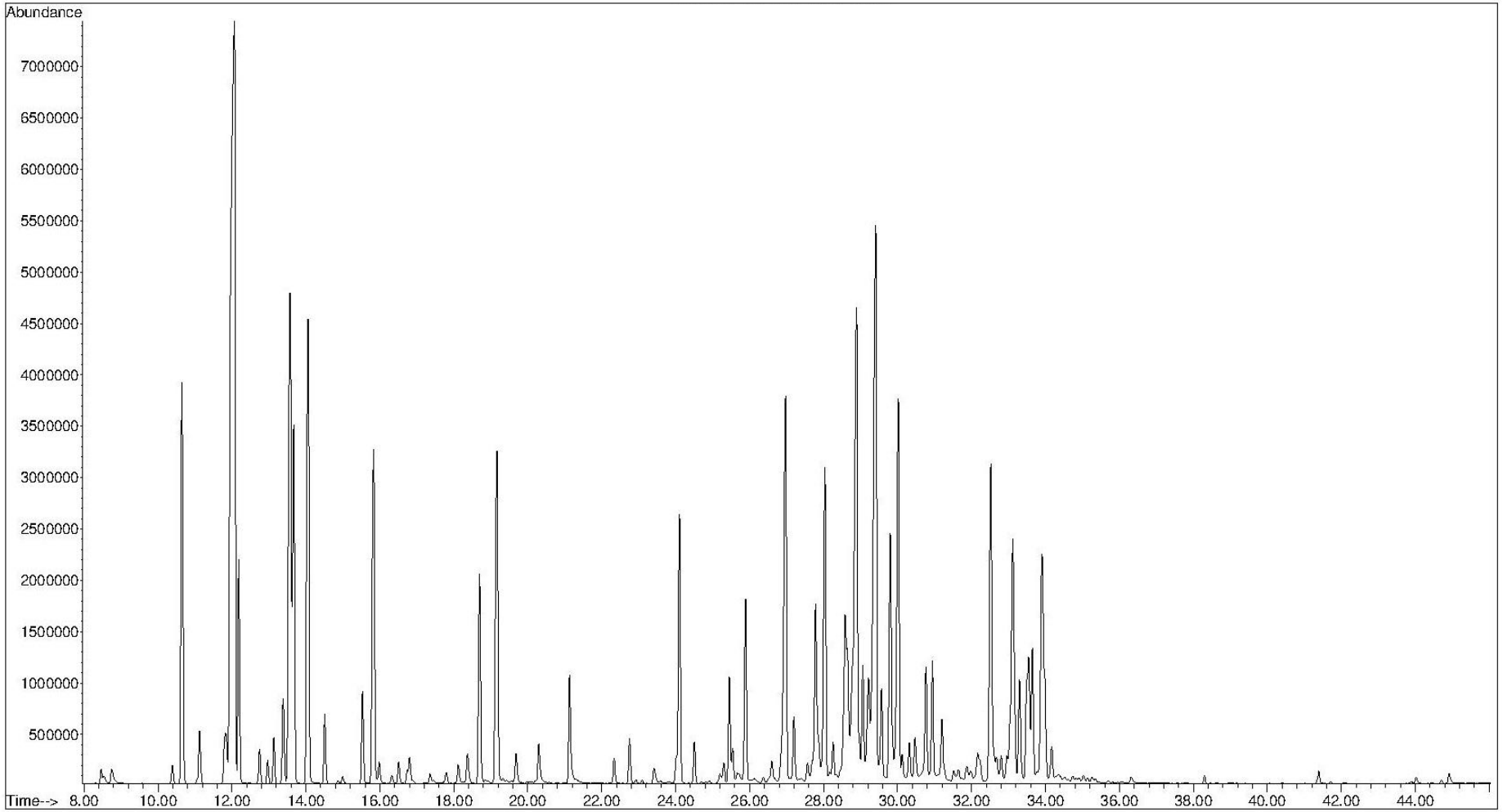


Figure 2 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de *P. altissima* var. *altissima* collectées à Moramanga.

Tableau III : Composition chimique des HE des feuilles de *P. altissima* var. *altissima* collectées à Ambositra et Moramanga.

Composés	**IRR (SPB-5)**	**IRR (Litt.)**	***P. altissima* var. *altissima***	
			Ambositra	Moramanga
Aldéhydes				
2-*(E)*-hexénal	853	855	-	t
Monoterpènes hydrocarbonés				
α-thujène	931	930	0,4	0,1
α-pinène	940	939	m*(9,1)	4,5
camphène	956	954	m (9,1)	2,9
sabinène	980	975	0,6	0,4
β-pinène	987	979	m*(47,2)	44,9
myrcène	993	991	m (47,2)	-
α-phellandrène	1011	1003	0,4	t
p-mentha-1(7),8-diène	1017	1004	0,1	t
α-terpinène	1022	1017	m (1,1)	t
p-cymène	1030	1025	m*(1,1)	0,4
limonène	1035	1029	m*(8,6)	10,4
(Z)-β-ocimène	1039	1037	m (8,6)	7,3
(E)-β-ocimène	1050	1050	8,7	2,3
γ-terpinène	1064	1060	1,3	t
terpinolène	1095	1089	1,3	0,3
allo-ocimène	1132	1132	-	m*(0,1)
Monoterpènes oxygénés				
linalol	1103	1095	2,3	1,8
α-fenchol	1123	1117	-	t
(Z)-p-menth-2-én-1-ol	1130	1122	-	m (0,1)
bornéol	1177	1169	-	0,1
terpinén-4-ol	1186	1177	1,3	0,7
α-terpinéol	1199	1189	1,1	1,3
nérol	1234	1230	0,2	0,1
géraniol	1258	1253	0,2	0,2
acétate de bornyle	1293	1289	t	t
acétate de carquéjyle	1306	1299	-	0,1
(Z)-diméthoxy-citral	1326	1318	-	t

Tableau III (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. altissima* var. *altissima*	
			Ambositra	Moramanga
Sesquiterpènes hydrocarbonés				
δ-élémène	1347	1338	0,4	0,7
α-cubébène	1359	1351	t	t
α-ylangène	1384	1375	-	0,1
α-copaène	1388	1377	0,3	m*(0,4)
β-élémène	1402	1391	0,7	0,6
α-gurjunène	1424	1410	t	t
longifolène	1433	1408	-	t
β-caryophyllène	1436	1419	1,7	1,7
γ-élémène	1444	1437	0,7	-
β-gurjunène	1444	1434	-	0,7
(Z)-muurola-3,5-diène	1462	1450	0,1	m (0,9)
(E)-muurola-3,5-diène	1465	1454	0,1	m*(0,9)
α-humulène	1471	1455	1,4	1,3
(Z)-muurola-4(14),5-diène	1478	1467	0,1	0,2
(E)-cadina-1(6),4-diène	14 87	1477	0,2	t
γ-curcumène	1489	1483	-	0,7
γ-muurolène	1491	1480	0,4	0,3
α-amorphène	1494	1485	0,3	-
germacrène D	1498	1485	0,3	0,9
β-sélinène	1504	1490	0,4	0,7
(E)-muurola-4(14),5-diène	1509	1494	0,2	0,2
(Z)-β-guaiène	1514	1494	1,6	3,5
δ-amorphène	1521	1512	0,1	0,2
γ-cadinène	1528	1514	m*(0,5)	0,7
δ-cadinène	1537	1523	1,7	1,7
zonarène	1541	1530	t	t
(E)-cadina-1(2),4-diène	1547	1535	0,1	0,1
α-cadinène	1552	1539	m*(0,2)	0,2
α-calacorène	1552	1546	m (0,2)	-
germacrène B	1577	1561	0,2	0,2

Tableau III (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. altissima* var. *altissima*	
			Ambositra	Moramanga
Sesquiterpènes oxygénés				
élémol	1563	1550	0,3	0,4
cubébol	1531	1515	m (0,5)	t
(E)-nérolidol	1569	1563	0,3	0,3
germacrène D-4-ol	1592	1576	t	-
guaiol	1610	1601	-	t
gléenol	1600	1587	t	-
oxyde de caryophyllène	1603	1583	t	-
(Z)-β-élémone	1618	1590	t	-
viridiflorol	1625	1593	0,4	-
1,10-di-*épi*-cubénol	1633	1619	0,1	t
10-*épi*-γ-eudesmol	1642	1624	t	t
1-*épi*-cubénol	1647	1629	-	0,1
γ-eudesmol	1651	1632	0,2	0,2
τ-cadinol	1658	1640	m*(0,1)	0,2
τ-muurolol	1661	1642	m (0,1)	0,1
α-muurolol	1664	1646	0,3	-
β-eudesmol	1672	1651	m (0,5)	0,8
α-cadinol	1674	1654	m*(0,5)	0,2
α-eudesmol	1677	1654	0,2	0,1
sélin-11-én-4-α-ol	1683	1660	t	0,1
khusinol	1706	1680	t	-
germacrone	1719	1694	t	-
(Z)-acétate de lancéyle	1964	1856	t	-
Diterpènes hydrocarbonés				
pimaradiène	2082	1950	t	-
Diterpènes oxygénés				
manol	2108	2057	t	-
phytol	2116	1943	t	-

Tableau III (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. altissima* var. *altissima*	
			Ambositra	Moramanga
Aldéhydes			**-**	**t**
Monoterpènes hydrocarbonés			**78,7**	**73,4**
Monoterpènes oxygénés			**5,1**	**4,2**
Sesquiterpènes hydrocarbonés			**11,5**	**16,2**
Sesquiterpènes oxygénés			**2,5**	**2,5**
Diterpènes hydrocarbonés			**t**	**-**
Diterpènes oxygénés			**t**	**-**
Total identifié			**97,8**	**96,3**

t = trace (<0,1 %), m = mélange, m*() = composé majoritaire du mélange, Litt. = littérature

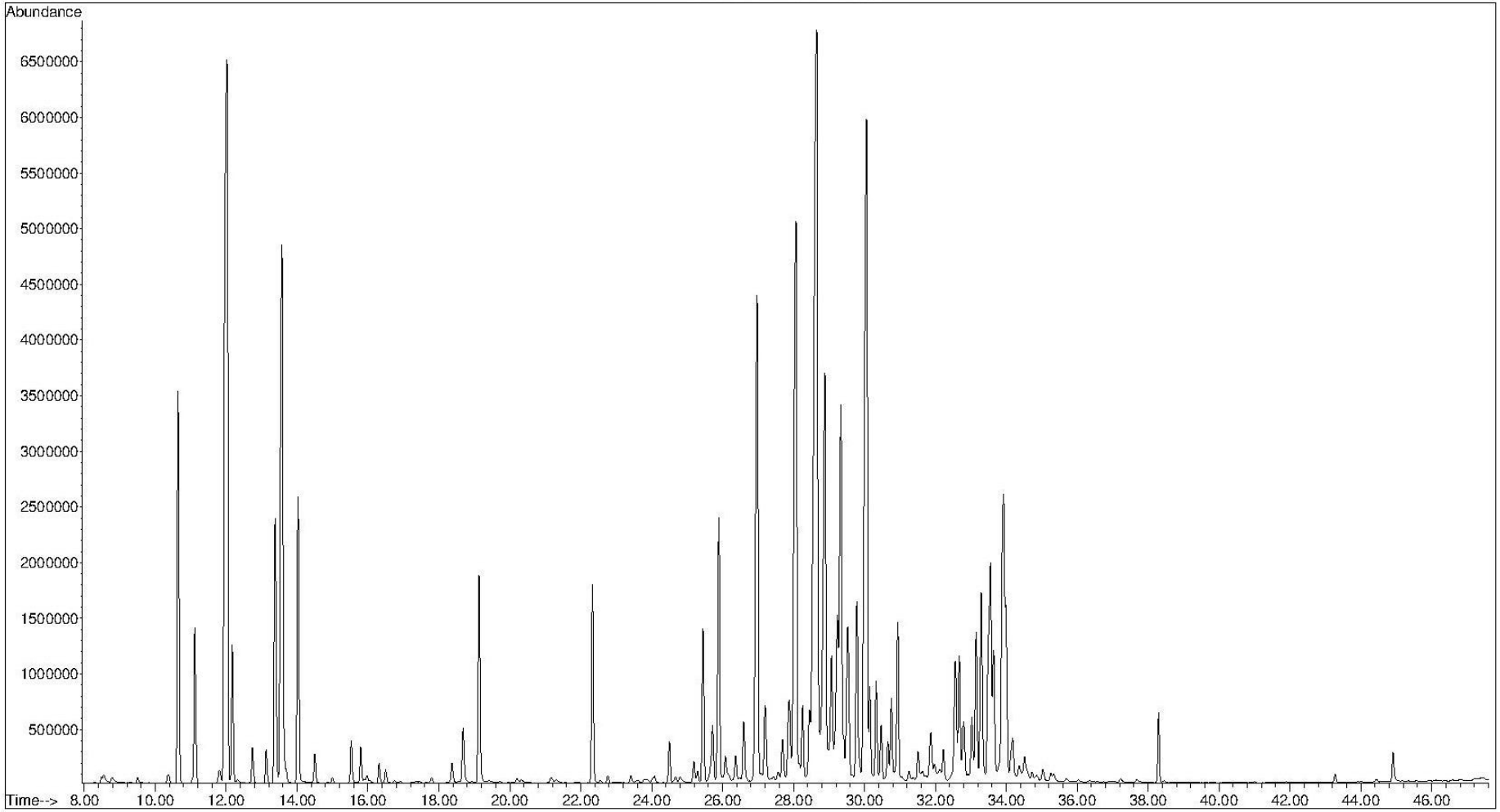


Figure 3 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de *P. altissima* var. *stenophylla* collectées à Behenjy.

Tableau IV : Composition chimique de l'HE des feuilles de *P. altissima* var. *stenophylla* collectées à Behenjy.

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. altissima* var. *stenophylla* Behenjy
Monoterpènes hydrocarbonés			
α-pinène	940	939	4,7
camphène	956	954	4,8
β-pinène	987	979	34,9
myrcène	993	991	0,1
α-phellandrène	1011	1003	t
α-terpinène	1022	1017	t
p-cymène	1030	1025	1,2
limonène	1035	1029	15,8
(Z)-β-ocimène	1039	1037	5,4
(E)-β-ocimène	1050	1050	0,6
terpinolène	1095	1089	0,5
Monoterpènes oxygénés			
linalol	1103	1095	0,7
périllène	1118	1101	0,3
α-fenchol	1123	1117	0,1
bornéol	1177	1169	0,2
terpinén-4-ol	1186	1177	0,4
α-terpinéol	1199	1189	1,1
acétate de bornyle	1293	1289	1,0
Sesquiterpènes hydrocarbonés			
α-cubébène	1359	1351	0,1
α-ylangène	1384	1375	0,1
α-copaène	1388	1377	0,5
7-*épi*-sesquithujène	1397	1391	0,1
β-élémène	1402	1391	1,0
cypérène	1418	1399	t
α-gurjunène	1424	1410	0,1
β-caryophyllène	1436	1419	2,3
β-copaène	1444	1432	0,3
(E)-muurola-3,5-diène	1465	1454	0,3
α-humulène	1471	1455	3,7

Tableau IV (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. altissima* var. *stenophylla*
			Behenjy
Sesquiterpènes hydrocarbonés (suite)			
(Z)-muurola-4(14),5-diène	1478	1467	0,1
γ-curcumène	1489	1483	5,8
germacrène D	1498	1485	1,0
(E)-muurola-4(14),5-diène	1509	1494	m*(1,1)
(Z)-β-guaiène	1514	1494	m (1,1)
(E)-β-guaiène	1513	1503	m*(2,3)
β-humachalène	1520	1505	0,6
γ-cadinène	1528	1514	0,6
δ-cadinène	1537	1523	0,3
zonarène	1541	1530	0,1
(E)-cadina-1(2),4-diène	1547	1535	t
α-cadinène	1552	1539	t
α-calacorène	1552	1546	0,4
Sesquiterpènes oxygénés			
élémol	1563	1550	0,6
(E)-nérolidol	1569	1563	0,2
lédol	1588	1569	0,2
guaiol	1610	1601	m (0,3)
viridiflorol	1625	1593	m*(0,3)
1,10-di-*épi*-cubénol	1633	1619	m*(0,1)
10-*épi*-γ-eudesmol	1642	1624	0,1
1-*épi*-cubénol	1647	1629	0,2
γ-eudesmol	1651	1632	0,2
τ-cadinol	1658	1640	m*(0,3)
τ-muurolol	1661	1642	m (0,3)
α-muurolol	1664	1646	0,2
β-eudesmol	1672	1651	m (0,6)
α-cadinol	1674	1654	m*(0,6)
α-eudesmol	1677	1654	0,2
épi-β-bisabolol	1681	1672	m(0,3)
sélin-11-én-4-α-ol	1683	1660	m*(0,3)

Tableau IV (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. altissima* var. *stenophylla*
			Behenjy
Sesquiterpènes oxygénés (suite)			
épi-α-bisabolol	1695	1685	t
α-bisabolol	1697	1686	t
Diterpènes oxygénés			
phytol	2116	1943	t
Composés aromatiques			
méthyl eugénol	1408	1404	t
Monoterpènes hydrocarbonés			**67,9**
Monoterpènes oxygénés			**3,8**
Sesquiterpènes hydrocarbonés			**20,7**
Sesquiterpènes oxygénés			**3,4**
Diterpènes oxygénés			**t**
Composé aromatique			**t**
Total identifié			**95,8**

t = trace (<0,1 %), m = mélange, m*() = composé majoritaire du mélange, Litt. = littérature

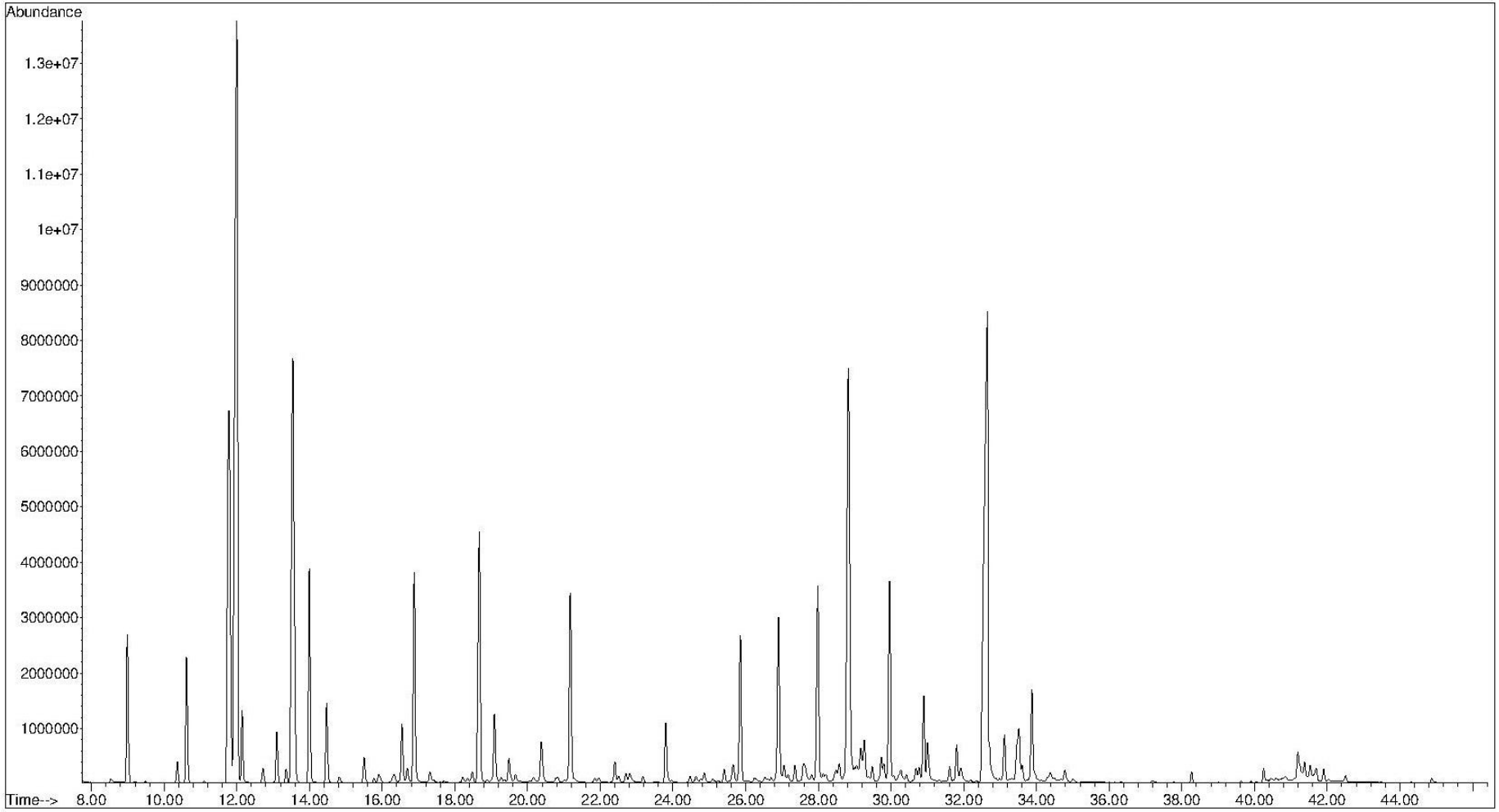


Figure 4 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de *P. hispida* collectées à Angavokely.

Tableau V : Composition chimique de l'HE des feuilles de *P. hispida* collectées à Angavokely.

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. hispida* Angavokely
Monoterpènes hydrocarbonés			
α-thujène	931	930	0,6
α-pinène	940	939	4,2
sabinène	980	975	m (46,9)
β-pinène	988	979	m*(46,9)
myrcène	993	991	m (46,9)
α-terpinène	1022	1017	1,2
limonène	1036	1029	16,0
(Z)-β-ocimène	1050	1037	5,7
(E)-β-ocimène	1064	1050	3,0
terpinolène	1095	1089	0,5
p-1,3,8-menthatriène	1126	1103	0,3
Monoterpènes oxygénés			
(E)-hydrate de sabinène	1107	1098	0,1
(Z)-p-menth-2-én-1-ol	1130	1122	t
(E)-p-menth-2-én-1-ol	1148	1141	t
terpinén-4-ol	1187	1177	2,7
α-terpinéol	1199	1189	0,6
acétate de verbanyle	1372	1344	t
(E)-acétate de myrtényle	1388	1387	0,1
Sesquiterpènes hydrocarbonés			
δ-élémène	1339	1338	0,2
β-élémène	1402	1391	0,7
β-caryophyllène	1436	1419	1,0
α-guaiène	1450	1440	0,1
aromadendrène	1460	1441	m*(0,1)
α-humulène	1471	1455	1,7
(Z)-muurola-4(14),5-diène	1478	1467	t
(E)-cadina-1(6),4-diène	1491	1477	t
γ-muurolène	1497	1480	0,3
(E)-muurola-4(14),5-diène	1510	1494	0,1
α-muurolène	1513	1500	t

Tableau V (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. hispida* Angavokely
Sesquiterpènes hydrocarbonés (suite)			
α-bulnésène	1520	1510	0,3
γ-cadinène	1528	1514	0,2
δ-cadinène	1536	1523	1,0
(E)-cadina-1(2),4-diène	1547	1535	0,1
Sesquiterpènes oxygénés			
cubébol	1531	1515	0,2
(E)-nérolidol	1569	1563	0,1
germacrène D-4-ol	1593	1576	t
gléenol	1599	1587	t
1-*épi*-cubénol	1646	1629	t
τ-cadinol	1659	1640	m (0,2)
τ-muurolol	1661	1642	m (0,2)
α-muurolol	1664	1646	m*(0,2)
α-cadinol	1673	1654	0,4
khusinol	1706	1680	t
Diterpènes oxygénés			
manol	2082	2057	0,4
phytol	2116	1943	0,1
Monoterpènes hydrocarbonés			**78,4**
Monoterpènes oxygénés			**3,6**
Sesquiterpènes hydrocarbonés			**5,7**
Sesquiterpènes oxygénés			**0,9**
Diterpènes oxygénés			**0,5**
Total identifié			**89,1**

t = trace (<0,1 %), m = mélange, m*() = composé majoritaire du mélange, Litt. = littérature

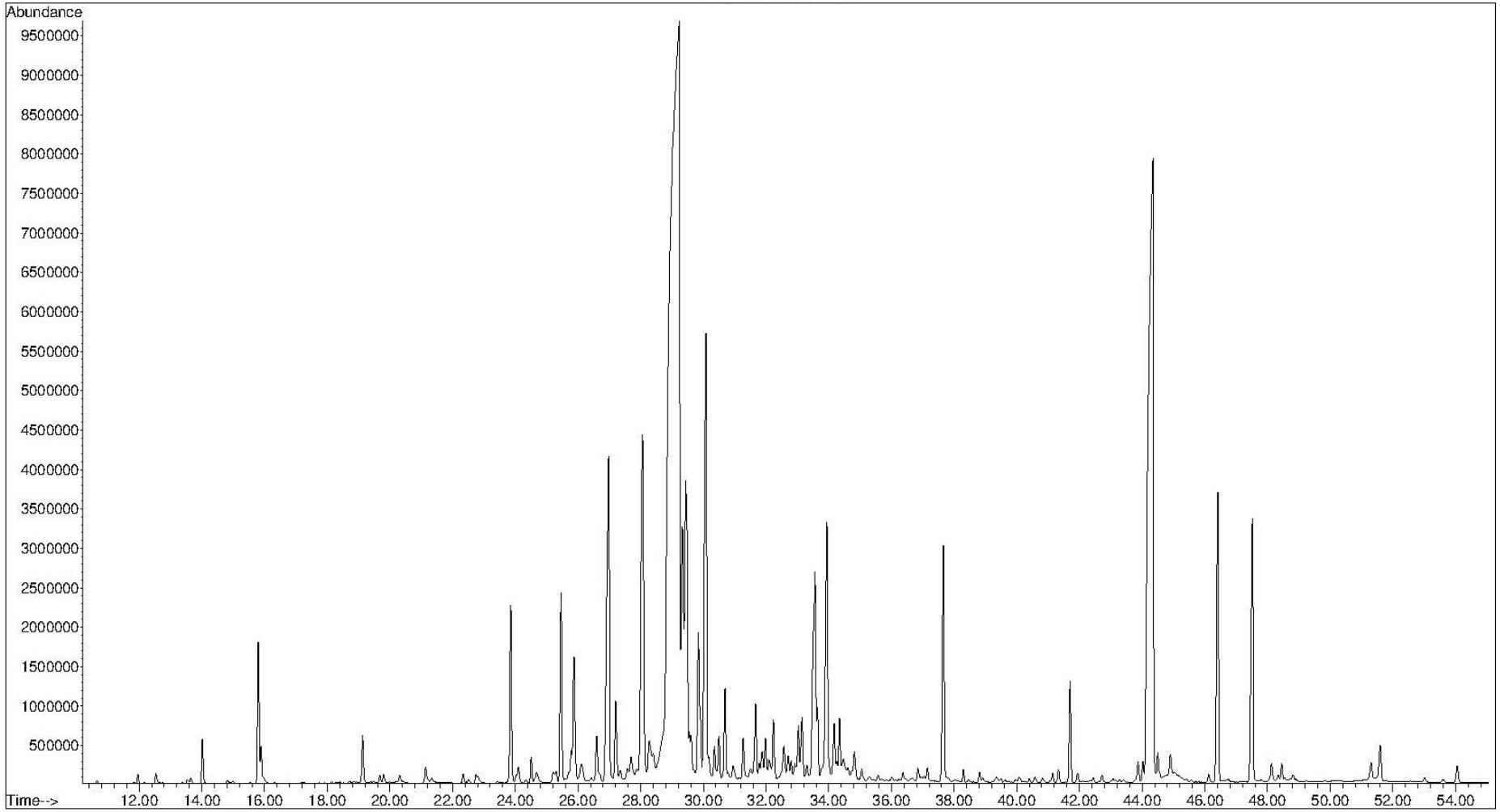


Figure 5 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de *P. leucophylla* collectées à Angavobe.

Tableau VI : Composition chimique de l'HE des feuilles de *P. leucophylla* collectées à Angavobe.

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. leucophylla* Angavobe
Alcools			
(E)-3-hexénol	856	854	0,4
Aldéhydes			
octanal	1004	999	0,2
Monoterpènes hydrocarbonés			
β-pinène	988	979	t
(Z)-β-ocimène	1050	1037	0,6
Monoterpènes oxygénés			
linalol	1103	1097	1,3
fragranol	1219	1216	0,1
nérol	1234	1230	t
géraniol	1258	1253	0,1
acétate de carquéjyle	1306	1299	t
acétate de néryle	1365	1362	0,3
néryl acétone	1457	1436	m (3,2)
Sesquiterpènes hydrocarbonés			
δ-élémène	1339	1338	m*(0,1)
α-cubébène	1359	1351	0,8
α-copaène	1389	1377	5,0
α-gurjunène	1425	1410	0,2
β-ylangène	1434	1421	t
β-caryophyllène	1436	1419	10,6
β-copaène	1444	1432	4,6
(Z)-muurola-3,5-diène	1460	1450	m*(3,2)
α-humulène	1471	1455	6,9
(Z)-muurola-4(14),5-diène	1478	1467	1,5
γ-muurolène	1497	1480	4,6
(E)-muurola-4(14),5-diène	1510	1494	7,2
α-muurolène	1513	1500	3,6
δ-amorphène	1522	1512	m*(2,4)
γ-cadinène	1528	1514	m*(2,6)
δ-cadinène	1536	1523	8,9

Tableau VI (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. leucophylla* Angavobe
Sesquiterpènes hydrocarbonés (suite)			
(E)-cadina-1(2),4-diène	1547	1535	0,2
α-cadinène	1553	1539	1,0
α-calacorène	1559	1546	2,6
β-calacorène	1580	1566	0,1
cadalène	1693	1677	0,2
Sesquiterpènes oxygénés			
cubébol	1531	1515	m (2,6)
(E)-nérolidol	1569	1563	t
germacrène D-4-ol	1593	1576	t
spathulénol	1597	1578	0,2
oxyde de caryophyllène	1604	1583	0,1
viridiflorol	1625	1593	0,4
1,10-di-*épi*-cubénol	1633	1619	0,2
1-*épi*-cubénol	1646	1629	t
τ-cadinol	1659	1640	m (1,3)
τ-muurolol	1661	1642	m (1,3)
α-muurolol	1664	1646	m*(1,3)
α-cadinol	1673	1654	1,2
sélin-11-én-4-α-ol	1682	1660	0,1
eudesma-4(15),7-dièn-1-β-ol	1706	1688	0,3
14-hydroxy-α-muurolène	1793	1780	t
Sesquiterpènes sulfurés			
sulphure de menthe	1764	1741	0,1
Diterpènes hydrocarbonés			
pimaradiène	1987	1950	0,9
sclarène	2071	1975	0,9
Diterpènes oxygénés			
manol	2082	2057	6,4
nézukol	2230	2133	t
Composés aromatiques			
benzoate de benzyle	1782	1760	t

Tableau VI (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. leucophylla* Angavobe
Alcools			**0,4**
Aldéhydes			**0,2**
Monoterpènes hydrocarbonés			**0,6**
Monoterpènes oxygénés			**1,8**
Sesquiterpènes hydrocarbonés			**66,4**
Sesquiterpènes oxygénés			**6,2**
Sesquiterpènes sulfurés			**0,1**
Diterpènes hydrocarbonés			**1,8**
Diterpènes oxygénés			**6,4**
Composés aromatiques			**t**
Total identifié			**84,0**

t = trace (<0,1 %), m = mélange, m*() = composé majoritaire du mélange, Litt. = littérature

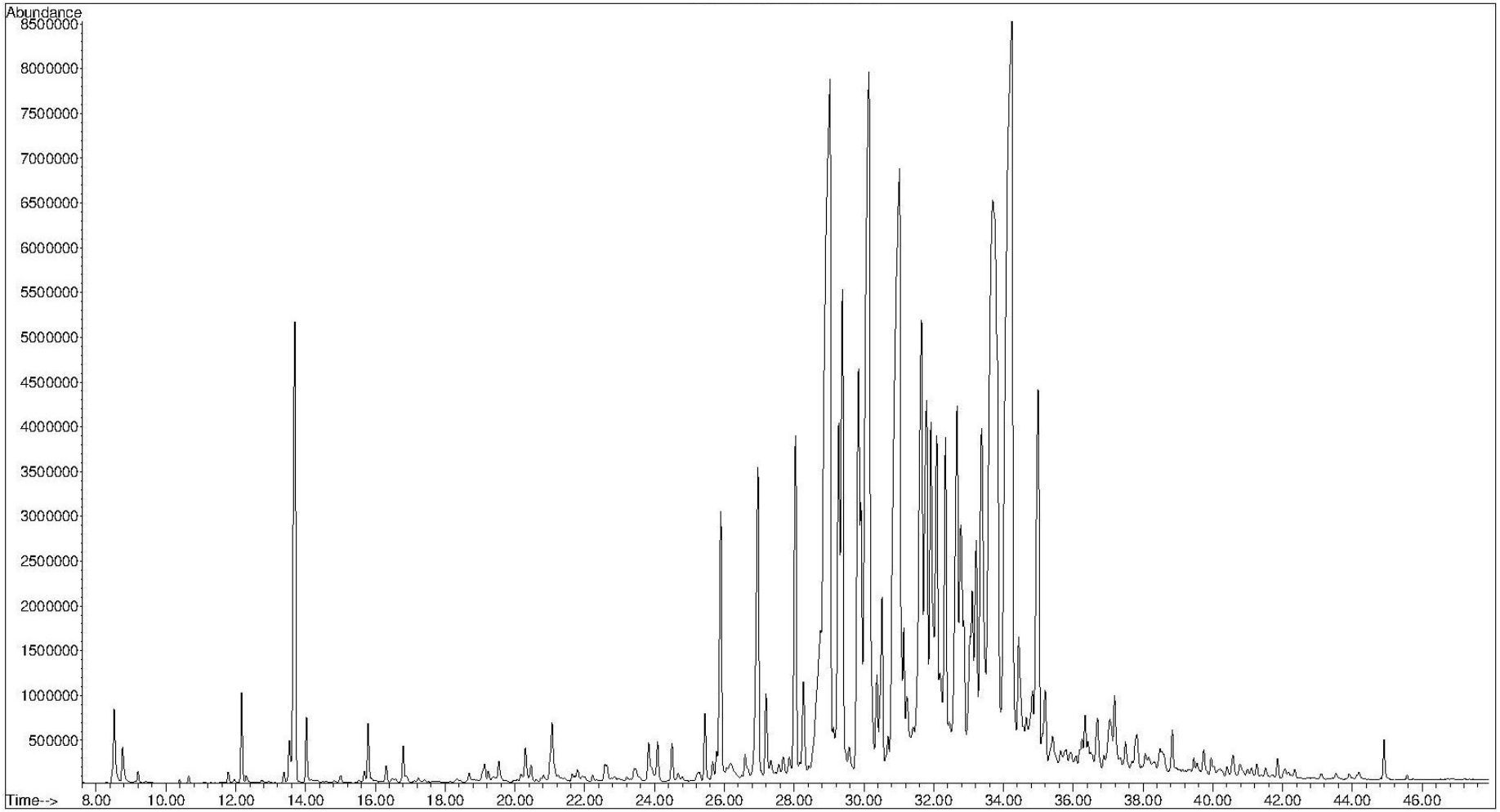


Figure 6 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de *P. lucida* collectées à Andasibe.

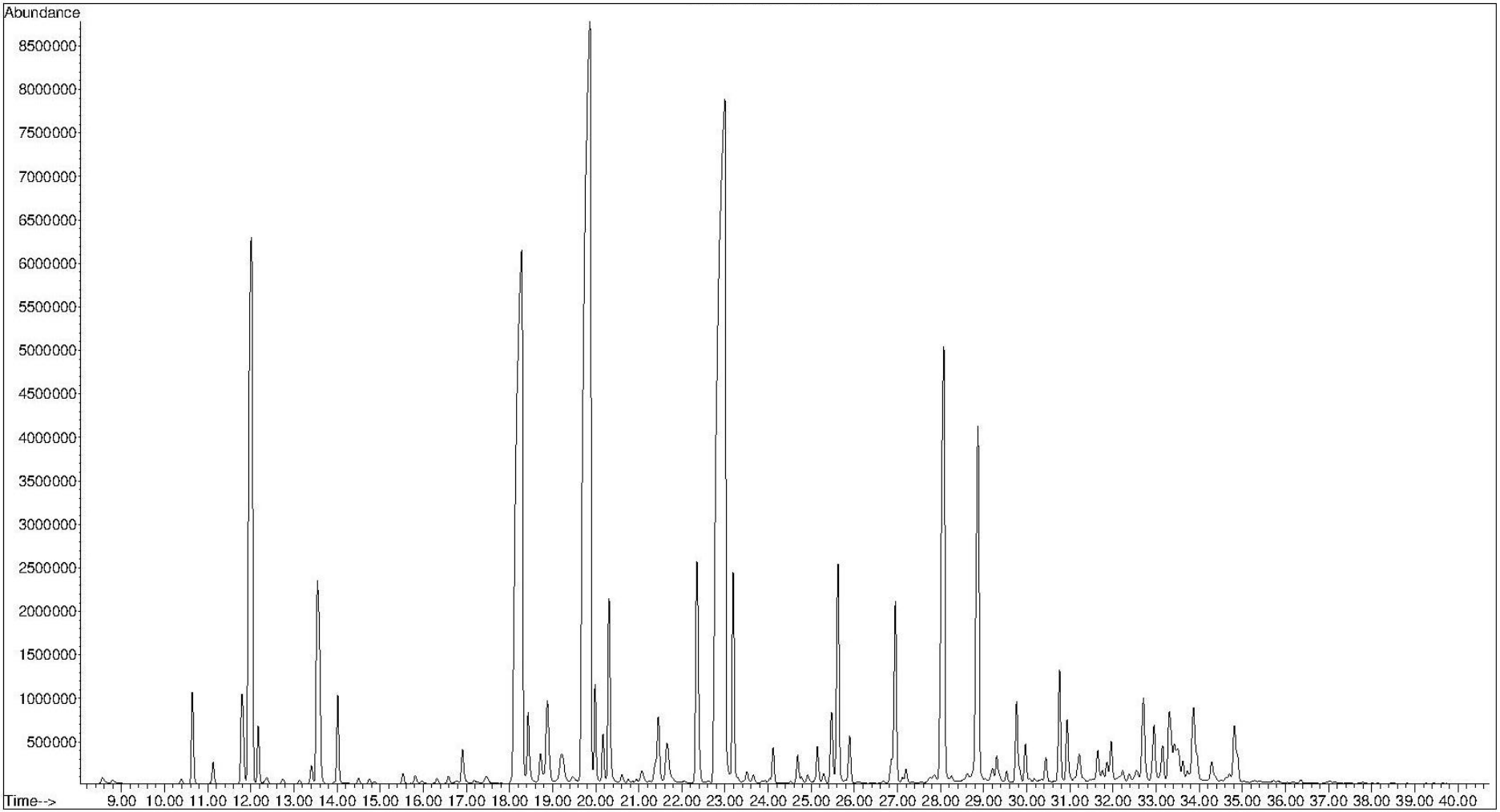


Figure 7 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de *P. lucida* collectées à Angavokely.

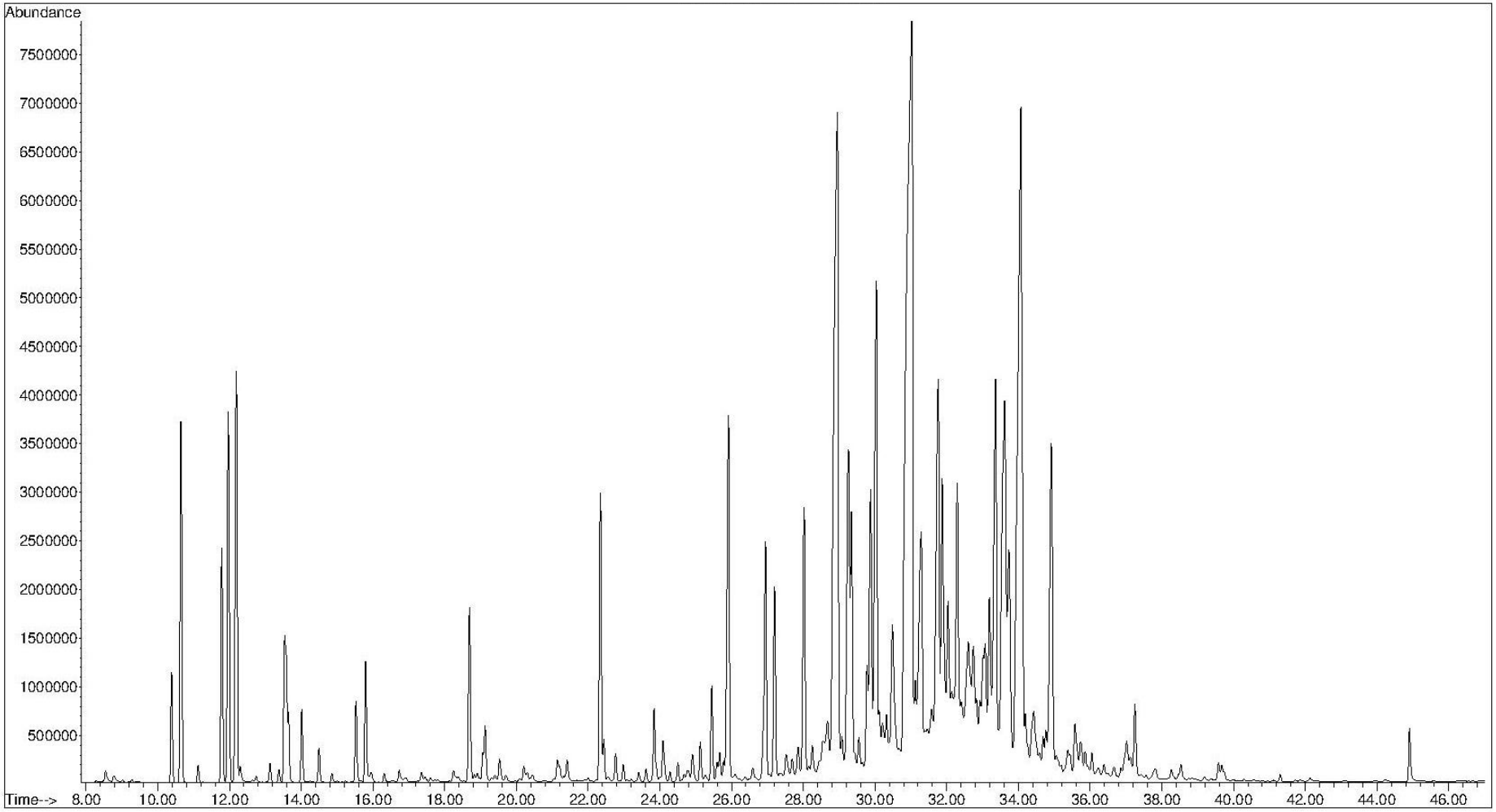


Figure 8 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de *P. lucida* collectées à Ankaratra.

Tableau VII : Composition chimique des HE des feuilles de *P. lucida* collectées à Andasibe, Angavokely et Ankaratra.

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. lucida*		
			Andasibe	Angavokely	Ankaratra
Alcools					
(E)-3-hexénol	857	854	0,2	-	t
Monoterpènes hydrocarbonés					
α-thujène	931	930	-	-	0,2
α-pinène	940	939	-	0,2	1,8
camphène	957	954	-	1,0	0,4
sabinène	979	975	0,5	0,6	0,9
β-pinène	987	979	-	21,9	m*(6,0)
myrcène	992	991	2,1	0,1	m (6,0)
α-terpinène	1022	1017	-	-	t
p-cymène	1030	1025	t	t	0,3
limonène	1034	1029	0,4	m*(3,4)	m*(1,9)
β-phellandrène	1037	1030	3,0	m (3,4)	m (1,9)
(Z)-β-ocimène	1038	1037	0,5	1,0	m (1,9)
(E)-β-ocimène	1049	1050	-	-	0,6
γ-terpinène	1064	1060	-	-	0,5
terpinolène	1095	1089	-	0,2	0,3
p-1,3,8-menthatriène	1135	1110	t	0,2	-
Monoterpènes oxygénés					
linalol	1103	1097	0,1	0,3	0,7
périllène	1118	1101	t	-	-
(Z)-p-menth-2-én-1-ol	1130	1122	-	-	0,2
(E)-p-menth-2-én-1-ol	1148	1141	-	-	m*(0,1)
(Z)-sabinol	1151	1143	-	-	m (0,1)
3-thujanol	1175	1169	-	-	t
bornéol	1178	1169	-	m*(0,6)	t
terpinén-4-ol	1186	1177	0,1	m (0,6)	0,9
dihydrocitronellol	1197	1196	-	-	0,2
α-terpinéol	1199	1189	t	m*(0,6)	0,1
(E)-carvéol	1224	1217	-	0,3	-
verbénone	1230	1218	-	m*(0,8)	-
citronellol	1231	1226	-	-	0,1

Tableau VII (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. lucida*		
			Andasibe	Angavokely	Ankaratra
Monoterpènes oxygénés (suite)					
nérol	1233	1230	-	-	t
4-méthylène isophorone	1234	1218	-	m (0,8)	-
thymol méthyl éther	1239	1235	t	-	-
formiate d'isobornyle	1256	1239	-	t	-
géraniol	1258	1253	m*(0,2)	-	t
(Z)-myrtanol	1265	1254	-	m (0,7)	-
(Z)-acétate de chrysanthényle	1268	1265	-	m*(0,7)	-
(E)-myrtanol	1274	1261	-	0,2	-
acétate de bornyle	1293	1289	-	0,9	m*(1,7)
acétate de pinocarvyle	1306	1298	-	-	0,1
acétate de carquéjyle	1313	1299	-	19,7	-
(E)-acétate de carvyle	1341	1342	-	-	t
néoisoacétate de carvomenthyle	1353	1350	-	-	t
acétate de néryle	1365	1362	-	0,1	m*(0,1)
α-acétate de terpényle	1379	1349	-	0,1	t
(E)-acétate de myrtényle	1393	1387	-	1,0	t
Sesquiterpènes hydrocarbonés					
δ-élémène	1347	1338	0,1	-	t
α-cubébène	1359	1351	0,2	-	t
α-ylangène	1384	1375	t	-	-
α-copaène	1388	1377	0,4	-	0,3
β-bourbonène	1398	1388	m (4,1)	-	t
β-cubébène	1402	1388	m (4,1)	0,1	-
β-élémène	1403	1391	m*(4,1)	-	0,8
α-gurjunène	1425	1410	m*(0,1)	-	t
β-cedrène	1427	1421	m (0,1)	-	-
β-ylangène	1434	1421	m (2,5)	-	m (0,7)
β-caryophyllène	1436	1419	m*(2,5)	0,2	m*(0,7)
γ-élémène	1444	1437	-	-	0,2
β-gurjunène	1444	1434	t	t	0,1
β-copaène	1444	1432	1,1	-	-

Tableau VII (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. lucida*		
			Andasibe	Angavokely	Ankaratra
Sesquiterpènes hydrocarbonés (suite)					
aromadendrène	1456	1441	t	-	-
(Z)-muurola-3,5-diène	1465	1450	t	-	-
(E)-muurola-3,5-diène	1465	1454	-	-	0,3
α-humulène	1471	1455	2,9	1,3	0,4
(Z)-muurola-4(14),5-diène	1478	1467	0,9	-	t
E)-cadina-1(6),4-diène	1487	1477	-	-	m (0,3)
γ-muurolène	1492	1480	2,4	-	m*(0,3)
(E)-muurola-4(14),5-diène	1498	1494	0,9	3,4	-
germacrène D	1500	1485	-	-	8,2
β-sélinène	1505	1490	-	-	t
α-muurolène	1512	1500	10,6	0,2	-
(Z)-β-guaiène	1514	1503	6,9	0,1	-
bicyclogermacrène	1514	1500	-	-	1,0
δ-amorphène	1521	1512	1,0	0,1	1,5
γ-cadinène	1528	1514	m*(3,1)	m*(0,3)	2,0
δ-cadinène	1535	1523	7,5	0,2	6,6
zonarène	1541	1530	-	-	0,8
(E)-cadina-1(2),4-diène	1547	1535	0,4	-	0,7
α-cadinène	1554	1539	m*(0,2)	-	-
α-calacorène	1560	1546	0,4	-	-
germacrène B	1576	1561	m*(0,8)	0,1	1,7
Sesquiterpènes oxygénés					
épi-cubébol	1509	1494	3,6	0,4	1,4
cubébol	1532	1515	m (3,1)	m (0,3)	6,3
(Z)-dihydroagarofurane	1551	1520	-	0,1	-
élémol	1562	1550	3,5	0,2	12,8
(E)-nérolidol	1568	1563	-	0,3	-
germacrène D-4-ol	1592	1576	m*(1,1)	t	1,2
lédol	1593	1569	m (1,1)	-	-
spathulénol	1600	1578	0,3	-	0,1
oxyde de caryophyllène	1603	1583	0,2	0,1	-

Tableau VII (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. lucida*		
			Andasibe	Angavokely	Ankaratra
Sesquiterpènes oxygénés (suite)					
globulol	1606	1585	-	-	0,1
viridiflorol	1609	1593	1,6	t	0,2
guaiol	1619	1601	-	-	m*(0,3)
époxyde de humulène II	1630	1608	m*(0,5)	0,1	-
1,10-di-*épi*-cubénol	1641	1619	m (0,5)	-	m (0,2)
cubénol	1651	1647	-	0,1	-
10-*épi*-γ-eudesmol	1653	1624	t	-	1,2
époxyde d'alloaromadendrène	1655	1641	-	t	-
α-muurolol	1657	1646	m (7,3)	0,1	m (4,6)
1-*épi*-cubénol	1660	1629	0,5	-	m (2,8)
γ-eudesmol	1662	1632	1,0	-	m*(2,8)
τ-cadinol	1667	1640	m (7,3)	-	m (2,8)
τ-muurolol	1667	1642	m*(7,3)	-	m*(4,6)
α-cadinol	1672	1654	m*(11,1)	0,2	m (4,6)
7-*épi*-α-eudesmol	1674	1664	-	0,1	-
β-eudesmol	1680	1651	m (11,1)	-	m (4,6)
α-eudesmol	1689	1654	-	-	m*(0,5)
valérianol	1691	1658	-	-	m (0,5)
bulnésol	1694	1672	-	-	m (0,5)
5-néocédranol	1701	1685	-	-	m (0,7)
eudesma-4(15),7-dién-1-β-ol	1704	1688	m*(0,1)	-	m*(0,7)
acorénone B	1706	1698	-	m*(0,2)	-
cryptomérione	1741	1725	-	-	t
oplopanone	1760	1740	m (0,4)	-	-
cyclocolorénone	1763	1761	m*(0,4)	-	-
14-hydroxy-α-muurolène	1788	1780	0,3	-	m*(0,1)
14-oxy-α-muurolène	1787	1769	0,2	-	-
bicyclovétivénol	1815	1793	m*(0,4)	-	-
14-hydroxy-δ-cadinène	1820	1804	t	-	t
cryptoméridiol	1838	1814	-	-	t
acétate de khusinyle	1893	1824	-	-	m*(0,4)

Tableau VII (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. lucida*		
			Andasibe	Angavokely	Ankaratra
Diterpènes oxygénés					
phytol	2117	1943	t	-	0,1
Composés aromatiques					
benzoate de benzyle	1783	1760	0,1	-	-
salicylate de benzyle	1890	1866	-	-	0,1
Composés majoritaires non identifiés					
composé 1	1174	-	-	21,9	-
composé 2	1120	-	-	13,4	-
Alcools			**0,2**	**-**	**t**
Monoterpènes hydrocarbonés			**6,4**	**28,6**	**13,0**
Monoterpènes oxygénés			**0,3**	**25,2**	**4,3**
Sesquiterpènes hydrocarbonés			**46,6**	**6,1**	**25,6**
Sesquiterpènes oxygénés			**32,0**	**2,0**	**32,9**
Diterpènes oxygénés			**t**	**-**	**0,1**
Composés aromatiques			**0,1**	**-**	**0,1**
Composés majoritaires non identifiés			**-**	**35,3**	**-**
Total identifié			**85,6**	**61,9**	**75,9**

t = trace (<0,1 %), m = mélange, m*() = composé majoritaire du mélange, Litt. = littérature

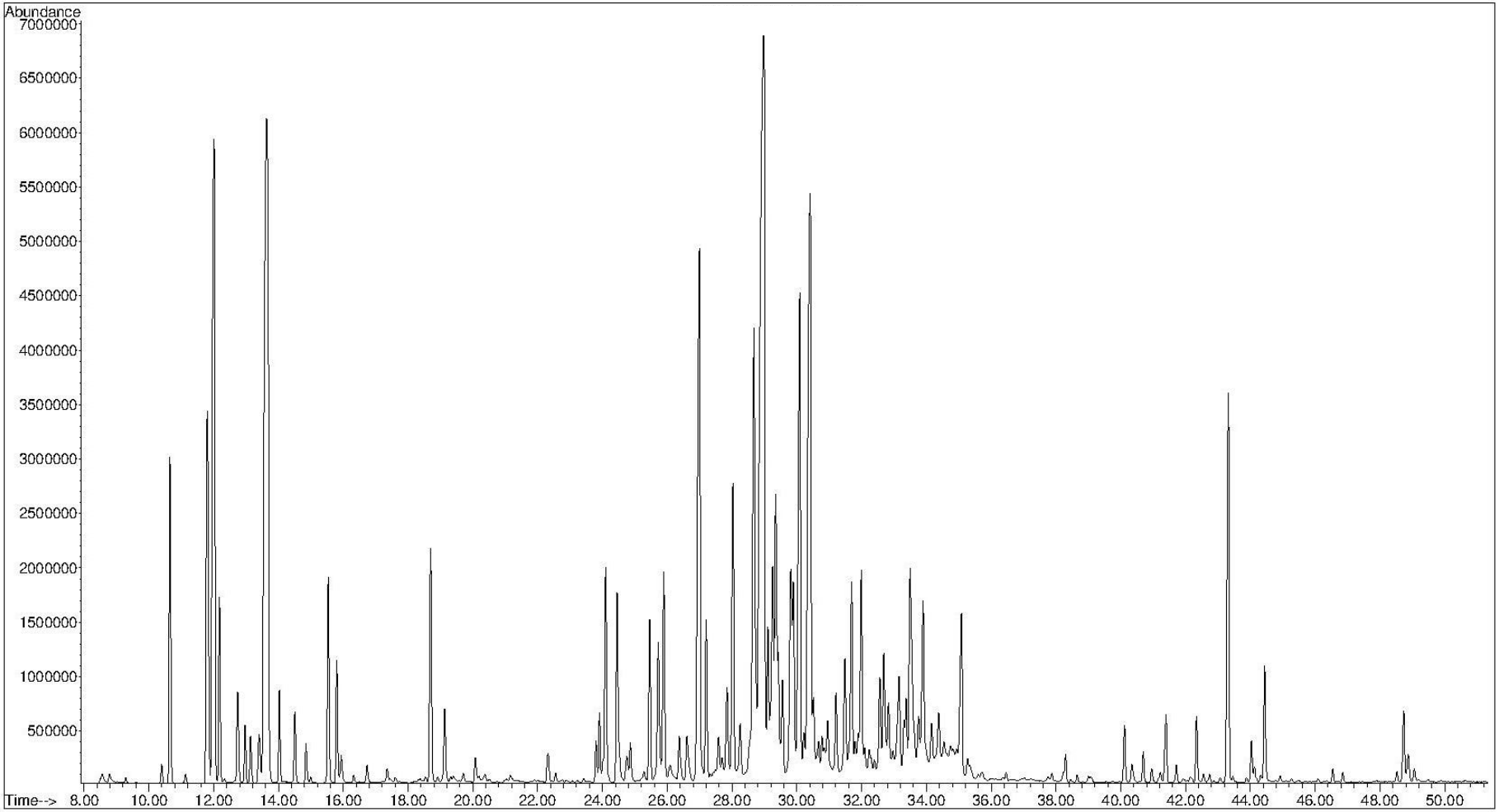


Figure 9 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de *P. salviifolia* collectées à Antsirabe.

Tableau VIII : Composition chimique de l'HE des feuilles de *P. salviifolia* collectées à Antsirabe.

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. salviifolia* Antsirabe
Monoterpènes hydrocarbonés			
α-thujène	931	930	0,1
α-pinène	940	939	2,4
sabinène	980	975	1,4
β-pinène	988	979	m*(17,2)
myrcène	993	991	m (17,2)
α-phellandrène	1010	1003	2,1
p-mentha-1(7),8-diène	1017	1004	0,5
α-terpinène	1022	1017	m (3,2)
p-cymène	1031	1025	m*(3,2)
limonène	1036	1029	m*(28,5)
β-phellandrène	1039	1030	m (28,5)
(Z)-β-ocimène	1050	1037	2,7
(E)-β-ocimène	1064	1050	-
γ-terpinène	1064	1060	2,1
terpinolène	1095	1089	m*(2,9)
p-1,3,8-menthatriène	1126	1103	-
Monoterpènes oxygénés			
(Z)-hydrate de sabinène	1075	1070	0,4
linalol	1103	1097	m (2,9)
(E)-hydrate de sabinène	1107	1098	t
(Z)-p-menth-2-én-1-ol	1130	1122	t
(E)-p-menth-2-én-1-ol	1148	1141	t
terpinén-4-ol	1187	1177	1,0
α-terpinéol	1199	1189	0,2
(E)-carvéol	1227	1217	t
(E)-acétate de carvyle	1341	1342	0,1
(Z)-jasmone	1417	1393	0,1
Sesquiterpènes hydrocarbonés			
silphiperfol-5-ène	1338	1329	0,1
7-*épi*-silphiperfol-5-ène	1357	1348	m (0,6)
δ-élémène	1339	1338	0,6

Tableau VIII (suite).

Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. salviifolia* Antsirabe
Sesquiterpènes hydrocarbonés (suite)			
α-cubébène	1359	1351	m*(0,6)
silphiperfola-4,7(14)-diène	1370	1361	0,1
α-copaène	1389	1377	0,3
β-maaliène	1397	1382	0,8
β-élémène	1402	1391	1,2
α-gurjunène	1425	1410	0,1
β-caryophyllène	1436	1419	2,9
β-gurjunène	1444	1434	1,0
(Z)-muurola-3,5-diène	1460	1450	m (0,6)
α-humulène	1471	1455	1,4
(Z)-muurola-4(14),5-diène	1478	1467	0,3
γ-curcumène	1491	1483	2,2
γ-muurolène	1497	1480	0,3
β-sélinène	1506	1490	1,4
(Z)-β-guaiène	1509	1494	m (1,0)
(E)-muurola-4(14),5-diène	1510	1494	2,3
γ-amorphène	1514	1496	m*(1,4)
δ-amorphène	1522	1512	0,9
γ-cadinène	1528	1514	1,1
δ-cadinène	1536	1523	3,3
zonarène	1544	1530	0,7
α-calacorène	1559	1546	1,2
germacrène B	1577	1561	0,1
Sesquiterpènes oxygénés			
épi-cubébol	1511	1494	m*(1,0)
cubébol	1531	1515	0,5
10-*épi*-cubébol	1554	1535	m*(2,8)
élémol	1563	1550	m*(0,3)
(E)-éther de cadinène	1587	1559	0,1
(Z)-muurol-5-èn-4-α-ol	1591	1561	m (0,2)
germacrène D-4-ol	1593	1576	m*(0,2)

Tableau VIII (suite).

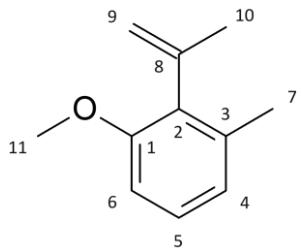
Composés	IRR (SPB-5)	IRR (Litt.)	*P. salviifolia* Antsirabe
Sesquiterpènes oxygénés (suite)			
oxyde de caryophyllène	1604	1583	0,2
viridiflorol	1625	1593	0,3
β-copaèn-4-α-ol	1631	1591	0,1
1-*épi*-cubénol	1646	1629	0,1
τ-cadinol	1659	1640	m (0,7)
τ-muurolol	1661	1642	m (0,7)
α-muurolol	1664	1646	m*(0,7)
α-eudesmol	1668	1654	t
α-cadinol	1673	1654	0,4
sélin-11-én-4-α-ol	1682	1660	0,1
(E)-14-hydroxy-9-*épi*-caryophyllène	1690	1670	0,1
(E)-α-bergamotol	1711	1691	0,1
(Z)-acétate de lancéyle	1978	1856	t
Diterpènes hydrocarbonés			
rimuène	1925	1896	t
cembrène	2004	1939	0,1
Diterpènes oxygénés			
13-*épi*-oxyde de manol	2046	2017	0,4
manol	2082	2057	t
Monoterpènes hydrocarbonés			**63,1**
Monoterpènes oxygénés			**1,8**
Sesquiterpènes hydrocarbonés			**25,7**
Sesquiterpènes oxygénés			**6,7**
Diterpènes hydrocarbonés			**0,1**
Diterpènes oxygénés			**0,4**
Total identifié			**97,9**

t = trace (<0,1 %), m = mélange, m*() = composé majoritaire du mélange, Litt. = littérature

ANNEXE III

Données spectrales des métabolites isolés de l'huile essentielle de *P. lucida* collectée à Angavokely

Annexe III.1. Données spectrales du composé 1



2-Isopropényl-3-méthylanisole **(Composé 1)**

Tableau IX : Données RMN ^{1}H et RMN ^{13}C , présentation des corrélations 2D du composé **1** et comparaison avec le 2-isopropényl-3-méthylanisole (Jiménez-Estrada *et al.*, 1996).

Position	δ_{13C} en ppm	δ_{1H} en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	Composé 1 (150 MHz, $CDCl_3$)	Composé 1 (600 MHz, $CDCl_3$)	2-isopropényl-3-méthylanisole (300 MHz, $CDCl_3$)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	156,3	-	-	-	-
2	132,6	-	-	-	-
3	136,4	-	-	-	-
4	122,5	6,85 (dm, *7,6*)	6,85 (dd, *8,0* ; *2,0*)	H5	C2, C6, H7
5	127,3	7,15 (t, *8,1*)	7,06 (t, *8,0*)	H4, H6	C1, C3, C6
6	108,1	6,75 (dm, *8,2*)	6,75 (dd, *8,0* ; *2,0*)	H5	C1, C2, C4
7	19,7	2,27 (s)	2,6 (s)	-	C2, C3, C4
8	142,6	-	-	-	-
9	115,1	4,81 (m) ; 5,31 (m)	4,80 (m) ; 5,29 (m)	H10	C2, C8, C10
10	23,5	2,01 (sl)	1,98 (s)	H9	C2, C8, C9
11	55,8	3,82 (s)	3,81 (s)	-	C1

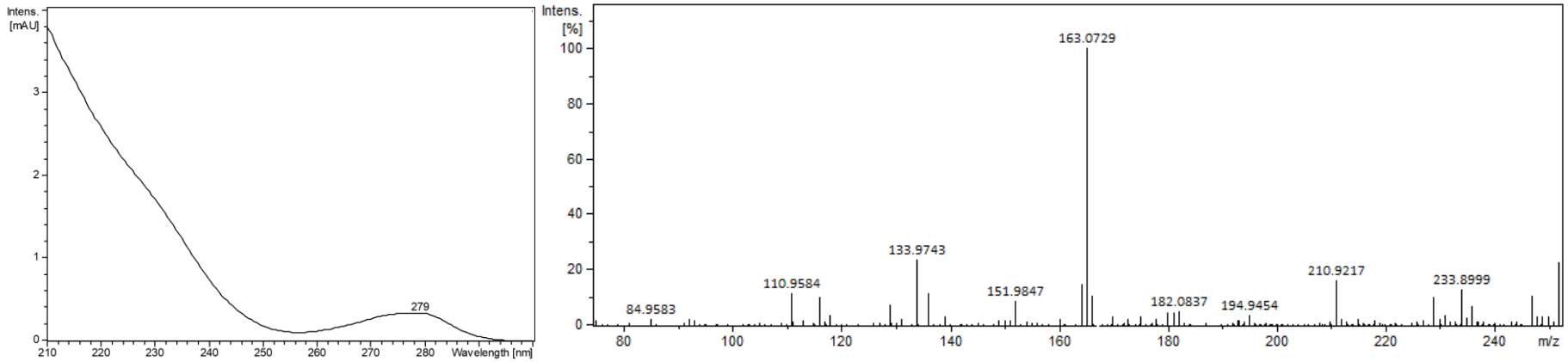


Figure 10 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) du composé **1**.

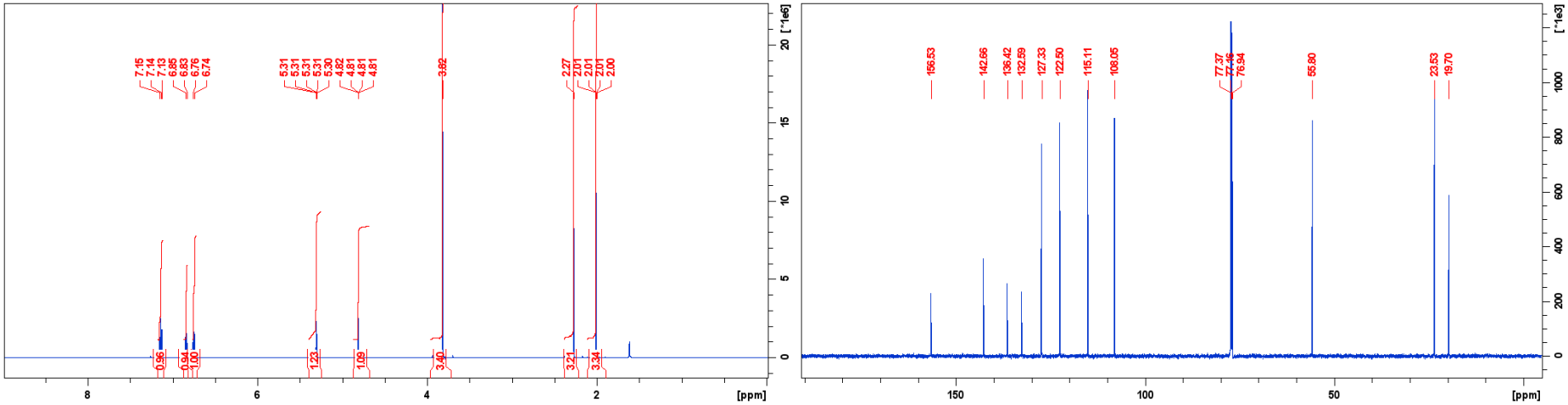


Figure 11 : Spectres RMN ^{1}H (gauche) et RMN ^{13}C (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) composé **1**.

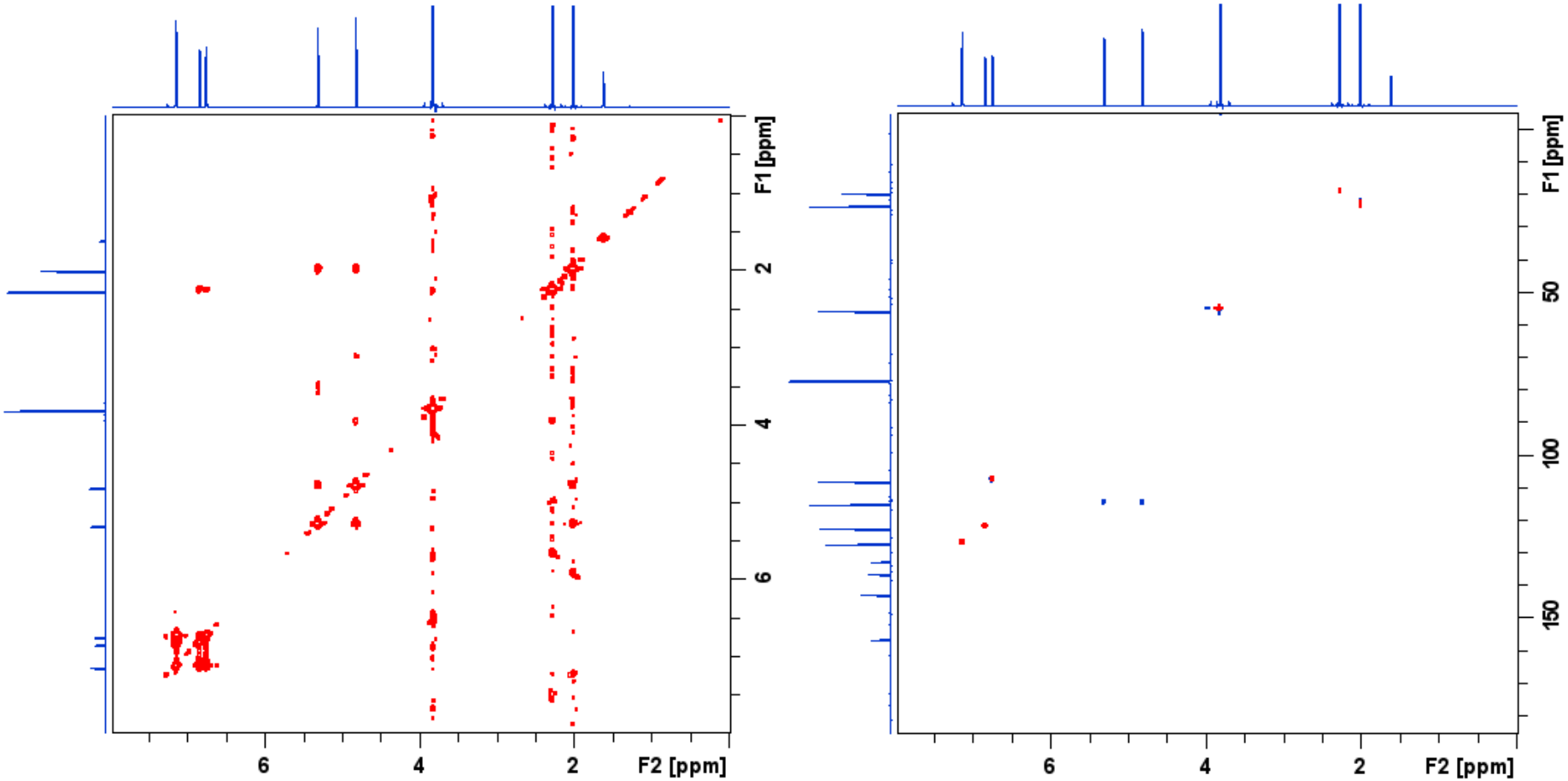


Figure 12 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) du composé **1**.

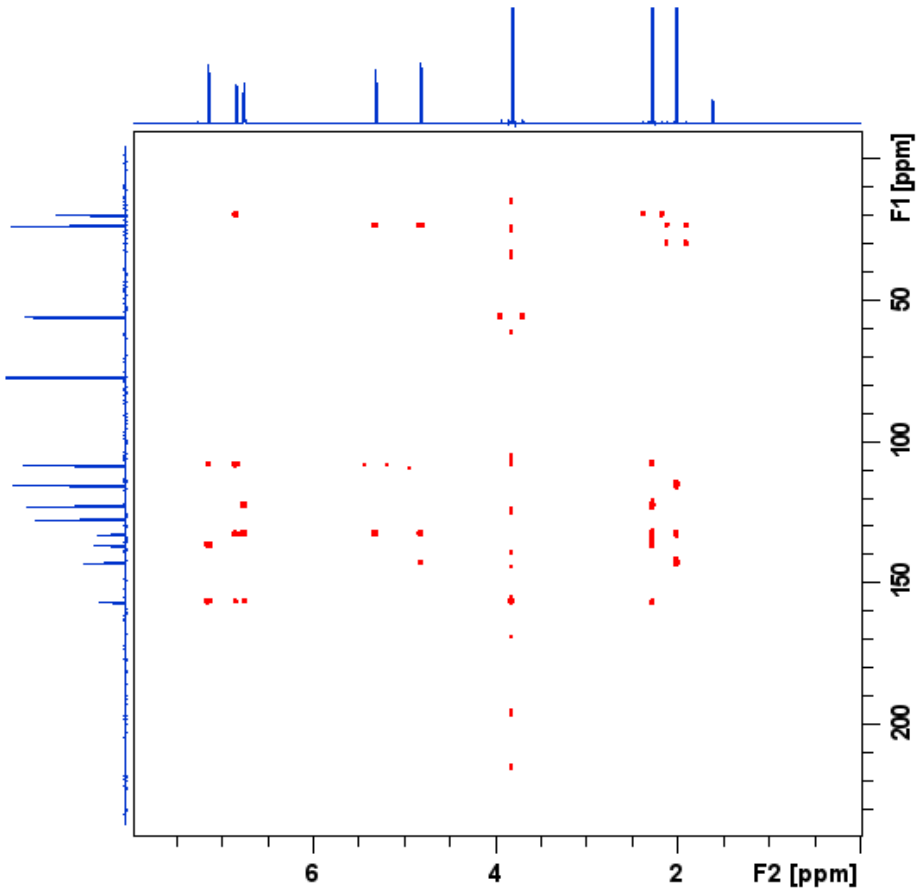
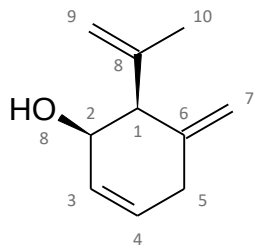


Figure 13 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC ($CDCl_3$, 600 MHz) du composé **1**.

Annexe III.2. Données spectrales du composé 2



Carquéjol **(Composé 2)**

Tableau X : Présentation des corrélations RMN 2D et comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du carquéjol (Minteguiaga *et al.*, 2017) avec ceux observés pour le composé **2**.

Position	**δ_{13C} en ppm**		**δ_{1H} en ppm (multiplicité, *J* en Hz)**		**Corrélations 2D**	
	Observés (150 MHz, $CDCl_3$)	**Littérature (50 MHz, $CDCl_3$)**	**Observés (600 MHz, $CDCl_3$)**	**Littérature (200 MHz, $CDCl_3$)**	**^{1}H-^{1}H COSY**	**^{1}H-^{13}C HMBC**
1	54,4	54,3	3,14 (dl, *4,6*)	3,14 (dl, *4,7*)	H2	C2, C3, C5, C6, C7, C8, C9, C10
2	68,9	68,8	4,41 (m)	4,41 (m)	H1	-
3	131,1	130,8	5,87 (ddt, *10,1* ; *3,4* ; *2,4*)	5,87 (ddtd, *9,9* ; *3,2* ; *2,0* ; *0,4*)	H4	C4, C5
4	128,3	128,1	5,76 (dtd, *10,0* ; *3,5* ; *1,3*)	5,74 (dtdd, *9,9* ; *3,3* ; *1,5* ; *0,4*)	H3, H5	-
5	33,4	33,1	2,87 (m) ; 2,78 (m)	2,89 (d, *19,7*) ; 2,77 (d, *19,7*)	H4	C3, C4
6	143,2	143,2	-	-	-	-
7	111,7	111,6	4,96 (q, *1,5*) ; 4,92 (m)	4,97 (q, *1,4*) ; 4,92 (sl)	-	C5
8	142,8	142,4	-	-	-	-
9	112,7	112,6	5,23 (m) ; 5,04 (m)	5,24 (m) ; 5,04 (q, *1,4*)	H10	C8, C10
10	24,1	23,8	1,78 (s)	1,78 (dd, *1,4* ; *0,7*)	H9	C8, C9

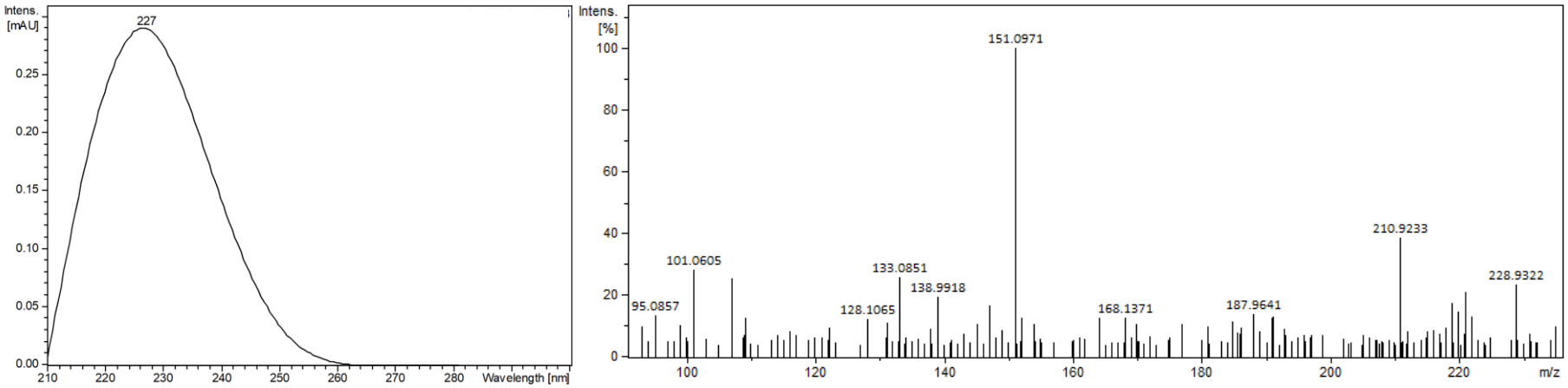


Figure 14 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) du composé **2**.

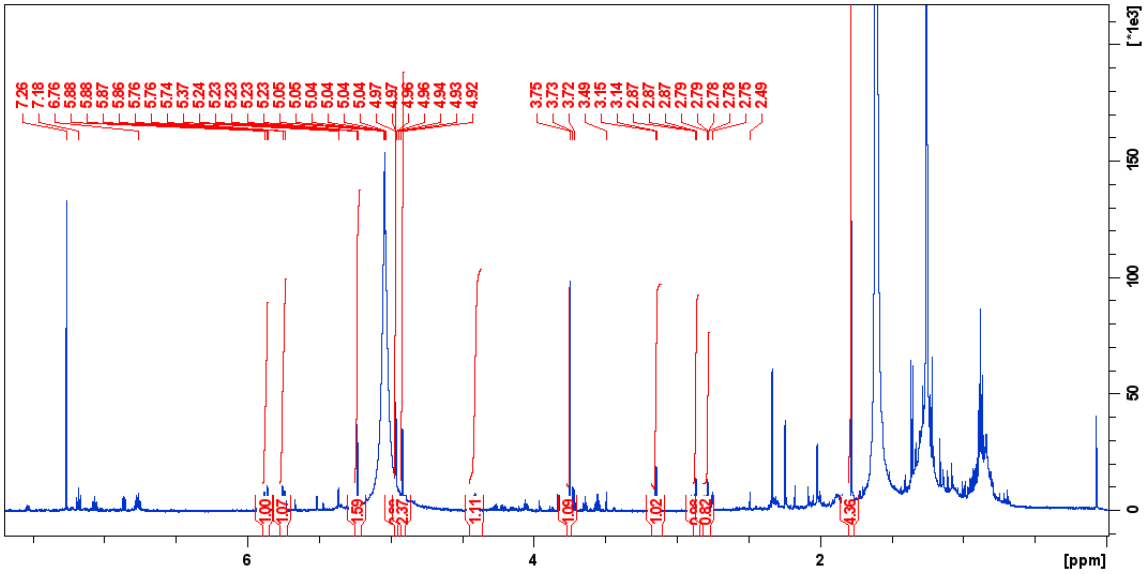


Figure 15 : Spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) du composé **2**.

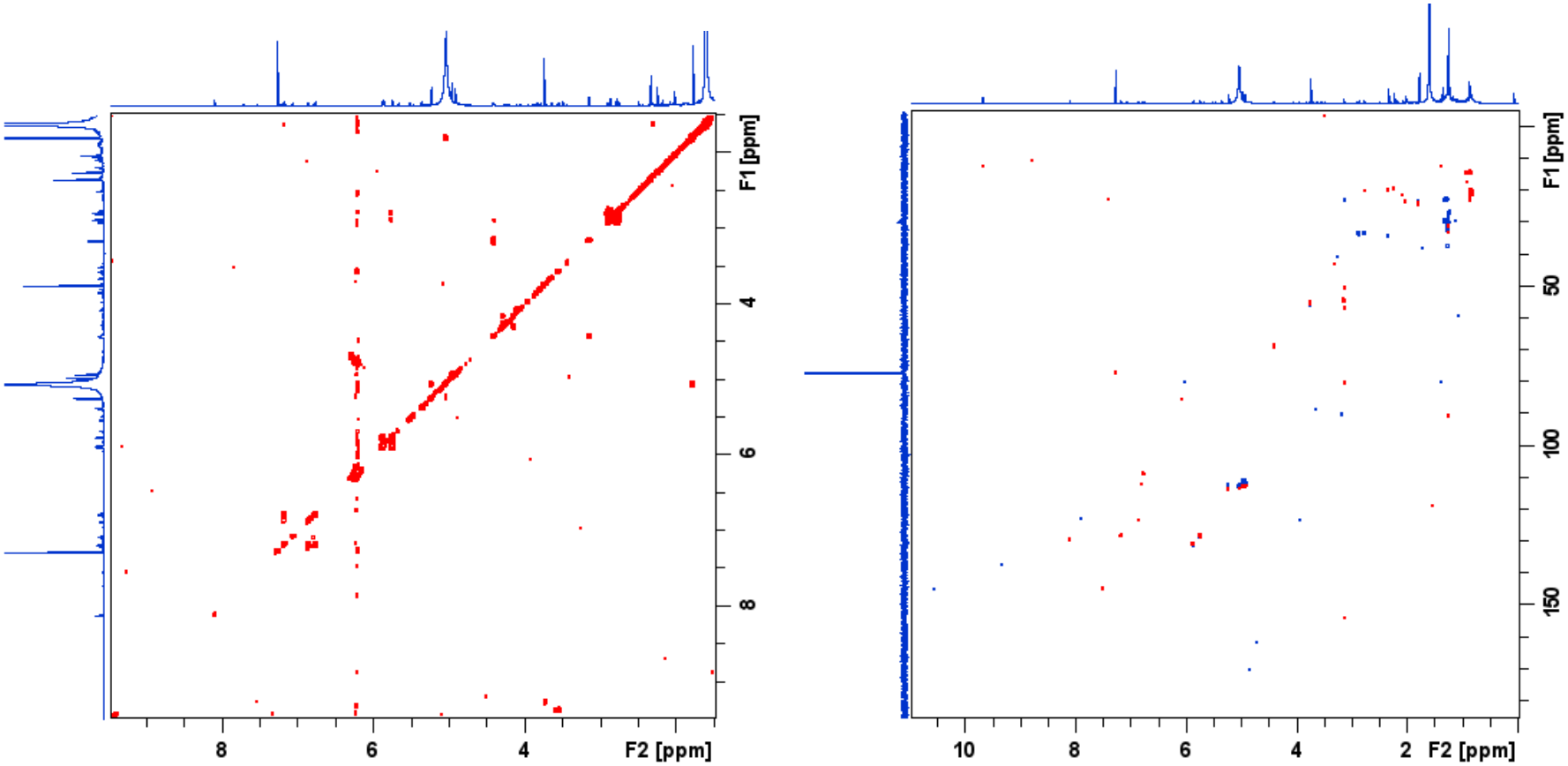


Figure 16 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) du composé **2**.

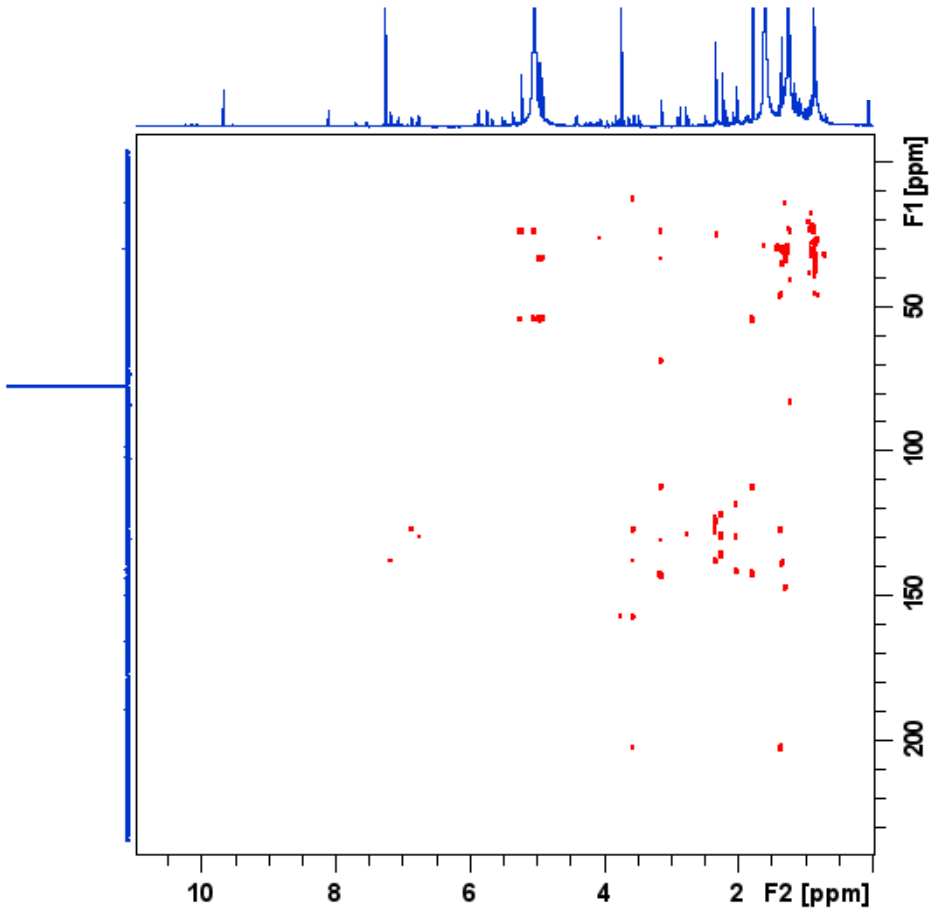


Figure 17 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC ($CDCl_3$, 600 MHz) du composé **2**.

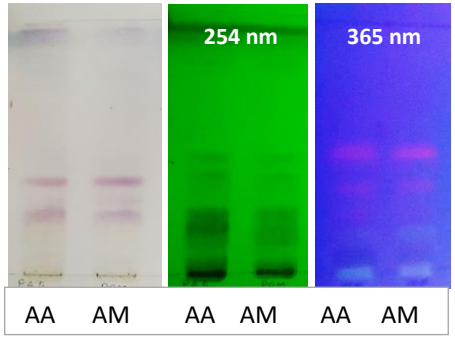
ANNEXE IV

Résultats du criblage chimique des extraits bruts de *Psiadia* de Madagascar

Annexe IV. 1. Résultats du criblage chimique de *P. altissima* var. *altissima*

P. altissima* var. *altissima

Profils CCM

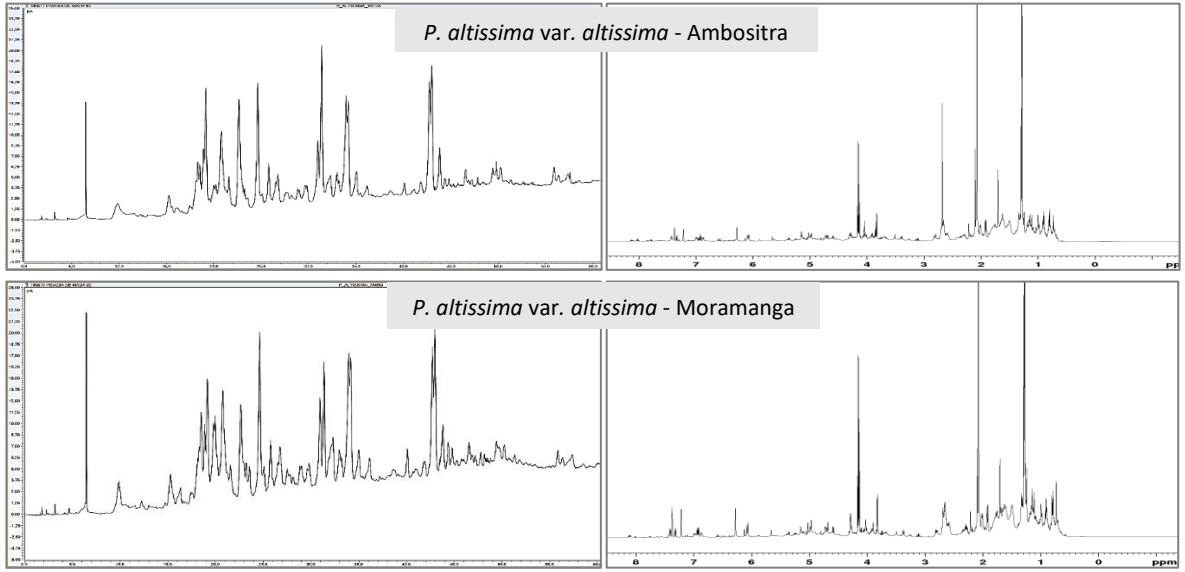


AA : *P. altissima* var. *altissima* (Ambositra)
AM : *P. altissima* var. *altissima* (Moramanga)

Conditions opératoires de la CCM

Concentration : 10 mg/mL
Dépôt : 10 µL
Élution : Cyclohexane/AcOEt (70/30) (v/v)
Révélation : Vanilline sulfurique

Profils CLHP-CAD **Profils RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz)**



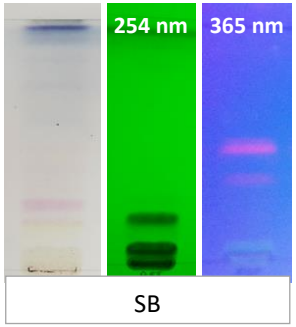
Conditions opératoires de la CLHP

Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm
Éluant : H_2O+0,1% AF/ACN+0,1% AF
Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min),
10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min)
Débit : 0,7 mL/min

Figure 18 : Profils CCM, CLHP-CAD et RMN ^{1}H des extraits bruts de *P. altissima* var. *altissima*.

Annexe IV. 2. Résultats du criblage chimique de *P. altissima* var. *stenophylla*

Profils CCM

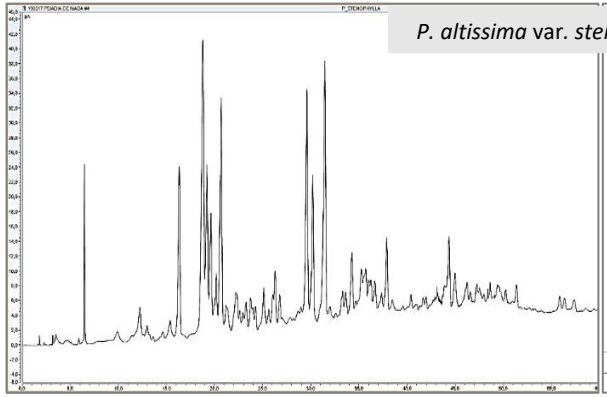


SB : *P. altissima* var. *stenophylla* (Behenjy)

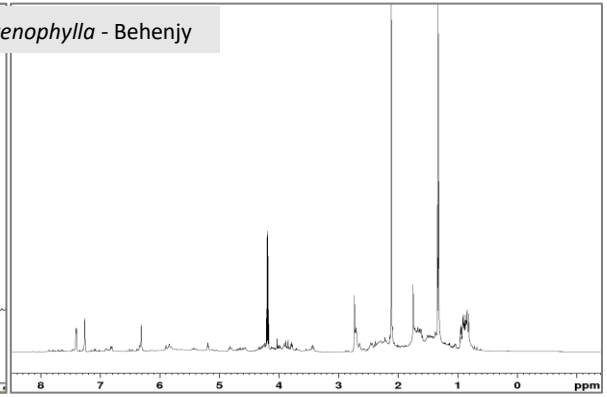
Conditions opératoires de la CCM

Concentration : 10 mg/mL
Dépôt : 10 µL
Élution : Cyclohexane/AcOEt (70/30) (v/v)
Révélation : Vanilline sulfurique

Profil CLHP-CAD



Profil RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz)



Conditions opératoires de la CLHP

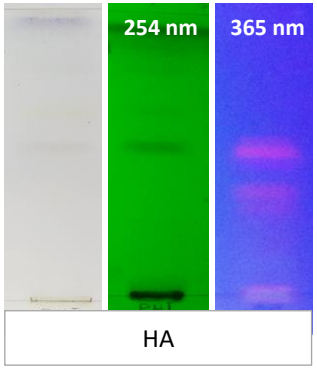
Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm
Éluant : H_2O+0,1% AF/ACN+0,1% AF
Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min),
10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min)
Débit : 0,7 mL/min

Figure 19 : Profils CCM, CLHP-CAD et RMN ^{1}H de l'extrait brut de *P. altissima* var. *stenophylla*.

Annexe IV. 3. Résultats du criblage chimique de *P. hispida*

P. hispida

Profils CCM

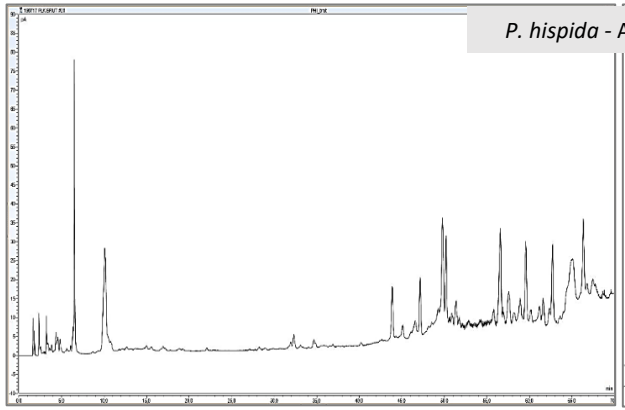


HA : *P. hispida* (Angavokely)

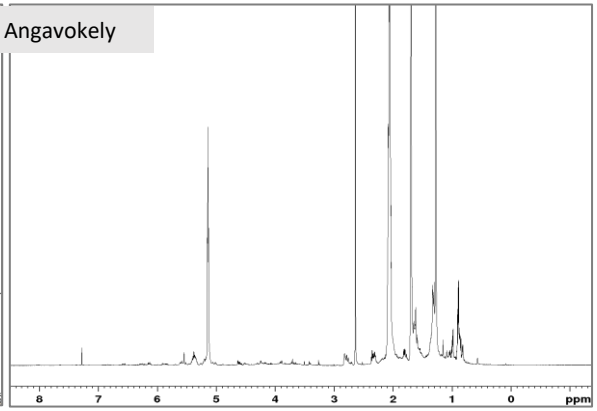
Conditions opératoires de la CCM

Concentration : 10 mg/mL
Dépôt : 10 µL
Élution : Cyclohexane/AcOEt (70/30) (v/v)
Révélation : Vanilline sulfurique

Profil CLHP-CAD



Profil RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz)

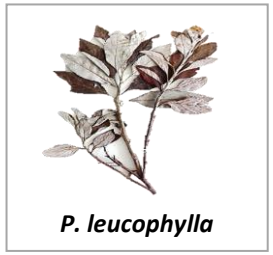


Conditions opératoires de la CLHP

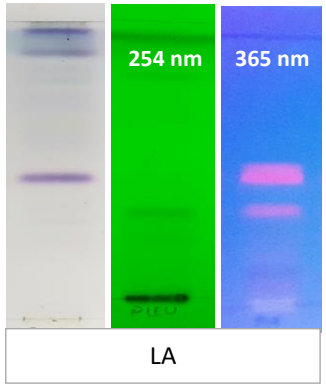
Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm
Éluant : H_2O+0,1% AF/ACN+0,1% AF
Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min),
10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min)
Débit : 0,7 mL/min

Figure 20 : Profils CCM, CLHP-CAD et RMN ^{1}H de l'extrait brut de *P. hispida*.

Annexe IV. 4. Résultats du criblage chimique de *P. leucophylla*



Profils CCM

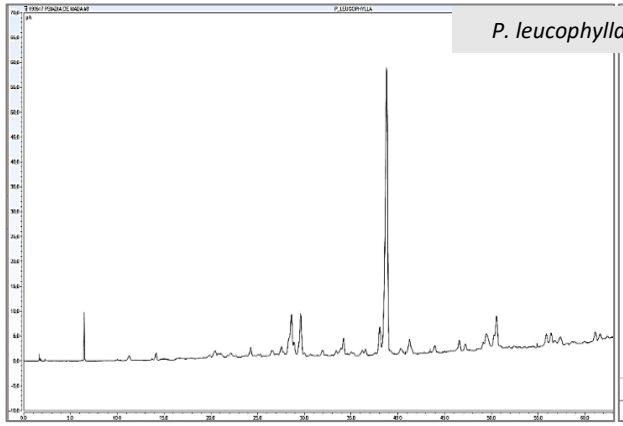


LA : *P. leucophylla* (Angavobe)

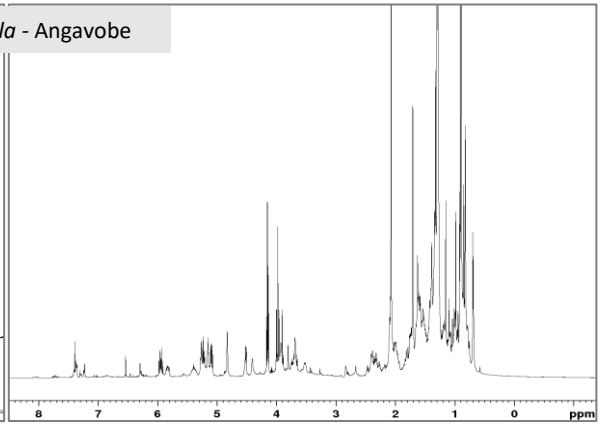
Conditions opératoires de la CCM

Concentration : 10 mg/mL
Dépôt : 10 µL
Élution : Cyclohexane/AcOEt (70/30) (v/v)
Révélation : Vanilline sulfurique

Profil CLHP-CAD



Profil RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz)

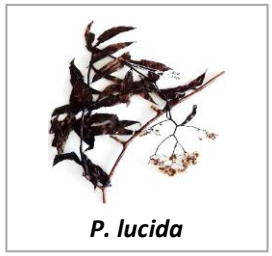


Conditions opératoires de la CLHP

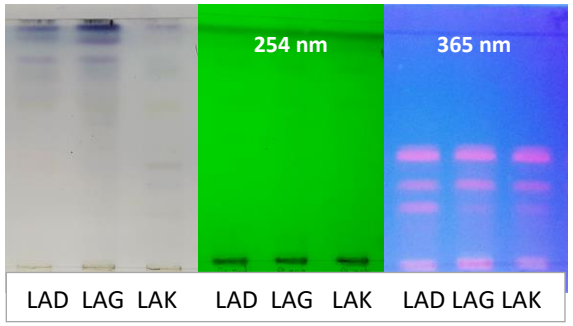
Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm
Éluant : H_2O+0,1% AF/ACN+0,1% AF
Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min),
10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min)
Débit : 0,7 mL/min

Figure 21 : Profils CCM, CLHP-CAD et RMN ^{1}H de l'extrait brut de *P. leucophylla*.

Annexe IV. 5. Résultats du criblage chimique de *P. lucida*



Profils CCM

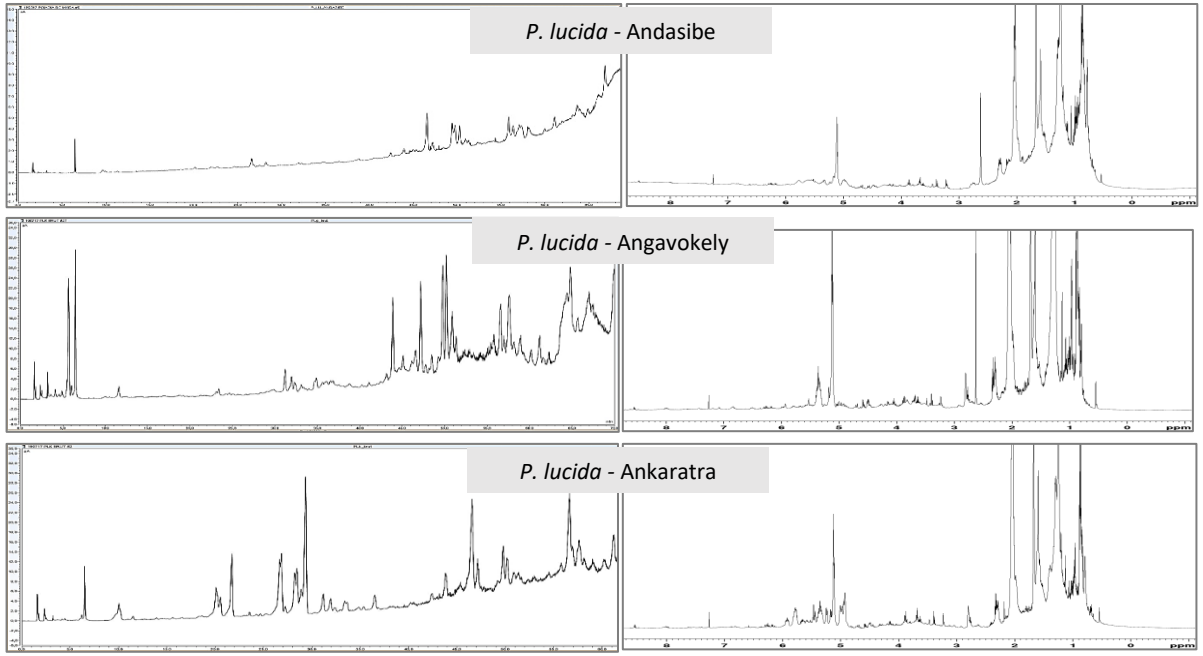


LAD : *P. lucida* (Andasibe)
LAG : *P. lucida* (Angavokely)
LAK : *P. lucida* (Ankaratra)

Conditions opératoires de la CCM

Concentration : 10 mg/mL
Dépôt : 10 µL
Élution : Cyclohexane/AcOEt (70/30) (v/v)
Révélation : Vanilline sulfurique

Profils CLHP-CAD **Profils RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz)**

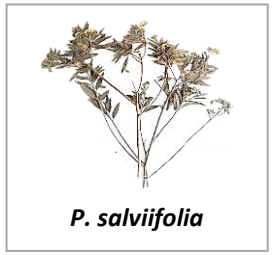


Conditions opératoires de la CLHP

Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm
Éluant : H_2O+0,1% AF/ACN+0,1% AF
Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min),
10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min)
Débit : 0,7 mL/min

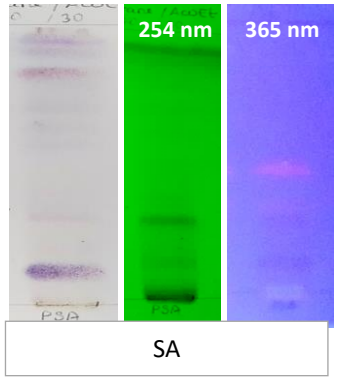
Figure 22 : Profils CCM, CLHP-CAD et RMN ^{1}H des extraits bruts de *P. lucida*.

Annexe IV. 6. Résultats du criblage chimique de *P. salviifolia*



P. salviifolia

Profils CCM

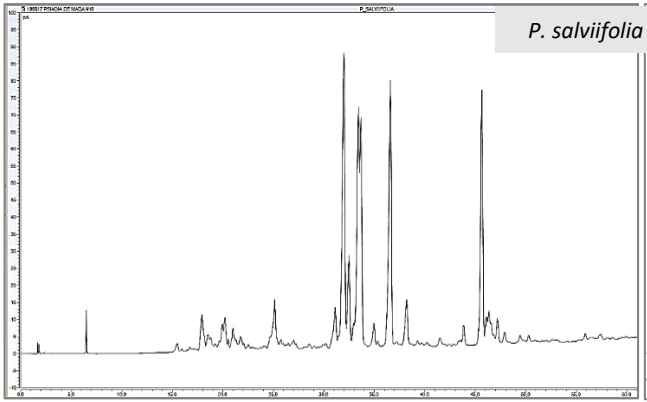


SA : *P. salviifolia* (Antsirabe)

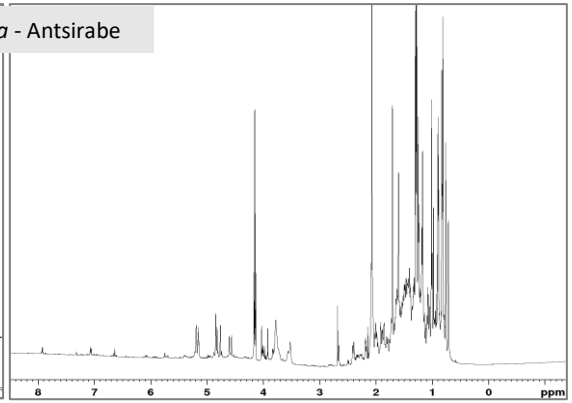
Conditions opératoires de la CCM

Concentration : 10 mg/mL
Dépôt : 10 µL
Élution : Cyclohexane/AcOEt (70/30) (v/v)
Révélation : Vanilline sulfurique

Profil CLHP-CAD



Profil RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz)



Conditions opératoires de la CLHP

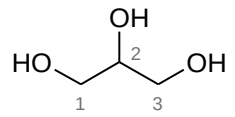
Colonne : Gemini C18, 150 x 4,6 mm
Éluant : H_2O+0,1% AF/ACN+0,1% AF
Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min),
10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min)
Débit : 0,7 mL/min

Figure 23 : Profils CCM, CLHP-CAD et RMN ^{1}H de l'extrait brut de *P. salviifolia*.

ANNEXE V

Données spectrales des métabolites isolés de *Psiadia lucida*

Annexe V. 1. Données spectrales du métabolite PLU 1



Glycérol (**PLU 1**)

Tableau XI : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C du glycérol (Lu *et al.*, 2018) à ceux observés pour **PLU 1**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 75 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 500 MHz)
1	65,4	62,5	3,59 (dd, *11,2* ; *4,8*)	3,63 (dd)
2	73,9	74,5	3,65 (t, *5,7*)	3,77 (m)
3	65,4	62,5	3,51 (dd, *11,2* ; *5,9*)	3,54 (dd)

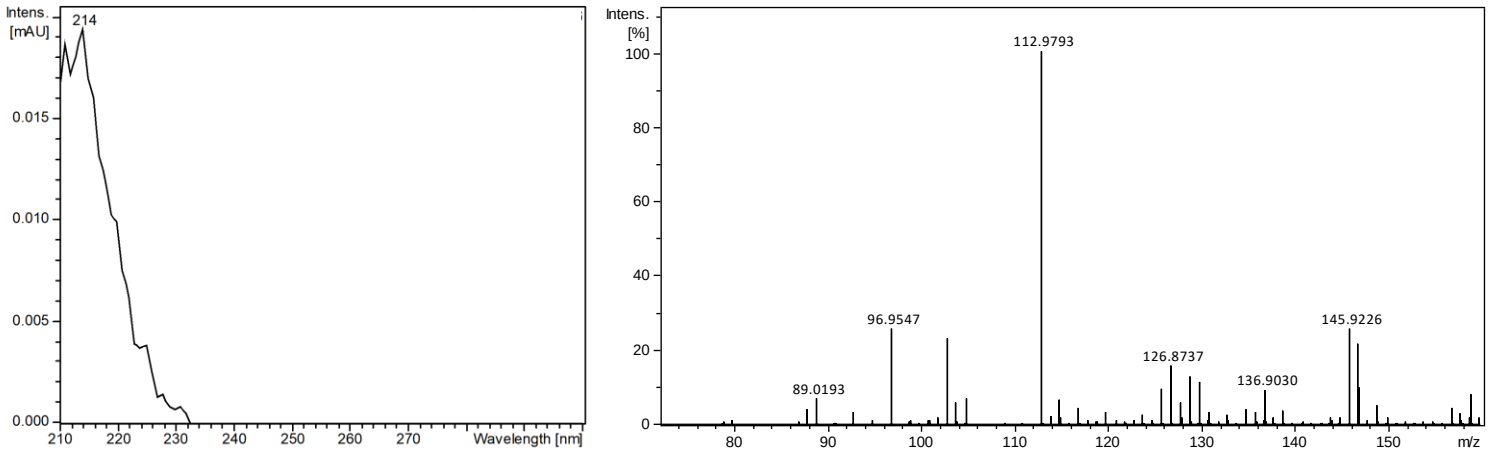


Figure 24 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode négatif (ESI$^-$) (droite) de **PLU 1**.

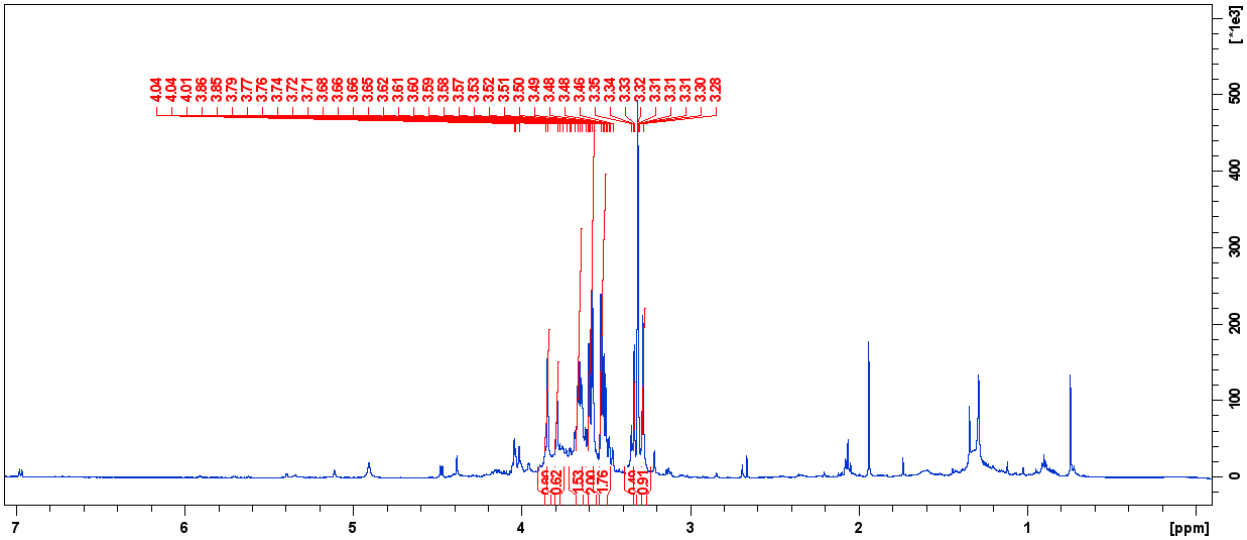


Figure 25 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 1**.

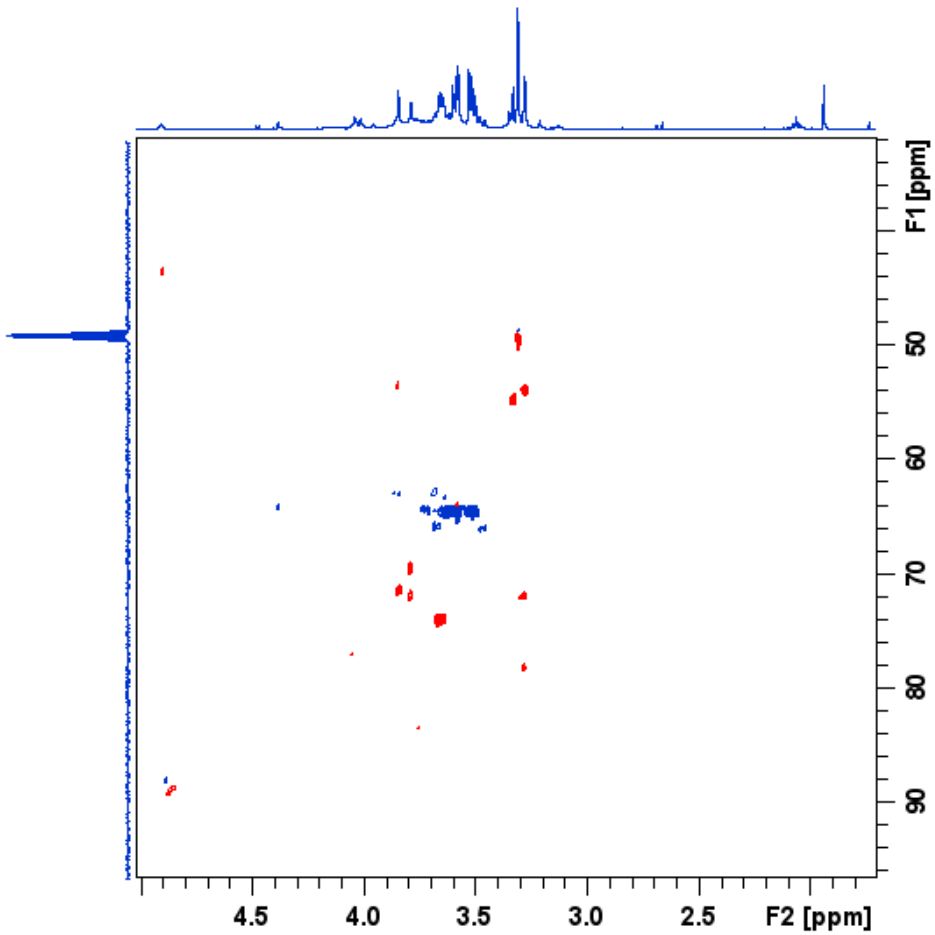
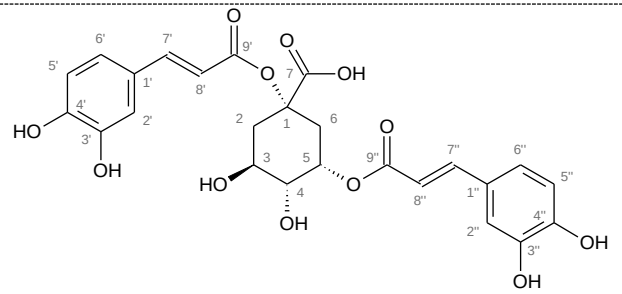
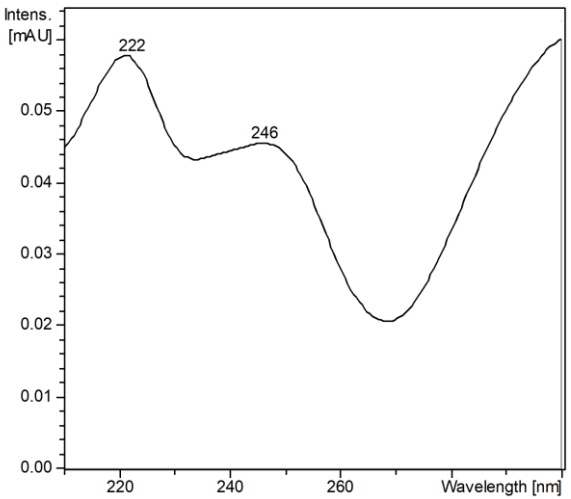


Figure 26 : Spectre ^{1}H-^{13}C HSQC (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 1**.

Annexe V. 2. Données spectrales du métabolite PLU 2



Acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique (**PLU 2**)



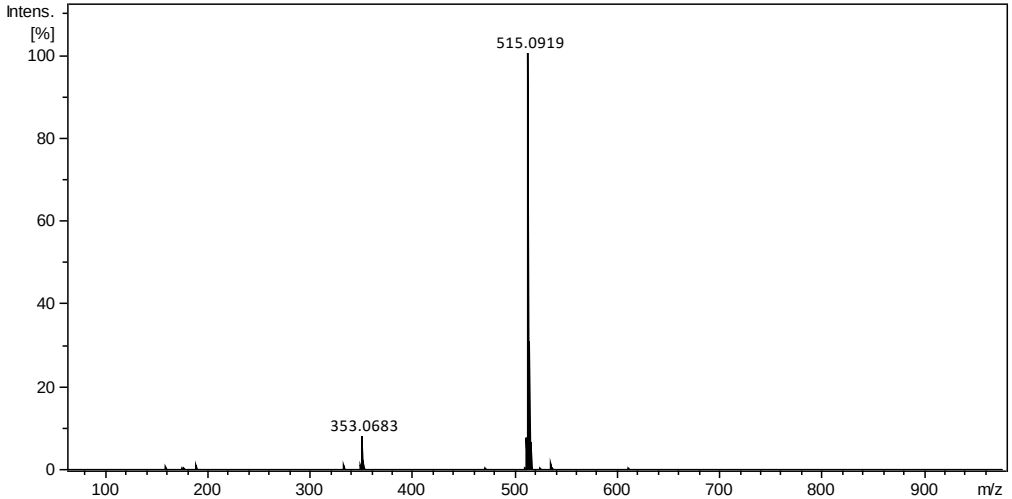


Figure 27 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode négatif (ESI$^-$) (droite) de **PLU 2**.

Tableau XII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de l'acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique (Huan-yu *et al*., 2014) à ceux observés pour **PLU 2**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD 150 MHz)	Littérature (CD_3OD, 125 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature (CD_3OD, 500 MHz)
1	81,7	81,7	-	-
2	35,9	36,0	2,40 (dd, *14,7* ; *3,2*) ; 2,50 (dd, *15,0* ; *4,5*)	2,43 (dd, *13,8* ; *2,9*) ; 2,54 (dd, *13,8* ; *4,0*)
3	69,8	69,8	4,28 (ql, *3,9*)	4,31 (m)
4	73,2	73,4	3,77 (dd, *8,3* ; *2,3*)	3,82 (dd, *8,5* ; *2,9*)
5	71,6	71,8	5,40 (td, *8,8* ; *3,9*)	5,43 (m)
6	37,3	37,4	2,05 (dd, *9,5* ; *13,5*) ; 2,59 (dl, *14,3*)	2,07 (m) ; 2,62 (dd, *12,1* ; *3,0*)
7	175,8	178,0	-	-
1'	127,8	127,9	-	-
2'	115,2	115,4	7,06 (d, *2,0*)	7,09 (d, *2,0*)
3'	141,9	146,8	-	-
4'	149,6	149,6	-	-
5'	116,5	116,4	6,78 (d, *8,2*)	6,80 (d, *8,1*)
6'	123,1	123,0	6,96 (dd, *7,9* ; *2,5*)	6,99 (dd, *8,1* ; *2,0*)
7'	147,3	147,3	7,58 (d, *15,9*)	7,62 (d, *16,0*)
8'	115,6	115,7	6,31 (d, *16,0*)	6,35 (d, *16,0*)
9'	168,2	168,6	-	-
1"	127,8	127,3	-	-
2"	115,2	115,4	7,06 (d, *2,0*)	7,09 (d, *2,0*)
3"	146,9	146,8	-	-
4"	149,6	149,6	-	-
5"	116,5	116,4	6,78 (d, *8,2*)	6,80 (d, *8,1*)
6"	123,1	123,1	6,96 (dd, *7,9* ; *2,5*)	6,99 (dd, *8,1* ; *2,0*)
7"	147,2	147,2	7,58 (d, *15,9*)	7,62 (d, *16,0*)
8"	115,2	115,3	6,28 (d, *16,0*)	6,32 (d, *16,0*)
9"	168,8	168,0	-	-

l : signal large

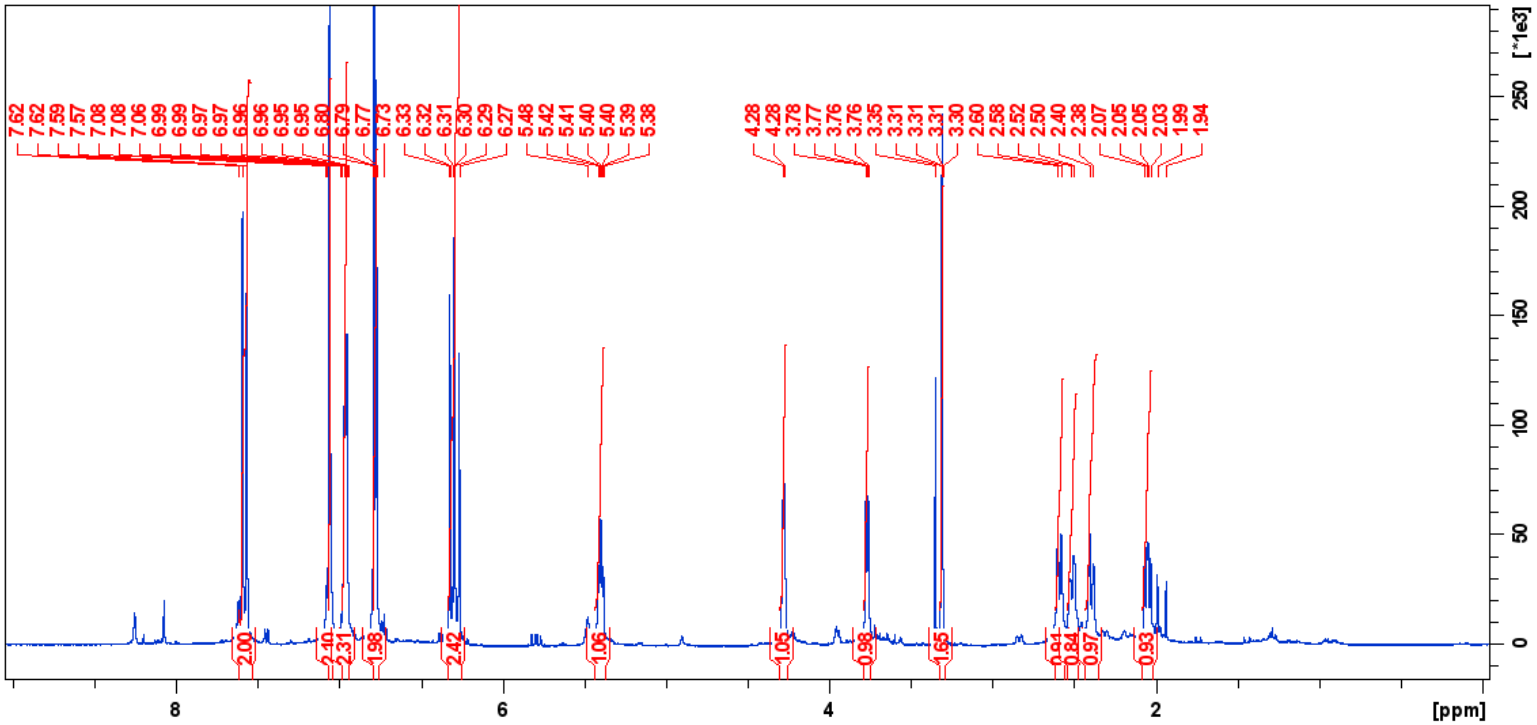


Figure 28 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 2**.

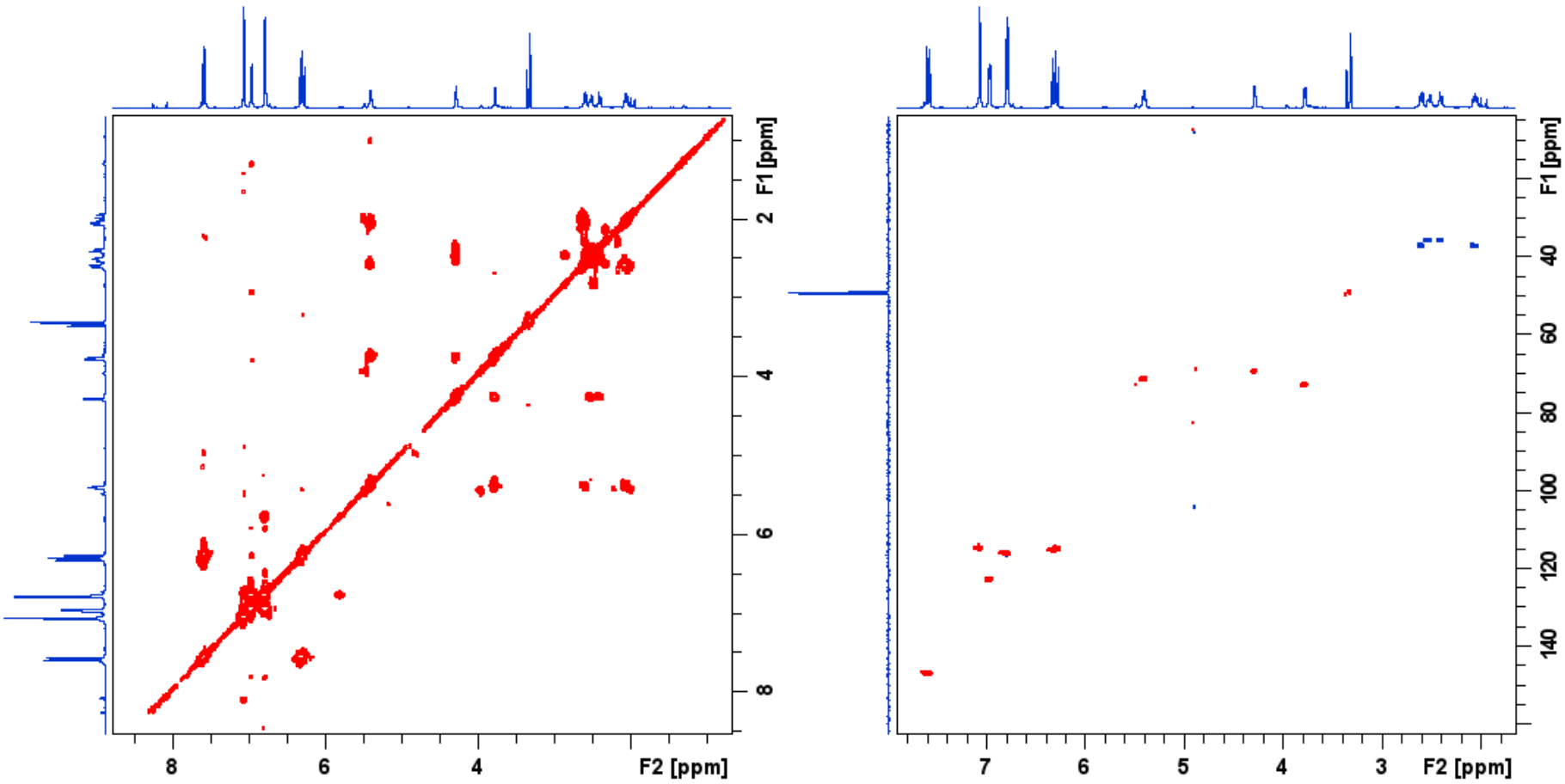


Figure 29 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 2**.

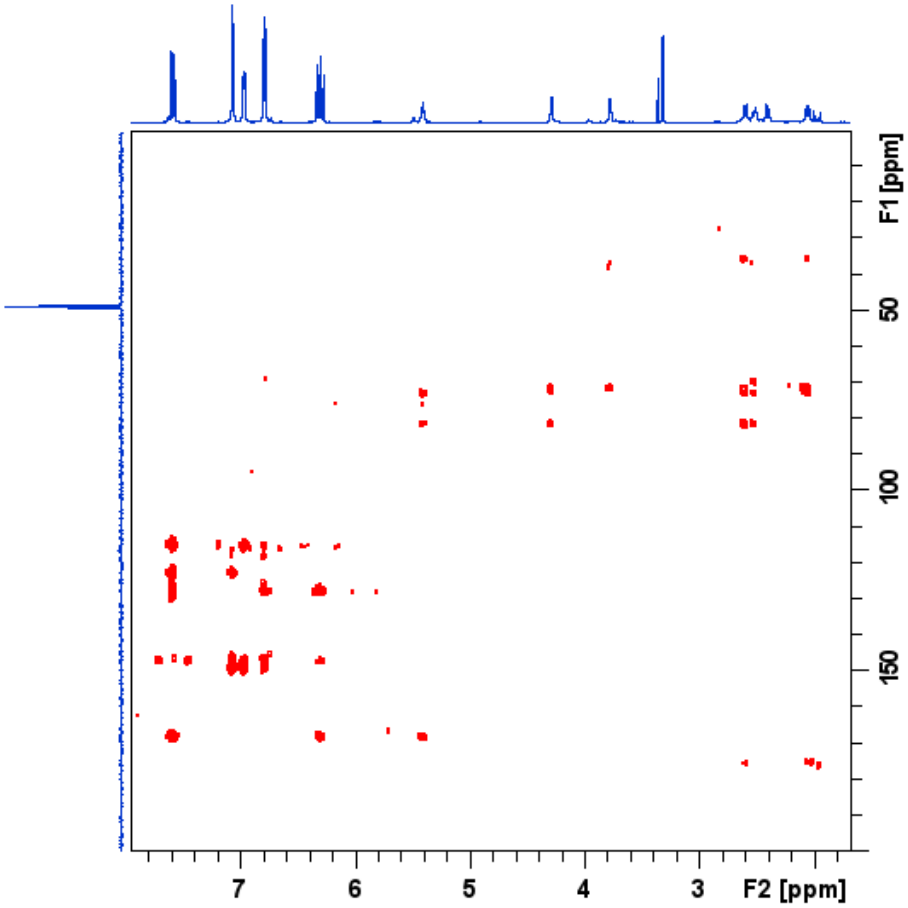
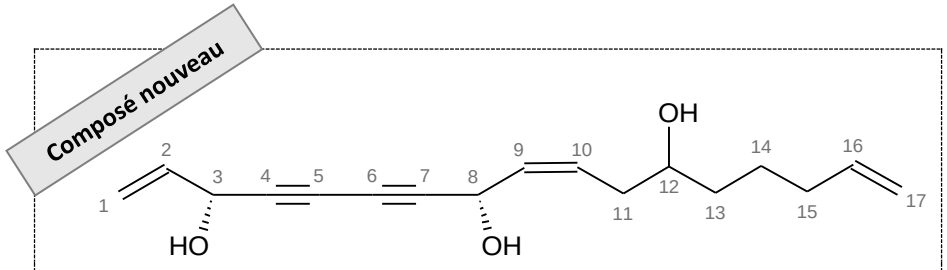


Figure 30 : Spectre ^{1}H-^{1}C HMBC (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 2**.

Annexe V. 3. Données spectrales du métabolite PLU 3



12-hydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 3**)

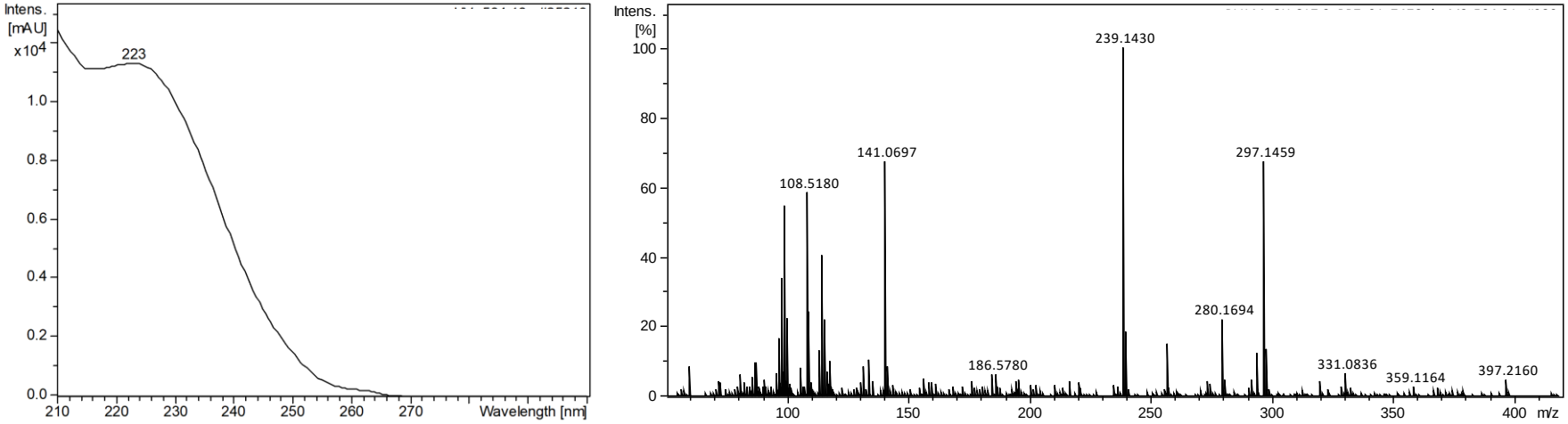


Figure 31 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PLU 3**.

Tableau XIII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de **PLU 9** à ceux observés pour **PLU 3**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	PLU 3 (CD_3OD, 150 MHz)	PLU 9 (CD_3OD, 150 MHz)	PLU 3 (CD_3OD, 600 MHz)	PLU 9 (CD_3OD, 600 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	116,6	116,7	5,19 (dt, *10,2* ; *1,3*) ; 5,40 (dtl, *17,1* ; *1,4*)	5,19 (dt, *10,2* ; *1,3*) ; 5,40 (dt, *17,1* ; *1,4*)	H2	C2, C3
?	138,0	138,0	5,91 (ddd, *17,1* ; *10,2* ; *5,5*)	5,91 (ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,5*)	H1, H3	C3,C4
3	63,8	63,8	4,88 (dm, *5,5*)	4,88 (ddt, *5,6* ; *1,4* ; *0,7*)	H2	C1, C2, C4, C5
4	79,8	79,7	-	-	-	-
5	70,1	70,1	-	-	-	-
6	68,9	68,7	-	-	-	-
7	80,9	81,0	-	-	-	-
8	58,9	58,8	5,16 (dtl, *8,3* ; *1,0*)	5,16 (dt, *8,4* ; *0,9*)	H9	C6, C7, C9, 10
9	131,4	129,8	5,58 (ddt, *10,7* ; *8,3* ; *1,5*)	5,47 (ddt, *10,6* ; *8,4* ; *1,4*)	H8, H10	C11
10	130,3	134,0	5,67 (dtd, *10,7* ; *7,5* ; *1,1*)	5,55 (dtd, *10,6* ; *7,6* ; *1,2*)	H9, H11	C8, C9, C12
11	36,4	28,5	2,29 (m)	2,12 (m)	H10, H12	C9, C10, C12, C13
12	71,8	30,2	3,61 (m)	1,41 (m)	H11, H13	C14
13	37,2	29,7	1,44 (m) ; 1,50 (m)	1,34 (m)	H12, H14	C11, C12, C14
14	26,2	29,9	1,43 (m) ; 1,56 (m)	1,41 (m)	H13, H15	C12, C13, C15, C16
15	34,8	34,8	2,06 (m)	2,06 (m)	H14, H16	C14, C16, C17
16	139,9	140,0	5,82 (ddd, *17,1* ; *10,2* ; *6,8*)	5,82 (ddt, *17,1* ; *10,3* ; *6,8*)	H15, H17	C14, C15
17	115,0	114,8	4,93 (ddt, *10,2* ; *2,1* ; *1,2*) ; 5,02 (ddt, *17,1* ; *2,1* ; *1,6*)	4,92 (ddt, *10,2* ; *2,3* ; *1,1*) ; 4,99 (ddtl, *17,1* ; *2,0* ; *1,6*)	H16	C15

dm : doublet de multiplet ; l : signal large

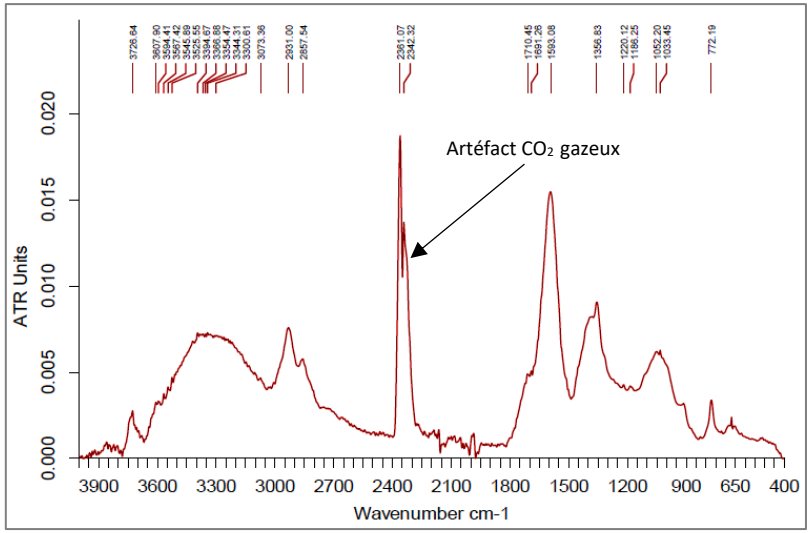


Figure 32 : Spectre IRTF de **PLU 3**.

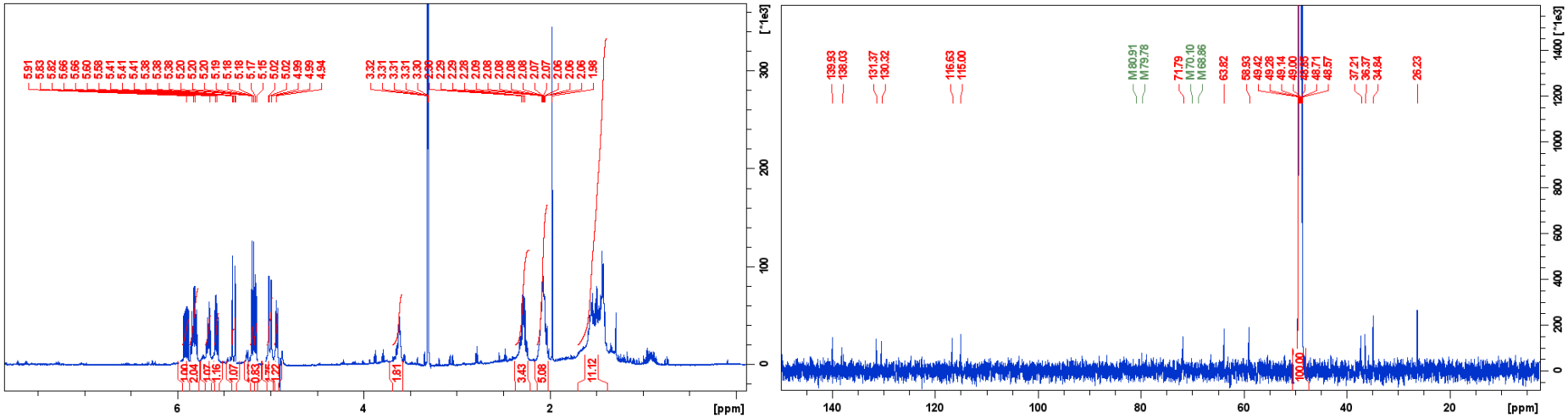


Figure 33 : Spectres RMN ^{1}H (gauche) et RMN ^{13}C (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 3**.

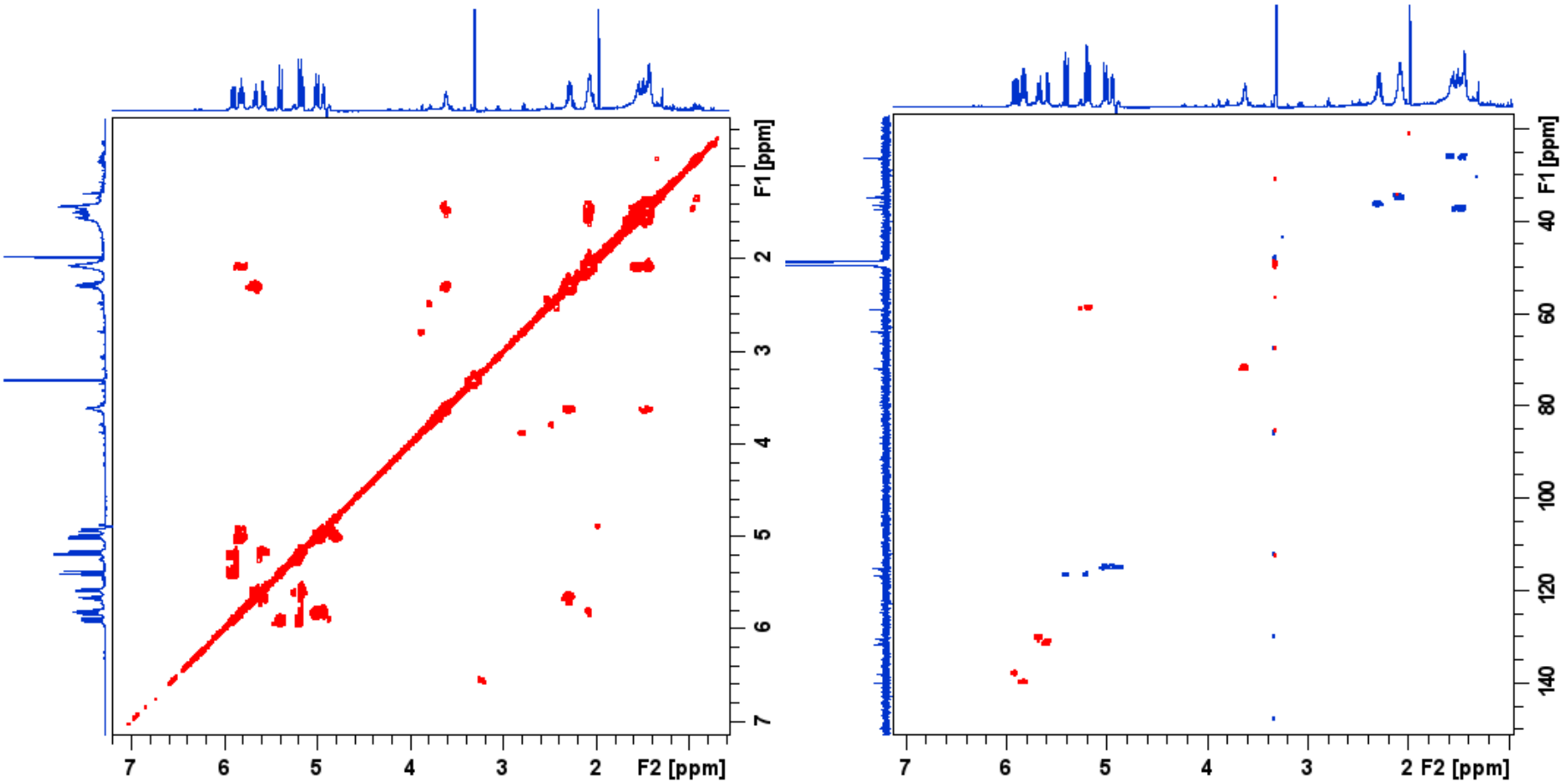


Figure 34 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 3**.

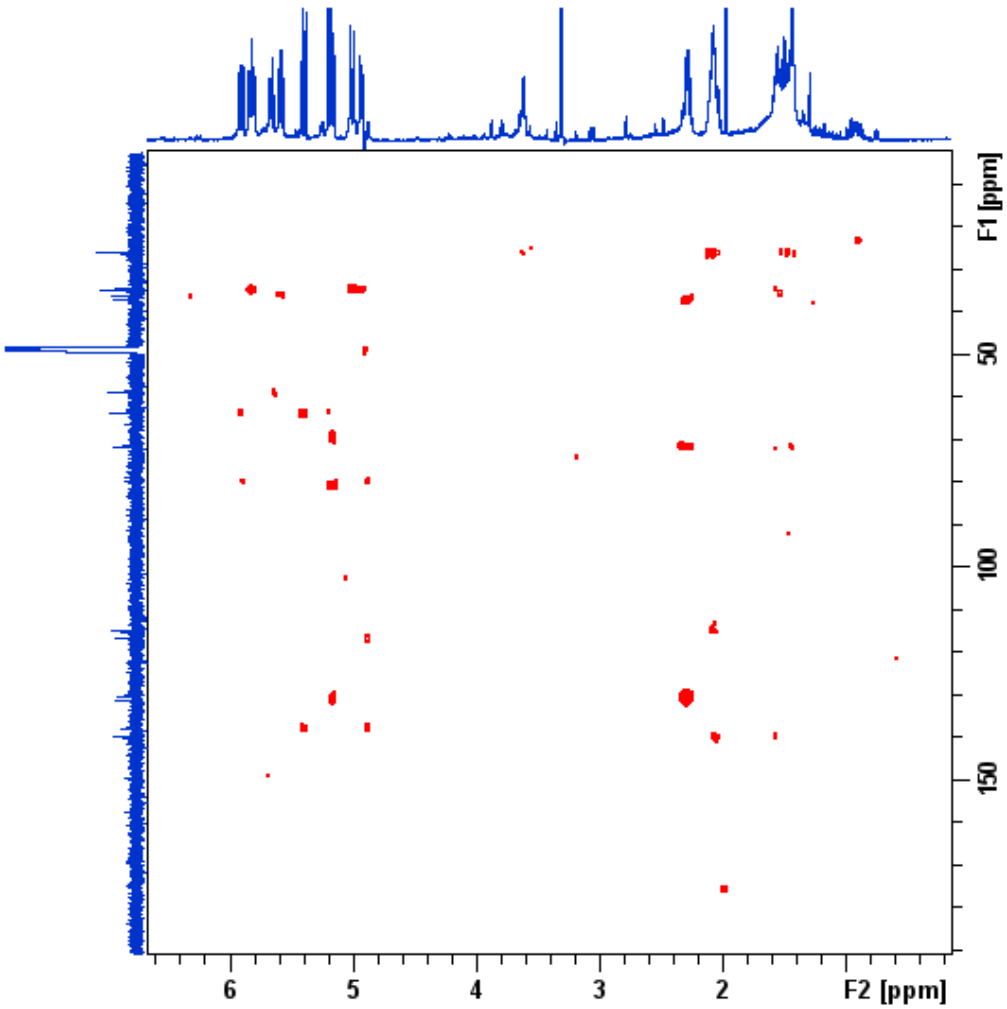
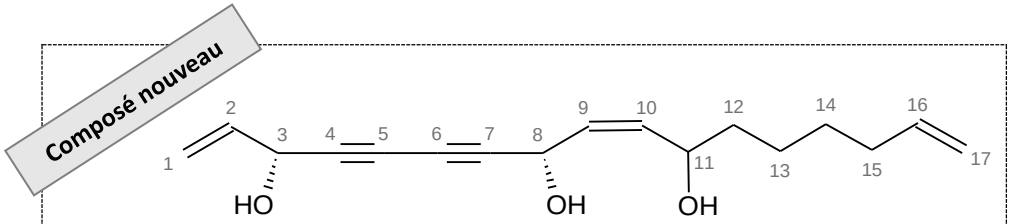
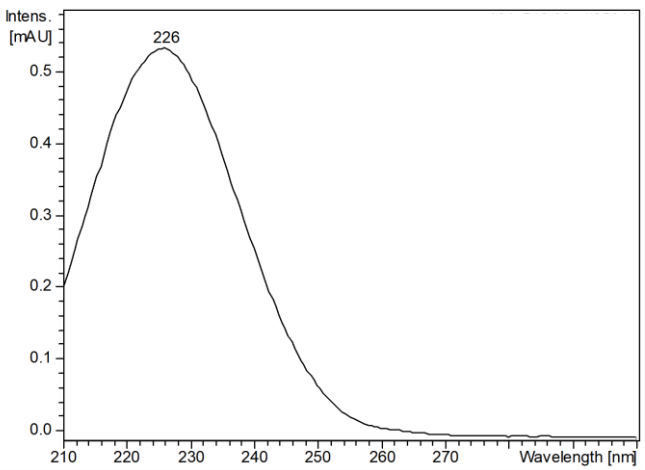


Figure 35 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 3**.

Annexe V. 4. Données spectrales du métabolite PLU 4



11-hydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 4**)



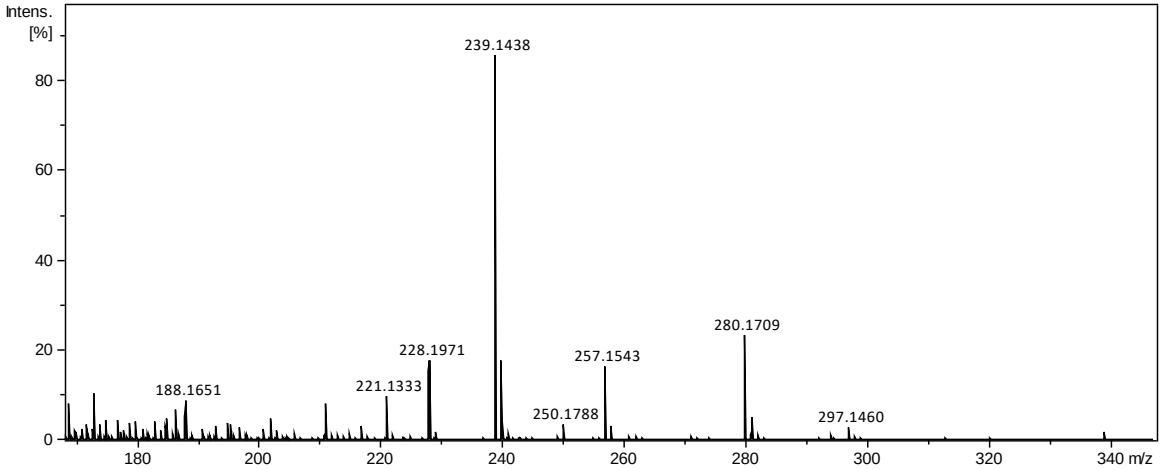


Figure 36 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PLU 4**.

Tableau XIV : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de **PLU 9** à ceux observés pour **PLU 4**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	PLU 4 (CD_3OD, 150 MHz)	PLU 9 (CD_3OD, 150 MHz)	PLU 4 (CD_3OD, 600 MHz)	PLU 9 (CD_3OD, 600 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	116,7	116,7	5,19 (dtl, *10,2* ; *1,3*) ; 5,40 (dtl, *17,0* ; *1,4*)	5,19 (dt, *10,2* ; *1,3*) ; 5,40 (dt, *17,1* ; *1,4*)	H2	C2, C3
2	138,0	138,0	5,91 (ddd, *17,1* ; *10,2* ; *5,5*)	5,91 (ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,5*)	H1, H3	C3,C4
3	63,5	63,8	4,88 (dm, *5,6*)	4,88 (ddt, *5,6* ; *1,4* ; *0,7*)	H2	C1, C2, C4, C5
4	80,1	79,7	-	-	-	-
5	69,8	70,1	-	-	-	-
6	69,4	68,7	-	-	-	-
7	80,9	81,0	-	-	-	-
8	59,0	58,8	5,20 (dl, *7,7*)	5,16 (dt, *8,4* ; *0,9*)	H9	C6, C7, C9, 10
9	129,9	129,8	5,53 (m)	5,47 (ddt, *10,6* ; *8,4* ; *1,4*)	H8, H10	C8, C11
10	137,1	134,0	5,51 (m)	5,55 (dtd, *10,6* ; *7,6* ; *1,2*)	H9, H11	C11
11	68,3	28,5	4,42 (dt, *7,3* ; *5,8*)	2,12 (m)	H10, H12	C9, C13
12	38,3	30,2	1,48 (m) ; 1,56 (m)	1,41 (m)	H11, H13	C11, C13
13	26,0	29,7	1,39 (m)	1,34 (m)	H12, H14	C14
14	30,2	29,9	1,41 (m)	1,41 (m)	H13, H15	C13, C16
15	34,9	34,8	2,06 (m)	2,06 (m)	H14, H16	C13, C14, C16, C17
16	139,9	140,0	5,81 (ddt, *17,1* ; *10,3* ; *6,8*)	5,82 (ddt, *17,1* ; *10,3* ; *6,8*)	H15, H17	C15
17	115,0	114,8	4,92 (dm, *10,1*) ; 5,00 (dql, *17,1* ; *1,8*)	4,92 (ddt, *10,2* ; *2,3* ; *1,1*) ; 4,99 (ddtl, *17,1* ; *2,0* ; *1,6*)	H16	C15

dm : doublet de multiplet ; l : signal large

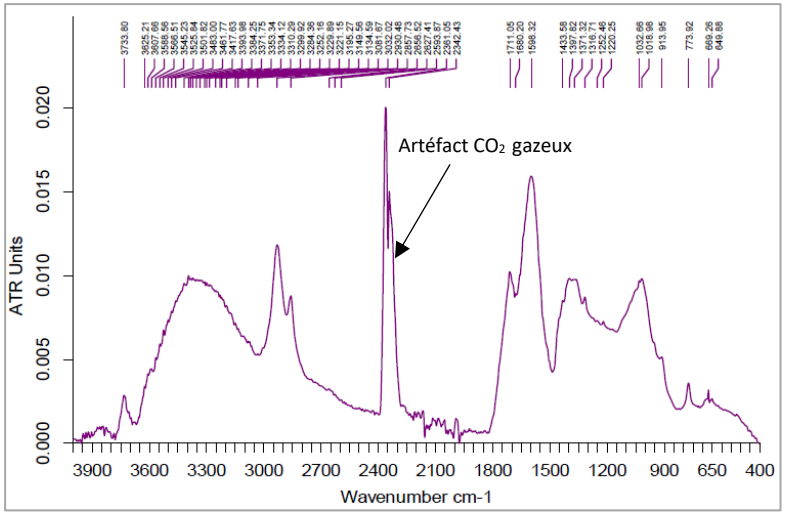


Figure 37 : Spectre IRTF de **PLU 4**.

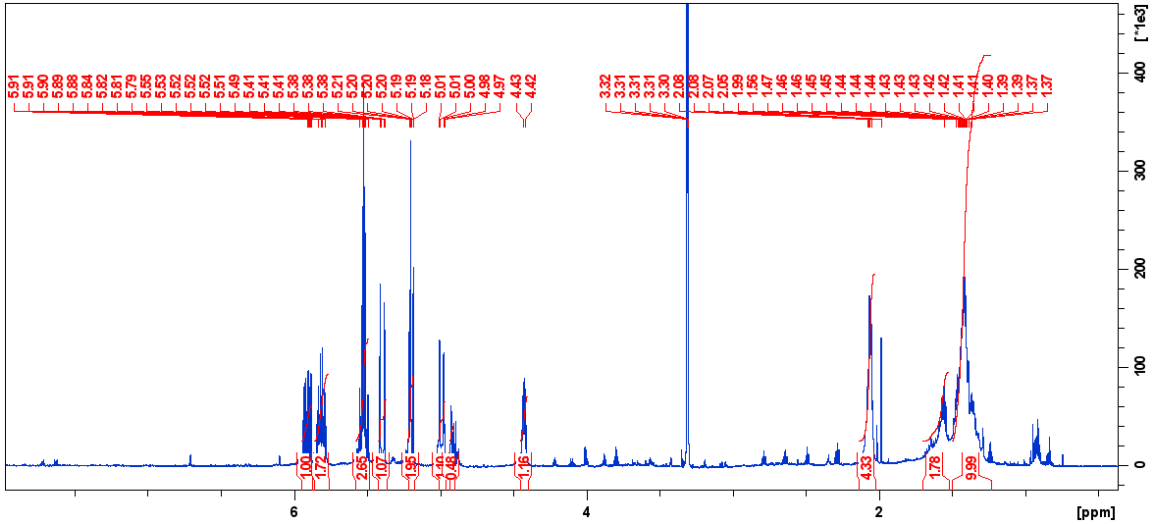


Figure 38 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 4**.

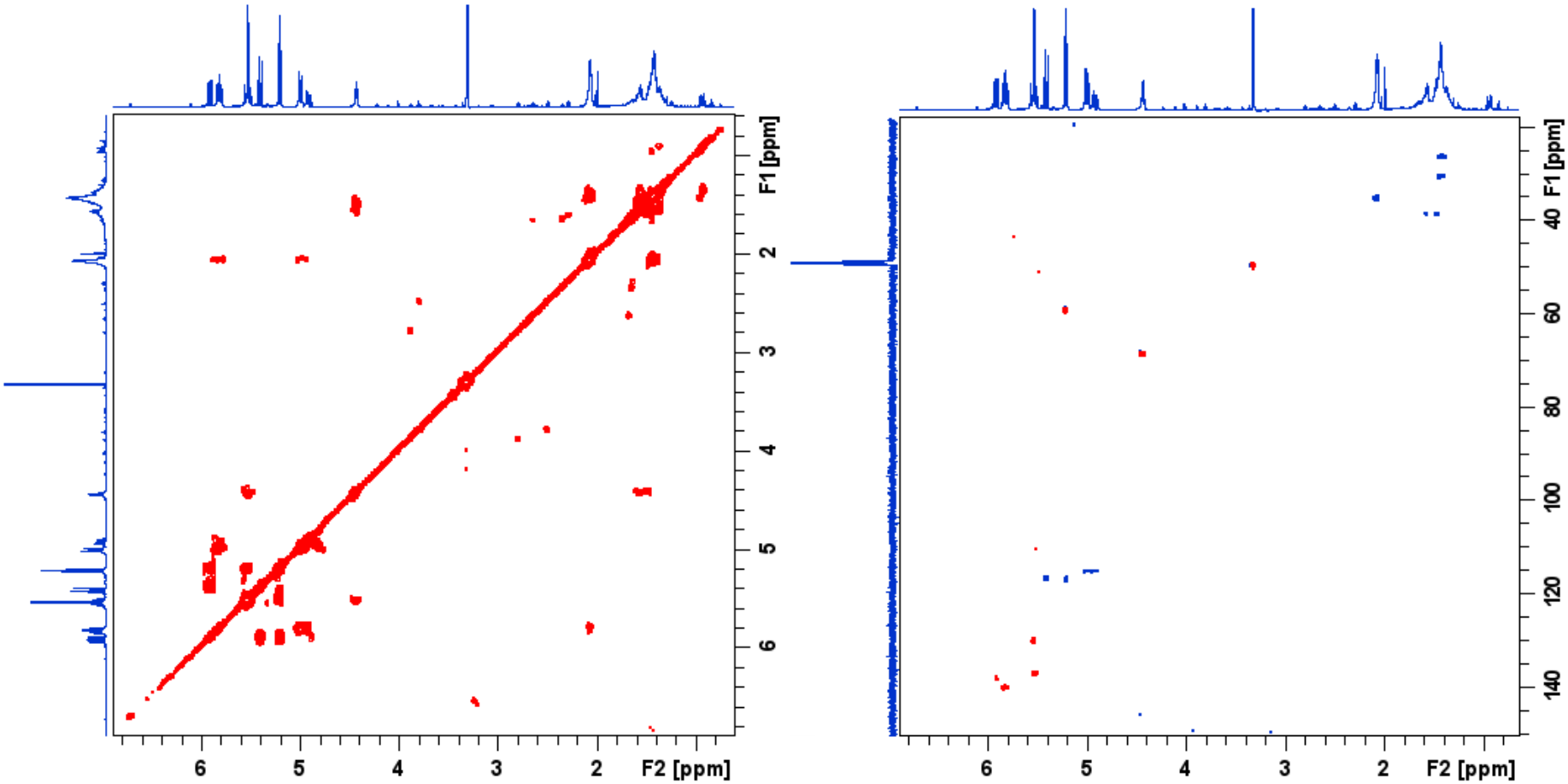


Figure 39 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 4**.

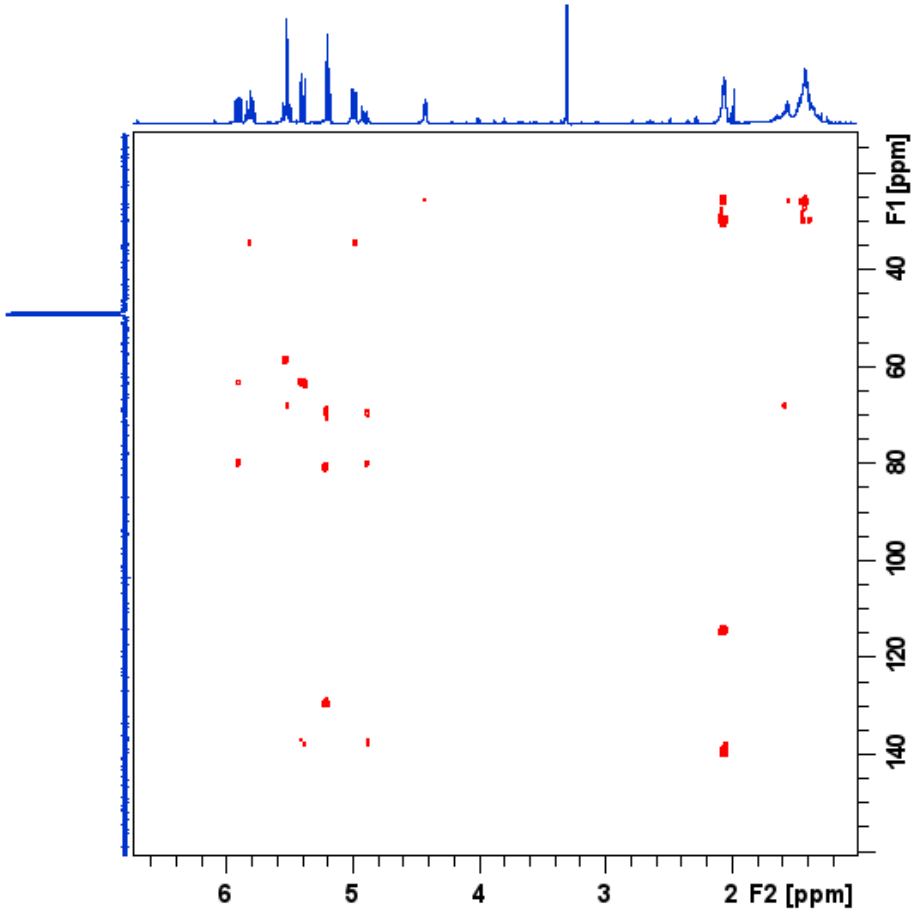
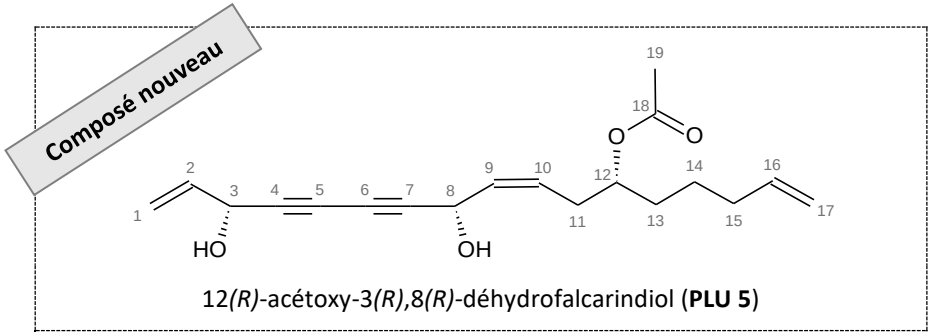


Figure 40 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 4**.

Annexe V. 5. Données spectrales du métabolite PLU 5



12*(R)*-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 5**)

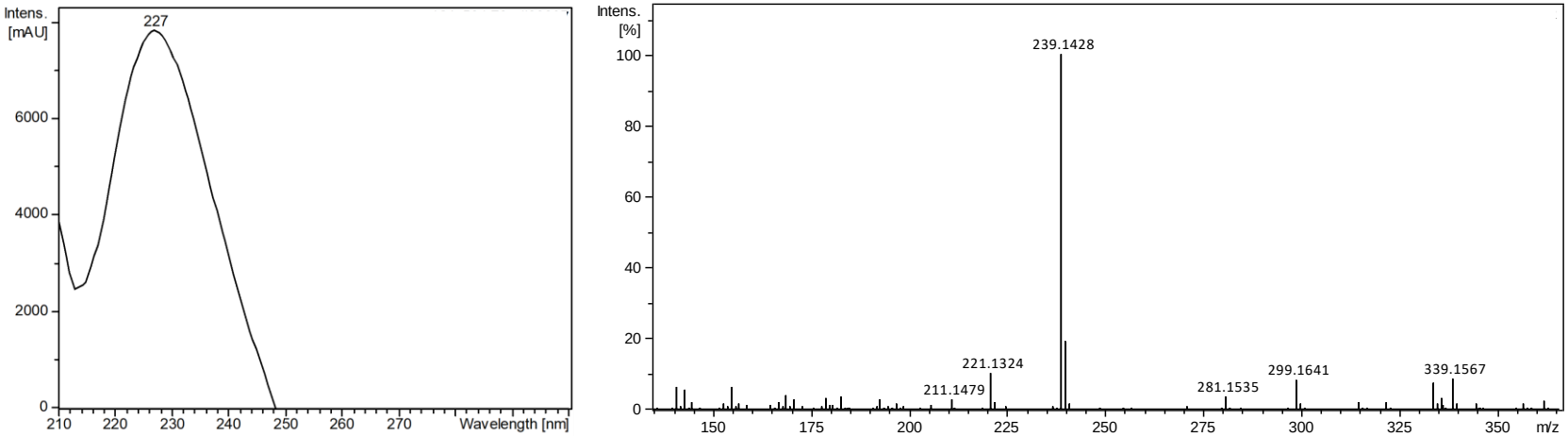


Figure 41 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI^+) (droite) de **PLU 5**.

Tableau XV : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de **PLU 3** à ceux observés pour **PLU 5**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	PLU 5 (CD_3OD, 150 MHz)	PLU 3 (CD_3OD, 150 MHz)	PLU 5 (CD_3OD, 600 MHz)	PLU 3 (CD_3OD, 600 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	116,7	116,6	5,19 (dt, *10,1* ; *1,3*) ; 5,40 (dtl, *17,0* ; *1,2*)	5,19 (dt, *10,2* ; *1,3*) ; 5,40 (dtl, *17,1* ; *1,4*)	H2	C2, C3
2	138,0	138,0	5,91 (ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,6*)	5,91 (ddd, *17,1* ; *10,2* ; *5,5*)	H1, H3	C3,C4
3	63,8	63,8	4,88 (dl, *5,4*)	4,88 (dm, *5,5*)	H2	C1, C2, C4, C5
4	80,0	79,8	-	-	-	-
5	70,0	70,1	-	-	-	-
6	69,0	68,9	-	-	-	-
7	80,9	80,9	-	-	-	-
8	58,7	58,9	5,17 (dl, *7,8*)	5,16 (dtl, *8,3* ; *1,0*)	H9	C6, C7, C9, 10
9	132,3	131,4	5,59 (ddl, *10,8* ; *8,0*)	5,58 (ddt, *10,7* ; *8,3* ; *1,5*)	H8, H10	C8
10	128,8	130,3	5,55 (dtl, *11,4* ; *7,1*)	5,67 (dtd, *10,7* ; *7,5* ; *1,1*)	H9, H11	C8, C11
11	33,3	36,4	2,36 (dt, *14,6* ; *5,4*) ; 2,44 (dt, *14,7* ; *7,4*)	2,29 (m)	H10, H12	C9, C10, C12
12	74,5	71,8	4,90 (m)	3,61 (m)	H11, H13	C10, C11, C14, C18
13	34,3	37,2	1,59 (m)	1,44 (m) ; 1,50 (m)	H12, H14	C11, C12, C14, C15
14	25,8	26,2	1,39 (m) ; 1,45 (m)	1,43 (m) ; 1,56 (m)	H13, H15	C12, C13, C16
15	34,5	34,8	2,06 (m)	2,06 (m)	H14, H16	C13, C14, C16, C17
16	139,5	139,9	5,80 (ddt, *17,0* ; *10,3* ; *6,8*)	5,82 (ddd, *17,1* ; *10,2* ; *6,8*)	H15, H17	C15
17	115,3	115,0	4,94 (ddt, *10,2* ; *2,1* ; *1,0*) ; 5,00 (dql, *17,0* ; *1,6*)	4,93 (ddt, *10,2* ; *2,1* ; *1,2*) ; 5,02 (ddt, *17,1* ; *2,1* ; *1,6*)	H16	C15
18	172,7	-	-	-	-	-
19	21,2	-	2,04 (s)	-	-	C18

l : signal large

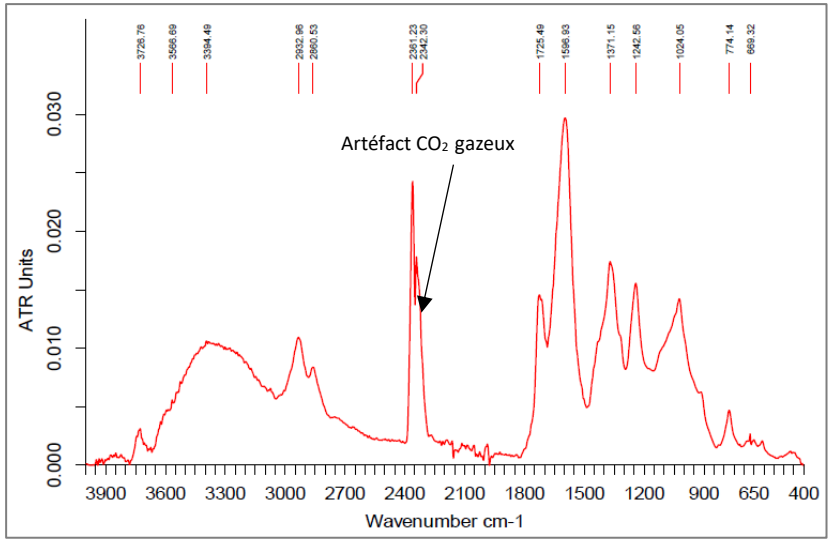


Figure 42 : Spectre IRTF de **PLU 5**.

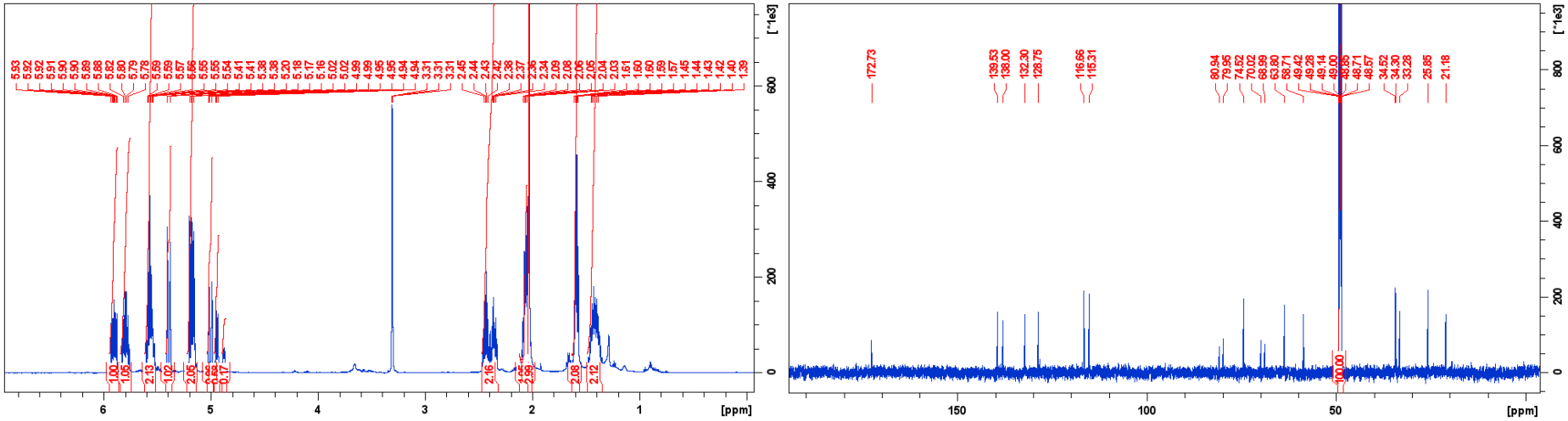


Figure 43 : Spectres RMN ^{1}H (gauche) et RMN ^{13}C (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 5**.

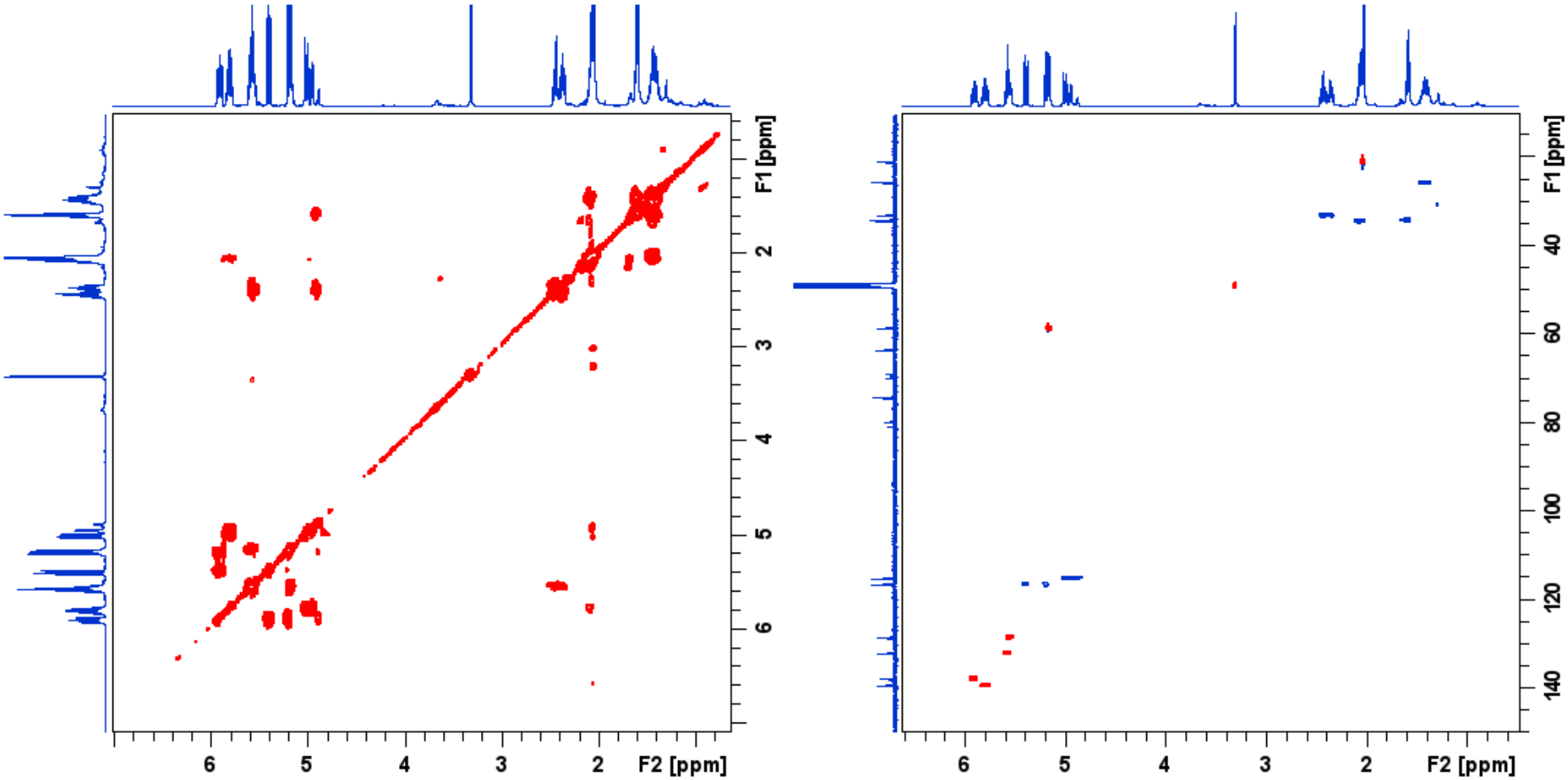


Figure 44 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 5**.

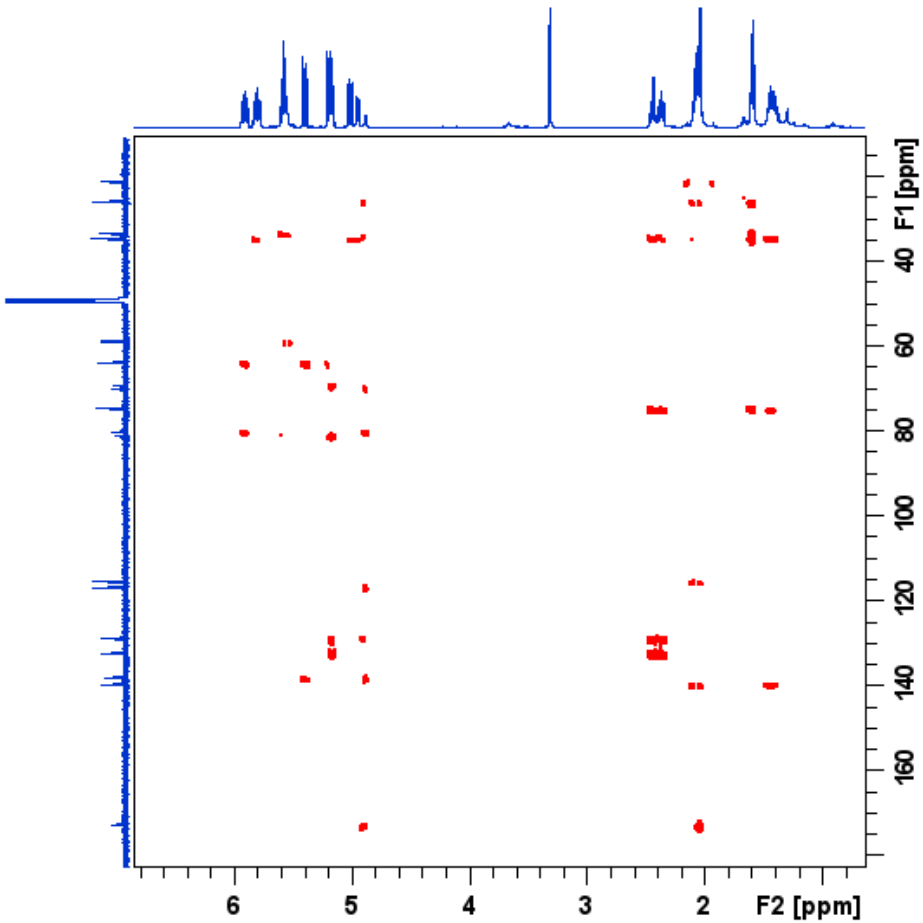
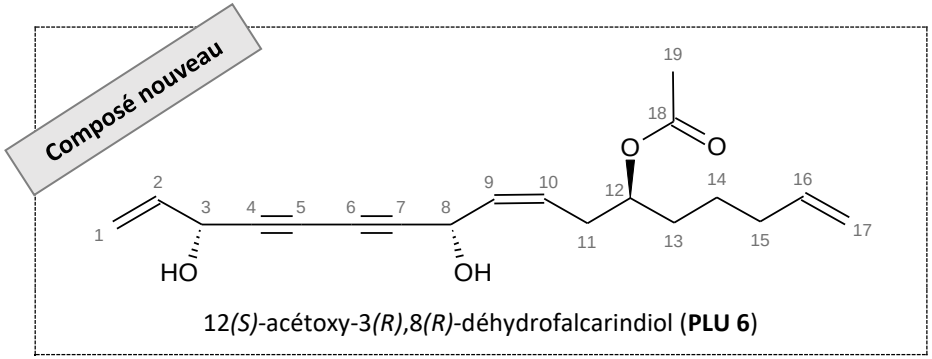


Figure 45 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 5**.

Annexe V. 6. Données spectrales du métabolite PLU 6



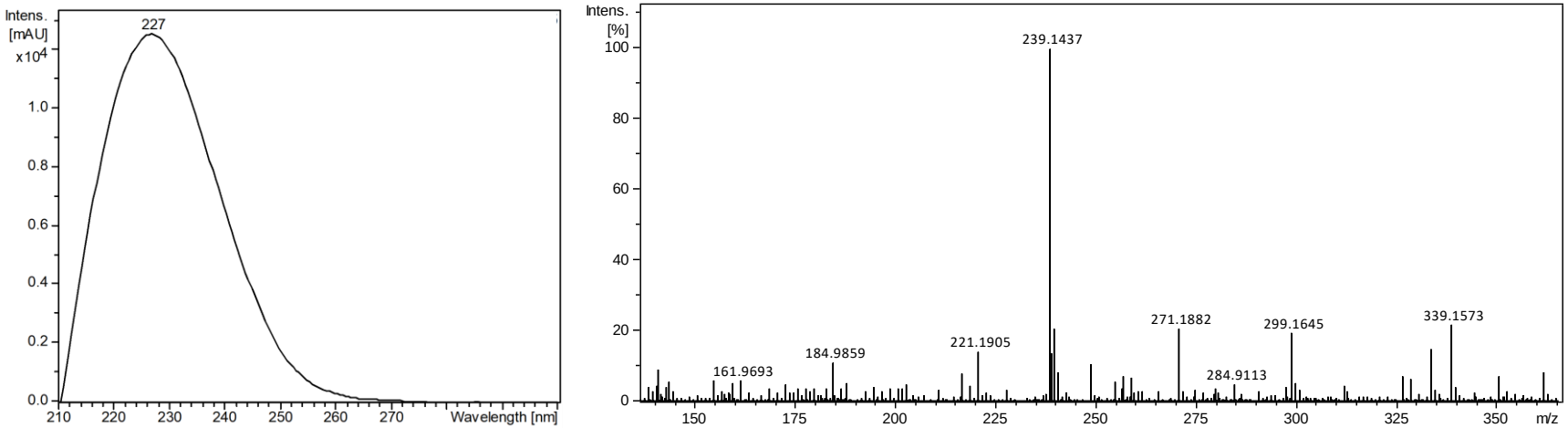


Figure 46 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PLU 6**.

Tableau XVI : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de **PLU 5** à ceux observés pour **PLU 6**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	PLU 6 (CD_3OD, 150 MHz)	PLU 5 (CD_3OD, 150 MHz)	PLU 6 (CD_3OD, 600 MHz)	PLU 5 (CD_3OD, 600 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	116,7	116,7	5,19 (dt, *10,1* ; *1,3*) ; 5,40 (dtl, *17,0* ; *1,2*)	5,19 (dt, *10,1* ; *1,3*) ; 5,40 (dtl, *17,0* ; *1,2*)	H2	C2, C3
2	138,0	138,0	5,91 (ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,6*)	5,91 (ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,6*)	H1, H3	C3,C4
3	63,8	63,8	4,88 (d, *5,4*)	4,88 (dl, *5,4*)	H2	C1, C2, C4, C5
4	79,9	80,0	-	-	-	-
5	70,0	70,0	-	-	-	-
6	69,3	69,0	-	-	-	-
7	80,7	80,9	-	-	-	-
8	58,9	58,7	5,16 (dl, *7,6*)	5,17 (dl, *7,8*)	H9	C6, C7, C9, 10
9	132,4	132,3	5,58 (dd, *10,8* ; *7,6*)	5,59 (ddl, *10,8* ; *8,0*)	H8, H10	C8, C11
10	128,4	128,8	5,54 (dtl, *10,9* ; *7,3*)	5,55 (dtl, *11,4* ; *7,1*)	H9, H11	C8, C11
11	33,2	33,3	2,40 (t, *6,3*)	2,36 (dt, *14,6* ; *5,4*) ; 2,44 (dt, *14,7* ; *7,4*)	H10, H12	C9, C10, C12
12	74,6	74,5	4,90 (dm, *6,1*)	4,90 (m)	H11, H13	C10, C11, C14, C18
13	34,1	34,3	1,59 (m)	1,59 (m)	H12, H14	C11, C12, C14, C15
14	25,8	25,8	1,39 (m) ; 1,45 (m)	1,39 (m) ; 1,45 (m)	H13, H15	C12, C13, C16
15	34,8	34,5	2,06 (m)	2,06 (m)	H14, H16	C13, C14, C16, C17
16	139,5	139,5	5,80 (ddt, *17,0* ; *10,3* ; *6,8*)	5,80 (ddt, *17,0* ; *10,3* ; *6,8*)	H15, H17	C15
17	115,3	115,3	4,93 (dm, *10,3*) ; 4,99 (dql, *17,0* ; *1,6*)	4,94 (ddt, *10,2* ; *2,1* ; *1,0*) ; 5,00 (dql, *17,0* ; *1,6*)	H16	C15
18	172,7	172,7	-	-	-	-
19	21,1	21,2	2,03 (s)	2,04 (s)	-	C18

dm : doublet de multiplet ; l : signal large

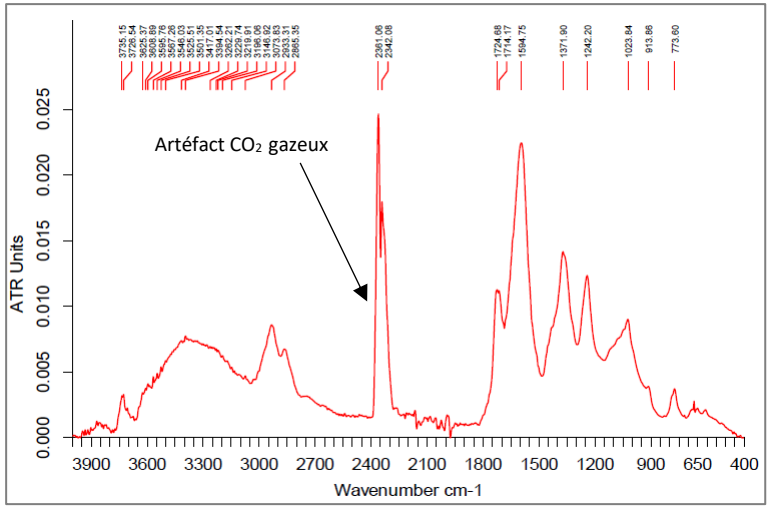


Figure 47 : Spectre IRTF de **PLU 6**.

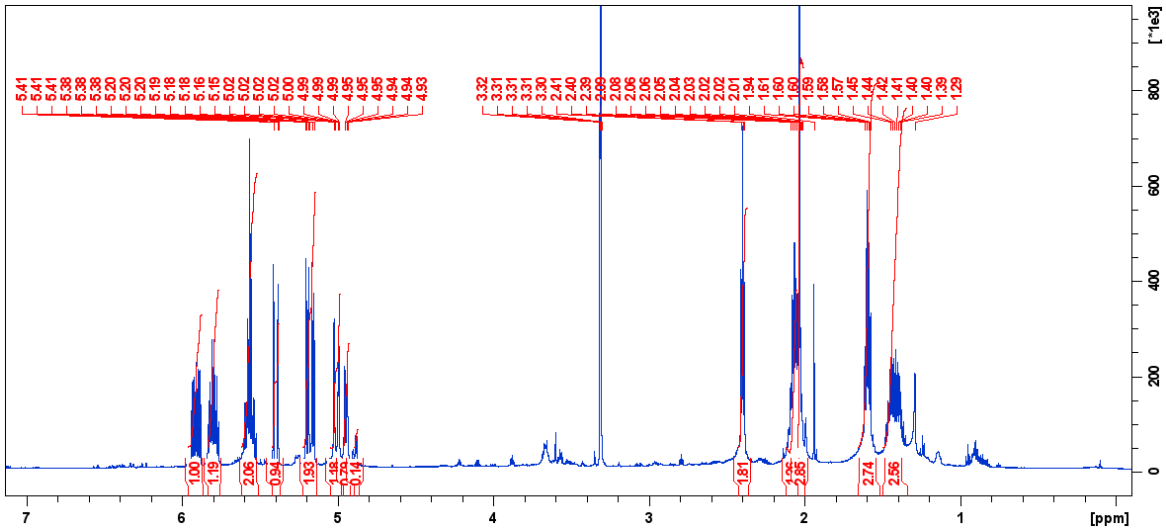


Figure 48 : Spectre RMN ^1H (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 6**.

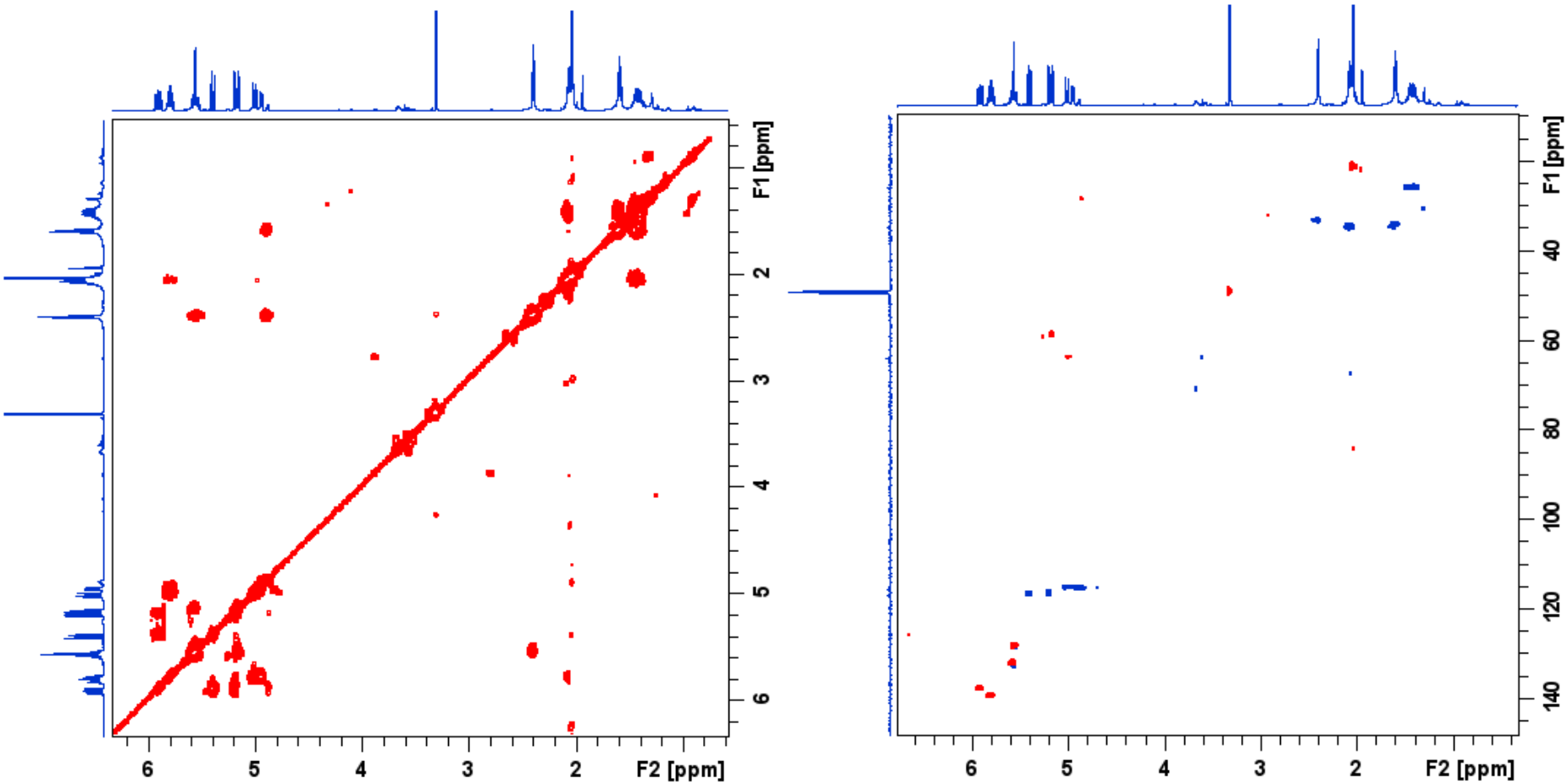


Figure 49 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 6**.

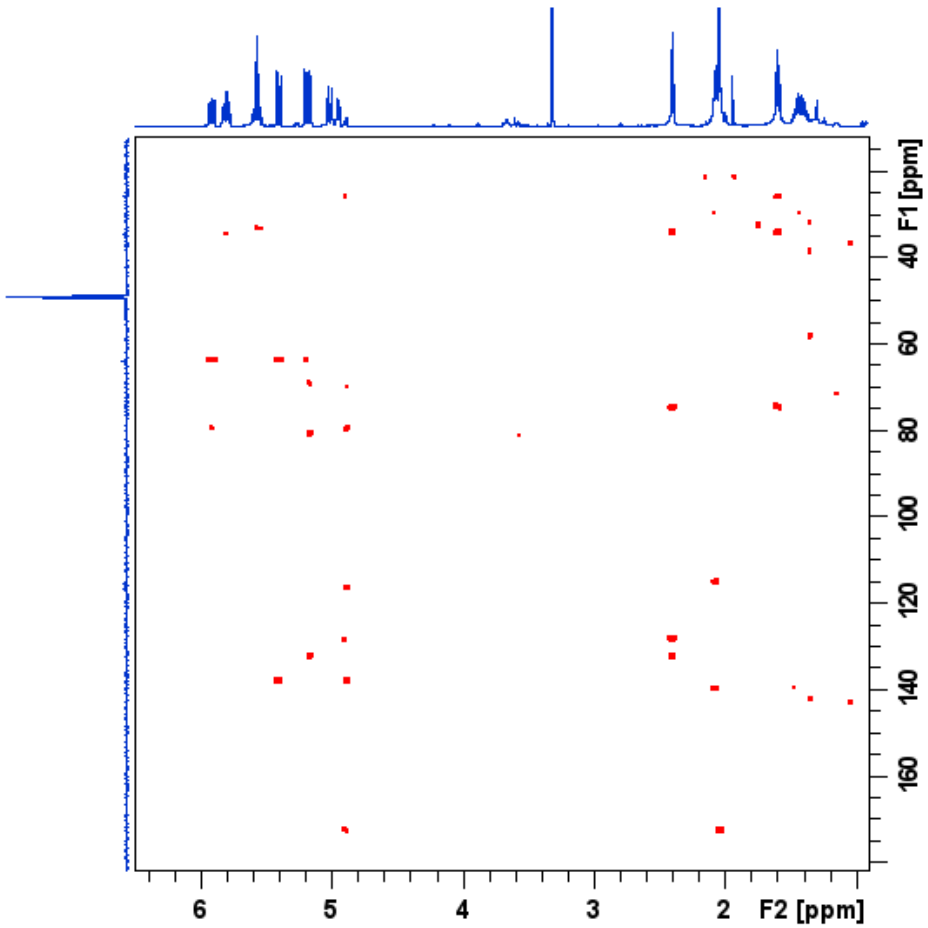
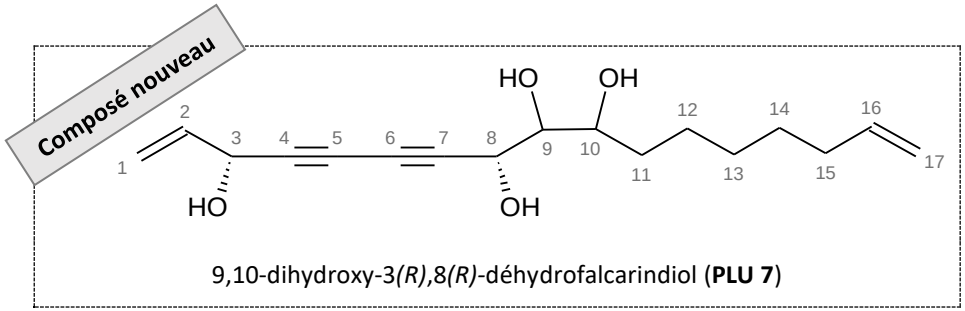
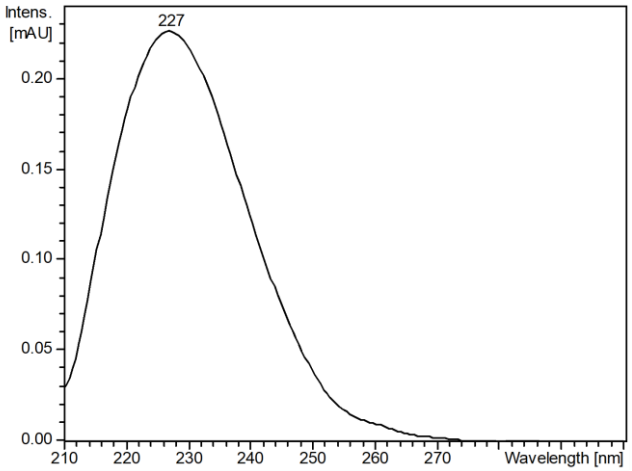


Figure 50 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 6**.

Annexe VI. 7. Données spectrales du métabolite PLU 7





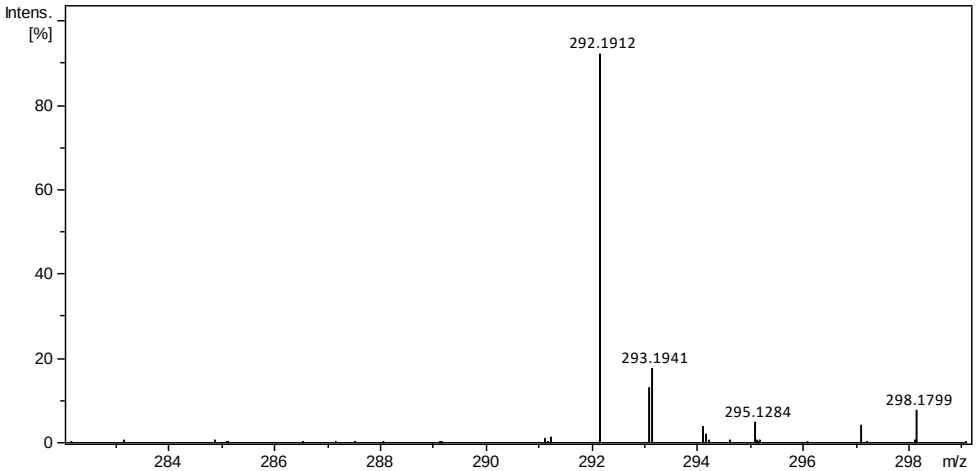


Figure 51 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PLU 7**.

Tableau XVII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de **PLU 9** à ceux observés pour **PLU 7**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	PLU 7 (CD_3OD, 150 MHz)	PLU 9 (CD_3OD, 150 MHz)	PLU 7 (CD_3OD, 600 MHz)	PLU 9 (CD_3OD, 600 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	116,6	116,7	5,19 (dt, *10,1* ; *1,3*) ; 5,40 (dtl, *17,0* ; *1,2*)	5,19 (dt, *10,2* ; *1,3*) ; 5,40 (dt, *17,1* ; *1,4*)	H2	C2, C3
2	138,0	138,0	5,91 (ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,6*)	5,91 (ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,5*)	H1, H3	C3,C4
3	63,8	63,8	4,89 (d, *5,3*)	4,88 (ddt, *5,6* ; *1,4* ; *0,7*)	H2	C1, C2, C4, C5
4	79,9	79,7	-	-	-	-
5	70,0	70,1	-	-	-	-
6	69,3	68,7	-	-	-	-
7	81,4	81,0	-	-	-	-
8	64,7	58,8	4,43 (d, *8,7*)	5,16 (dt, *8,4* ; *0,9*)	H9	C6, C7, C9, 10
9	64,2	129,8	3,58 (dd, *8,6* ; *1,7*)	5,47 (ddt, *10,6* ; *8,4* ; *1,4*)	H8	C7, C8, C10, C11
10	76,5	134,0	4,24 (ddd, *9,2* ; *5,0* ; *1,8*)	5,55 (dtd, *10,6* ; *7,6* ; *1,2*)	H11	C11, C12
11	36,1	28,5	1,77 (m) ; 1,87 (m)	2,12 (m)	H10, H12	C9, C10, C12, C13
12	27,6	30,2	1,44 (m) ; 1,54 (m)	1,41 (m)	H11, H13	C11, C13, C14
13	29,6	29,7	1,40 (m)	1,34 (m)	H12, H14	C11, C12, C14, C15
14	29,9	29,9	1,41 (m)	1,41 (m)	H13, H15	C12, C13, C15, C16
15	34,5	34,8	2,06 (m)	2,06 (m)	H14, H16	C13, C14, C16, C17
16	139,5	140,0	5,80 (ddtl, *17,0* ; *10,3* ; *6,8*)	5,82 (ddt, *17,1* ; *10,3* ; *6,8*)	H15, H17	C14, C15
17	114,9	114,8	4,95 (dm, *10,0*) ; 5,01 (dql, *17,0* ; *1,8*)	4,92 (ddt, *10,2* ; *2,3* ; *1,1*) ; 4,99 (ddtl, *17,1* ; *2,0* ; *1,6*)	H16	C15, C16

dm : doublet de multiplet ; l : signal large

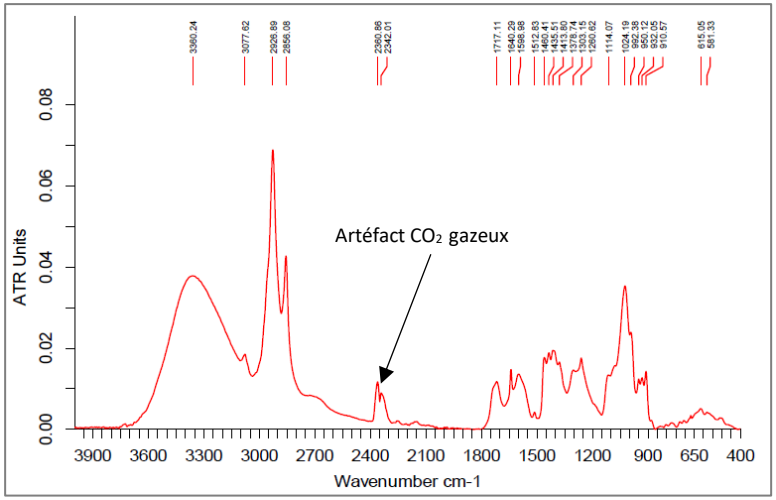


Figure 52 : Spectre IRTF de **PLU 7**.

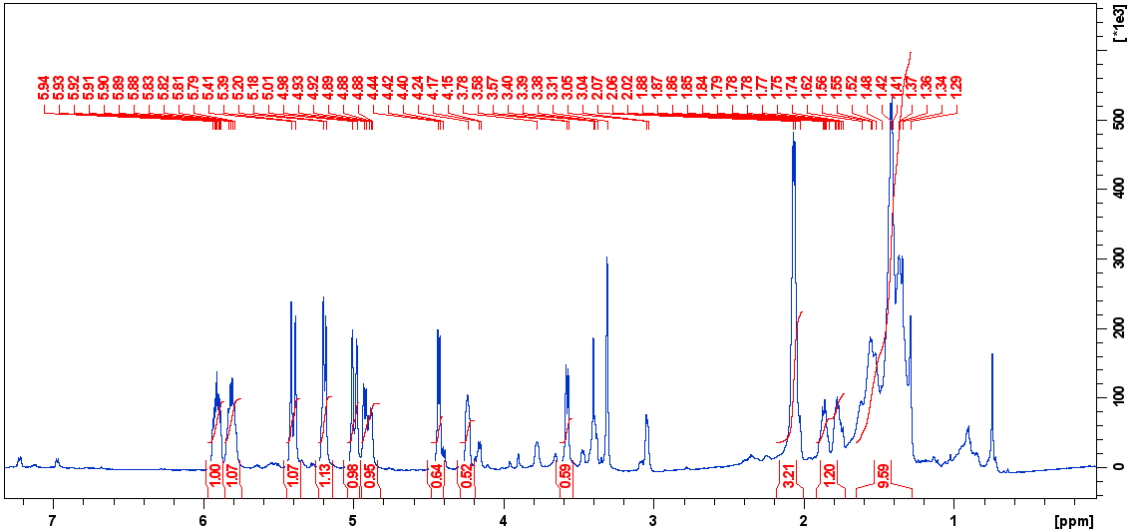


Figure 53 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 7**.

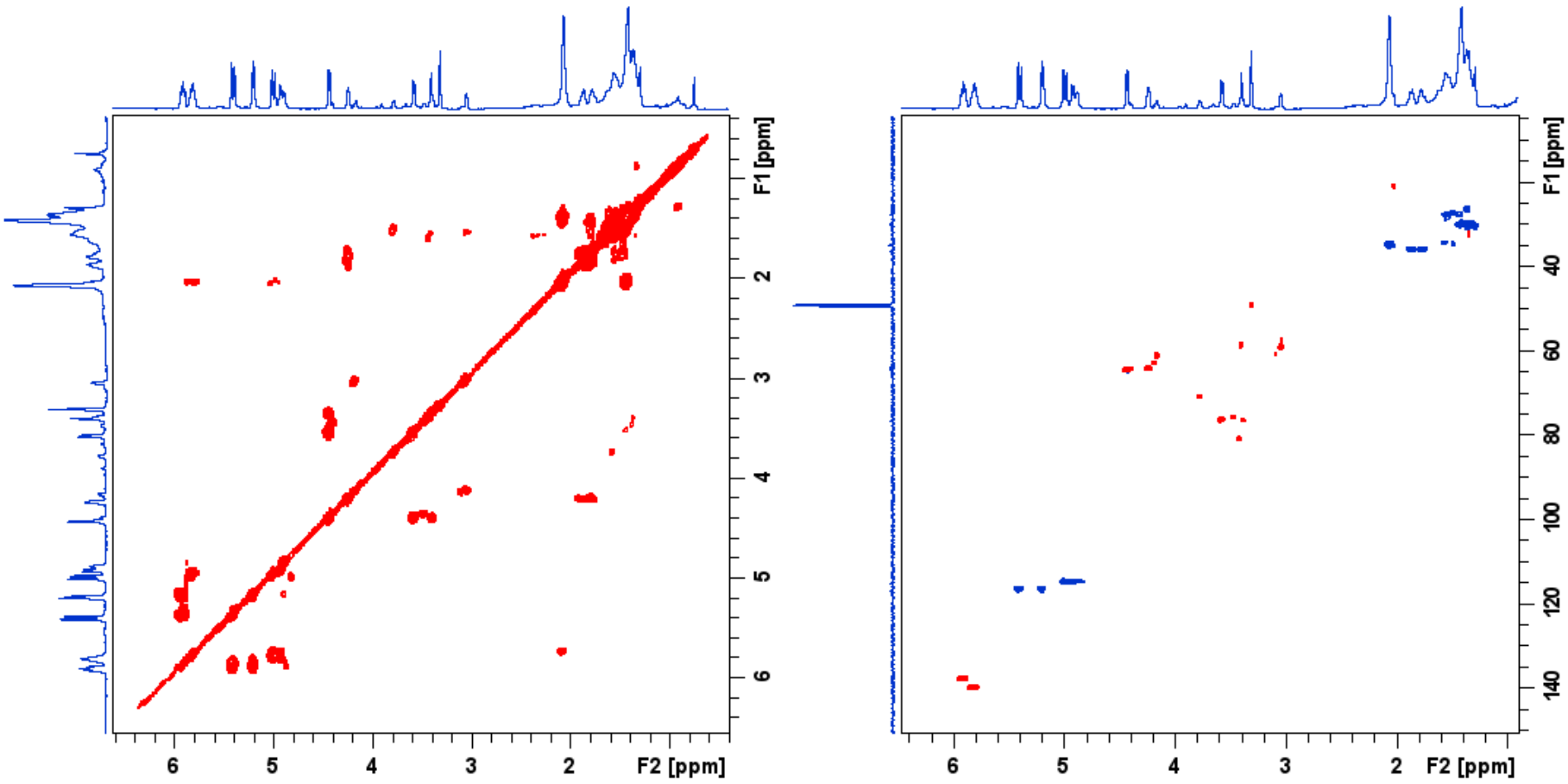


Figure 54 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 7**.

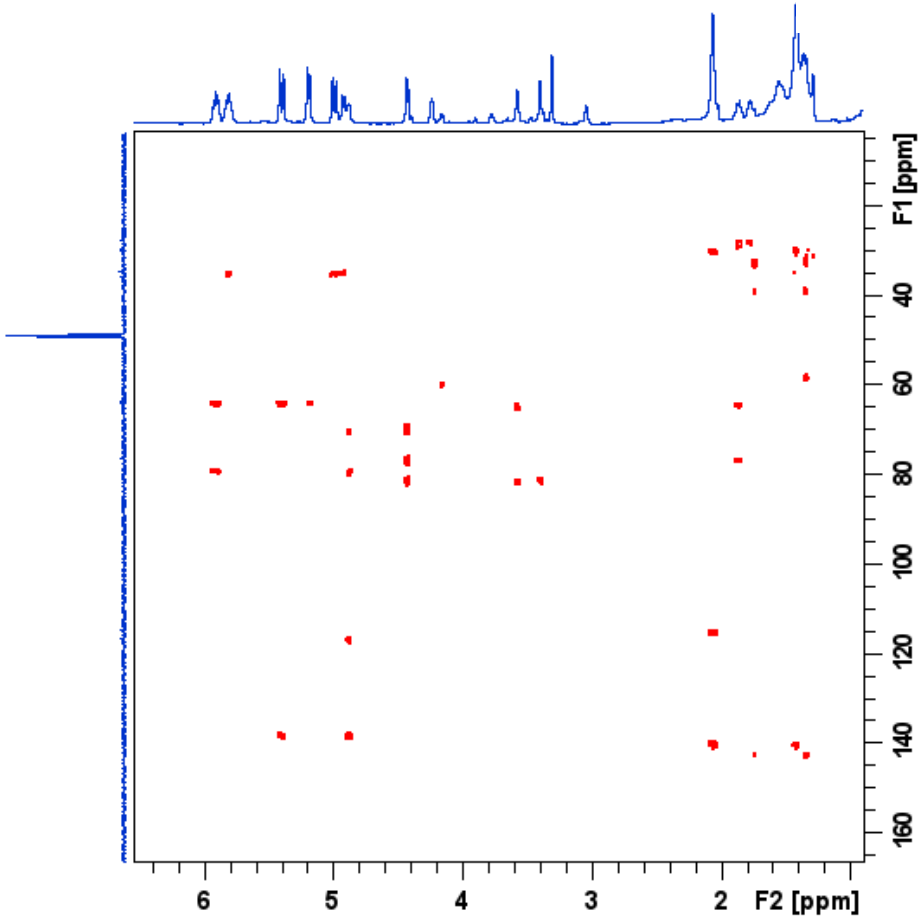
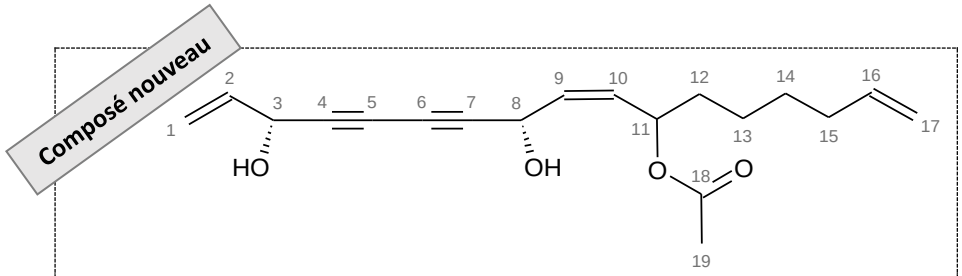


Figure 55 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 7**.

Annexe V. 8. Données spectrales du métabolite PLU 8



11-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 8**)

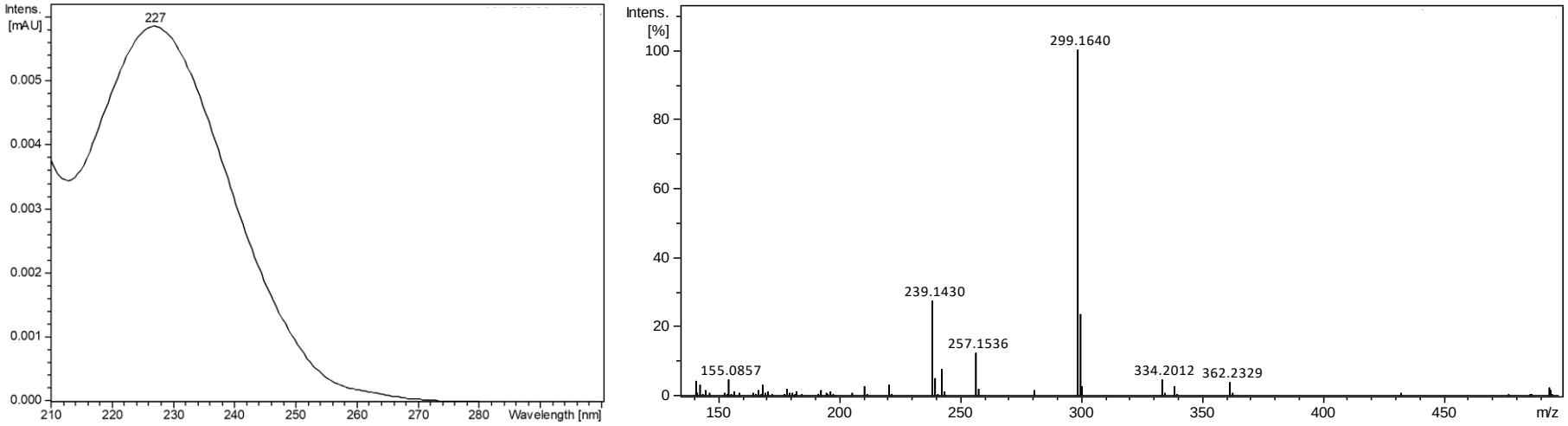


Figure 56 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PLU 8**.

Tableau XVIII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de **PLU 5** à ceux observés pour **PLU 8**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	PLU 8 (CD_3OD, 150 MHz)	**PLU 5 (CD_3OD, 150 MHz)**	**PLU 8 (CD_3OD, 600 MHz)**	**PLU 5 (CD_3OD, 600 MHz)**	**^{1}H-^{1}H COSY**	**^{1}H-^{13}C HMBC**
1	116,7	116,7	5,20 (dtl, *10,1* ; *1,2*) ; 5,40 (dtl, *17,1* ; *1,3*)	5,19 (dt, *10,1* ; *1,3*) ; 5,40 (dtl, *17,0* ; *1,2*)	H2	C2, C3
2	137,9	138,0	5,91 (ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,6*)	5,91 (ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,6*)	H1, H3	C3,C4
3	63,7	63,8	4,89 (dl, *5,8*)	4,88 (dl, *5,4*)	H2	C1, C2, C4, C5
4	79,9	80,0	-	-	-	-
5	70,0	70,0	-	-	-	-
6	69,2	69,0	-	-	-	-
7	80,7	80,9	-	-	-	-
8	59,0	58,7	5,27 (dtl, *8,5* ; *1,1*)	5,17 (dl, *7,8*)	H9	C6, C7, C9, 10
9	132,7	132,3	5,65 (dd, *10,3* ; *8,6*)	5,59 (ddl, *10,8* ; *8,0*)	H8, H10	C8, C11
10	132,1	128,8	5,51 (ddd, *10,4* ; *8,9* ; *1,1*)	5,55 (dtl, *11,4* ; *7,1*)	H9, H11	C8, C9, C12
11	71,1	33,3	5,55 (m)	2,36 (dt, *14,6* ; *5,4*) ; 2,44 (dt, *14,7* ; *7,4*)	H10, H12	C10, C11, C13, C18
12	35,3	74,5	1,59 (m) ; 1,70 (m)	4,90 (m)	H11, H13	C10, C11, C13, C14
13	25,4	34,3	1,35 (m)	1,59 (m)	H12, H14	C11, C12, C14, C15
14	29,6	25,8	1,41 (m)	1,39 (m) ; 1,45 (m)	H13, H15	C12, C13, C15, C16
15	34,6	34,5	2,06 (m)	2,06 (m)	H14, H16	C13, C14, C16, C17
16	139,7	139,5	5,80 (ddtl, *16,8* ; *10,0* ; *6,9*)	5,80 (ddt, *17,0* ; *10,3* ; *6,8*)	H15, H17	C14, C15
17	115,0	115,3	4,92 (dm, *10,2*) ; 4,99 (dql, *17,0* ; *1,8*)	4,94 (ddt, *10,2* ; *2,1* ; *1,0*) ; 5,00 (dql, *17,0* ; *1,6*)	H16	C14, C15
18	172,1	172,7	-	-	-	-
19	21,1	21,2	2,02 (s)	2,04 (s)	-	C18

dm : doublet de multiplet ; l : signal large

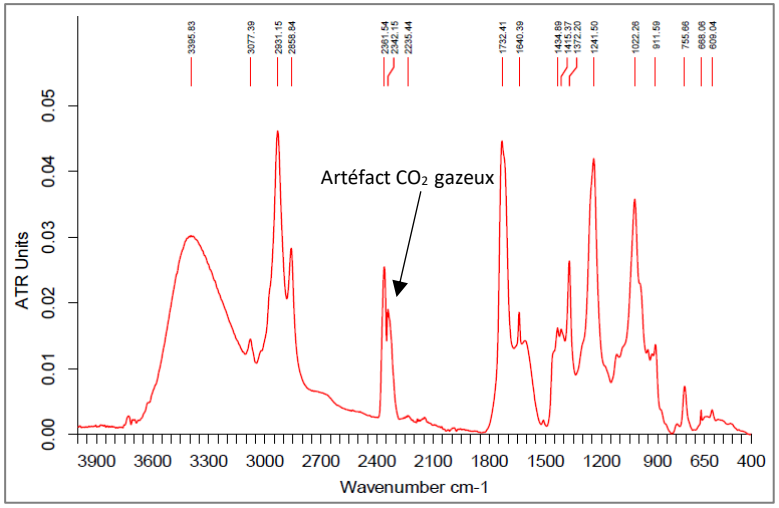


Figure 57 : Spectre IRTF de **PLU 8**.

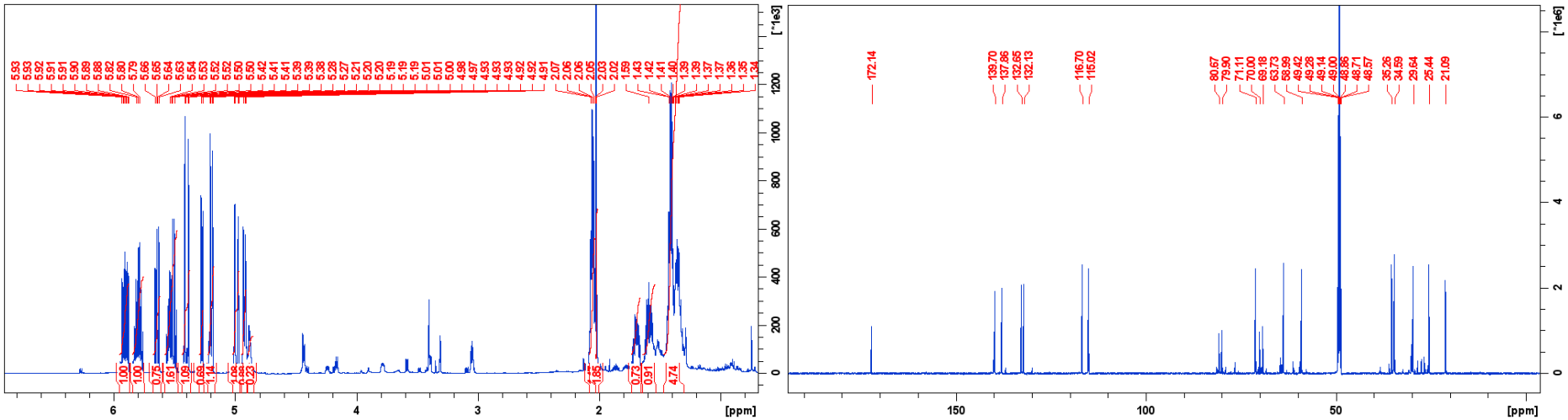


Figure 58 : Spectres RMN ^{1}H (gauche) et RMN ^{13}C (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 8**.

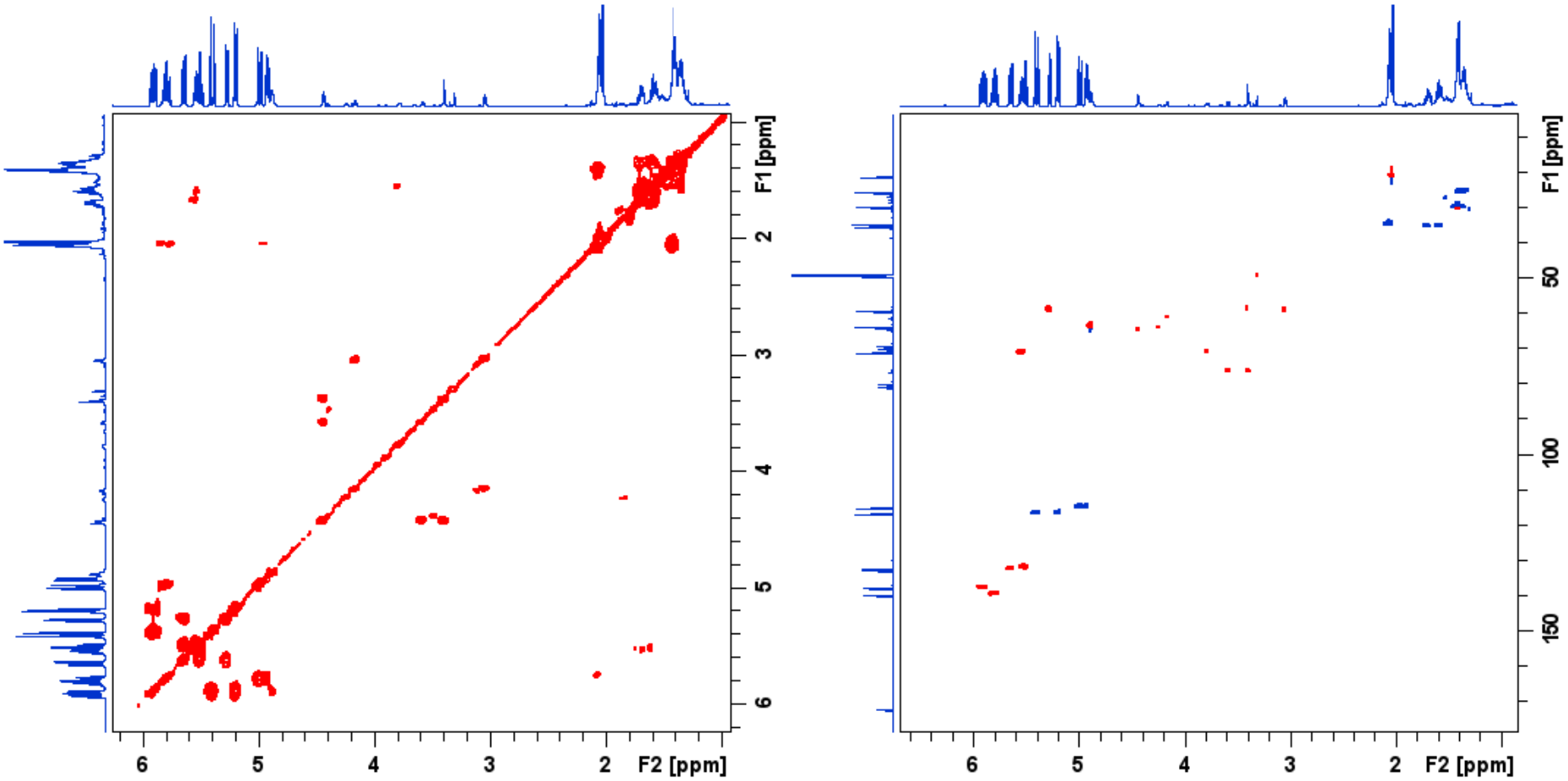


Figure 59 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 8**.

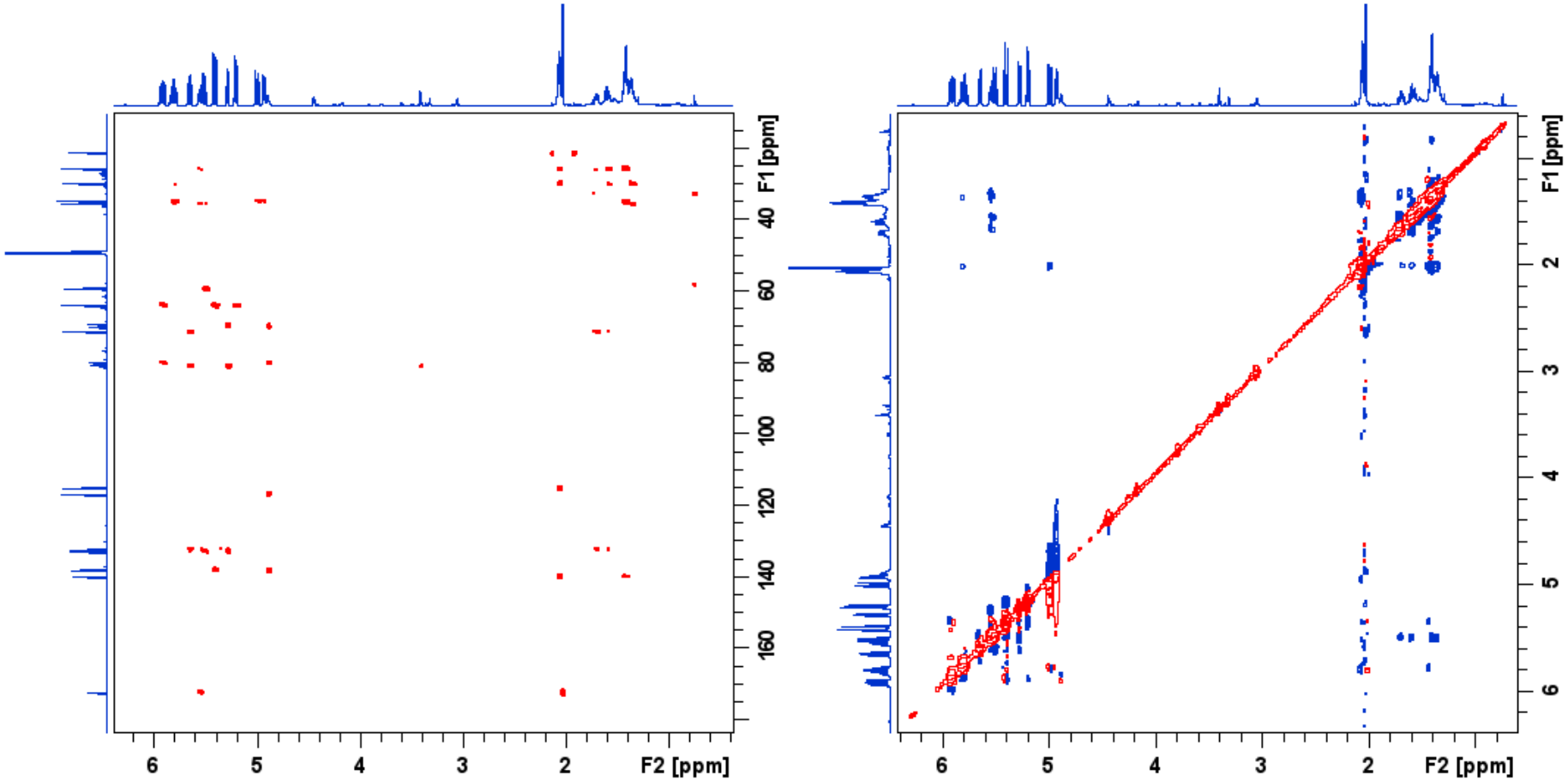
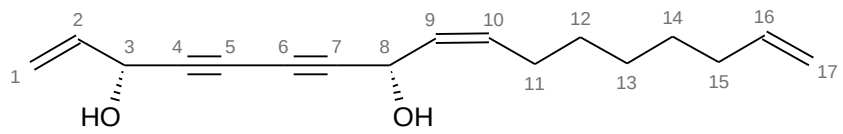


Figure 60 : Spectres ^{1}H-^{13}C HMBC (gauche) et ^{1}H-^{1}H NOESY (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 8**.

Annexe V. 9. Données spectrales du métabolite PLU 9



3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (**PLU 9**)

Tableau XIX : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C du 3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol (Stavri *et al.*, 2005) à ceux observés pour **PLU 9**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 125 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 500 MHz)
1	116,7	117,3	5,19 (dt, *10,2* ; *1,3*) ; 5,40 (dt, *17,1* ; *1,4*)	5,25 (dt, *10,5* ; *1,0*) ; 5,45 (dt, *17,0* ; *1,0*)
2	138,0	135,8	5,91 (ddd, *17,0* ; *10,2* ; *5,5*)	5,93 (ddd, *15,5* ; *10,5* ; *1,5*)
3	63,8	63,5	4,88 (ddt, *5,6* ; *1,4* ; *0,7*)	4,93 (m)
4	79,7	78,3	-	-
5	70,1	70,3	-	-
6	68,7	68,7	-	-
7	81,0	79,8	-	-
8	58,8	58,6	5,16 (dt, *8,4* ; *0,9*)	5,16 (d, *8,5*)
9	129,8	127,8	5,47 (ddt, *10,6* ; *8,4* ; *1,4*)	5,53 (ddt, *10,5* ; *8,5* ; *1,0*)
10	134,0	134,5	5,55 (dtd, *10,6* ; *7,6* ; *1,2*)	5,61 (ddt, *10,5* ; *7,5* ; *1,0*)
11	28,5	27,6	2,12 (m)	2,11 (m)
12	30,2	29,1	1,41 (m)	1,38 (m)
13	29,7	28,7	1,34 (m)	1,33 (m)
14	29,9	28,6	1,41 (m)	1,38 (m)
15	34,8	33,7	2,06 (m)	2,05 (m)
16	140,0	139,0	5,82 (ddt, *17,1* ; *10,3* ; *6,8*)	5,81 (ddt, *17,0* ; *10,0* ; *7,0*)
17	114,8	114,3	4,92 (ddt, *10,2* ; *2,3* ; *1,1*) ; 4,99 (ddtl, *17,1* ; *2,0* ; *1,6*)	4,95 (m) ; 5,00 (dd, *17,5* ; *2,0* ; *1,5*)

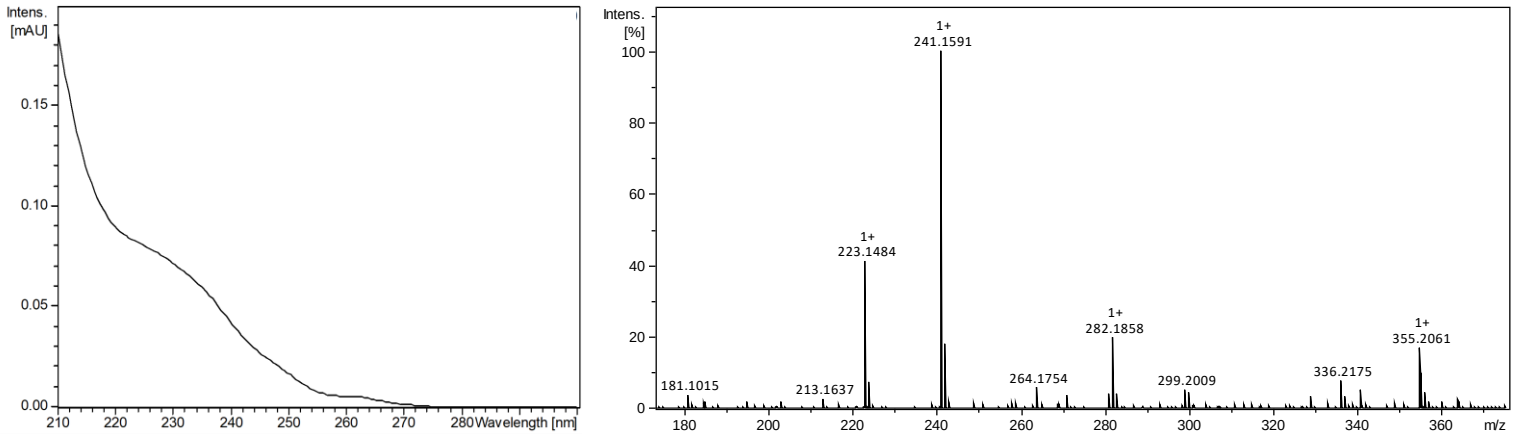


Figure 61 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PLU 9**.

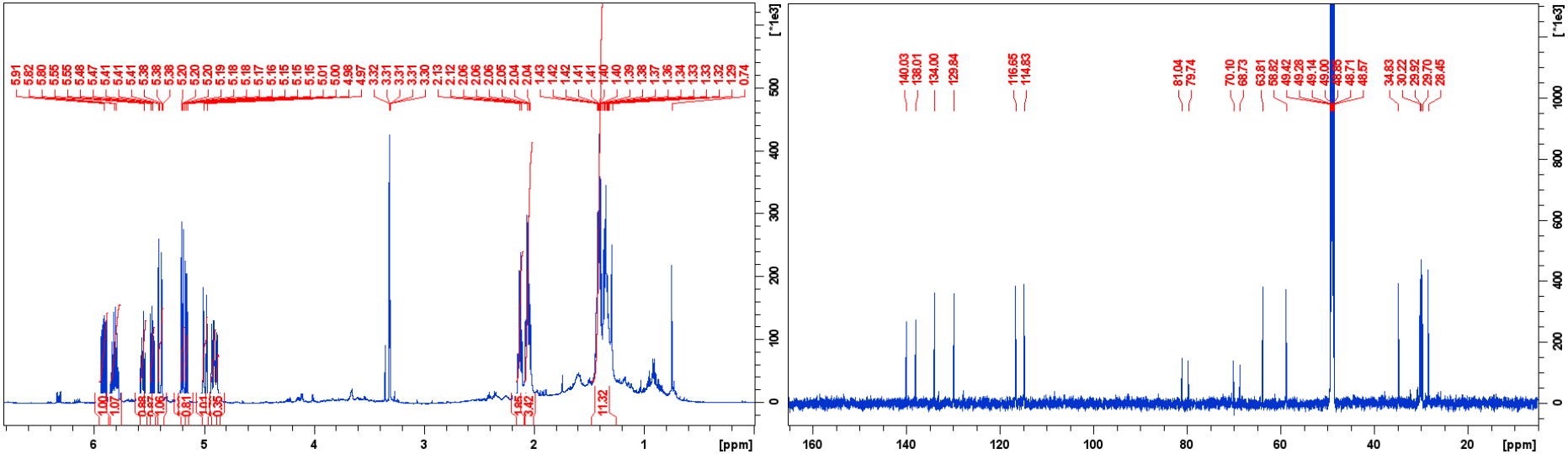


Figure 62 : Spectres RMN ^{1}H (gauche) et RMN ^{13}C (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 9**.

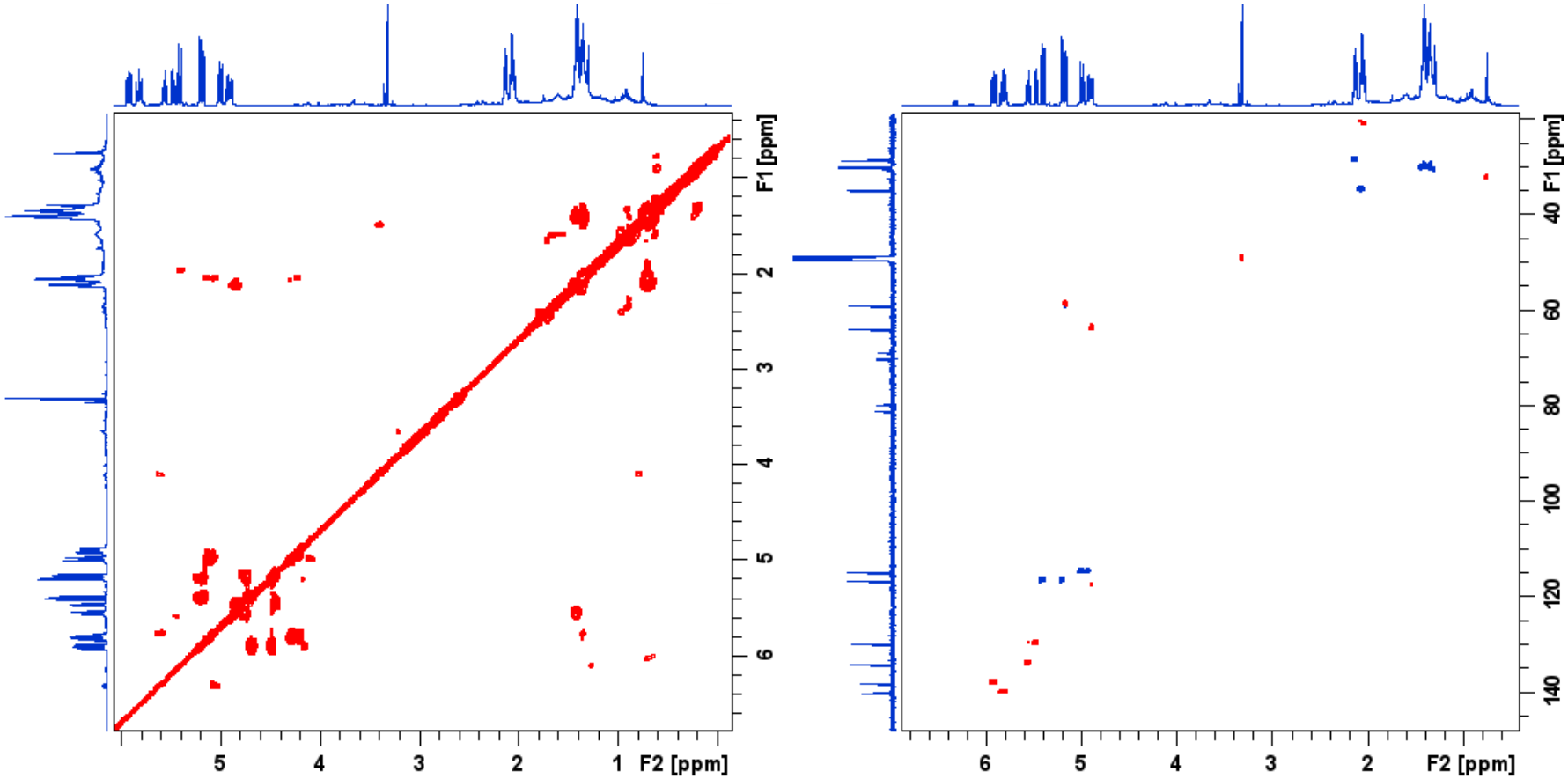


Figure 63 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 9**.

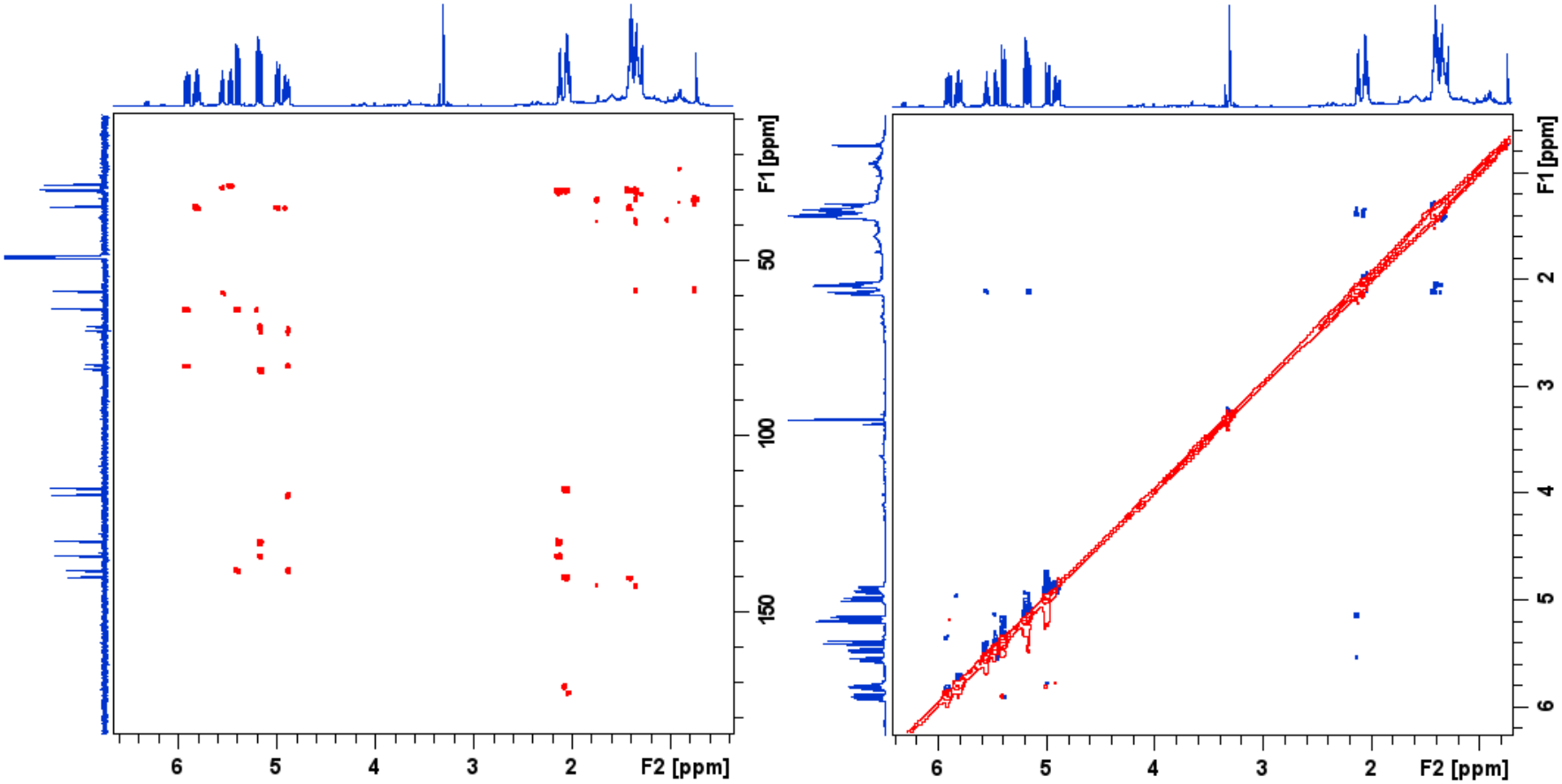


Figure 64 : Spectres ^{1}H-^{13}C HMBC (gauche) et ^{1}H-^{1}H NOESY (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PLU 9**.

Annexe V. 10. Profil CLHP-CAD de l'extrait brut de *P. lucida* avec les pics annotés

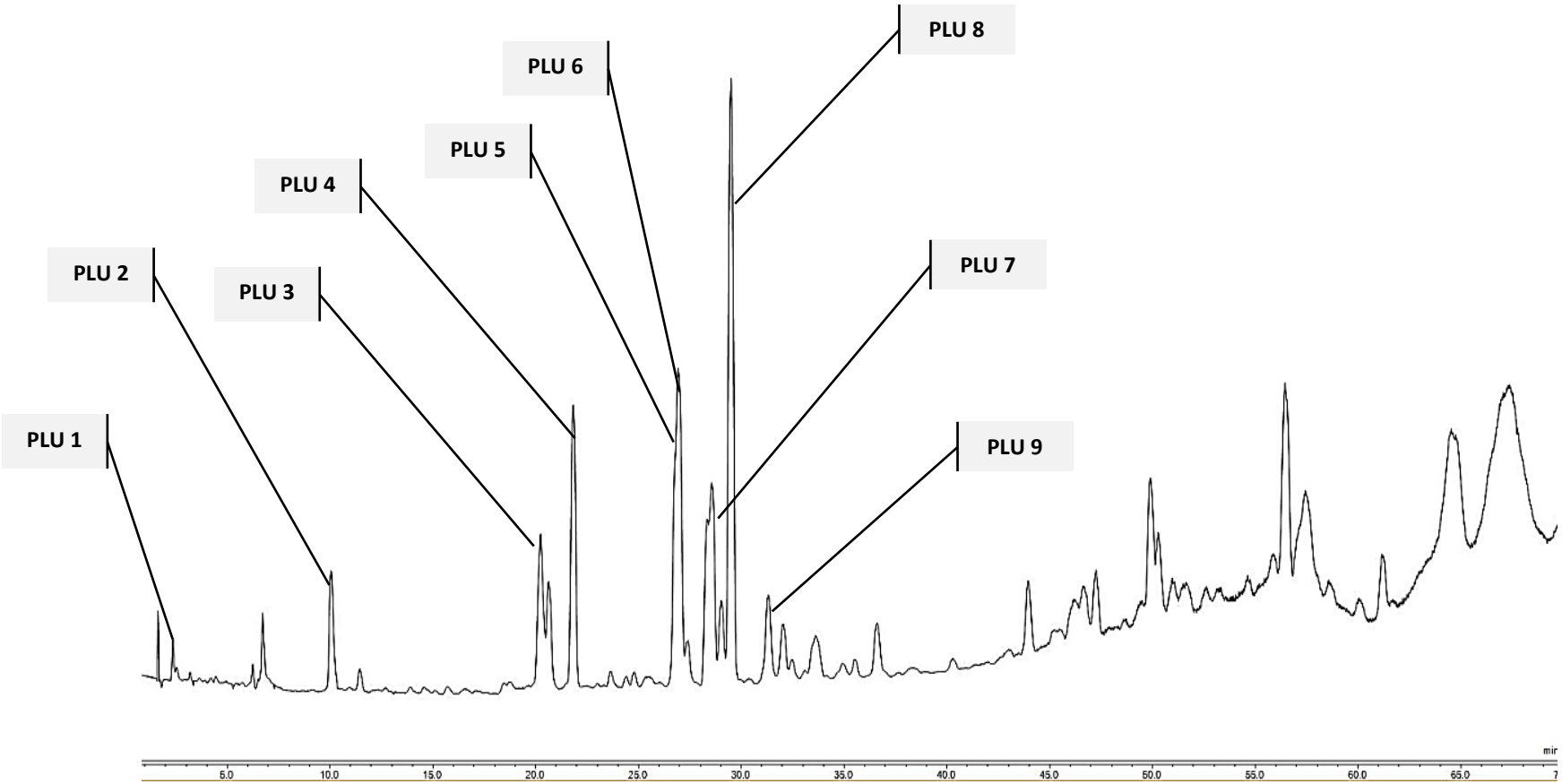


Figure 65 : Profil CLHP-CAD de l'extrait brut de *P. lucida* avec l'annotation des molécules identifiées.

Colonne : Gemini C18, 150*4,6 mm Éluant : H_2O+0,1% AF/ACN+0,1% AF

Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min), 10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min) Débit : 0,7 mL/min

ANNEXE VI

Spectres de masse SM^2 des nœuds annotés sur le réseau moléculaire de *Psiadia lucida*

Annexe VI. 1. Spectres SM^2 des nœuds annotés du cluster 1 de *P. lucida*

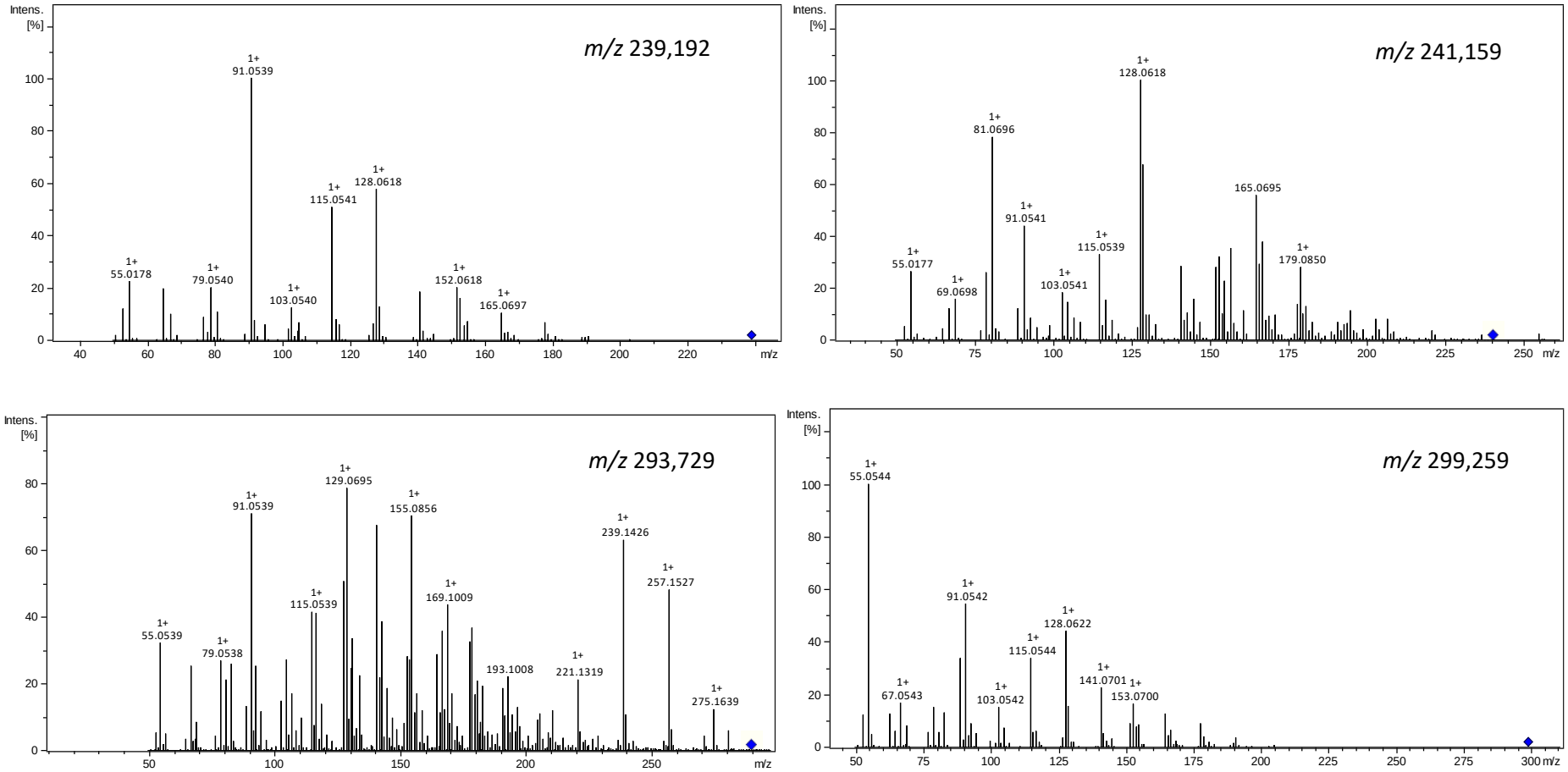


Figure 66 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI$^+$) des polyacétylènes annotés du cluster 1.

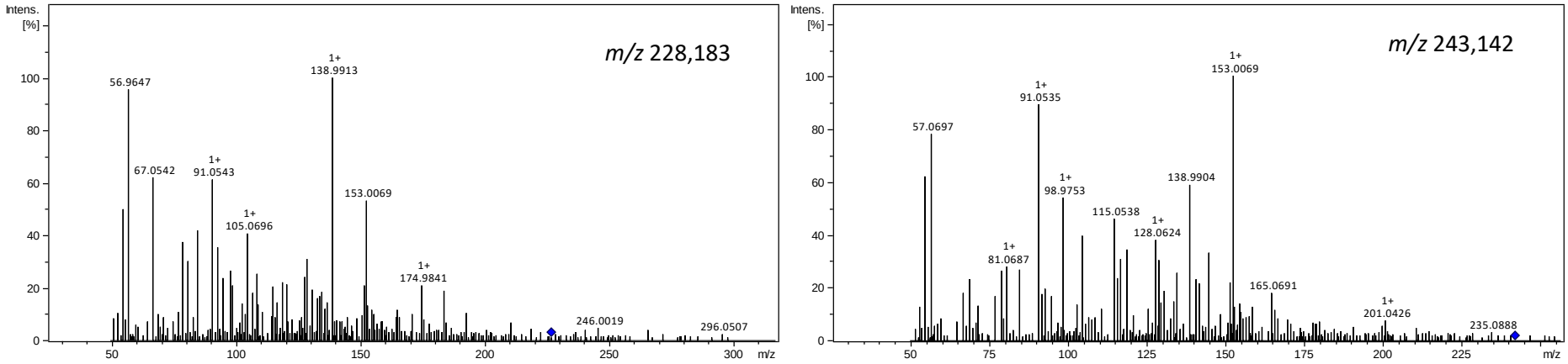


Figure 66 (suite).

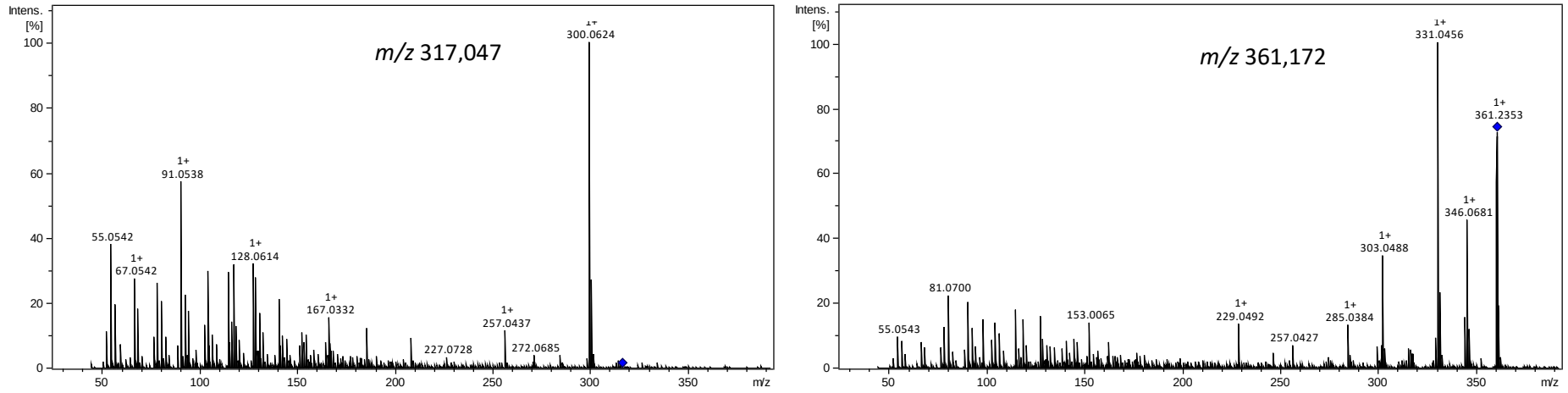


Figure 67 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI^+) des flavonoïdes annotés du cluster 1.

Annexe VI. 2. Spectres SM^2 du nœud annoté du cluster 2

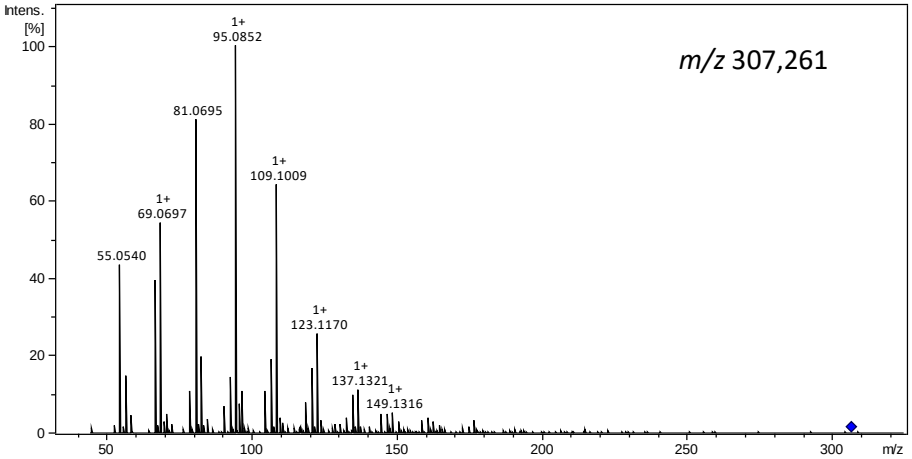


Figure 68 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI$^+$) du diterpène annoté du cluster 2.

Annexe VI. 3. Spectres SM^2 des nœuds annotés du cluster 6

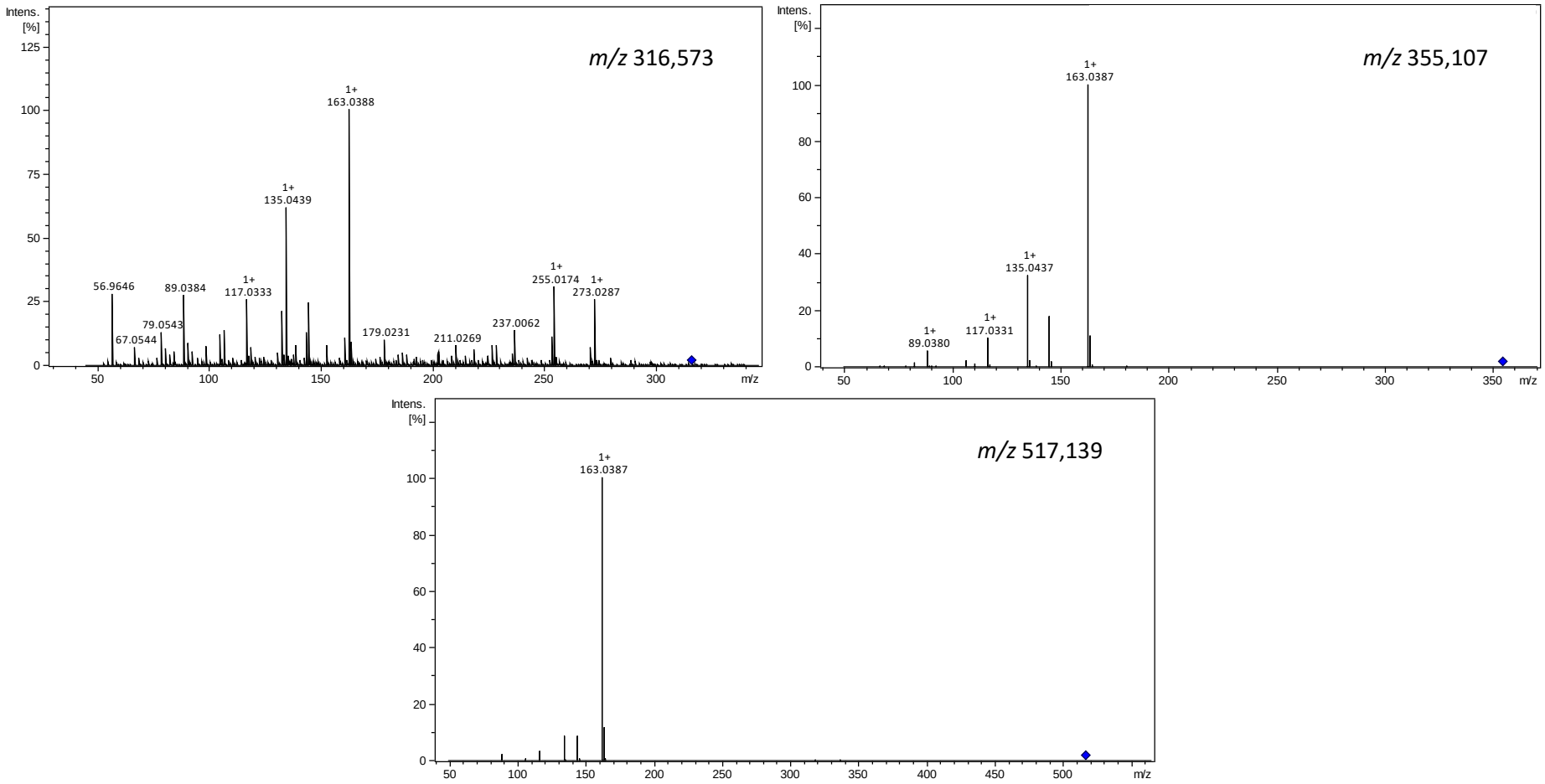


Figure 69 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI$^+$) des acides hydroxycinnamiques annotées du cluster 6.

Annexe VI. 4. Spectres SM^2 des nœuds non clustérisés annotés

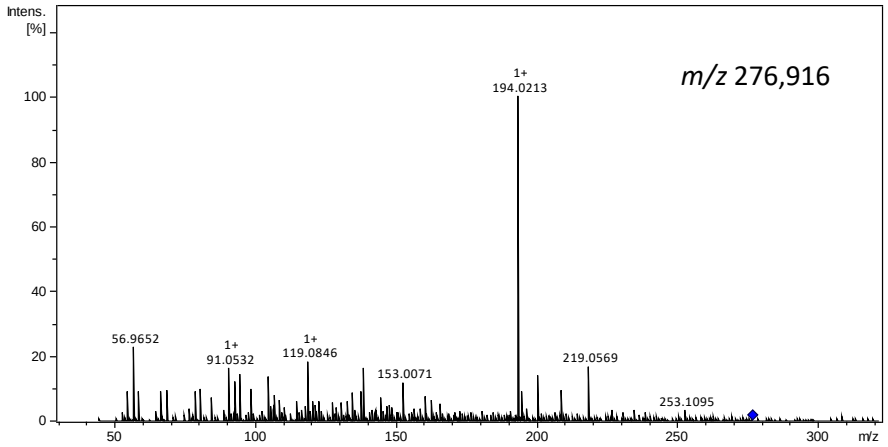


Figure 70 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI$^+$) des coumarines annotées des nœuds non clustérisés.

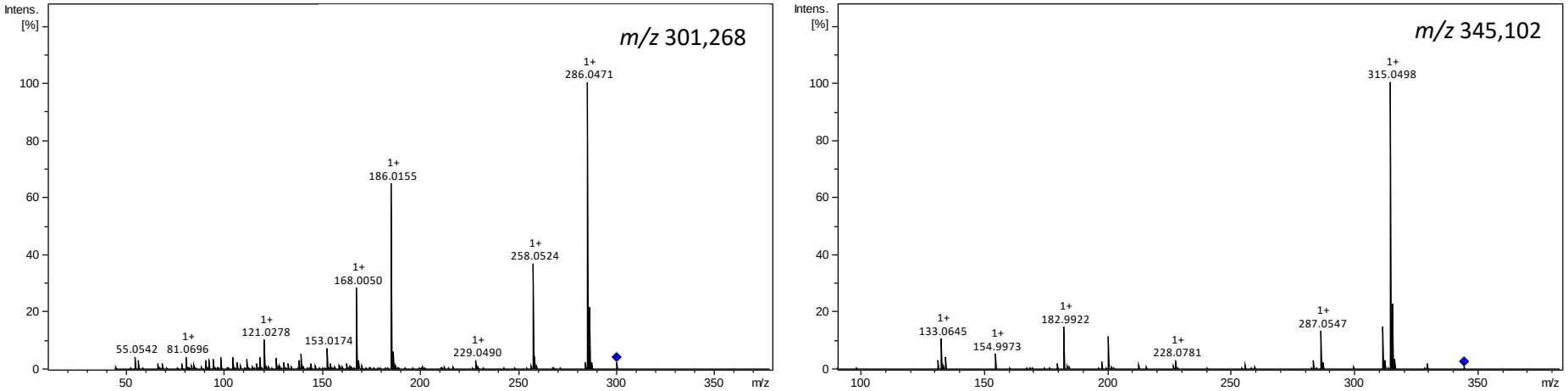


Figure 71 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI$^+$) des flavonoïdes annotées des nœuds non clustérisés.

ANNEXE VII

Activités biologiques des composés isolés et/ou détectés par CLUHP-SM^2 de *Psiadia lucida*

Tableau XX : Données sur les activités biologiques des composés isolés et/ou détectés par CLUHP-SM^2 de *P. lucida*.

Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PLU 1 **Glycérol**	Synthèse	- Antidiabétique	Freund, 1968 ; Meyer *et al.*, 1974 ; Nikkilä & Ojala, 1964
		- Antimicrobienne	Heidari-Sureshjani *et al.*, 2015 ; Kinnunen & Koskela, 1991 ; Nguyen Duc *et al.*, 2018 ; Saegeman *et al.*, 2008 ; Truniger & Boos, 1993
		- Antivirale	Marshall *et al.*, 1995 ; Van Baare *et al.*, 1994
		- Anti-inflammatoire	Kiss *et al.*, 2018 ; Szél *et al.*, 2015 ; Widyarman *et al.*, 2018
		- Anti-irritante	Szél *et al.*, 2015
PLU 2 **Acide 1,5-di-*O*-caféoylquinique**	*Morus alba*	- Antidiabétique	Li *et al.*, 2017
	Cynara cardunculus ; Foeniculum vulgare ; synthèse	- Antioxydante	Cao *et al.*, 2010 ; Pagano *et al.*, 2016 ; Parejo *et al.*, 2004 ; Slanina *et al.*, 1999
	Psiadia dentata	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
	Synthèse	- Antivirale	Gu *et al.*, 2012
	Lonicera japonica	- Anti-âge	Yang *et al.*, 2018
	Inula montana ; synthèse *Psiadia lucida*	- Anti-inflammatoire	Garayev *et al.*, 2018 ; Heilmann *et al.*, 1995 ; Travaux de la présente thèse
	Cynara scolymus	- Hypocholestérolémique	Bundy *et al.*, 2008
	Dorema ammoniacum ; Artemisia capillaris ; Flos inulae	- Inhibiteur d'enzyme	Etemadi-Tajbakhsh *et al.*, 2020 ; Kim *et al.*, 2012 ; Nurul Islam *et al.*, 2013
	Synthèse ; *Flos chrysanthemi ; Centella asiatica*	- Neuroprotective	Gray *et al.*, 2014 ; Wei *et al.*, 2016 ; Xiao *et al.*, 2011
PLU 3 **12-hydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol**	*Psiadia lucida* (molécule nouvelle)	- Cytotoxique	Travaux de la présente thèse
PLU 4 **11-hydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol**	*Psiadia lucida* (molécule nouvelle)	- Cytotoxique	Travaux de la présente thèse

Tableau XX (suite).

Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PLU 5 et **PLU 6** **12*(R)*- et 12*(S)*-acétoxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol**	*Psiadia lucida* (molécules nouvelles)	- Antipaludique - Cytotoxique	Travaux de la présente thèse
PLU 7 **9,10-dihydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol**	*Psiadia lucida* (molécules nouvelles)	- Antipaludique - Cytotoxique	Travaux de la présente thèse
PLU 8 **11-acétoxy- 3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol**	*Psiadia lucida* (molécules nouvelles)	- Antipaludique - Cytotoxique	Travaux de la présente thèse
PLU 9 **3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol**	*Artemisia borealis*	- Antifongique	Ying *et al.*, 1990
	Artemisia pacifica ; Levisticum officinale	- Antimicrobienne	Schinkovitz *et al.*, 2008 ; Wahyuono, 1991
	Psiadia lucida	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
	Gymnaster koraiensis ; Dendropanax arboreus	- Antitumorale	Bernart *et al.*, 1996 ; Jung *et al.*, 2002
	Aralia cordata ; Artemisia monosperma *Psiadia lucida*	- Anti-inflammatoire	Dang *et al.*, 2005 ; Stavri *et al.*, 2005 Travaux de la présente thèse
	Artemisia monosperma	- Cytotoxique	Stavri *et al.*, 2005
	Aralia dumetorum	- Inhibiteur d'enzyme	Jiang *et al.*, 2019

Tableau XX (suite).

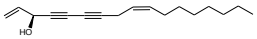
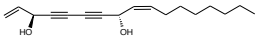
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PLU 10  **Falcarinol**	*Ferula communis ; Panax ginseng*	- Antiagrégant	Christensen & Brandt, 2006 ; Teng *et al.*, 1989)
	Lycopersicon esculentum ; Botrytis cinerea ; Daucus carota ; Panax vietnamensis	- Antifongique	Hansen & Boll, 1986 ; Harding & Heale, 1980 ; Lutomski *et al.*, 1992 ; Olsson & Svensson, 1996
	Brassica oleracea ; Daucus carota ; Levisticum officinale ; Panax vietnamensis	- Antimicrobienne	Hinds *et al.*, 2017 ; Lutomski *et al.*, 1992 ; Schinkovitz *et al.*, 2008
	Daucus carota	- Antioxydante	Young *et al.*, 2008
	Daucus carota ; Saposhnikovia divaricata ; Ginseng radix ; Panax ginseng	- Anti-inflammatoire	Alanko *et al.*, 1994 ; Metzger *et al.*, 2008 ; Wang *et al.*, 2000
	Daucus carota ; Dendropanax arboreus ; Foeniculum vulgare ; Crithmum maritimum	- Cytotoxique	Bernart *et al.*, 1996 ; Cunsolo *et al.*, 1993 ; Kobaek-Larsen *et al.*, 2017 ; Purup *et al.*, 2009 ; Tan *et al.*, 2014 ; Young *et al.*, 2007 ; Zidorn *et al.*, 2005
PLU 11  **Falcarindiol**	*Ferula communis*	- Antiagrégant	Christensen & Brandt, 2006
	Lycopersicon esculentum ; Botrytis cinerea ; Daucus carota ; Aegopodium podagraria ; Panax vietnamensis	- Antifongique	Christensen & Brandt, 2006 ; Garrod *et al.*, 1978 ; Hansen & Boll, 1986 ; Harding & Heale, 1980 ; Kemp, 1978 ; Lutomski *et al.*, 1992 ; Olsson & Svensson, 1996
	Anethum graveolens ; Angelica dahurica ; Levisticum officinale ; Panax vietnamensis	- Antimicrobienne	Lechner *et al.*, 2004 ; Lutomski *et al.*, 1992 ; Schinkovitz *et al.*, 2008 ; Stavri & Gibbons, 2005
	Peucedanum praeruptorum	- Antimutagénique	Miyazawa *et al.*, 1996
	Daucus carota ; Notopterygium incisum	- Antioxydante	Ohnuma *et al.*, 2009 ; Young *et al.*, 2008
	Angelica sinensis	- Antituberculeuse	Deng *et al.*, 2008
	Oplopanax horridus	- Antitumorale	Jin *et al.*, 2012
	Daucus carota ; Notopterygium incisum ; Saposhnikovia divaricate ; Oplopanax elatus ; Aralia cordata ; Cnidium officinale	- Anti-inflammatoire	Dang *et al.*, 2005 ; Kim *et al.*, 2003 ; Metzger *et al.*, 2008 ; Wang *et al.*, 2000 ; Yang *et al.*, 2010 ; Zschocke *et al.*, 1997
	Daucus carota	- Anti-stress	Young *et al.*, 2008
	Daucus carota ; Dendropanax arboreus ; Oplopanax horridus ; Foeniculum vulgare ; Peucedanum japonicum ; Eryngium tricuspidatum ; Crithmum maritimum	- Cytotoxique	Bernart *et al.*, 1996 ; Cunsolo *et al.*, 1993 ; Djebara *et al.*, 2019 ; Kobaek-Larsen *et al.*, 2017 ; Lee *et al.*, 2000 ; Purup *et al.*, 2009 ; Sun *et al.*, 2010 ; Tan *et al.*, 2014 ; Zidorn *et al.*, 2005
	Angelica dahurica ; Aralia dumetorum	- Inhibiteur d'enzyme	Choi *et al.*, 2005 ; Jiang *et al.*, 2019

Tableau XX (suite).

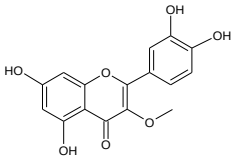
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PLU 12  **3-*O*-méthylquercétine**	*Rhamnus nakaharai*	- Antiagrégant	Lin *et al.*, 1995
		- Antiasthmatique	Jiang *et al.*, 2007
	Cistus laurifolius ; Eremanthus crotonoides	- Antidiabétique	Enomoto *et al.*, 2004 ; Silva *et al.*, 2016
	Synthèse	- Antifibrotique	Ganbold *et al.*, 2019
	Halimodendron halodendron	- Antifongique	Wang *et al.*, 2012
	Strychnos pseudoquina	- Antiherpès	Boff *et al.*, 2016
	Tagetes minuta ; Strychnos pseudoquina ; Crataegus azarolus var. *eu- azarolus*	- Antileishmaniènne	Al-Musayeib *et al.*, 2014 ; Lage *et al.*, 2013
	Halimodendron halodendron ; Inula viscosa ; Cistus laurifolius ; Anthemis altissima	- Antimicrobienne	Abu-Gharbieh & Shehab, 2017 ; Konstantinopoulou *et al.*, 2003 ; Talib *et al.*, 2012 ; Ustün *et al.*, 2006 ; Wang *et al.*, 2012
	Opuntia ficus-indica var. *saboten ; Geigeria alata ;* synthèse ; *Carex folliculata* ; *Cistus laurifolius ; Propolis ; Halimodendron halodendron*	- Antioxydante	Dok-Go *et al.*, 2003 ; Fadul *et al.*, 2020 ; Kim *et al.*, 2009 ; Lee *et al.*, 2015b ; Li *et al.*, 2009 ; Sadhu *et al.*, 2006 ; Tugba Degirmencioglu *et al.*, 2019 ; Wang *et al.*, 2012 ; Zhang *et al.*, 2020
	Tagetes minuta	- Antipaludique	Al-Musayeib *et al.*, 2014
	Synthèse	- Antivirale	Castrillo & Carrasco, 1987 ; Vlietinck *et al.*, 1986 ; Vrijsen *et al.*, 1987
	Vellozia dasypus ; Strychnos pseudoquina ; Rhamnus nakaharai ; Siegesbeckia glabrescens ; Grindelia robusta ; Cistus laurifolius ; Larrea divaricata ; synthèse *; Euphorbia lunulata*	- Anti-inflammatoire	Almeida *et al.*, 2021 ; Boff *et al.*, 2016 ; Jiang *et al.*, 2006 ; Kim *et al.*, 2008 ; Krenn *et al.*, 2009 ; Küpeli & Yesilada, 2007 ; Martino *et al.*, 2016 ; Okoko & Oruambo, 2009 ; Wei *et al.*, 2001 ; Yang *et al.*, 2011b
	Ophioglossum vulgatum	- Cicatrisante	Clericuzio *et al.*, 2012
	Achyrocline satureioides ; synthèse *; Chorizanthe diffusa ;* synthèse *; Inula viscosa* ; *Morus wittiorum* ; *Euphorbia lunulata*	- Cytotoxique	Bianchi *et al.*, 2020 ; Cao *et al.*, 2019 ; Chung *et al.*, 1999 ; Li *et al.*, 2012 ; Souza *et al.*, 2018 ; Talib *et al.*, 2012 ; Tan *et al.*, 2010 ; Yamauchi *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2011b ; Zhang *et al.*, 2020
	Cistus laurifolius	- Inhibiteur d'enzyme	Sadhu *et al.*, 2006
	Achyrocline satureioides ; synthèse	- Myorelaxante	Hnatyszyn *et al.*, 2004 ; Ko *et al.*, 1999
	Opuntia ficus-indica ; Heteroplexis micocephal	- Neuroprotective	Dok-Go *et al.*, 2003 ; Fan *et al.*, 2011

Tableau XX (suite).

Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PLU 13 **Chrysosplénol D**	*Artemisia annua*	- Antimicrobienne	Ivarsen *et al.*, 2014 ; Stermitz *et al.*, 2002
		- Antipaludique	Liu *et al.*, 1992
		- Antitumorale	Lang *et al.*, 2019
		- Anti-inflammatoire	Li *et al.*, 2015 ; Zhu *et al.*, 2013
	Artemisia annua ; Vitex trifolia ; Vitex negundo	- Cytotoxique	Awale *et al.*, 2011 ; Lang *et al.*, 2020 ; Li *et al.*, 2005
PLU 14 **Acide labdanolique**	*Psiadia arguta*	- Antipaludique	Mahadeo, 2018
	Hymenaea courbaril	- Anti-inflammatoire	Jayaprakasam *et al.*, 2007
	Psiadia arguta	- Cytotoxique	Mahadeo, 2018
PLU 15 **Acide 9'-décarboxyrosmarinique**	*Sarcandra glabra*	- Antileucémique	Tang *et al.*, 2021
	Heliotropium foertherianum	- Antitoxine	Rossi *et al.*, 2012
	Sarcandra glabra ; synthèse	- Antitumorale	Guo *et al.*, 2013 ; Wu *et al.*, 2012
	Propolis ; synthèse *; Sarcandra glabra ; Teucrium pilosum*	- Cytotoxique	Dong *et al.*, 2011 ; Han *et al.*, 2010 ; Jung *et al.*, 2007 ; Won *et al.*, 2010
PLU 16 **Acide chlorogénique**	*Coffea arabica ;* synthèse *; Curcuma longa ; Morus alba ; Cecropia obtusifolia ; Cecropia peltata*	- Antidiabétique	Ahrens & Thompson, 2013 ; Bagdas *et al.*, 2015 ; Hunyadi *et al.*, 2012 ; Iwai *et al.*, 2012 ; Jin *et al.*, 2015 ; Johnston *et al.*, 2003 ; Kim *et al.*, 2011 ; Nicasio *et al.*, 2005 ; Ong *et al.*, 2013 ; Patti *et al.*, 2015 ; Thom, 2007 ; Van Dijk *et al.*, 2009 ; Yukawa *et al.*, 2004
	Synthèse	- Antifongique	Bajko *et al.*, 2016 ; Muthuswamy & Rupasinghe, 2007 ; Sung & Lee, 2010
	Coffea arabica	- Antihypertensive	Kozuma *et al.*, 2005 ; Mubarak *et al.*, 2012 ; Suzuki *et al.*, 2006 ; Ward *et al.*, 2016 ; Watanabe *et al.*, 2006

Tableau XX (suite).

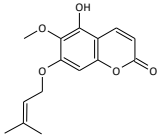
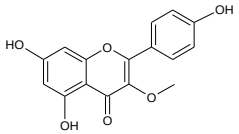
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
Acide chlorogénique (suite)	Synthèse ; *Artemisia absinthium ;* Fruits rouges	- Antimicrobienne	Bajko *et al.*, 2016 ; Fiamegos *et al.*, 2011 ; Karunanidhi *et al.*, 2013 ; Li *et al.*, 2014 ; Lou *et al.*, 2011 ; Luís *et al.*, 2014 ; Muthuswamy & Rupasinghe, 2007 ; Puupponen-Pimiä *et al.*, 2001
	Synthèse	- Antioxydante	Laguerre *et al.*, 2009, 2011 ; Santana-Gálvez *et al.*, 2017 ; Sasaki *et al.*, 2010
	Lonicera japonica	- Antiparasitaire	Mahboob *et al.*, 2016
	Coffea arabica ; synthèse	- Antivirale	Khan *et al.*, 2005 ; Li *et al.*, 2013 ; Wang *et al.*, 2009
	Synthèse	- Anti-inflammatoire	Liu *et al.*, 2017 ; Shin *et al.*, 2017
	Coffea arabica ; synthèse	- Anti-obésité	Cho *et al.*, 2010 ; Huang *et al.*, 2015 ; Soga *et al.*, 2013 ; Thom, 2007
	Synthèse	- Cardiovasculaire	Marques & Farah, 2009
	Synthèse	- Inhibiteur d'enzyme	Rebernik *et al.*, 2019 ; Ulčakar & Novinec, 2020
PLU 17  **Isoobtusitine**	*Psiadia dentata*	- Antivirale	Fortin *et al.*, 2001
PLU 18  **Isokaempféride**	*Caragana leucophloea*	- Antimicrobienne	Luo *et al.*, 2015
	Hornstedtia sp. ; Centaurea virgata	- Antioxydante	Hashim *et al.*, 2015 ; Tuzun *et al.*, 2017
	Baccharis conferta ; Dracocephalum subcapitatum	- Antiparasitaire	Cortes-Morales *et al.*, 2019 ; Saeidnia *et al.*, 2005
	Alkanna orientalis ; Nymphaea alba ; Psiadia dentata	- Antivirale	Elsohly *et al.*, 1997 ; Rehman *et al.*, 2018 ; Robin *et al.*, 2001
	Amburana cearensis	- Anti-inflammatoire	Leal *et al.*, 2009
	Combretum quadrangulare ; Zingiber zerumbet ; Amburana cearensis ; Centaurea arenaria ; Centaurea jacea ; Dracocephalum kotschyi ; Dracocephalum kotschyi ; Acorus gramineus	- Cytotoxique	Banskota *et al.*, 2000b ; Chung *et al.*, 2007 ; Costa-Lotufo *et al.*, 2003 ; Csapi *et al.*, 2010 ; Forgo *et al.*, 2012 ; Moghaddam *et al.*, 2012 ; Nourozi *et al.*, 2019 ; Park *et al.*, 2011

Tableau XX (suite).

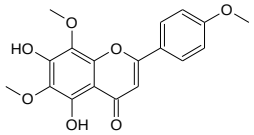
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
Isokaempféride (suite)	*Combretum quadrangulare*	- Hépatoprotectrice	Banskota *et al.*, 2000a
	Varthemia iphionoides ; Hornstedtia sp. ; Zingiber aromaticum	- Inhibiteur de l'enzyme	Al-Dabbas *et al.*, 2006 ; Hashim *et al.*, 2015 ; Usia *et al.*, 2004
	Amburana cearensis	- Myorelaxante	Leal *et al.*, 2006
PLU 19  **Névadensine**	Synthèse	- Antihypertensive	Song *et al.*, 1985
	Limnophila heterophylla ; Limnophila indica	- Antimicrobienne	Brahmachari, 2014; Brahmachari *et al.*, 2011
	Synthèse	- Antioxydante	Brahmachari *et al.*, 2008; Ganapaty *et al.*, 2007
	Limnophila conferta ; Limnophila geoffrayi	- Antituberculeuse	Moss *et al.*, 2009; Reddy *et al.*, 1991; Suksamrarn *et al.*, 2003
		- Antitumorale	Chang & Geahlen, 1992; Yang *et al.*, 1985
	Acanthopanax trifoliatus	- Antitussive	Du & Gao, 1992
	Limnophila conferta	- Anti-inflammatoire	Reddy *et al.*, 1991
	Limnophila conferta ; Gutierrezia microcephala ; synthèse	- Cytotoxique	Alhusainy *et al.*, 2010 ; Dong *et al.*, 1987; Reddy *et al.*, 1991
	Acanthopanax trifoliatus	- Expectorante	Du & Gao, 1992
	Synthèse	- Inhibiteur d'enzyme	Wang *et al.*, 2018

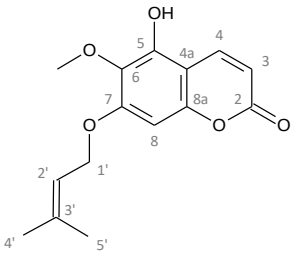
Tableau XXI : Synthèse des activités biologiques des composés isolés et/ou détectés par CLUHP-SM^2 de *P. lucida*.

Molécules	PLU																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Antiagrégant										■	■	■							
Antiasthmatique												■							
Antidiabétique	■	■										■				■			
Antifibrotique												■							
Antifongique									■	■	■	■				■			
Antiherpès												■							
Antihypertensive																■			■
Antileishmaniènne												■							
Antileucémique															■				
Antimicrobienne	■								■	■	■	■	■			■		■	■
Antimutagénique											■								
Antioxydante		■								■	■	■				■		■	■
Antipaludique		■			■	■	■	■	■			■	■	■					
Antiparasitaire																■		■	
Antitoxine															■				
Antituberculeuse											■								■
Antitumorale									■		■		■		■				■
Antitussive																			■
Antivirale	■	■										■				■	■	■	
Anti-âge		■																	
Anti-inflammatoire	■	■							■	■	■	■	■	■		■		■	■
Anti-irritante	■																		
Anti-obésité																■			
Anti-stress											■								
Cardiovasculaire																■			
Cicatrisante												■							
Cytotoxique			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■			■	■
Expectorante																			■
Hépatoprotectrice																		■	
Hypocholestérolémique		■																	
Inhibiteur d'enzyme		■							■		■	■				■		■	■
Myorelaxante												■						■	
Neuroprotective		■										■							

ANNEXE VIII

Données spectrales des métabolites isolés de *Psiadia dentata*

Annexe VIII. 1. Données spectrales du métabolite PDE 1



Isoobtusitine **(PDE 1)**

Tableau XXII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de l'isoobtusitine (Fortin *et al.*, 2001) à ceux observés pour **PDE 1**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 75 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 500 MHz)
2	163,8	161,6	-	-
3	111,0	111,5	6,15 (d, *9,6*)	6,20 (d, *9,7*)
4	141,3	138,7	8,12 (d, *9,6*)	7,96 (d, *9,7*)
4a	104,8	102,4	-	-
5	nd	145,7	-	-
6	134,6	131,8	-	-
7	157,4	154,9	-	-
8	93,5	93,4	6,52 (sl)	6,44 (s)
8a	153,2	151,6	-	-
1'	66,8	66,0	4,65 (dl, *6,8*)	4,62 (dl, *6,7*)
2'	120,2	118,6	5,52 (tspt, *1,4* ; *6,8*)	5,47 (t, *6,7*)
3'	140,0	139,1	-	-
4'	26,0	25,8	1,82 (dl, *1,4*)	1,81 (s)
5'	18,3	18,4	1,80 (dl, *1,4*)	1,79 (s)
CH_3O-6	61,3	61,3	3,78 (s)	3,90 (s)

nd : non déterminé

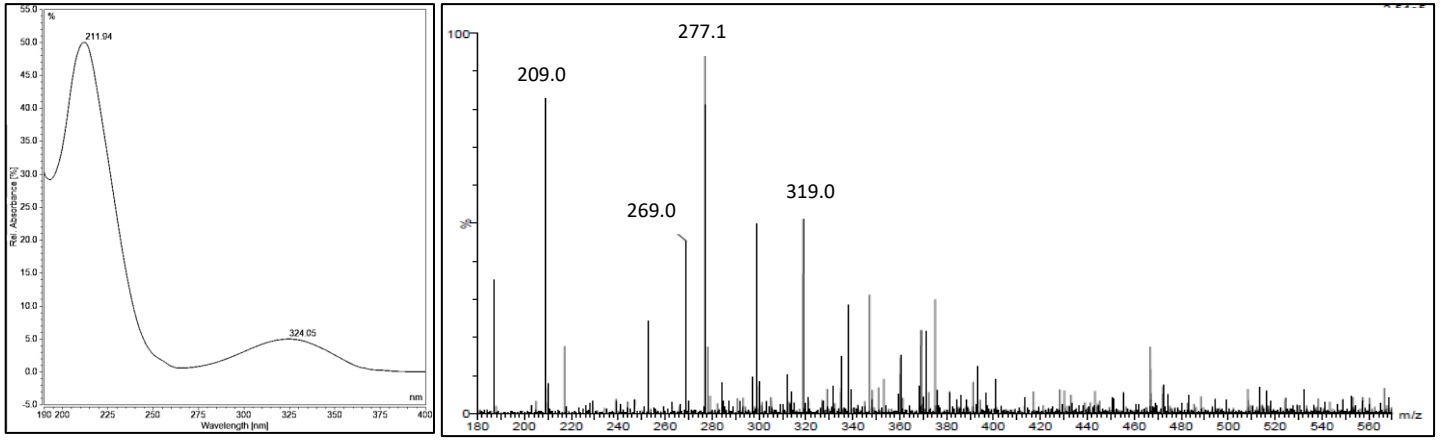


Figure 72 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 1**.

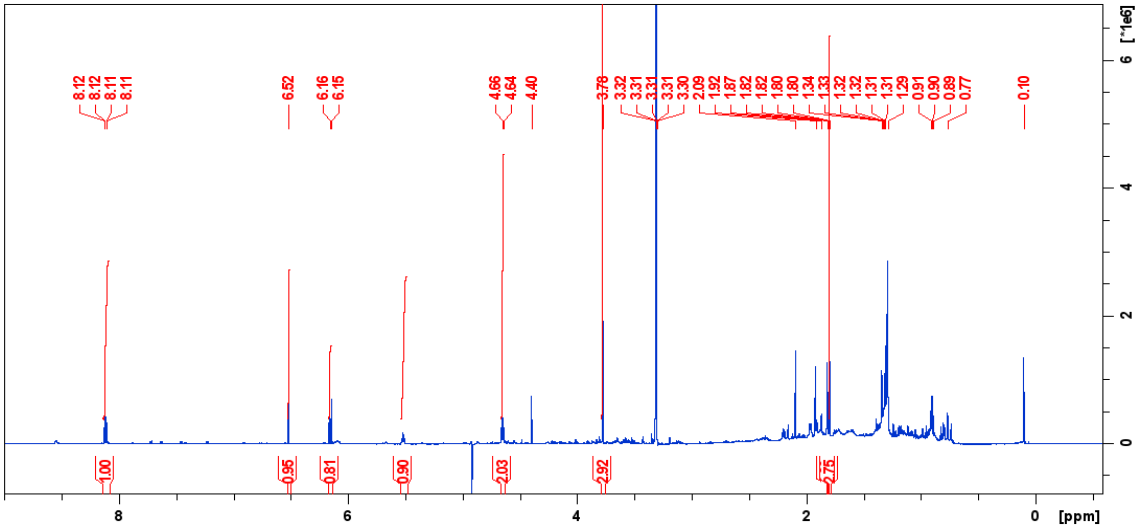


Figure 73 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 1**.

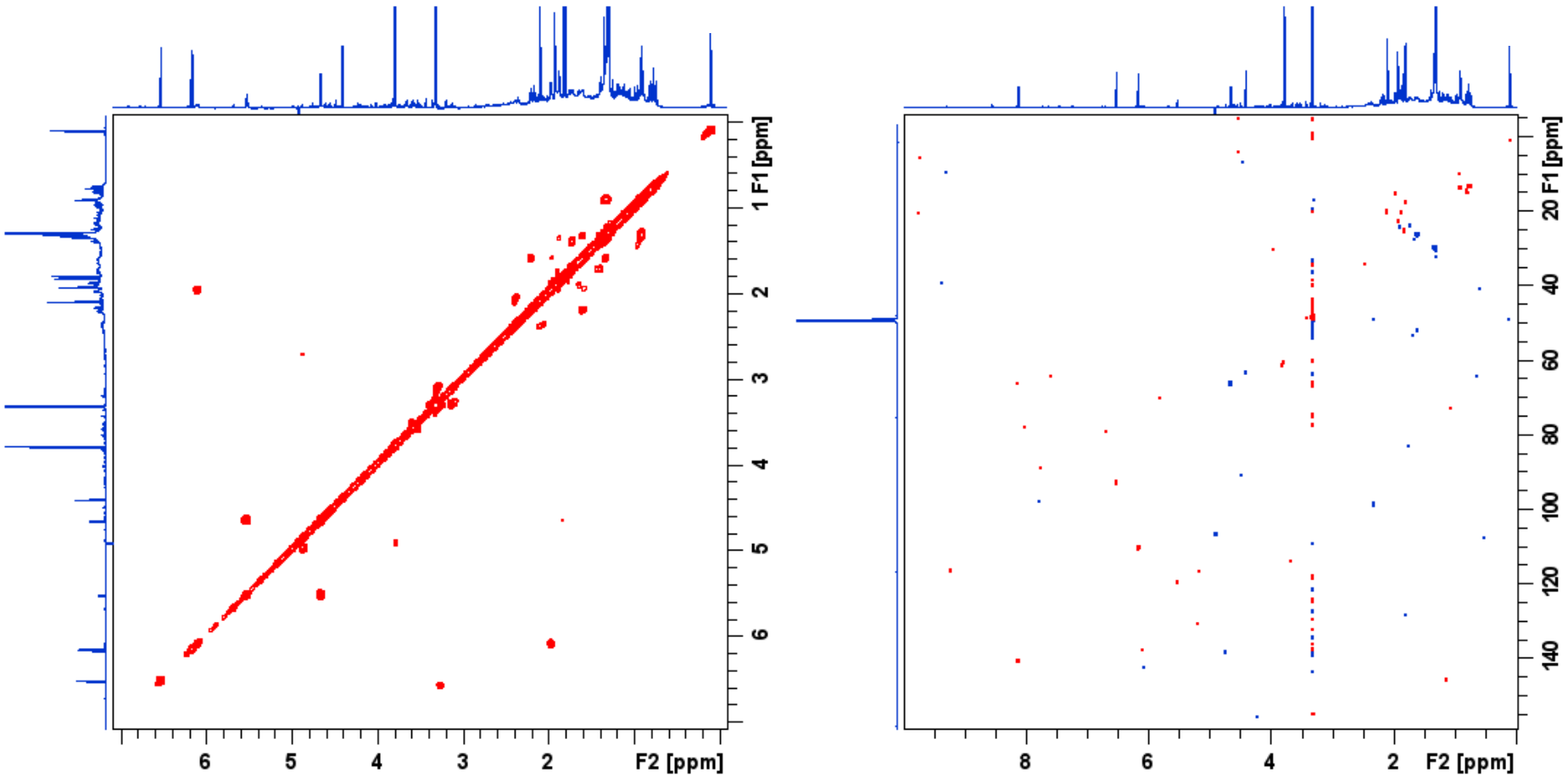


Figure 74 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 1**.

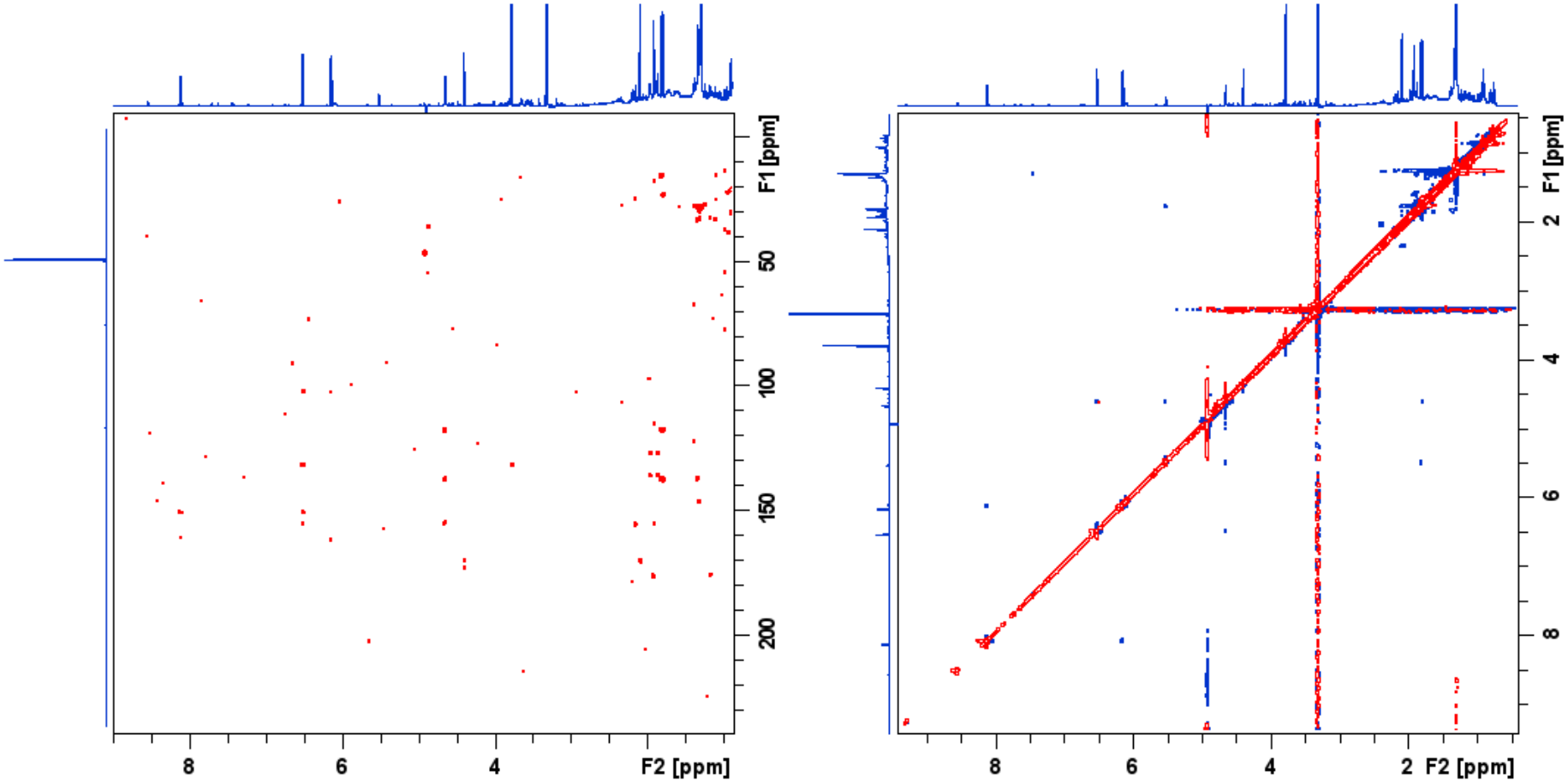
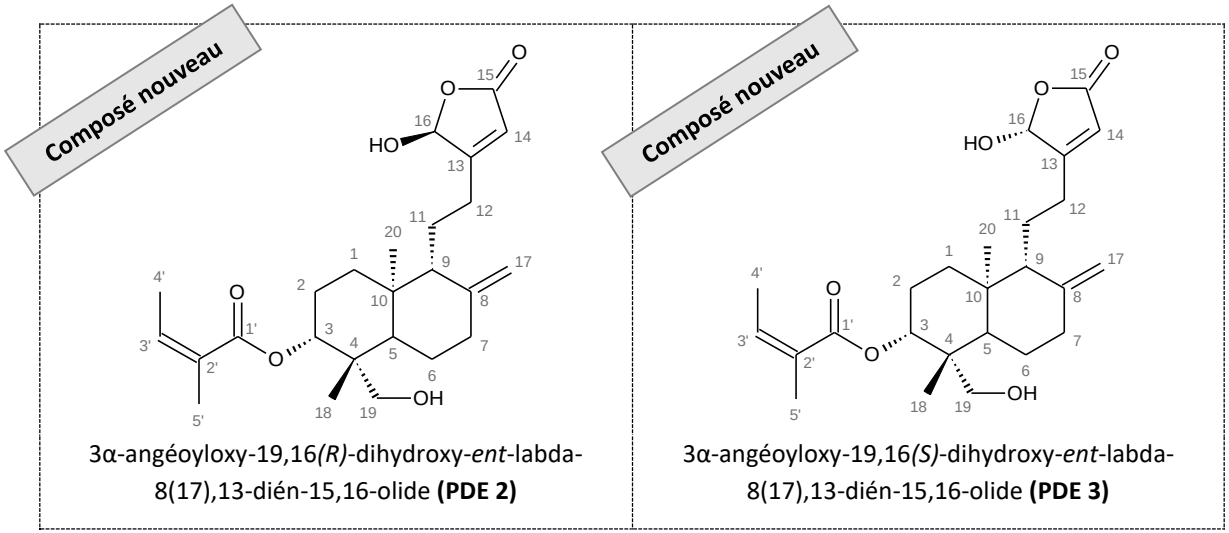


Figure 75 : Spectres ^{1}H-^{13}C HMBC (gauche) et ^{1}H-^{1}H NOESY (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 1**.

Annexe VIII. 2. Données spectrales des métabolites PDE 2 et PDE 3



3α-angéoyloxy-19,16*(R)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide **(PDE 2)**

3α-angéoyloxy-19,16*(S)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide **(PDE 3)**

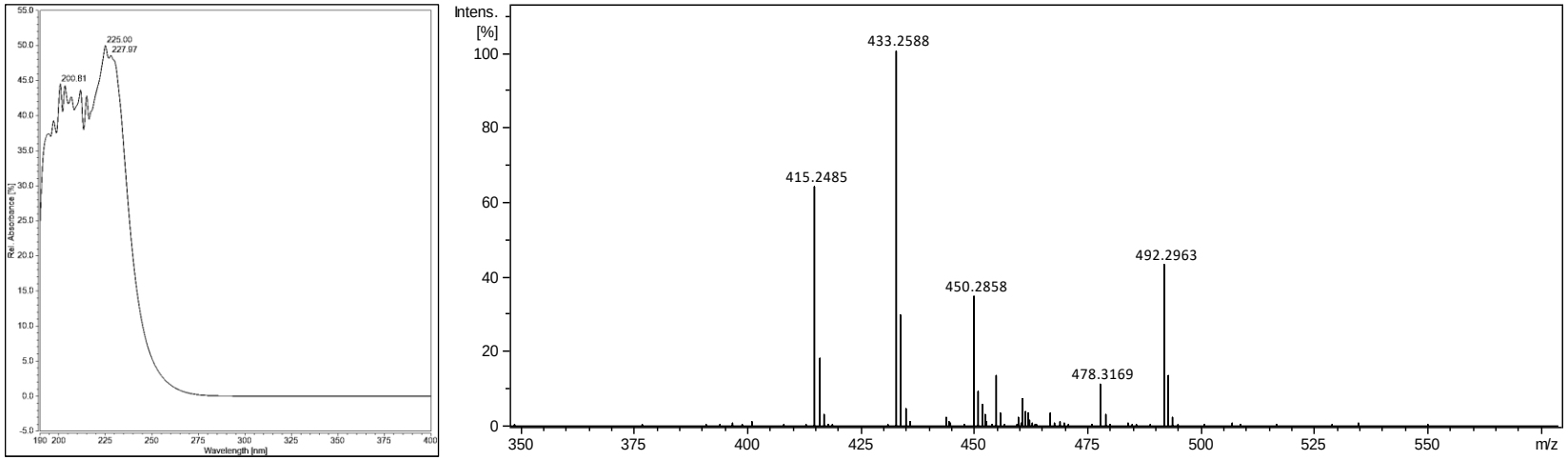


Figure 76 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 2** et **PDE 3**.

Tableau XXIII : Données RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 2** et **PDE 3** et comparaison avec le 3α-angéoyloxy-19-hydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide (Jakupovic *et al.*, 1985).

Position	δ_{13C}, en ppm	δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	(PDE 2, PDE 3) ($CDCl_3$, 150 MHz)	(PDE 2, PDE 3) ($CDCl_3$, 600 MHz)	3α-angéoyloxy-18-ent-labd-8(17),13-dièn-15,16-olide ($CDCl_3$, 400 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	36,8	1,29 (m) ; 1,82 (m)	*dm**	H2	C2, C3, C9, C10, C20
2	24,4	1,73 (m) ; 1,91 (m)	*dm**	H1, H3	C1, C3, C4, C10
3	74,3	4,97 (dd, *12,1* ; *4,4*)	5,01 (dd, *12,0* ; *4,0*)	H2	C2, C4, C5, C18, C19, C1’
4	42,9	-	-	-	-
5	46,0 ; 46,1	1,74 (m)	*dm**	-	C4, C6, C7
6	23,3	1,37 (m) ; 1,75 (m)	*dm**	H7	C5, C7, C8
7	37,6	2,08 (m) ; 2,39 (m)	2,08 (ddd, *12,0* ; *4,0* ; *2,0*) ; 2,42 (dl, *12,0*)	H6	C5, C6, C8, C9, C17
8	147,2 ; 147,3	-	-	-	-
9	55,9 ; 56,1	1,75 (m)	*dm**	H11	C8, C10, C11, C12, C17, C20
10	39,2	-	-	-	-
11	21,0 ; 21,2	1,68 (m) ; 1,80 (m)	*dm**	H9, H12	C8, C9, C12, C13
12	26,7 ; 26,9	2,34 (m) ; 2,52 (m)	2,23 (m) ; 2,55 (m)	H11	C11, C14
13	171,4	-	-	-	-
14	117,3	5,86 (s)	5,85 (tt, *7,0* ; *1,5*)	-	C12, C13, C15, C16
15	170,1 ; 170,2	-	-	-	-
16	99,0 ; 99,4	5,97 (s)	4,72 (t, *1,5*)	-	C14, C15
17	107,1 ; 107,3	4,51 (sl) ; 4,89 (sl)	4,47 (sl) ; 4,90 (sl)	-	C7, C8, C9
18	13,0	0,68 (s)	0,69 (s)	-	C3, C4, C5, C19
19	64,5	2,91 (d, *12,5*) ; 3,36 (d, *12,7*)	2,93 (d, *12,0*) ; 3,35 (d, *12,0*)	-	C3, C4, C5, C18
20	15,3	0,77 (s)	0,78 (s)	-	C5, C9, C10
1’	169,3	-	-	-	-
2’	127,7	-	-	-	-
3’	139,5	6,12 (ddq, *14,7* ; *7,3* ; *1,5*)	6,12 (qq, *7,0* ; *1,5*)	H4’	C1’, C5’
4’	16,1	1,98 (dq, *7,3* ; *1,4*)	1,99 (dq, *7,0* ; *1,5*)	H3’	C2’, C3’
5’	20,8	1,87 (m)	1,88 (dq, *1,5*)	-	C1’, C2’, C3’

dm : donnée manquante*

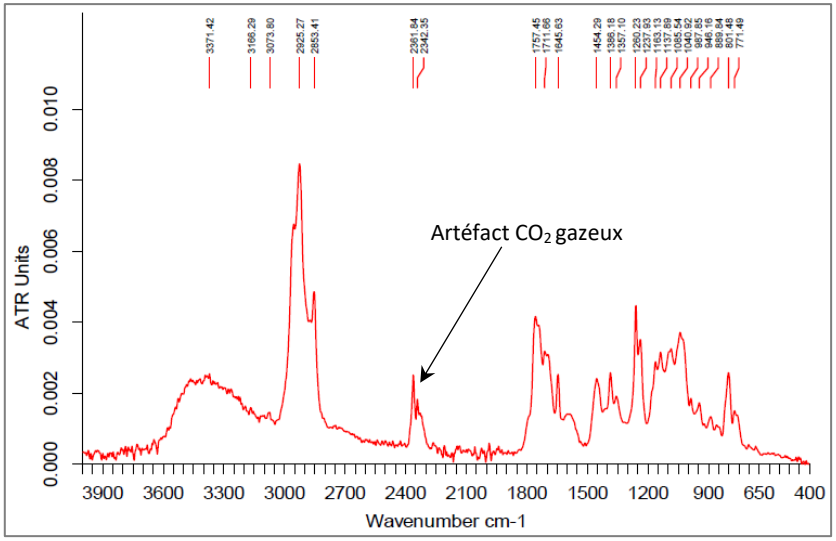


Figure 77 : Spectre IRTF de **PDE 2** et **PDE 3**.

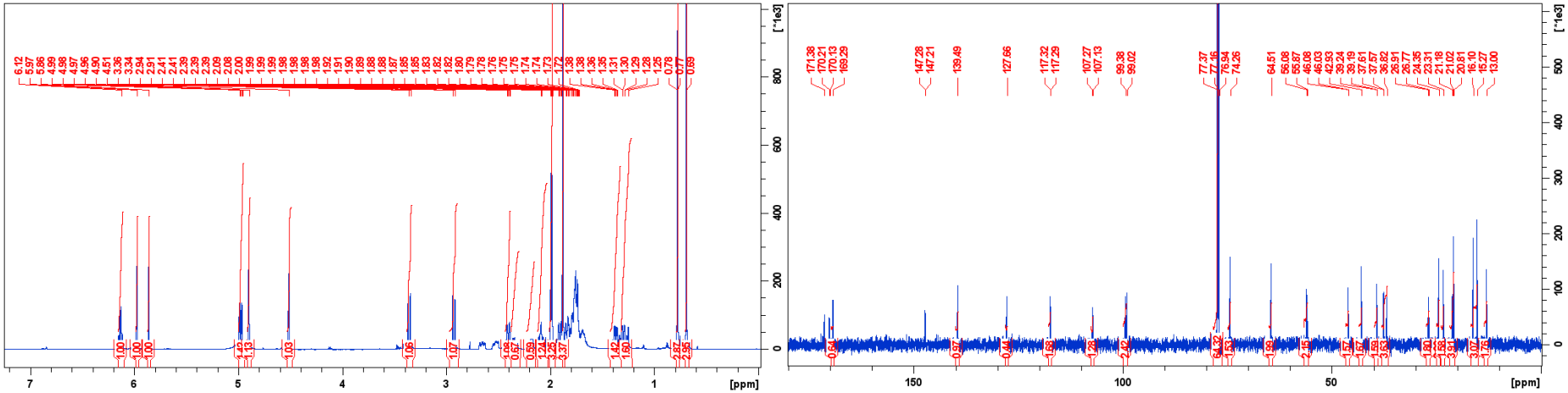


Figure 78 : Spectres RMN ^{1}H (gauche) et RMN ^{13}C (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 2** et **PDE 3**.

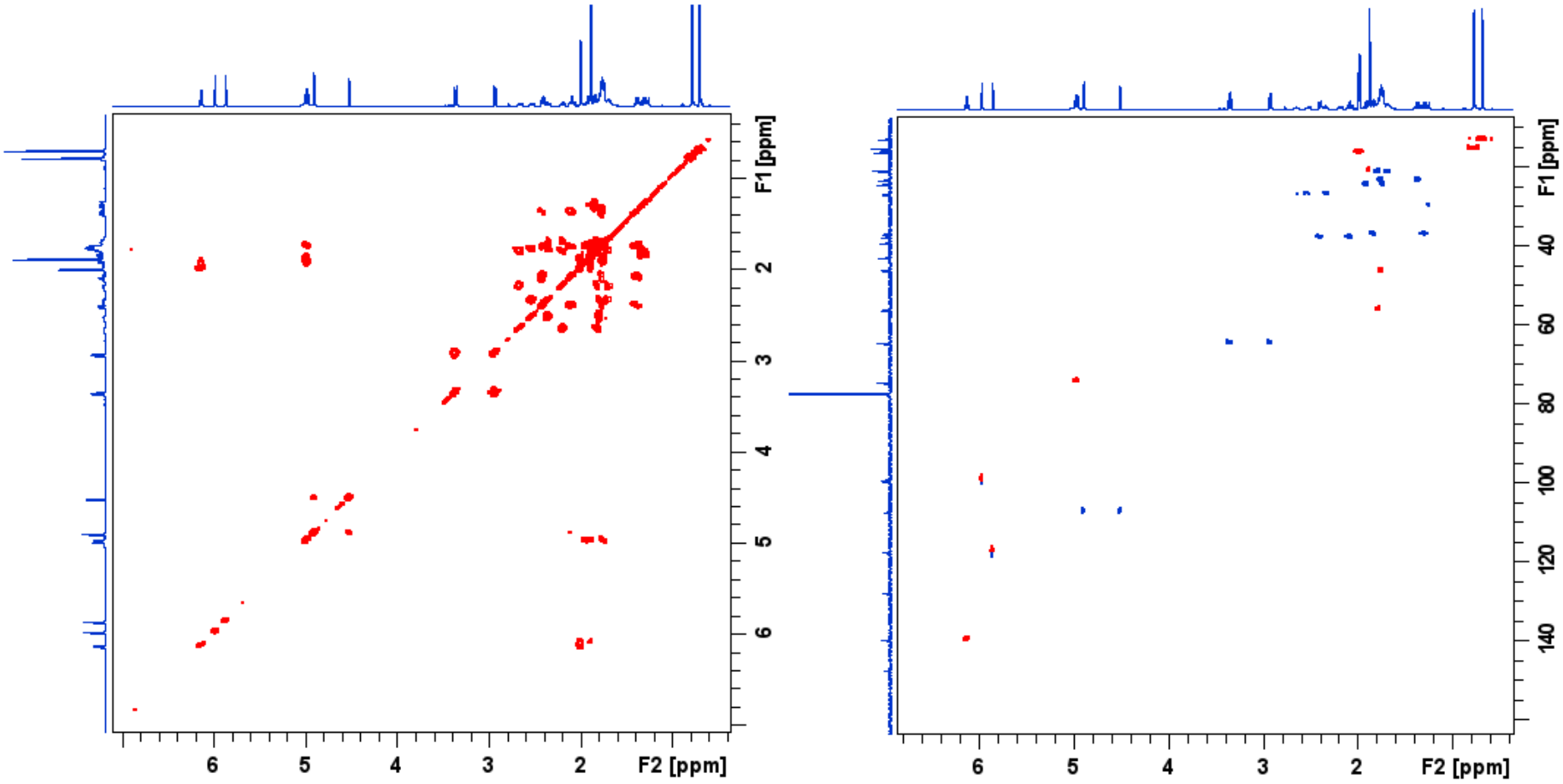


Figure 79 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 2** et **PDE 3**.

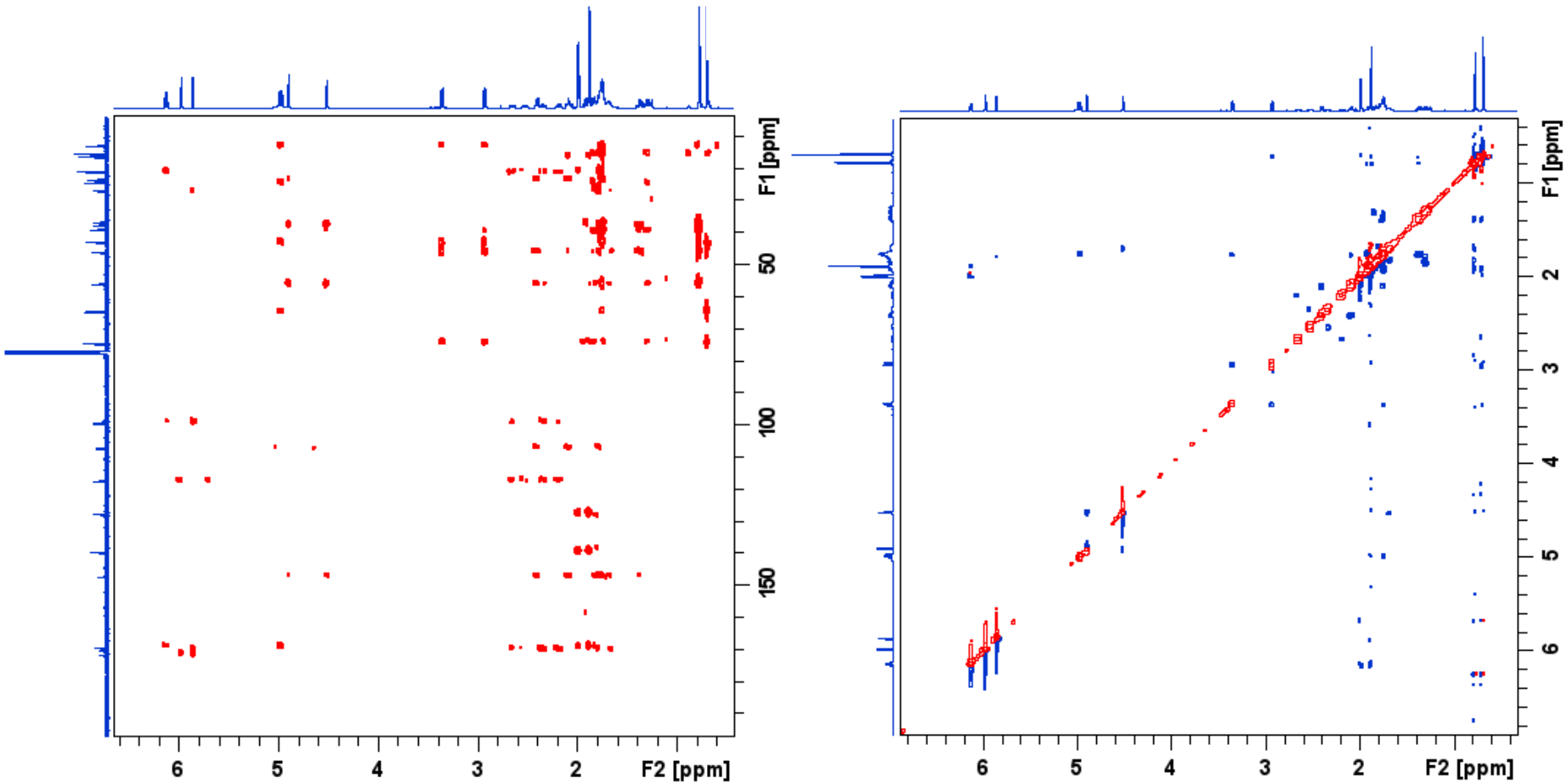
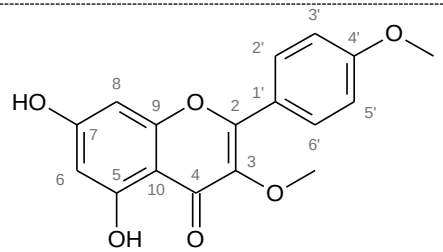


Figure 80 : Spectres ^{1}H-^{13}C HMBC (gauche) et ^{1}H-^{1}H NOESY (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 2 et PDE 3**.

Annexe VIII. 3. Données spectrales du composé PDE 4



Ermanine **(PDE 4)**

Tableau XXIV : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de l'ermanine (Castillo *et al.*, 2015) à ceux observés pour **PDE 4**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD 150 MHz)	Littérature (DMSO-d_6, 176 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature (DMSO-d_6, 700 MHz)
2	157,5	155,2	-	-
3	139,7	138,0	-	-
4	176,0	178,0	-	-
5	158,9	161,3	-	-
6	99,6	98,7	6,21 (d, *2,1*)	6,21 (d, *1,9*)
7	164,3	164,4	-	
8	94,5	93,9	6,43 (d, *2,1*)	6,46 (d, *1,7*)
9	155,0	156,5	-	-
10	106,1	104,2	-	-
1'	123,9	122,2	-	-
2',6'	131,0	130,0	8,09 (d, *9,1*)	8,03 (d, *9,1*)
3',5'	114,8	114,3	7,09 (d, *9,1*)	7,14 (d, *9,1*)
4'	163,5	161,4	-	-
CH_3O-3	60,2	59,8	3,79 (s)	3,80 (s)
CH_3O-4'	55,8	55,5	3,90 (s)	3,87 (s)

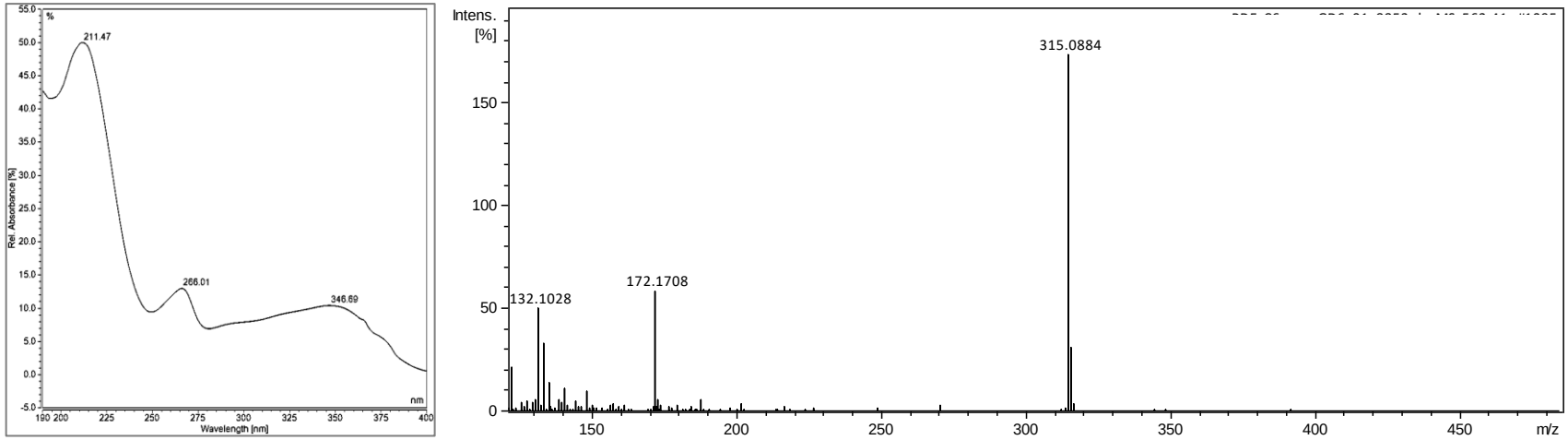


Figure 81 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI⁺) (droite) de **PDE 4**.

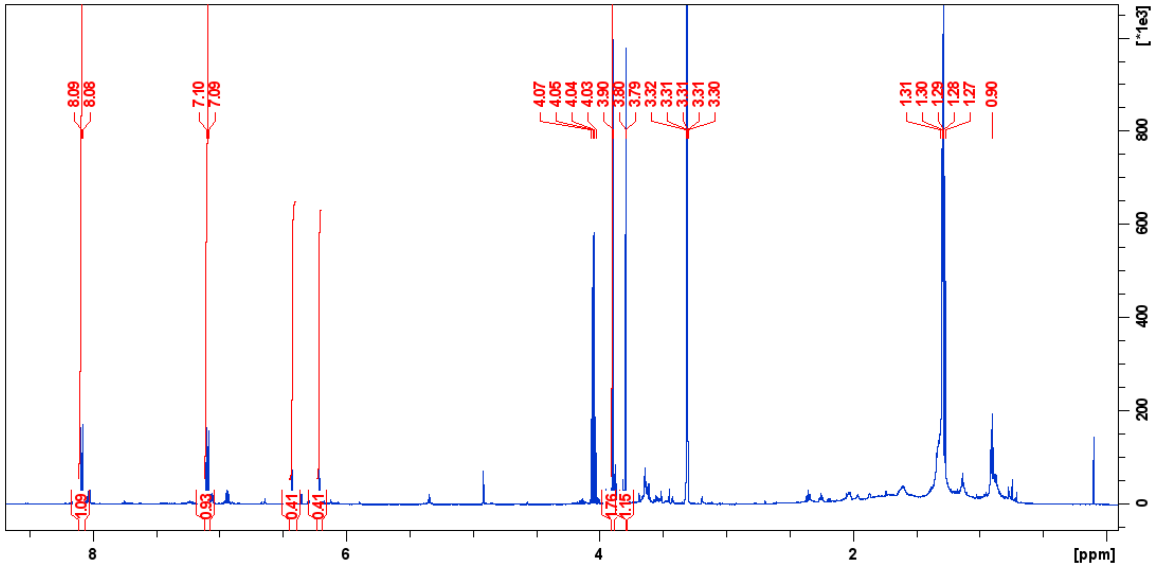


Figure 82 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 4**.

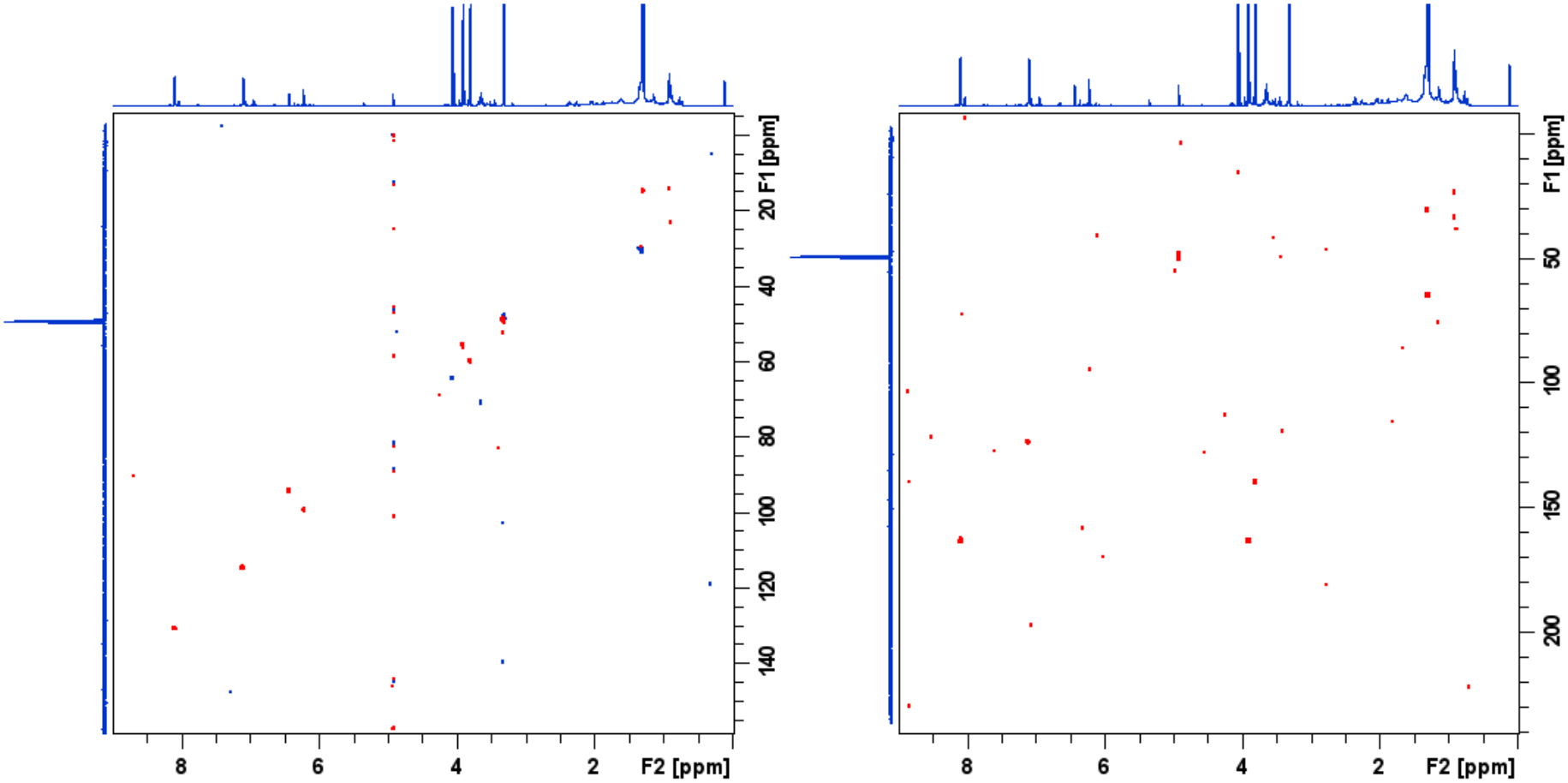


Figure 83 : Spectres ^{1}H-^{13}C HSQC (gauche) et ^{1}H-^{13}C HMBC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 4**.

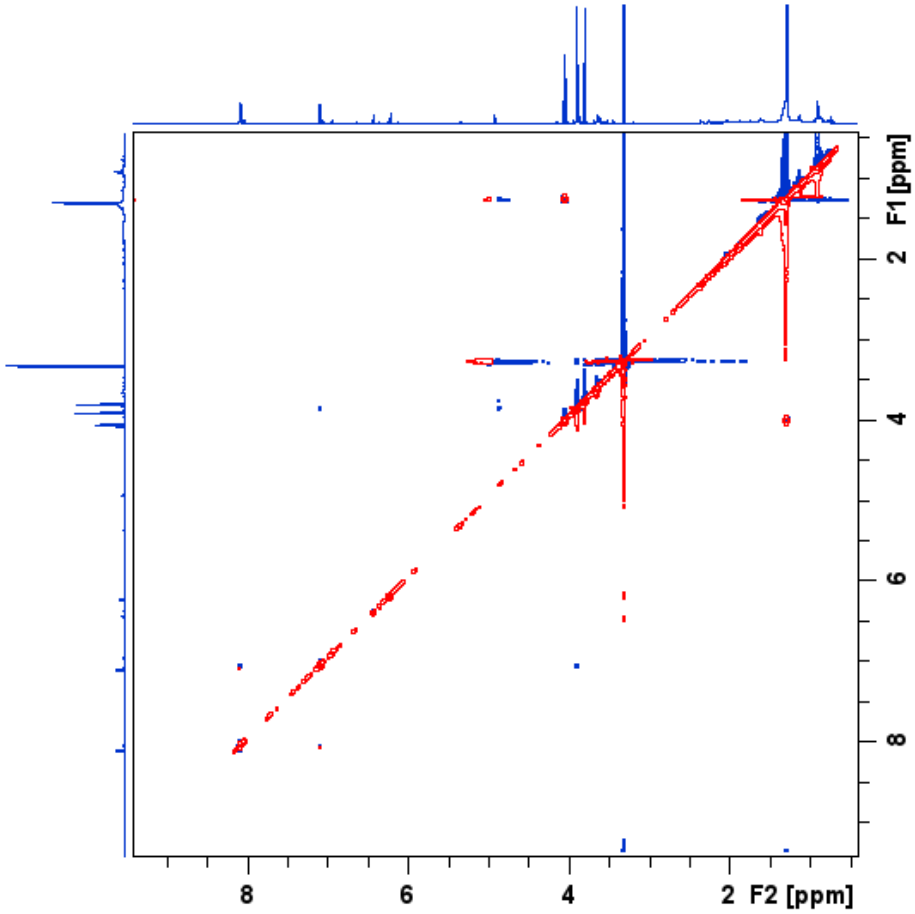
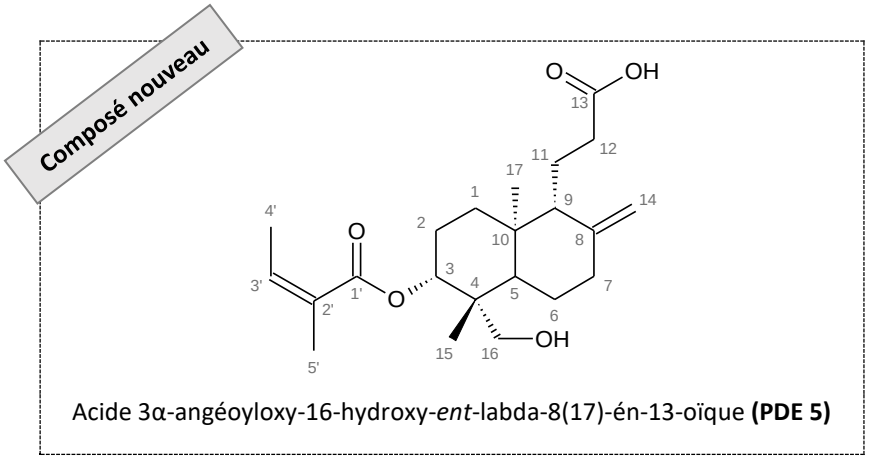
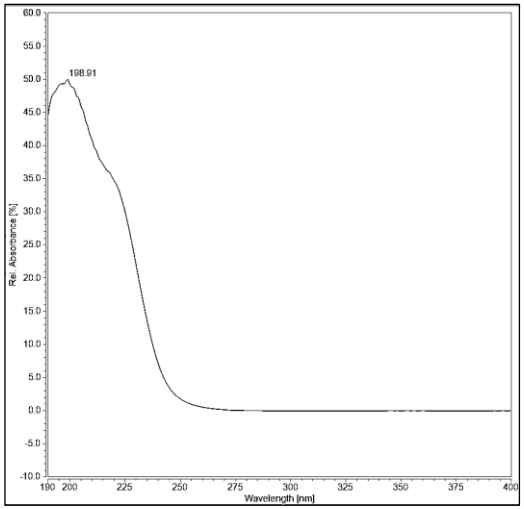


Figure 84 : Spectre ^{1}H-^{1}H NOESY (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 4**.

Annexe VIII. 4. Données spectrales du métabolite PDE 5



Acide 3α-angéoyloxy-16-hydroxy-*ent*-labda-8(17)-én-13-oïque **(PDE 5)**



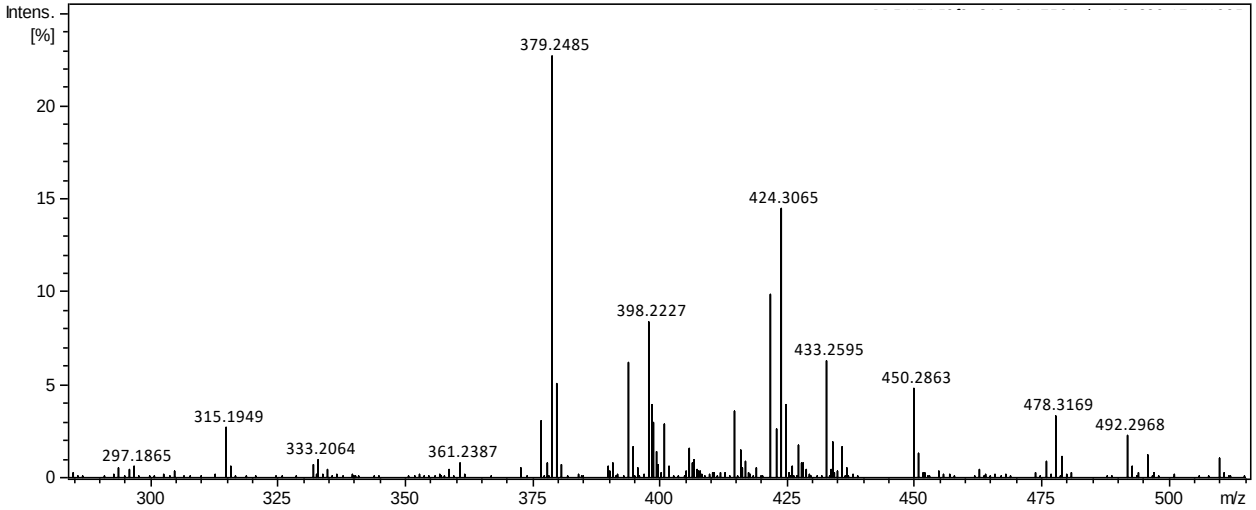


Figure 85 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 5**.

Tableau XXV : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de l'acide 3α-hydroxy-*ent*-labda-8(17)-én-13-oïque (Tapia *et al.*, 2014) à ceux observés pour **PDE 5**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	Observés ($CDCl_3$, 150 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 125 MHz)	Observés ($CDCl_3$, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 500 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	36,9	36,9	1,86 (m) ; 1,34 (m)	1,85 (m) ; 1,44 (m)	H1	C2, C10, C17
2	24,3	27,8	1,73 (m) ; 1,90 (m)	1,73 (m) ; 1,93 (m)	H2, H3	C1, C3
3	74,3	78,8	5,01 (dd, *12,2* ; *4,3*)	3,26 (dd, *11,8* ; *4,3*)	H2	C4, C15, C16, C1'
4	43,5	39,4	-	-	-	-
5	46,6	54,5	1,76 (m)	1,09 (dd, *12,1* ; *2,3*)	H6	C1, C4, C6, C7, C9, C10, C15, C17
6	23,3	23,9	1,37 (m) ; 1,75 (m)	1,31 (m) ; 1,83 (m)	H5, H7	C5, C7
7	37,8	38,0	2,07 (m) ; 2,39 (m)	2,10 (m) ; 2,41 (ddd, *12,8* ; *4,1* ; *2,4*)	H6	C6, C8, C9, C14
8	147,4	147,2	-	-	-	-
9	55,8	55,8	1,73 (m)	1,96 (ddd, *13,0* ; *13,0* ; *5,0*)	H11	C7, C8, C11, C12, C14, C17
10	39,2	39,1	-	-	-	-
11	19,1	18,9	1,68 (m) ; 1,90 (m)	-	H9, H12	C8, C9, C12, C13
12	32,4	32,7	2,32 (m) ; 2,53 (m)	2,30 (m) ; 2,52 (ddd, *16,5* ; *8,9* ; *4,4*)	H11	C9, C11, C13
13	177,2	179,9	-	-	-	-
14	107,1	106,9	4,52 (sl) ; 4,88 (sl)	4,51 (s) ; 4,87 (s)	-	C7, C8, C9
15	12,6	14,3	0,69 (s)	0,70 (s)	-	C3, C4, C5, C16
16	64,5	28,3	2,92 (d ; *12,6*) ; 3,35 (d, *12,6*)	0,99 (s)	-	C3, C4, C5, C15
17	15,2	15,4	0,77 (s)	0,77 (s)	-	C1, C5, C9, C10
1'	169,3	-	-	-	-	-
2'	127,7	-	-	-	-	-
3'	139,2	-	6,12 (qq, *12,1* ; *1,5*)	-	H4'	C4', C5'
4'	16,1	-	1,99 (dq, *7,0* ; *1,5*)	-	H3'	C2', C3'
5'	20,9	-	1,88 (m)	-	H3'	C1', C2', C3'

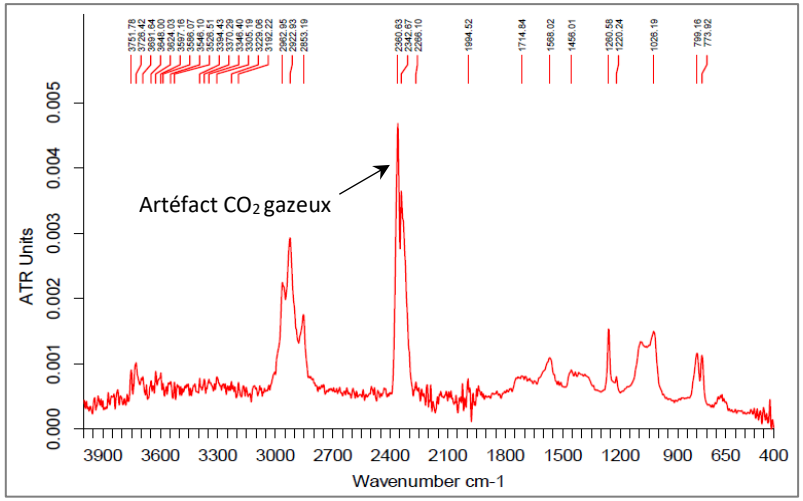


Figure 86 : Spectre IRTF de **PDE 5**.

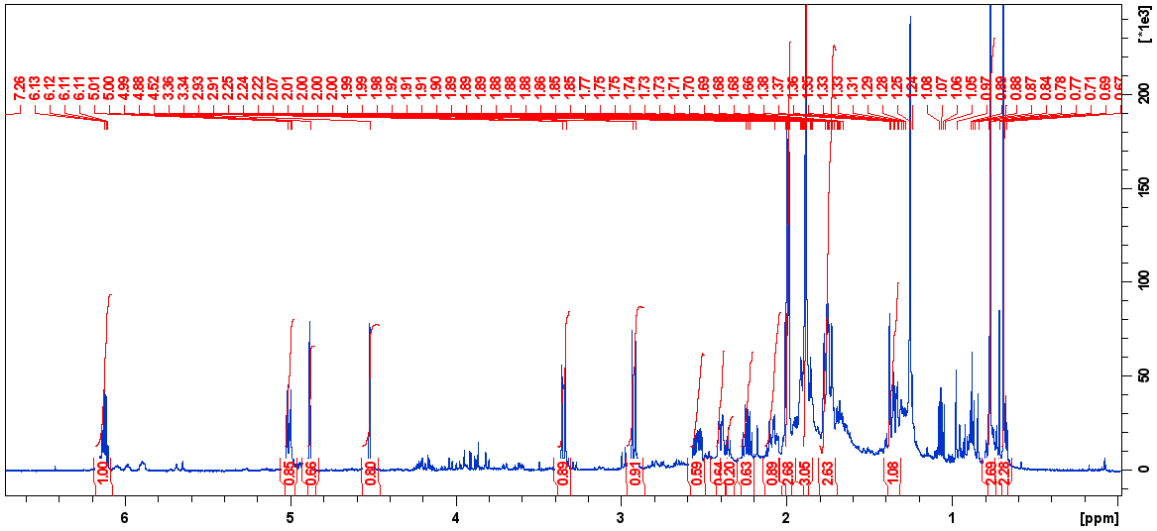


Figure 87 : Spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 5**.

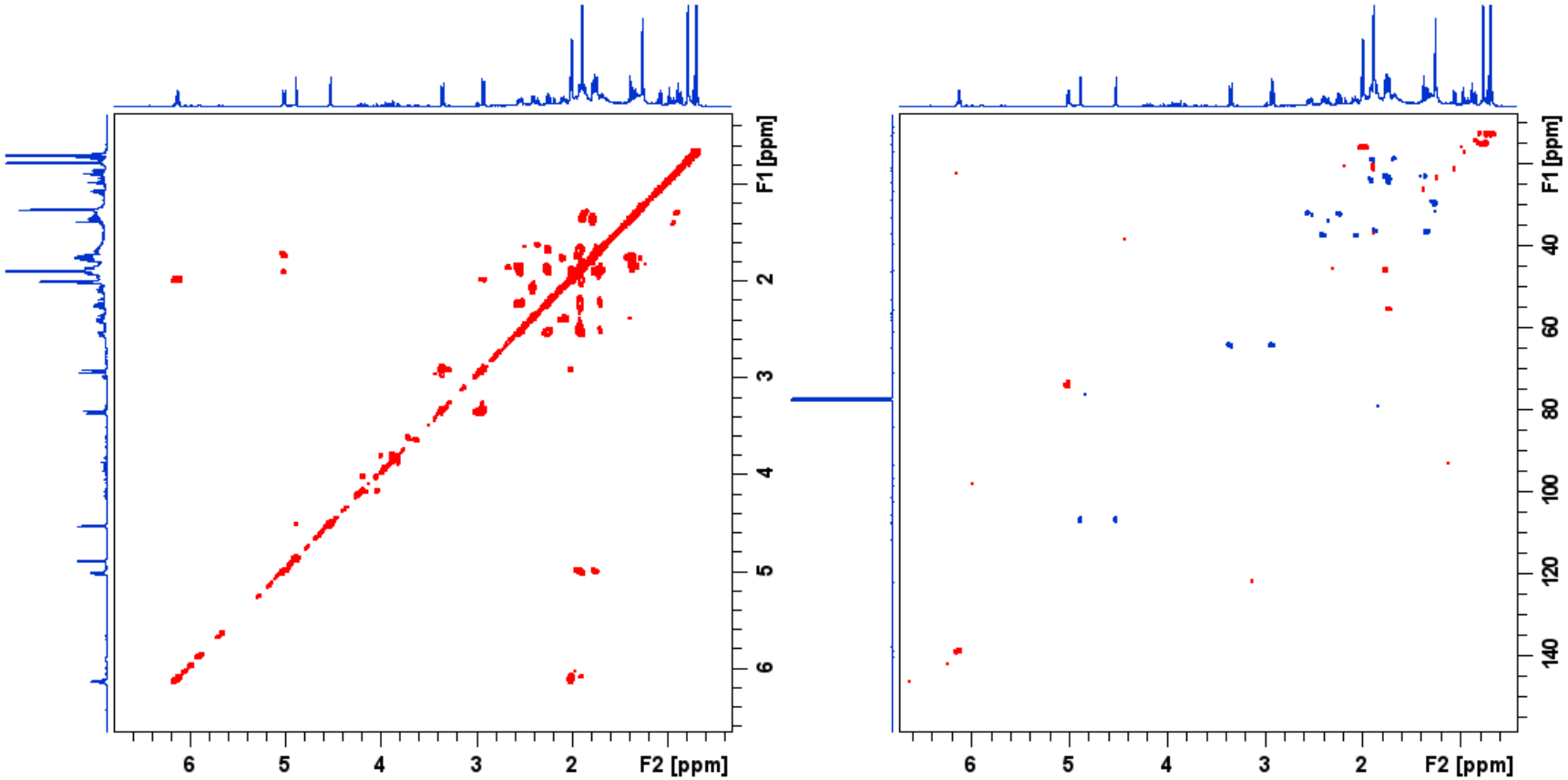


Figure 88 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 5**.

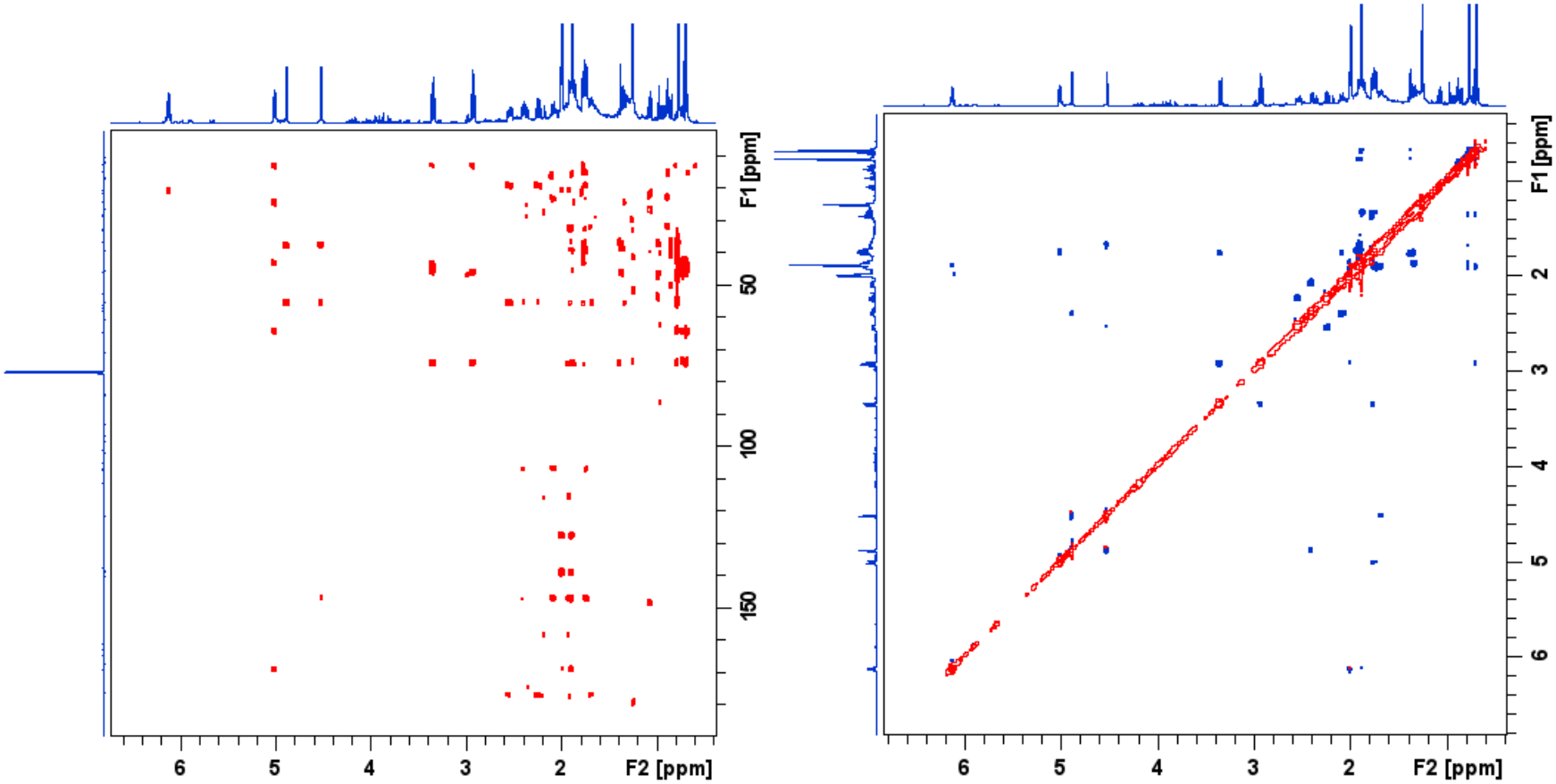
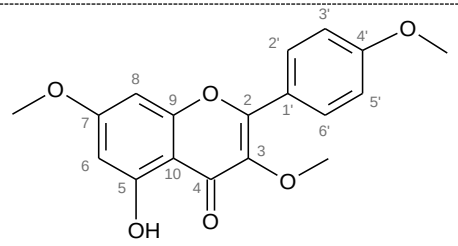


Figure 89 : Spectres ^{1}H-^{13}C HMBC (gauche) et ^{1}H-^{1}H NOESY (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 5**.

Annexe VIII. 5. Données spectrales du composé PDE 6



Kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther **(PDE 6)**

Tableau XXVI : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C du kaempférol 3,7,4'-triméthyléther (Rossi *et al.*, 1997) à ceux observés pour **PDE 6**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 50 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 200 MHz)
2	157,7	148,0	-	-
3	140,0	138,9	-	-
4	168,2	178,8	-	-
5	162,8	161,7	-	-
6	99,0	97,8	6,36 (d, *2,2*)	6,33 (d, *2,2*)
7	167,7	165,4	-	-
8	93,2	92,2	6,65 (d, *2,2*)	6,43 (d, *2,2*)
9	158,6	156,8	-	-
10	106,9	106,0	-	-
1’	123,8	122,8	-	-
2’, 6’	131,3	130,0	8,11 (d, *9,0*)	8,07 (d, *9,0*)
3’, 5’	115,2	114,0	7,10 (d, *9,0*)	7,00 (d, *9,0*)
4’	163,6	162,0	-	-
CH_3O-3	60,6	60,1	3,81 (s)	3,84 (s)
CH_3O-7	56,5	55,4	3,90 (s)	3,84 (s)
CH_3O-4’	55,9	55,8	3,90 (s)	3,84 (s)

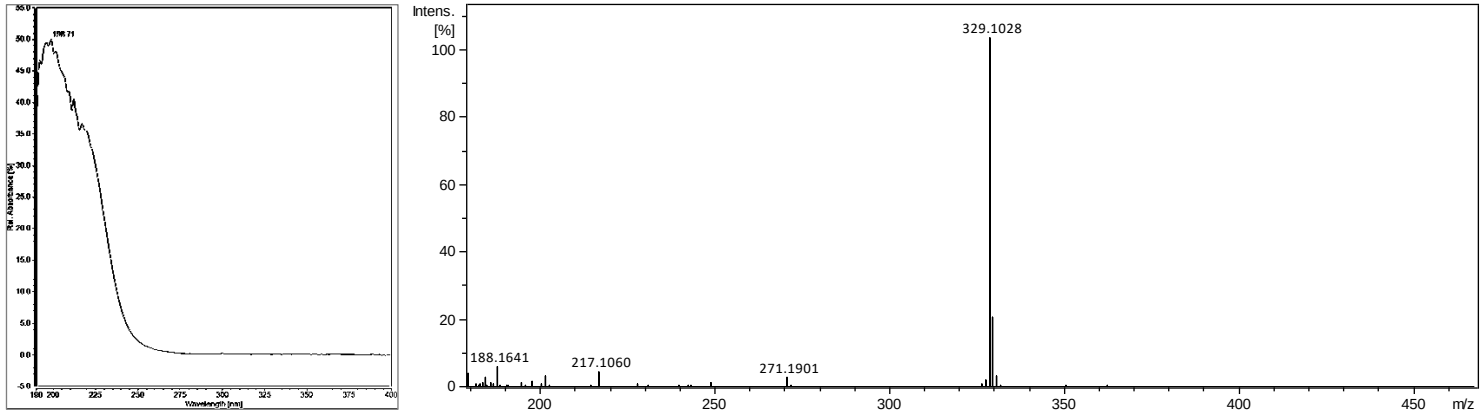


Figure 90 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 6**.

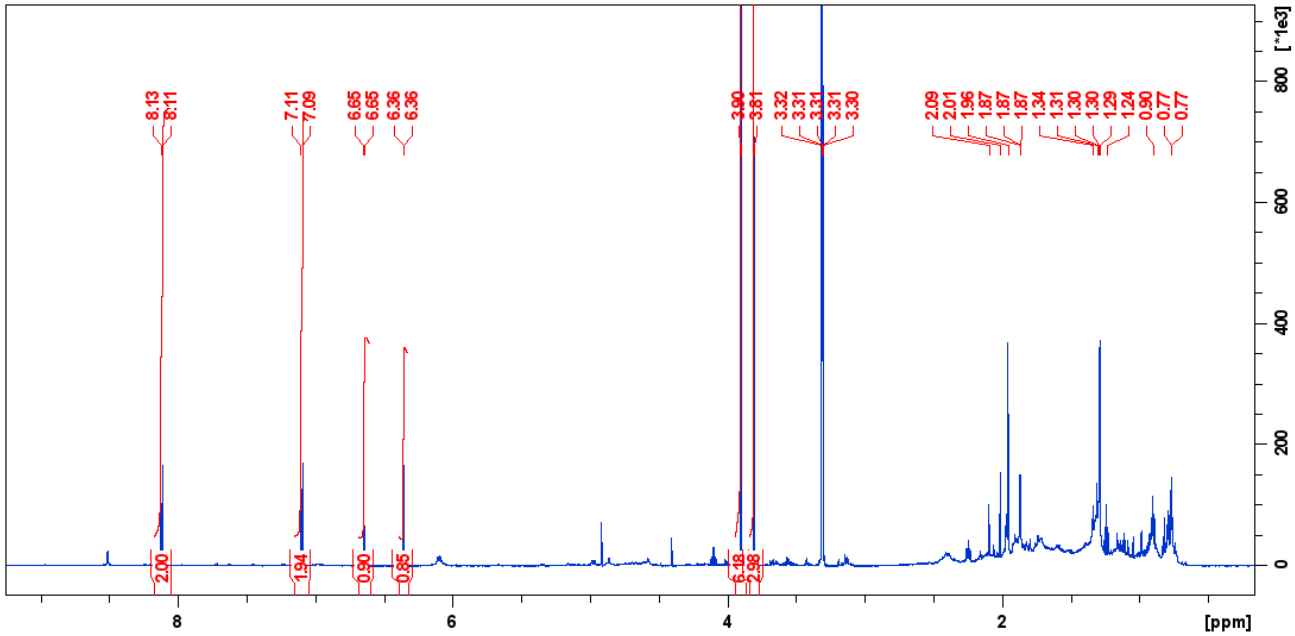


Figure 91 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 6**.

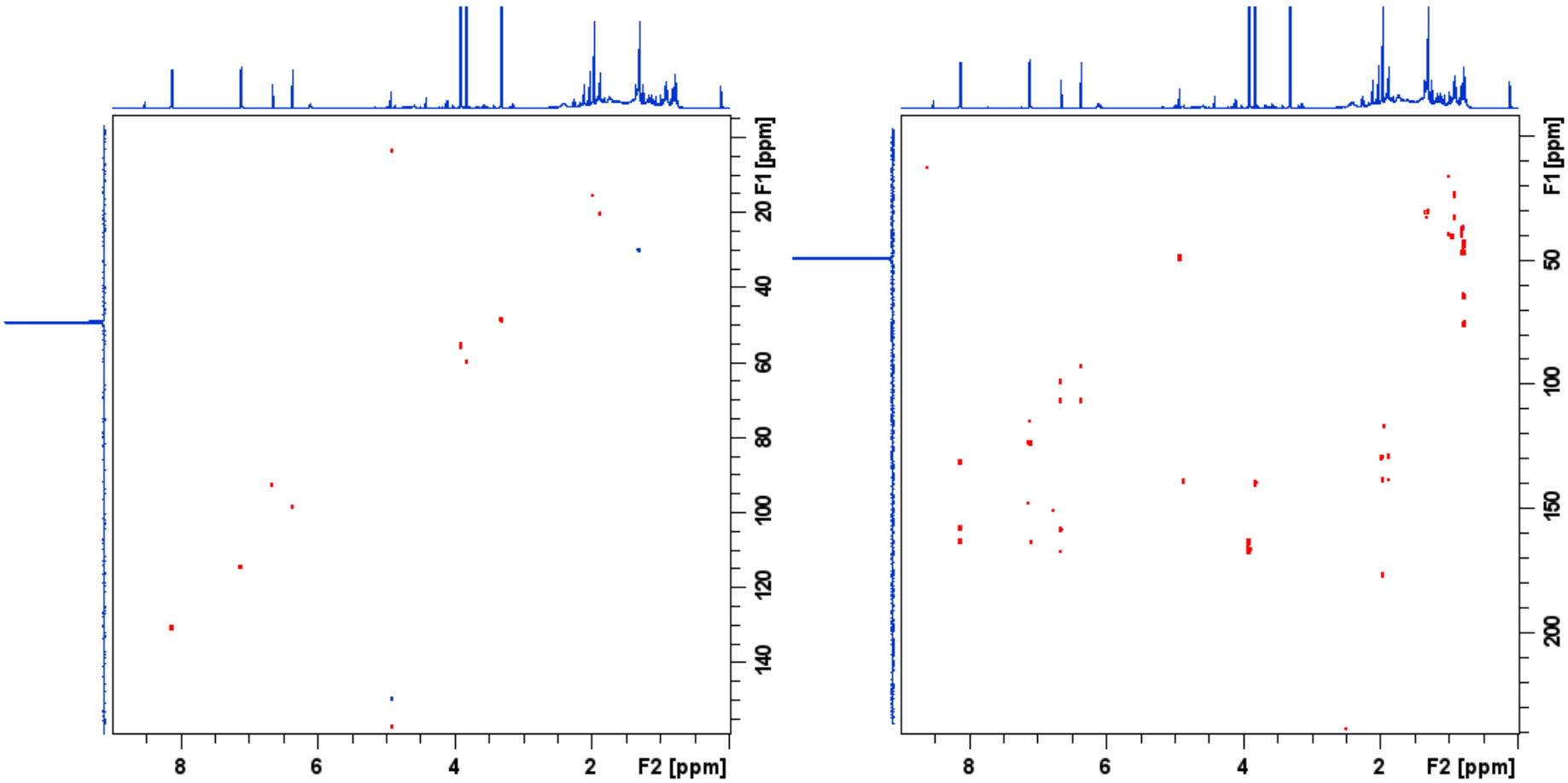
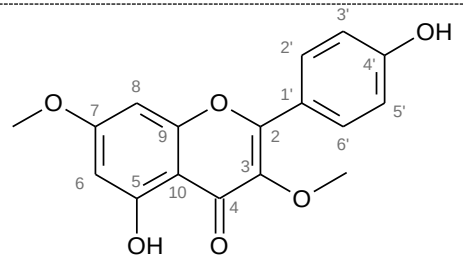


Figure 92 : Spectres ^{1}H-^{13}C HSQC (gauche) et ^{1}H-^{13}C HMBC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 6**.

Annexe VIII. 6. Données spectrales du composé PDE 7



Kumatakénine **(PDE 7)**

Tableau XXVII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de la kumatakénine (Villaflores *et al.*, 2010) à ceux observés pour **PDE 7**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 125 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 500 MHz)
2	158,1	156,7	-	-
3	139,9	138,4	-	-
4	179,9	178,7	-	-
5	162,6	161,3	-	-
6	99,1	97,8	6,31 (s)	6,24 (d, *2,0*)
7	167,0	165,4	-	-
8	93,1	92,2	6,59 (sl)	6,37 (d, *2,0*)
9	158,0	156,8	-	-
10	106,6	105,8	-	-
1’	122,2	121,3	-	-
2’, 6’	131,7	130,2	8,00 (d, *9,0*)	7,89 (d, *9,0*)
3’, 5’	116,6	115,5	6,92 (d, *9,0*)	6,82 (d, *9,0*)
4’	161,7	159,9	-	-
CH_3O-3	60,6	59,9	3,79 (s)	3,69 (s)
CH_3O-7	56,6	55,6	3,88 (s)	3,78 (s)

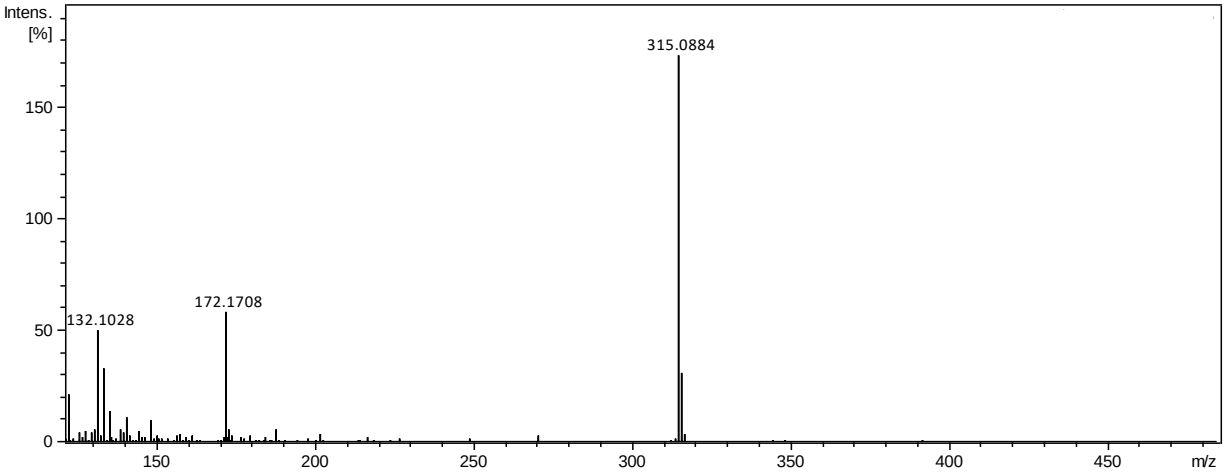


Figure 93 : Spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) de **PDE 7**.

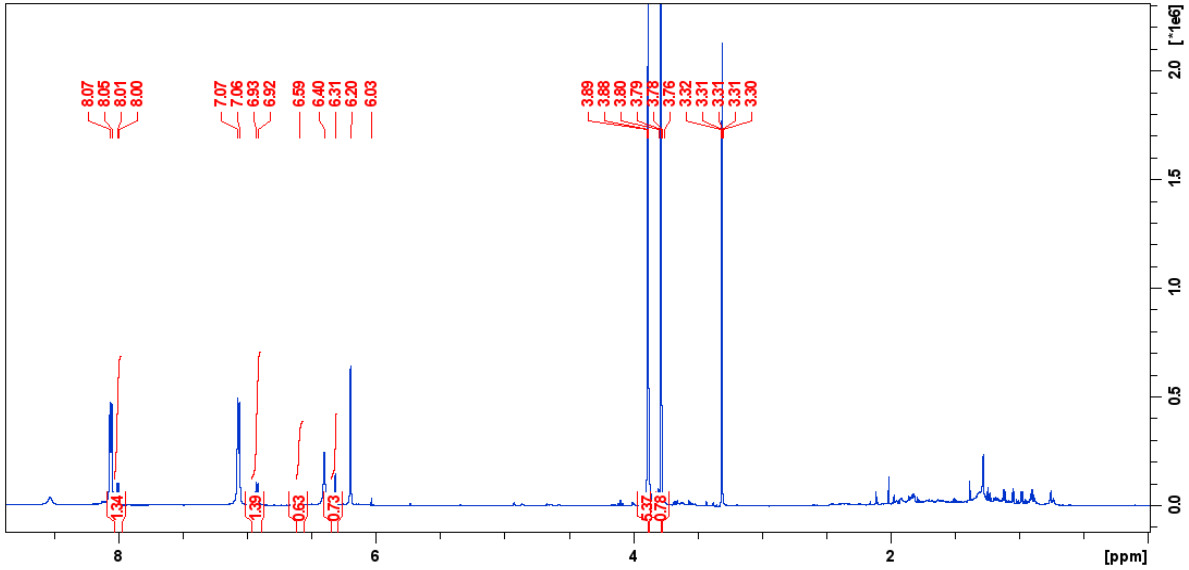


Figure 94 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 7**.

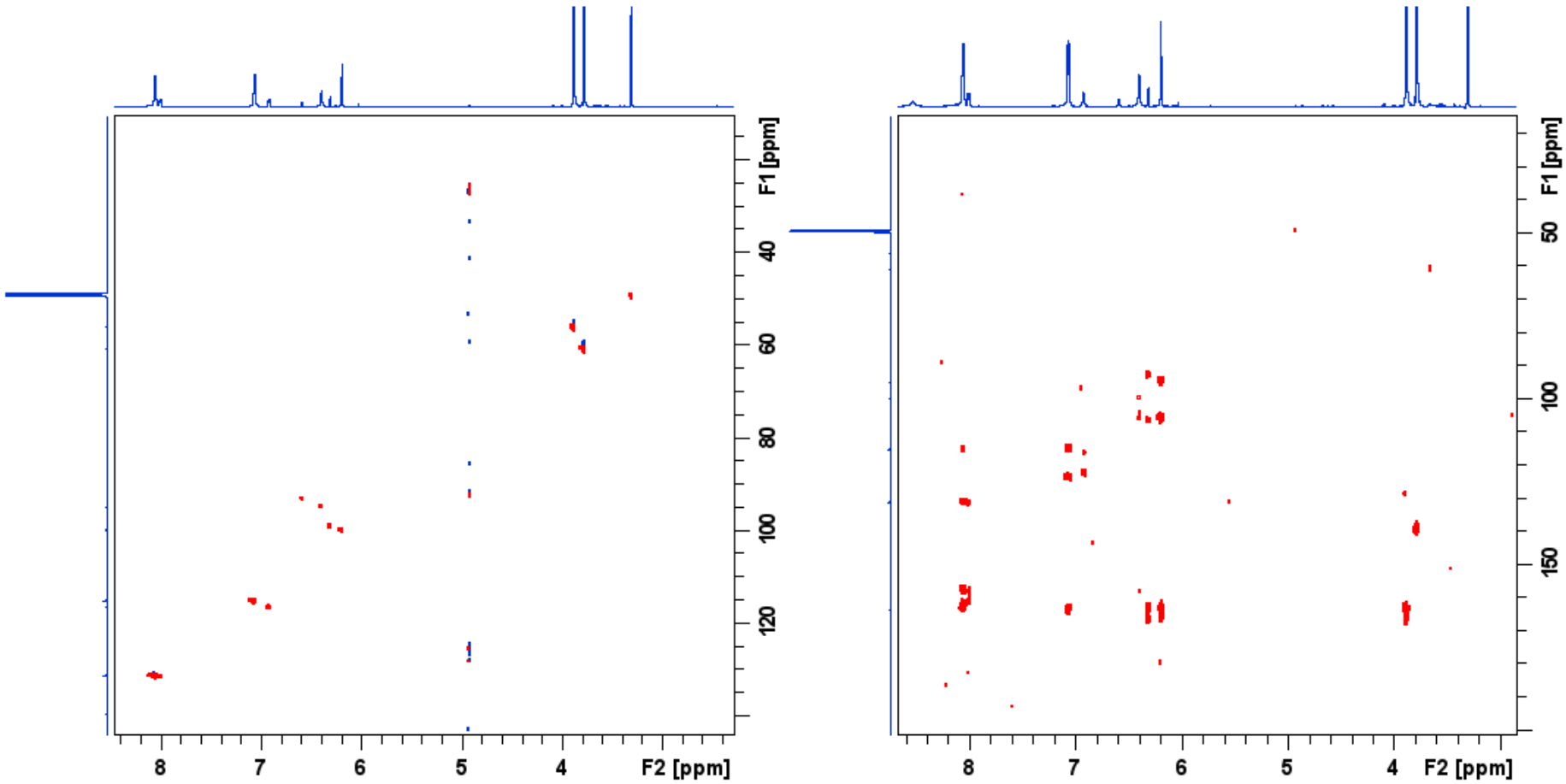
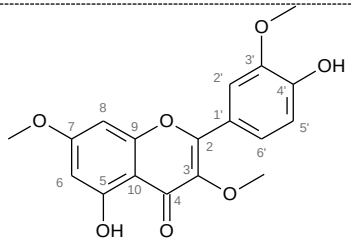


Figure 95 : Spectres ^{1}H-^{13}C HSQC (gauche) et ^{1}H-^{13}C HMBC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 7**.

Annexe VIII. 7. Données spectrales du composé PDE 8



Pachypodol **(PDE 8)**

Tableau XXVIII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C du pachypodol (Çitoğlu *et al.*, 2003) à ceux observés pour **PDE 8**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 100 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 400 MHz)
2	158,1	148,0	-	-
3	139,8	139,0	-	-
4	180,2	179,1	-	-
5	163,1	163,0	-	-
6	99,0	98,2	6,34 (d, *2,0*)	6,28 (d, *2,0*)
7	167,2	167,0	-	-
8	93,1	93,0	6,65 (dl, *2,0*)	6,37 (d, *2,0*)
9	158,4	156,0	-	-
10	106,9	106,0	-	-
1’	122,8	123,0	-	-
2’	112,7	114,9	7,74 (d, *1,9*)	7,63 (dd, *8,5* ; *2,0*)
3’	149,4	147,0	-	-
4’	150,8	149,0	-	-
5’	116,4	114,9	6,95 (d, *8,4*)	6,98 (d, *8,5*)
6’	123,8	121,0	7,69 (dd, *8,5 ; 2,0*)	7,59 (dd, *9,0* ; *2,5*)
CH_3O-3	60,6	60,5	3,81 (s)	3,78 (s)
CH_3O-7	56,5	56,1	3,89 (s)	3,80 (s)
CH_3O-3’	56,5	56,4	3,95 (s)	3,91 (s)

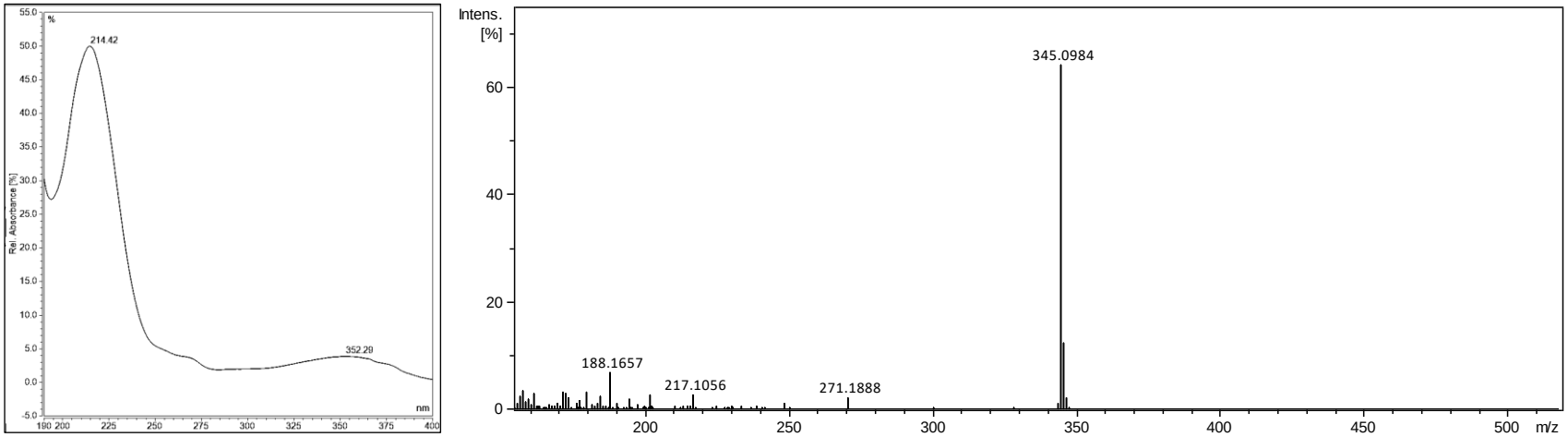


Figure 96 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI⁺) (droite) de **PDE 8**.

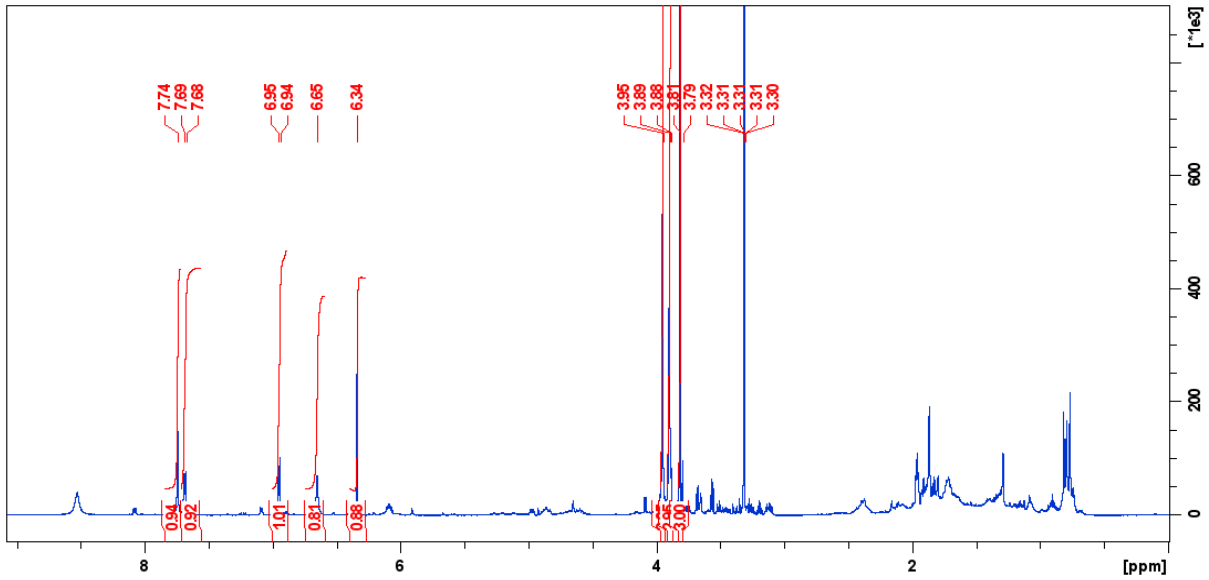


Figure 97 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 8**.

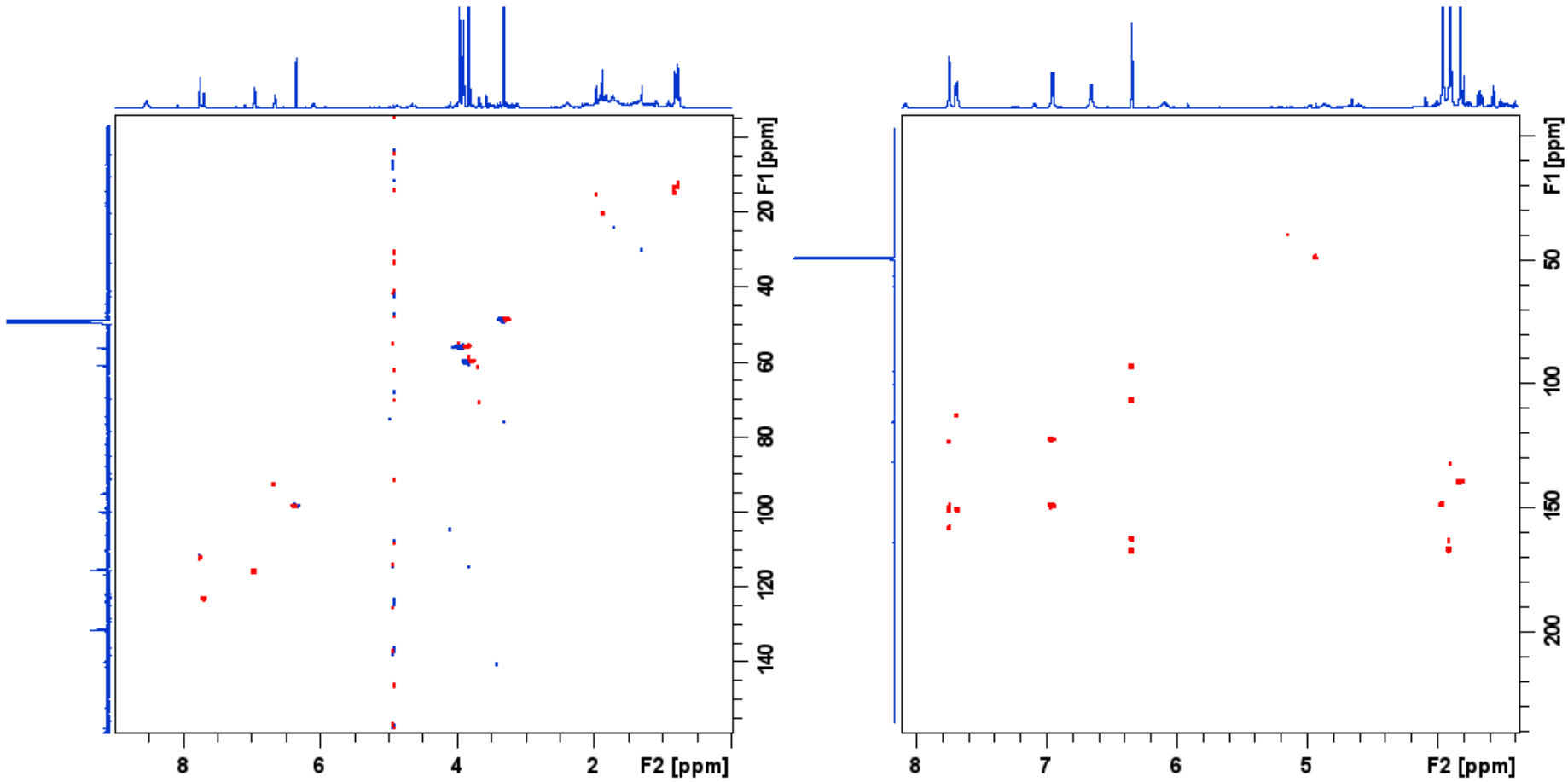
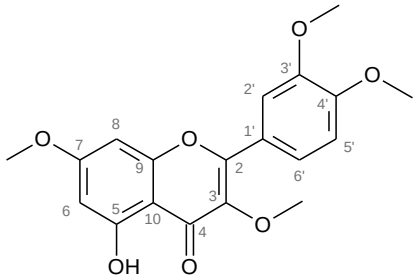


Figure 98 : Spectres ^{1}H-^{13}C HSQC (gauche) et ^{1}H-^{13}C HMBC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 8**.

Annexe VIII. 8. Données spectrales des composés PDE 9 et PDE 10

Tableau XXIX : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de la rétusine (Mai *et al.*, 2012) à ceux observés pour **PDE 9**.

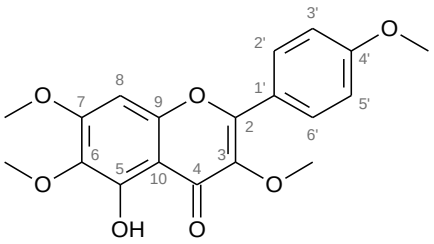


Rétusine **(PDE 9)**

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 125 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 500 MHz)
2	156,8	156,1	-	-
3	133,5	137,0	-	-
4	nd	175,7	-	-
5	160,4	160,9	-	-
6	99,2	98,1	6,35 (d, *2,0*)	6,38 (s)
7	167,3	163,0	-	-
8	93,3	93,3	6,67 (d, *2,0*)	6,79 (s)
9	158,3	157,2	-	-
10	106,8	104,0	-	-
1’	124,1	121,9	-	-
2’	112,8	115,1	7,75 (d, *1,8*)	7,65 (s)
3’	150,4	147,7	-	-
4’	153,2	149,6	-	-
5’	112,4	115,9	7,13 (d, *8,6*)	7,15 (d, *8,5*)
6’	123,6	119,9	7,80 (dd, *8,4* ; *2,1*)	7,72 (dd, *8,5* ; *1,9*)
CH_3O-3	61,1	60,6	3,83 (s)	3,81 (s)
CH_3O-7	56,3	56,4	3,90 (s)	3,85 (s)
CH_3O-3’	56,5	56,2	3,92 (s)	3,95 (s)
CH_3O-4’	56,5	56,5	3,93 (s)	3,85 (s)

nd : non déterminé

Tableau XXX : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de la pendulétine 4'-méthyl éther (Paula *et al.*, 2006) à ceux observés pour **PDE 10**.



Pendulétine 4'-méthyl éther **(PDE 10)**

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 75 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 300 MHz)
2	157,8	156,3	-	-
3	139,8	139,0	-	-
4	nd	179,2	-	-
5	nd	152,6	-	-
6	133,5	132,3	-	-
7	160,5	159,0	-	-
8	92,1	90,5	6,80 (sl)	6,50 (s)
9	154,2	153,0	-	-
10	107,1	106,8	-	-
1'	123,8	123,0	-	-
2', 6'	131,5	130,4	8,12 (d, *8,9*)	8,08 (d, *9,0*)
3', 5'	115,2	114,3	7,10 (d, *8,9*)	7,02 (d, *9,0*)
4'	163,4	161,9	-	-
CH_3O-3	60,6	60,4	3,82 (s)	3,92 (s)
CH_3O-6	61,2	61,2	3,84 (s)	3,96 (s)
CH_3O-7	57,0	56,6	3,97 (s)	3,90 (s)
CH_3O-4'	56,4	55,7	3,90 (s)	3,86 (s)

nd : non déterminé

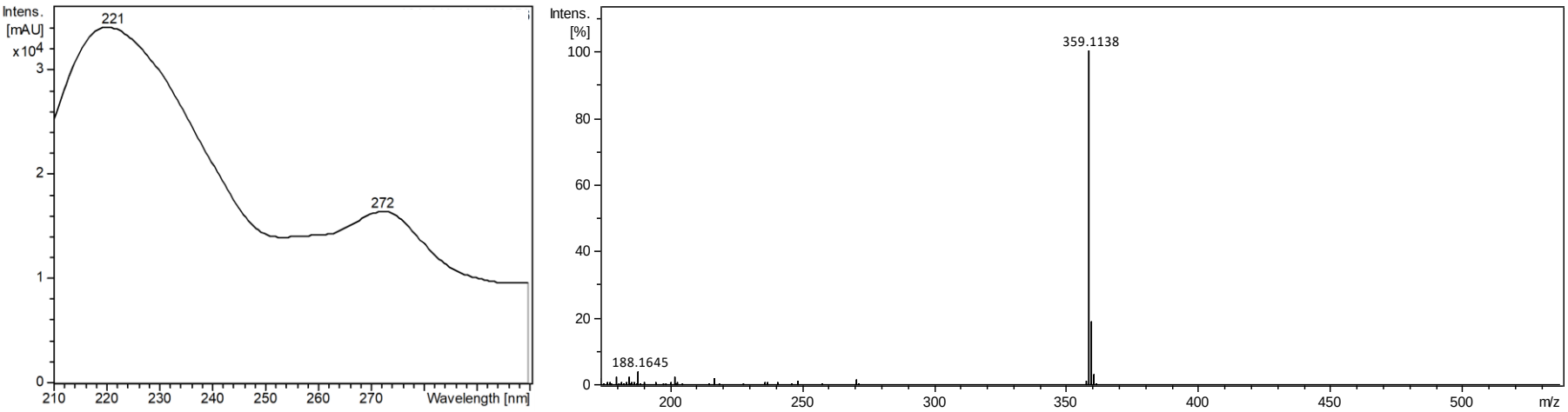


Figure 99 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 9** et **PDE 10**.

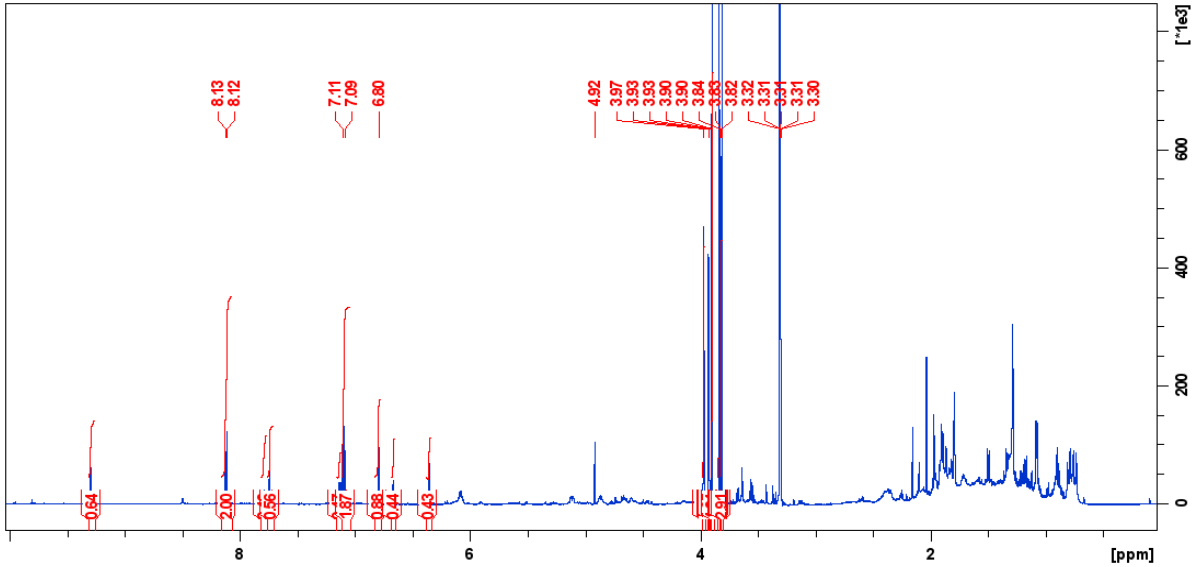


Figure 100 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 9** et **PDE 10**.

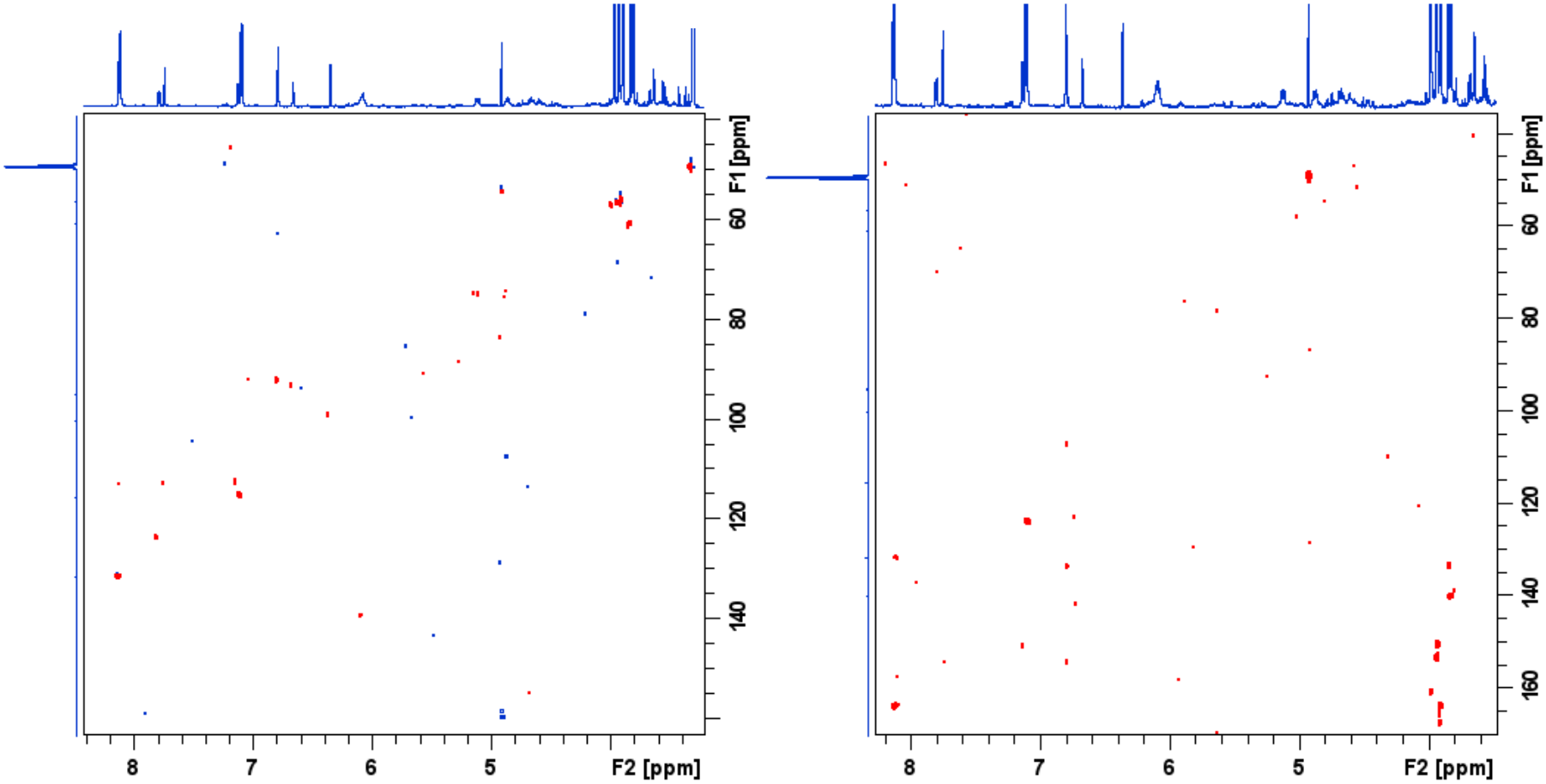
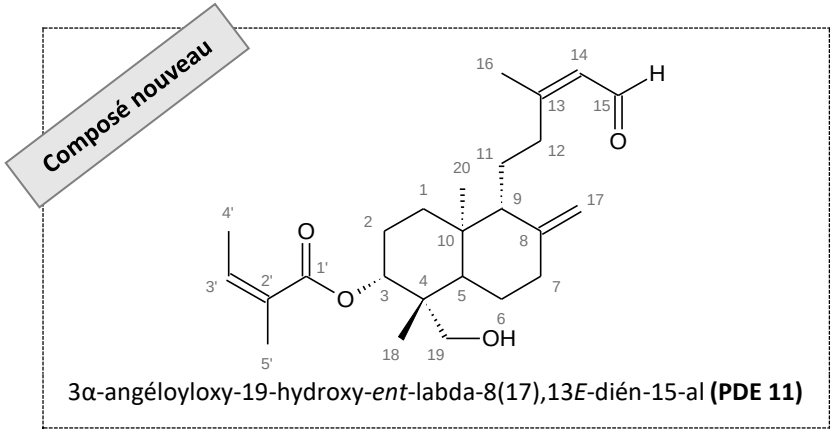
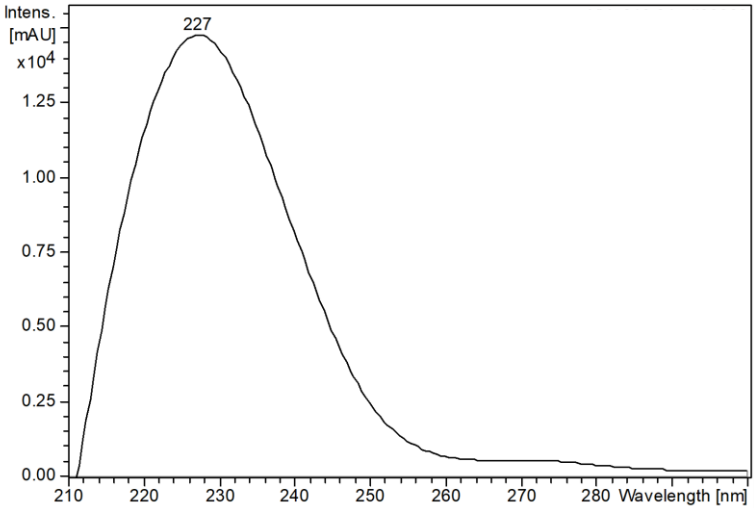


Figure 101 : Spectres ^{1}H-^{13}C HSQC (gauche) et ^{1}H-^{13}C HMBC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 9** et **PDE 10**.

Annexe VIII. 9. Données spectrales du métabolite PDE 11





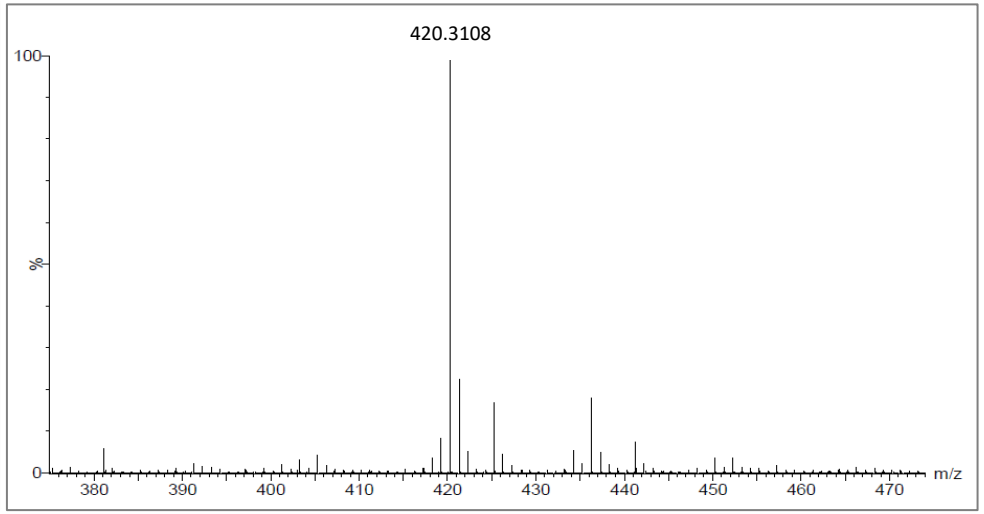


Figure 102 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 11**.

Tableau XXXI : Données RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 11** et comparaison avec le 3α-angéloyloxy-15,18-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène (Bohlmann *et al.*, 1984).

Position	δ_{13C}, en ppm	δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	Observés ($CDCl_3$, 150 MHz)	Observés ($CDCl_3$, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 400 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	37,6	1,29 (m) ; 1,85 (m)	*dm**	H2	C2
2	24,8	1,75 (m) ; 1,80 (m)	*dm**	H1, H3	C1
3	75,5	4,97 (dd, *12,0* ; *4,5*)	5,00 (ddl, *12,0* ; *4,5*)	H2	C2, C4, C5, C18, C19, C1’
4	43,1	-	-	-	-
5	47,3	1,73 (m)	*dm**	H6	C4, C9, C18
6	24,7	1,75 (m)	*dm**	H5, H7	-
7	38,6	2,07 (m) ; 2,40 (m)	2,39 (dl, *13,0*)	H6	C6, C8, C9, C17
8	148,9	-	-	-	-
9	57,2	1,71 (m)	*dm**	H11	C8, C10, C12, C17, C20
10	40,1	-	-	-	-
11	22,6	1,62 (m) ; 1,76 (m)	*dm**	H9, H12	C9, C12
12	40,5	2,13 (m) ; 2,41 (m)	2,16 (m)	H11	C9, C11, C13, C14, C16
13	168,0	-	-	-	-
14	128,1	5,83 (dsxt, *8,2* ; *1,2*)	5,39 (tl, *7,0*)	H15	C12, C16
15	193,6	9,96 (d, *8,2*)	4,14 (dl, *7,0*)	H14	C14
16	17,6	2,22 (d, *2,2*)	1,68 (sl)	-	C12, C13, C14, C15
17	107,5	4,57 (dl, *1,2*) ; 4,92 (sl)	4,53 (sl) ; 4,85 (sl)	-	C7, C8, C9
18	14,0	0,76 (s)	0,68 (s)	-	C3, C4, C5, C19
19	64,6	3,13 (dl, *11,6*) ; 3,30 (dl, *11,6*)	2,97 (d, *12,0*) ; 3,35 (dl, *12,0*)	-	C3, C4, C18
20	15,5	0,81 (s)	0,75 (s)	-	C1, C5, C9, C10
1’	169,1	-	-	-	-
2’	129,5	-	-	-	-
3’	138,8	6,09 (qql, *7,2* ; *1,4*)	6,01 (qq, *7,0* ; *1,0*)	H4’	C1’, C2’, C4’, C5’
4’	16,1	1,96 (dql, *7,2* ; *1,4*)	1,98 (dq, *7,0* ; *1,0*)	H3’	C2’, C3’
5’	20,9	1,87 (qtl, *1,4*)	1,89 (dq, *1,0*)	-	C1’, C2’, C3’

dm : donnée manquante*

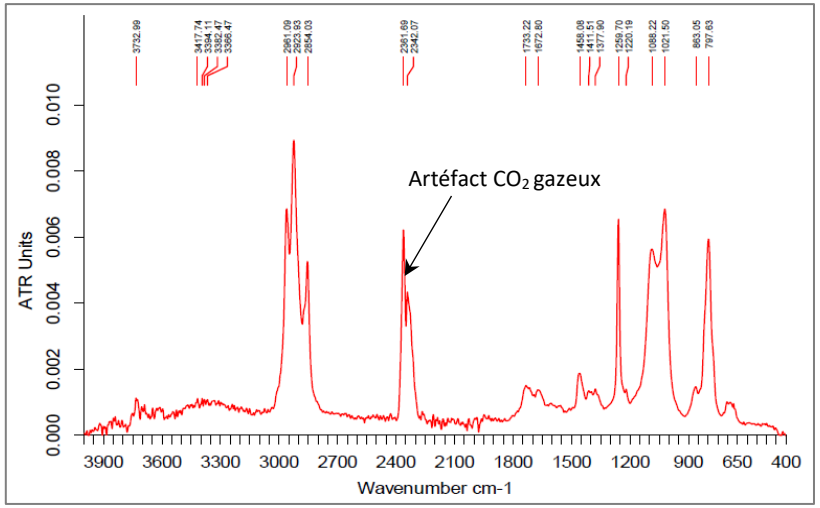


Figure 103 : Spectre IRTF de **PDE 11**.

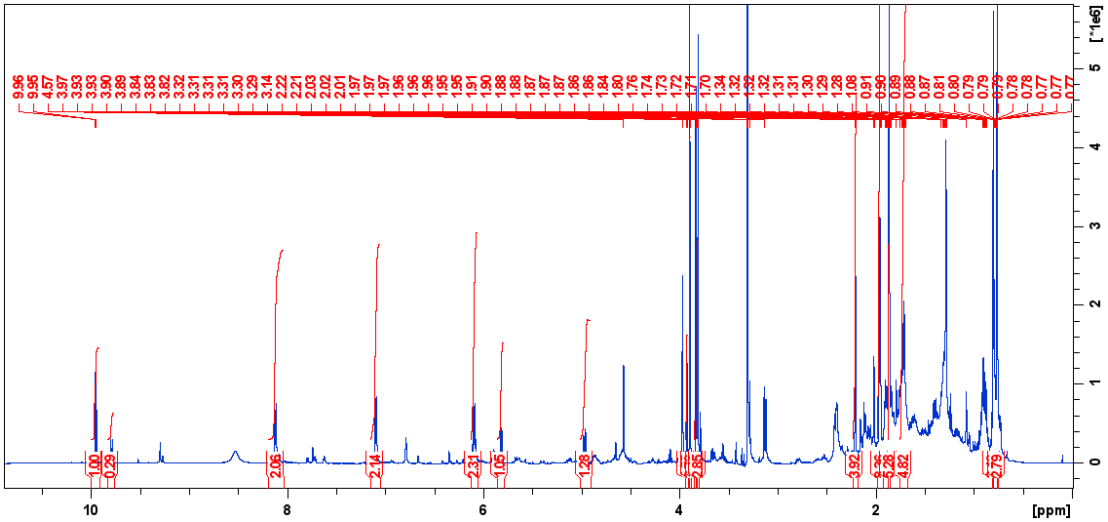


Figure 104 : Spectre RMN ^1H (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 11**.

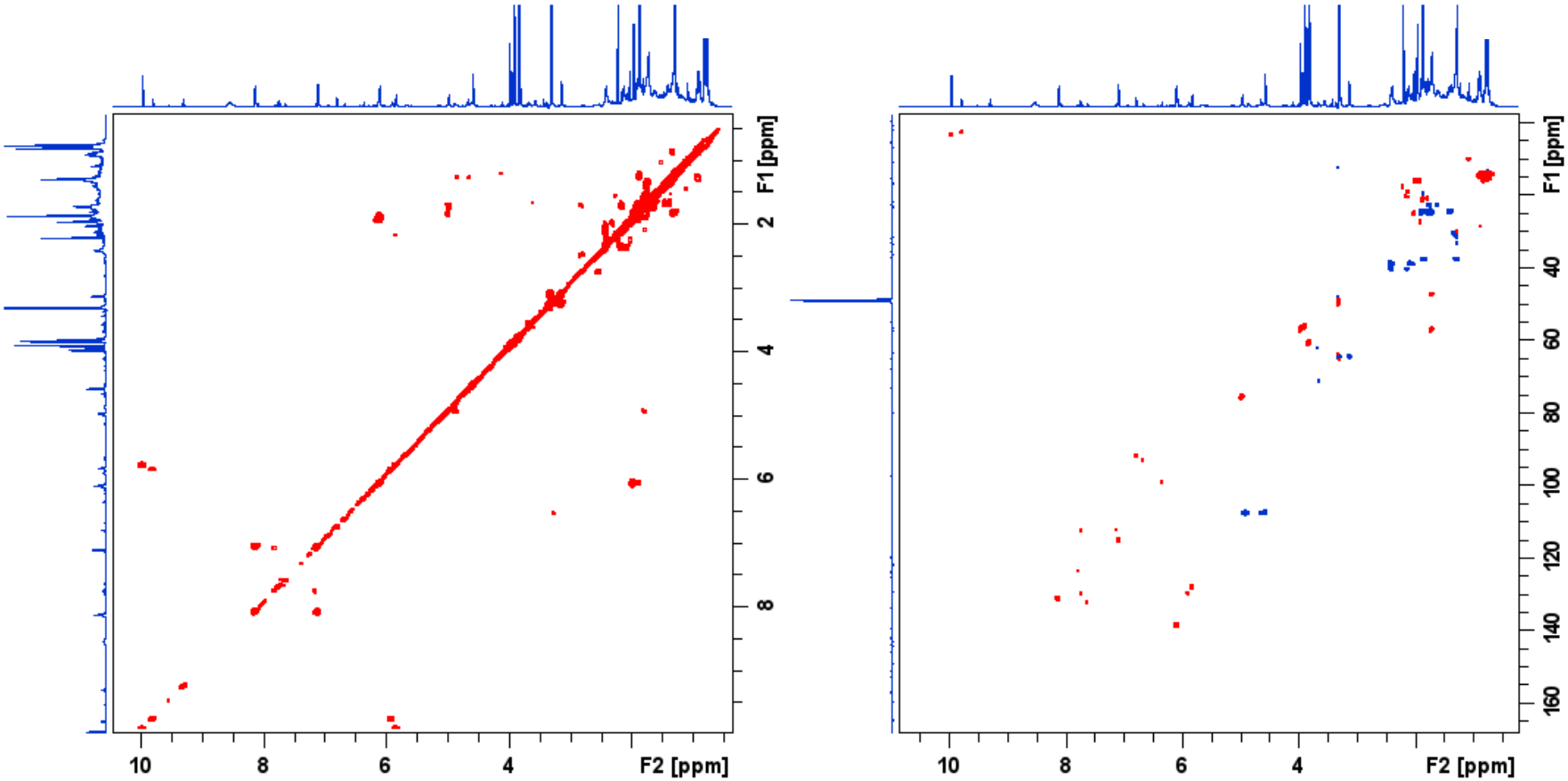


Figure 105 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 11**.

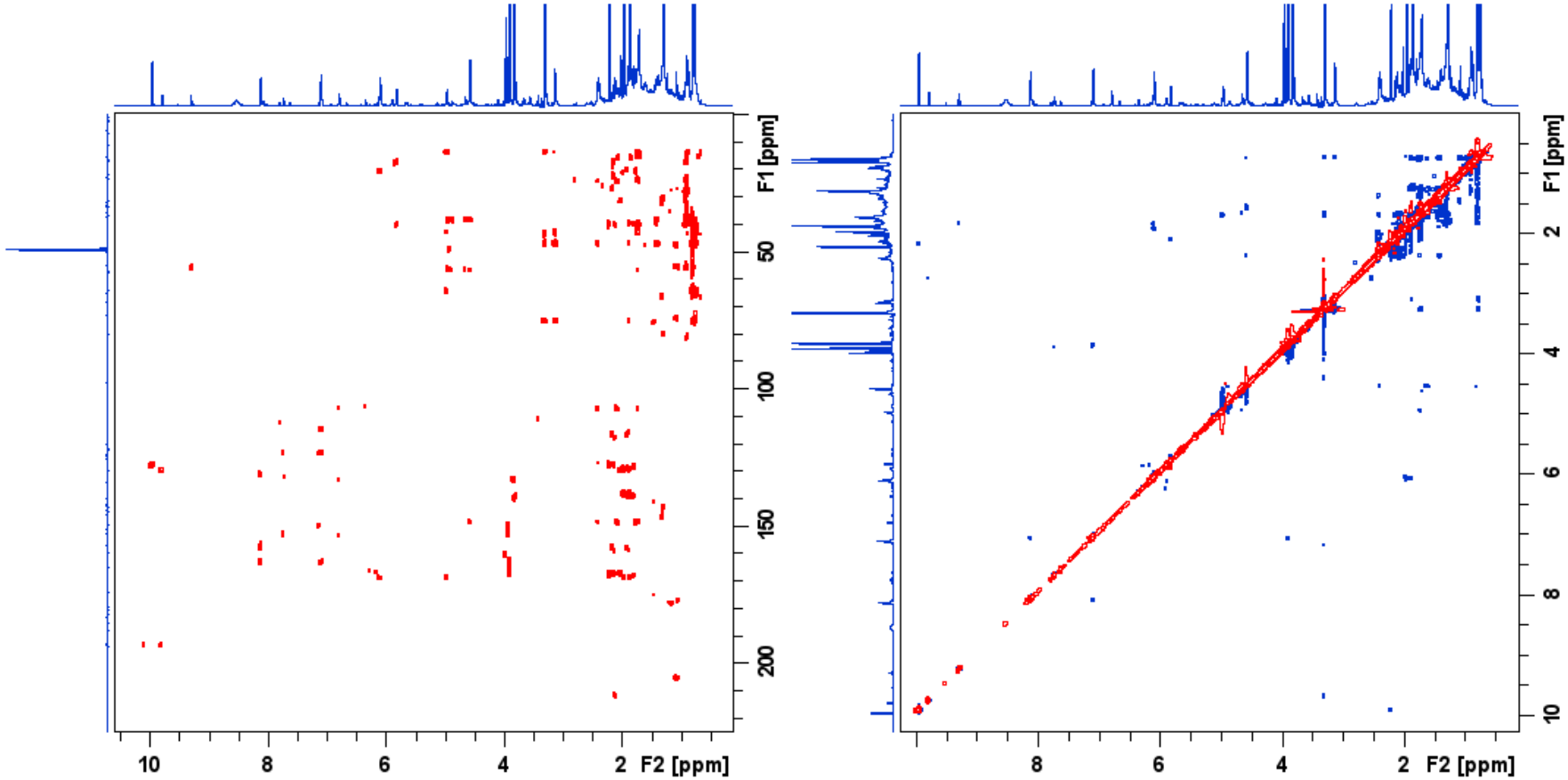
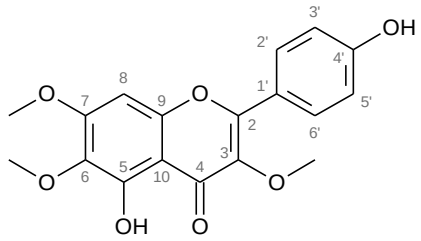


Figure 106 : Spectres ^{1}H-^{13}C HMBC (gauche) et ^{1}H-^{1}H NOESY (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 11**.

Annexe VIII. 10. Données spectrales du composé PDE 12



Pendulétine **(PDE 12)**

Tableau XXXII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de la pendulétine (Bai *et al.*, 2010) à ceux observés pour **PDE 12**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés ($CDCl_3$, 150 MHz)	Littérature (CD_3OD, 100 MHz)	Observés ($CDCl_3$, 600 MHz)	Littérature (CD_3OD, 400 MHz)
2	156,4	157,5	-	-
3	138,9	138,7	-	-
4	178,4	179,3	-	-
5	152,7	152,0	-	-
6	132,4	135,5	-	-
7	158,9	159,2	-	-
8	90,5	91,0	6,50 (s)	6,34 (s)
9	152,3	152,9	-	-
10	106,8	105,4	-	-
1’	123,2	121,5	-	-
2’, 6’	130,6	130,7	8,04 (d, *8,8*)	7,76 (d, *8,8*)
3’, 5’	115,8	116,0	6,97 (d, *8,8*)	6,71 (d, *8,8*)
4’	158,2	160,5	-	-
CH_3O-3	60,3	60,3	3,86 (s)	3,72 (s)
CH_3O-6	61,1	61,1	3,92 (s)	3,65 (s)
CH_3O-7	56,5	56,6	3,96 (s)	3,55 (s)

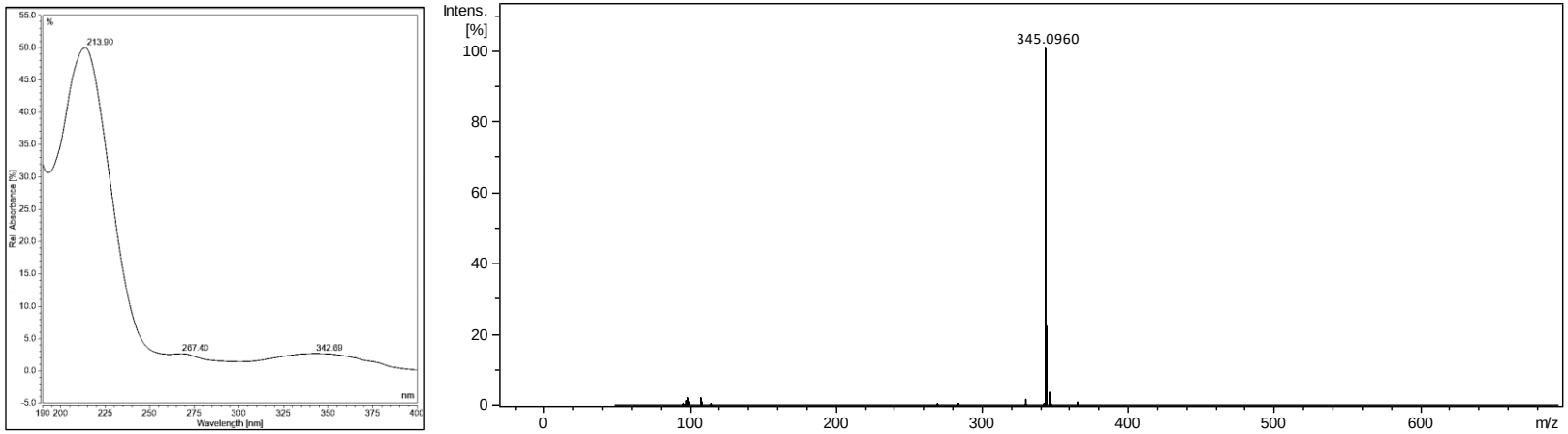


Figure 107 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI⁺) (droite) de **PDE 12**.

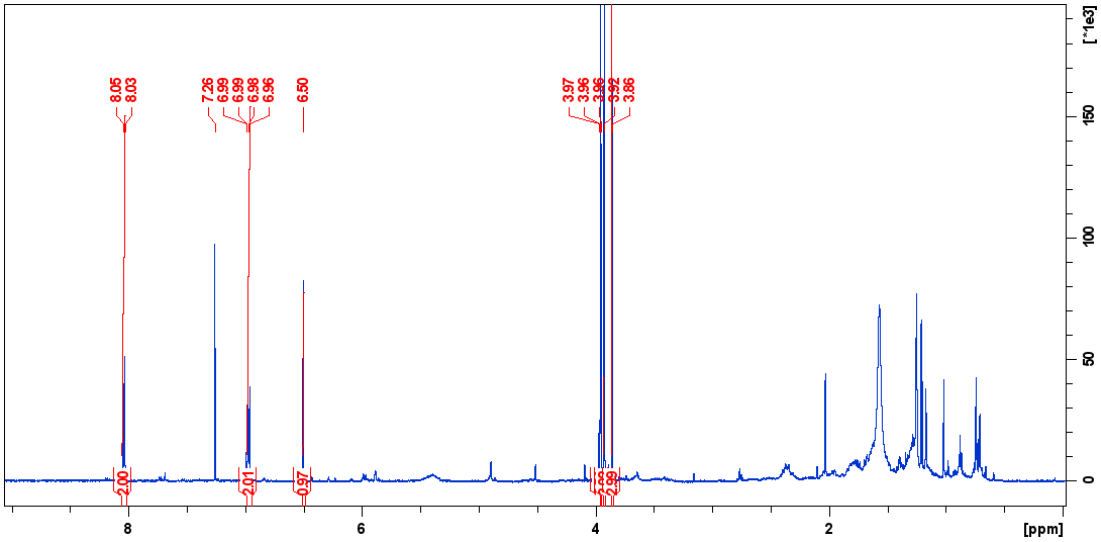


Figure 108 : Spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 12**.

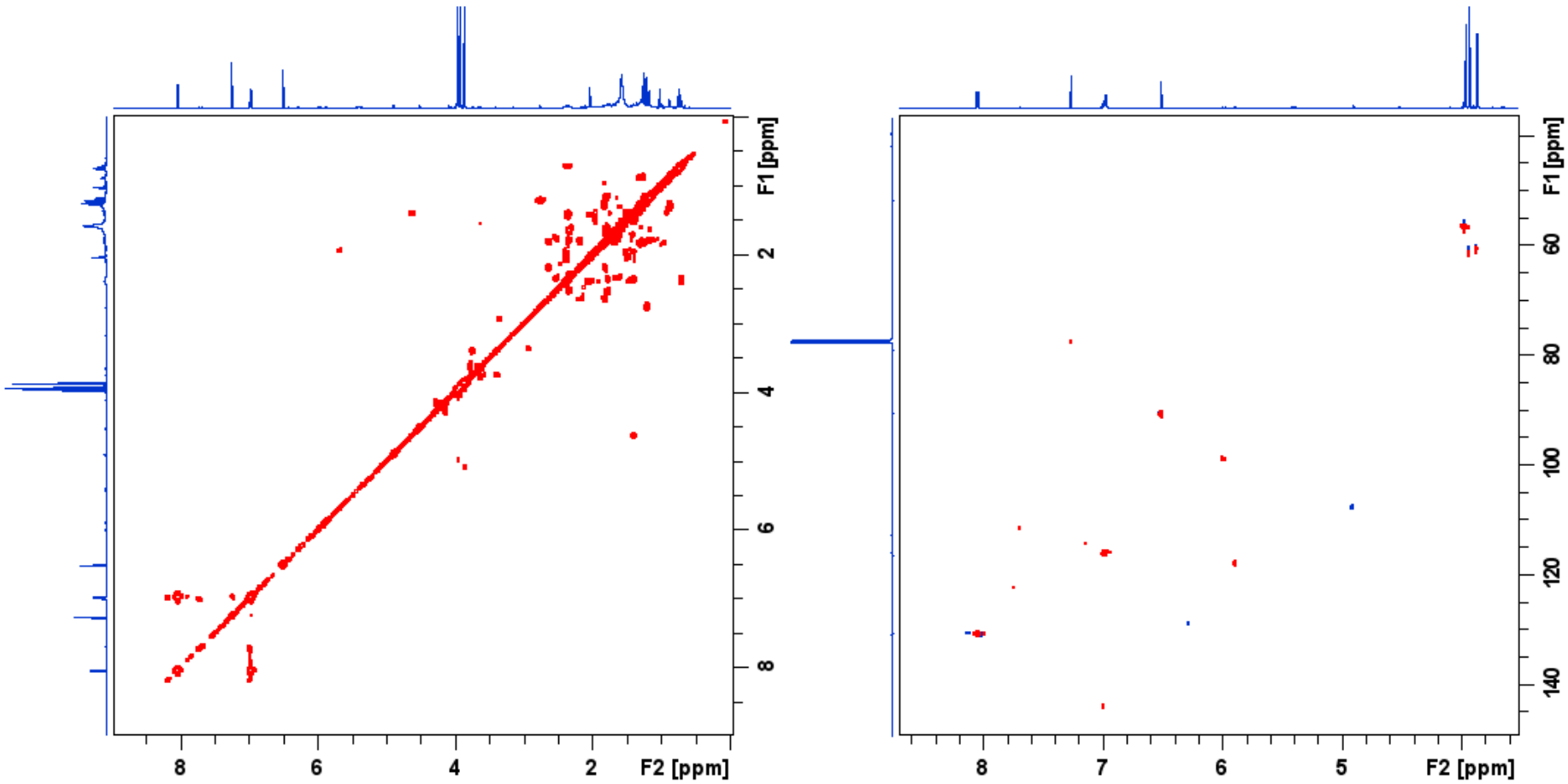


Figure 109 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 12**.

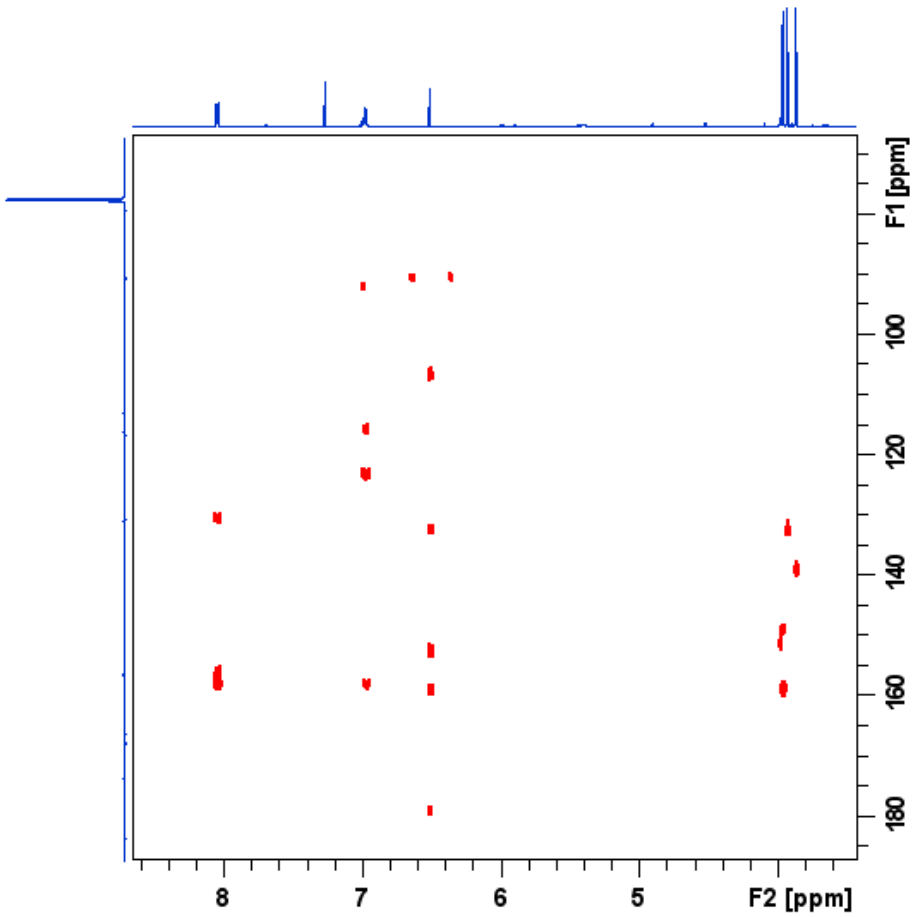
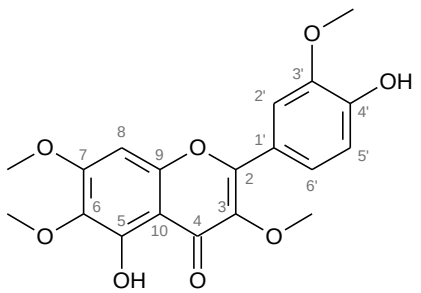


Figure 110 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 12**.

Annexe VIII. 11. Données spectrales des composés PDE 13 et PDE 14

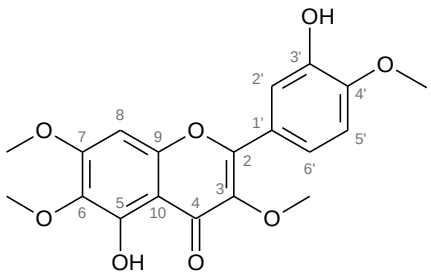
Tableau XXXIII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de la chrysosplénétine (Numonov *et al.*, 2013) à ceux observés pour **PDE 13**.



Chrysosplénétine **(PDE 13)**

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 100 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 400 MHz)
2	156,0	155,9	-	-
3	138,9	138,7	-	-
4	178,1	178,9	-	-
5	152,7	152,8	-	-
6	132,4	132,2	-	-
7	159,1	158,8	-	-
8	90,6	90,3	6,50 (s)	6,50 (s)
9	152,6	152,3	-	-
10	106,9	106,6	-	-
1’	122,8	122,4	-	-
2’	111,2	110,9	7,71 (d, *1,9*)	7,70 (d, *2,0*)
3’	146,7	146,4	-	-
4’	148,4	148,3	-	-
5’	114,8	114,6	7,05 (d, *8,5*)	7,04 (d, *8,4*)
6’	123,1	122,6	7,68 (dd, *8,4* ; *2,0*)	7,66 (dd, *8,4* ; *2,0*)
CH_3O-3	60,4	60,1	3,86 (s)	3,86 (s)
CH_3O-6	61,2	60,9	3,93 (s)	3,96 (s)
CH_3O-7	56,6	56,3	3,96 (s)	3,92 (s)
CH_3O-3’	56,4	56,1	3,99 (s)	3,97 (s)

Tableau XXXIV : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de la casticine (Brown *et al.*, 2003) à ceux observés pour **PDE 14**.



Casticine **(PDE 14)**

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 150 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 600 MHz)
2	156,0	155,7	-	-
3	138,9	139,0	-	-
4	178,1	179,0	-	-
5	152,7	152,7	-	-
6	132,4	132,3	-	-
7	159,1	158,8	-	-
8	90,6	90,4	6,51 (s)	6,51 (s)
9	152,6	152,4	-	-
10	106,9	106,6	-	-
1’	122,8	123,6	-	-
2’	114,4	114,4	7,66 (d, *2,0*)	7,68 (d, *2,3*)
3’	146,7	145,6	-	-
4’	148,4	148,8	-	-
5’	110,6	110,4	6,97 (d, *8,6*)	6,97 (d, *8,7*)
6’	123,1	121,6	7,74 (dd, *8,6* ; *2,2*)	7,73 (dd, *8,7* ; *2,3*)
CH_3O-3	60,4	60,2	3,87 (s)	3,87 (s)
CH_3O-6	61,2	60,9	3,92 (s)	3,93 (s)
CH_3O-7	56,6	56,3	3,96 (s)	3,96 (s)
CH_3O-4’	56,4	56,1	4,00 (s)	3,99 (s)

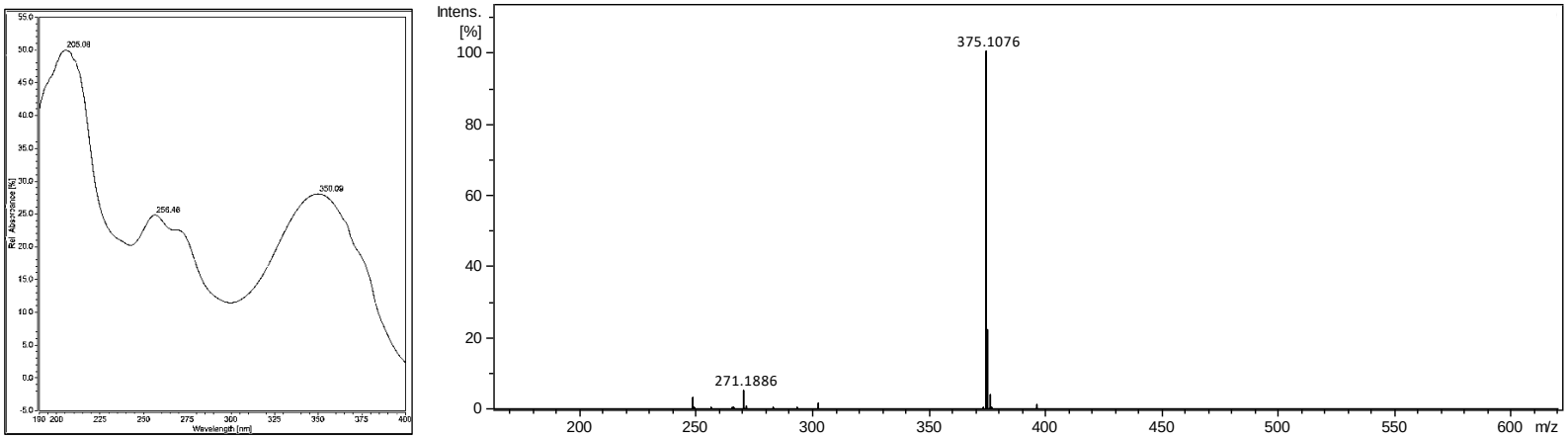


Figure 111 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 13** et **PDE 14**.

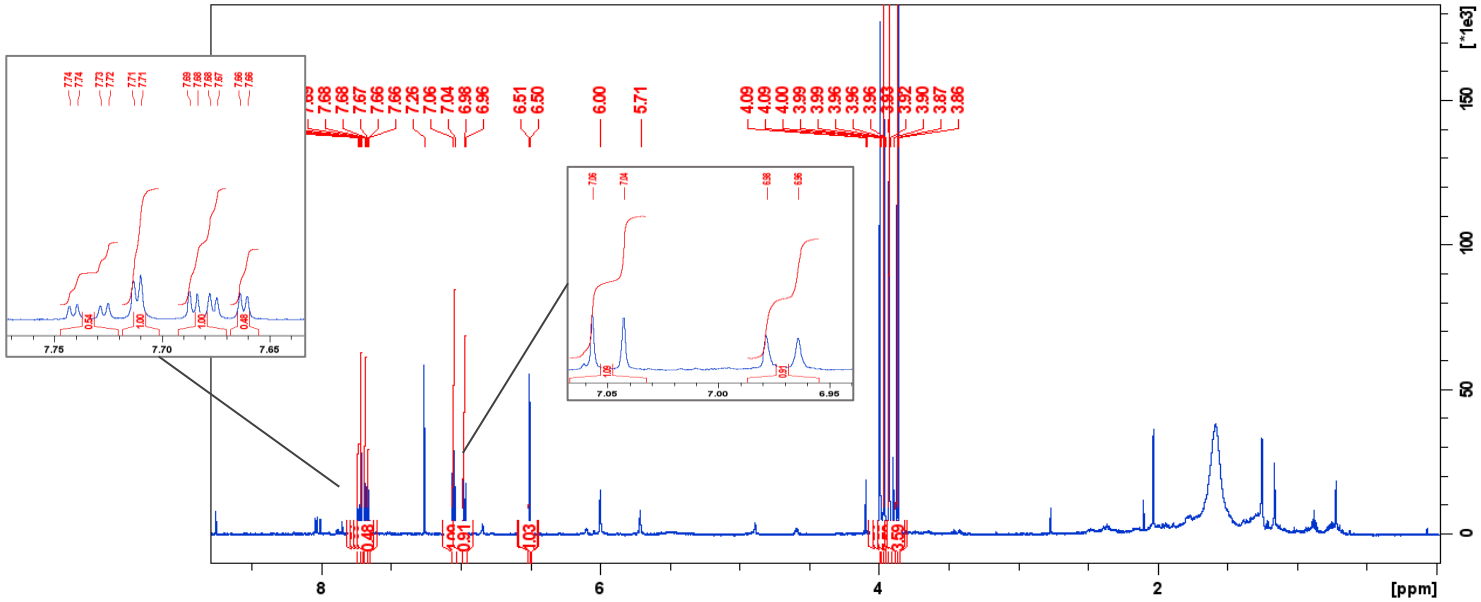


Figure 112 : Spectres RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 13** et **PDE 14**.

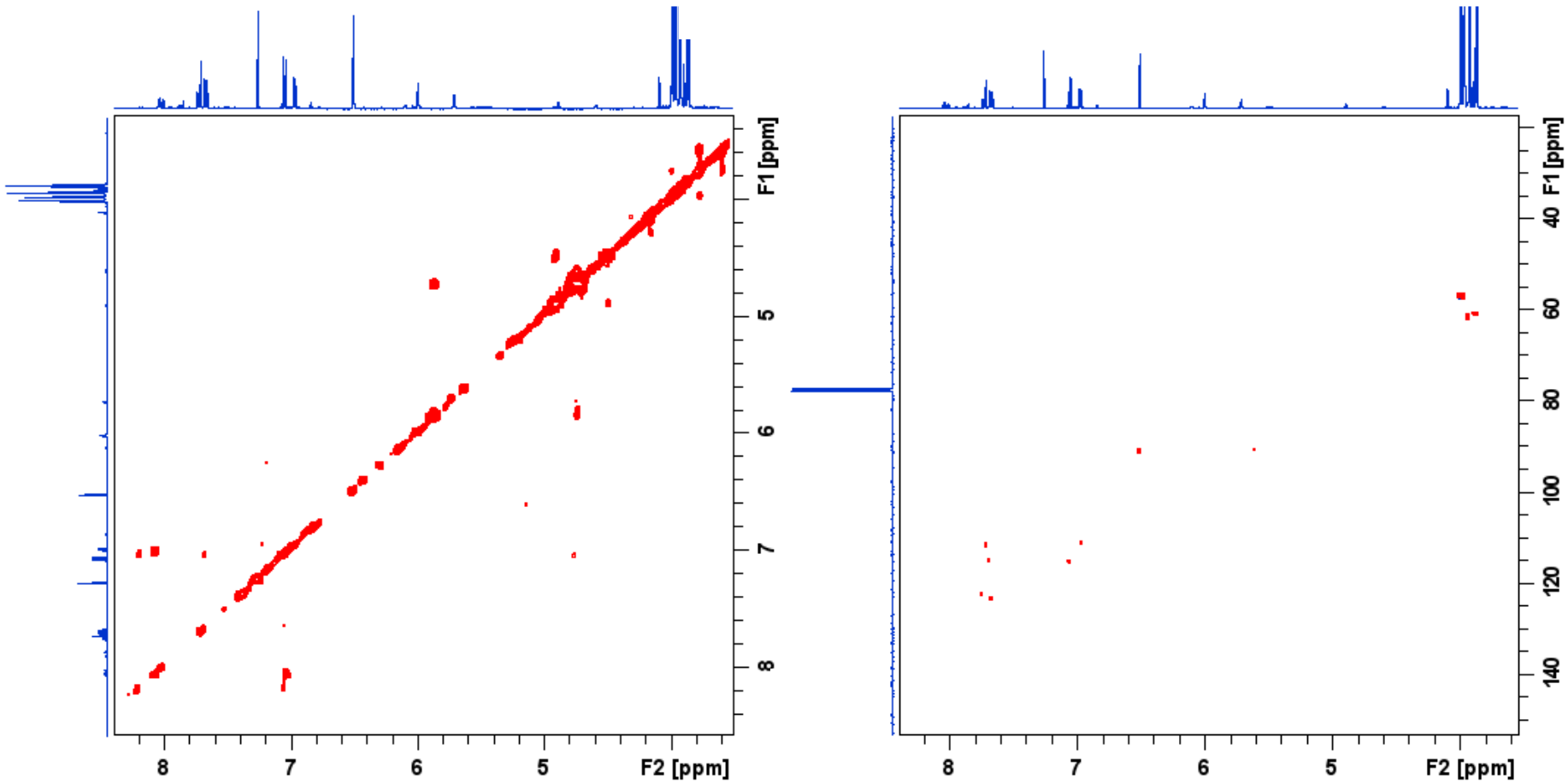


Figure 113 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 13** et **PDE 14**.

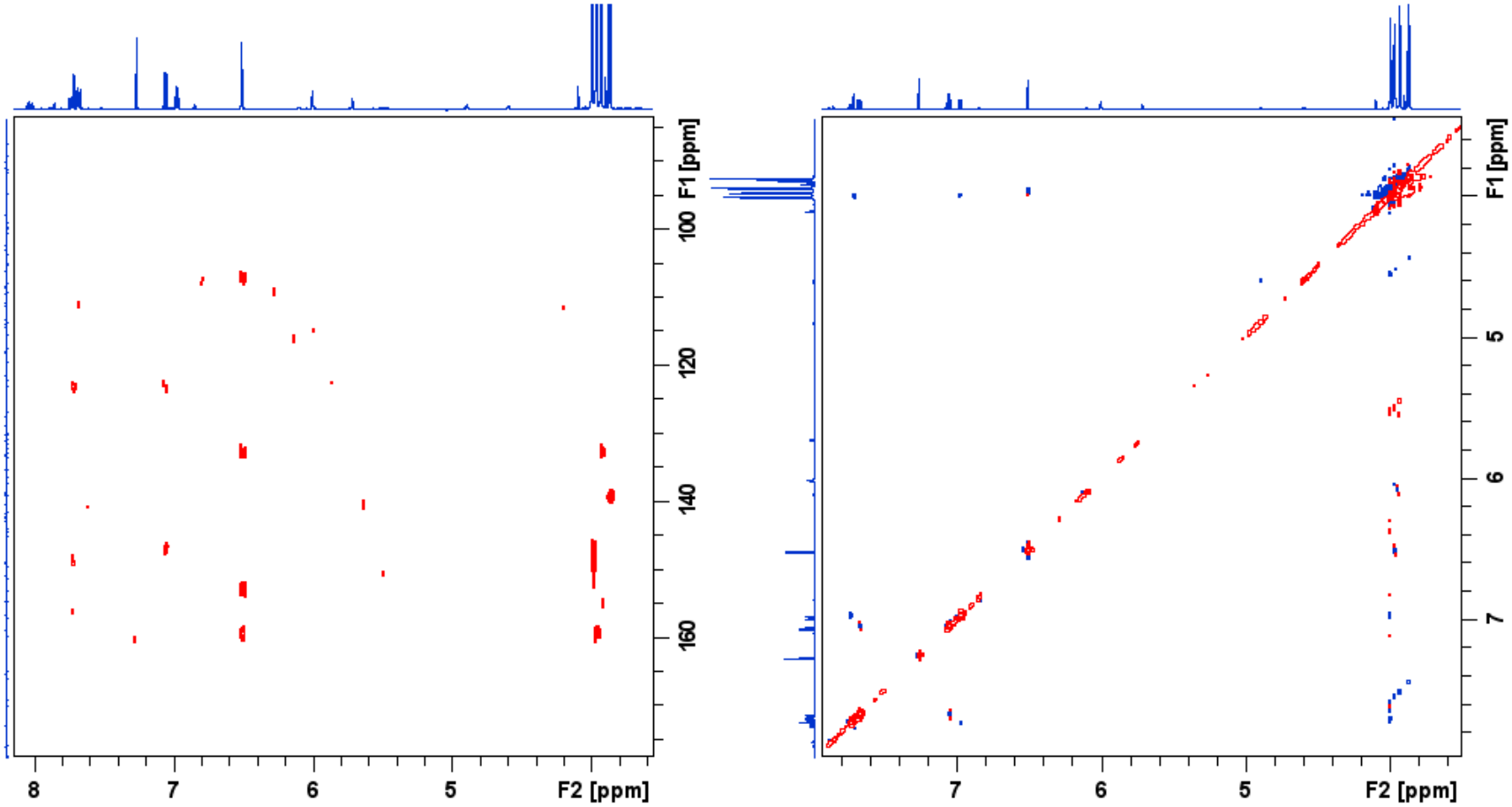
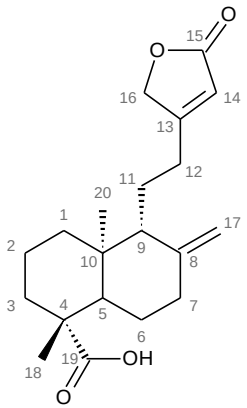


Figure 114 : Spectres ^{1}H-^{13}C HMBC (gauche) et ^{1}H-^{1}H NOESY (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 13** et **PDE 14**.

Annexe VIII. 12. Données spectrales du composé PDE 15

Tableau XXXV : Données RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 15** et comparaison avec l'acide *ent*-8(17),13-labdadién-15,16-olid-19-oïque (Zdero *et al.*, 1990).



Acide *ent*-8(17),13-labdadién-15,16-olid-19-oïque **(PDE 15)**

Position	δ_{13C}, en ppm	δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés ($CDCl_3$, 150 MHz)	Observés ($CDCl_3$, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 400 MHz)
1	38,2	1,14 (m) ; 1,79 (m)	1,81 (m) ; 1,05 (m)
2	18,5	1,64 (m)	1,53 (m)
3	37,1	1,66 (m) ; 1,79 (m)	2,18 (dd, *12,0* ; *2,0*) ; 1,05 (m)
4	47,5	-	-
5	49,7	1,96 (dd, *12,4* ; *2,8*)	1,29 (dd, *12,0* ; *3,0*)
6	26,9	1,39 (dm, *12,9*) ; 1,49 (dd, *12,8* ; *4,3*)	2,00 (dq, *12,0 ; 3,0*) ; 1,78 (m)
7	37,9	2,04 (m) ; 2,38 (dq, *12,8* ; *2,2*)	1,88 (dt, *12,0* ; *3,0*) ; 2,42 (dt, *12,0* ; *3,0*)
8	147,3	-	-
9	56,4	1,74 (m)	1,61 (tl, *3,0*)
10	39,2	-	-
11	21,3	1,66 (m) ; 1,78 (m)	1,64 (m) ; 1,81 (m)
12	27,6	2,25 (m) ; 2,56 (m)	2,55 (m) ; 2,77 (m)
13	171,0	-	-
14	115,3	5,86 (q, *1,5*)	5,85 (t, *1,5*)
15	174,1	-	-
16	73,3	4,70 (dd, *17,4* ; *1,3*) ; 4,75 (dd, *17,4* ; *1,3*)	4,70 (dd, *16,0* ; *1,5*) ; 4,75 (d, *16,0*)
17	107,4	4,48 (sl) ; 4,90 (sl)	4,46 (sl) ; 4,91 (sl)
18	14,8	0,73 (s)	0,63 (s)
19	182,9	-	-
20	16,5	1,16 (s)	1,24 (s)

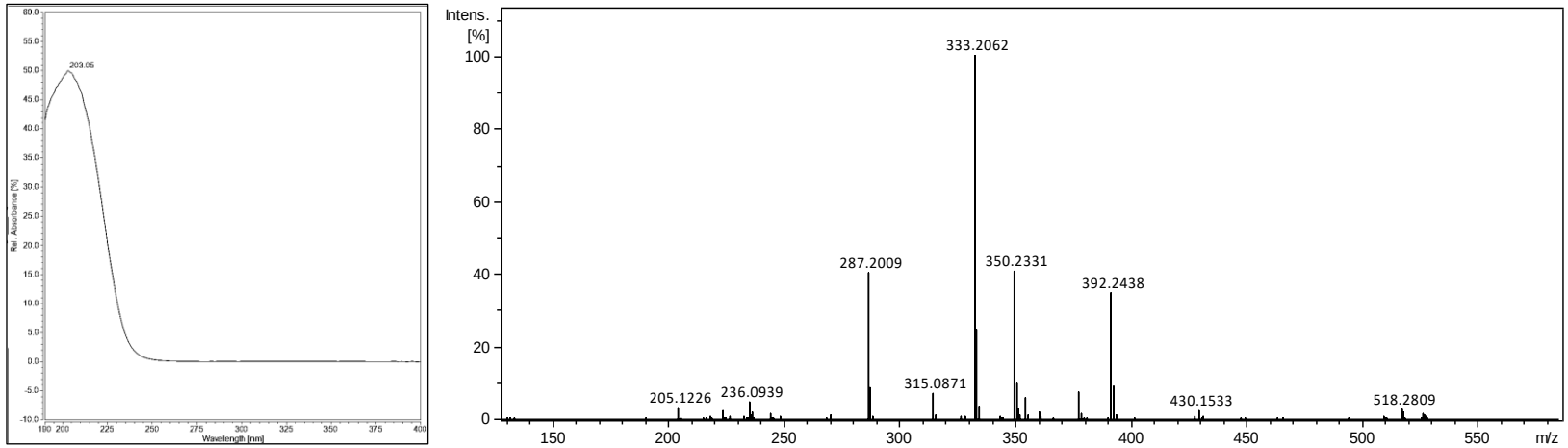


Figure 115 : Spectre UV (gauche) et de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) de **PDE 15**.

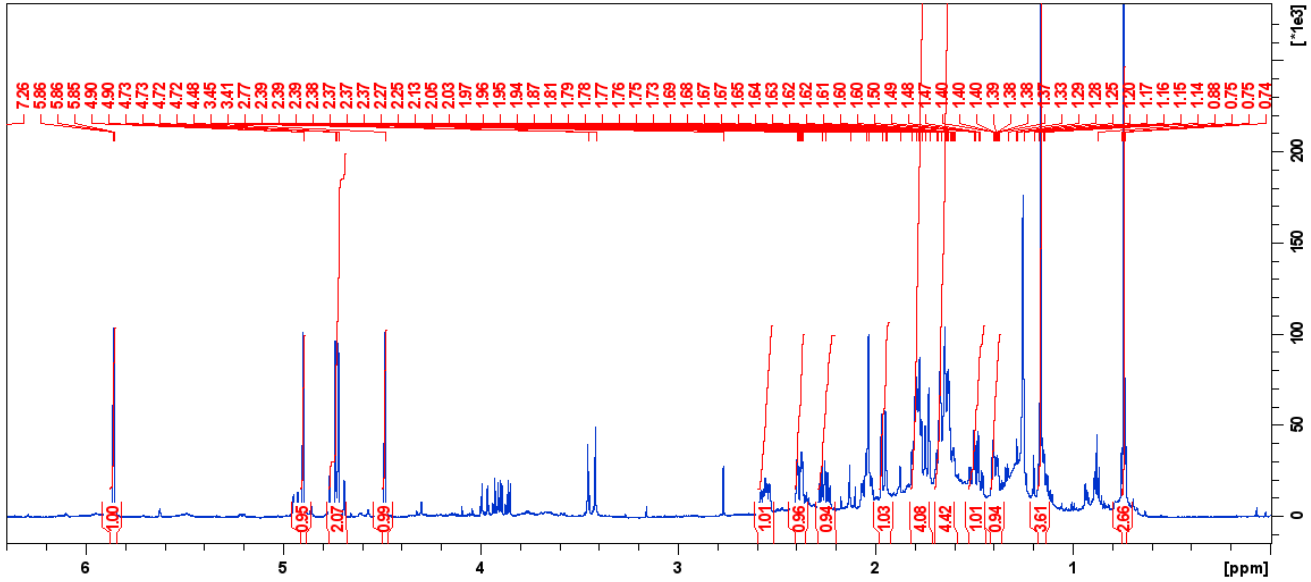


Figure 116 : Spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 15**.

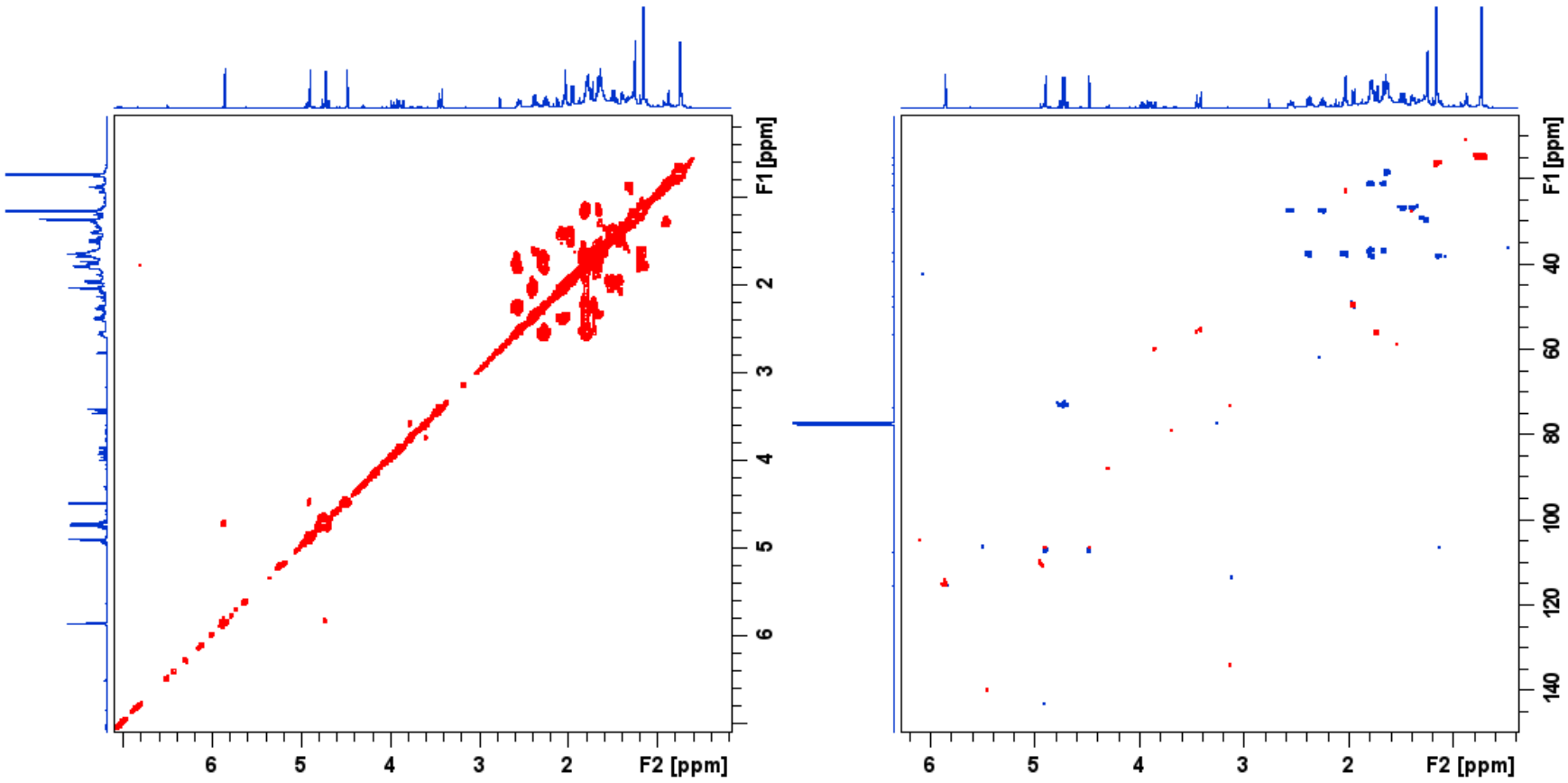


Figure 117 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 15**.

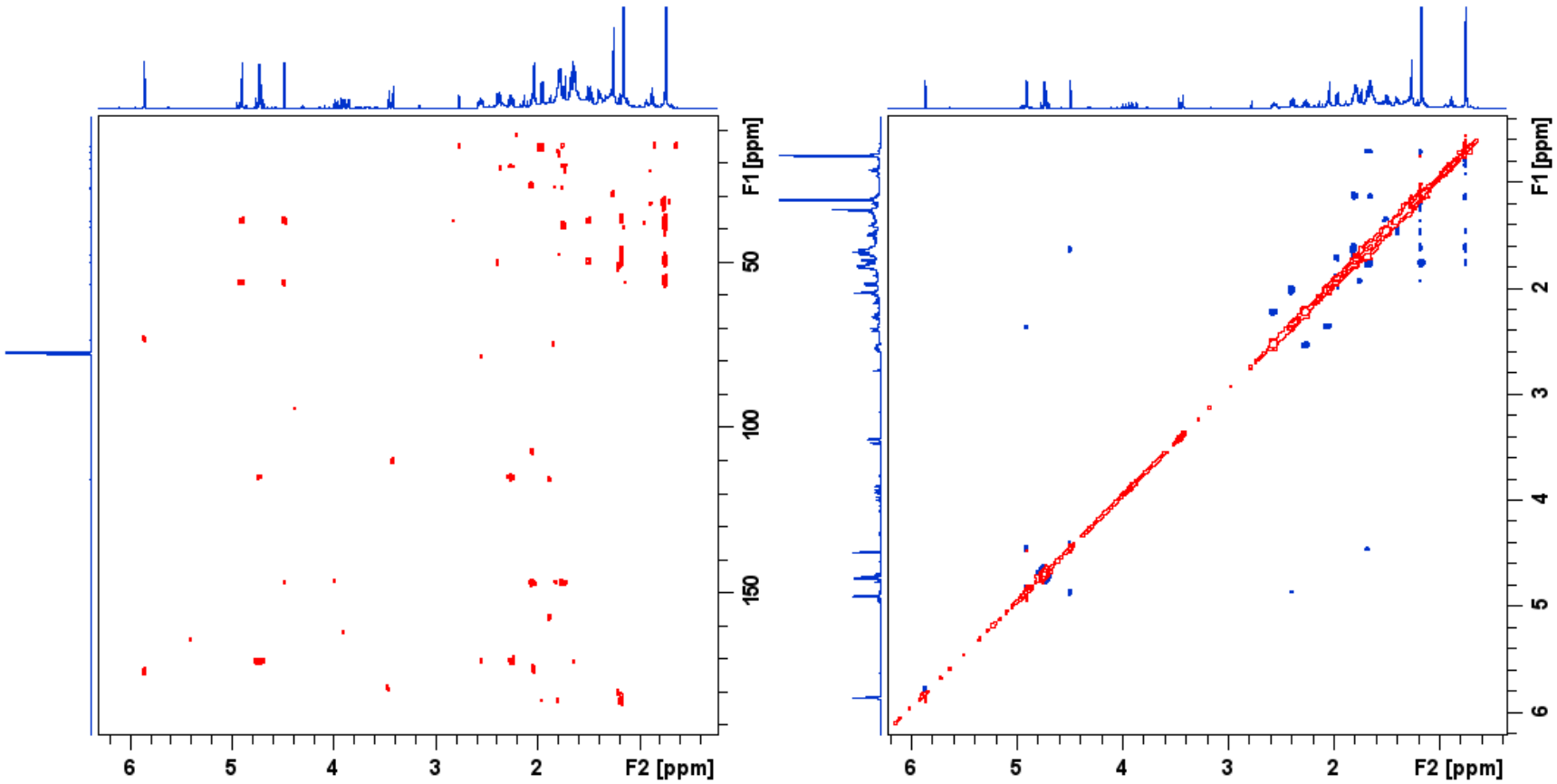
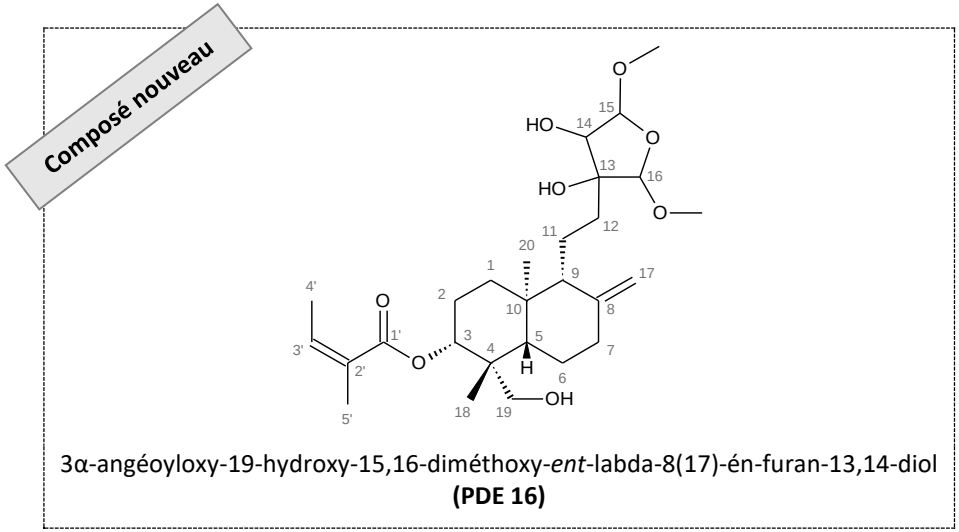


Figure 118 : Spectres ^{1}H-^{13}C HMBC (gauche) et ^{1}H-^{1}H NOESY (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 15**.

Annexe VIII. 13. Données spectrales du métabolite PDE 16



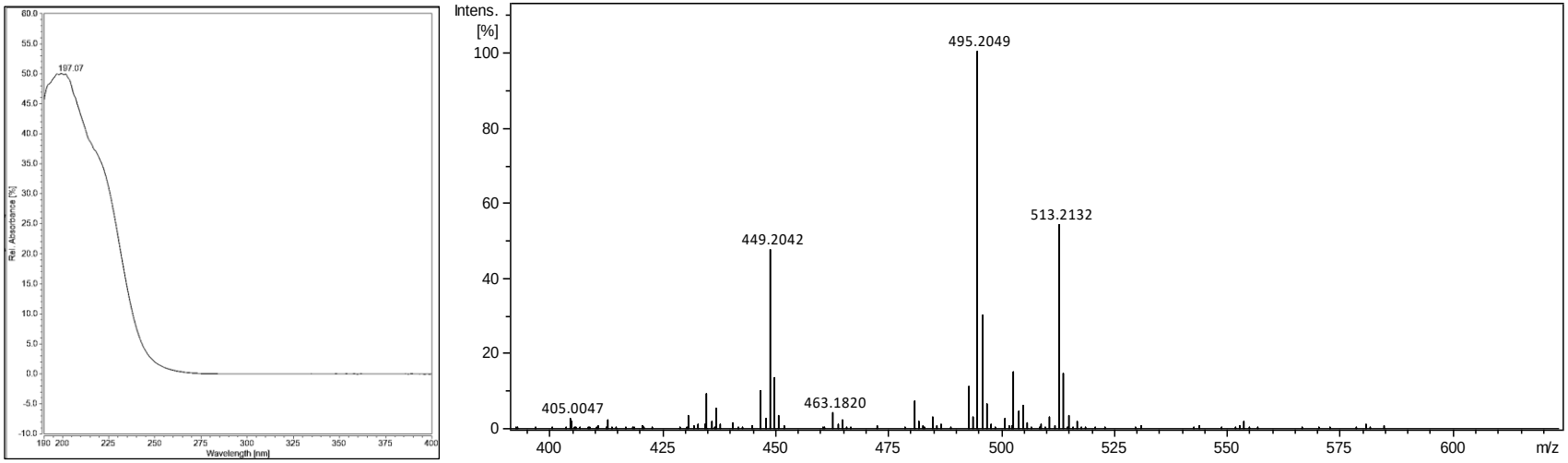


Figure 119 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode négatif (ESI$^-$) (droite) de **PDE 16**.

Tableau XXXVI : Données RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 16** et comparaison avec le conyzanol A (Maniruddin & Ahmed, 1990).

Position	δ_{13C}, en ppm	δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	Observés ($CDCl_3$, 150 MHz)	Observés ($CDCl_3$, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 400 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	36,8	1,28 (m) ; 1,82 (m)	*dm**	H2	-
2	24,5	1,70 (m) ; 1,90 (m)	*dm**	H1, H3	-
3	74,4	5,00 (dd, *12,1* ; *4,5*)	*dm**	H2	C2, C4, C5, C18, C19, C1’
4	43,0	-	-	-	-
5	46,3	1,74 (m)	*dm**	H6	C3,C6, C9, C10, C18, C20
6	23,4	1,37 (m) ; 1,74 (m)	*dm**	H5, H7	C7, C10
7	37,8	2,06 (tdl, *12,9* ; *4,6*) ; 2,38 (dddl, *12,9* ; *4,2* ; *2,3*)	*dm**	H6	C6, C8, C9, C17
8	147,8	-	-	-	-
9	57,0	1,66 (m)	*dm**	H11	C8, C10, C11, C17, C20
10	39,3	-	-	-	-
11	24,5	1,73 (m) ; 1,90 (m)	*dm**	H9, H12	C8, C12
12	32,8	1,46 (m) ; 1,82 (m)	*dm**	H11	C11, C13, C16
13	81,5	-	-	-	-
14	80,4	3,95 (dl, *3,6*)	3,94 (dl)	H15	C12, C15, C16
15	110,7	4,90 (dl, *3,6*)	4,90 (dl, *3,0*)	H14	C14, C16, $\underline{C}H_3O$-15
16	109,0	4,75 (s)	4,75 (sl)	-	C13, C14, C15, $\underline{C}H_3O$-16
17	107,3	4,58 (sl) ; 4,84 (sl)	4,55 (s) ; 4,84 (s)	-	C7, C8, C9
18	13,0	0,68 (s)	1,19 (s)	-	C3, C4, C5, C19
19	64,9	2,92 (dl, *12,5*) ; 3,34 (dl, *12,5*)	-	-	C3, C4, C5, C18
20	15,3	0,76 (s)	0,52 (s)	-	C1, C5, C9, C10
1’	169,2	-	-	-	-
2’	127,9	-	-	-	-
3’	138,9	6,11 (qql, *7,2* ; *1,4*)	-	H4’,H5’	C1’, C2’, C4’, C5’
4’	16,0	1,99 (dq, *7,2* ; *1,4*)	-	H3’	C2’, C3’
5’	20,8	1,88 (qtl, *1,4*)	-	H3’	C1’, C2’, C3’
HO-13	-	2,44 (sl)	-	-	-
HO-14	-	2,56 (sl)	-	-	-
CH_3O-15	56,5	3,47 (s)	3,47 (s)	-	C15
CH_3O-16	55,4	3,40 (s)	3,40 (s)	-	C16

dm : donnée manquante*

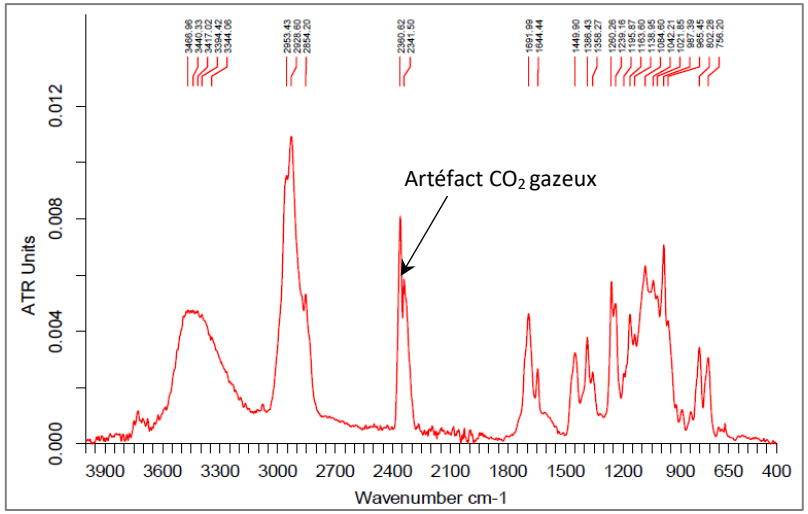


Figure 120 : Spectre IRTF de **PDE 16**.

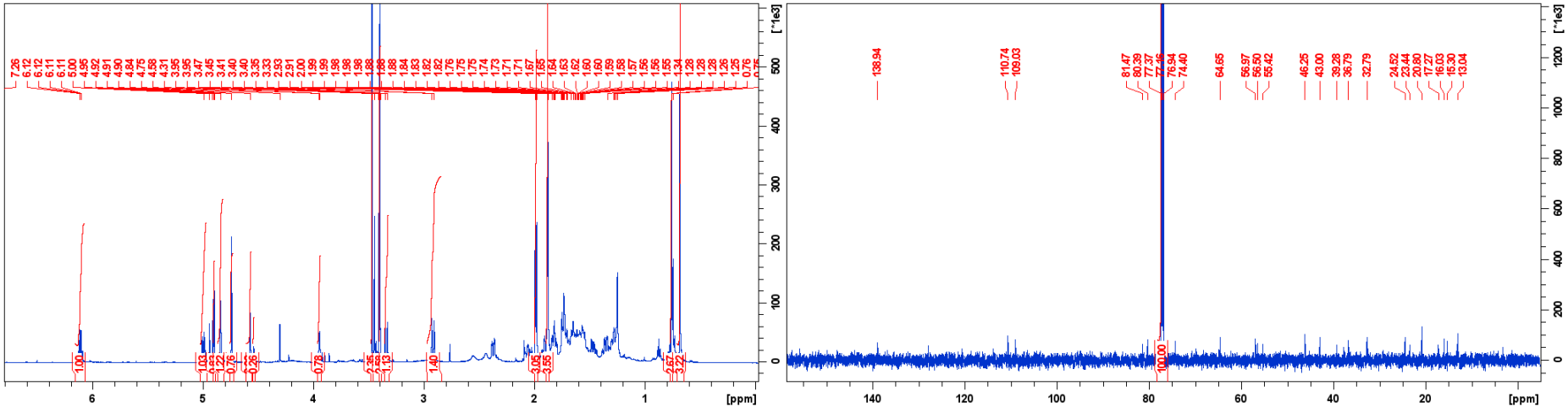


Figure 121 : Spectres RMN ^{1}H (gauche) et RMN ^{13}C (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 16**.

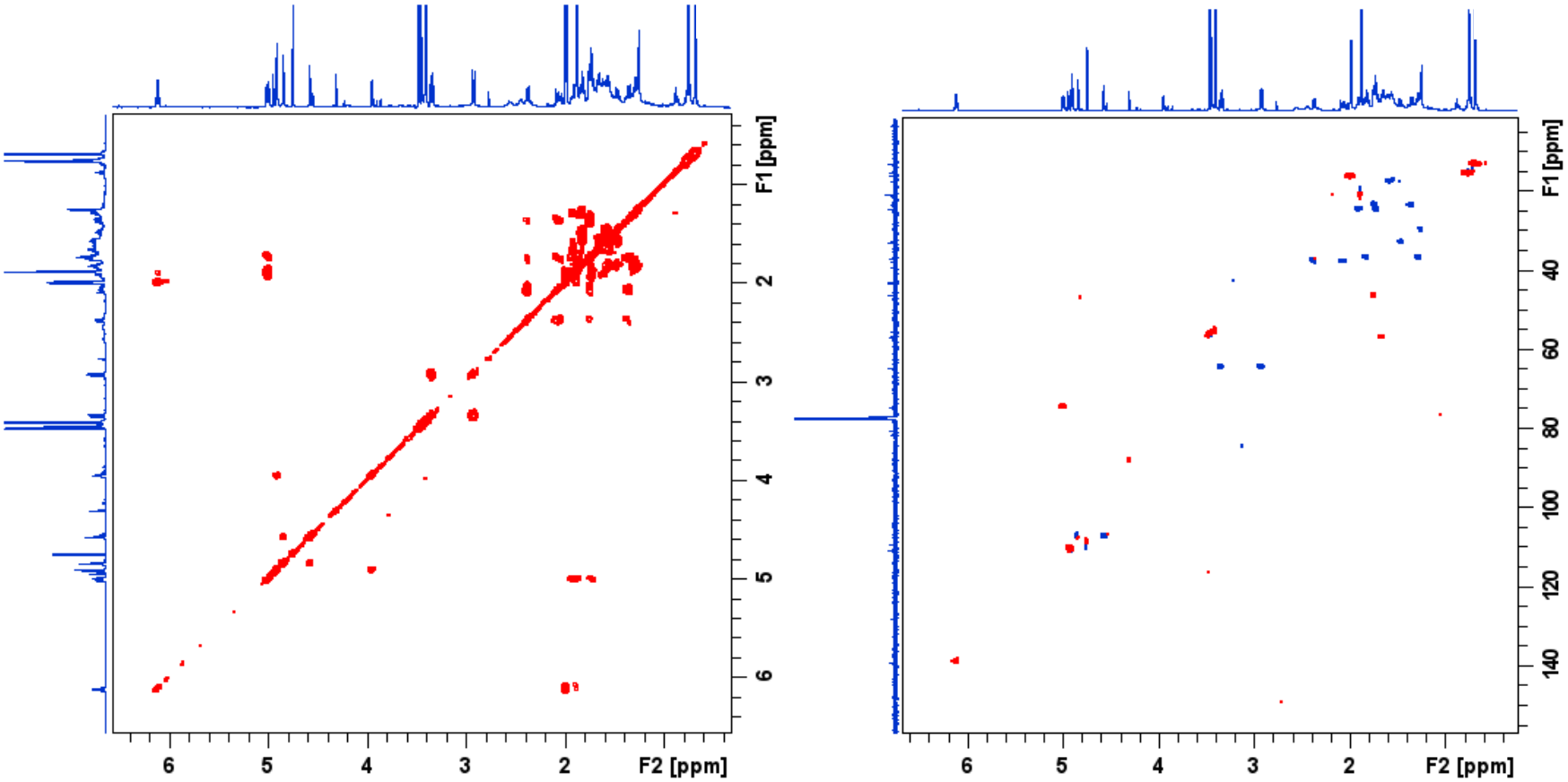


Figure 122 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 16**.

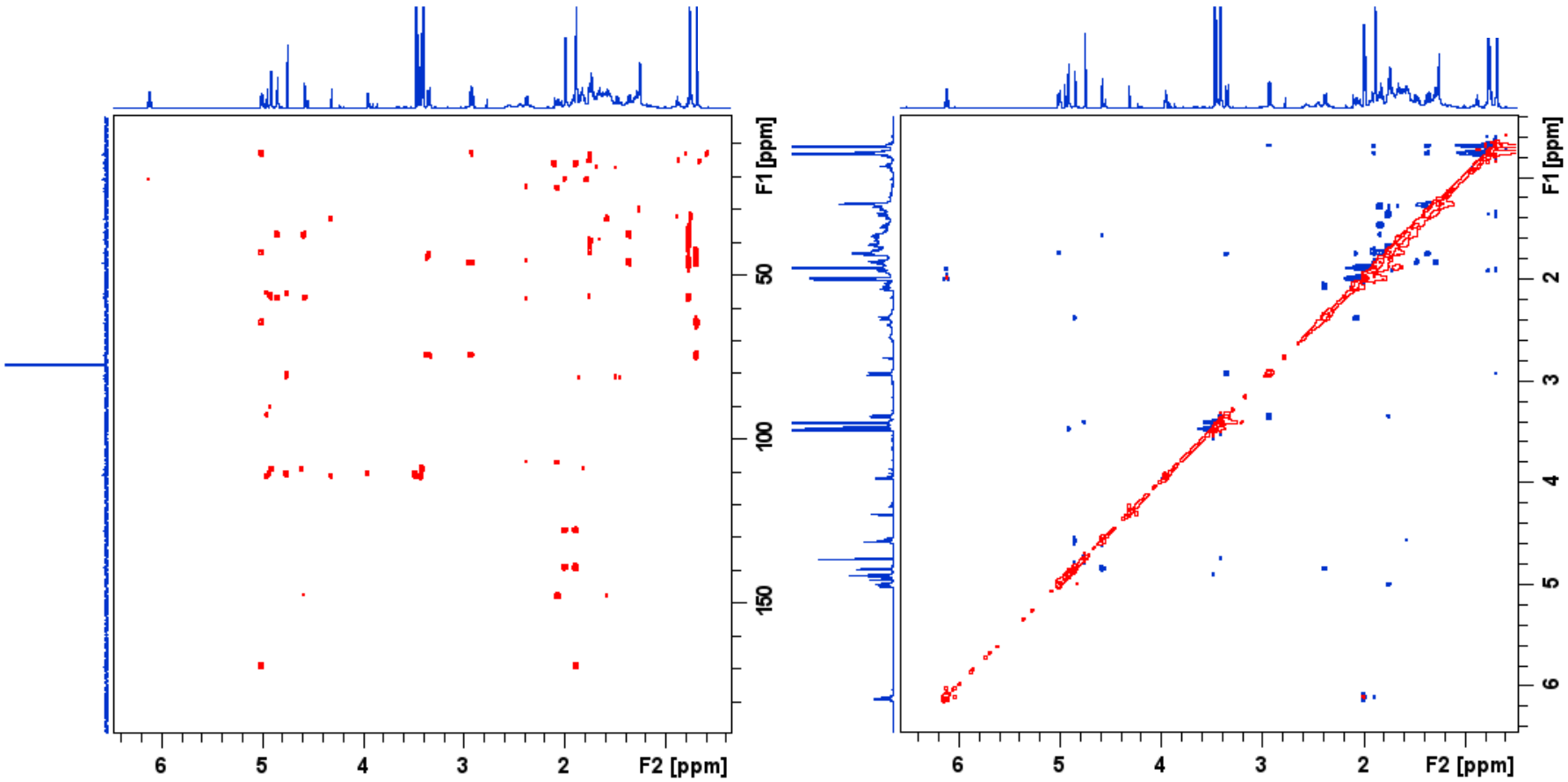
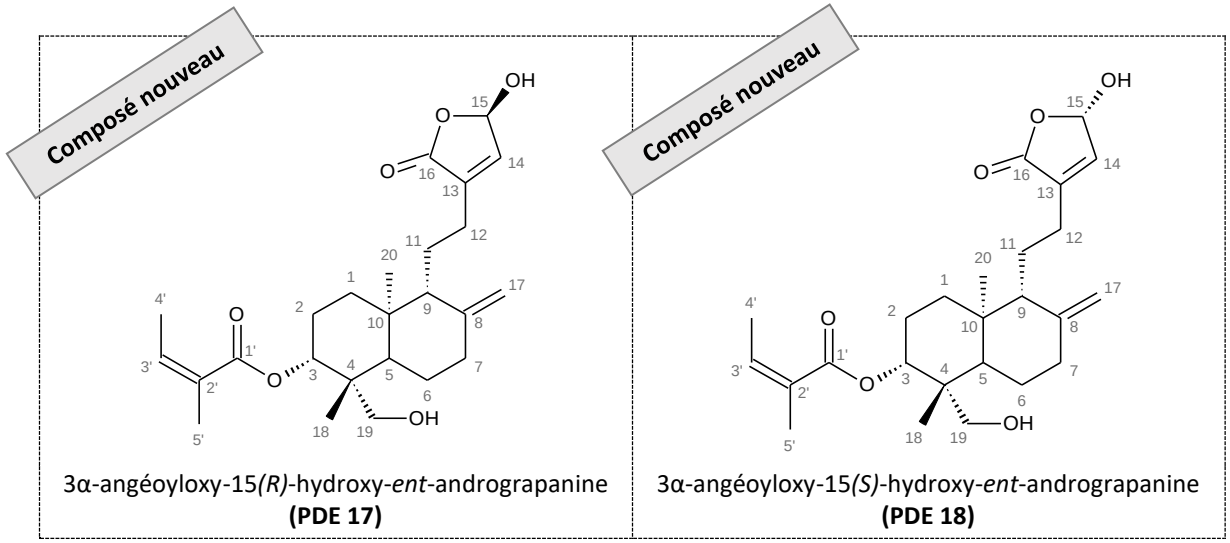
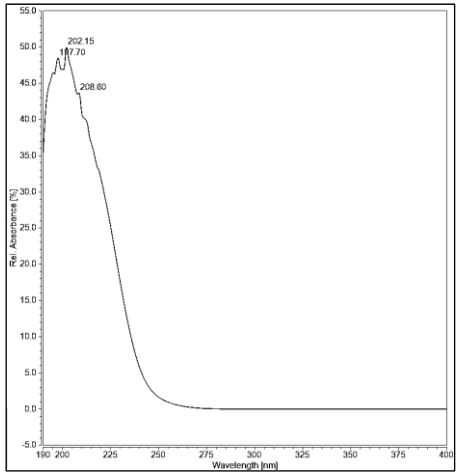


Figure 123 : Spectres ^{1}H-^{13}C HMBC (gauche) et ^{1}H-^{1}H NOESY (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 16**.

Annexe VIII. 14. Données spectrales des métabolites PDE 17 et PDE 18





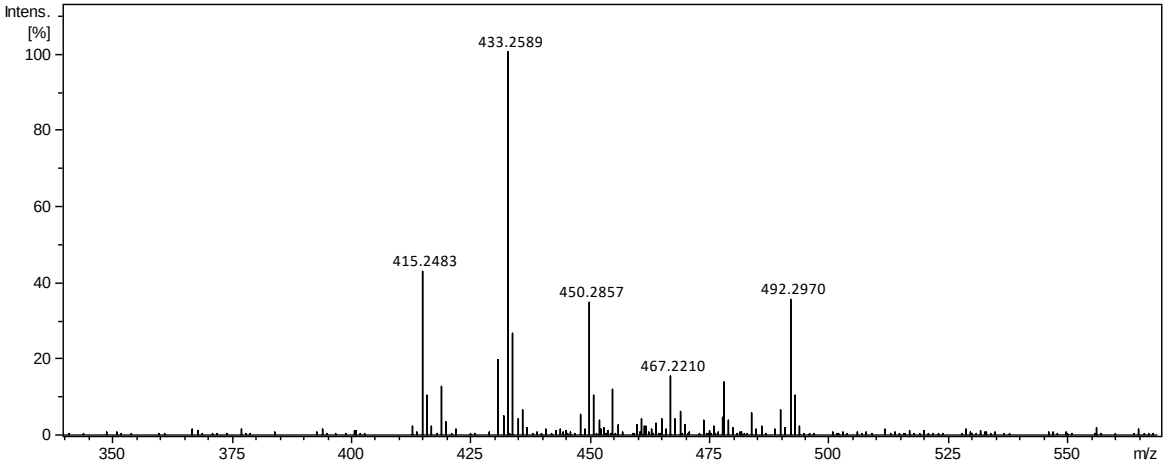


Figure 124 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 17 et PDE 18**.

Tableau XXXVII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de la coronarine C (Itokawa *et al.*, 1988) à ceux observés pour **PDE 17** et **PDE 18**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	(PDE 17, PDE 18) ($CDCl_3$, 150 MHz)	Coronarine C ($CDCl_3$, 100 MHz)	(PDE 17, PDE 18) ($CDCl_3$, 600 MHz)	Coronarine ($CDCl_3$, 400 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	36,8	39,2	1,26 (m) ; 1,82 (m)	*dm**	-	C2, C3, C10, C20
2	23,3	19,4	1,71 (m) ; 1,89 (m)	*dm**	H3	C1, C3, C10
3	74,4	42,2	4,97 (dt, *11,9* ; *4,5*)	*dm**	H2	C1, C2, C4, C18, C19, C1’
4	42,9	33,6	-	-	-	-
5	46,1	55,6	1,74 (m)	*dm**	H6	C4, C9, C18, C19
6	23,1	24,4	1,36 (m) ; 1,73 (m)	*dm**	H5, H7	C4, C5, C7
7	37,6	38,3	2,08 (m) ; 2,39 (dm, *12,4*)	*dm**	H6	C5, C6, C8, C9, C17
8	147,2	148,0	-	-	-	-
9	55,6 ; 55,7	56,5	1,73 (m)	*dm**	H11	C7, C8, C10, C17, C20
10	39,1	39,8	-	-	-	-
11	21,6 ; 21,7	24,5	1,64 (m) ; 1,74 (m)	*dm**	H9, H12	C9
12	24,3 ; 24,4	21,6	2,16 (m) ; 2,46 (m)	2,13 (m) ; 2,49 (m)	H11	C9, C11, C13, C14, C15
13	138,5 ; 138,6	139,1	-	-	-	-
14	143,6	142,7	6,85 (m)	6,83 (d, *1,4*)	H15	C12, C13, C15
15	96,9 ; 97,0	96,5	6,08 (dt, *6,3* ; *1,9*)	6,08 (sl)	H14	C13, C16
16	171,8 ; 172,0	171,4	-	-	-	-
17	107,3	106,6	4,58 (d, *3,5*) ; 4,89 (sl)	4,54 (s) ; 4,86 (s)	-	C7, C8, C9
18	13,0	21,7	0,68 (s)	0,69	-	C3, C4, C5, C19
19	64,5	33,6	2,91 (d, *12,6*) ; 3,36 (d, *12,6*)	0,80	-	C3, C4, C5, C18
20	15,3	16,7	0,75 (s)	0,87	-	C1, C5, C9, C10
1’	169,3	-	-	-	-	-
2’	127,7	-	-	-	-	-
3’	139,3	-	6,11 (ddq, *14,2* ; *7,1* ; *1,3*)	-	H4’	C1’, C4’, C5’
4’	16,1	-	1,98 (dq, *7,4* ; *1,6*)	-	H3’	C2’, C3’
5’	20,8	-	1,88 (m)	-	-	C1’, C2’, C3’

dm : donnée manquante*

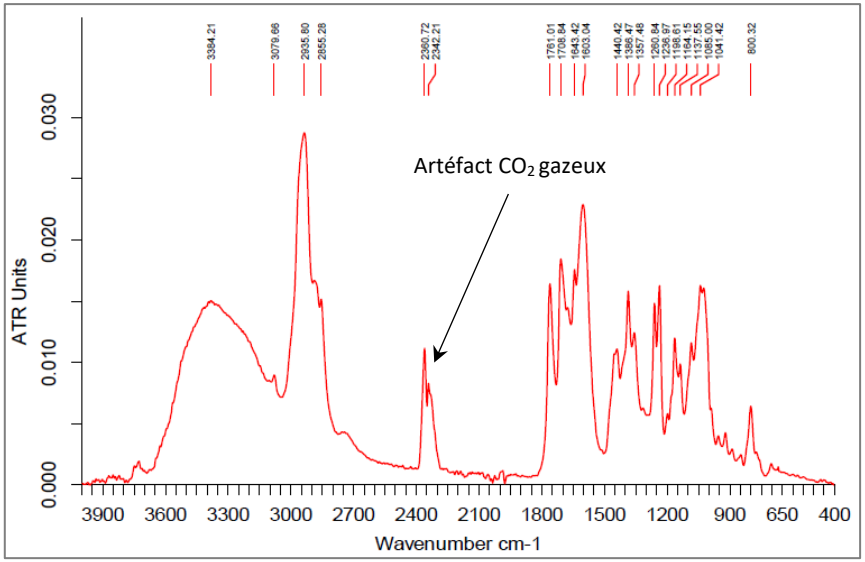


Figure 125 : Spectre IRTF de **PDE 17** et **PDE 18**.

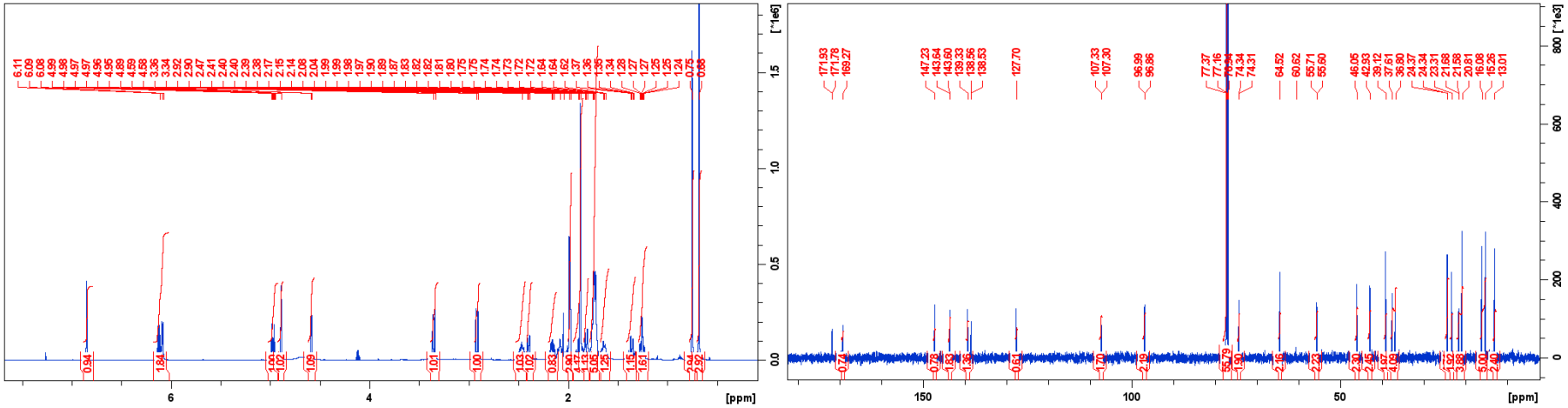


Figure 126 : Spectres RMN ^{1}H (gauche) et RMN ^{13}C (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 17** et **PDE 18**.

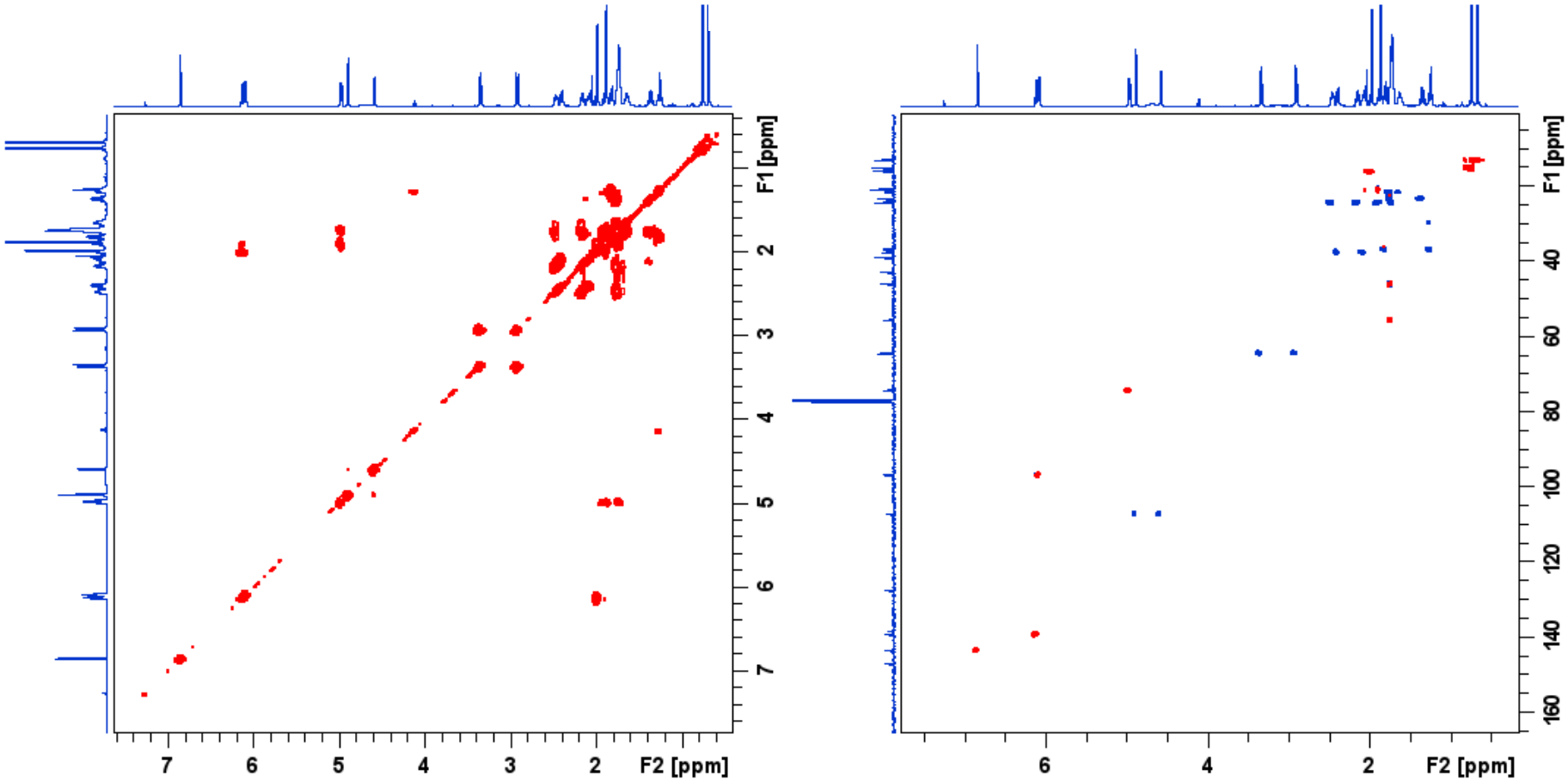


Figure 127 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 17** et **PDE 18**.

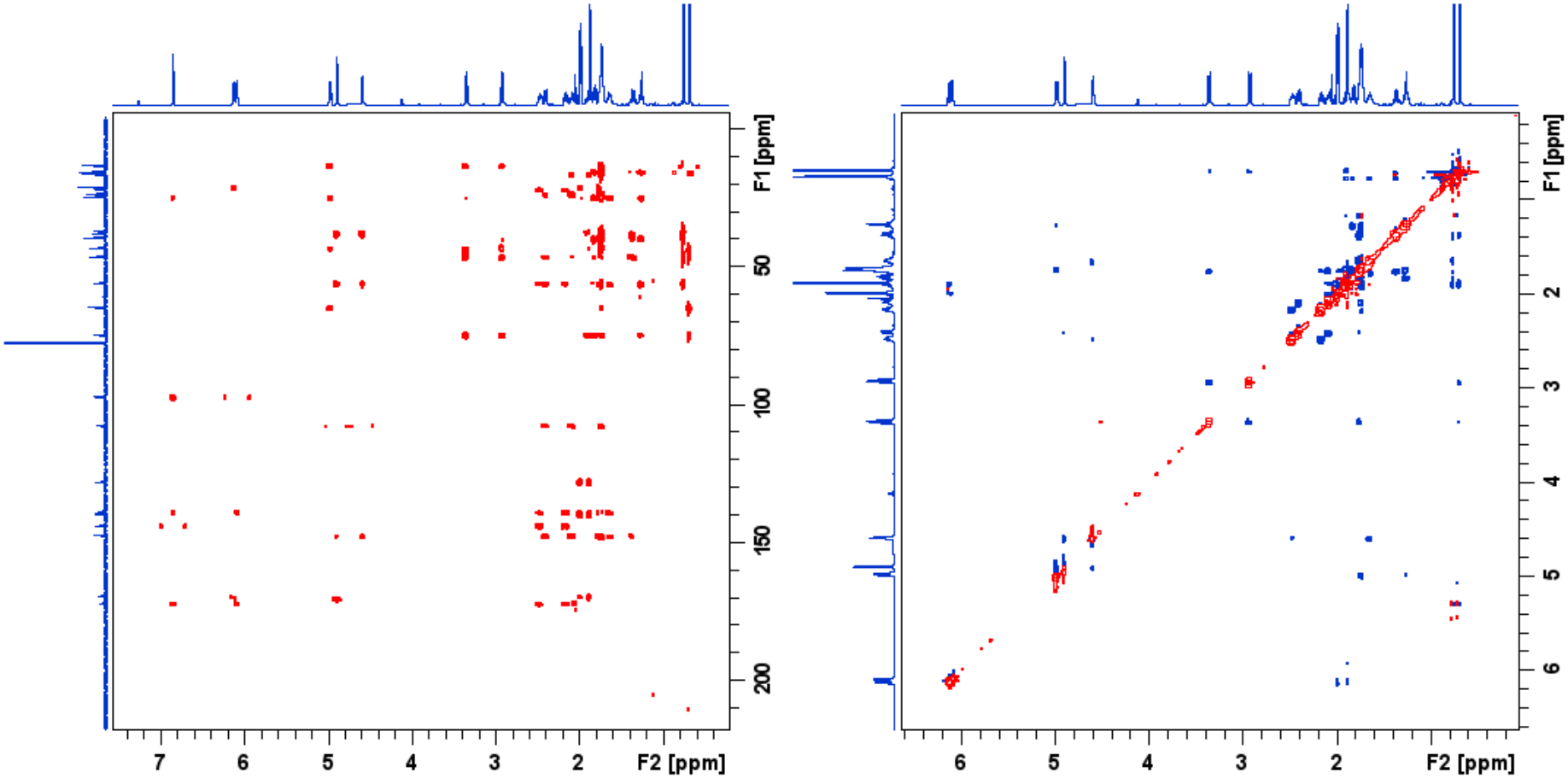
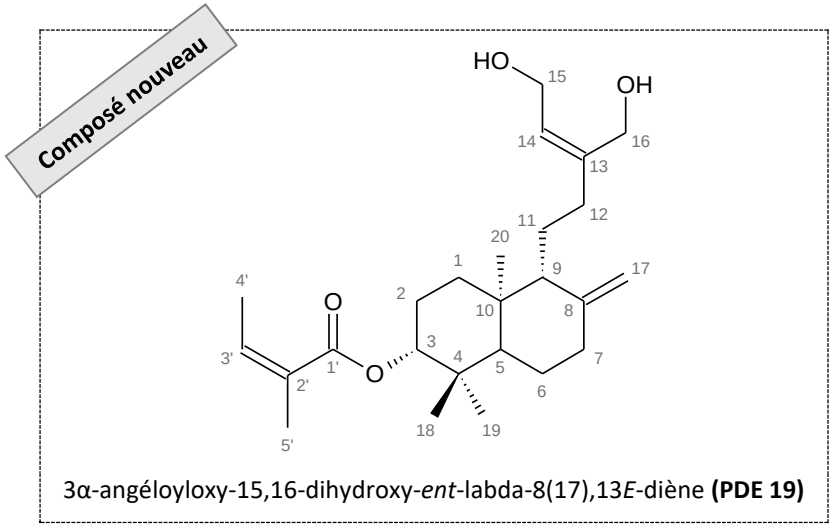
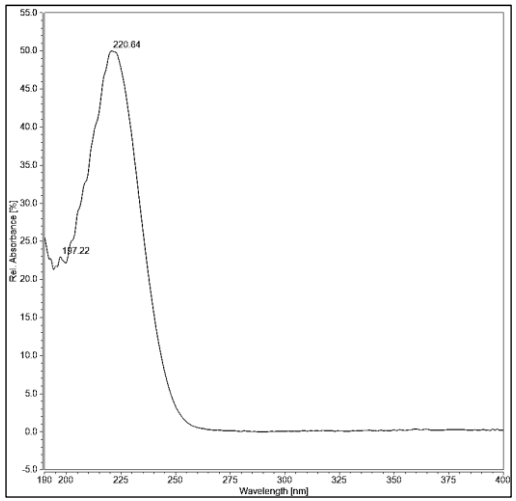


Figure 128 : Spectres ^{1}H-^{13}C HMBC (gauche) et ^{1}H-^{1}H NOESY (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 17 et PDE 18**.

Annexe VIII. 15. Données spectrales du métabolite PDE 19





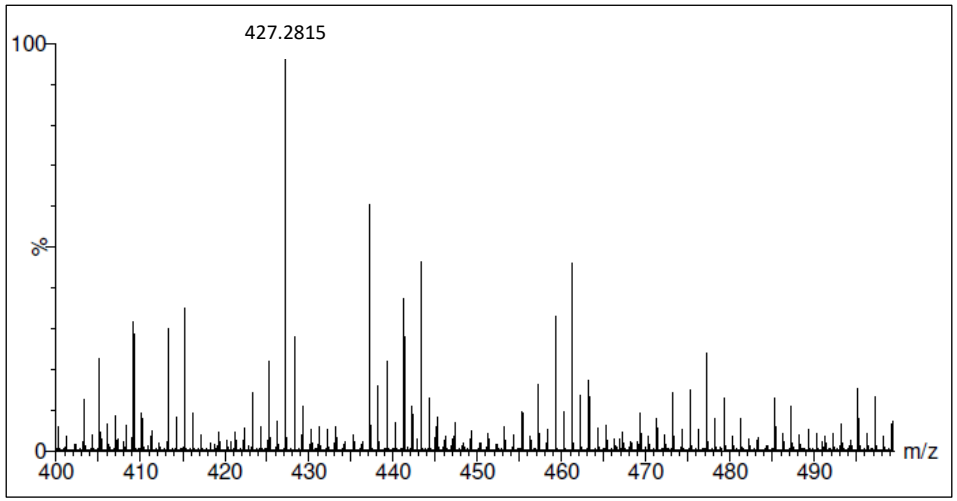


Figure 129 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 19**.

Tableau XXXVIII : Données RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 19** et comparaison avec le 3α-angéloyloxy-15,18-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène (Bohlmann *et al.*, 1984).

Position	δ_{13C}, en ppm	δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	Observés ($CDCl_3$, 150 MHz)	Observés ($CDCl_3$, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 400 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	37,3	1,25 (m) ; 1,81 (m)	*dm**	H2	-
2	25,0	1,65 (m) ; 1,80 (m)	*dm**	H1, H3	C1, C3, C10
3	80,7	4,99 (dd, *11,9* ; *4,0*)	5,00 (ddl, *12,0* ; *4,5*)	H2	C18, C1’
4	38,5	-	-	-	-
5	55,1	1,21 (m)	*dm**	H6	C3
6	24,3	1,41 (dd, *12,9* ; *4,2*) ; 1,75 (m)	-	H5, H7	C5
7	38,2	2,02 (m) ; 2,41 (m)	2,39 (dl, *13,0*)	H6	-
8	148,2	-	-	-	-
9	56,4	1,61 (m)	*dm**	H11	C10
10	39,8	-	-	-	-
11	22,4	1,52 (m) ; 1,61 (m)	*dm**	H9, H12	-
12	35,2	1,92 (m) ; 2,33 (m)	2,16 (m)	H11	C9
13	144,5	-	-	-	-
14	126,6	5,62 (t, *6,8*)	5,39 (tl, *7,0*)	H15	C12, C15
15	59,1	4,22 (dd, *6,7 ; 2,9*)	4,14 (dl, *7,0*)	H14	C13, C14
16	61,5	4,16 (d, *12,5*) ; 4,20 (d, *12,3*)	1,68 (sl)	-	C12, C13, C14
17	107,3	4,56 (sl) ; 4,87 (sl)	4,53 (sl) ; 4,85 (sl)	-	C7
18	17,3	0,88 (s)	0,75 (s)	-	C3, C4, C5, C19
19	28,7	0,90 (s)	2,97 (d, *12,0*) ; 3,35 (dl, *12,0*)	-	C3, C4, C5, C18
20	15,1	0,72 (s)	0,68 (s)	-	C1, C5, C10
1’	168,2	-	-	-	-
2’	128,5	-	-	-	-
3’	138,1	6,03 (qq, *12,0* ; *1,5*)	6,01 (qq, *7,0* ; *1,0*)	H4’,H5’	C1’
4’	16,2	1,96 (dql, *7,2* ; *1,5*)	1,98 (dq, *7,0* ; *1,0*)	H3’	C2’, C3’
5’	21,1	1,89 (m)	1,89 (dq, *1,0*)	H3’	C1’, C2’, C3’

dm : donnée manquante*

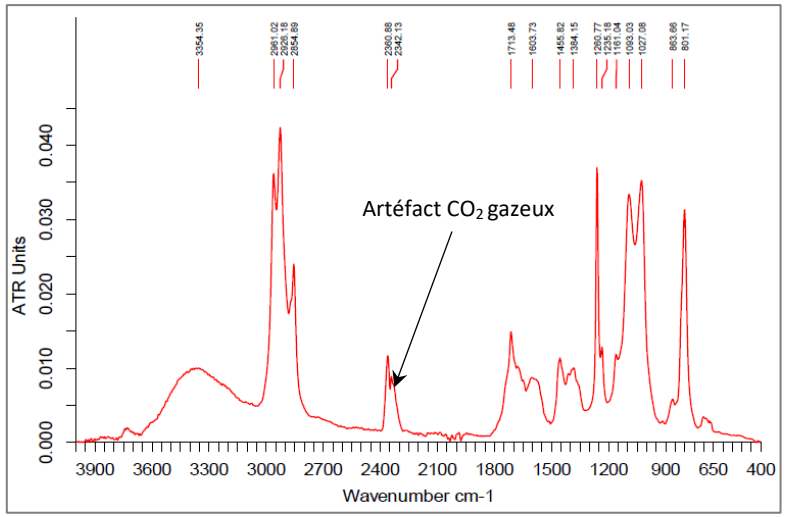


Figure 130 : Spectre IRTF de **PDE 19**.

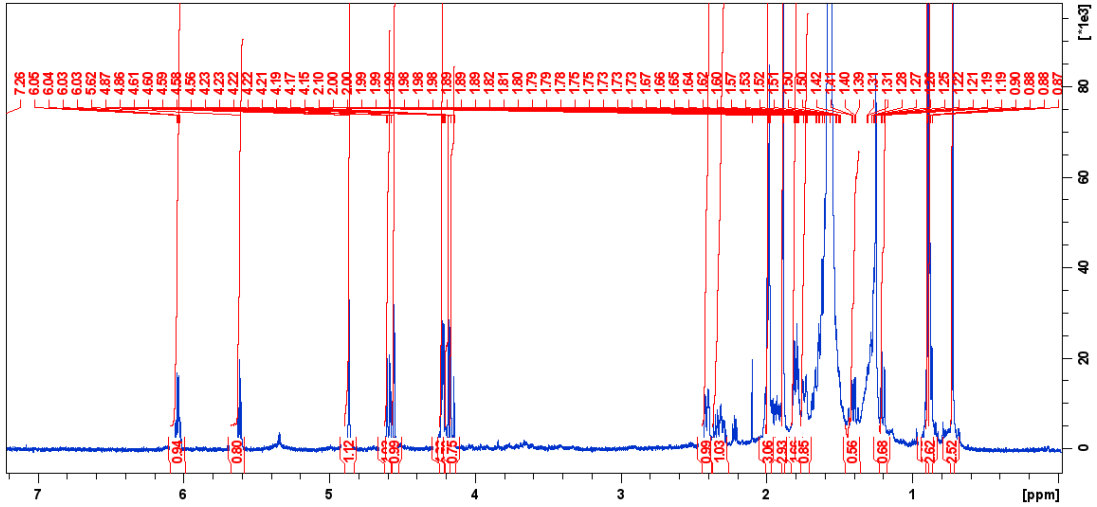


Figure 131 : Spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 19**.

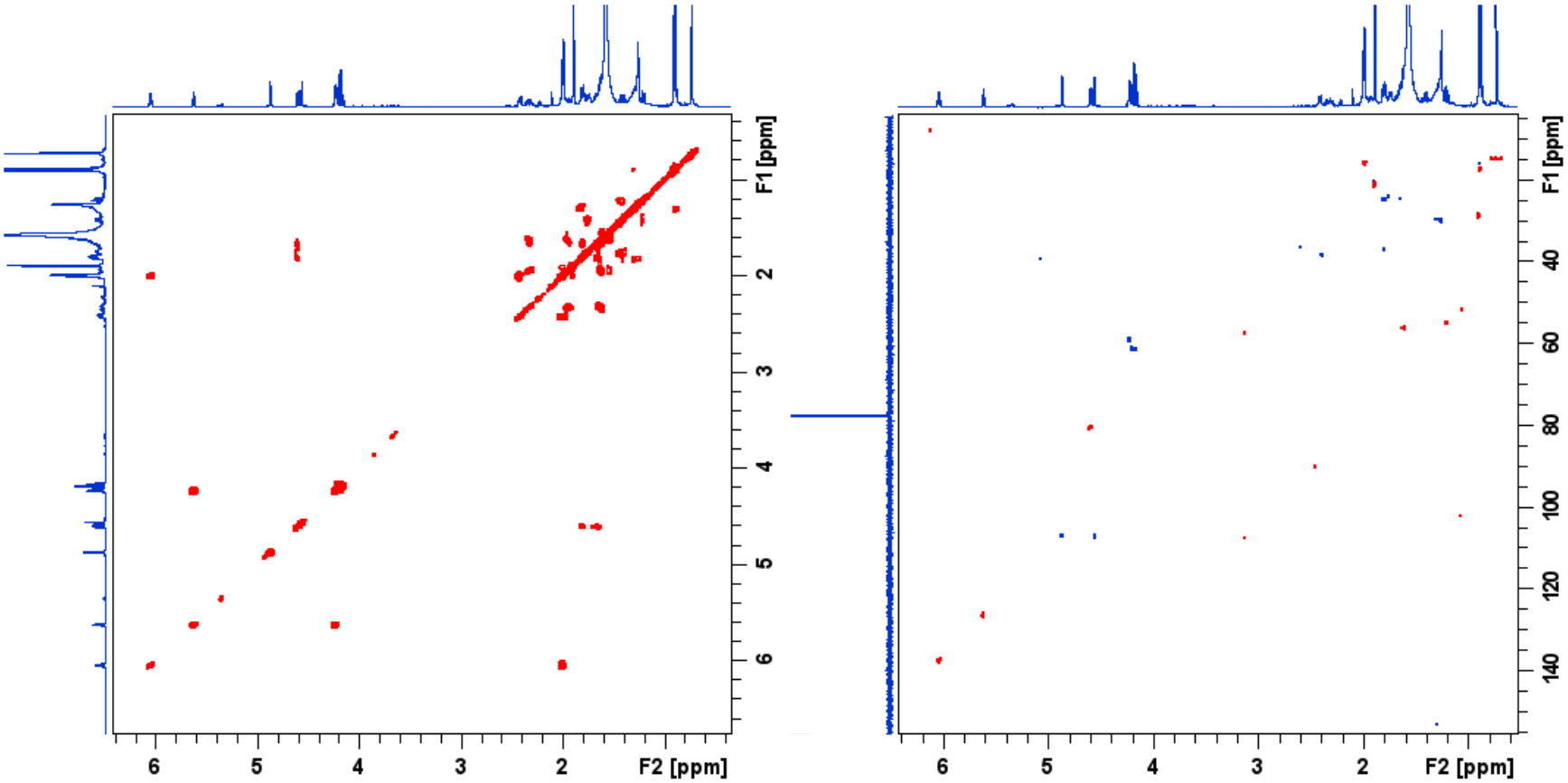


Figure 132 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 19**.

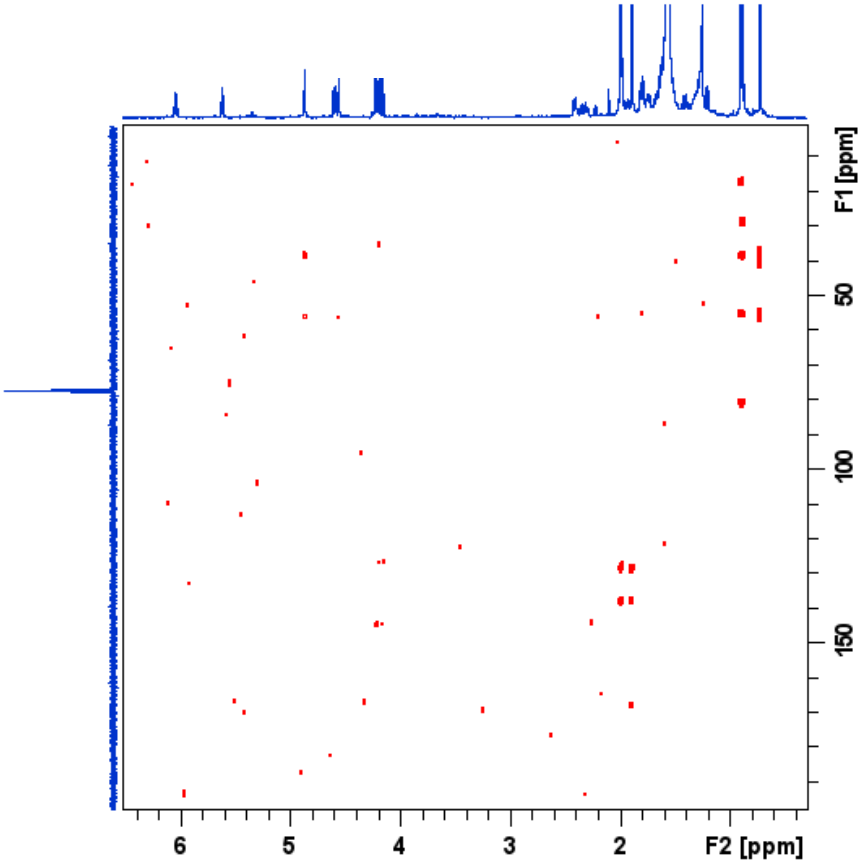
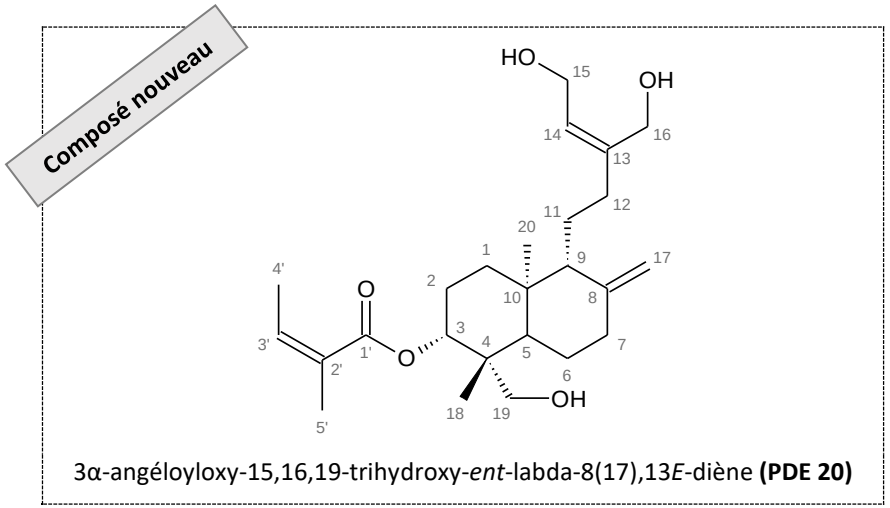


Figure 133 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC et ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 19**.

Annexe VIII. 16. Données spectrales du métabolite PDE 20



3α-angéloyloxy-15,16,19-trihydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-diène **(PDE 20)**

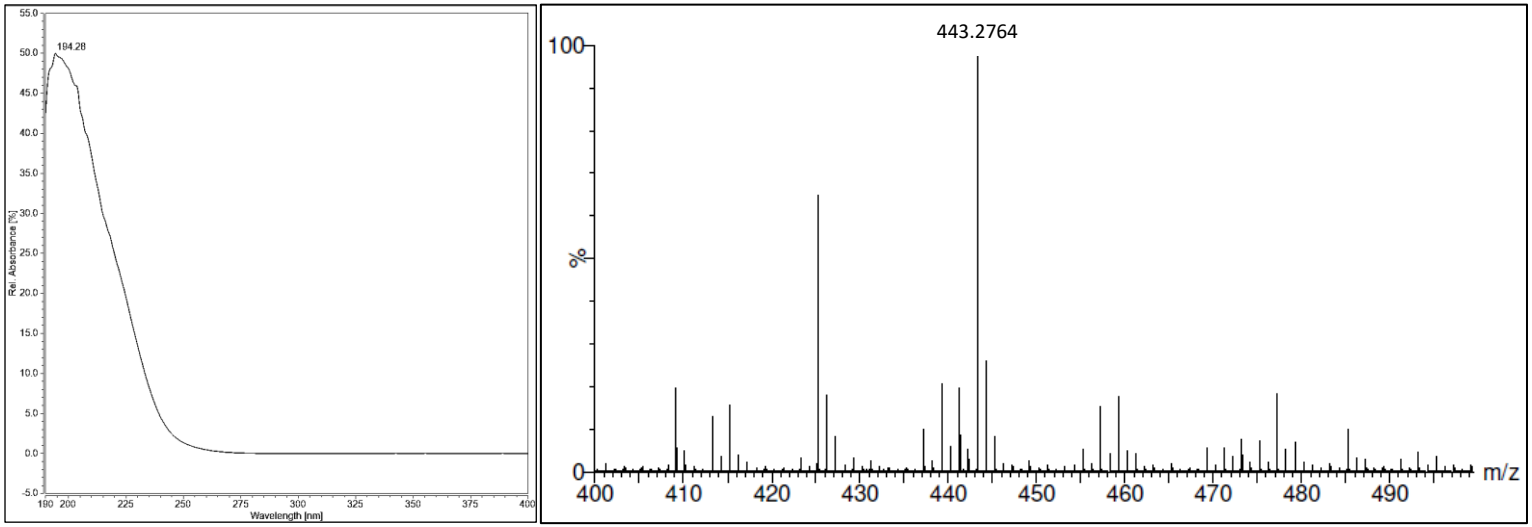


Figure 134 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 20**.

Tableau XXXIX : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C du **PDE 19** à ceux observés pour **PDE 20**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	PDE 19 ($CDCl_3$, 150 MHz)	PDE 20 ($CDCl_3$, 150 MHz)	PDE 19 ($CDCl_3$, 600 MHz)	PDE 20 ($CDCl_3$, 600 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
1	37,3	36,1	1,25 (m) ; 1,81 (m)	1,28 (m) ; 1,84 (m)	H2	C3
2	25,0	24,4	1,65 (m) ; 1,80 (m)	1,72 (m) ; 1,91 (m)	H1, H3	C1, C4, C10
3	80,7	74,3	4,99 (dd, *11,9* ; *4,0*)	5,00 (dd, *12,0* ; *4,4*)	H2	C18, C1’
4	38,5	42,9	-	-	-	-
5	55,1	46,1	1,21 (m)	1,75 (m)	H6	C6, C7
6	24,3	23,4	1,41 (dd, *12,9* ; *4,2*) ; 1,75 (m)	1,35 (dd, *13,1* ; *4,2*) ; 1,76 (m)	H5, H7	C5, C7
7	38,2	37,7	2,02 (m) ; 2,41 (m)	2,08 (m) ; 2,39 (m)	H6	C6, C8
8	148,2	147,2	-	-	-	-
9	56,4	56,1	1,61 (m)	1,71 (m)	H11	C10, C20
10	39,8	39,1	-	-	-	-
11	22,4	22,5	1,52 (m) ; 1,61 (m)	1,51 (m) ; 1,64 (m)	H9, H12	C12
12	35,2	34,8	1,92 (m) ; 2,33 (m)	1,92 (m) ; 2,32 (m)	H11	C9
13	144,5	144,5	-	-	-	-
14	126,6	126,3	5,62 (t, *6,8*)	5,62 (t, *7,1*)	H15	C12, C15, C16
15	59,1	58,8	4,22 (dd, *6,7* ; *2,9*)	4,22 (dd, *6,8* ; *3,2*)	H14	-
16	61,5	61,2	4,16 (d, *12,5*) ; 4,20 (d, *12,3*)	4,16 (d, *12,3*) ; 4,19 (d, *12,4*)	-	C13, C14
17	107,3	107,0	4,56 (sl) ; 4,87 (sl)	4,56 (sl) ; 4,87 (sl)	-	C7, C9
18	17,3	13,1	0,88 (s)	0,68 (s)	-	C3, C4, C19
19	28,7	64,6	0,90 (s)	2,92 (d, *12,7*) ; 3,35 (d, *12,7*)	-	C4, C5, C18
20	15,1	15,4	0,72 (s)	0,76 (s)	-	C1, C5, C9, C10
1’	168,2	169,1	-	-	-	-
2’	128,5	127,5	-	-	-	-
3’	138,1	139,1	6,03 (qq, *12,0* ; *1,5*)	6,12 (qq, *12,1* ; *1,4*)	H4’,H5’	C1’, C5’
4’	16,2	16,2	1,96 (dql, *7,2* ; *1,5*)	1,96 (dql, *7,3* ; *1,4*)	H3’	C2’, C3’
5’	21,1	20,9	1,89 (m)	1,88 (m)	H3’	C1’, C2’, C3’

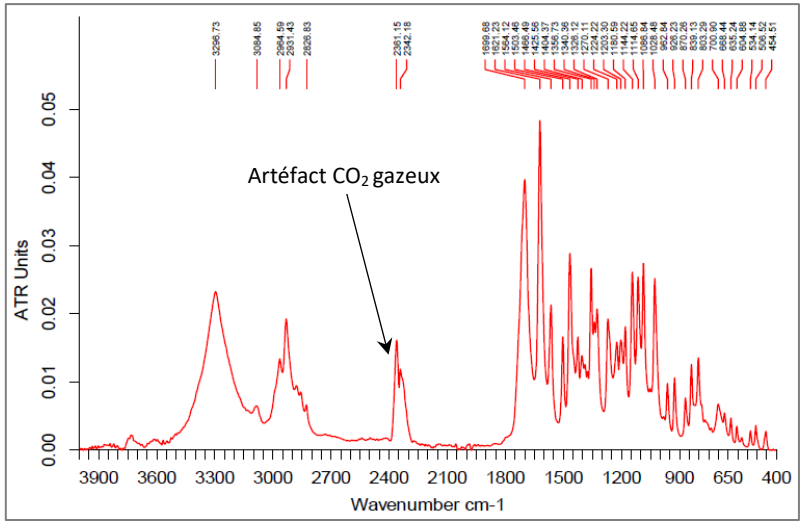


Figure 135 : Spectre IRTF de **PDE 20**.

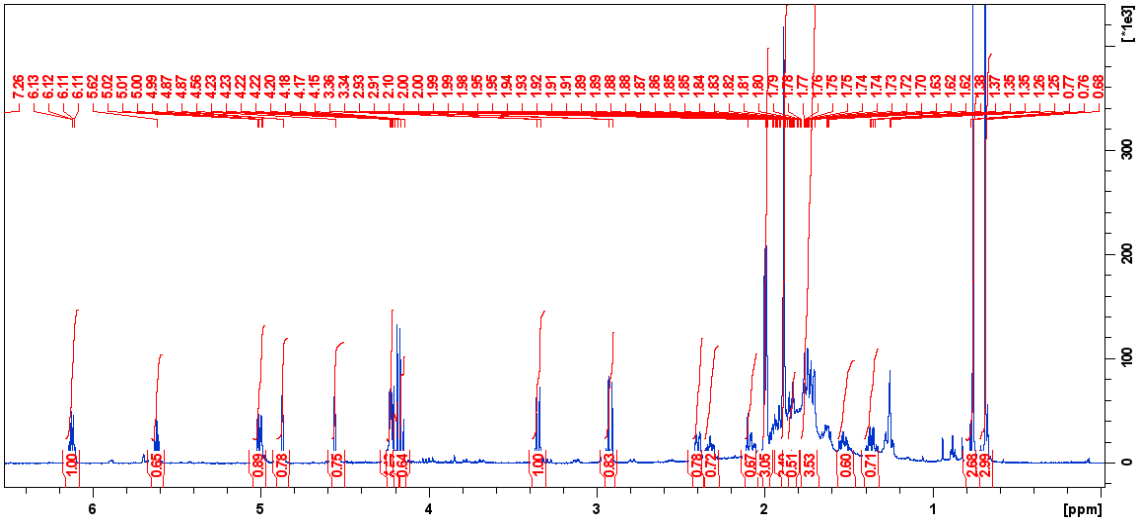


Figure 136 : Spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 20**.

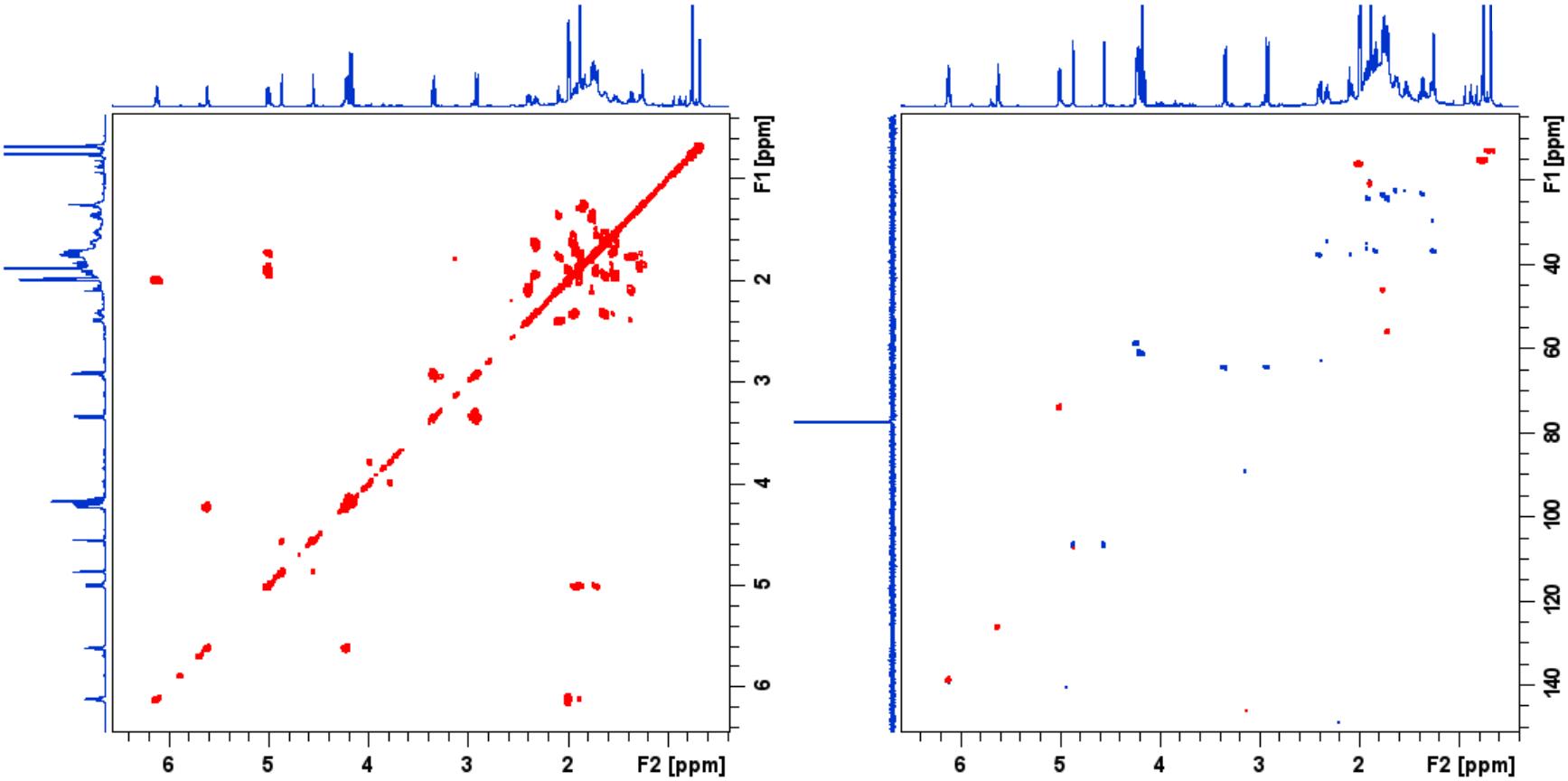


Figure 137 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 20**.

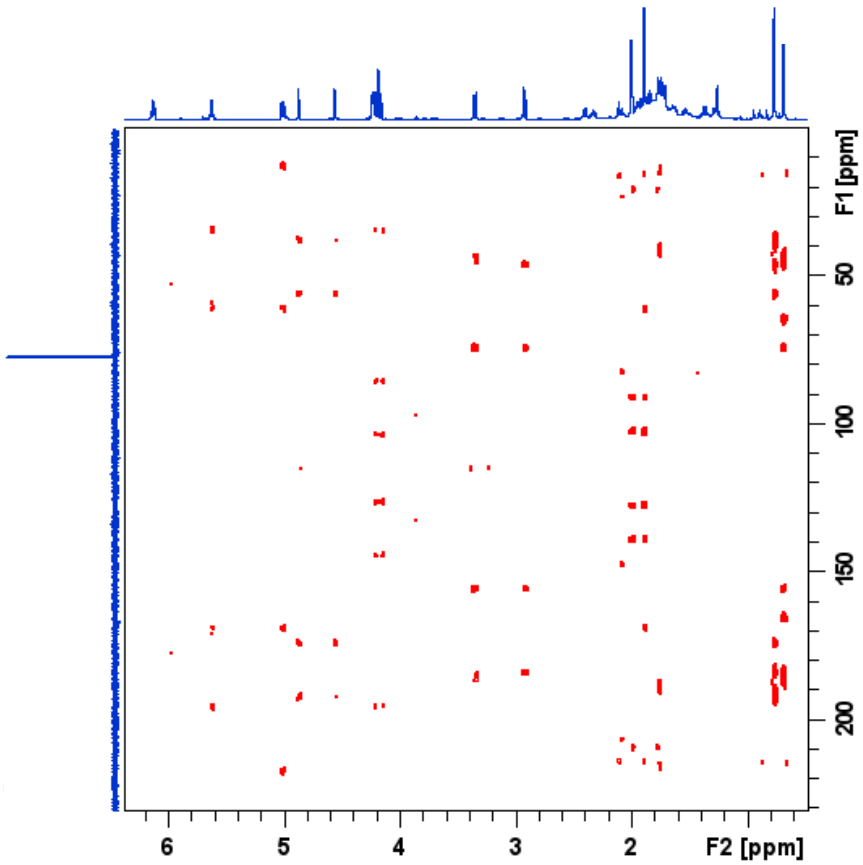
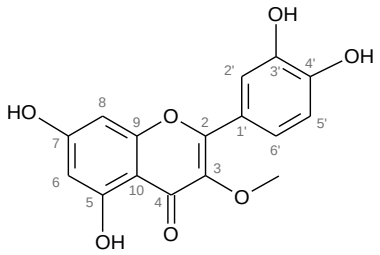


Figure 138 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC et ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 20**.

Annexe VIII. 17. Données spectrales du composé PDE 21



3-*O*-méthylquercétine **(PDE 21)**

Tableau XL : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de la 3-*O*-méthylquercétine (Morales *et al.*, 2006) à ceux observés pour **PDE 21**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature (CD_3OD, 75 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature (CD_3OD, 300 MHz)
2	156,4	157,9	-	-
3	137,6	139,6	-	-
4	179,7	179,9	-	-
5	165,8	163,6	-	-
6	97,9	99,7	6,20 (d, *2,1*)	6,25 (d, *2,0*)
7	158,5	164,7	-	-
8	92,9	94,8	6,40 (d, *2,1*)	6,48 (d, *2,0*)
9	163,1	162,3	-	-
10	105,8	106,2	-	-
1’	121,0	123,4	-	-
2’	114,8	116,6	7,63 (d, *2,1*)	7,72 (d, *2,0*)
3’	144,4	146,2	-	-
4’	148,0	148,6	-	-
5’	114,7	116,7	6,91 (d, *8,5*)	7,00 (d, *8,5*)
6’	120,3	122,5	7,54 (dd, *8,5* ; *2,2*)	7,59 (dd, *8,5* ; *2,0*)
CH_3O-3	58,7	60,5	3,79 (s)	3,87 (s)

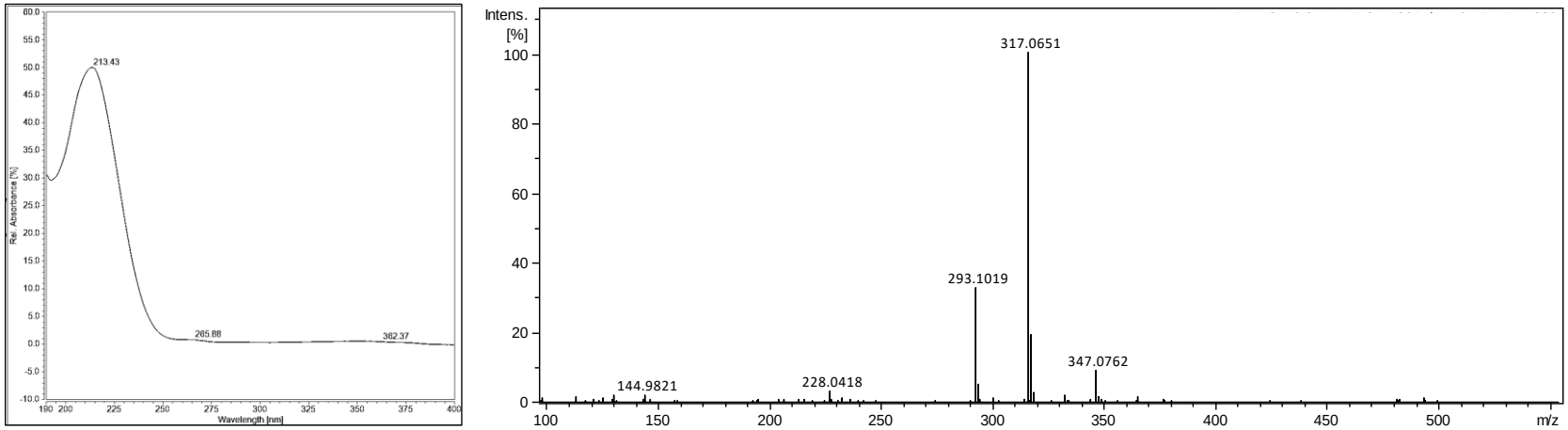


Figure 139 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 21**.

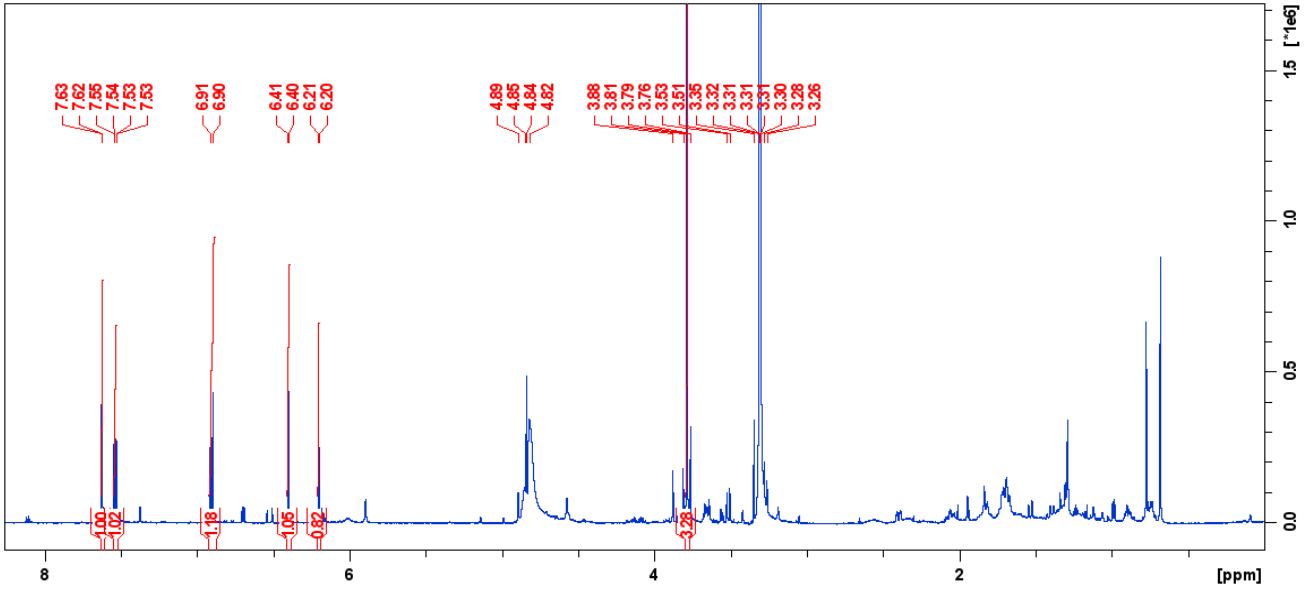


Figure 140 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 21**.

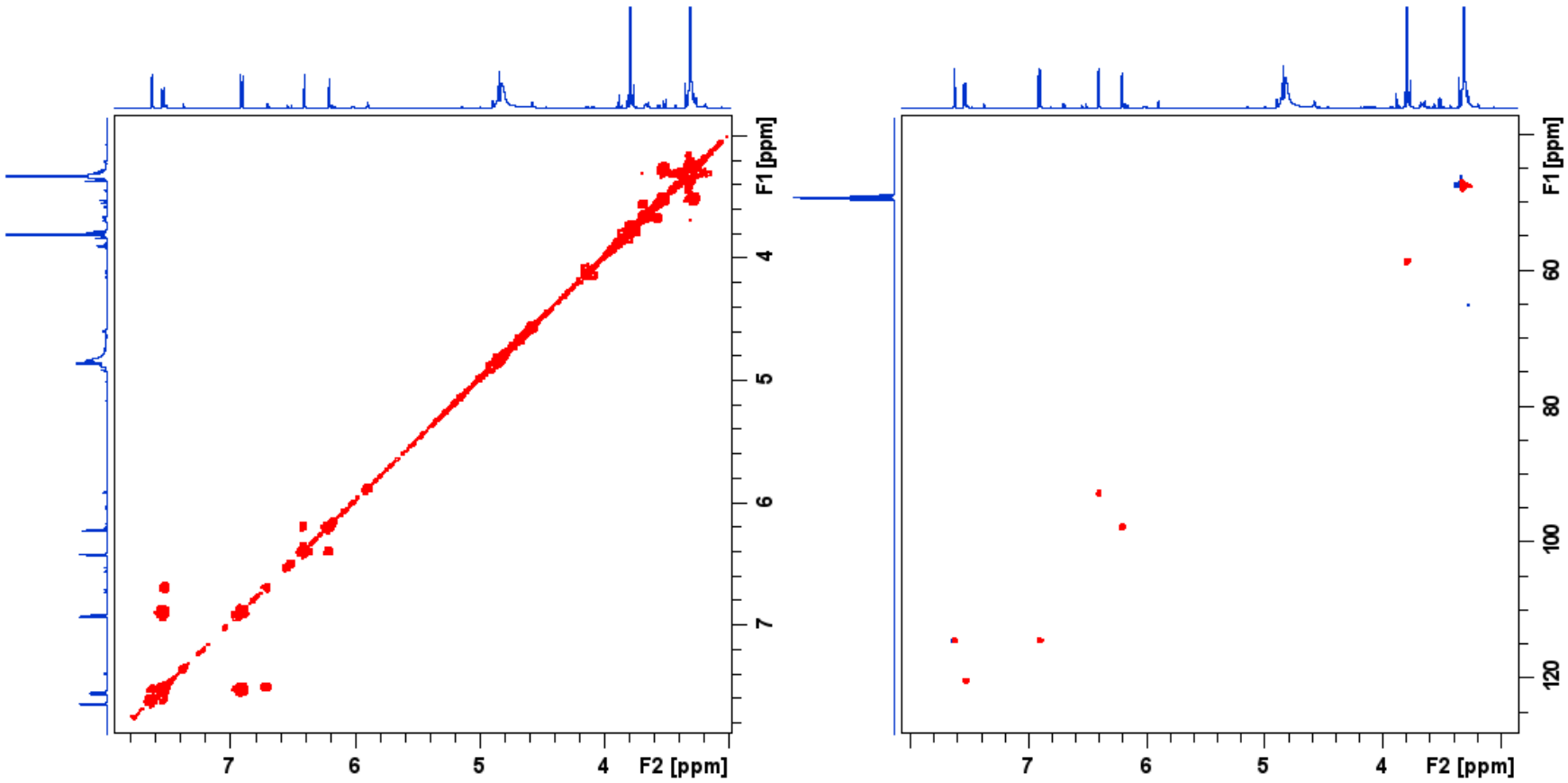


Figure 141 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 21**.

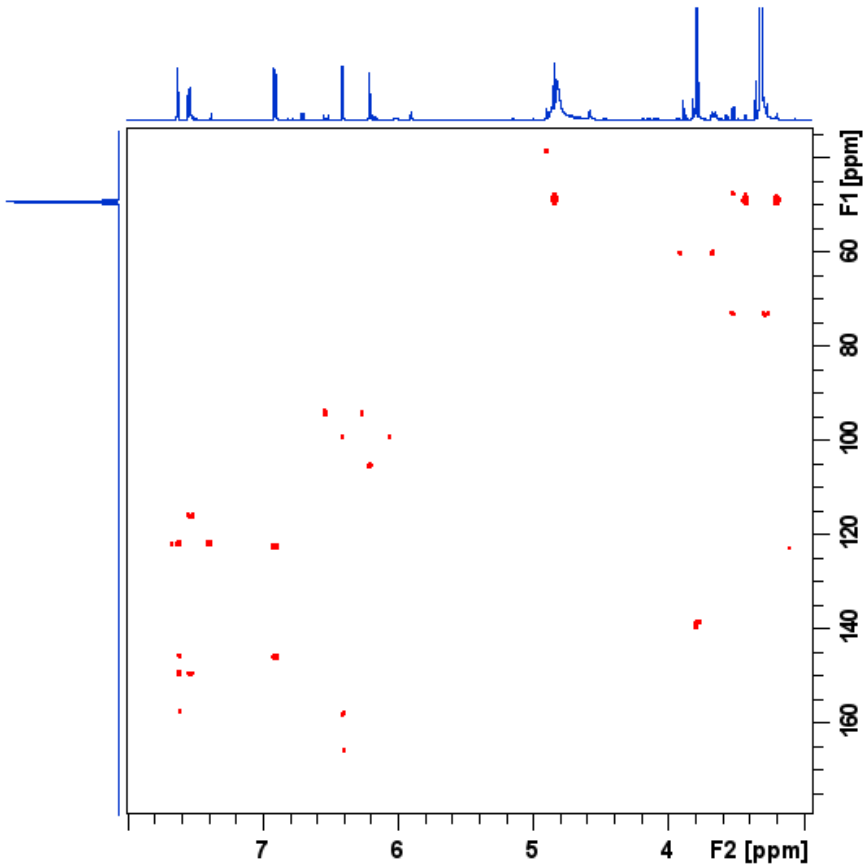
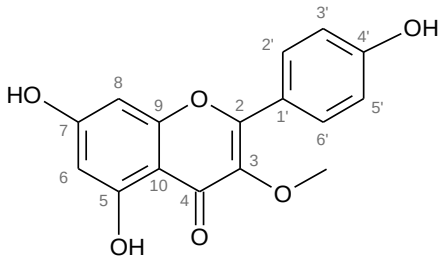


Figure 142 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 21**.

Annexe VIII. 18. Données spectrales du composé PDE 22



Isokaempféride **(PDE 22)**

Tableau XLI : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de l'isokaempféride (Bianchi *et al.*, 2019) à ceux observés pour **PDE 22**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés ($CDCl_3$, 150 MHz)	Littérature (DMSO-d_6, 100 MHz)	Observés ($CDCl_3$, 600 MHz)	Littérature (DMSO-d_6, 400 MHz)
2	149,4	158,0	-	-
3	138,6	139,4	-	-
4	172,1	180,0	-	-
5	162,9	163,1	-	-
6	98,8	99,1	6,20 (d, *2,1*)	6,19 (d, *2,0*)
7	156,9	165,9	-	-
8	93,8	94,8	6,40 (d, *2,2*)	6,43 (d, *2,1*)
9	157,2	158,4	-	-
10	106,1	105,9	-	-
1'	122,5	122,6	-	-
2', 6'	122,7	131,4	8,00 (d, *9,0*)	7,93 (d, *8,9*)
3', 5'	114,5	116,6	6,93 (d, *9,0*)	6,94 (d, *8,9*)
4'	145,6	161,7	-	-
CH_3O-3	60,2	60,5	3,77 (s)	3,77 (s)

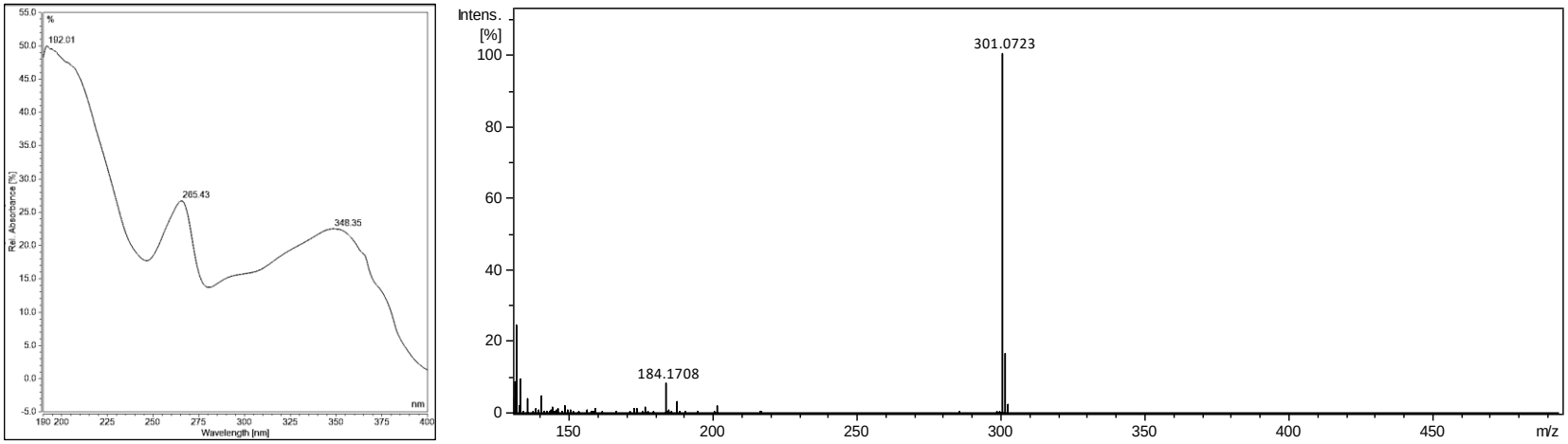


Figure 143 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 22**.

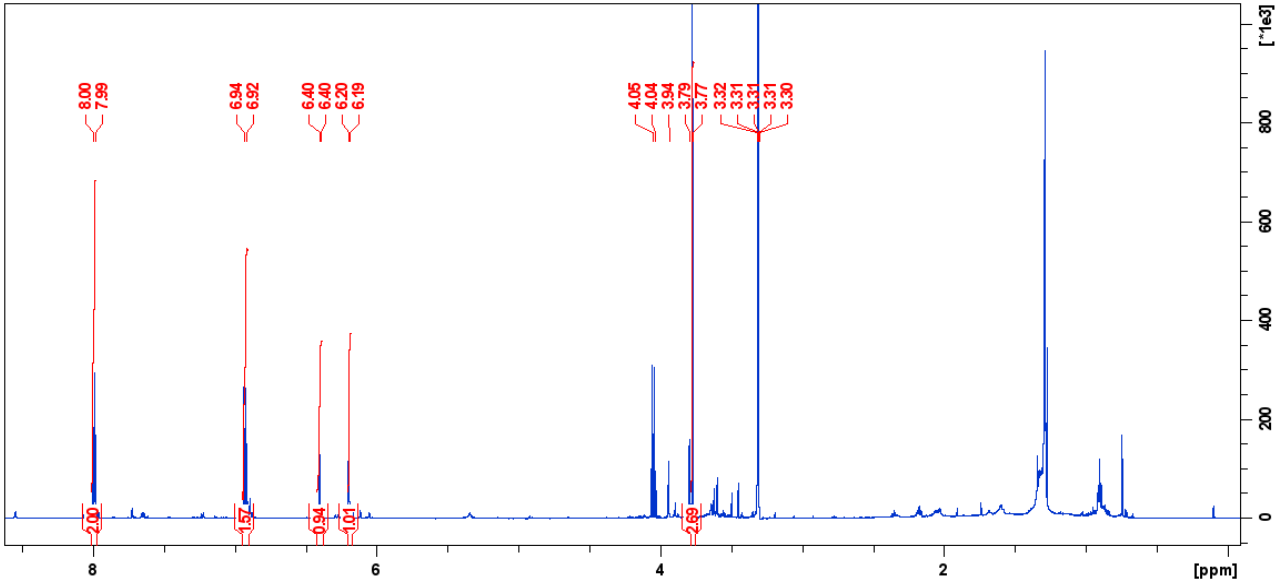


Figure 144 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 22**.

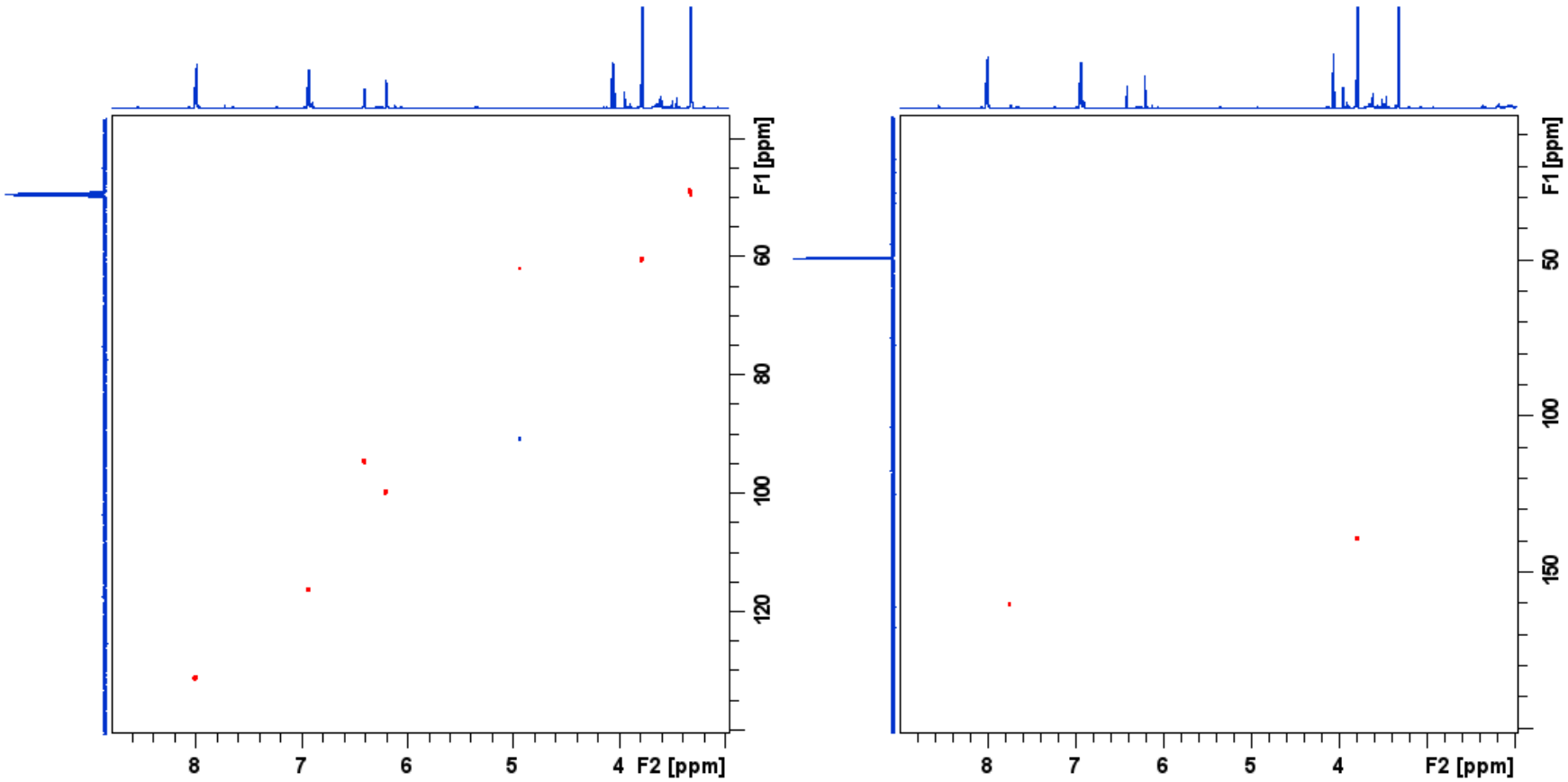
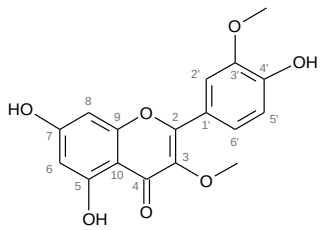


Figure 145 : Spectres ^{1}H-^{13}C HSQC (gauche) et ^{1}H-^{13}C HMBC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 22**.

Annexe VIII. 19. Données spectrales du composé PDE 23



3,3'-di-*O*-méthylquercétine **(PDE 23)**

Tableau XLII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de la 3,3'-di-*O*-méthylquercétine (Wang *et al.*, 2010) à ceux observés pour **PDE 23**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés ($CDCl_3$, 150 MHz)	Littérature (DMSO-d_6, 125 MHz)	Observés ($CDCl_3$, 600 MHz)	Littérature (DMSO-d_6, 300 MHz)
2	149,4	155,6	-	-
3	138,6	137,9	-	-
4	172,1	178,1	-	-
5	157,8	161,4	-	-
6	98,8	94,0	6,28 (d, *2,4*)	6,20 (d, *2,0*)
7	156,9	164,3	-	-
8	93,8	98,8	6,41 (d, *2,2*)	6,48 (d, *2,1*)
9	157,2	156,5	-	-
10	106,1	104,4	-	-
1'	122,5	122,4	-	-
2'	110,8	112,3	7,70 (d, *2,0*)	7,64 (d, *2,1*)
3'	146,2	150,0	-	-
4'	145,6	147,6	-	-
5'	114,5	115,8	7,05 (d, *8,5*)	6,97 (d, *8,4*)
6'	122,7	121,0	7,67 (dd, *8,5* ; *1,8*)	7,58 (dd, *8,4* ; *2,1*)
CH_3O-3	60,2	59,9	3,86 (s)	3,80 (s)
CH_3O-3'	63,4	55,9	3,98 (s)	3,86 (s)

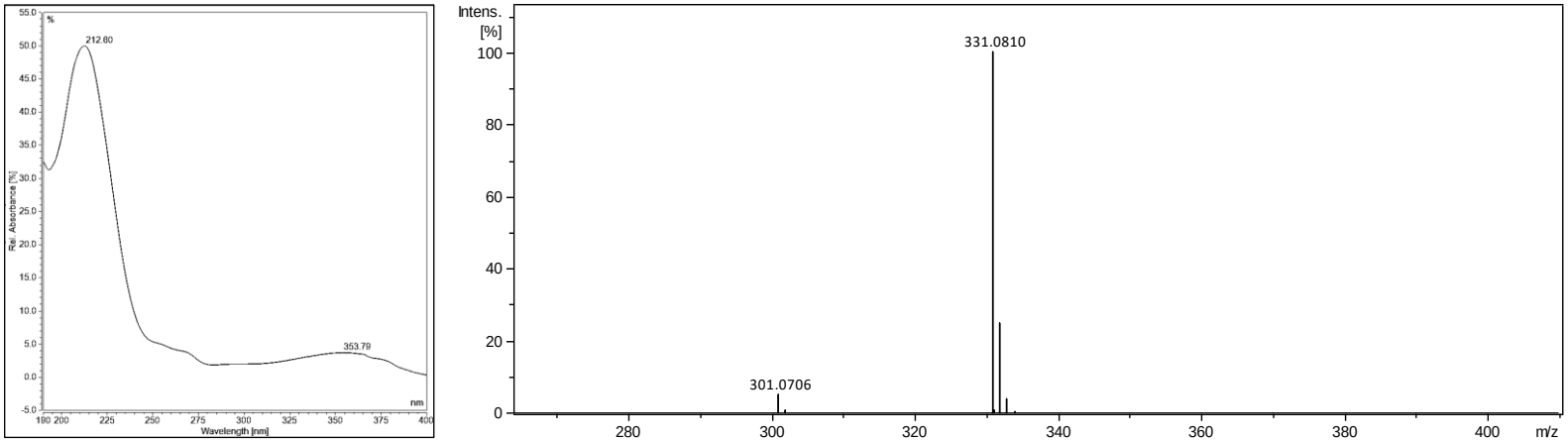


Figure 146 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI$^+$) (droite) de **PDE 23**.

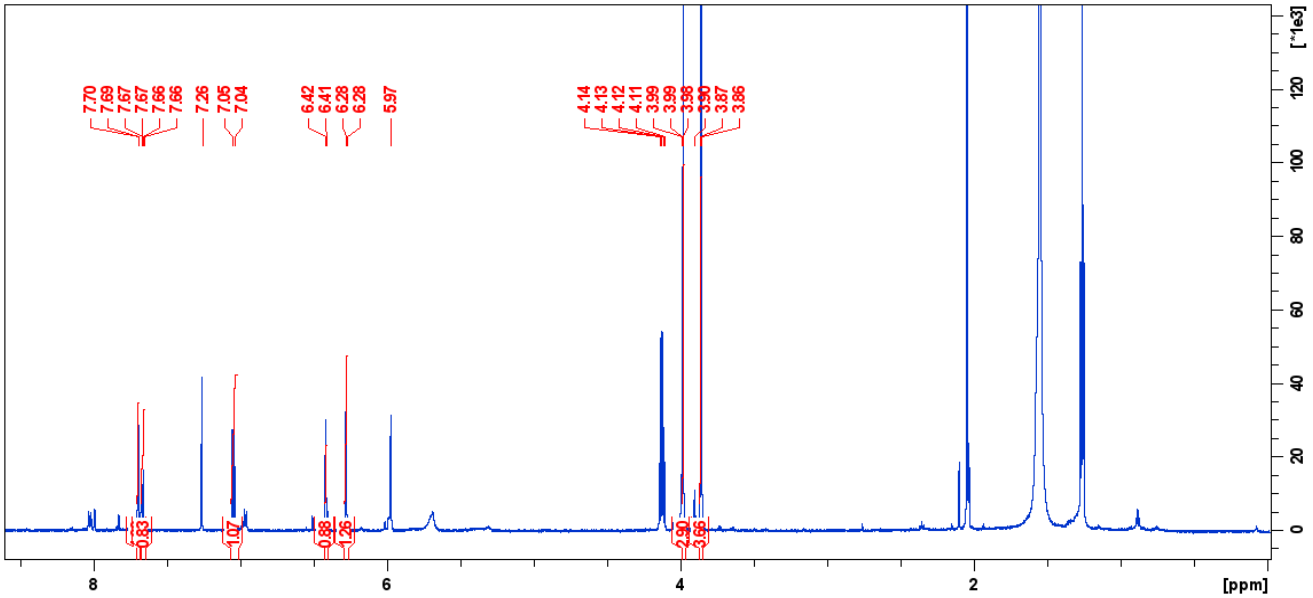


Figure 147 : Spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 23**.

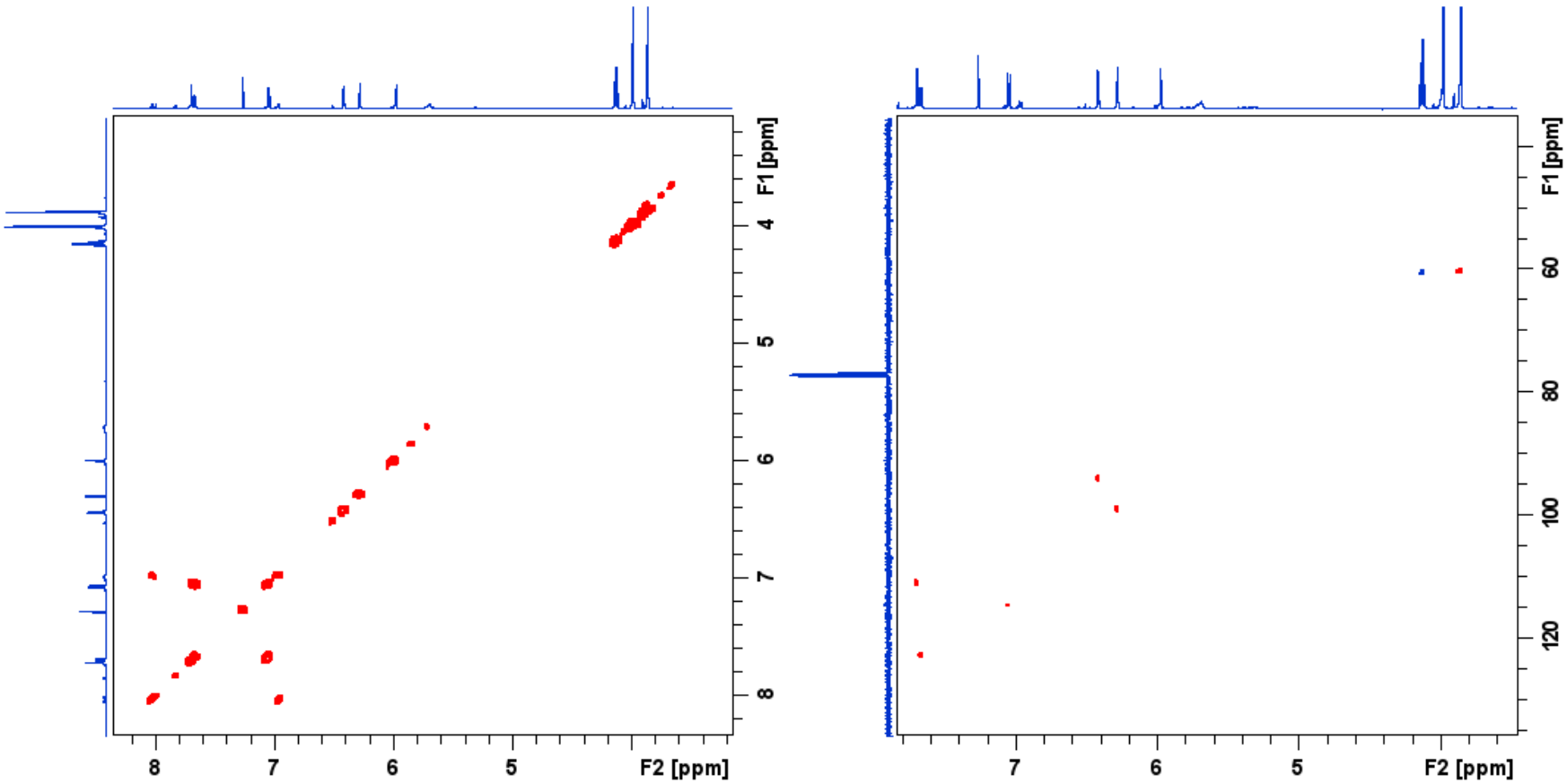


Figure 148 : Spectres ^{1}H-^{1}H COSY (gauche) et ^{1}H-^{13}C HSQC (droite) ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 23**.

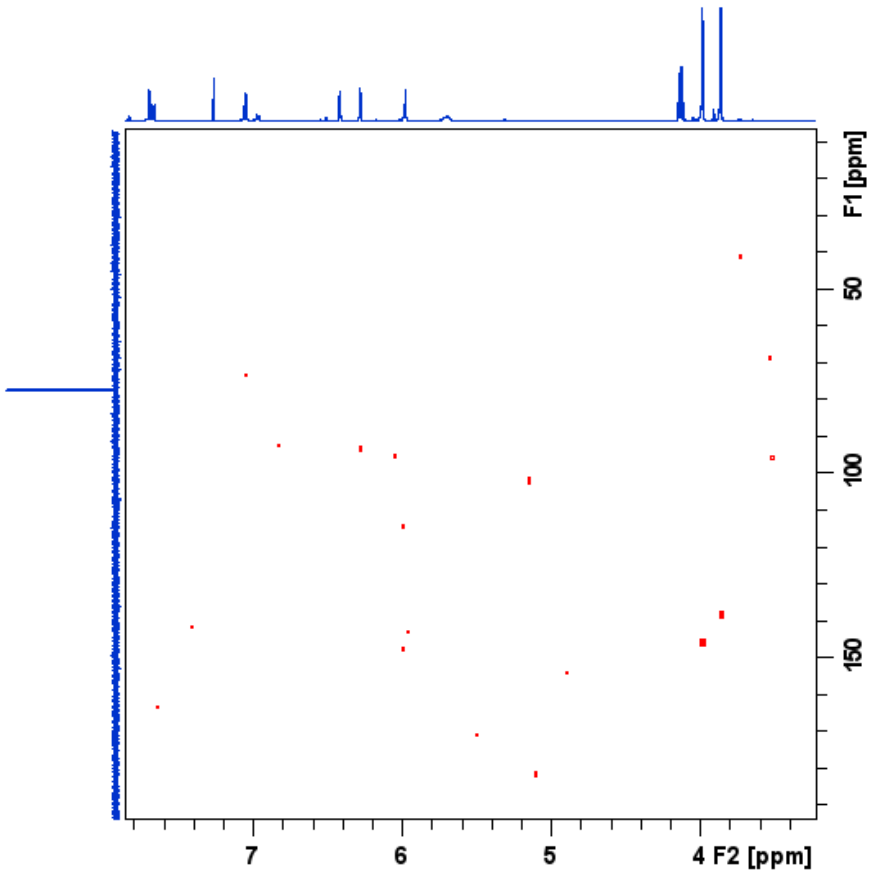
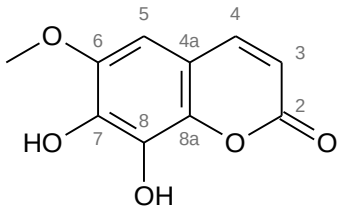


Figure 149 : Spectre ^{1}H-^{13}C HMBC ($CDCl_3$, 600 MHz) de **PDE 23**.

Annexe VIII. 20. Données spectrales des composés PDE 24 et PDE 25

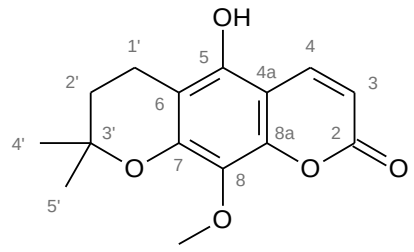


Fraxétine **(PDE 24)**

Tableau XLIII : Comparaison des déplacements chimiques RMN ^{1}H et ^{13}C de la fraxétine (Yang *et al.*, 2017) à ceux observés pour **PDE 24**.

Position	δ_{13C}, en ppm		δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Littérature (CD_3OD, 150 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature (CD_3OD, 600 MHz)
2	164,2	164,2	-	-
3	110,3	112,5	6,09 (d, *9,6*)	6,16 (d, *9,6*)
4	141,6	147,1	8,09 (dd, *9,6 ; 0,6*)	7,78 (d, *9,6*)
4a	103,9	112,9	-	-
5	96,0	101,3	6,32 (d, *0,6*)	6,66 (s)
6	133,4	147,4	-	-
7	153,1	134,4	-	-
8	nd	141,0	-	-
8a	156,0	140,9	-	-
CH_3O-6	61,3	57,1	3,78 (s)	3,86 (s)

nd : non déterminé



5-hydroxydihydroluvangétine (**PDE 25**)

Tableau XLIV : Données RMN ^{1}H et ^{13}C de **PDE 25** et comparaison avec la dihydroluvangétine (Mali *et al.*, 2002).

Position	δ_{13C}, en ppm	δ_{1H}, en ppm (multiplicité, *J* en Hz)		Corrélations 2D	
	Observés (CD_3OD, 150 MHz)	Observés (CD_3OD, 600 MHz)	Littérature ($CDCl_3$, 300 MHz)	^{1}H-^{1}H COSY	^{1}H-^{13}C HMBC
2	163,9	-	-	-	-
3	110,0	6,13 (d, *9,6*)	6,21 (d, *9,3*)	H4	C2, C4a
4	141,6	8,13 (d, *9,6*)	7,56 (d, *9,3*)	H3	-
4a	103,9	-	-	-	-
5	152,6	-	6,93 (s)	-	-
6	102,1	-	-	-	-
7	150,5	-	-	-	-
8	133,6	-	-	-	-
8a	nd	-	-	-	-
1’	17,1	2,82 (t, *6,8*)	2,84 (t, *6,6*)	H2’	C5, C6, C7, C2’, C3’
2’	32,6	1,88 (t, *6,8*)	1,86 (t, *6,6*)	H1’	C6, C1’, C3’, C4’, C5’
3’	77,0	-	-	-	-
4’	27,0	1,41 (s)	1,41 (s)	-	C2’, C3’, C5’
5’	27,0	1,41 (s)	1,41 (s)	-	C3’, C4’
CH_3O-8	61,4	3,78 (s)	3,94 (s)	-	C8

nd : non déterminé

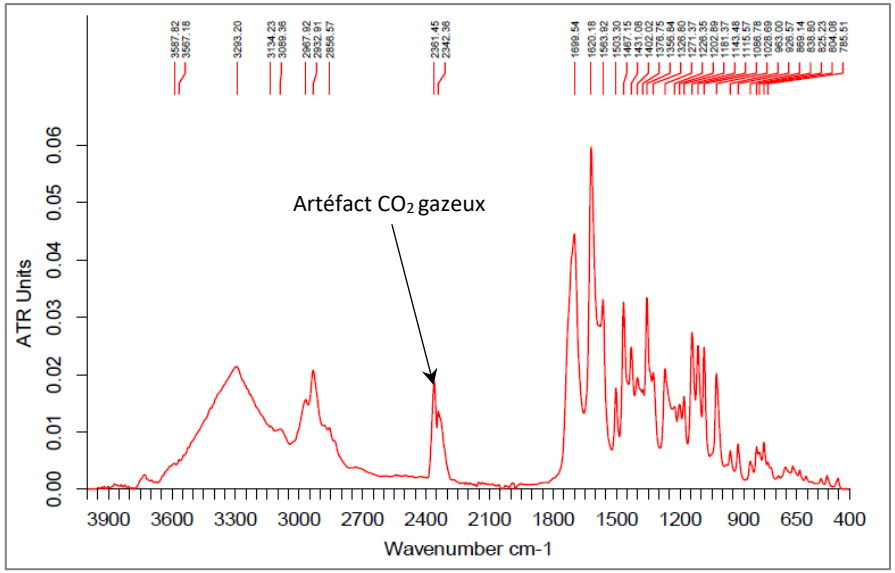


Figure 150 : Spectre IRTF de **PDE 24** et **PDE 25**.

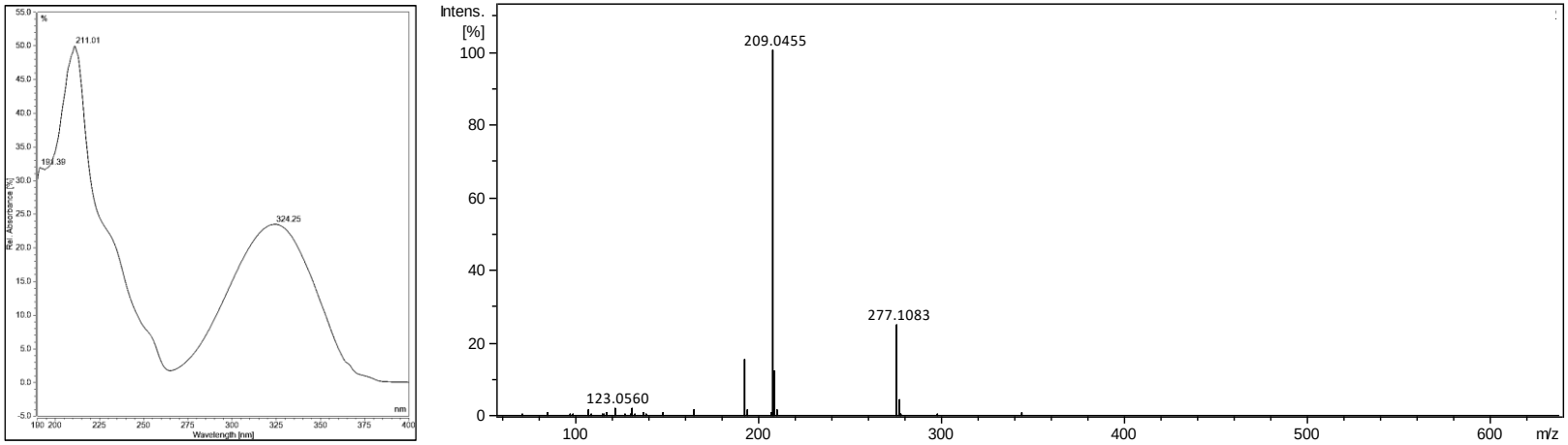


Figure 151 : Spectre UV (gauche) et spectre de masse haute résolution en mode positif (ESI^+) (droite) de **PDE 24** et **PDE 25**.

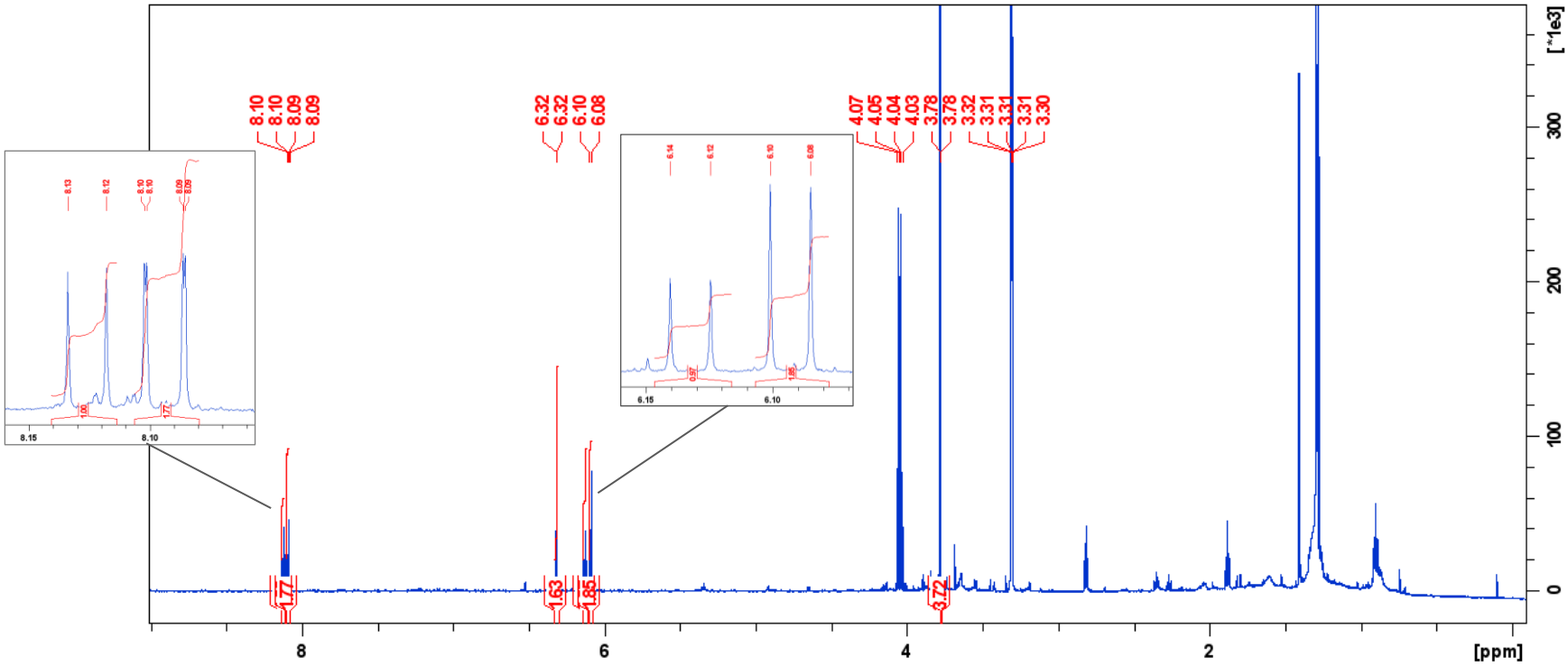


Figure 152 : Spectre RMN ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 24** et **PDE 25**.

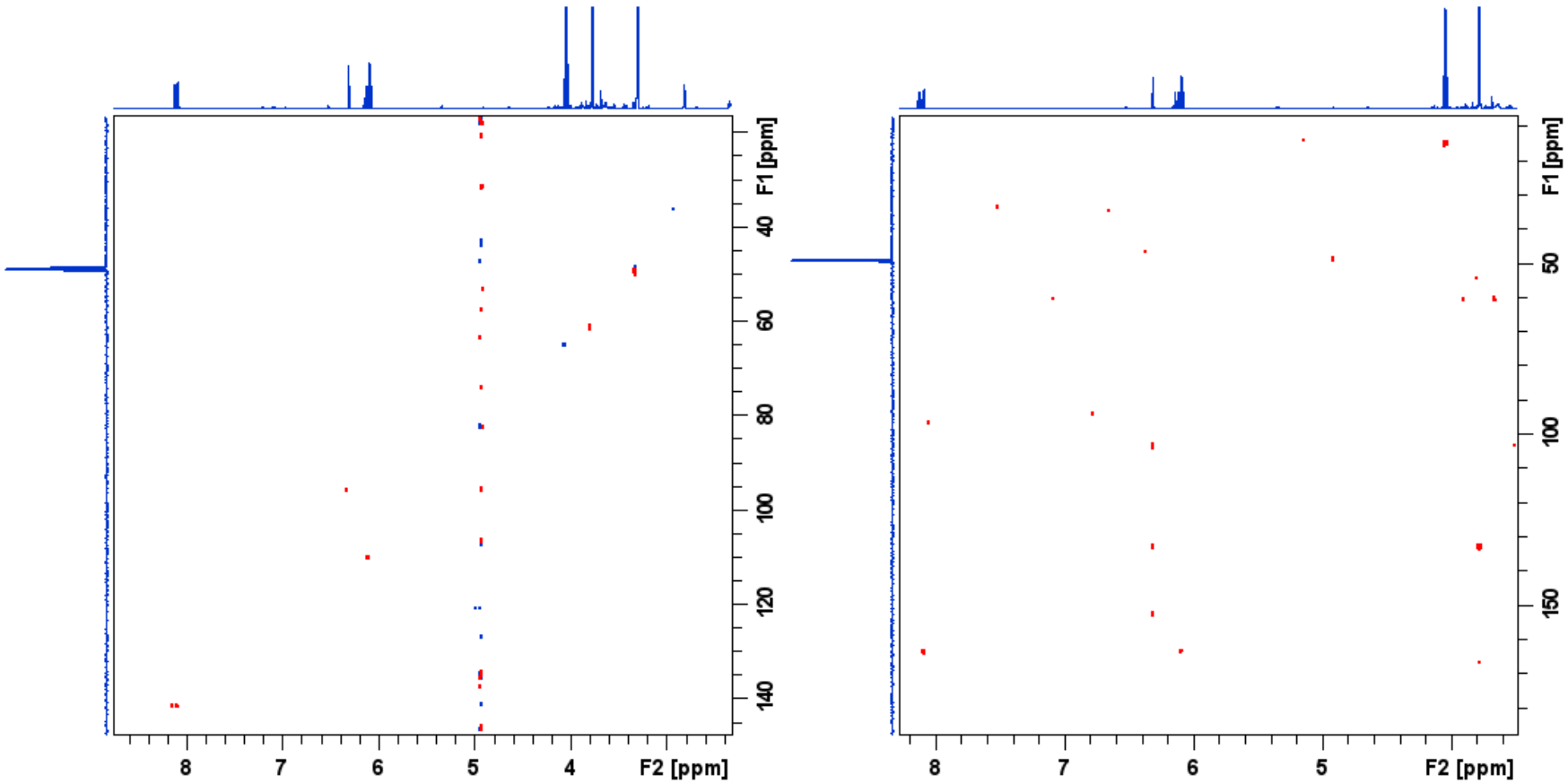


Figure 153 : Spectres ^{1}H-^{13}C HSQC (gauche) et ^{1}H-^{13}C HMBC (droite) (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 24** et **PDE 25**.

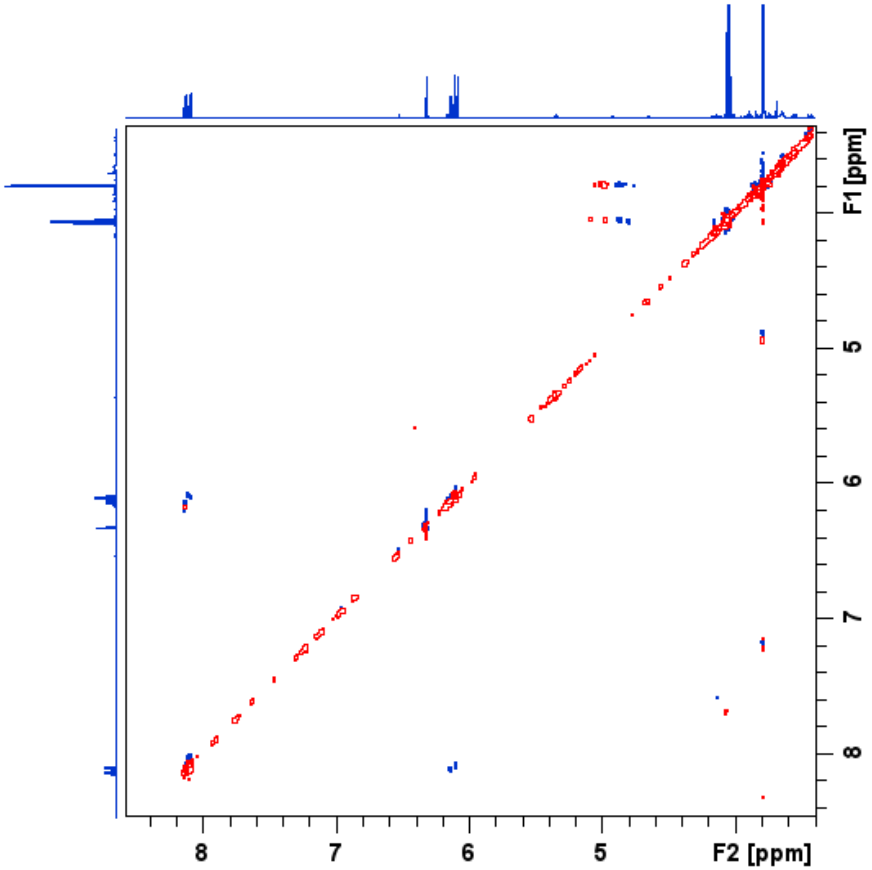


Figure 154 : Spectre ^{1}H-^{1}H NOESY (CD_3OD, 600 MHz) de **PDE 24** et **PDE 25**.

Annexe VIII. 21. Profil CLHP-CAD de l'extrait brut de *P. dentata* avec les pics annotés

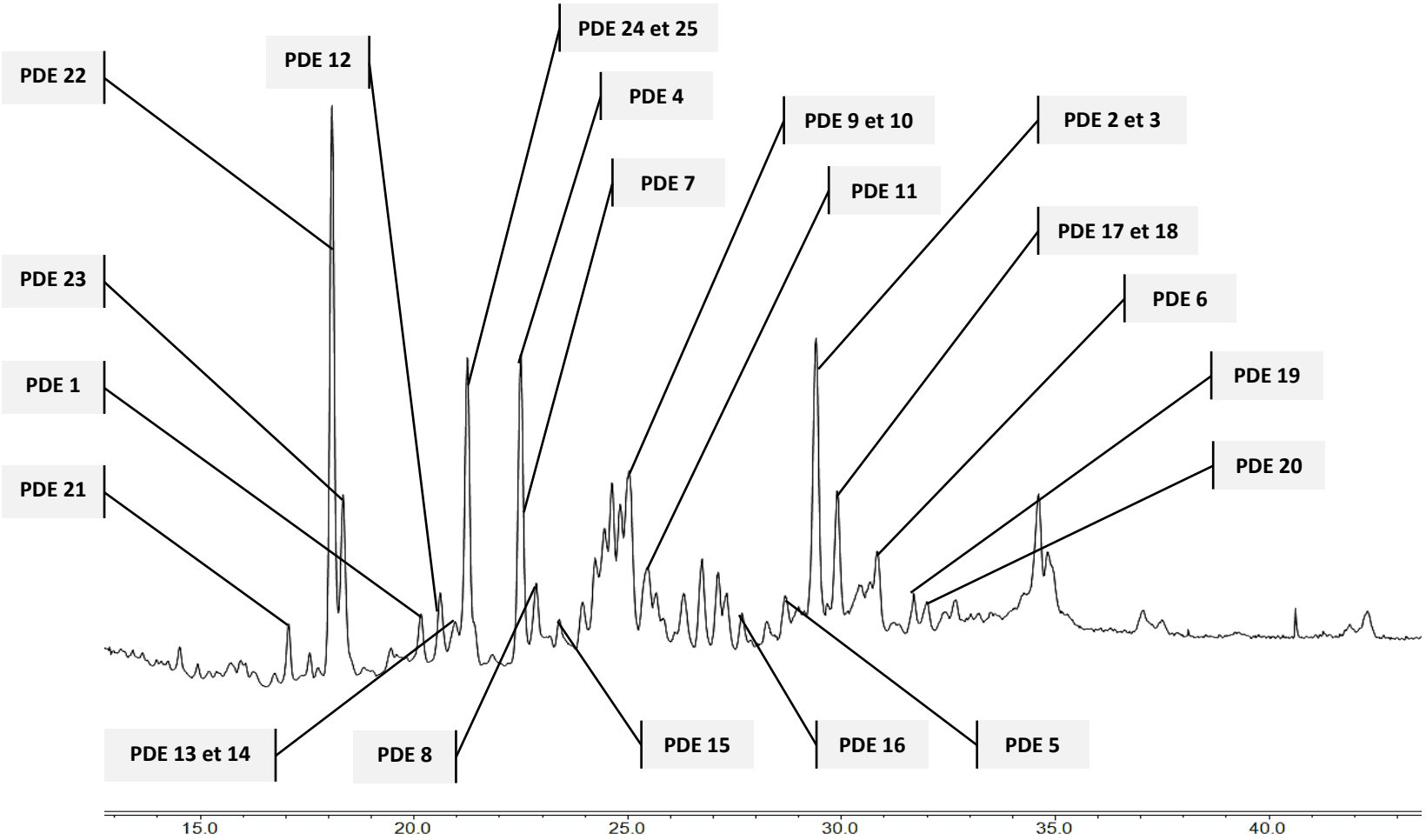


Figure 155 : Profil CLHP-CAD de l'extrait brut de *P. dentata* avec l'annotation des molécules identifiées.

Colonne : Gemini C18, 150*4,6 mm Eluant : H_2O+0,1% AF/ACN+0,1% AF
Gradient : 80 : 20 à 10 : 90 (45 min), 10 : 90 à 0 : 100 (15 min), 0 : 100 (10 min) Débit : 0,7 mL/min

ANNEXE IX

Spectres de masse SM^2 des nœuds annotés sur le réseau moléculaire de *Psiadia dentata*

Annexe IX. 1. Spectres SM^2 des nœuds annotés du cluster 1 de *P. dentata*

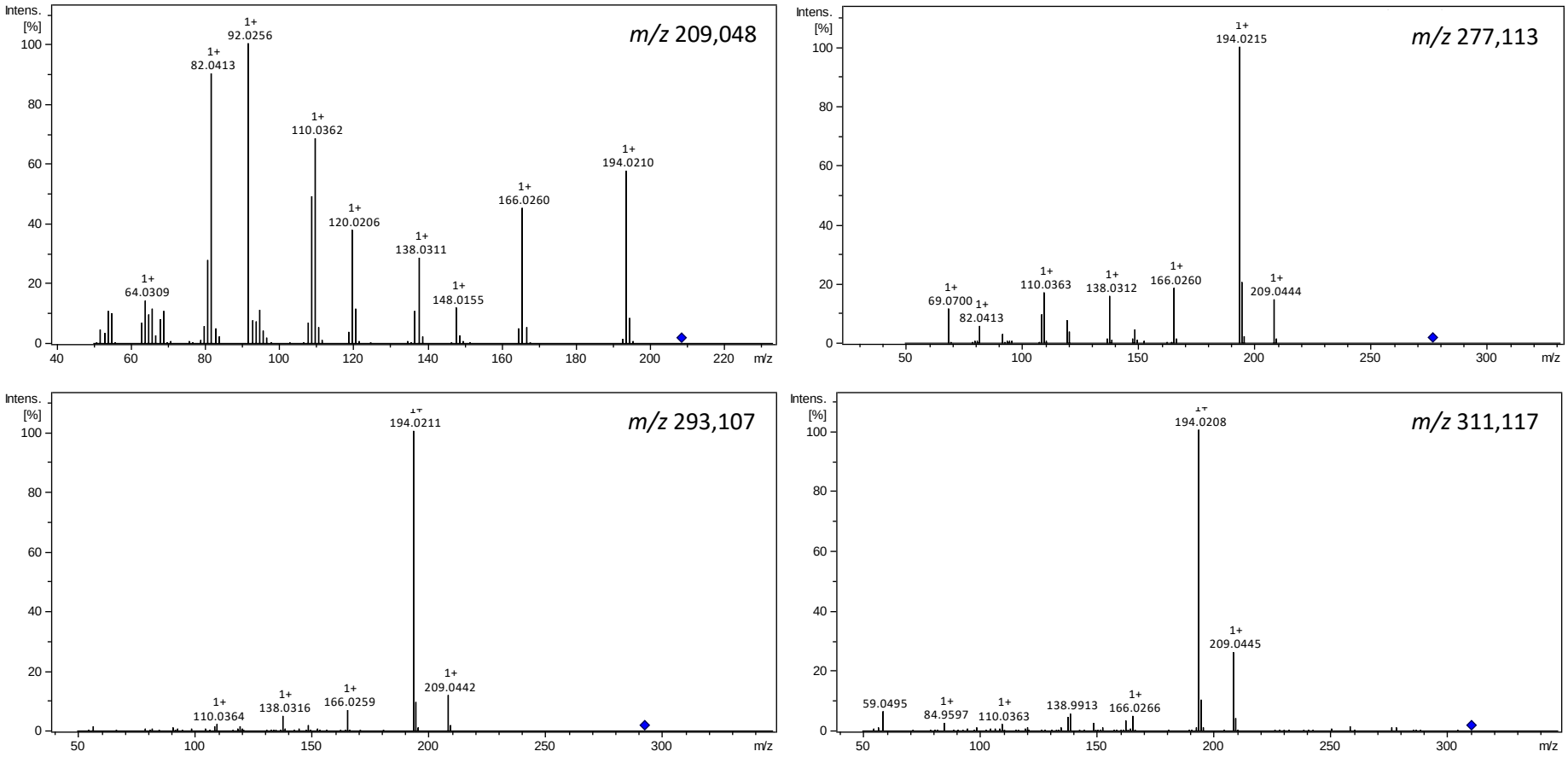


Figure 156 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI$^+$) des coumarines annotées du cluster 1.

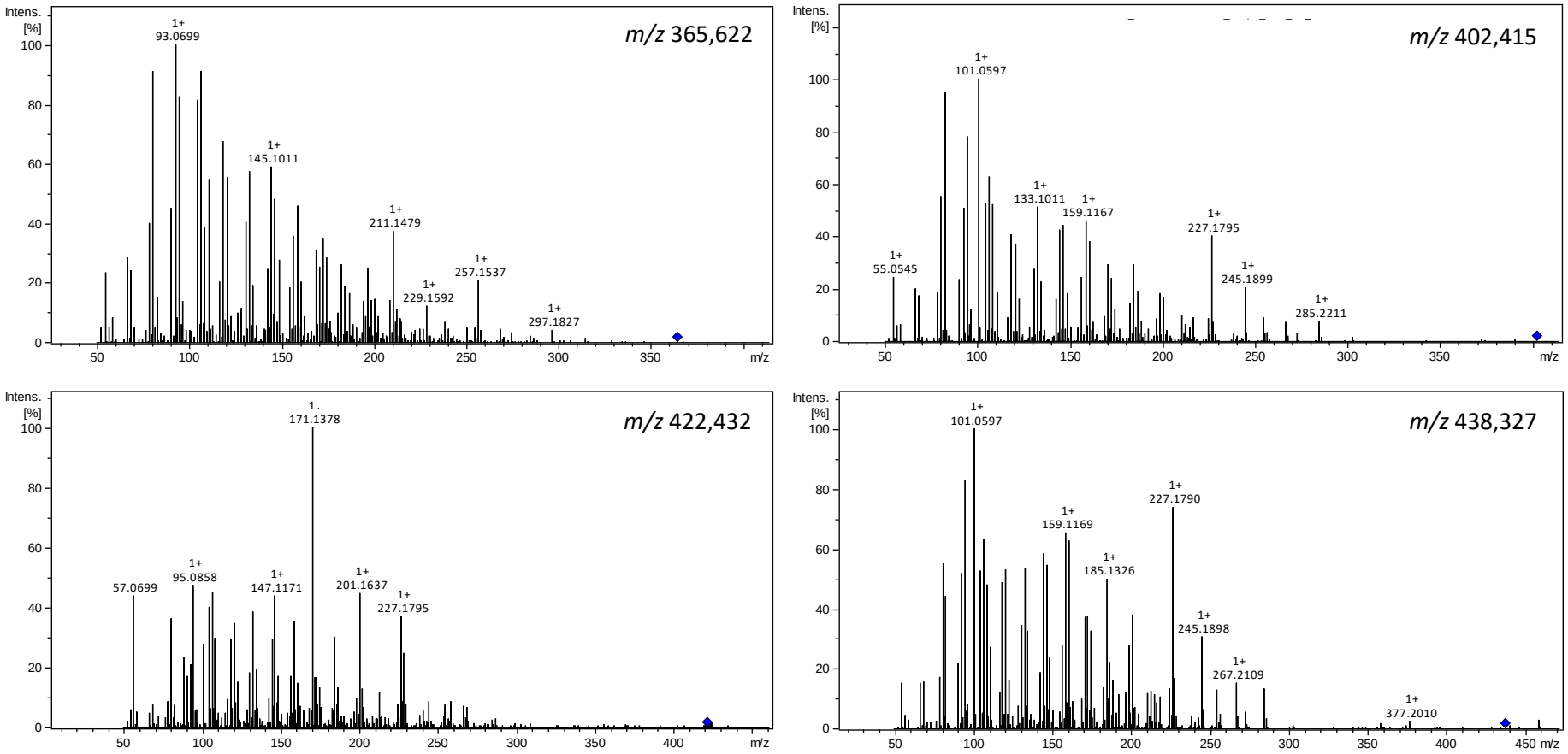


Figure 157 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI^+) des diterpènes annotés du cluster 1.

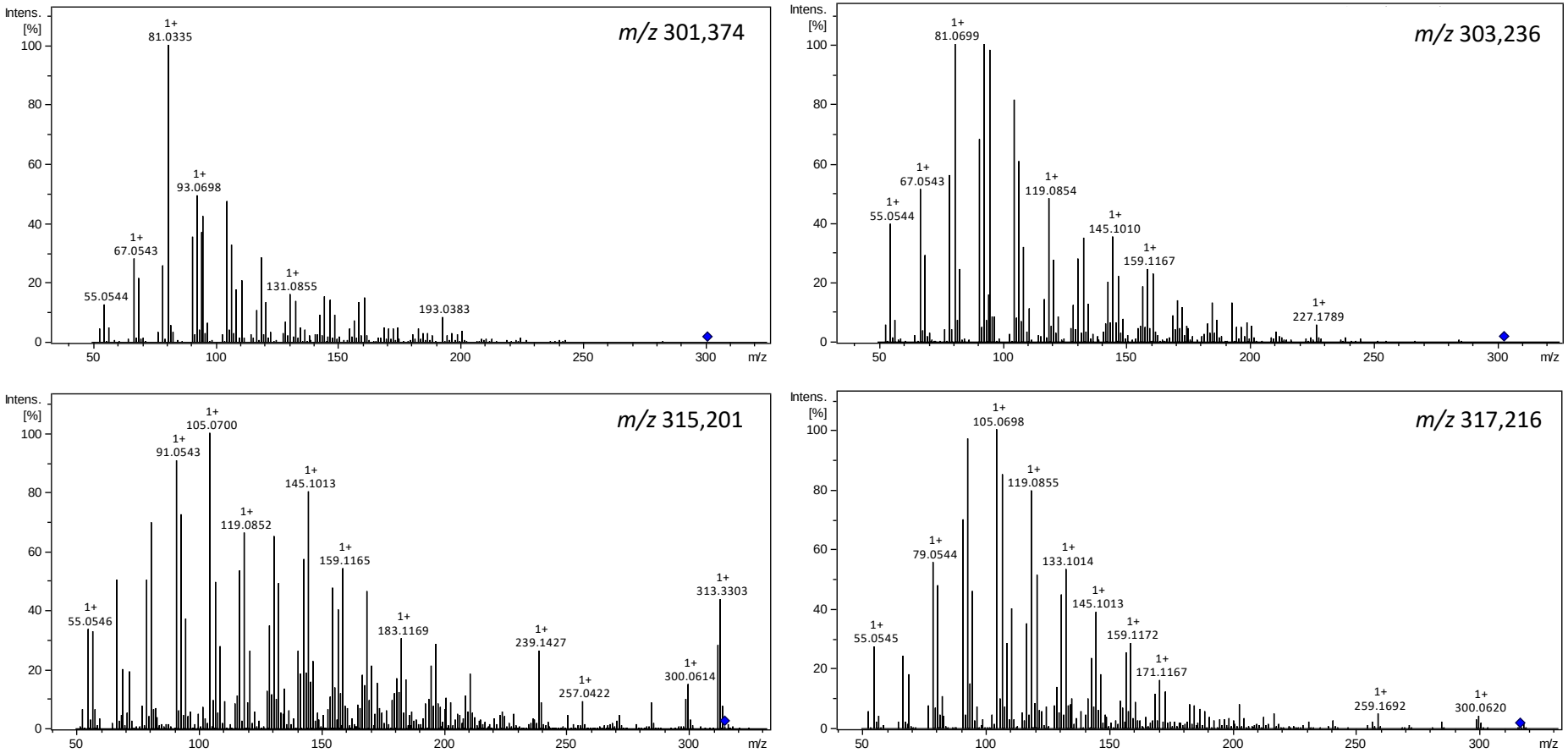


Figure 158 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI^+) des triterpènes annotés du cluster 1.

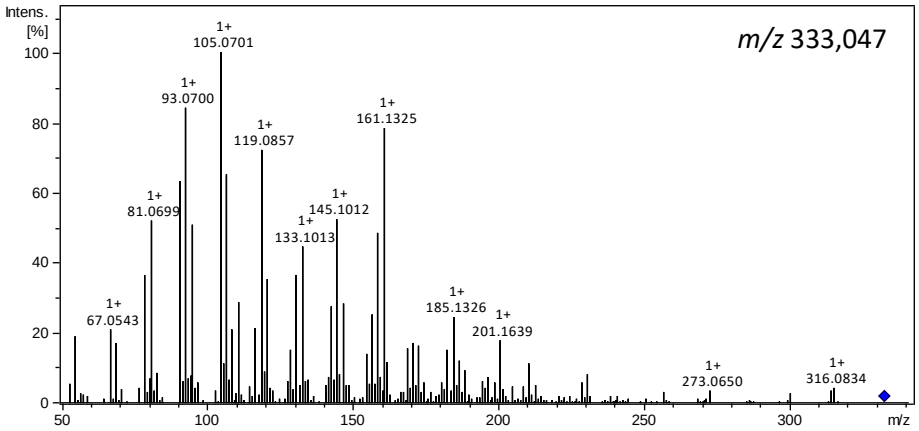


Figure 158 (suite).

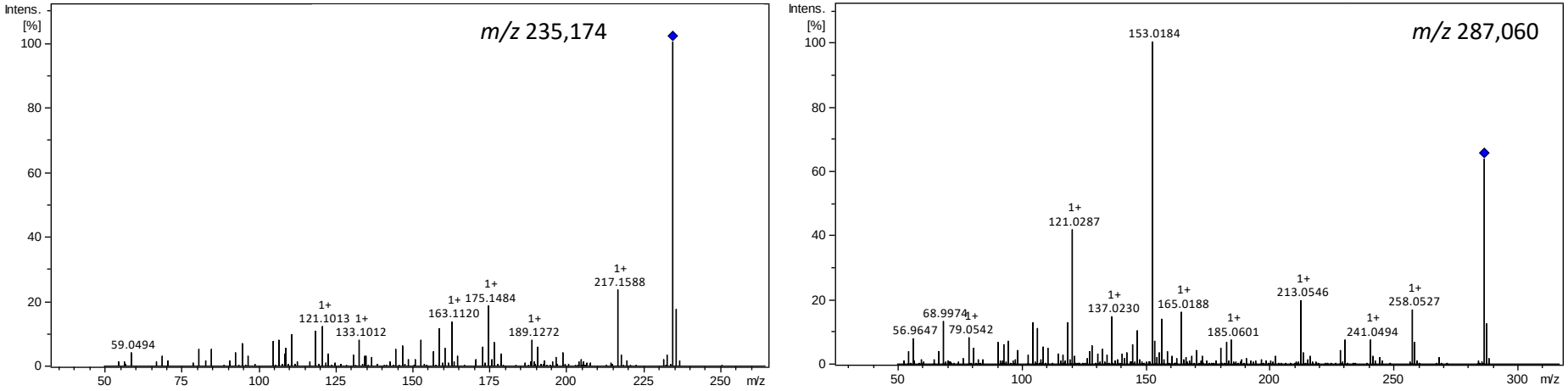


Figure 159 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI^+) des alcaloïdes et des flavonoïdes annotés du cluster 1.

Annexe IX. 2. Spectres SM² des nœuds annotés du cluster 2

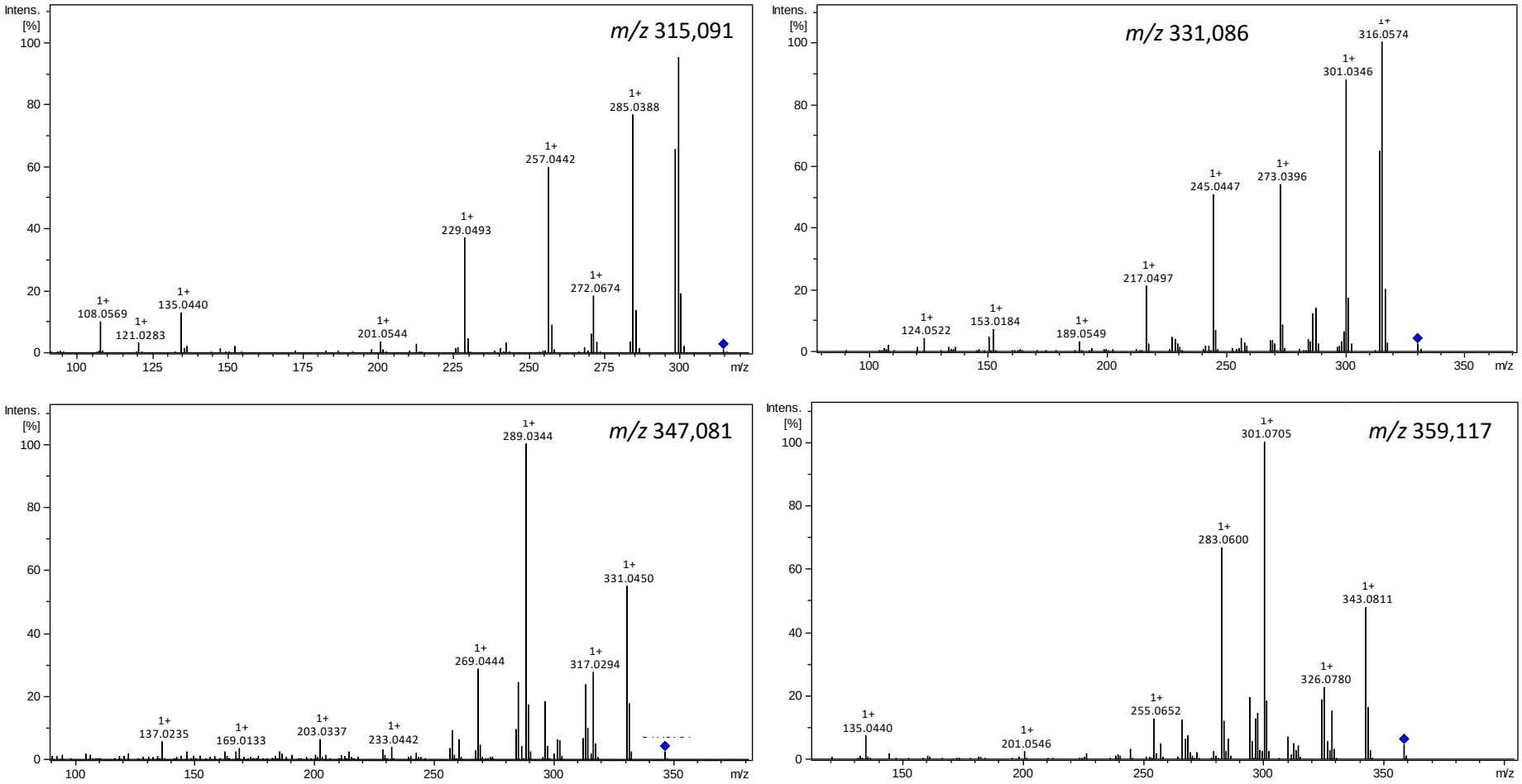


Figure 160 : Spectres de masse SM² en mode positif (ESI⁺) des flavonoïdes annotées du cluster 2.

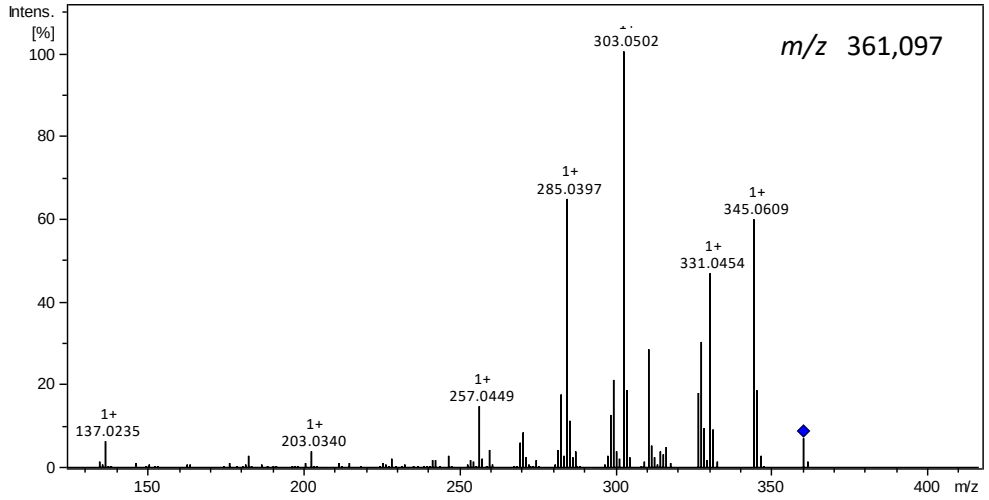


Figure 160 (suite).

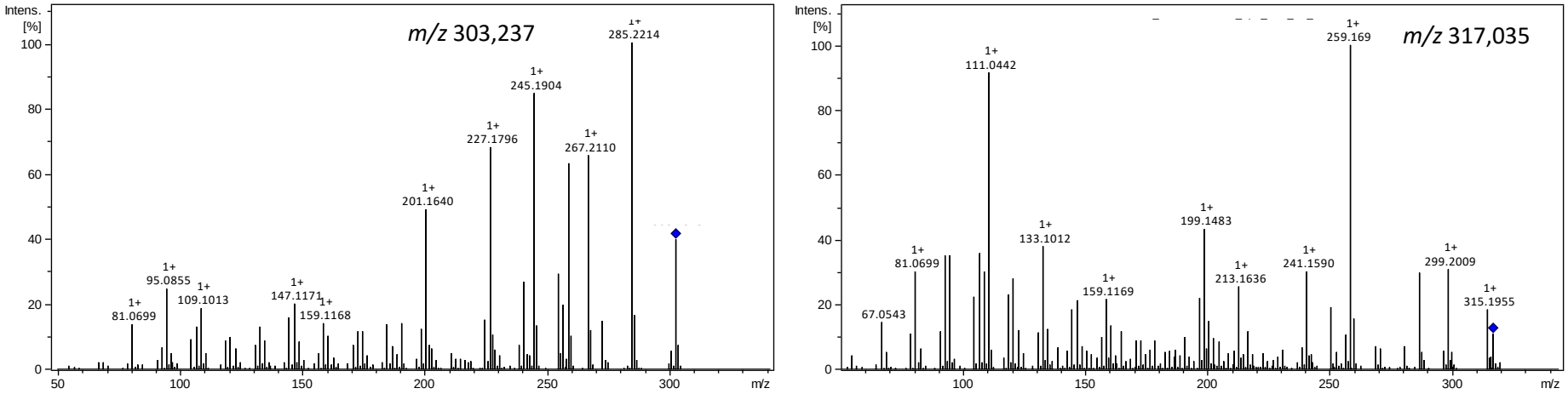


Figure 161 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI^+) des diterpènes annotées du cluster 2.

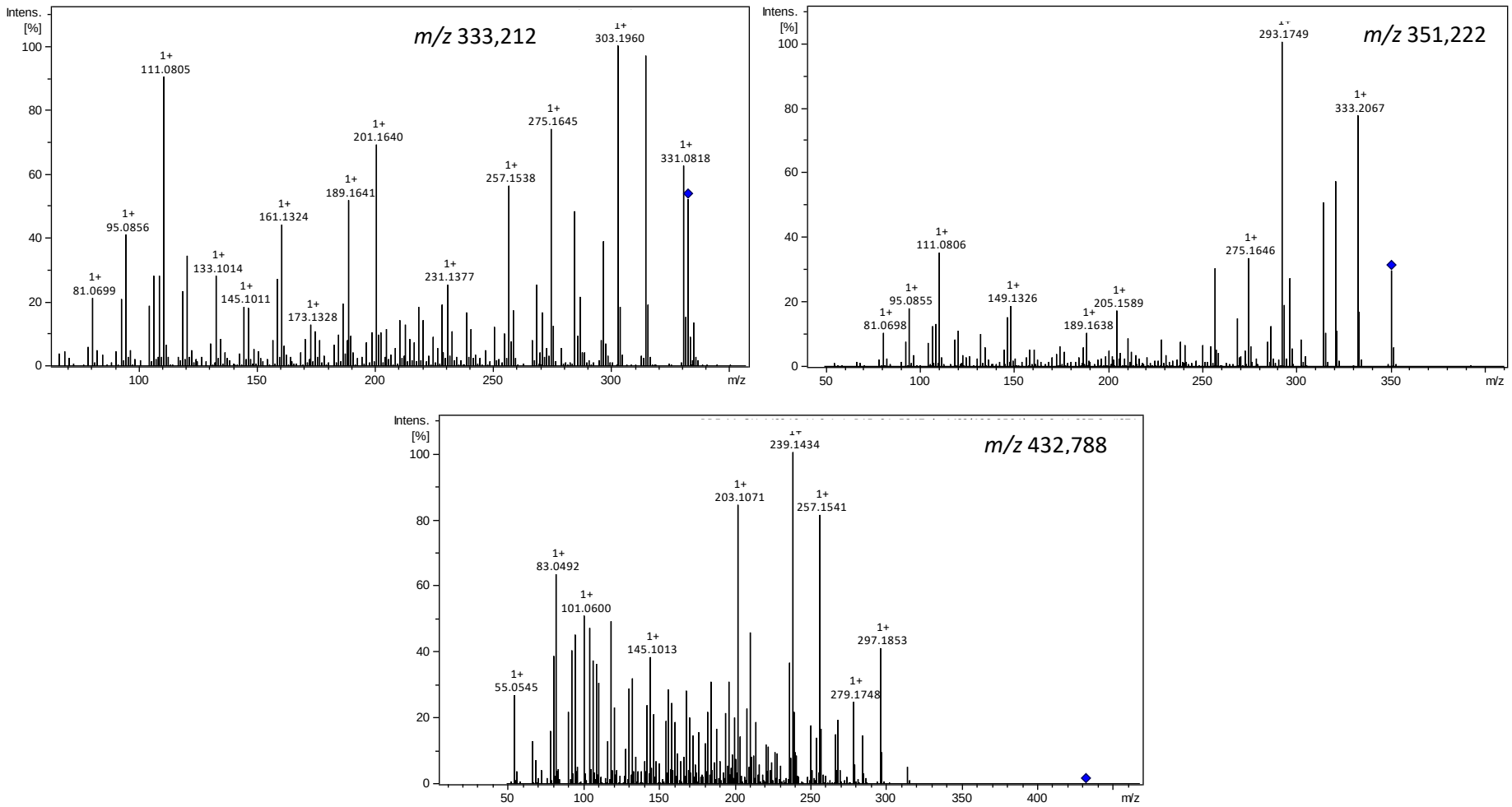


Figure 161 (suite).

Annexe IX. 3. Spectres SM^2 des nœuds annotés du cluster 8

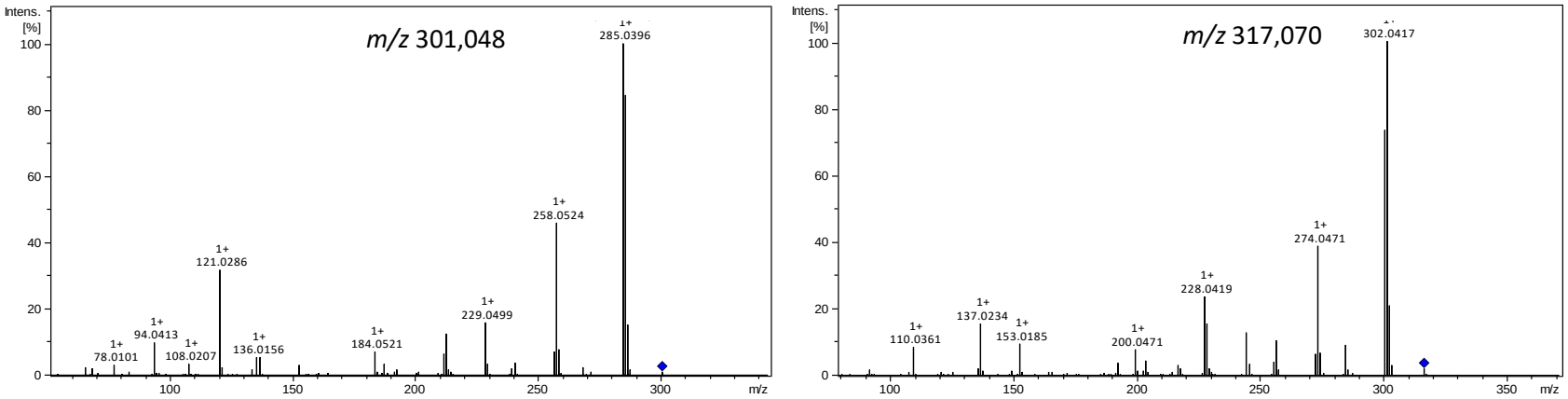


Figure 162 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI$^+$) des flavonoïdes annotées du cluster 8.

Annexe IX. 4. Spectres SM^2 des nœuds non clustérisés annotés

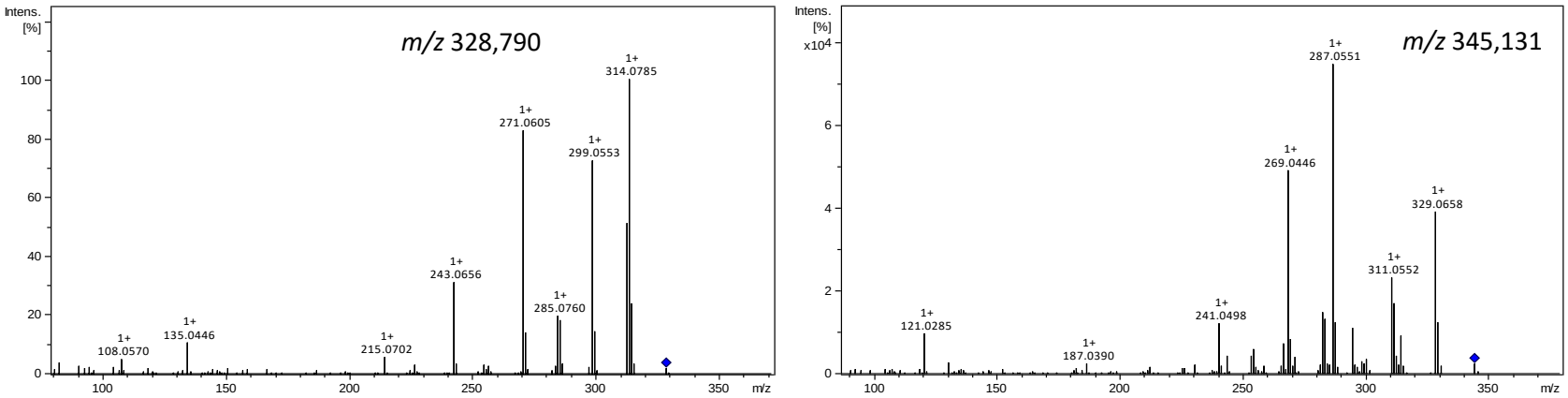
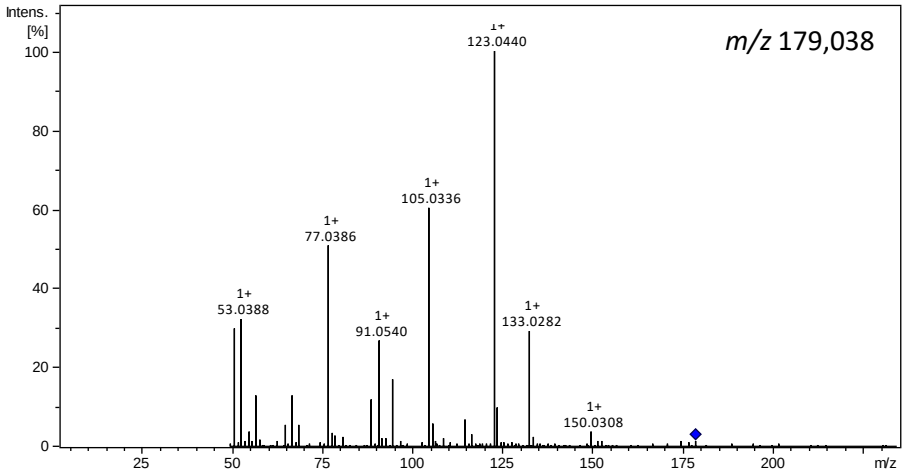


Figure 163 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI$^+$) des flavonoïdes annotées des nœuds non clustérisés.



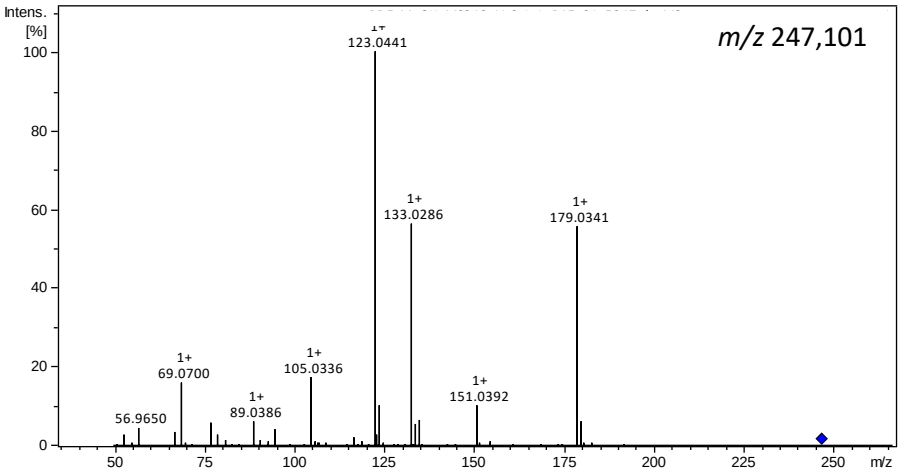


Figure 164 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI^+) des coumarines annotées des nœuds non clustérisés.

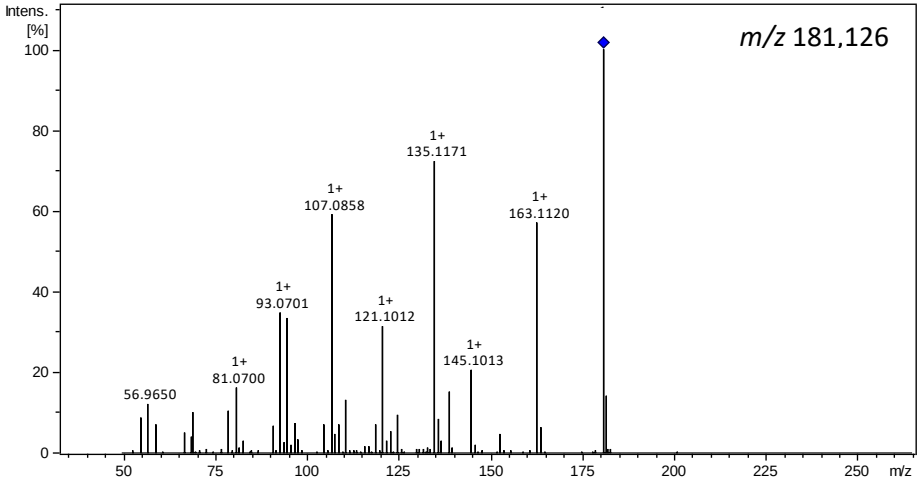


Figure 165 : Spectres de masse SM^2 en mode positif (ESI^+) des alcaloïdes annotées des nœuds non clustérisés.

ANNEXE X

Activités biologiques des composés isolés et/ou détectés par CLUHP-SM^2 de *Psiadia dentata*

Tableau XLV : Données sur les activités biologiques des composés isolés et/ou détectés par CLUHP-SM^2 de *P. dentata.*

Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 1 **Isoobtusitine**	*Psiadia dentata*	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
		- Antivirale	Fortin *et al.*, 2001
PDE 2 et **PDE 3** **3α-angéoyloxy-19,16*(R)*- et 3α-angéoyloxy-19,16*(S)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide**	*Psiadia dentata* (molécules nouvelles)	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
		- Anti-inflammatoire	
PDE 4 **Ermanine**	*Curcuma zedoaria ; Muntingia calabura*	- Antiagrégant	Chen *et al.*, 2007, 2016
	Baccharis dracunculifolia	- Antileishmaniènne	Filho *et al.*, 2009
	Baccharis dracunculifolia ; Psiadia dentata	- Antipaludique	Filho *et al.*, 2009 ; Travaux de la présente thèse
	Haplopappus sonorensis ; Rumex hymenosepalus ; Lysionotus pauciflora	- Antituberculeuse	Murillo *et al.*, 2003 ; Rivero-Cruz *et al.*, 2005 ; Xu *et al.*, 1979
	Alkanna orientalis ; Psiadia dentata	- Antivirale	Elsohly *et al.*, 1997 ; Robin *et al.*, 1998, 2001
	Tanacetum microphyllum	- Anti-inflammatoire	Abad *et al.*, 2004 ; Guerra *et al.*, 2006 ; Martinez *et al.*, 1997
	Yukari propolis ; Juglans regia ; Psiadia dentata	- Cytotoxique	Banskota *et al.*, 1998 ; Salimi *et al.*, 2014 ; Travaux de la présente thèse

Tableau XLV (suite).

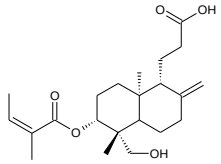
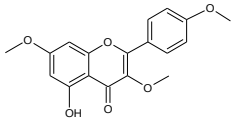
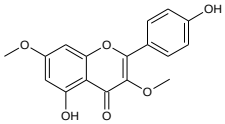
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 5  **Acide 3α-angéoyloxy-16-hydroxy-*ent*-labda-8(17)-én-13-oïque**	*Psiadia dentata* (molécule nouvelle)	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
PDE 6  **Kaempférol 3,7,4'-triméthyl éther**	*Tectona philippinensis*	- Antifongique - Antimicrobienne	Ragasa *et al.*, 2008
	Amomum koenigii ; Siparuna gigantotepala ; Artemisia annua	- Antioxydante	Phan *et al.*, 2020 ; Torres Castañeda *et al.*, 2016 ; Yang *et al.*, 2009
	Psiadia dentata	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
	Haplopappus sonorensis	- Antituberculeuse	Murillo *et al.*, 2003
	Psiadia dentata	- Anti-inflammatoire	Travaux de la présente thèse
	Synthèse *; Aframomum arundinaceum*	- Cytotoxique	Basabe *et al.*, 2010 ; Kuete *et al.*, 2014
PDE 7  **Kumatakénine**	*Buddleja albiflora*	- Antiagrégant	Zhang *et al.*, 2019b
	Haplopappus sonorensis ; Tectona philippinensis ; Alpinia purpurata	- Antifongique	Murillo *et al.*, 2003 ; Ragasa *et al.*, 2008 ; Villaflores *et al.*, 2010
	Teucrium polium	- Antimicrobienne	Boghrati *et al.*, 2016
	Muntingia calabura ; Pogostemon cablin	- Antimutagénique	Chen *et al.*, 2007 ; Miyazawa *et al.*, 2000
	Cistus laurifolius	- Antioxydante	Küpeli & Yesilada, 2007
	Synthèse *; Syzygium aromaticum*	- Antituberculeuse	Fukai *et al.*, 2000 ; Woo *et al.*, 2017
	Vitex limonifoli ; Alkanna orientalis ; synthèse	- Antivirale	Ban *et al.*, 2018 ; Elsohly *et al.*, 1997 ; Fukai *et al.*, 2000
	Varthemia iphionoides	- Anti-inflammatoire	Al-Dabbas *et al.*, 2006
	Cistus laurifolius	- Cytotoxique	Sadhu *et al.*, 2006
	Melicope semecarpifolia ; Cistus ladanifer	- Inhibiteur d'enzyme	Chen *et al.*, 2008a ; Sosa *et al.*, 2004

Tableau XLV (suite).

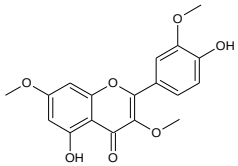
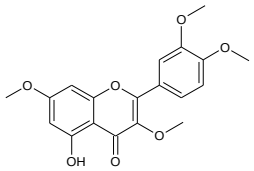
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 8  **Pachypodol**	*Pogostemon cablin*	- Antiémétique	Yang *et al.*, 1999
		- Antimutagénique	Miyazawa *et al.*, 2000
	Varthemia iphionoides ; Artemisia annua ; Entada spiralis ; Pogostemon cablin	- Antioxydante	Al-Dabbas *et al.*, 2006 ; Kim *et al.*, 2019 ; Roheem *et al.*, 2019 ; Yang *et al.*, 2009
	Psiadia dentata	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
	Synthèse	- Antivirale	Arita *et al.*, 2015 ; Ishitsuka *et al.*, 1982 ; Robin *et al.*, 2001 ; Sandoval & Carrasco, 1997
	Anoectochilus annamensis	- Anti-inflammatoire	Hoi *et al.*, 2016
	Calycopteris floribunda ; Combretum quadrangulare ; Miliusa balansae ; Syzygium aromaticum	- Cytotoxique	Ali *et al.*, 2008 ; Banskota *et al.*, 2000b ; Huong *et al.*, 2005 ; Ryu *et al.*, 2016
	Combretum quadrangulare	- Hépatoprotective	Banskota *et al.*, 2000a
	Entada spiralis	- Inhibiteur d'enzyme	Roheem *et al.*, 2019
	Melicope semecarpifolia ; Croton ciliatoglanduliferus ; synthèse *; Pogostemon cablin*	- Autres	Chen *et al.*, 2008a ; González-Vázquez *et al.*, 2006 ; Madan *et al.*, 2005 ; Ruan *et al.*, 2013
PDE 9  **Rétusine**	*Kaempferia parviflora*	- Antiallergique	Tewtrakul *et al.*, 2008
	Pogostemon cablin	- Antiémétique	Yang *et al.*, 1999
	Synthèse	- Antihypertensive	Wang *et al.*, 2014b
	Amomum koenigii	- Antimicrobienne - Antioxydante	Phan *et al.*, 2020
	Kaempferia parviflora	- Antitumorale - Anti-inflammatoire	Tewtrakul & Subhadhirasakul, 2008 Horigome *et al.*, 2014 ; Sae-wong *et al.*, 2009 ; Tewtrakul & Subhadhirasakul, 2008
	Synthèse *; Kaempferia parviflora*	- Cytotoxique	Martins *et al.*, 2015 ; Ninomiya *et al.*, 2016
	Croton ciliatoglanduliferus ; synthèse	- Inhibiteur d'enzyme	González-Vázquez *et al.*, 2006 ; Moon *et al.*, 2011
	Achyrocline satureioides	- Myorelaxante	Hnatyszyn *et al.*, 2004
	Kaempferia parviflora	- Neuroprotective	Lu *et al.*, 2015
	Bridelia ferruginea	- Autre	Cimanga *et al.*, 1999

Tableau XLV (suite).

Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 10 **Pendulétine 4'-méthyl éther**	*Dodonaea viscosa*	- Antileishmaniènne	Mostafa *et al.*, 2014
	Laggera pterodonta	- Antimicrobienne	Yang *et al.*, 2007
	Psiadia dentata	- Antipaludique - Anti-inflammatoire	Travaux de la présente thèse
	Duranta repens ; Oxalis corniculata	- Inhibiteur d'enzyme	Anis *et al.*, 2002 ; Imran *et al.*, 2020
PDE 11 **3α-angéloyloxy-19-hydroxy-*ent*-labda-8(17),13*E*-dién-15-al**	*Psiadia dentata* (molécule nouvelle)	- Antipaludique - Anti-inflammatoire	Travaux de la présente thèse
PDE 12 **Pendulétine**	*Artemisia rupestris ; Gynandropsis gynandra ; Vitex negundo*	- Antimicrobienne	Lan *et al.*, 2019 ; Pettit *et al.*, 2005 ; Sichaem *et al.*, 2019
	Varthemia iphionoides ; synthèse	- Antioxydante	Al-Dabbas *et al.*, 2006 ; Dugas *et al.*, 2000
	Psiadia dentata	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
	Trixis vauthieri	- Antiparasitaire	Ribeiro *et al.*, 1997
	Synthèse *; Laggera pterodonta*	- Antivirale	Dai *et al.*, 2019 ; Zhu *et al.*, 2011
	Artemisia copa	- Anti-inflammatoire	Moscatelli *et al.*, 2006
	Plectranthus cylindraceus ; Dimorphandra mollis ; Vitex trifolia ; Dracocephalum kotschyi ; Gynandropsis gynandra	- Cytotoxique	Amina *et al.*, 2018 ; Freitas *et al.*, 2011 ; Li *et al.*, 2005 ; Moghaddam *et al.*, 2012 ; Pettit *et al.*, 2005
	Varthemia iphionoides	- Inhibiteur d'enzyme	Al-Dabbas *et al.*, 2006
PDE 13 **Chrysosplénétine**	*Artemisia rupestris*	- Antimicrobienne	Lan *et al.*, 2019
	Laggera pterodonta	- Antivirale	Zhu *et al.*, 2011
	Pyrethrum pulchrum ; Vitex aynus-castus	- Cytotoxique	Erdenetsogt *et al.*, 2020 ; Hirobe *et al.*, 1997
	Synthèse *; Artemisia rupestris ; Artemisia annua*	- Inhibiteur d'enzyme	Arroo *et al.*, 2020 ; Cao *et al.*, 2019 ; Chougouo *et al.*, 2016 ; Şöhretoğlu *et al.*, 2020
	Synthèse	- Autre	Hong *et al.*, 2019 ; Wei *et al.*, 2015

Tableau XLV (suite).

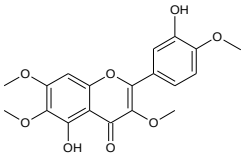
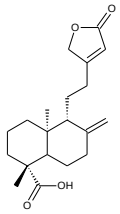
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 14  **Casticine**	*Vitex rotundifolia*	- Analgésique	Hu *et al.*, 2007b
	Vitex rotundifolia ; Vitex trifolia ; Vitex fructusand	- Antiasthmatique	Koh *et al.*, 2011 ; Liou *et al.*, 2018 ; Wang, 2018
	Vitex rotundifolia	- Antihyperprolactinémie	Hu *et al.*, 2007b ; Ye *et al.*, 2010
	Artemisia annua ; Vitex negundo	- Antimicrobienne	Ivarsen *et al.*, 2014 ; Sichaem *et al.*, 2019
	Vitex agnus-castus	- Antioxydante	Hajdú *et al.*, 2007
	Brickellia veronicaefolia	- Antipaludique	Elford *et al.*, 1987
	Achillea millefolium	- Antitumorale	Csupor-Löffler *et al.*, 2009
	Vitex rotundifolia	- Anti-athérosclérotique	Kim & Shim, 2019
	Vitex rotundifolia ; Vitex fructus ; Vitex agnus-castus ; Vitex trifolia ; Artemisia annua ; synthèse	- Anti-inflammatoire	Lee *et al.*, 2013, 2015, 2012 ; Li & Shen, 2016 ; Li *et al.*, 2015 ; Lin *et al.*, 2007 ; Liou *et al.*, 2014 ; Wang *et al.*, 2016 ; Wee *et al.*, 2020 ; You *et al.*, 1998 ; Zhu *et al.*, 2013
	Dimorphandra mollis ; Vitex agnus-castus ; Vitex rotundifolia ; Viticis Fructus ; Artemisia annua ; synthèse *; Vitex trifolia ; Vitex sp.*	- Cytotoxique	Freitas *et al.*, 2011 ; Kikuchi *et al.*, 2013 ; Kim *et al.*, 2012 ; Kobayakawa *et al.*, 2004 ; Lang *et al.*, 2019, 2020 ; Li *et al.*, 2005 ; Lin *et al.*, 2019 ; Liu *et al.*, 2019 ; Ono *et al.*, 2002 ; Qiao *et al.*, 2019 ; Shen *et al.*, 2009 ; Song *et al.*, 2010 ; Wang *et al.*, 2005 ; Xie *et al.*, 2011 ; Yang *et al.*, 2011a ; Zhou *et al.*, 2013
	Vitex agnus-castus ; Vitex rotundifolia	- Inhibiteur d'enzyme	Certo *et al.*, 2017 ; Choudhary *et al.*, 2009 ; Hassoun *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2013
	Vitex trifolia	- Spasmolytique	Alam *et al.*, 2002
	Vitex negundo ; Vitex rotundifolia ; Vitex agnus-castus	- Autres	Feng *et al.*, 2012 ; Hu *et al.*, 2007a ; Mesaik *et al.*, 2009 ; Webster *et al.*, 2011 ; Zhou *et al.*, 2017
PDE 15  **Acide *ent*-8(17)-labda-13-dièn-15,16-olid-19-oïque**	*Grindelia humilis*	- Antifeedant	Rose *et al.*, 1981
	Psiadia dentata	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse

Tableau XLV (suite).

Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 16 **3α-angéoyloxy-19-hydroxy-15,16-diméthoxy-*ent*-labda-8(17)-én-furan-13,14-diol**	*Psiadia dentata* (molécule nouvelle)	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
PDE 17 et **PDE 18** **3α-angéoyloxy-19,15*(R)*-** et **3α-angéoyloxy-19,15*(S)*-dihydroxy-*ent*-andrograpanine**	*Psiadia dentata* (molécules nouvelles)	- Antipaludique - Anti-inflammatoire	Travaux de la présente thèse
PDE 21 **3-*O*-méthylquercétine**	*Rhamnus nakaharai*	- Antiagrégant	Lin *et al.*, 1995
		- Antiasthmatique	Jiang *et al.*, 2007
	Cistus laurifolius ; Eremanthus crotonoides	- Antidiabétique	Enomoto *et al.*, 2004 ; Silva *et al.*, 2016
	Synthèse	- Antifibrotique	Ganbold *et al.*, 2019
	Halimodendron halodendron	- Antifongique	Wang *et al.*, 2012
	Strychnos pseudoquina	- Antiherpès	Boff *et al.*, 2016
	Tagetes minuta ; Strychnos pseudoquina *Crataegus azarolus* var. *eu- azarolus*	- Antileishmaniènne	Al-Musayeib *et al.*, 2014 ; Lage *et al.*, 2013
	Halimodendron halodendron ; Inula viscosa ; Cistus laurifolius ; Anthemis altissima	- Antimicrobienne	Abu-Gharbieh & Shehab, 2017 ; Konstantinopoulou *et al.*, 2003 ; Talib *et al.*, 2012 ; Ustün *et al.*, 2006 ; Wang *et al.*, 2012

Tableau XLV (suite).

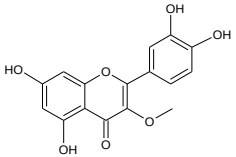
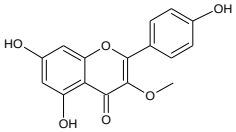
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 21  **3-*O*-méthylquercétine (suite)**	*Opuntia ficus-indica* var. *saboten ; Geigeria alata ;* synthèse ; *Carex folliculata* ; *Cistus laurifolius ; Propolis ; Halimodendron halodendron*	- Antioxydante	Dok-Go *et al.*, 2003 ; Fadul *et al.*, 2020 ; Kim *et al.*, 2009 ; Lee *et al.*, 2015b ; Li *et al.*, 2009 ; Sadhu *et al.*, 2006 ; Tugba Degirmencioglu *et al.*, 2019 ; Wang *et al.*, 2012 ; Zhang *et al.*, 2020
	Tagetes minuta ; *Psiadia dentata*	- Antipaludique	Al-Musayeib *et al.*, 2014 ; Travaux de la présente thèse
	Synthèse	- Antivirale	Castrillo & Carrasco, 1987 ; Vlietinck *et al.*, 1986 ; Vrijsen *et al.*, 1987
	Vellozia dasypus ; Strychnos pseudoquina ; Rhamnus nakaharai ; Siegesbeckia glabrescens ; Grindelia robusta ; Cistus laurifolius ; Larrea divaricata ; synthèse *; Euphorbia lunulata*	- Anti-inflammatoire	Almeida *et al.*, 2021 ; Boff *et al.*, 2016 ; Jiang *et al.*, 2006 ; Kim *et al.*, 2008 ; Krenn *et al.*, 2009 ; Küpeli & Yesilada, 2007 ; Martino *et al.*, 2016 ; Okoko & Oruambo, 2009 ; Wei *et al.*, 2001 ; Yang *et al.*, 2011b
	Ophioglossum vulgatum	- Cicatrisante	Clericuzio *et al.*, 2012
	Achyrocline satureioides ; synthèse *; Chorizanthe diffusa ;* synthèse *; Inula viscosa* ; *Morus wittiorum* ; *Euphorbia lunulata*	- Cytotoxique	Bianchi *et al.*, 2020 ; Cao *et al.*, 2019 ; Chung *et al.*, 1999 ; Li *et al.*, 2012 ; Souza *et al.*, 2018 ; Talib *et al.*, 2012 ; Tan *et al.*, 2010 ; Yamauchi *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2011b ; Zhang *et al.*, 2020
	Cistus laurifolius	- Inhibiteur d'enzyme	Sadhu *et al.*, 2006
	Achyrocline satureioides ; synthèse	- Myorelaxante	Hnatyszyn *et al.*, 2004 ; Ko *et al.*, 1999
	Opuntia ficus-indica ; Heteroplexis micocephal	- Neuroprotective	Dok-Go *et al.*, 2003 ; Fan *et al.*, 2011
PDE 22  **Isokaempféride**	*Caragana leucophloea*	- Antimicrobienne	Luo *et al.*, 2015
	Hornstedtia sp. ; Centaurea virgata	- Antioxydante	Hashim *et al.*, 2015 ; Tuzun *et al.*, 2017
	Psiadia dentata	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
	Baccharis conferta ; Dracocephalum subcapitatum	- Antiparasitaire	Cortes-Morales *et al.*, 2019 ; Saeidnia *et al.*, 2005
	Alkanna orientalis ; Nymphaea alba ; Psiadia dentata	- Antivirale	Elsohly *et al.*, 1997 ; Rehman *et al.*, 2018 ; Robin *et al.*, 2001
	Amburana cearensis ; *Psiadia dentata*	- Anti-inflammatoire	Leal *et al.*, 2009 ; Travaux de la présente thèse

Tableau XLV (suite).

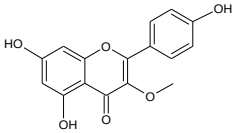
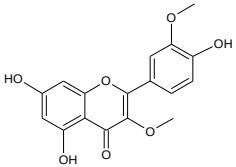
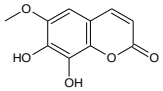
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 22  **Isokaempféride (suite)**	*Combretum quadrangulare ; Zingiber zerumbet ; Amburana cearensis ; Centaurea arenaria ; Centaurea jacea ; Dracocephalum kotschyi ; Dracocephalum kotschyi ; Acorus gramineus*	- Cytotoxique	Banskota *et al.*, 2000b ; Chung *et al.*, 2007 ; Costa-Lotufo *et al.*, 2003 ; Csapi *et al.*, 2010 ; Forgo *et al.*, 2012 ; Moghaddam *et al.*, 2012 ; Nourozi *et al.*, 2019 ; Park *et al.*, 2011
	Combretum quadrangulare	- Hépatoprotectrice	Banskota *et al.*, 2000a
	Varthemia iphionoides ; Hornstedtia sp. ; Zingiber aromaticum	- Inhibiteur de l'enzyme	Al-Dabbas *et al.*, 2006 ; Hashim *et al.*, 2015 ; Usia *et al.*, 2004
	Amburana cearensis	- Myorelaxante	Leal *et al.*, 2006
PDE 23  **Quercétine 3,3'-dimethyl éther**	*Inula viscosa ; Halimodendron halodendron*	- Antimicrobienne	Talib *et al.*, 2012 ; Wang *et al.*, 2012
	Varthemia iphionoides	- Antioxydante	Al-Dabbas *et al.*, 2006
	Psiadia dentata	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
	Chiliadenus montanus	- Anti-inflammatoire	Habib *et al.*, 2020
	Combretum quadrangulare ; Inula viscosa ; synthèse	- Cytotoxique	Banskota *et al.*, 2000b ; Talib *et al.*, 2012 ; Wu *et al.*, 2019b
	Combretum quadrangulare	- Hépatoprotective	Banskota *et al.*, 2000a
	Varthemia iphionoides	- Inhibiteur d'enzyme	Al-Dabbas *et al.*, 2006
	Synthèse	- Myorelaxant	Abdalla *et al.*, 1989
PDE 24  **Fraxétine**	*Jatropha cilliata*	- Analgésique	Okuyama *et al.*, 1996
	Synthèse	- Antiagrégant	Zaragozá *et al.*, 2016
	Synthèse *; Cortex Fraxini*	- Antidiabétique	Mo *et al.*, 2019 ; Murali *et al.*, 2013 ; Yao *et al.*, 2018
	Synthèse	- Antifibrotique	Wu *et al.*, 2019a
	Fraxinus excelsior ; Fraxinus hupehensis	- Antifongique	Nemesio-Gorriz *et al.*, 2020 ; Zhao *et al.*, 2020
	Tagetes lucida ; Fraxinus rhynchophylla ; synthèse	- Antimicrobienne	Céspedes *et al.*, 2006 ; Wang *et al.*, 2014a ; Yang *et al.*, 2017
	Synthèse *; Fraxinus sieboldiana ; Fraxinus rhinchophylla ; Sapium discolor*	- Antioxydante	Fernandez-Puntero *et al.*, 2001 ; Fylaktakidou *et al.*, 2004 ; Lin *et al.*, 2008 ; Martín-Aragón *et al.*, 1997 ; Medina *et al.*, 2014 ; Potapovich *et al.*, 2012 ; Thuong *et al.*, 2009, 2010 ; Witaicenis *et al.*, 2014 ; Wu *et al.*, 2007 ; Yanishlieva & Marinova, 1996 ; Zhang *et al.*, 2019c

Tableau XLV (suite).

Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 24 **Fraxétine (suite)**	*Psiadia dentata*	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
	Synthèse	- Antitumorale	Li *et al.*, 2017 ; Ren *et al.*, 2020 ; Yin *et al.*, 2018
	Synthèse	- Anti-arthrose	Wang *et al.*, 2020
	Fraxinus chinensis ; Angelica tenuissima ; synthèse	- Anti-inflammatoire	Chang *et al.*, 2020 ; Chen *et al.*, 2018 ; Choi *et al.*, 2017 ; Fylaktakidou *et al.*, 2004 ; Kimura *et al.*, 1985
	Synthèse	- Cytotoxique	Kaneko *et al.*, 2003 ; Kimura & Sumiyoshi, 2015 ; Molina-Jimenez *et al.*, 2003 ; Paya *et al.*, 1994 ; Song *et al.*, 2021 ; Zhang *et al.*, 2019b
	Fraxinus bungeana	- Inhibiteur d'enzyme	Chang *et al.*, 1996
	Synthèse	- Neuroprotective	Molina-Jiménez *et al.*, 2004
		- Autres	Kuo *et al.*, 2006 ; Miao *et al.*, 2021
PDE 25 **5-hydroxy-dihydroluvangétine**	*Psiadia dentata* (molécule nouvelle)	- Antipaludique	Travaux de la présente thèse
PDE 26 - PDE 30	Synthèse ; *Pterocaulon alopecuroides ; Ageratina anisochroma ; urine*	- Aucun	
PDE 31 **Annosquamosine C**	*Annona squamosa*	- Antitumorale	Sun *et al.*, 2012
		- Cytotoxique	Zhou *et al.*, 2013a

Tableau XLV (suite).

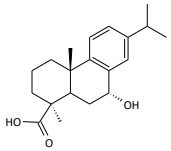
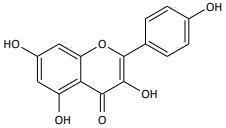
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 32  **Acide 7-hydroxycallitrisique**	*Illicium jiadifengpi*	- Antivirale	Zhang *et al.*, 2013b
	Pinus koraiensis	- Cytotoxique	Xin *et al.*, 2021
PDE 33 - PDE 34	*Mikania triangularis ; Bacillus sphaericus*	- Aucun	
PDE 35  **Kaempférol**	Synthèse	- Antiasthmatique	Gong *et al.*, 2012 ; Jung *et al.*, 2010
	Ginkgo biloba	- Antidépresseur	Hou *et al.*, 2010
	Combretum erythrophyllum ; Syzygium aromaticum ; synthèse *; Melastoma malabathricum*	- Antimicrobienne	Alwash *et al.*, 2020 ; Cai, 1996 ; Martini *et al.*, 2004 ; Siriwong *et al.*, 2016
	Synthèse *; Helichrysum simillimum*	- Antimutagénique	Elgorashi *et al.*, 2008 ; Resende *et al.*, 2012
	Vaccinium myrtillus ; Lysimachia sp. ; Astragalus beckari ; Petroselinum crispum ; Crescentia alata ; Chrozophora tinctoria ; synthèse *; Moringa Oleifera ; Aster scaber*	- Antioxydante	Autore *et al.*, 2001 ; Golkar *et al.*, 2019 ; Haidari *et al.*, 2011 ; Hasan *et al.*, 2010 ; He *et al.*, 2009 ; Hou *et al.*, 2004 ; Huang *et al.*, 2017 ; Landi-Librandi *et al.*, 2011 ; Pekkarinen *et al.*, 1999 ; Pollini *et al.*, 2020 ; Selloum *et al.*, 2001 ; Sezer *et al.*, 2019 ; Thiruvengadam *et al.*, 2014 ; Tóth *et al.*, 2016
	Synthèse *; Rotala rotundifolia ; Rhodiola rosea ; Sophora japonica*	- Antivirale	Amoros *et al.*, 1992 ; Jeong *et al.*, 2009 ; Pan *et al.*, 2020 ; Yang *et al.*, 2014 ; Zhang *et al.*, 2011
	Synthèse *; Euphorbia lunulata*	- Anti-inflammatoire	Bobe *et al.*, 2010; Crespo *et al.*, 2008; Dabeek & Marra, 2019 ; Kempuraj *et al.*, 2005 ; Lau & Chang, 2015 ; Santos *et al.*, 2014 ; Yang *et al.*, 2011b
	Synthèse *; Apocynum venetum*	- Cardiovasculaire	Dabeek & Marra, 2019 ; Xu *et al.*, 2020
	Synthèse ; *Vaccinium myrtillus ; Hippophae rhamnoides ; Chrozophora tinctoria*	- Cytotoxique	Ackland *et al.*, 2005 ; Feng *et al.*, 2021 ; Golkar *et al.*, 2019 ; Hibasami *et al.*, 2005 ; Kajiya *et al.*, 2001 ; Kim *et al.*, 2021 ; Kubina *et al.*, 2021 ; Li *et al.*, 2009b ; Nöthlings *et al.*, 2007 ; Phang *et al.*, 1993 ; Phromnoi *et al.*, 2009 ; Resende *et al.*, 2013 ; Sezer *et al.*, 2019 ; Simons *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2009 ; Zhang *et al.*, 2009

Tableau XLV (suite).

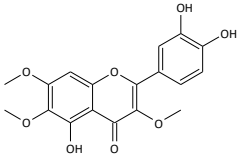
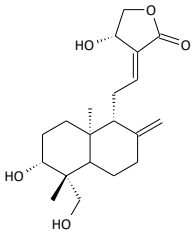
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
Kaempférol (suite)	Synthèse *; Eucalyptus citriodora ; Ginkgo biloba ; Heterotheca inuloides*	- Inhibiteur d'enzyme	Choi *et al.*, 2015 ; Kubo *et al.*, 2000 ; Labbé *et al.*, 2009 ; Lee *et al.*, 2017 ; Nasri *et al.*, 2019 ; Wang *et al.*, 2005b
	Synthèse	- Kinase	Zapata-Torres *et al.*, 2004
		- Oestrogénique	Prouillet *et al.*, 2004 ; Resende *et al.*, 2013
PDE 36  **Chrysosplénol D**	*Artemisia annua*	- Antimicrobienne	Ivarsen *et al.*, 2014 ; Stermitz *et al.*, 2002
		- Antipaludique	Liu *et al.*, 1992
		- Antitumorale	Lang *et al.*, 2019
		- Anti-inflammatoire	Li *et al.*, 2015 ; Zhu *et al.*, 2013
	Artemisia annua ; Vitex trifolia ; Vitex negundo	- Cytotoxique	Awale *et al.*, 2011 ; Lang *et al.*, 2020 ; Li *et al.*, 2005
PDE 37 - PDE 38	*Psiadia altissima ; Gutierrezia grandis*	- Aucun	
PDE 39  **Andrographolide**	*Andrographis paniculata*	- Analgésique	Suebsasana *et al.*, 2009
		- Antiagrégant	Thisoda *et al.*, 2006
		- Antimicrobienne	Tan Lim *et al.*, 2021
		- Antitumorale	Gong *et al.*, 2013
		- Antivirale	Chen *et al.*, 2014 ; Ekalaksananan *et al.*, 2015 ; Jadhav & Karuppayil, 2021 ; Reddy *et al.*, 2003 ; Wiart *et al.*, 2005
		- Anti-inflammatoire	Chandrasekaran *et al.*, 2011 ; Khan *et al.*, 2016 ; Lim *et al.*, 2012 ; Mussard *et al.*, 2020 ; Parichatikanond *et al.*, 2010 ; Suebsasana *et al.*, 2009
		- Cardiovasculaire	Awang *et al.*, 2012
		- Cytotoxique	Cheung *et al.*, 2005 ; Kapil *et al.*, 1993 ; Khan *et al.*, 2016 ; Kumar *et al.*, 2004 ; Lim *et al.*, 2012 ; Suebsasana *et al.*, 2009 ; Suriyo *et al.*, 2014 ; Suzuki *et al.*, 2016 ; Tzeng *et al.*, 2012 ; Valdiani *et al.*, 2014
		- Hypolipidémique	Yang *et al.*, 2013
	Andrographis paniculata ; synthèse	- Inhibiteur d'enzyme	Basak *et al.*, 1999 ; Li *et al.*, 2007 ; Lin *et al.*, 2019b

Tableau XLV (suite).

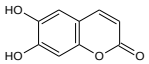
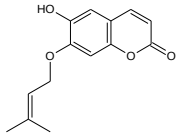
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 40  **Esculétine**	Synthèse	- Antiagrégant	Hsia *et al.*, 2019 ; Zaragozá *et al.*, 2016, 2021
		- Antiasthmatique	Mabalirajan *et al.*, 2009
	Fraxinus rhynchophylla ; synthèse *; Tagetes lucida ; Viola yedoensis*	- Antimicrobienne	Céspedes *et al.*, 2006 ; Duncan *et al.*, 1998 ; Lee *et al.*, 2014 ; Sun *et al.*, 2011 ; Yang *et al.*, 2017, 2016
	Alchemilla speciosa ; synthèse	- Antimutagénique	Schimmer & Eschelbach, 1997 ; Teel & Castonguay, 1992
	Dipteryx odorata ; synthèse	- Antioxydante	Fylaktakidou *et al.*, 2004 ; Potapovich *et al.*, 2012 ; Thuong *et al.*, 2010
	Synthèse	- Antitumorale	Wang *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2019a
	Microsorium fortunei	- Antivirale	Huang *et al.*, 2019
	Synthèse *; Artemisia capillaris ; Fraxinus rhynchophylla*	- Anti-inflammatoire	Fylaktakidou *et al.*, 2004 ; Hong *et al.*, 2014 ; Jeong *et al.*, 2018 ; Kubina *et al.*, 2021 ; Kwon *et al.*, 2011 ; Oh *et al.*, 2021 ; Prajapati *et al.*, 2021 ; Singh *et al.*, 2020 ; Sulakhiya *et al.*, 2016 ; Sun *et al.*, 2019
	Synthèse ; *Dryopteris fragrans*	- Cytotoxique	Chang *et al.*, 2016 ; Cho *et al.*, 2015 ; Chu *et al.*, 2001 ; Jeon *et al.*, 2015 ; Lacy & O'Kennedy, 2004 ; Lee *et al.*, 2013b ; Li *et al.*, 2018 ; Park *et al.*, 2017 ; Rubio *et al.*, 2017 ; Turkekul *et al.*, 2018 ; Wang *et al.*, 2002, 2015, 2019 ; Zhang *et al.*, 2021 ; Zhao *et al.*, 2014
	Synthèse	- Hépatoprotectrice	Atmaca *et al.*, 2011
	Synthèse *; Artemisia capillaris ; Euphorbia lathyris*	- Inhibiteur d'enzyme	Ali *et al.*, 2016 ; Huang *et al.*, 1993 ; Kim *et al.*, 2016 ; Kwon *et al.*, 2011 ; Masamoto *et al.*, 2003
PDE 41  **Prénylétine**	*Pterocaulon balansae ; Pterocaulon polystachyum*	- Antifongique	Stein *et al.*, 2006
	Pterocaulon polystachyum ; Haplopappus multifolius	- Antioxydante	Torres *et al.*, 2006 ; Vera *et al.*, 2007

Tableau XLV (suite).

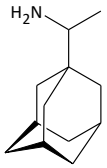
Molécules	Sources	Activités biologiques	Références
PDE 42	Synthèse	- Antiagrégant	Eckels *et al.*, 2009
		- Antivirale	Alves Galvão *et al.*, 2014 ; Bean *et al.*, 1989 ; Belshe *et al.*, 1989 ; Betts, 1989; Brooks *et al.*, 2012 ; Bruu & Orstavik, 1992 ; Deeter & Khanderia, 1986 ; Guay, 1994 ; Hall *et al.*, 1987 ; Ison, 2017 ; Jefferson *et al.*, 2000, 2001, 2002 ; Johnson, 1988 ; Sherman *et al.*, 1999 ; Wintermeyer & Nahata, 1995 ; Zimmerman *et al.*, 1997
Rimantadine		- Cytotoxique	Chayrov *et al.*, 2020

Tableau XLVI : Synthèse des activités biologiques des composés isolés et/ou détectés par CLUHP-SM^2 de *P. dentata*.

Molécules	PDE																														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	21	22	23	24	25	31	32	35	36	39	40	41	42
Analgésique														■								■						■			
Antiagrégant				■			■												■			■						■	■		■
Antiallergique									■																						
Antiasthmatique														■					■							■			■		
Antidépresseur																										■					
Antidiabétique																			■			■									
Antiémétique								■	■																						
Antifeedant															■																
Antifibrotique																			■			■									
Antifongique						■	■												■			■								■	
Antiherpès																			■												
Antihyperprolactinémie														■																	
Antihypertensive									■																						
Antileishmaniènne				■						■									■												
Antimicrobienne						■	■		■	■		■	■	■					■	■	■	■				■	■	■	■		
Antimutagénique							■	■																		■			■		
Antioxydante						■	■	■	■			■		■					■	■	■	■				■			■	■	
Antipaludique	■	■	■	■	■	■	■	■		■	■	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■				■				
Antiparasitaire												■								■											
Antituberculeuse				■		■	■																								
Antitumorale									■					■								■		■			■	■	■		
Antivirale	■			■			■	■				■	■						■	■					■	■		■			■
Anti-adipogénique																						■									
Anti-arthrose																						■									
Anti-athérosclérotique														■																	
Anti-inflammatoire		■	■	■		■	■	■	■	■	■	■		■			■	■	■	■	■	■				■	■	■	■		
Cardiovasculaire																										■		■			
Cicatrisante																			■												
Cytotoxique				■		■	■	■	■			■	■	■					■	■	■	■		■	■	■	■	■	■		■
Hépatoprotectrice								■												■	■								■		
Hypolipidémique																												■			
Inhibiteur d'enzyme							■	■	■	■		■	■	■					■	■	■	■				■		■	■		
Kinase																										■					
Myorelaxante									■										■	■	■										
Neuroprotective									■										■			■									
Oestrogénique																										■					
Spasmolytique														■																	
Autres								■	■				■	■								■									

ANNEXE XI

Méthode générale proposée par Dale & Mosher en 1973 pour déterminer une stéréochimie

L'utilisation d'un agent chiral de dérivation (ACD) tel que l'acide α-méthoxy-α-trifluorométhylphénylacétique (MTPA) permet de déterminer la stéréochimie. En effet, l'ACD forme des liaisons covalentes avec des fonctions réactives du substrat à analyser pour produire un mélange diastéréotopique non équivalent. La méthode est la suivante. La première étape est la dérivation. Deux réactifs énantiomères purs (ACD) sont utilisés séparément en faisant réagir avec une partie du substrat à étudier. Ensuite, les deux diastéréoisomères produits sont analysés par RMN et les différences des données spectrales sont calculées afin d'attribuer la chiralité de l'énantiomère substrat (**Figure 166**).

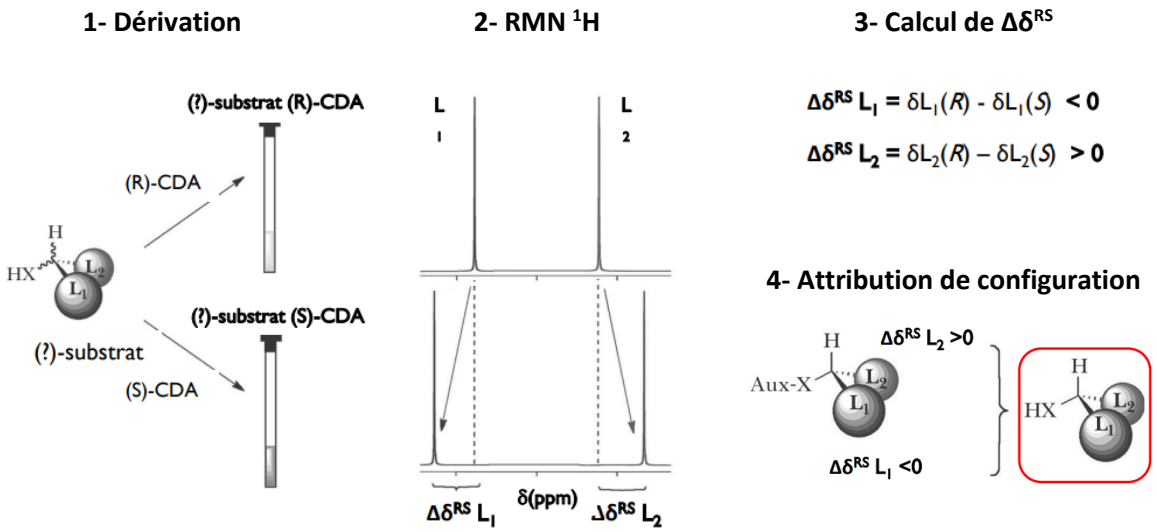


Figure 166 : Méthode générale proposée par Dale & Mosher en 1973 pour la détermination de la configuration (José *et al*., 2015).

Un exemple d'utilisation des *R*- MTPA et *S*-MTPA après la formation d'un ester (MPA-substrat) est présenté dans la **figure 167** suivante.

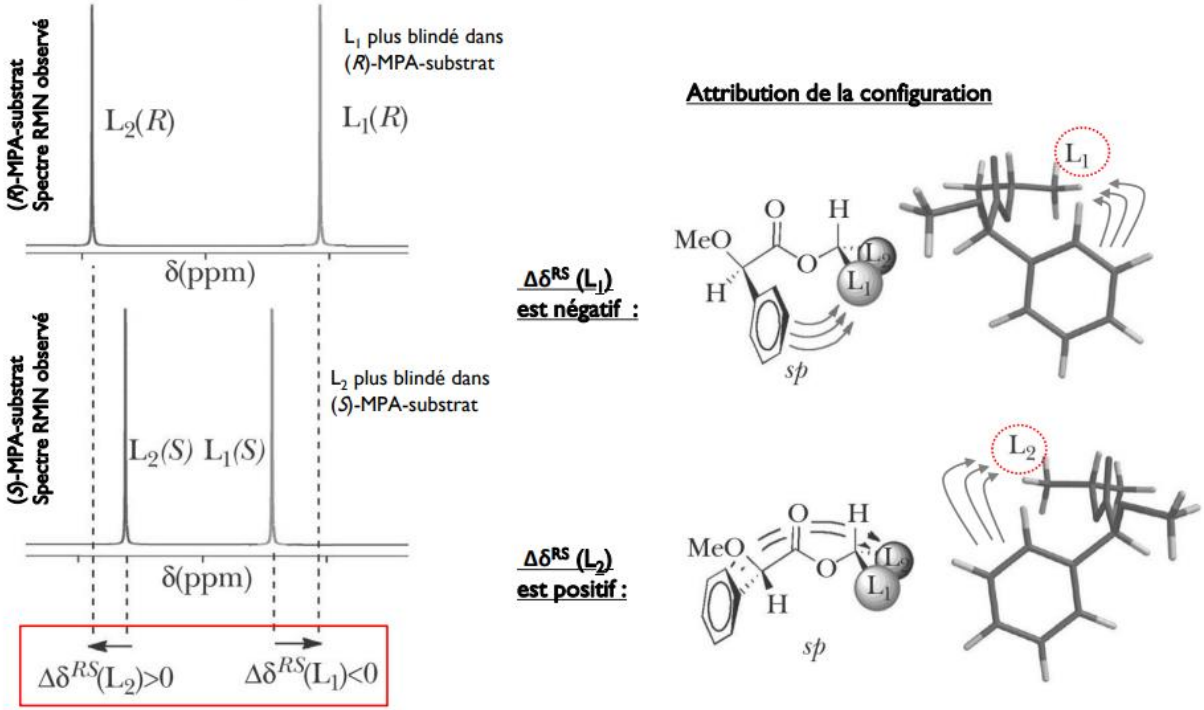


Figure 167 : Exemple d'utilisation des *R*- et *S*-MTPA pour la détermination de la stéréochimie des carbones asymétriques (José *et al*., 2015).

Résumé

Les travaux de thèse exposés dans ce manuscrit portent sur l'étude chimique de plantes du genre *Psiadia.* Deux axes de recherche ont été menés parallèlement. Le premier a été consacré aux criblages chimique et biologique de cinq espèces du genre *Psiadia* endémiques de Madagascar. Le criblage chimique avait pour objectif d'identifier les biomarqueurs de ces espèces. Il comprend, d'une part, des analyses par CCM, CLHP-UV-CAD et RMN ^{1}H, pour l'étude des composés non volatils, et d'autre part, des analyses par CG-SM et CG-DIF pour l'étude des composés volatils. Le criblage biologique a permis, quant à lui, de déceler les espèces présentant des propriétés biologiques prometteuses. Les cibles biologiques choisies étaient le parasite *Plasmodium falciparum*, pour l'activité anti-paludique, les macrophages de souris stimulés par un composé pro-inflammatoire pour l'activité anti-inflammatoire et les lignées cellulaires cancéreuses HepG2 (cancer de foie humain) et HT 29 (cancer du côlon) pour l'activité cytotoxique. À l'issue de ce criblage, l'ensemble des extraits s'est révélé riche en métabolites et ayant un potentiel antipaludique, anti-inflammatoire et cytotoxique. Le deuxième axe de recherche a été consacré à l'étude phytochimique détaillée d'une espèce endémique de La Réunion (*P. dentata*) et d'une espèce endémique de Madagascar (*P. lucida*), sélectionnées en raison de leurs fortes activités biologiques. L'extraction, l'isolement et l'élucidation structurale de leurs métabolites ont été entrepris par différentes techniques chromatographiques (CLMP, CLHP…) et spectroscopiques (UV, IRTF, SMHR, RMN 1D et 2D). Trente-quatre métabolites spécialisés appartenant à la famille des acides hydroxycinnamiques, des polyacétylènes, des flavonoïdes, des diterpènes et des coumarines ont été isolés de ces deux plantes. Seize sont de structures nouvelles. La valorisation des molécules isolées a ensuite été envisagée *via* l'évaluation de leurs activités biologiques. Vingt-sept composés se sont montrés actifs contre le parasite *P. falciparum* (isokaempféride,3α-angéoyloxy-19,16*(R)*-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dién-15,16-olide, …), dix ont montré une activité anti-inflammatoire et se sont révélés en même temps être non toxiques pour les cellules saines (3α-angéoyloxy-19,15(*R*)-dihydroxy-*ent*-andrograpanine, 3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol, …) et sept ont manifesté une cytotoxicité prometteuse sur cellules HepG2 et HT 29 (11-hydroxy-3*(R)*,8*(R)*-déhydrofalcarindiol, ermanine, …). Par ailleurs, une approche bio-informatique par génération de réseaux moléculaires à partir des analyses CLUHP-SM^{2} des fractions issues des deux espèces a permis de déceler la présence de 27 autres composés tels que le falcarinol et l'acide labdanolique, connus pour être bioactifs.

Mots clés : *Psiadia*, *Psiadia lucida*, *Psiadia dentata*, RMN, CG-SM, CG-DIF, CLHP, CLUHP-SM^{2}, activité antipaludique, activité anti-inflammatoire, activité cytotoxique, réseau moléculaire.

Abstract

The work described in this manuscript concerns the chemical study of species belonging to the genus *Psiadia*. Two research topics were carried out. The first one consists of chemical and biological screening of five species of the genus *Psiadia* endemics to Madagascar. The aim of the chemical screening was to identify biomarkers in these species. Its includes analyses using TLC, HPLC and ^{1}H NMR for non-volatile compounds, and analyses using GC-MS and GC-FID for volatile compounds. Biological screening allowed to detect species with promising biological activities. The biological targeted were *Plasmodium falciparum*, that causes malaria, mouse macrophages stimulated by pro-inflammatory compounds, HepG2 (human liver cancer) and HT29 (human colon cancer) cell lines. All the extracts are rich in metabolites and exerted antiplasmodial, anti-inflammatory and cytotoxic activities. The second research topic was devoted to a phytochemical study of *P. dentata*, endemic to Reunion Island and *P. lucida*, endemic to Madagascar. These two plants were selected because of their noteworthy biological activities. The extraction, isolation and identification were undertaken by various chromatographic (MPLC, HPLC ...) and spectroscopic (UV, IR, HRMS, 1D and 2D NMR) techniques. Thirty-four metabolites including hydroxycinnamic acids, polyacetylenes, flavonoïds, diterpenes and coumarins were isolated from these two plants. Sixteen are new compounds. The biological activities of the isolated compounds were then evaluated. Twenty-seven compounds (isokaempferide, 3α-angeoyloxy-19,16(*R*)-dihydroxy-*ent*-labda-8(17),13-dien-15,16-olide ...) were active against *P. falciparum*, ten (3α-angeoyloxy-19,15(*R*)-dihydroxy-*ent*-andrograpanin, 3(*R*),8(*R*)-dehydrofalcarindiol ...) exhibited anti-inflammatory activity and at the same time showed no toxicity to healthy cells and seven (11-hydroxy-3(R),8(R)-dehydrofalcarindiol, ermanine …) displayed promising cytotoxicity on HepG2 and HT 29 cells. Furthermore, a bioinformatics approach by generation of molecular networking from LC-MS^{2} analyses of these two species fractions involved that 27 others compounds such as falcarinol and labdanolic acid were present in these species and most of them are known to be bioactive.

Keywords: *Psiadia*, *Psiadia dentata*, *Psiadia lucida*, NMR, GC-MS, GC-FID, HPLC, UHPLC-MS^{2}, antiplasmodial activity, anti-inflammatory activity, cytotoxic activity, molecular networking.