

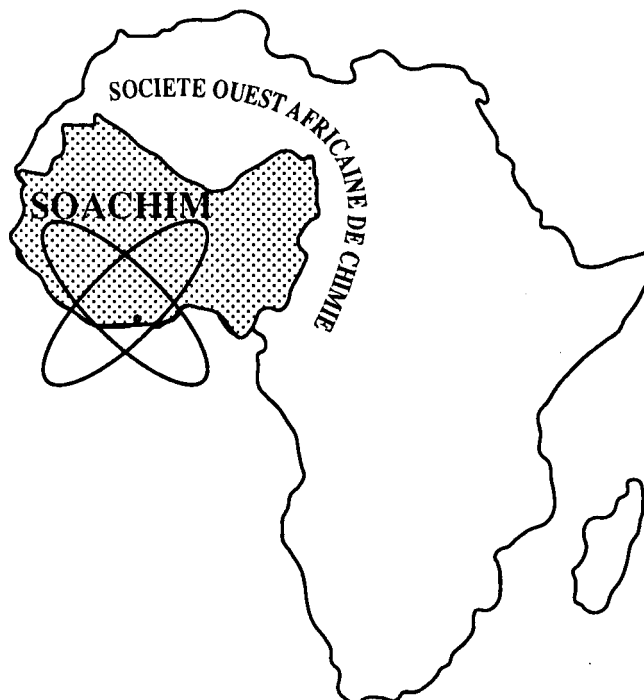
# *Identification de composés phénoliques extraits de deux plantes de la pharmacopée ivoirienne*

**Guy Roger Kabran, Janat Akhanovna Mamyrbekova-Bekro,  
Jean-Luc Pirat, Yves-Alain Bekro, Nicolas Sommerer ,  
Arnaud Verbaere, Emmanuelle Meudec**

*Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*

*J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*(2014), 038 : 57 - 63

19<sup>ème</sup> Année, Décembre 2014



ISSN 0796-6687

Code Chemical Abstracts : JSOCF2

Cote INIST (CNRS France) : <27680>

Site Web: <http://www.soachim.org>

## Identification de composés phénoliques extraits de deux plantes de la pharmacopée ivoirienne\*

Guy Roger Kabran, Janat Akhanovna Mamyrbekova-Bekro<sup>1\*</sup>, Jean-Luc Pirat<sup>2</sup>, Yves-Alain Bekro<sup>1</sup>, Nicolas Sommerer<sup>3</sup>, Arnaud Verbaere<sup>3</sup>, Emmanuelle Meudec<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Chimie Bio-organique et de Substances Naturelles / UFR-SFA / Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02

<sup>2</sup>UMR 5253, ICG Montpellier, Equipe AM2N, ENSCM, 8, rue de l'Ecole Normale, 34296 Montpellier cedex 5, France

<sup>3</sup>INRA, UMR SPO (Sciences pour l'œnologie), Plateforme Polyphénols, 34060 Montpellier cedex 1, France

**\*En hommage au Professeur AKE-ASSI Laurent**

(Reçu le 04/02/2014 – Accepté après corrections le 28/12/2014)

**Résumé :** *Combretum paniculatum* Vent. et *Nymphaea lotus* Linn. sont deux plantes de la pharmacopée ivoirienne, employées en thérapie traditionnelle pour traiter plusieurs pathologies. Les analyses au moyen de la GC-MS et LC-MS desdites plantes, ont permis de mettre en évidence leurs constituants phénoliques. 10 composés phénoliques ont été identifiés dans *C. paniculatum* au nombre desquels 1 acide-phénol (acide gallique); 4 ellagitanins (casuarictine, HHDP-glucose, trigalloylHHDP-glucose, acide chébulinique); 2 tanins condensés (dimère et trimère de procyanidine) et 3 flavonoïdes (catéchine, myricétine, quercétine-hexoside). Quant à *N. lotus*, 14 composés phénoliques y ont été identifiés à savoir 1 acide-phénol (acide gallique); 3 tanins ellagiques (galloylHHDP-glucose, tri- et tétragalloyl-glucose); 1 tanin condensé (épigalocatechine-épicatéchine-épicatéchine) et 9 flavonoïdes (kaempférol-dihexoside, myricétine-3-rhamnoside, kaempférol-3-coumaroylglucoside, quercétine-dihexoside, quercitrine, kaempférol-rhamnoside, laricitrine-rhamnoside, isorhamnétine-rhamnoside et lutéoline-rhamnoside).

**Mots-clés :** *Combretum paniculatum*, *Nymphaea lotus*, acide-phénol, ellagitanin, tanin condensé, flavonoïde, pharmacopée ivoirienne, GC-MS, LC-MS

## Identification of phenolic compounds from two plants of ivorian pharmacopoeia\*

**Abstract :** *Combretum paniculatum* Vent. and *Nymphaea lotus* Linn. are two plants from ivorian pharmacopoeia, used in traditional therapy to treat many diseases. Analysis using GC-MS and LC-MS said plants, helped to highlight their phenolic constituents. 10 phenolic compounds were identified in *C. paniculatum* among which 1 phenol acid (gallic acid); 4 ellagic tannins (casuarictin, HHDP-glucose, glucose- trigalloylHHDP, chebulinic acid); 2 condensed tannins (procyanidin dimer and trimer) and 3 flavonoids (catechin, myricetin, quercetin-hexoside). As regards *N. lotus*, 14 phenolic compounds have been identified, namely 1 phenol acid (gallic acid); 3 ellagic tannins (galloylHHDP glucose-, tri- and tetragalloyl-glucose) ; 1 condensed tannin (epigallocatechin-epicatechin-epicatechin) and 9 flavonoids (kaempferol-dihexoside, myricetin-3-rhamnoside, kaempferol-3-coumaroylglucoside, quercetin-dihexoside, quercitrin, kaempferol-rhamnoside, laricitrin-rhamnoside, isorhamnetin-rhamnoside and luteolin-rhamnoside).

**Keywords:** *Combretum paniculatum*, *Nymphaea lotus*, phenol acid, ellagic tannin, condensed tannin, flavonoid, ivorian pharmacopoeia, GC-MS, LC-MS

\* Auteur correspondant : E-mail: [kojanova1926@hotmail.fr](mailto:kojanova1926@hotmail.fr)

## 1. Introduction

Avec plus de 8000 structures phénoliques connues, les composés phénoliques constituent l'une des grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal<sup>[1]</sup>. Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupements hydroxyles. Les vertus thérapeutiques de ces composés sont bien connues. En effet, la protection par exemple contre plusieurs maladies (cancers, maladie d'Alzheimer, troubles cardiovasculaires, ...) est due à leurs propriétés antioxydantes<sup>[2]</sup>.

*Combretum paniculatum* Vent. est une liane robuste appartenant à la famille des Combretaceae. Localement appelée *Todah* en Baoulé, elle est utilisée pour traiter la stomatite crémeuse, les hémorroïdes<sup>[3]</sup>, la tuberculose<sup>[4]</sup> et la blennorragie<sup>[5]</sup>. Plusieurs études ont rapporté ses vertus antifongique, antibactérienne, anti-inflammatoire, antimicrobienne<sup>[6-9]</sup>, antivirale contre le VIH 2<sup>[10]</sup> et anticancéreuse<sup>[5,11,12]</sup>. Ces propriétés pharmacologiques sont liées à la présence dans ses organes, des tanins, des flavonoïdes, des coumarines, des stérols et des polyterpènes<sup>[6, 13, 14]</sup>. En outre, des investigations chimiques menées par Kabran *et al.*, (2012) ont révélé une forte teneur en composés phénoliques (14426,684 µg EAG/g MS) et une présence remarquable de flavonoïdes et d'anthocyanes<sup>[16]</sup>. Par ailleurs, les mêmes auteurs ont dépisté par CCM, le pouvoir antiradicalaire de *Combretum paniculatum* vis-à-vis du DPPH<sup>[15]</sup>.

*Nymphaea lotus* Linn. est une herbe aquatique solitaire de la famille des Nymphaeaceae, employée en médecine traditionnelle contre les céphalées, la dyspepsie, l'entérite, la diarrhée, les problèmes urinaires, les fièvres, les palpitations de cœur<sup>[16]</sup>, les maladies de la peau, la gonorrhée, la bronchite<sup>[17]</sup> et le cancer du sein<sup>[14]</sup>. Plusieurs études antérieures ont révélé que la plante possède des propriétés aphrodisiaque, diurétique<sup>[16]</sup>, antibactérienne, antifongique, antimicrobienne<sup>[18-20]</sup>, antivirale, anticancéreuse<sup>[21, 22]</sup> et antioxydante<sup>[15, 23]</sup>. Sa composition phytochimique met en évidence la présence de tanins, de composés phénoliques<sup>[13, 15]</sup> avec une prédominance en flavonoïdes<sup>[13, 15]</sup>, d'alcaloïdes, d'antraquinones, de saponines, de glycosides cardiotoniques<sup>[18-20]</sup>.

L'objectif de la présente étude a été d'identifier par GC-MS et LC-MS, les composés phénoliques que renferment *Combretum paniculatum* et *Nymphaea lotus*, deux plantes de la pharmacopée ivoirienne.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Combretum paniculatum* et de *Nymphaea lotus*, deux plantes sélectionnées à partir d'enquêtes ethnobotaniques menées auprès de tradithérapeutes<sup>[14]</sup>. Elles ont été respectivement récoltées au Centre National de Floristique (CNF) de l'Université d'Abidjan-Cocody et à Agnibilékrou (Côte d'Ivoire) en juin 2010, puis identifiées à l'herbier du CNF par le professeur AKE-ASSI Laurent. Les feuilles ont été nettoyées ensuite séchées dans une salle climatisée pendant 7 jours. Elles ont été pulvérisées avec un broyeur électrique (RETSCH, type SM 100) pour obtenir de fines poudres qui ont échantillonnées pour les analyses GC-MS et LC-MS.

### 2.2. Méthodes d'identification des composés phénoliques

#### 2.2.1. Identification par GC-MS

À 10 g de poudre de végétale de chaque plante préalablement traitée par l'éther de pétrole, 50 ml de HCl 2N sont additionnés. L'ensemble est chauffé à reflux pendant 2 h. Après refroidissement, l'hydrolysate est traité par 3×50 ml d'acétate d'éthyle. Les fractions organiques sont regroupées, séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre, ensuite concentrées sous vide puis séchées sous azote. La fraction organique (100 µl) est dérivatisée par addition de 200 µl de N-méthyl-N-triméthylsilyltrifluoroacétamide (MSTFA), puis chauffée à 37°C pendant 30 min. 0,1 µl de cet extrait est injecté pour être analysé.

L'analyse a été effectuée à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier sur un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectrophotomètre de masse (GC-MS) de marque SHIMADZU, modèle QP2010SE avec une colonne Zebron ZB-5ms de 20 m de long, d'un diamètre intérieur de 0,18 mm et d'une épaisseur de film de la phase stationnaire de 0,18 µm. L'hélium a été employé comme gaz porteur avec une vitesse linéaire de 0,9 ml/s. Le programme de température du four a été de 70-270°C à 4°C/min et maintenu à 270°C pendant 20 min. La température de l'injecteur a été fixée à 280°C et celle du détecteur à 290°C. L'injection a été réalisée en mode splitless. Les paramètres du spectromètre de masse pour le mode d'impact électronique sont la température de source d'ionisation (230°C), l'énergie d'électron (70 eV), la vitesse de scan (50 scans/s) et la vitesse d'acquisition (10.000 u.m.a/s). L'identification des

composés a été obtenue en comparant les temps de rétention avec ceux de composés authentiques et les données spectrales obtenues à partir des bibliothèques Wiley et NIST. Chaque détermination a été effectuée en double exemplaire.

### 2.2.2. Identification par LC-MS

5 g de poudre de feuilles pulvérisées de chaque plante préalablement traitée par l'éther de pétrole, sont macérés dans 100 ml d'acétone (70%) sous forte agitation magnétique (1000 Tr/min) pendant 24 h à la température ambiante. Le mélange a été filtré et le filtrat concentré puis lyophilisé. 1 mg du lyophilisat est repris dans 1 ml d'un mélange H<sub>2</sub>O / CH<sub>3</sub>OH à volume égal, ensuite solubilisé au vortex. L'ensemble est filtré à l'aide d'un filtre jetable (0,2 µm de porosité) et dilué au 1/10<sup>ème</sup> pour être injecté.

L'analyse LC-MS a été réalisée à la Plateforme Polyphénols de l'INRA sur une chaîne UPLC Acquity Waters couplée à un spectromètre de masse (Amazon X de Brucker) par UPLC-ESI-IT-MS<sup>n</sup> (Chromatographie liquide ultra-haute performance avec une source d'ionisation en électrospray et une trappe ionique pour obtenir n niveaux de fragmentation). Une colonne C18 Waters Acquity BEH 150 × 1 mm (longueur × diamètre) en phase inverse, avec des particules de 1,7 µm de diamètre est utilisée à 35°C. La phase mobile est constituée du système de solvants A (H<sub>2</sub>O + 1% HCO<sub>2</sub>H) et B (CH<sub>3</sub>OH + 1% HCO<sub>2</sub>H). Le gradient utilisé est de 2-30% de B de 0 à 10 min, de 30% de B de 10 à 12 min, de 30-75% de B de 12 à 25 min, de 75-90% de B de 25 à 30 min, de 90% de B de 30 à 35 min, de 90-2% de B de 35 à 38 min et de 2% de B de 38 à

43 min. La vitesse d'écoulement est de 0,08 ml/min et le volume d'injection est de 0,5 µl.

Un blanc (injection d'eau) a été intercalé après chaque injection. Les spectres UV-visible ont été enregistrés de 250 à 600 nm avec un pas de 2 nm. L'identification de chaque composé a été faite en combinant le temps de rétention et les différentes fragmentations obtenues.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Identification par GC-MS

L'analyse GC-MS des deux plantes a révélé la présence de plusieurs composés. Toutefois au nombre des composés phénoliques contenus dans *Combretum paniculatum* et *Nymphaea lotus*, l'acide gallique (**I**) a été majoritairement identifié avec un taux de 53,05% et 20,89% respectivement. Dans la figure 1, le pic intense avec un temps de rétention (9,56 min) confirme sa présence. Son spectre de masse montre un ion moléculaire [M]<sup>+</sup> 458 et des ions fils m/z 443 ([M-15]<sup>+</sup>, perte de CH<sub>3</sub>) et m/z 281 ([M-177]<sup>+</sup>, ion majoritaire). L'ion [M-177]<sup>+</sup> correspond à la perte respective de CH<sub>3</sub> (15) et des groupements TMSO (89) et TMS (73). La prédominance de (**I**) dans *C. paniculatum* et dans *N. lotus* est due à la présence de gallotanins<sup>[13]</sup> dont l'hydrolyse engendre la lyse des liaisons ester qui libère l'acide gallique. Ce métabolite secondaire est un antioxydant naturel largement distribué dans le règne végétal soit sous forme libre soit comme composant des gallotanins. Des études<sup>[24-26]</sup> ont révélé ses nombreuses propriétés biologiques. Ce qui justifie l'usage de certaines espèces végétales qui en renferment en médecine traditionnelle.

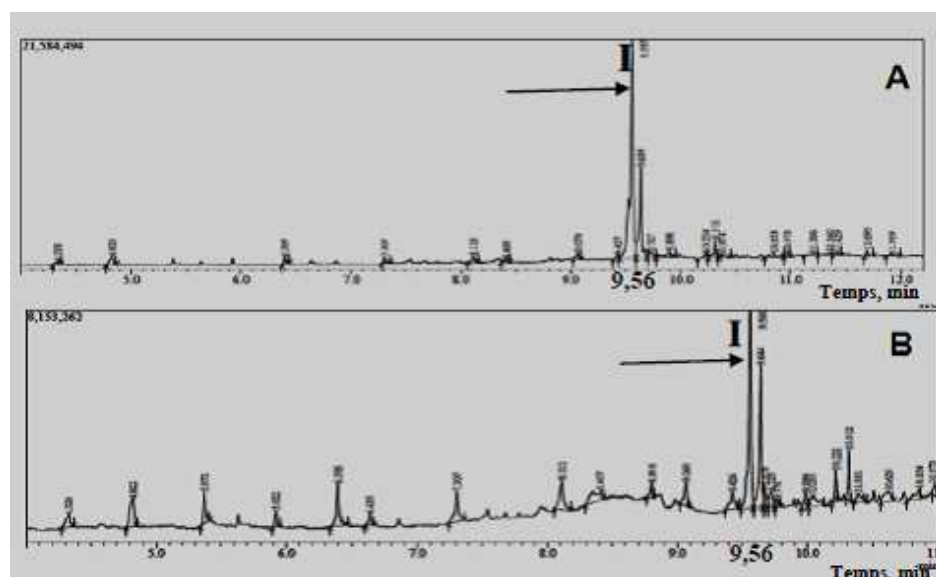


Figure 1: Chromatogrammes GC-MS de *Combretum paniculatum* (A) et de *Nymphaea lotus* (B)

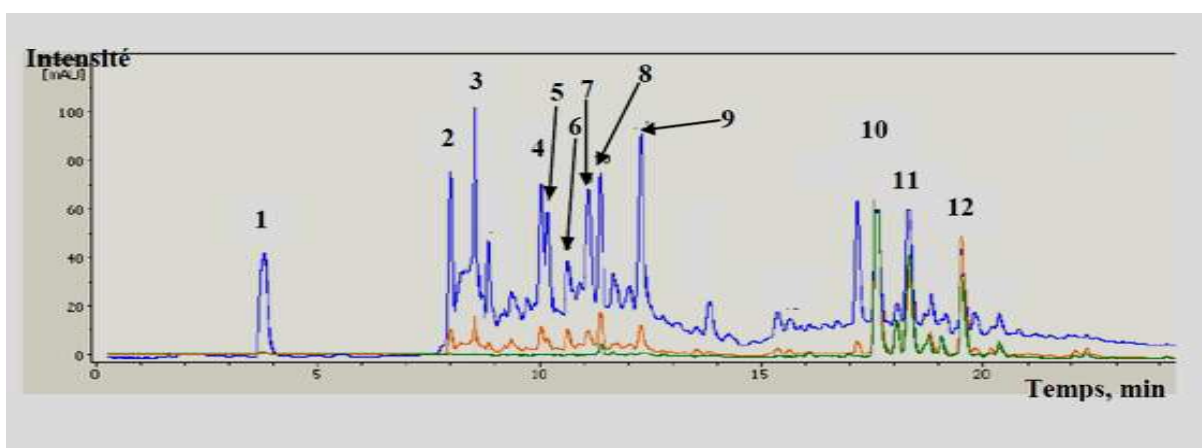
### 3.2. Identification par LC-MS de *Combretum paniculatum*

Le profil chromatographique à différentes longueurs d'onde à 280 (tracé bleu), 320 (tracé orange) et 360 nm (tracé vert) révèle la présence d'une douzaine de composés (**Figure 2**). Les caractéristiques chromatographiques des principaux composés détectés et les hypothèses structurales issues d'elles sont présentées dans le **Tableau 1**. Les analyses LC-MS de *C. paniculatum* (**Figure 2**) ont montré la présence de plusieurs composés phénoliques.

L'hexahydroxydiphénol-3-O-D-glucose (HHDP-glucose) et l'acide gallique (pic 1) apparaissent en tout début de gradient. En effet, la présence de HHDP-glucose est marquée par un ion m/z 481 ([M-H]<sup>-</sup>) et par des ions fils m/z 321 et m/z 301 ([M-H-180]<sup>-</sup>, perte d'un hexose). L'acide

gallique a été identifié à partir des différentes fragmentations m/z 169 ([M-H]<sup>-</sup>) et m/z 125 ([M-H-44]<sup>-</sup>, perte de carboxylate). Les tanins sont représentés par les pics 2, 3, 6, 7, 8 et 10, au nombre desquels se distinguent les ellagitanins (pics 2, 3, 7, 8 et 10) et les tanins condensés (massif 6).

L'ion m/z 935 ([M-H]<sup>-</sup>) (pic 2) et les ions fils m/z 633 ([M-H-302]<sup>-</sup>, perte de HHDP); m/z 481 (HHDP-glucose) et m/z 301 ([HHDP-H]<sup>-</sup>), correspondent au galloyl-bis(HHDP)-glucose (Casuarictine). Trigalloyl-HHDP-glucose (pic 3) donne un ion m/z 951 ([M-H]<sup>-</sup>) avec des ions fils m/z 907 ([M-H-44]<sup>-</sup>, perte de carboxylate), m/z 783 ([M-H-168]<sup>-</sup>, perte d'acide gallique), m/z 481 (perte de trigalloyl m/z 469) et m/z 301 ([HHDP-H]<sup>-</sup>). L'ion m/z 967 ([M+H]<sup>+</sup>) avec les ions fils m/z 917 et 731 se rapportent à un ellagitanin inconnu.



**Figure 2:** Chromatogrammes LC-MS de *Combretum paniculatum*

**Tableau 1 :** Identification par LC-MS des composés phénoliques de *Combretum paniculatum*

Pics	t <sub>R</sub> (min)	λ <sub>max</sub> (nm)	Masses molaires	MS (m/z) ; Ion + / -	MS/MS ion	Formules brutes	Composés identifiés
	2,2	<250	482	481 [M-H] <sup>-</sup>	321, 301 [M-H-Hex] <sup>-</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>14</sub>	HHDP-glucose
<b>1</b>	3,5	269	170	169 [M-H] <sup>-</sup>	125 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	Acide gallique
<b>2</b>	8,1	<250, 290	936	935 [M-H] <sup>-</sup>	633 [M-H-HHDP] <sup>-</sup> , 481, 301	C <sub>41</sub> H <sub>28</sub> O <sub>26</sub>	Casuarictine
<b>3</b>	8,6	<250, 260, 290	952	951 [M-H] <sup>-</sup>	907 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 783[M-H-Gall] <sup>-</sup> , 481, 301	C <sub>41</sub> H <sub>28</sub> O <sub>27</sub>	Trigalloyl-HHDP-glucose
<b>4</b>	10,1	<250, 280	290	291 [M+H] <sup>+</sup>	245, 205, 179	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	Catéchine
<b>5</b>	10,2	269	916	917 [M+H] <sup>+</sup>	819, 809		NI
<b>6</b>	10,7	272	578	577 [M-H] <sup>-</sup>	451, 425[M-H-152] <sup>-</sup> , 407 [M-H-Gall] <sup>-</sup> , 289	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	Dimère de procyanidine
	10,7	272	866	865 [M-H] <sup>-</sup>	785, 577, 469	C <sub>45</sub> H <sub>38</sub> O <sub>18</sub>	Trimère de procyanidine
<b>7 ; 8</b>	11,2 ; 11,4	266	966	967 [M+H] <sup>+</sup>	917, 731	C <sub>42</sub> H <sub>30</sub> O <sub>27</sub>	Ellagitanin inconnu
<b>9</b>	12,3	274, 350	960	961 [M+H] <sup>+</sup>	769, 461		NI
<b>10</b>	17,5	<250, 270	956	955 [M-H] <sup>-</sup>		C <sub>41</sub> H <sub>32</sub> O <sub>27</sub>	Acide chébulinique
<b>11</b>	18,5	252, 358	464	463 [M-H] <sup>-</sup>	301 [M-H-Hex] <sup>-</sup> , 179, 151	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	Quercétine-hexoside
<b>12</b>	21,4	265, 350	388	389 [M+H] <sup>+</sup>		C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>8</sub>	Myricétine-3,7,3',4',5'-penta O-méthyle

HHDP : Hexahydroxydiphényl-

NI : Non identifié

Hex : reste d'hexose Gall : Acide gallique

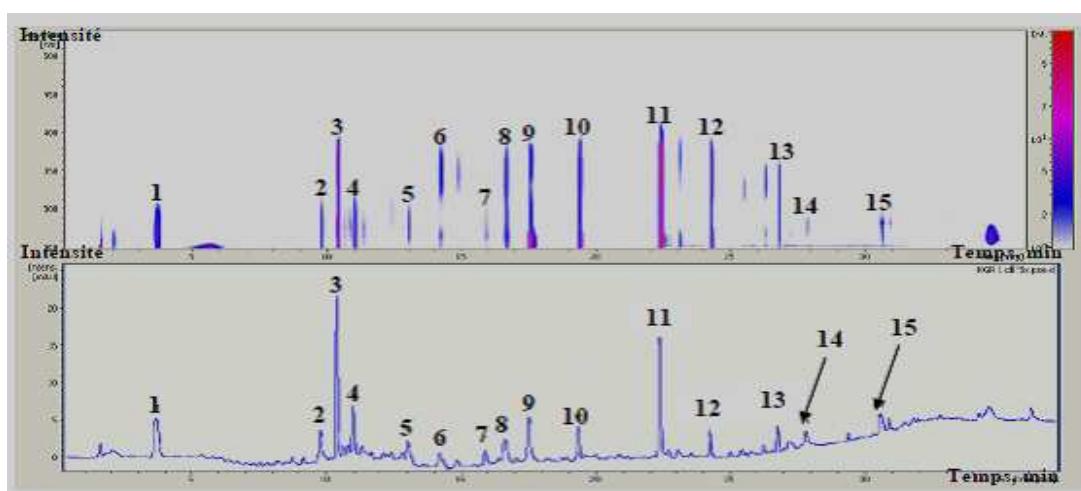
L'acide chébulinique (pic 10) est caractérisé par l'ion  $m/z-955$  ( $[M-H]^-$ ). Le massif 6 correspond à deux tanins condensés (dimère et trimère de procyanidine). En effet, le dimère présente un ion  $m/z$  577 ( $[M-H]^-$ ) avec les ions fils  $m/z$  451, 425 (perte d'un galloyl  $m/z$  152),  $m/z$  407 (perte d'acide gallique  $m/z$  170) et  $m/z$  289. Quant au trimère, ses fragmentations donnent un ion  $m/z$  865 ( $[M-H]^-$ ) avec les ions fils  $m/z$  785,  $m/z$  577 ( $[M-H-288]^-$ , perte d'une catéchine) et  $m/z$  469. Les pics 4, 11 et 12 se rapportent aux flavonoïdes. Le pic 4 indique la présence d'une catéchine dont les fragmentations sont l'ion  $m/z$  291 ( $[M+H]^+$ ) et les ions fils  $m/z$  245, 205 et 179. Le pic 11 correspond à la quercétine-hexoside au regard de l'ion  $m/z$  463 ( $[M-H]^-$ ) et des ions fils  $m/z$  301 ( $[M-H-162]^-$ , perte d'un hexose),  $m/z$  179 et 151. Enfin, le pic 12 représente la myricétine-3,7,3',4',5'-penta-O-méthyle, représentée par l'ion  $m/z$  389 ( $[M+H]^+$ ).

### 3.3. Identification par LC-MS de *Nymphaea lotus*

Dans les chromatogrammes en 3D et UV-visible à 280 nm, une quinzaine de pics majoritaires a été repérée (**Figure 3**). Le **Tableau 2** résume la nature de chaque composé phénolique identifié dans *N. lotus*, le temps de rétention, les ions moléculaires et les ions fils issus des différentes fragmentations. Comme déjà révélé en GC-MS, l'acide gallique (pic 1) apparaît en tout début de gradient, avec un ion  $m/z$  169 ( $[M-H]^-$ ) et un ion fils  $m/z$  125 ( $[M-H-44]^-$ , perte de carboxylate). Les composés (pics 2, 3, 4, 5 et 7) sont des ellagitannins. En effet, les pics 2, 3 et 7 avec  $m/z$  951 ( $[M-H]^-$ ) correspondent au trigalloyl-HHDP-glucose avec comme groupe trigalloyl, les fragments valoneoyl, tergalloyl, macaronyl par exemple [27]. Tous produisent les ions fils  $m/z$  907 (perte de carboxylate),  $m/z$  783 (perte d'acide

gallique  $m/z$  168),  $m/z$  481 (perte de trigalloyl  $m/z$  469) et  $m/z$  301 (acide ellagique). Le pic 4 a été identifié comme étant un galloyl-HHDP avec l'ion adduit sodique  $m/z$  657 ( $[M+Na]^+$ ). En mode négatif, il donne un ion  $m/z$  633 ( $[M-H]^-$ ) avec les ions fils  $m/z$  463 ( $[M-H-170]^-$ , perte d'acide gallique),  $m/z$  419 et 301 (acide ellagique). Le pic 5 se rapporte au tétragalloyl-glucose avec un ion  $m/z$  787 ( $[M-H]^-$ ) et les ions fils  $m/z$  635 ( $[M-H-152]^-$ , perte d'un galloyl),  $m/z$  465 (perte d'un acide gallique et d'une unité galloyl) et  $m/z$  169 (acide gallique). Le pic 5 indique en outre, la présence d'un ellagitanin inconnu (M. 966) donnant un ion  $m/z$  965 ( $[M-H]^-$ ) et un ion fils  $m/z$  933.

La présence d'un tanin condensé est indiquée par l'ion  $m/z$  881 ( $[M-H]^-$ ) (pic du massif 9) avec les ions fils  $m/z$  729 (perte d'une unité galloyl  $m/z$  152),  $m/z$  603,  $m/z$  577 (perte d'épigallocatechine  $m/z$  304) et  $m/z$  451. Les pics 6, 10, 11, 12, 13 et ceux des massifs 8, 9, ont été identifiés comme étant des flavonols glycosidiques. Le pic 6 correspond au kaempférol-dihexoside avec un ion  $m/z$  611 ( $[M+H]^+$ ) et les ions fils  $m/z$  449 (perte d'une unité hexose  $m/z$  162) et  $m/z$  329. Un pic du massif 8 présente des fragmentations à  $m/z$  465 ( $[M+H]^+$ ) avec un ion fils  $m/z$  319 qui confirme la présence de la myricétine-3-rhamnoside. L'autre pic du même massif avec un ion  $m/z$  611 ( $[M+H]^+$ ) et des ions fils  $m/z$  447 et 285 (perte d'un coumaroylglucoside  $m/z$  310) se rapporte au kaempférol-3-coumaroylglucoside. L'ion  $m/z$  625 ( $[M-H]^-$ ) avec les ions fils  $m/z$  463 (perte d'un hexose  $m/z$  162) et  $m/z$  301 (quercétine) (pic du massif 9) a été identifié comme étant la quercétine-dihexoside. Les pics 10, 11, 12 et 13 ainsi qu'un pic du massif 9, sont caractérisés par la perte d'une unité de rhamnose ( $m/z$  146).



**Figure 3:** Chromatogrammes LC-MS de *Nymphaea lotus*

**Tableau 2 :** Identification par LC-MS des composés phénoliques de *Nymphaea lotus*

Pics	t <sub>R</sub> (min)	λ <sub>max</sub> (nm)	Masses molaire s	MS (m/z) ; Ion + / -	MS/MS Ion	Formules brutes	Composés identifiés
1	3,8	269	170	169 [M-H] <sup>-</sup>	125 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	Acide gallique
2 3	9,8 ; 10,4	274 274	952 952	951 [M-H] <sup>-</sup> 951 [M-H] <sup>-</sup>	907 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 783 [M-H-Gall] <sup>-</sup> , 481, 301	C <sub>41</sub> H <sub>28</sub> O <sub>27</sub> C <sub>41</sub> H <sub>28</sub> O <sub>27</sub>	Trigalloyl-HHDP-glucose Trigalloyl-HHDP-glucose
4	11	269	634	657 [M+Na] <sup>+</sup>	463 [M-H-Gall] <sup>-</sup> , 419, 301	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>18</sub>	Galloyl-HHDP-glucose
5	13	274	788	787 [M-H] <sup>-</sup>	635 [M-H-152] <sup>-</sup> , 465 [M-H-Gall-152] <sup>-</sup> , 169	C <sub>34</sub> H <sub>28</sub> O <sub>22</sub>	Tétragalloyl-glucose
			966	965 [M-H] <sup>-</sup>	933	C <sub>42</sub> H <sub>30</sub> O <sub>27</sub>	Ellagitannin inconnu
6	14,2	260, 267, 350	610	611 [M+H] <sup>+</sup>	449 [M+H-Hex] <sup>+</sup> , 329	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	Kaempférol-dihexoside
7	15,9	267	952	951 [M-H] <sup>-</sup>	907 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 783 [M-H-Gall] <sup>-</sup> , 481, 301	C <sub>41</sub> H <sub>28</sub> O <sub>27</sub>	Trigalloyl-HHDP-glucose
8	16,7	267, 341	464 594	465 [M+H] <sup>+</sup> 595 [M+H] <sup>+</sup>	319 [M+H-Rham] <sup>+</sup> 447, 285 [M-H-Cou-Hex] <sup>-</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub> C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	Myricétine-3-rhamnoside Kaempférol-3-coumaroylglucoside
9	17,4	255, 367	626 882	625 [M-H] <sup>-</sup> 881 [M-H] <sup>-</sup>	463 [M-H-Hex] <sup>-</sup> , 301 729 [M-H-152] <sup>-</sup> , 603, 577 [M-H-Epicat] <sup>-</sup> , 451	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>17</sub> C <sub>45</sub> H <sub>38</sub> O <sub>19</sub>	Quercétine-dihexoside Epigallocatechine-épicatechine-épicatechine
	19,5	255, 260, 300, 350	448	447 [M-H] <sup>-</sup>	301 [M-H-Rham] <sup>-</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	Quercétine-3-O-rhamnoside
10	21,4	262, 290, 320, 341	432	433 [M+H] <sup>+</sup>	287 [M-H-Rham] <sup>-</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	Kaempférol-rhamnoside
11	22,5	260, 300	478	479 [M+H] <sup>+</sup>	333 [M+H-Rham] <sup>+</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	Laricitrine-rhamnoside
12	24,3	258, 260, 351	462	461 [M-H] <sup>-</sup>	315 [M-H-Rham] <sup>-</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	Isorhamnétine-rhamnoside
13	26,8	271, 326	432	433 [M+H] <sup>+</sup>		C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	Lutéoline-rhamnoside
14	27,8	278	364	365 [M+H] <sup>+</sup>			NI
15	30,6	265, 282	316	317 [M+H] <sup>+</sup>	301		NI

**HHDP** : Hexahydroxydiphényl-

**Rham** : Rhamnoside

**NI** : Non identifié

**Cou** : Coumaroyl

**Gall** : Acide gallique

**Epicat** : Epigallocatechine

**Hex** : reste d'hexose

Tous ces pics sont identifiés comme étant des flavonols-rhamnosides. Le composé (pic du massif 9) de masse molaire 448, avec un ion m/z 447 ([M-H]<sup>-</sup>) et un ion fils m/z 301 ([M-H-146]<sup>-</sup>) est la quercétine-3-O-rhamnoside (quercitrine). Le composé (pic 10) avec l'ion m/z 447 ([M-H]<sup>-</sup>) (ion fils m/z 301) et l'ion m/z 433 ([M+H]<sup>+</sup>) (ion fils m/z 287) est le kaempférol-rhamnoside. L'ion m/z 479 ([M+H]<sup>+</sup>) avec l'ion fils m/z 333 (pic 11), l'ion m/z 461 ([M-H]<sup>-</sup>) (ion fils m/z 315) (pic 12) et l'ion m/z 433 ([M+H]<sup>+</sup>) (pic 13) correspondent respectivement aux rhamnosides de laricitrine, d'isorhamnétine et de lutéoline.

#### 4. Conclusion

La présente étude s'est proposé d'élucider par GC-MS et LC-MS, la constitution phénolique de *Combretum paniculatum* et de *Nymphaea lotus*, deux plantes issues de la pharmacopée ivoirienne. Ces deux techniques d'analyse ont révélé que les deux espèces végétales renferment entre autres métabolites secondaires polyphénoliques, un acide-phénol, des gallotannins, des tanins condensés et des flavonoïdes. Comparativement à *C. paniculatum*, *N. lotus* est une source notable en flavonols hétérosidiques. Les phytocomposants phénoliques

de *C. paniculatum* et de *N. lotus* apportent un justificatif rationnel de leur emploi récurrent dans le traitement de plusieurs pathologies en thérapie traditionnelle en Côte d'Ivoire.

#### Remerciements

Les auteurs remercient le Service de Coopération et d'Action Culturelle (SCAC) de l'Ambassade de France en Côte d'Ivoire pour l'appui financier.

#### Bibliographie

- [1] Beta T., Nam S., Dexter J., Sapirstein H. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. Cereal chem. (2005) 82, 390-393.
- [2] Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes (2005) 121-216.
- [3] Adjanohoun E., Aké Assi L. Volume I : Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Edition Centre National de Floristique 1979.
- [4] Asres K., Bucar F., Edelsbrunner S., Kartnig T., Hoger G., Thiel W. Investigations on antimicrobial activity of some Ethiopian medicinal plants. Phytother. Res. (2001) 15(4), 323-326.
- [5] Sowemimo A., Van de Venter M., Baatjies L., Koekemoe T., Adesanya S., Lin W. Cytotoxic

- compounds from the leaves of *Combretum paniculatum* Vent. Afr. J. Bio. (2012) 11(20), 4631-4635.
- [6] Samdumu F. Characterization of antimicrobial compounds from *Combretum paniculatum*, a plant with proven anti-HIV replication activity. Thèse de Doctorat 2007, University of Pretoria, South Africa.
- [7] Akinyemi K., Mendie U., Smith S., Oyefolu A., Coker A. Screening of some medicinal plants used in sub-west Nigeria traditional medicine for anti-salmonella typhi activity. J. Herbal Pharmacother. (2005) 5(1), 45-60.
- [8] Anderson D., Wang W. Composition of the gum of *Combretum paniculatum* and four other gums which are not permitted food additives. Phytochemistry (1990) 29 (4), 1193-5.
- [9] Masoko P., Picard J., Eloff J. The antifungal activity of twenty-four southern African *Combretum* species (*Combretaceae*). S. Afr. J. (2007), 73(2), 173-183.
- [10] Asres K., Bucar F., De Clercq E., Kartnig T., Pannecouque C., Witvrouw M. Antiviral activity against immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) of ethnobotanically selected Ethiopian medicinal plants. Phytother. Res. (2001) 62-69.
- [11] Sowemimo A., Van de Venter M., Baatjies L., Koekemoer T. Cytotoxic activity of selected Nigerian plants. Afr. J. Trad. Comp. Alt. Med. (2009) 6(4), 526-528.
- [12] Sowemimo A., Van de Venter M., Baatjies L., Koekemoer T. Cytotoxicity evaluation of selected Nigerian plants used in traditional cancer treatment. J. Med. Plants Res. (2011) 5(11), 2442-2444.
- [13] Kabran G. R., Ambeu N. C., Mamyrbékova-Békro J. A., Békro Y. A. CCM d'extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein en Côte d'Ivoire. Eur. J. Sci. Res. (2011) 63(4), 592-603.
- [14] Hema A., Palé E., Duez P., Luhmer M., Nacro M. Two diglucosylated anticyanins from *Combretum paniculatum* flowers. Natural Science (2012) 4(3), 166-169.
- [15] Kabran G. R., Ambeu N. C., Mamyrbékova-Békro J. A., Békro Y. A. Phénols et flavonoïdes totaux dans les extraits organiques de 10 plantes utilisées dans la tradithérapie du cancer du sein en Côte d'Ivoire. Eur. J. Sci. Res. (2012) 68(2), 182-190.
- [16] Devi B. Encyclopedia of Herbs and their uses. Dorling Kindersley Limited, 1995, London, New York, Stuttgart, Moscow.
- [17] Burkill H. The useful plants of west Tropical Africa. vol 4. Royal Botanic Gardens, Kew 1997. Royaume-Uni.
- [18] Akinjogunla O., Adegoke A., Udokang P., Adebayo-Tayo B. Antimicrobial potential of *Nymphaea lotus* (*Nymphaeaceae*) against wound pathogens. J. Med. Plants Res. (2009) 3(3), 138-141.
- [19] Madhav L., Ashokkumar V., ). Antibacterial properties of *Nymphaea lotus* (*Nymphaeaceae*) tuber extract against clinical and phyto pathogens. Journal of Pharmacy Research (2011) 4(4),1231-1233.
- [20] Jonathan Y., Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of *Scoparia dulcis* and *Nymphaea lotus* Aust. J. Basic Appl. Sci. (2009) 3(4), 3975-3979.
- [21] Sowemimo A., Omobuwajo O. et Adesanya S. Constituents of *Nymphaea lotus* Linn. Nig. J. Nat. Prod. and Med. (2007) 11, 1-2.
- [22] Esimone C., Omobuwajo R., Sowemimo A., Proksch P. ). Single-cycle vector based antiviral screening assays for High Throughput evaluation of potential anti-HIV medicinal plants: A pilot study on some Nigerian Herbs. Recent Progress in Medicinal Plant Research. Phytopharmacology and Therapeutic values (2006) 19, 50-60.
- [23] Saleem A., Ahotupa M., Pihlaja K. Total phenolics concentration and antioxidant properties of extracts of medicinal plants of Pakistan. Z. Naturforsch [C] (2001) 56(11-12), 973-8.
- [24] Lo C., Lai T., Yang J. Gallic acid inhibits the migration and invasion of A375.S2 human melanoma cells through the inhibition of matrix metalloproteinase-2 and Ras. Melanoma Res. (2011) 21, 267-73.
- [25] Ho H., Chang C., Ho W. Anti-metastasis effects of gallic acid on gastric cancer cells involves inhibition of NF-kappaB activity and downregulation of PI3K/AKT/small GTPase signals. Food Chem Toxicol. (2010) 48, 2508-16.
- [26] Bruneton, J., Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., Edition Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 2009, Paris.
- [27] Barry K. M., Davies N. W., Mohammed C. L. Identification of hydrolysable tannins in the reaction zone of *Eucalyptus nitens* wood by high performance liquid chromatography-electrospray ionization massspectrometry. Phytochem. Anal. (2001) 12, 120-127.