UNIVERSITÉ DE LA POLYNÉSIE FRANÇAISE

ÉCOLE DOCTORALE DU PACIFIQUE
ED 469

UMR SECOPOL 241

THÈSE

présentée et soutenue publiquement par

Marion CHAMBON

le 1er décembre 2025

en vue de l'obtention du titre de
Docteur de l'Université de Polynésie Française
Département : **Sciences**
Discipline : **Chimie organique, minérale, industrielle** (CNU N°32)
Spécialité : **Chimie des substances naturelles**

Application de stratégies déréplicatives par LC-MS^2 et RMN et évaluation des propriétés biologiques d'extraits de 5 plantes polynésiennes à visées dermocosmétique et pharmaceutique :

Calophyllum inophyllum*, *Cordia subcordata*, *Ficus prolixa*, *Gardenia taitensis* et *Curcuma longa

---

Sous la direction de **Phila RAHARIVELOMANANA** et **Raimana HO**

JURY

Alexios-Leandros SKALTSOUNIS, Professeur, Université d'Athènes	Rapporteur
Christine GERARDIN, Professeur, Université de Lorraine	Rapporteur
Muriel CUENDET, Professeur, Université de Genève	Examinateur
Jean-Hugues RENAULT, Professeur, Université de Reims Champagne-Ardenne	Examinateur
Phila RAHARIVELOMANANA, Professeur, Université de la Polynésie française	Co-directeur de thèse
Raimana HO, Maitre de conférences, HDR, Université de la Polynésie française	Co-directeur de thèse

Remerciements

C'est la fin d'une belle et longue aventure universitaire qui a été faite de rencontres aussi bien professionnelles que personnelles. Je tiens à tous vous témoigner ma gratitude, car je suis très reconnaissante pour ce que chacun a apporté de positif dans mes années de thèse. Alors, je vais essayer de n'oublier personne, mais je ne garantis rien !

Aux membres de mon jury,
Je tiens à adresser mes respectueux remerciements au professeur Alexios-Leandros SKALTSOUNIS et à la professeure Christine GERARDIN qui me font l'honneur de juger mon travail en tant que rapporteur. Mes sincères remerciements au professeur Jean-Hugues RENAULT et à la professeure Muriel CUENDET, c'est également un honneur pour moi de vous compter parmi les mêmes du jury pour évaluer mon travail en tant qu'examinateur. Aussi, un grand merci à ceux qui ont pu faire le déplacement jusqu'en Polynésie française pour la soutenance de ces travaux.

À mes directeurs de thèse,
Phila RAHARIVELOMANANA et Raimana HO je tiens tout d'abord à vous remercier pour m'avoir donné la chance de mener à bien ce projet et de m'avoir permis de vivre cette aventure qu'est la thèse. Phila, j'ai découvert une personne passionnée qui dédie sa vie à son travail sans compter ses heures, ses jours et ses nuits aussi ! Alors, je tiens à t'exprimer ma profonde reconnaissance pour ton dévouement et ta générosité. Raimana, c'était un réel plaisir de travailler avec toi. Par-dessus tout, je t'exprime toute ma gratitude pour ton soutien, tes conseils et ton écoute qui montre ta bienveillance et ton professionnalisme.

Aux contributeurs du financement de ma thèse,
Je tiens à remercier l'école doctorale du Pacifique et Médex Polynésie qui ont tous deux financé ma thèse. Merci, Hérvé VERGEAUD et Olivier MARREC d'avoir participé à cette aventure et d'avoir suivi mes travaux d'année en année.

Aux membres de mon CSI,
Thierry BENVEGNU et Serge MICHALET je vous remercie pour les échanges annuels que nous avons pu avoir. Vos conseils et vos suggestions ont toujours été très constructifs et bénéfiques à l'avancement de mes travaux de recherche. Serge, encore une fois, merci de m'avoir transmis ta passion pour la pharmacognosie, qui ne m'a pas quitté depuis le début de mes études supérieures à Lyon.

Aux membres de l'UMR SECOPOL,
De tout cœur, merci à mes collègues, amies et confidentes qui se sont succédé au fil de mes années de thèse, vous avez été une lumière pour moi dans ce labo, une bouffée d'oxygène et de rire : Émilie STIERLIN merci pour ton accueil chaleureux dès mon arrivée à l'aéroport. Je me souviendrai toujours de cette première journée en Polynésie. J'étais plus qu'heureuse de partager le labo de chimie avec toi et ton aide pour les premières manips m'a été précieuse. Fanny WAN, ma camarade de bureau, merci infiniment pour ton aide et ton soutien. Nos conversations m'ont toujours fait beaucoup de bien. Doriane TITTON, merci pour ta positivité et ton sourire, j'aimais beaucoup nos discussions et nos déjeuners au RU le midi.

Merci à tous les permanents enseignants, ingénieurs, chercheurs, et techniciens pour les moments partager ensemble : Mayalen ZUBIA, Takeshi IZUMO, Chloé BRAHMI, Philippe MARMEY… Je tiens à remercier tout particulièrement Tamatoa LEHARTEL qui m'a aidé et rendu service un nombre incalculable de fois pour mener à bien mes manips, toujours avec le sourire et avec humour. Un grand merci également à Anabelle JACQUARD, ce rayon de soleil, qui était bien plus qu'une secrétaire. Mathilde CLAVIER, merci d'avoir participé au projet CAMELIA avec tes travaux de M2. L'encadrement de ton stage a aussi été très instructif pour moi. Merci à tous les post-doctorants, les ATER, les doctorants et les stagiaires qui se sont succédé et qui font vivre ce labo en y apportant un peu de joie : Tiare BELAMY, Chloé PUPIER, Irène GODÉRÉ, Tutea RICHMOND, Julie BREZAC, Bastien PAGLI, Romain FAES, Tobias FISCHER, Margaux CRUSOT, Oriane ROCHET, Marie DIAS. Hors UMR mais également à Tahiti, merci à J.-F. BUTAUD et P. MAUNIER qui m'ont aidé pour les collectes de plantes.

Aux collaborateurs marseillais, membres de l'IMBE, du SPECTRÔPOLE et du CNRS,
Je tiens à vous remercier pour votre accueil chaleureux à Marseille. Ce séjour de quelques mois a été très enrichissant, j'ai beaucoup appris à vos côtés. Merci d'avoir suivi mes travaux tout au long de ma thèse avec beaucoup de bienveillance : Elnur GARAYEV, Béatrice BAGHDIKIAN, Gaëtan HERBETTE, Sok-Siya BUN-LLOPET, Fathi MABROUKI, Myriam BERTOLOTTI, Célia BREAUD, Alexia TRAVIER, Gabriel SARDA.

Aux collaborateurs rémois, membres de l'ICMR et de l'équipe MeDyc,
Je vous suis très reconnaissante de m'avoir accueillie à Reims à deux reprises dans votre belle famille qu'est ICMR. Jean-Hugues RENAULT, Simon REMY, Pédro LAMEIRAS, merci infiniment pour les connaissances et les compétences que vous m'avez transmises ainsi que pour votre accompagnement durant cette thèse et lors des congrès internationaux. Nicolas BORIE, je te remercie de m'avoir aidé dans mes manips avec humour et pédagogie. Anthony BUDAI, merci beaucoup de m'avoir grandement aidé sur mes premières élucidations structurales avec CaraMel. Enfin, merci à tous pour tous les très bons souvenir des moments que j'ai pu partager avec vous : le café du matin du bureau de Charlotte et Nico, les repas communs hebdomadaires, les repas de Noël et Père Noël secret… Vous êtes un bel exemple d'un labo qui allie excellence et convivialité : Jean-Marc NUZILLARD, Charlotte SAYAGH, Agathe MARTINEZ, Laurence VOUTQUENNE NAZABADIOKO, Benjamin BERTAUX, Julien CORDONNIER, Alexis KOTLAND, Joseph THIERY, Clément NEVE, Ian RAMTANON, Manssour ISSOUFOU, Nangouban OUATTARA, Jérémy PERRET.
Je voudrais également remercier Laurent DUCA et Émilie THIEBAULT de l'équipe MeDyc pour les tests d'activités biologiques de qualité avec un rendu des résultats impeccables. Merci beaucoup Émilie pour ta sympathie et pour avoir pris le temps de me montrer tes manips étape par étape, j'ai beaucoup aimé travailler avec toi.

Aux autres collaborateurs du projet CAMELIA,
Merci à Rémy LEGUEVEL de l'équipe ImPACcell pour les tests d'activités biologiques. Merci beaucoup Sandrine PERINO et Karine RUIZ de l'équipe GREEN pour votre expertise en éco-extraction. J'étais ravie de vous rencontrer lors de votre venue à Tahiti. Merci également à Gaël LECELLIER et Véronique BERTEAUX-LECELLIER de l'UMR Entropie pour votre aide en transcriptomique.

Aux membres de la Fondation L'Oréal et l'UNESCO,
Vous m'avez fait l'honneur de me décerner le prix Jeunes Talents France 2024, For Women In Science. Des remerciements sont trop faibles pour vous toute ma gratitude. Myriam HAYATOU, Farhad ATAEE, Anna HEYMANN et toute l'équipe, merci pour votre soutien, pour les moments uniques que vous m'avez permis de vivre et merci de m'avoir permis de rencontrer les 34 autres lauréates : Emilie WERNER, Katharine BARRY, Kindness ISUKWEM, Elodie GERMANI, Malia LASALO, Muzhda HAEM RAHIME, Mathilde CHEVALLAY, Léa DUBOIS, Jehanne AGHZADI, Marine DUBREUCQ, Sheryl BUI, Ambinintsoa RAMANAMAHEFA, Alice DEJOUX, Amélie JOLY, Phuong Lien TRAN, Lucie BARBIER, Julie PUYO-FOURTINE, Gabriela CABALLERO VIDAL, Paula ARAUJO-GOMES, Mélissa MACALLI, Sibylle MARCOTTE, Lise MORLET-DECARNIN, Alicia BRUZOS, Madeleine KUBASCH, Aliénor RIVIÈRE, Xiaowen CHEN, Marie MATERNA, Oportune KPOTOR, Marion ZANNESE, Adeline GARCIA, Mélissa SAICHI, Noémie COULON, Solenne GAUCHER, Nell SAUNDERS.
Merci à ceux qui ont soutenu ma candidature et merci à Sandrine MOJA pour ses encouragements.

À toutes les personnes qui ont partagé un toit et un quotidien avec moi,
Cette thèse m'a amené à souvent faire mes valises et déménager. Merci à mes anciens colocataires qui m'ont accordé, l'espace de quelques mois, d'avoir de la stabilité et un grand merci à ceux qui m'ont gracieusement hébergé dans leur foyer : Les filles de la coloc de Paofai (Tahiti), le regretté Papi Jacques RODIER (Marseille), les colocs de Chartreux (Marseille), la famille GOUTAL (Marseille), le groupe d'étudiants Maïka, Jeremy, Francesco, Bella, Marley, Willem et Thibaut de la résidence internationale (Tahiti), les colocs de Pugibet (Tahiti), ma coloc sœur Emma et les colocs de Godinot (Reims).

À mes amis,
Même loin des yeux, vous pouvez être assuré d'avoir pour toujours une place dans mon cœur. Nora BEDES, ma première amie, que je connais depuis ma plus tendre enfance, merci de toujours prendre de mes nouvelles et de me faire toujours mourir de rire. Mes copines de la Faculté de pharmacie, je vous remercie pour votre soutien et pour les rares et précieux moments que nous partageons : Camille AUCOUTURIER, Fanny JAYR, Priscillia TIKI-KOUM et Lison DESGOUTTES. Priscillia et Lison encore merci de m'avoir fait le plaisir de me rendre visite à Tahiti. Lisa SPATARO, la voyageuse, je suis très heureuse à chaque fois que nos chemins se croisent, alors merci d'avoir mis Tahiti sur ton trajet. Mes ingénieurs centraliens lyonnais, Selim HALNA DU FRETAY, Joad GOUTAL, Paul COULET, merci d'apporter votre folie dans ma vie, chaque moment avec vous est mémorable. Aux autres ingénieurs parisiens, Nassim KHENOUSSI, Victor GAUTHIER, Thibaut REGERAT, Antoine SCHNEPF, Jacques ROUGE, Robin HESSE, Axel DEMOUGE, Simon PATUREL, merci beaucoup à ceux qui m'ont hébergé tellement de fois et pour les week-ends passés ensemble à Paris, en randonnée ou en Normandie.

À ma famille,
J'ai souvent été loin de vous et vous avoir au téléphone de temps en temps m'a toujours fait beaucoup de bien. Merci à chacun pour les moments de bonheur de nous passons ensemble. J'espère qu'après cette thèse, je n'en manquerais plus aucun, car les moments avec vous sont uniques et précieux.

À mes grands-parents, ma mamie Niki, ma mamie Clo et mon papi Lazare, merci pour votre amour sans limite. Je sais que vous faites partie de mes fans number one et vous rendre fière me rend très heureuse.
À mes frères, Maxime et Hugo, merci de me donner de la force, je sais que je peux toujours compter sur vous. À ma sœur, Emma qui est si importante dans ma vie. Dès le début de cette thèse, tu es venue à Tahiti pour ne pas me laisser seule à Noël et ce séjour avec toi a été magique. Par la suite, tu es revenu pour une année scolaire à Tahiti et, malgré les moments difficiles que l'on a pu traverser, on a pu se soutenir l'une et l'autre. Depuis toujours, un lien indéfectible nous unit. Alors, merci pour ton soutien, merci de me comprendre et d'être toujours à l'écoute, merci pour tout.
À mes parents chéris, merci de maintenir une base solide, un socle inébranlable dans ma vie. Quand je n'ai plus de maison, je sais que vous êtes là et que vous m'attendez les bras ouverts. Merci pour votre soutien indispensable, pour le réconfort et pour les encouragements que vous m'apportez toujours. Merci d'avoir dit à la petite fille que j'étais que je pouvais entreprendre n'importe quoi, devenir qui je veux et que je suis capable de tout.

À Luc,
Difficile de s'engager dans une relation avec une personne qui vit à l'autre bout du monde la majeure partie de l'année. Et pourtant, tu l'as fait, par amour et aussi parce que tu ne savais pas trop à quoi t'attendre ! Des appels téléphoniques quotidiens, malgré le décalage horaire et des mois sans se voir. Je te remercie de tout mon cœur pour les deux séjours que tu as pu faire en Polynésie, être là-bas avec toi m'a comblé de bonheur. Je te suis éternellement reconnaissante pour ton soutien à toute épreuve, pour ta bienveillance constante, et pour la patience que tu as avec moi. J'espère que l'avenir nous réserve un peu moins de turbulence, mais je sais qu'avec toi je suis parée pour affronter n'importe quelles épreuves.

Merci beaucoup à tous,
Cette thèse est aussi un peu la vôtre, car l'aboutissement de ses travaux est en partie grâce à chacun de vous.

« Qu'importe où nous allons, honnêtement. Je ne le cache pas. De moins en moins. Qu'importe ce qu'il y a au bout. Ce qui vaut, ce qui restera n'est pas le nombre de cols de haute altitude que nous passerons vivants. N'est pas l'emplacement où nous finirons par planter notre oriflamme, au milieu d'un champ de neige ou au sommet d'un dernier pic dont on ne pourra plus jamais redescendre. N'est plus de savoir combien de kilomètres en amont du drapeau de nos parents nous nous écroulerons ! Je m'en fiche ! Ce qui restera est une certaine qualité d'amitié, architecturée par l'estime. Et brodée des quelques rires, des quelques éclats de courage ou de génie qu'on aura su s'offrir les uns aux autres. Pour tout ça, les filles et les gars, je vous dis merci. Merci. »

Alain DAMASIO, La Horde du Contrevent

Productions scientifiques

Publication scientifique

M. Chambon, R. Ho, B. Baghdikian, G. Herbette, S.-S. Bun-Llopet, E. Garayev, P. Raharivelomanana. "Identification of Antioxidant Metabolites from Five Plants (*Calophyllum inophyllum, Gardenia taitensis, Curcuma longa, Cordia subcordata, Ficus prolixa*) of the Polynesian Pharmacopoeia and Cosmetopoeia for Skin Care" Antioxidants 2023, 12, 1870. https:// doi.org/10.3390/antiox12101870

Communications orales

M. Chambon, A. Budai, E. Thiébault, P. Lameiras, R. Ho, A. Martinez, N. Borie, S. Remy, L Duca, J.-H. Renault, P. Raharivelomanana.
"Chemical profiling of complex mixtures from Polynesian plants for mapping wound-healing properties"
73rd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA), Early Career Research Workshop, le 31 août 2025, Naples (Italie)

M. Chambon, R. Ho, P. Raharivelomanana.
"Étude de plantes polynésiennes à visées pharmaceutiques et cosmétiques"
Colloque cosmétopée ultramarine « Atelier de la Cosmétopée du Pacifique Sud », le 20 novembre 2024, Faaa, Tahiti (Polynésie française, France).

M. Chambon, A. Budai, P. Lameiras, R. Ho, G. Herbette, A. Martinez, N. Borie, S. Remy, J.-H. Renault, P. Raharivelomanana.
"Dual ^{13}C NMR and LC-MS^2 analysis for chemical profiling of Polynesian plant extracts"
International Congress on Natural Products Research 2024 (ICNPR), Session « Natural cosmetics, nutraceuticals, and food supplements », le 16 juillet 2024, Cracovie (Pologne)

M. Chambon, R. Ho, P. Raharivelomanana.
"Étude des propriétés antioxydantes du *Ficus prolixa*"
Colloque cosmétopée ultramarine « Biodiversité, arbres et autres plantes », le 30 mai 2024, Saint-Pierre (La Réunion, France). (Flash communication)

M. Chambon, R. Ho, P. Raharivelomanana.
"Potentiel anticancéreux du *Calophyllum inophyllum* (*Tamanu*)"
Les Doctoriales de la Polynésie française 2024, le 14 mai 2024, Faaa, Tahiti (Polynésie française, France). **Prix de la meilleure présentation avec perspectives de valorisation**

M. Chambon, R. Ho, B. Baghdikian, G. Herbette, S.-S. Bun-Llopet, E. Garayev, P. Raharivelomanana.
"Identification de composés antioxydants issus de cinq plantes polynésiennes utilisées en cosmétopée pour les soins de la peau"
7ème colloque du GDR Cosm'actifs, le 16 novembre 2023, Évreux (France)

M. Chambon, R. Ho, P. Raharivelomanana.
“Propriétés antioxydantes et composition chimique de cinq plantes polynésiennes”
Les Doctoriales de la Polynésie française 2023, le 11 mai 2023, Faaa, Tahiti (Polynésie française, France).

M. Chambon, R. Ho, J.-F. Butaud, P. Raharivelomanana.
“Étude de combinaisons de plantes polynésiennes bioactives à visée pharmacologique et cosmétique”
Webinaire AFERP Jeunes Chercheurs, le 10 novembre 2022

M. Chambon, R. Ho, J.-F. Butaud, P. Raharivelomanana.
“Étude de combinaisons de plantes polynésiennes bioactives à visée pharmacologique et cosmétique”
Colloque cosmétopée ultramarine « Arbres et autres plantes de la cosmétopée », le 28 mars 2022, Cayenne (Guyane française, France) (Flash communication)

Communications sur affiche

M. Chambon, R. Ho, B. Baghdikian, G. Herbette, S.-S. Bun-Llopet, E. Garayev, E. Thiébault, L. Duca, R. Le Guével, P. Raharivelomanana.
“Phytochemical study of five Polynesian plant extracts for skin care application”
International Congress on Natural Products Research (ICNPR), le 16 juillet 2024, Cracovie (Pologne)

M. Chambon, R. Ho, J.-F. Butaud, P. Raharivelomanana.
“Étude de combinaisons de plantes polynésiennes bioactives à visée pharmacologique et cosmétique”
Les Doctoriales de la Polynésie française 2022, le 5 mai 2022, Faaa, Tahiti (Polynésie française, France). **Nomination en 2ème place du meilleur poster.**

M. Chambon, R. Ho, J.-F. Butaud, P. Raharivelomanana.
“Étude de combinaisons de plantes polynésiennes bioactives à visée pharmacologique et cosmétique”
Colloque cosmétopée ultramarine « Arbres et autres plantes de la cosmétopée », le 28 mars 2022, Cayenne (Guyane française, France)

Table des matières

Remerciements
Productions scientifiques
Liste des abréviations
Listes des figures
Listes des tableaux
Listes des annexes

Introduction générale 21

Partie I : État de l'art 25

1. La peau 25
1.1. Structure 25
1.2. Fonctions 27
1.3. Organe esthétique et aspects culturels 27
1.4. Pathologies et troubles cutanés 29
1.4.1. Stress oxydant 29
1.4.2. Inflammation 31
1.4.3. Mélanome cutané 34
1.4.4. Cicatrisation cutanée 37
1.5. Conclusion partielle 40
2. La flore polynésienne 41
2.1. Géographies, climats, topographies et sols 41
2.2. Familles botaniques, statut biogéographique et endémisme 42
2.3. Médecine traditionnelle polynésienne et pharmacopée 43
2.4. Cosmétiques polynésiens et cosmétopée 46
2.5. Critères de sélection des plantes étudiées 48
2.6. Plantes sélectionnées 49
2.6.1. *Calophyllum inophyllum* 50
2.6.2. *Gardenia taitensis* 58
2.6.3. *Curcuma longa* 61
2.6.4. *Ficus prolixa* 66
2.6.5. *Cordia subcordata* 69
2.7. Conclusion partielle 72
3. Approche métabolomique et caractérisation des mélanges 74
3.1. Approche métabolomique 74

3.1.1. Échantillonnage 75
3.1.2. Extraction 76
3.1.3. Simplification de l'extrait par chromatographie de partage centrifuge (CPC) 76
3.1.4. Identification structurale 80
3.2. Déréplication et caractérisations des mélanges 85
3.2.1. Réseaux moléculaires 85
3.2.2. La procédure CaraMel (Caractérisation des Mélanges) 89
3.3. Relation composition chimique et activité biologique 93
3.3.1. Couplage HPLC-DPPH 93
3.3.2. Cartographie de l'activité biologique 93
3.4. Conclusion partielle 94
4. Conclusion 95

Partie II : Matériels et Méthodes 96
1. Échantillons de l'étude 96
1.1. Collecte, séchage, broyage 96
1.2. Extractions assistées aux ultrasons 96
1.3. Partition liquide/liquide 96
1.4. HPTLC 97
1.5. Fractionnement par CPC 97
2. Tests d'activités biologiques 98
2.1. Propriétés antioxydantes et anti-radicalaires 98
2.1.1. TPC 98
2.1.2. Test DPPH 98
2.1.3. Test FRAP 99
2.1.4. Test AOP1 100
2.1.5. Test AOP2 100
2.2. Activité cytotoxique et anti-prolifération 101
2.2.1. Viabilité cellulaire (AlamarBlue) 101
2.2.2. Inhibition de la croissance ou induction de la mort cellulaire 102
2.2.3. Prolifération cellulaire 103
2.2.4. Mort cellulaire 104
2.3. Inflammation 104
2.3.1. Voie de signalisation NF-κB 104
2.3.2. Voie métabolique de la 5-LOX 104
2.4. Cicatrisation 106

3. Caractérisation chimique 107
3.1. LC-MS^2 107
3.1.1. Analyse 107
3.1.2. Traitement des données 108
3.1.3. Construction et annotation des réseaux moléculaires 111
3.2. RMN 112
3.2.1. Analyse 112
3.2.2. Traitement des données pour la procédure CaraMel 112
3.2.3. Identification structurale 113
4. Relations composition chimique et activité biologique 113
4.1. Cartographie de l'activité biologique 113
4.2. Couplage HPLC-DPPH 113

Partie III : Résultats et discussion 115
1. Échantillons de l'étude 115
1.1. Éco-extraction 116
1.2. Partition liquide/liquide 117
1.3. Fractionnement par CPC 120
1.4. Conclusion partielle 122
2. Tests d'activités biologiques 123
2.1. Propriétés antioxydantes et antiradicalaires 123
2.1.1. Teneur en composés phénoliques (TPC) 123
2.1.2. Activité antiradicalaire *in vitro* 124
2.1.3. Activité antioxydante *in vitro* 125
2.1.4. Activité antioxydante intracellulaire 127
2.2. Activité cytotoxique et anti-mélanome 130
2.2.1. Viabilité cellulaire 130
2.2.2. Inhibition de la prolifération ou induction de la mort cellulaire 131
2.2.3. Prolifération cellulaire 134
2.2.4. Mort cellulaire 136
2.3. Inflammation 137
2.3.1. Voie de signalisation NF-κB 137
2.3.2. Voie métabolique de la 5-LOX 138
2.4. Cicatrisation 141
2.4.1. Cicatrisation des fibroblastes 142
2.4.2. Cicatrisation des kératinocytes 144

2.5. Conclusion partielle 149
3. Caractérisation chimique des extraits de plantes 151
3.1. Composition chimique de l'extrait de *F. prolixa* 151
3.2. Composition chimique de l'extrait de *C. subcordata* 159
3.3. Composition chimique de l'extrait de *G. taitensis* 167
3.4. Composition chimique de l'extrait d'amandes de *C. inophyllum* 175
3.5. Composition chimique de l'extrait de feuilles de *C. inophyllum* 184
3.6. Composition chimique de l'extrait de *C. longa* 188
3.7. Conclusion partielle 190
4. Relation composition chimique et activité biologique 191
4.1. *F. prolixa* 191
4.2. *C. subcordata* 192
4.3. *G. taitensis* 198
4.4. Amandes de *C. inophyllum* 203
4.5. Feuilles de *C. inophyllum* 204
4.6. *C. longa* 205
4.7. Conclusion partielle 206
5. Conclusion 207
Conclusion générale et perspectives 208
Références bibliographiques 210
Annexes 230

Liste des abréviations

Pour faciliter la compréhension et la lecture de ce manuscrit, certaines abréviations anglophones sont conservées, car couramment employées en français dans le vocabulaire scientifique. Cette liste des abréviations propose néanmoins une traduction.

A

AA : acide acétique
Abs : absorbance
ABCDE : Asymétrie, Bord, Couleur, Diamètre, évolution
AcOEt : acétate d'éthyle
ACN : acétonitrile
ADN : acide désoxyribonucléique
AF : acide formique
AG : acide gras
Akt : sérine/thréonine kinase
AL : augmentation de la luminescence
AOC : appellation d'origine contrôlée
AOP : pouvoir antioxydant
ARE : Antioxidant Response Element

B

BAP1 : protéine 1 associée à BRCA1
Biosit : Biologie Santé Innovation Technologique

C

C : concentration
CAMELIA : *Calophyllum inophyllum* (*tamanu*) en mélange avec d'autres plantes bioactives polynésiennes
CaraMel : caractérisation des mélanges
CCM : chromatographie sur couche mince
CDK4 : Cycline Dépendente Kinase 4
CDKN2A : Cycline Dépendent Kinase Inhibiteurr 2A (aussi appelé p16)
CE_{50} : concentration permettant d'obtenir 50% d'efficacité
CFM-ID : Modelisation de Fragmentation Competitive pour l'identification de métabolite
$CHCl_3$: Chloroforme
CIhuFIB : fibroblastes dermiques
CI_{50} : concentration permettant d'obtenir 50% d'inhibition
CosIng : Base de données des ingrédients cosmétiques
COSY : de l'anglais *COrrelation SpectroscopY*
COVID-19 : Maladie à coronavirus 2019
COX : cyclooxygénases
CPC : chromatographie de partage centrifuge
CTLA-4 : Antigène 4 lymphocyte T cytotoxique

D

DDA : acquisition dépendante des données
DMEM : milieu de culture “Dulbecco's Modified Eagle”
DMSO : diméthylsulfoxide
DPPH : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

E

EAG : équivalent d’acide gallique
EDP : École Doctorale du Pacifique
EDTA : acide éthylènediaminetétraacétique
EdU : 5-éthynyl-2'-déoxyuridine
ELISA : de l’anglais *Enzyme-linked immunosorbent assay*
ERK : signal extracellulaire régulé par des kinases
ERO : espèces réactives de l’oxygène
ESI : ionisation électrospray

F

FBMN : de l’nglais *Feature-Based Molecular Networking*
FBS : Sérum de bovin fœtal
FCS : Sérum de veau fœtal
FRAP : de l’anglais *ferric reducing antioxidant power*

G

GAE : équivalent d'acide gallique
GNPS : de l’anglais *Global Natural Products Social Molecular Networking*
GPX : glutathion-peroxydase
GREEN : Groupe de Recherche en Eco-Extraction de produits Naturels

H

HaCaT : kératinocytes épidermiques humains immortalisés
HDF : cellules fibroblastiques humaines
Hep : Heptane
HMBC : de l’anglais *Heteronuclear Multiple-Bond Correlation*
HO-1 : hème oxygénase-1
HPLC : chromatographie liquide haute performance
HPTLC : chromatographie sur couche mince haute performance
HRMS : spectrométrie de masse haute résolution
HS : pente de la sigmoïde
HSQC : de l’anglais *Heteronuclear Single-Quantum Correlation*

I

ICMR : Institut de Chimie Moléculaire de Reims
IECIC : Inventory of Existing Cosmetic Ingredients in China
IκB : protéines inhibitrices de NF-κB
IKK : IκB kinases
IL : Interleukine
IMBE : Institut Méditerranéen de Biodiversité et d’Écologie

IMPS : Invalid Metabolic PanaceaS
IFN-γ : interféron gamma
iNOS : oxyde nitrique synthase inductible
IRD : Institut de recherche pour le développement

L

LC-MS^2 : chromatographie liquide avec spectrométrie de masse en tandem
LED : diode électroluminescente
LOX : lipoxygénase
LPS : lipopolysaccharides
LT : leucotriène
LUCS : de l'anglais *Light-Up Cell System*

M

MAE : extraction assistée par micro-ondes
MAPK : protéine-kinase activée par mitogène
MC1R : récepteur de la mélanocortine 1
MDC : chimiokine dérivée des macrophages
MEC : matrice extracellulaire
MEDyC : unité Matrice Extracellulaire et Dynamique Cellulaire
MEK : MAP/ERK kinase
Mel : cellules de mélanomes
MeOH : méthanol
MITF : facteur de transcription associé à la microphthalmia
MMP : métalloprotéases matricielles
MTBe : méthyl tert-butyl éther
MTT : bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium

N

NADES : de l'anglais *Natural Deep Eutectic Solvents*
NE : de l'anglais *No effect*
NER : Nucleotide Excision Repair
NF-κB : facteur nucléaire κB
Nrf2 : facteur nucléaire érythroïde 2

O

OMS : organisation mondiale de la santé
ORA : échantillons de *ora* (*Ficus prolixa*)

P

PAINS : de l'anglais *Pan Assay INterference compoundS*
PBS : tampon phosphate salin
PD-1 : protéine de mort cellulaire programmée 1
PGE2 : prostaglandine E2

R

REA : échantillons de *rea* (*C. longa*)
RFU : unité de fluorescence relative

RLU : unité de lumière relative
RMN : résonance magnétique nucléaire
RPMI : milieu de culture « Roswell Park Memorial Institute »

S

SECOPOL : Santé et service des écosystèmes polynésiens
SC : concentration d'échantillon
SLE : extraction liquide/solide
SOD : superoxydes-dismutases
SPE : extraction en phase solide
SPF : facteur de protection solaire

T

TAMa TAMf: échantillon de *Tamanu* (*Calophyllum inophyllum*) amande et feuille
TARC : chimiokine régulée par le thymus et l'activation
TIA : échantillon de *tiare* (*Gardenia taitensis*)
TNF- α : facteur de nécrose tumorale alpha
TO : thiazole orange
TOU : échantillon de *tou* (*Cordia subcordata*)
TPC : teneur en composés phénoliques
TPTZ : 2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine
t-SNE : de l'anglais *t-distributed stochastic neighbor embedding*

U

UAE : extraction assistée par ultrasons
UE : Union Européenne
UICN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature
UMR : unité mixte de recherche
UPF : Université de la Polynésie française
UV : ultraviolet

V

Vis : visible
5-HPETE : acide 5-hydroxyperoxyeicosatétraénoïque
5-HETE : acide 5-hydroxyeicosatétraénoïque
5-LOX : arachidonate-5-lipoxygénase humaine

Listes des figures

Figure 1 : Cartographie et principales activités des équipes de recherches partenaires de l'Université de la Polynésie française dans le projet CAMELIA …… 22
Figure 2 : Schéma de la structure de la peau …….. 26
Figure 3 : Schéma des fonctions de la peau …… 27
Figure 4 : Stress oxydatif et principales conséquences …….. 30
Figure 5 : Schéma de la voie métabolique de la 5-LOX permettant la synthèse des leucotriènes et de 5-HETE …… 32
Figure 6 : Schéma d'activation de la voie de signalisation de NF-κB …….. 33
Figure 7 : Schéma d'un mélanome à différents stades de développement …….. 35
Figure 8 : Photos de grains de beauté sains et pathologiques illustrant la méthode de dépistage ABCDE …… 36
Figure 9 : Schéma des phases de cicatrisation …….. 38
Figure 10 : La Polynésie française au cœur de l'océan Pacifique …… 42
Figure 11 : Portrait de Paul Pétard et couverture de son ouvrage « Plante utile de Polynésie » aux éditions Haere Po No Tahiti …….. 44
Figure 12 : Photographies de la préparation d'un ra'au dans un 'umete (A) et d'un tenu en basalte (B) …… 45
Figure 13 : Photographies du séchage du coprah (*Cocos nucifera*) permettant d'obtenir l'huile de coco. Préparation du *monoï* traditionnel à partir de fleurs de tiaré (*Gardenia taitensis*) macérées dans l'huile …….. 47
Figure 14 : Photographies de l'amande de *tamanu* et d'un flacon d'huile artisanale …… 47
Figure 15 : Photographies de *Calophyllum inophyllum* (A), feuilles (B), fleurs (C) et fruits (D) …… 50
Figure 16 : Photographie du grand *marae* Arahurahu situé à Paea (Tahiti) …….. 51
Figure 17 : Photographie de « Tii à la perle », œuvre de Paul Gauguin, en bois de *C. inophyllum* sculpté …… 51
Figure 18 : Répartition mondiale de *C. inophyllum* entre 2010 et 2024 …….. 52
Figure 19 : Répartition chimique des métabolites secondaires identifiés chez *C. inophyllum* …… 54
Figure 20 : Structures de quelques pyranocoumarines tricycliques identifiées chez *C. inophyllum* …… 55
Figure 21 : Structures de quelques pyranocourarines tétracycliques identifiées chez *C. inophyllum* …… 55
Figure 22 : Structures de quelques furanocoumarines identifiées à partir des feuilles *de C. inophyllum* …… 56
Figure 23 : Structures de quelques chromanones identifiées chez *C. inophyllum* …….. 56
Figure 24 : Photographies d'un arbuste en fleur de *Gardenia taitensis* (A), bouton de fleur (B), fleurs femelle et mâle (C) …… 58
Figure 25 : Répartition mondiale de *G. taitensis* entre 2010 et 2024 …….. 60
Figure 26 : Photographies d'un plant de *C. longa* (A), fleurs (B), rhizomes (C) …….. 61
Figure 27 : Répartition mondiale de *C. longa* entre 2010 et 2024 …….. 62

Figure 28 : Structure des curcuminoïdes majoritaires présents dans les rhizomes de *C. longa* 63
Figure 29 : Impact de la curcumine sur les pathologies cutanées 64
Figure 30 : Photographies de *Ficus prolixa* (A), tronc (B), racines aériennes (C), feuilles et fruits (D), tapa marquisien contemporain (E) 66
Figure 31 : Répartition mondiale de *F. prolixa* entre 2010 et 2024 67
Figure 32 : Répartition chimique des métabolites secondaires identifiés dans le genre *Ficus* 68
Figure 33 : Photographies de *Cordia subcordata* (A), feuilles vertes (B), fruits et fleurs (C) .. 69
Figure 34 : Répartition mondiale de *Cordia subcordata* entre 2010 et 2024 70
Figure 35 : Répartition chimique des métabolites secondaires identifiés dans le genre *Cordia* 71
Figure 36 : Schéma de la méthodologie générale d'identification de composés en métabolomique 75
Figure 37 : Schéma d'un système CPC à différentes échelles 77
Figure 38 : Diagrammes de phase 79
Figure 39 : Schéma des principales composantes d'un système LC-MS^2 81
Figure 40 : Spectre MS^2 et schéma de fragmentation de la curcumine sous sa forme énol en ionisation négative 82
Figure 41 : Spectre ^{13}C de la curcumine 83
Figure 42 : Schéma général du processus de déréplication associant les réseaux moléculaires (analyses LC-MS^2) à la procédure CaraMel (analyses RMN) 85
Figure 43 : Réseau moléculaire 86
Figure 44 : Schéma des étapes de la procédure CaraMel 90
Figure 45 : Carte de chaleur 91
Figure 46 : Schéma du système de couplage HPLC-DPPH 93
Figure 47 : Équation et sigmoïde dose-réponse permettant de déterminer la CI_{50} relative.103
Figure 48 : Schéma des étapes de traitement des données LC-MS^2 sur MZmine 108
Figure 49 : Schéma général du processus de simplification des extraits bruts 115
Figure 50 : Photo des plaques HPTLC des extraits à l'heptane, à l'AcOEt, au butanol et aqueux sous UV à 366 nm et sous lumière blanche après pulvérisation de vanilline sulfurique 119
Figure 51 : Diagramme circulaire des proportions et masses des fractions de CPC de *F. prolixa* 120
Figure 52 : Diagramme circulaire des proportions et masses des fractions de CPC de *C. subcordata* 121
Figure 53 : Diagramme circulaire des proportions et masses des fractions de CPC de *G. taitensis* 121
Figure 54 : Diagramme circulaire des proportions et masses des fractions de CPC de résine de *C. inophyllum* 122
Figure 55 : Activité antiradicalaire des extraits bruts évaluée par le test DPPH 125
Figure 56 : Activité antioxydante des extraits bruts évaluée par le test FRAP 126
Figure 57 : Schéma du mécanisme de la technologie LUCS utilisée dans le test AOP1 127

Figure 58 : Activité antioxydante intracellulaire de l'extrait brut de *F. prolixa* évaluée par le test AOP1 128
Figure 59 : Activités cytotoxiques de l'extrait de *C. longa* évaluées par AlamarBlue sur les kératinocytes (HaCat) et les fibroblastes (CIhuFIB) 130
Figure 60 : Graphique de l'activité inhibitrice sur les kératinocytes et les fibroblastes 131
Figure 61 : Graphique de l'activité inhibitrice sur les cellules de mélanomes 133
Figure 62 : Photo de microscopie à fluorescence montrant l'inhibition du cycle cellulaire en phase S (Roscovitine) et en phase M (NL28R) comparé à un contrôle négatif (DMSO) .. 134
Figure 63 : Évaluation de l'inhibition des phases G_1/ S par comptage des cellules 134
Figure 64 : Évaluation de l'inhibition de la division cellulaire (phase M) par comptage des cellules 135
Figure 65 : Photo en microscopie à fluorescence de cellules apoptotiques (en vert), de cellules nécrotiques (en rouge) et de cellules vivantes (en bleu) 136
Figure 66 : Évaluation de la capacité à induire l'apoptose par compactage des cellules 136
Figure 67 : Activation de la voie NF-κB en présence ou en l'absence de LPS 138
Figure 68 : Concentration de la 5-LOX dans les kératinocytes (HaCat) et les fibroblastes (CIhuFIB) traités avec les extraits bruts 139
Figure 69 : Concentration de la 5-LOX dans les kératinocytes traités avec les fractions de CPC de *C. subcordata* et *G. taitensis* 140
Figure 70 : Impact des extraits bruts sur la migration et la prolifération des fibroblastes .. 142
Figure 71 : Impact des extraits bruts sur la migration des fibroblastes (avec mitomycine C) 143
Figure 72 : Impact des extraits bruts sur la migration et la prolifération des Kératinocytes 144
Figure 73 : Impact des extraits bruts sur la migration des kératinocytes (avec mitomycine C) 145
Figure 74 : Photo de la brèche séparant deux monocouches kératinocytes à 0 h, 16 h, 24 h et 48 h dans les conditions d'étude avec mitomycine C 146
Figure 75 : Impact des fractions de CPC de *C. subcordata* sur la migration et la prolifération des kératinocytes 147
Figure 76 : Fractions de CPC de *G. taitensis* activant la migration et la prolifération des kératinocytes 147
Figure 77 : Fractions de CPC de *G. taitensis* inhibant la migration et la prolifération des kératinocytes 148
Figure 78 : Carte de chaleur des fractions de CPC 1 à 15 de *F. prolixa* avec clusters et structures des composés identifiés correspondants 152
Figure 79 : Carte de chaleur des fractions de CPC 1 à 16 de *C. subcordata* avec les clusters et les structures des composés identifiés correspondants 159
Figure 80 : Structure du 3-déméthyldéhydrovomifoliol numéroté et avec les corrélations COSY (en jaune) et HMBC (en bleu) 161
Figure 81 : Carte de chaleur des fractions de CPC 1 à 14 de *G. taitensis* avec les clusters et les structures des composés identifiés correspondants 168
Figure 82 : Carte de chaleur des fractions de CPC 1 à 12 de *C. inophyllum* avec les clusters et les structures des composés correspondants 176

Figure 83 : Structure du 6-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylique numéroté et avec les corrélations COSY (en jaune) et HMBC (en bleu) …… 177
Figure 84 : Profil chromatographique de l'extrait brut de feuilles de *C. inophyllum*, analysé par LC-MS^2 (Qtof) en modes d'ionisation positive …… 184
Figure 85 : Comparaison des profils chromatographiques de l'amande et des feuilles de *C. inophyllum*, entre 20 et 25 min, et noms des composés annotés …… 187
Figure 86 : Profil chromatographique de l'extrait brut de *C. longa*, analysé par LC-MS^2 (Qtof) en modes d'ionisation positive …… 188
Figure 87 : Chromatogrammes de l'analyse couplant l'HPLC au DPPH de l'extrait brut de *F. prolixa* …… 191
Figure 88 : Chromatogrammes de l'analyse couplant l'HPLC au DPPH de l'extrait brut de *C. subcordata* …… 192
Figure 89 : Réseau moléculaire des fractions de CPC de *C. subcordata* avec la cartographie de l'activité cicatrisante …… 194
Figure 90 : Clusters mis en évidence par la cartographie de l'activité cicatrisante …… 195
Figure 91 : Réseau moléculaire des fractions de CPC de *C. subcordata* avec la cartographie de l'activité anti-inflammatoire …… 196
Figure 92 : Chromatogrammes de l'analyse couplant l'HPLC au DPPH de l'extrait brut de *G. taitensis* …… 198
Figure 93 : Réseau moléculaire des fractions de CPC de *G. taitensis* avec la cartographie de l'activité cicatrisante …… 200
Figure 94 : Réseau moléculaire des fractions de CPC de *G. taitensis* avec la cartographie de l'activité anti-inflammatoire …… 202
Figure 95 : Chromatogrammes de l'analyse couplant l'HPLC au DPPH de l'extrait brut de feuilles de *C. inophyllum* …… 204
Figure 96 : Chromatogrammes de l'analyse couplant l'HPLC au DPPH de l'extrait brut de *C. longa* …… 205

Listes des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des six phototypes et leur sensibilité aux UV …… 35
Tableau 2 : Facteurs affectant la cicatrisation …… 37
Tableau 3 : Usages en médecine traditionnelle des fruits et des feuilles de *C. inophyllum*.. 53
Tableau 4 : Synthèse présentant les plantes polynésiennes sélectionnées pour l'étude ….. 73
Tableau 5 : Conditions de fractionnement par CPC selon les échantillons …… 98
Tableau 6 : Paramètres utilisés sur MZmine 3 pour *C. subcordata* …… 109
Tableau 7 : Rendements des extractions assistées aux ultrasons …… 116
Tableau 8 : Rendements des partitions liquide/liquide et masse des extraits obtenus ……. 118
Tableau 9 : Teneurs en composés phénoliques dosées dans les extraits bruts …… 124
Tableau 10 : Tableau récapitulatif des activités biologiques des extraits bruts étudiés …… 149
Tableau 11 : Ensemble des composés annotés en LC-MS^2 et identifiés en RMN dans l'extrait de *F. prolixa* …… 154
Tableau 12 : Déplacements chimiques 3-déméthyldéhydrovomifoliol et comparaison avec la base de données prédictives CSearch …… 161
Tableau 13 : Ensemble des composés annotés en LC-MS^2 et identifiés en RMN dans l'extrait de *C. subcordata* …… 162
Tableau 14 : Ensemble des composés annotés en LC-MS^2 et identifiés en RMN dans l'extrait de *G. taitensis* …… 170
Tableau 15 : Déplacements chimiques du 6-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylique et comparaison avec le 6-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate …… 177
Tableau 16 : Ensemble des composés annotés en LC-MS^2 et identifiés en RMN dans l'extrait de *C. inophyllum* …… 178
Tableau 17 : Métabolites annotés dans l'extrait brut de feuilles de *C. inophyllum*, analysé par LC-MS^2 (Qtof) en modes d'ionisation positive et négative …… 186
Tableau 18 : Métabolites annotés dans l'extrait brut de *C. longa*, analysé par LC-MS^2 (Qtof) en modes d'ionisation positive et négative …… 189
Tableau 19 : Activités cicatrisantes et anti-inflammatoire des fractions de CPC de *C. subcordata* (Tou) et couleurs appliquées à la cartographie des activités sur les réseaux moléculaires …… 193
Tableau 20 : Activités cicatrisantes et anti-inflammatoires des fractions de CPC de *G. taitensis* (Tia) et couleurs appliquées à la cartographie des activités sur les réseaux moléculaires …… 199

Listes des annexes

Annexe 1 : Données de la littérature de la phytochimie du genre *Ficus* 231
Annexe 2 : Données de la littérature de la phytochimie du genre *Cordia* 240
Annexe 3 : Photo des plaques HPTLC des extraits à l'heptane et à l'AcOEt sous UV à 254 nm et sous UV à 254 et 366 nm après pulvérisation de vanilline sulfurique 245
Annexe 4 : Photo des plaques HPTLC des extraits au butanol et aqueux sous UV à 254 nm et sous UV à 254 et 366 nm après pulvérisation de vanilline sulfurique 246
Annexe 5 : Test AOP 2 247
Annexe 6 : Test de viabilité cellulaire des extraits bruts sur kératinocytes et fibroblastes.. 248
Annexe 7 : Inhibition de la prolifération ou induction de la mort cellulaire 250
Annexe 8 : Photo de la brèche séparant deux monocouches kératinocytes à t = 0 h, 16 h, 24 h et 48 h 251
Annexe 9 : Déplacements chimiques des composés identifiés en RMN avec la méthode CaraMel chez *F. prolixa* 252
Annexe 10 : Déplacements chimiques des composés identifiés en RMN avec la méthode CaraMel chez *C. subcordata* 260
Annexe 11 : Déplacements chimiques des composés identifiés en RMN avec la méthode CaraMel chez *G. taitensis* 274
Annexe 12 : Déplacements chimiques des composés identifiés en RMN avec la méthode CaraMel chez *C. inophyllum* 283
Annexe 13 : Déplacements chimiques de l'acide shikimique identifiés en RMN dans l'extrait brut de feuilles de *C. inophyllum* 393

Introduction générale

Ce projet de recherche est né à la suite d'un constat de l'entreprise Medex, qui fournit des soins infirmiers en Polynésie française : les plaies et brûlures de leurs patients ont de grandes difficultés à cicatriser. Plusieurs causes sont évoquées :

- (i) Les conditions climatiques tropicales, notamment les températures élevées et le taux d'humidité, qui peuvent ralentir la cicatrisation et favoriser la prolifération des bactéries (1)
- (ii) Le diabète, particulièrement élevé en Polynésie française avec une prévalence de 22 % en 2021 chez les adultes de 20 à 79 ans (contre 5,6% en France en 2022) (2,3). Cette pathologie se caractérise notamment par une perte de sensibilité des nerfs périphériques propice aux blessures et une hyperglycémie qui diminue la synthèse de peptides antimicrobiens et augmente le stress oxydatif. Ces facteurs favorisent chez les patients diabétiques l'apparition de plaies chroniques et engendrent des complications allant jusqu'à l'amputation (4).
- (iii) L'exposition aux UV du soleil qui endommage directement l'ADN et qui génère indirectement du stress oxydatif et de l'inflammation chronique. L'ensemble de ces mécanismes influencent d'une part la cicatrisation (4,5) et d'autre part, sont à l'origine de cancers de la peau (6–8).

Face à ces enjeux de santé, le caractère insulaire de la Polynésie française ne facilite pas la prise en charge des patients. L'isolement géographique des insulaires, qui vivent loin des villes et des hôpitaux, peut réduire leur accès aux soins médicaux. En Polynésie française, la population a principalement recours à deux types de soins : (i) la médecine moderne associée aux produits pharmaceutiques qui s'est développée sous l'influence des Occidentaux, (ii) et la médecine traditionnelle qui relève d'un savoir ancestral, transmis oralement. Elle utilise notamment les *ra'au tahiti*, médicaments à base de plantes, souvent employés en mélange (9). Ils associent les connaissances en botanique à la spiritualité pour traiter tous types de pathologies. Ces deux approches de la santé sont liées par cet usage des plantes. De nos jours, environ 50 % de nos médicaments sont inspirés par la nature et principalement par les plantes (10).

Ainsi est apparue l'idée de répondre aux problématiques cutanées avec des plantes polynésiennes et de concevoir des soins pharmaceutiques ou cosmétiques accessibles à tous. La cicatrisation des plaies, les mélanomes ainsi que les troubles liés à l'inflammation et au stress oxydatif sont ciblés. Afin de mimer les pratiques traditionnelles, ce soin serait aussi basé sur l'utilisation d'une combinaison des plantes. Leurs propriétés pourraient alors être améliorées, voire décuplées par rapport aux plantes seules, grâce à des effets de synergie, d'addition ou de complémentarité (11,12).

Le projet de recherche intitulé "CAMELIA" a donc été élaboré à l'Université de la Polynésie française (UPF) au sein de l'UMR 241 Santé et service des écosystèmes polynésiens (SECOPOL anciennement EIO) en partenariat avec l'entreprise Medex et d'autres équipes de recherche.

Il vise à étudier les propriétés du ***Ca****lophyllum inophyllum* (*tamanu*) en **mél**ange avec d'autres plantes b**io****a**ctives polynésiennes. Ces objectifs sont multiples :

- Sélectionner les plantes polynésiennes les plus pertinentes pour l'étude selon une recherche bibliographique et grâce à des critères établis ;
- Caractériser la composition chimique des plantes en adoptant une approche métabolomique déréplicative permettant l'identification de molécules en mélange ;
- Évaluer les propriétés anti-inflammatoire, antioxydante, cicatrisante et antiprolifératives et vérifier l'innocuité des plantes avec des tests *in vitro* et *in cellulo* ;
- Identifier les constituants responsables des activités biologiques ;
- Déterminer et quantifier leur potentiel effet synergique, additif ou antagoniste lors de leur association au *Calophyllum inophyllum* ;
- Investiguer les modes d'action impliqués via l'analyse transcriptomique des échantillons sur les cellules cibles
- Optimiser le processus d'éco-extraction utilisé afin de maximiser les rendements et taux de principes actifs ;
- Transposer le procédé à l'échelle industrielle.

Pour cela, ce projet s'appuie sur des collaborations scientifiques pluridisciplinaires (**Figure 1**). Ainsi, le Spectropôle et l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Écologie (IMBE) à Aix-Marseille Université ont participé aux tests antioxydants et au profilage chimique. À l'université de Reims Champagne-Ardenne, l'Institut de Chimie Moléculaire de Reims (ICMR) a réalisé également le profilage chimique.

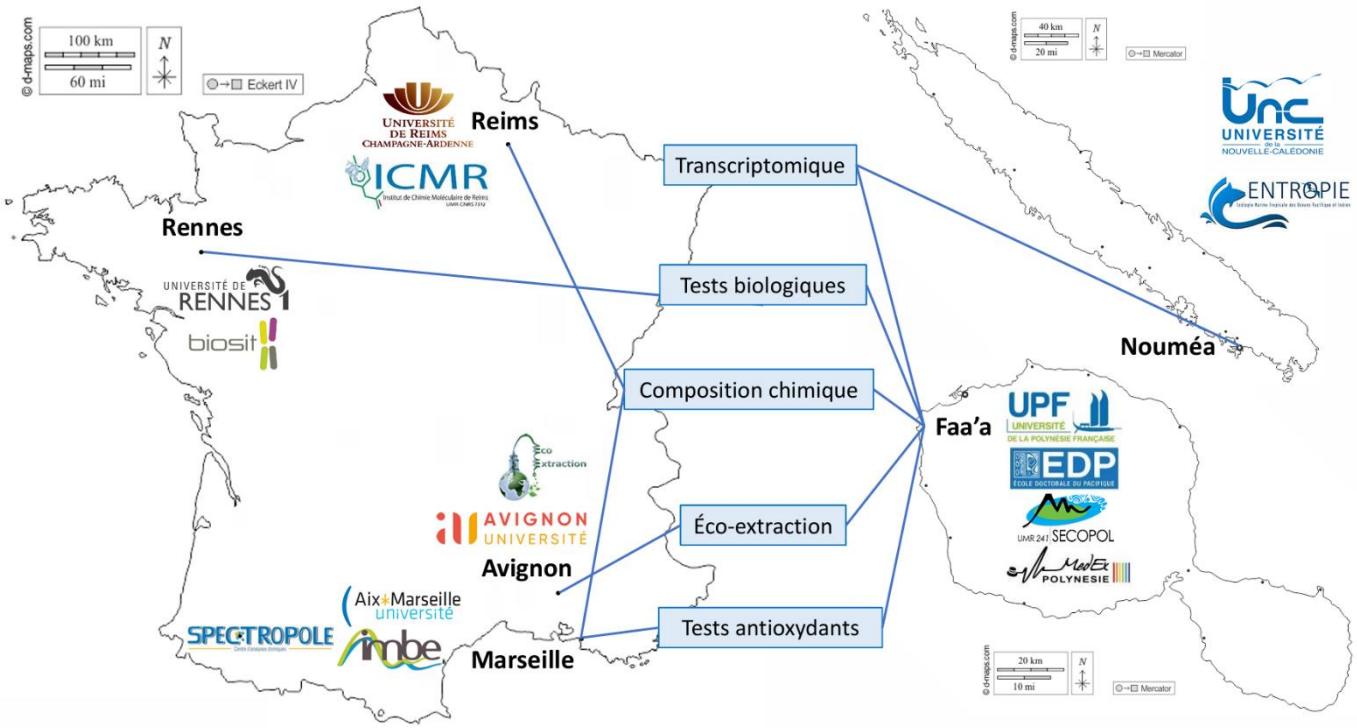


Figure 1 : Cartographie et principales activités des équipes de recherches partenaires de l'Université de la Polynésie française dans le projet CAMELIA

L'équipe ImPACcell de l'unité Biologie Santé Innovation Technologique (Biosit) à l'université de Rennes 1 a participé à l'étude biologique avec des tests évaluant la cytotoxicité et les activités antiprolifératives et anti-inflammatoires. À Avignon université, le Groupe de Recherche en Eco-Extraction de produits Naturels (GREEN) a contribué à la transposition de l'échelle du laboratoire à l'échelle pilote. Enfin, l'aspect transcriptomique est assuré par une équipe de l'UMR Entropie de l'université de Nouvelle-Calédonie.

Aussi, le projet a fait appel à deux prestataires pour la réalisation de tests biologiques. L'unité Matrice Extracellulaire et Dynamique Cellulaire (MEDyC) à l'université de Reims Champagne-Ardenne a effectué des tests anti-inflammatoires et de cicatrisation. L'entreprise "Anti Oxidant Power" à Toulouse a réalisé les tests antioxydants intracellulaires.

Ainsi, cette thèse, intitulée « Application de stratégies déréplicatives par LC-MS^2 et RMN et évaluation des propriétés biologiques d'extraits de 5 plantes polynésiennes à visées dermocosmétique et pharmaceutique : *Calophyllum inophyllum*, *Cordia subcordata*, *Ficus prolixa*, *Gardenia taitensis* et *Curcuma longa*», a été réalisée en grande partie dans le cadre du projet CAMELIA sous la direction, à l'UPF, de Phila RAHARIVELOMANANA et Raimana HO. Elle est cofinancée par l'entreprise Medex et l'École Doctorale du Pacifique (EDP). Ses principaux objectifs, similaires à ceux du projet, incluent la sélection des plantes, l'étude des propriétés biologiques des plantes hors mélange, la caractérisation de leur composition chimique et l'identification des composés responsables de l'activité biologique. Cette thèse s'appuie sur des méthodes analytiques innovantes afin de faciliter et d'accélérer la découverte de substances naturelles actives, par l'utilisation du couplage de l'HPLC avec le test DPPH. Ainsi, le profilage chimique utilise la déréplication en associant la procédure de Caractérisation des Mélanges (CaraMel) basée sur les analyses RMN, et les réseaux moléculaires exploitant les données de LC-MS^2.

Ce mémoire de travaux de thèse comporte trois principales parties :

I. La première partie expose l'état de l'art avec, dans un premier temps, la peau, sa structure, ses fonctions, l'aspect esthétique et culturel qui l'entoure, ainsi que les pathologies et troubles qui l'affectent. Dans un second temps, la flore, la pharmacopée et la cosmétopée polynésienne sont décrites ainsi que les plantes sélectionnées pour cette étude. Puis, l'approche métabolomique et les méthodes de déréplications employées pour la caractérisation chimique sont développées dans un troisième temps.
II. La deuxième partie détaille les méthodes expérimentales et le matériel utilisés.
III. La troisième partie compile et discute les résultats obtenus en commençant par la réalisation des échantillons de l'étude, en poursuivant avec le rapport des tests d'activités et en terminant avec la caractérisation chimique des plantes et l'étude des relations entre la composition chimique et l'activité biologique.

Au-delà de l'intérêt scientifique, ce projet présente également un intérêt socioculturel, en documentant les propriétés et la composition de plantes polynésiennes des plus utilisées par la population en médecine traditionnelle. Aussi, ces travaux répondent à des problématiques

de santé et de bien-être présentes en Polynésie française, mais également répandues à l'échelle mondiale. L'ensemble de cette démarche présente un fort potentiel économique pour la valorisation des ressources naturelles polynésiennes dans les domaines pharmaceutiques et cosmétiques. Des structures agricoles et de production pourraient être mises en place, participant ainsi à la création d'emplois. De nouveaux produits locaux *made in fenua* pourraient voir le jour pour une commercialisation nationale, voire internationale. Dans cette optique, le projet CAMELIA bénéficie notamment du soutien financier de la Polynésie française. Ainsi, l'UPF a pu se doter d'un extracteur assisté aux ultrasons à l'échelle pilote. Cet investissement à long terme concrétise le développement de procédés plus écologiques à grande échelle en Polynésie française.

Partie I : État de l'art

Cette première partie décrit, dans un premier temps, la peau à travers sa structure, ses fonctions biologiques et l'aspect esthétique et culturel qui l'entoure. Sont ensuite abordés les pathologies et les troubles cutanés étudiés dans cette thèse : le stress oxydatif, l'inflammation, les mélanomes et les défauts de cicatrisation. Dans un second temps, la flore polynésienne ainsi que sa capacité à répondre aux problématiques de soins de la peau sont exposées. De ce fait, la pharmacopée et la cosmétopée polynésienne ainsi que les plantes sélectionnées pour cette étude sont présentées. Puis, dans un troisième temps, la caractérisation chimique est abordée selon l'approche métabolomique. Les techniques d'analyse structurale et les méthodes de déréplication employées sont alors développées.

1. La peau

La peau est un organe du corps humain qui est bien plus qu'une simple enveloppe corporelle. Elle remplit de multiples fonctions essentielles au bon fonctionnement de l'organisme. Outre son rôle physiologique, la peau constitue un critère esthétique important, dont la perception varie selon les contextes socioculturels. La peau est un organe que l'on perçoit visuellement, dont on prend soin au quotidien.

Cette section 1 présente la peau, sa structure et ses fonctions. Elle détaille certaines pathologies et désordres physiologiques qui l'impactent : les mélanomes cutanés et les troubles de la cicatrisation, du système antioxydant et de l'inflammation.

1.1. Structure

La peau est l'organe le plus lourd et le plus étendu du corps humain (13). Située à l'interface entre l'environnement extérieur et l'organisme, elle fait partie du système tégumentaire, qui inclut également les poils, les cheveux et les ongles.

La peau se divise en trois tissus superposés : l'épiderme, le derme et l'hypoderme (**Figure 2**). La couche externe de la peau, appelée épiderme, est un épithélium majoritairement constitué de kératinocytes formant des strates. Ces cellules produisent de la kératine, une protéine fibreuse et hydrophobe qui offre protection et imperméabilité à la peau. Elle comprend également des cellules dendritiques appelées cellules de Langerhans, qui permettent l'activation du système immunitaire en cas de détection d'organismes étrangers. La couleur de la peau provient de la mélanine, synthétisée par les mélanocytes qui se situent au niveau de la couche basale de l'épiderme. Ce pigment naturel est transféré dans les kératinocytes et protège leur ADN en absorbant les rayons ultraviolets (UV). Enfin, les cellules de Merkel participent à la sensibilité de la peau grâce à leur fonction mécanoréceptrice et à leur proximité avec les terminaisons nerveuses (13,14).

La couche intermédiaire, le derme, est un tissu conjonctif de soutien. Composées principalement de fibroblastes, ces cellules synthétisent du collagène et de l'élastine, apportant fermeté et élasticité à la peau. Elles sécrètent également les principaux constituants

de la matrice extracellulaire (MEC), un mélange complexe de glycoprotéines, de protéoglycanes, d'acide hyaluronique et d'eau. Le derme est impliqué dans les processus de cicatrisation et de défense immunitaire via la présence de macrophages, de mastocytes et de cellules dendritiques. Contrairement à l'épiderme, cette couche contient des vaisseaux sanguins et lymphatiques. Elle a donc pour rôle de fournir les nutriments et l'oxygène nécessaires à l'épiderme (13,14).

La couche profonde, l'hypoderme, est composée d'adipocytes. Ces cellules graisseuses permettent à la fois l'isolation thermique du corps et le stockage de l'énergie sous forme de triglycérides (13,14).

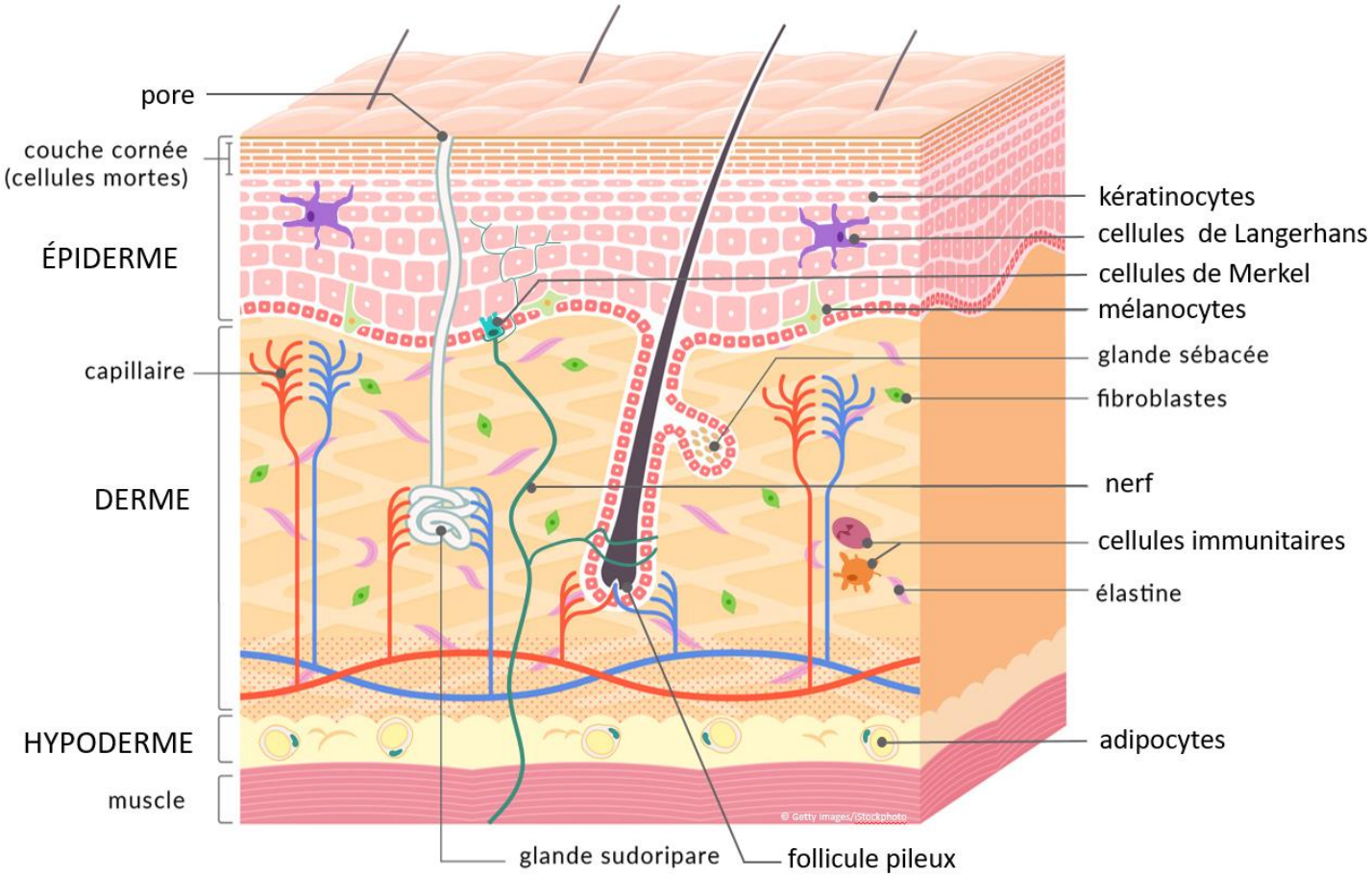


Figure 2 : Schéma de la structure de la peau

1.2. Fonctions

En raison de sa structure et de sa composition, la peau possède de multiples fonctions (**Figure 3**). La fonction principale de la peau est de constituer une barrière protectrice entre l'organisme et l'environnement extérieur, le protégeant ainsi des rayonnements UV, des agressions physiques, de la pollution de l'air, des micro-organismes pathogènes et des produits chimiques. La peau possède également des fonctions métaboliques. En effet, exposée au soleil, elle permet de synthétiser (à partir du cholestérol) la vitamine D, essentielle à l'absorption intestinale du calcium et du phosphore, ainsi qu'à l'inflammation, à la prolifération et à la différenciation cellulaire. L'hypoderme, étant le plus grand réservoir énergétique, est impliqué dans les changements d'état métabolique via sa sensibilité à l'insuline. C'est aussi un organe sensoriel qui, grâce à la présence de nombreuses terminaisons nerveuses, permet la perception de la chaleur (thermorécepteurs), de la douleur (nocicepteurs) ou encore de la pression (mécanorécepteurs). Enfin, elle contribue à la thermorégulation en maintenant le corps à une température constante d'environ 37 °C, notamment grâce aux mécanismes de sudation et à la circulation sanguine à la surface de la peau (14).

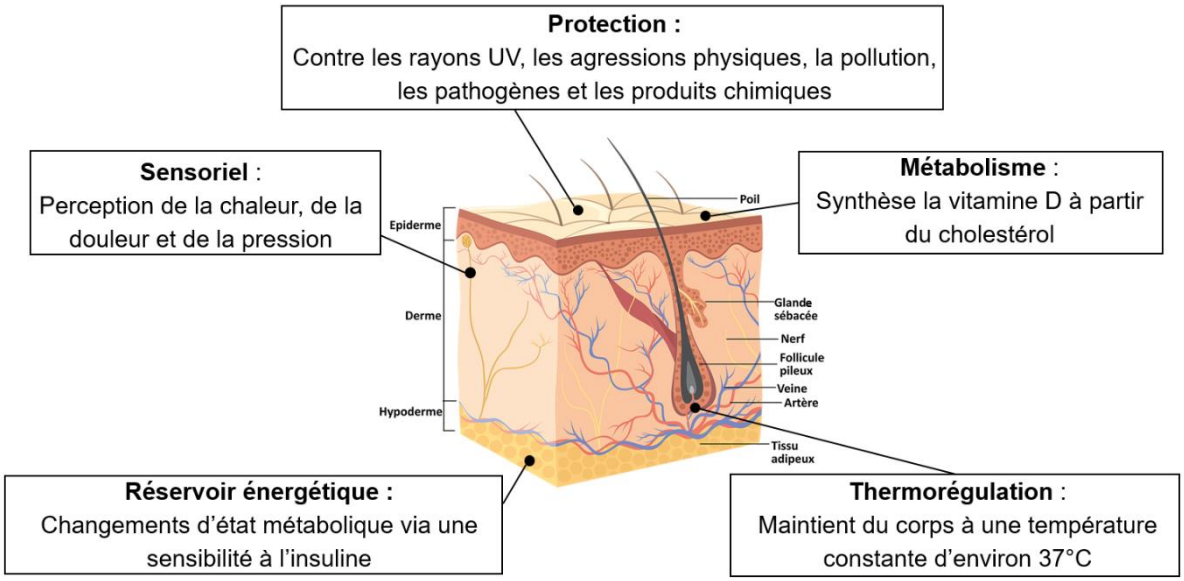


Figure 3 : Schéma des fonctions de la peau

1.3. Organe esthétique et aspects culturels

Au-delà de ses fonctions physiologiques, la peau est un organe exposé au regard. Elle est donc un élément majeur de notre apparence physique. Visuellement, elle peut renseigner notre tranche d'âge, notre groupe ethnique ou encore notre état de santé. Mais, elle a également une dimension esthétique. Les critères de beauté de la peau sont propres à chacun, subjectifs et changeants selon l'époque, le lieu, la mode.

Le vieillissement de la peau est pris comme exemple d'un phénomène physiologique parfois jugé inesthétique et donnant recourt à des soins cosmétiques anti-âge ou à des actes médicaux, tels que la chirurgie esthétique. Au niveau du tissu cutané, divers changements sont

notables : l'apparition de rides et ridules associée à une perte d'élasticité et de fermeté, une sécheresse cutanée, ainsi qu'un teint irrégulier et plus terne. Ces changements sont liés à un amincissement de l'épaisseur du tissu cutané dû à deux mécanismes communs à tous types cellulaires : le ralentissement de la division cellulaire et la sortie des cellules du cycle mitotique pour entrer en sénescence (15). On observe également une perte en matrice extracellulaire liée à une baisse de la synthèse du collagène, d'élastine et de l'acide hyaluronique due à la diminution du nombre de fibroblastes. Mais elle est aussi liée à l'augmentation de la dégradation de la MEC due aux métalloprotéases matricielles (MMPs) produites par les fibroblastes sénescents (16).
Le vieillissement de la peau dépend de facteurs intrinsèques liés à l'âge et au phototype, mais aussi à des facteurs extrinsèques tels que l'inflammation chronique, la consommation de tabac, d'alcool, l'alimentation et l'exposition aux UV (17).

La couleur de peau peut également être percu comme un critère de beauté qui peut mener à l'usage de produits éclaircissants ou au contraire à une surexposition aux UV, qui sont tous deux délétères pour la peau. Cette couleur est obtenue par la superposition de quatre teintes principales (18) : le jaune apporté par les caroténoïdes, le rouge dû à l'oxyhémoglobine, le bleu provenant de l'hémoglobine et principalement le brun produit par la mélanine. Le bronzage est une pratique qui consiste à s'exposer aux rayons UV du soleil ou de sources artificielles afin d'augmenter la pigmentation de la peau. Ce processus est une réponse biologique visant à protéger la peau des effets nocifs des UV (18). Pour certains, le bronzage donne un effet bonne mine et est un marqueur de richesse, car il est associé aux vacances. Néanmoins, cette pratique présente des risques, notamment de brûlures et de cancers de la peau. Le blanchiment de la peau consiste lui à diminuer la pigmentation de l'épiderme en bloquant la synthèse de la mélanine et le transfert des mélanosomes ou encore en détruisant les mélanocytes. Ce phénomène sociétal est très répandu chez les populations noires d'Afrique subsaharienne et peut-être une séquelle d'un passé colonial dans certains pays (18,19). Mais cette pratique est également fréquente au Moyen-Orient, en Asie et en Amérique centrale et du sud (18). Pour certains, une peau foncée peut être symbole de pauvreté, car elle est associée au labeur des agriculteurs très exposés au soleil. La composition des cosmétiques éclaircissants est réglementée. Elle interdit en UE l'usage d'hydroquinone, de dermocorticoïdes et de dérivés mercuriels, et limite les concentrations de composés à risque, tels que l'acide kojique et l'arbutine. En effet, ces composés peuvent provoquer des dermatoses infectieuses (gale, dermatophyties, érysipèle, impétigo, furoncles…) de l'acné, des vergetures, de l'eczéma et des hyper- et dépigmentations irréversibles (18).

Ainsi, la peau est un organe vital avec une telle connotation esthétique que l'on prend parfois soin de l'abîmer, pour plaire et pour se plaire. Et certaines pratiques faites sur une peau saine comportent parfois des risques et peuvent avoir un impact sur la santé.

1.4. Pathologies et troubles cutanés

La peau est sujette à de nombreuses agressions, notamment par son interaction avec l'environnement extérieur : rayonnements UV, particules fines de pollution, produits chimiques, microorganismes. En cas de surexposition, des troubles et pathologies, tels que les coups de soleil, les dermatoses ou encore les cancers de la peau surviennent. Ainsi, la peau dispose d'un arsenal de défense grâce à la production d'espèces réactives de l'oxygène, à la réaction inflammatoire associée au système immunitaire ou encore via un processus de cicatrisation. Néanmoins, ces mécanismes de défense peuvent être dépassés et causer à leur tour des dommages à l'organisme.

1.4.1. Stress oxydant

Dans l'organisme, les réactions d'oxydoréduction génèrent des composés oxydants appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces molécules jouent un rôle fondamental dans les processus physiologiques, mais elles peuvent provoquer des réactions délétères. L'organisme possède donc des systèmes antioxydants afin de maintenir un équilibre.

- **Espèces réactives de l'oxygène**

Les espèces réactives de l'oxygène produites par les cellules, notamment les cellules cutanées, se déclinent en deux catégories : les espèces radicalaires et les espèces non radicalaires. Les espèces radicalaires possèdent un ou plusieurs électrons non appariés leur conférant une réactivité chimique élevée. Parmi elles, on retrouve l'anion superoxyde ($O_2^{-}\bullet$), le radical hydroxyle (HO•) ou le monoxyde d'azote (NO•). À l'inverse, les espèces non radicalaires n'ont pas d'électrons libres. Ces espèces incluent le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le peroxynitrite ($ONOO^{-}$), l'acide hypochloreux (HClO) et l'oxygène singulet (O) (20). Ces molécules participent à divers échanges d'électrons et de protons dans l'organisme.

Les ERO sont produits par des mécanismes endogènes ou exogènes. La production endogène d'ERO est régulée par des cytokines, des facteurs de croissance et des hormones. Elle se produit principalement au niveau des mitochondries lors de la respiration cellulaire. Les ERO peuvent également être générés selon des processus exogènes stimulés par des facteurs environnementaux, tels que l'exposition aux rayonnements UV, la pollution atmosphérique, ou l'utilisation de certains cosmétiques (8).

Ces ERO jouent un rôle clé dans la régulation de nombreux processus biologiques et sont indispensables. Les ERO interviennent principalement dans la signalisation intracellulaire. Ces molécules agissent comme des messagers cellulaires. Elles sont capables de modifier les protéines, permettant alors leur phosphorylation ou déphosphorylation. Ainsi, par une cascade de signalisation, elles activent ou inhibent ainsi des voies impliquées dans la croissance, la prolifération et la différenciation cellulaires (21). Elles participent également à la régulation de protéines kinases et de facteurs de transcription (NF-κB) (22). Néanmoins, en raison de leur grande réactivité chimique, les ERO peuvent induire des modifications irréversibles des protéines, des lipides et des acides nucléiques. Elles participent au

phénomène de peroxydation lipidique en altérant les lipides membranaires et les lipoprotéines, initiant une chaîne de réactions délétères. Les ERO dégradent également l'ADN en modifiant les bases puriques et pyrimidiques, ce qui provoque des cassures de l'ADN et une instabilité génomique (20). Ainsi, ces dommages peuvent amorcer la sénescence de la cellule ou entraîner sa mort par apoptose (21).

- **Réponse antioxydante**

Pour neutraliser l'effet nocif des ERO, l'organisme dispose d'un système antioxydant comprenant des antioxydants enzymatiques, tels que les superoxydes-dismutases (SOD), la glutathion-peroxydase (GPX) et la catalase. Il existe également des antioxydants non enzymatiques, comme le glutathion, les vitamines C (acide ascorbique), E (α-tocophérol) et A (rétinol) et certaines hormones, telles que l'estradiol ou la mélatonine (8,23). Le facteur nucléaire érythroïde 2 (Nrf2) est un facteur de transcription. C'est un régulateur majeur de l'expression de gènes présentant une séquence d'ADN appelée « antioxidant response element » (ARE) dans leur région promotrice. Ces gènes codent pour des protéines antioxydantes, détoxifiantes et cytoprotectrices, notamment les enzymes antioxydantes SOD, GPX et l'Hème Oxygénase-1 (HO-1). Ainsi, les défauts de la voie Nrf2 sont impliqués dans des maladies chroniques associées au stress oxydatif (24).

- **Stress oxydatif et pathologies**

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la quantité d'ERO et les capacités antioxydantes de l'organisme entraînant une surcharge de composés oxydants (**Figure 4**). Celui-ci peut être dû à une surproduction d'ERO ou à un défaut du système antioxydant. Ce phénomène est impliqué dans la physiopathologie de nombreuses maladies, telles que les maladies cardiovasculaires (plaques d'athérosclérose), les maladies inflammatoires (20). Les

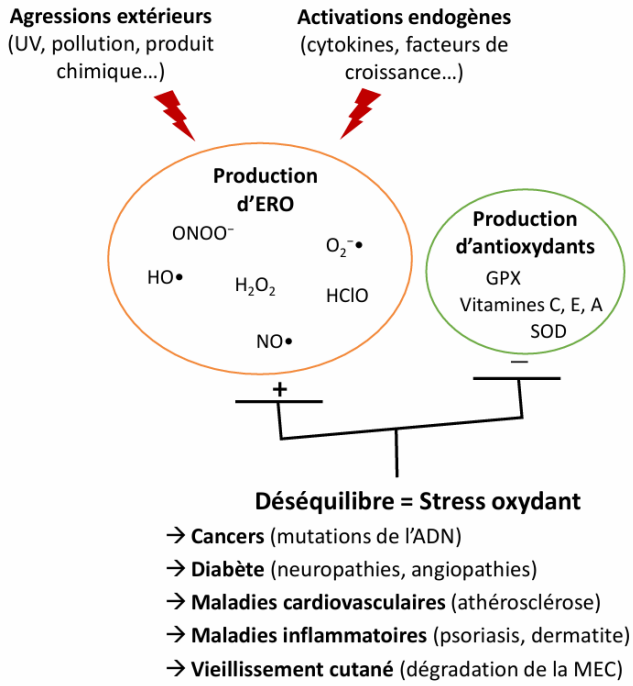


Figure 4 : Stress oxydatif et principales conséquences

dommages causés sur l'ADN participent à initier le développement de cancers. Le stress oxydatif intervient dans les processus de vieillissement cellulaire (senescence) et tissulaire. Au niveau du tissu cutané, il favorise la peroxydation lipidique, stimule la formation des MMP et active des enzymes, telles que la collagénase et l'élastase. Il en résulte la dégradation de la MEC du derme et un vieillissement prématuré de la peau (25). Aussi, il participe au développement de nombreux troubles cutanés, comme l'acné, le psoriasis, les dermatites atopiques et séborrhéiques (8,23). Le stress oxydatif peut également être provoqué par l'hyperglycémie liée au diabète qui affecte l'activité des kératinocytes et des fibroblastes. Il participe au développement des neuropathies et angiopathies chez les patients diabétiques. La perte de sensibilité au niveau des membres périphériques facilite l'apparition de blessures et l'atteinte des capillaires provoque de l'ischémie, de l'hypoxie et diminue la réponse immunitaire. Ce stress oxydatif est donc impliqué dans la création des plaies et leurs défauts de cicatrisation (4).

1.4.2. Inflammation

L'inflammation aiguë est un mécanisme de défense naturel relevant de l'immunité innée, activée en réaction à des agressions externes ou internes. Elle se traduit par plusieurs symptômes localisés : rougeur, chaleur, douleur et tuméfaction (œdème) (26). En effet, les cellules immunitaires inflammatoires présentes au niveau tissulaire (macrophages, mastocytes) vont réagir à une agression par la synthèse de composés pro-inflammatoires. Parmi ceux-ci, les cytokines (IL-1, IL-6, IL-17, TNF-α) et l'histamine vont permettre la vasodilatation et cet afflux sanguin provoque alors rougeurs et chaleur (26). Les médiateurs lipidiques, tels que les leucotriènes, sont de puissants chimio-attractants et sont responsables du recrutement de cellules immunitaires circulantes, telles que les polynucléaires neutrophiles (27). Ces cellules, en migrant au niveau tissulaire, vont également libérer du plasma, responsable de la tuméfaction et de la douleur (26). Le processus inflammatoire entre en phase de résolution une fois l'agression maîtrisée. Cette phase implique l'arrêt de l'afflux des cellules immunitaires, notamment en dégradant et séquestrant les chimio-attractants. Les cytokines et médiateurs lipidiques anti-inflammatoires, tels que l'IL-10 et les lipoxines sont produits (26,27). Les macrophages favorisent la mort des cellules immunitaires et ingèrent les corps apoptotiques (27).

Ce mécanisme physiologique fonctionne selon une balance sensible entre les signaux pro- et anti-inflammatoires, ce qui permet les étapes de recrutement, prolifération, migration et mort des cellules impliquées. Une dérégulation de ce système conduit à une réponse inflammatoire soutenue entraînant une inflammation chronique impliquée dans de nombreuses pathologies (psoriasis, cancers, diabètes et plaies chroniques) (26,28). Le lien entre ce déséquilibre des médiateurs lipidiques pro- et anti-inflammatoires et la cicatrisation des plaies a été mis en évidence sur un modèle murin diabétique. Ces travaux montrent également qu'impacter le métabolisme des médiateurs lipidiques peut améliorer le processus cicatriciel (28).

Cette étude se focalise sur la voie métabolique de l'arachidonate 5-lipoxygénase (5-LOX) et la voie de signalisation NF-κB, toutes deux impliquées dans le développement de cancers de la peau et autres pathologies cutanées liées à l'inflammation, telles que le psoriasis et l'allergie de contact (29–32).

- **Voie métabolique de la 5-LOX**

Les médiateurs lipidiques sont des composés pro- ou anti-inflammatoires provenant d'acides gras polyinsaturés, tels que l'acide arachidonique. Ces acides gras sont tout d'abord libérés des phospholipides membranaires par la phospholipase A2 (**Figure 5**). Puis, sous l'action de plusieurs enzymes, l'acide arachidonique permet la synthèse des médiateurs lipidiques, dont les prostaglandines et les thromboxanes via les cyclooxygénases (COX) et les leucotriènes ainsi que les lipoxines via les lipoxygénases (LOX) (33). Les LOX (5, 8, 12 et 15-LOX) constituent une famille d'enzymes qui assurent l'oxygénation des acides gras polyinsaturés en hydroperoxydes correspondants. La 5-LOX possède un rôle essentiel dans la synthèse de dérivés de l'acide 5-hydroxyperoxyeicosatétraénoïque (5-HPETE) et des leucotriènes (LT) (33,34). Ces composés pro-inflammatoires sont connus comme étant de puissants agents chimio-attractifs pour les cellules immunitaires (35).

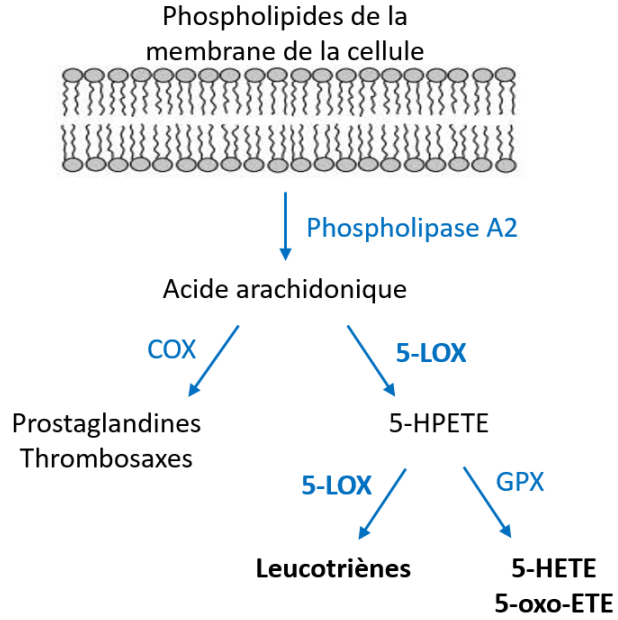


Figure 5 : Schéma de la voie métabolique de la 5-LOX permettant la synthèse des leucotriènes et de 5-HETE

Parmi les leucotriènes, la LTB_4 est impliquée dans les mécanismes inflammatoires liés au psoriasis et à l'eczéma. La LTD_4 est un facteur de croissance important dans les mélanocytes. Ses deux leucotriènes favorisent la prolifération des cellules cancéreuses et leur protection des rayonnements ionisants (29). De même pour le 5-HETE, un dérivé de 5-HPETE, qui est impliqué dans le développement de cancer (30). Ainsi, l'inhibition de la 5-LOX est une stratégie qui permettrait de diminuer la production de leucotriènes et des dérivés de 5-HPETE et, par conséquent, l'inflammation. Cette approche pourrait avoir un impact positif sur les pathologies inflammatoires dermatologiques et sur les cancers de la peau (29,30).

- **Voie de signalisation NF-κB**

Le facteur nucléaire κB (NF-κB) est une famille de protéines dimériques pouvant être composées de différentes sous-unités : p50, p52, p65, c-rel et relB (6). Elles ont la capacité de fixer l'ADN et de réguler l'expression de nombreux gènes, notamment impliqués dans des mécanismes immunitaires, d'inflammation, de développement et d'apoptose (36). En l'absence d'activation, des protéines inhibitrices de NF-κB (IκB) le maintiennent dans le cytoplasme (**Figure 6**). La voie NF-κB peut être activée par des stimuli externes (rayons UV, lipopolysaccharides bactériens) ou internes (cytokines pro-inflammatoires) (37). Les IκB sont alors dégradées par les IκB kinases (IKK), libérant ainsi NF-κB qui peut rejoindre le noyau et activer la transcription génique (6). Le facteur de transcription NF-κB régule la réponse inflammatoire. Il induit l'expression de divers gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires (IL-1β, IL-6 et TNF-α). NF-κB joue un rôle essentiel dans la régulation de la survie, de l'activation et de la différenciation des cellules immunitaires innées et des lymphocytes T (37).

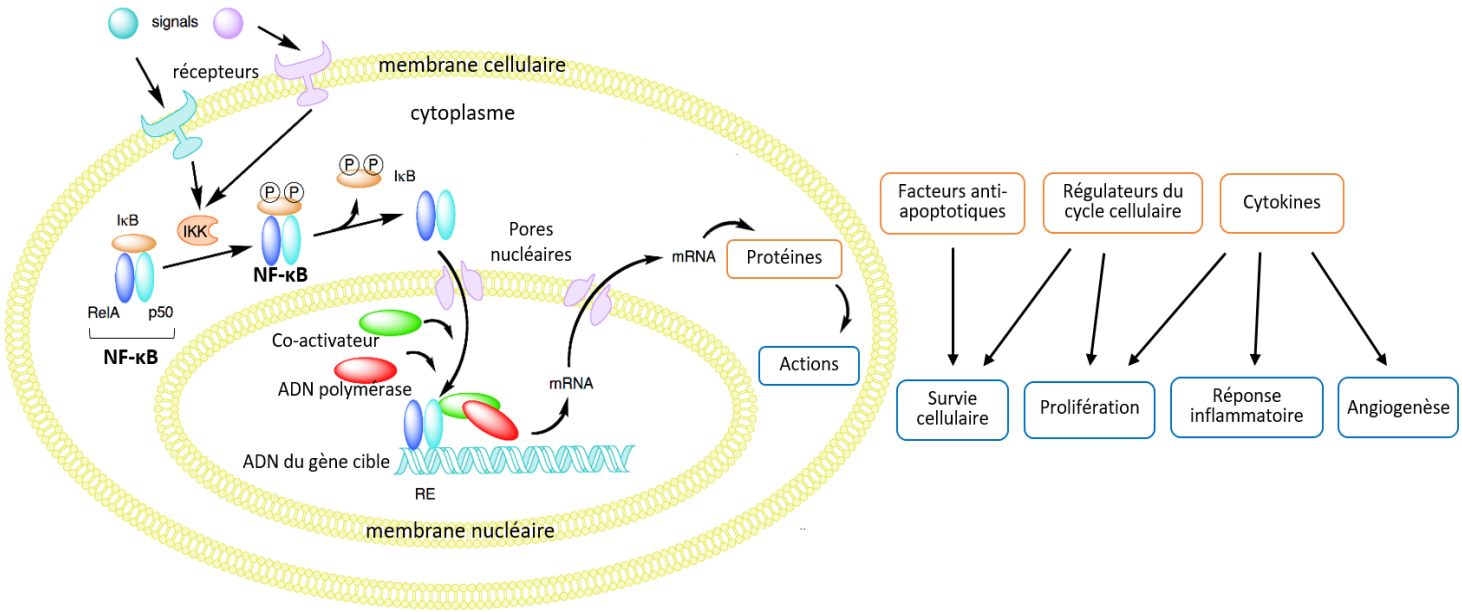


Figure 6 : Schéma d'activation de la voie de signalisation de NF-κB

Une activation dérégulée du NF-κB est caractéristique des maladies inflammatoires chroniques (psoriasis, eczéma) et est associée à d'autres pathologies, telles que le diabète (32,37). Le facteur NF-κB a été identifié comme un élément clé liant l'inflammation à certains cancers (6). L'activation de NF-κB dans les cellules inflammatoires favorise le développement tumoral à travers la production de cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF-α, qui jouent le rôle de facteur de croissance. NF-κB est un inducteur majeur de l'expression des gènes anti-apoptotiques, augmentant ainsi la survie des cellules cancéreuses. NF-κB stimulerait directement la progression du cycle cellulaire et, par conséquent, la prolifération des cellules tumorales, et participerait également à l'angiogenèse (6). Ainsi, la voie NF-κB peut être une cible pour la découverte de nouvelles substances anticancéreuses.

1.4.3. Mélanome cutané

Le mélanome cutané est une tumeur maligne du système pigmentaire. Il se développe à partir de mélanocytes sains qui acquièrent les capacités des cellules cancéreuses, notamment à cause d'une surexposition aux UV. En effet, les cellules cancéreuses se multiplient de façon anarchique, échappent aux mécanismes de mort cellulaire et résistent au système immunitaire. Il représente 10 % des cancers de la peau et en est la forme la plus agressive.

- **Épidémiologie**

Le mélanome représente en France près de 3 % des cancers (hors autres cancers de la peau). Bien que le pourcentage soit faible, il a subi l'augmentation la plus rapide au cours des dernières années parmi tous les cancers. En France, entre 1990 et 2023, le nombre de nouveaux cas a été multiplié par 5 (+444 %) chez les hommes et par 3 (+240 %) chez les femmes (38). À l'échelle mondiale, la dernière étude GLOBOCAN présente les statistiques issues de 185 pays et estime son incidence à 331 647 nouveaux cas et sa mortalité à 58 000 décès en 2022 (39).

En Polynésie française, le mélanome cutané est le 8^{e} cancer le plus fréquent chez l'homme et le 12^{e} chez la femme (40). En 2016, son incidence en Polynésie française semble deux fois plus faible qu'en France métropolitaine et six fois plus faible que dans d'autres régions du Pacifique (Australie, Nouvelle-Zélande). Il a pourtant été constaté chez les Polynésiens une exposition élevée aux rayons UV et un faible recours aux protections solaires (41,42). Comme toutes les données épidémiologiques, celles-ci sont dépendantes des processus de dépistage et de diagnostic, qui peuvent varier selon les localisations. Il est possible que le nombre de cas soit sous-estimé. Néanmoins, cette différence pourrait être expliquée par les phototypes de la population (tableau 1) ou par des pratiques de soins cutanés locales.

- **Anatomopathologie**

Initialement, le mélanome se développe horizontalement dans l'épiderme (mélanome *in situ*) (**Figure 7**). Puis, sa croissance devient verticale pour atteindre le derme, il est alors qualifié d'invasif. Cette invasion dermique provoque souvent une réaction inflammatoire et des phénomènes de régression peuvent être observés (17). Puis, les cellules cancéreuses stimulent l'angiogenèse afin d'augmenter l'apport en nutriments et d'atteindre plus rapidement les vaisseaux sanguins et lymphatiques. Elles se détachent ensuite du mélanome pour être disséminées par le système sanguin ou lymphatique dans d'autres régions du corps, formant ainsi de nouvelles tumeurs appelées métastases (14).

Il existe quatre principaux types de mélanome (17,43):

- Le mélanome superficiel extensif (60-70 %) est lié à des coups de soleil importants dans le passé.
- Le mélanome de Dubreuil (10 %), aussi appelé lentigo malin, touche surtout les personnes âgées sur des zones photo-exposées.

- Le mélanome acrolentigineux (2-5 %) apparaît au niveau des extrémités (mains, pieds, ongles), plus fréquemment chez les peaux foncées, et n'est pas lié à l'exposition aux UV.
- Le mélanome nodulaire (10-20 %) peut toucher toutes les parties de la peau, même les zones non exposées au soleil. Il concerne les peaux intermédiaires à foncées (phototype III à V). (**Tableau 1**) (14).

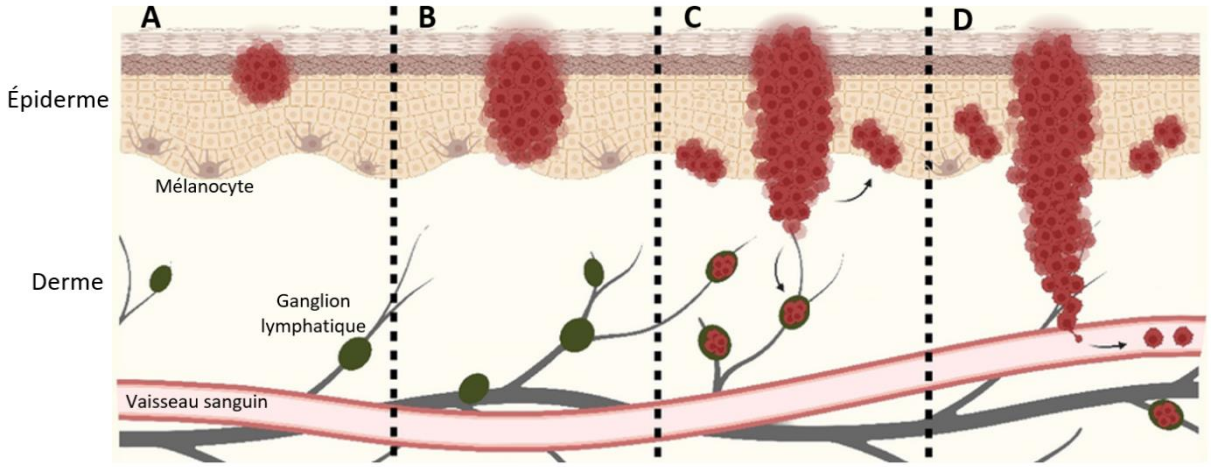


Figure 7 : Schéma d'un mélanome à différents stades de développement (41)
(A) Mélanome sous forme de grain de beauté situé dans l'épiderme avec une croissance horizontale ; (B) début de la croissance verticale ; (C) atteinte du derme et colonisation des ganglions ; (D) atteinte du système sanguin et formation de métastases circulantes (44)

Tableau 1 : Caractéristiques des six phototypes et leur sensibilité aux UV (17).

Phototype	Peau	Cheveux	Yeux	Réactions aux UV
I	Très claire avec taches de rousseur	Roux / blonds	Bleus / verts	Coups de soleil systématiques, Absence de bronzage
II	Très claire, taches de rousseur possibles	Blonds / châtains	Clairs / bruns	Coups de soleil fréquents, bronzage faible et très lent
III	Claire	Blonds / châtains	Bruns	Coups de soleil occasionnels, bronzage progressif
IV	Mate	Châtains / bruns	Bruns foncés	Coups de soleil en cas d'expositions intenses, bronzage facile
V	Foncé	Bruns / noirs	Bruns foncés	Coups de soleil rares, bronzage très facile
VI	Noir	Bruns / noirs	Bruns foncés	Absence de coups de soleil, bronzage constant

- **Prévention, dépistage et diagnostic**

L'exposition aux UV étant le principal facteur de risque, il est fortement recommandé de protéger sa peau, en particulier chez les enfants et les adolescents. Ainsi, quel que soit le phototype, il est conseillé d'éviter de s'exposer en milieu de journée (de 12 h à 16 h) lorsque l'indice UV est élevé, et de privilégier les zones ombragées. Le port de lunettes de soleil, d'un

chapeau et de vêtements couvrants protège des rayonnements. Aussi, l'application d'une protection solaire avec un facteur de protection solaire de 30 SPF minimum, à renouveler toutes les 2 heures, est recommandée (45).

Au-delà de l'aspect préventif, le dépistage de cette pathologie est primordial afin d'obtenir un diagnostic précoce. En effet, une fois atteint, la survie du patient dépend principalement du stade du mélanome au moment du diagnostic. Diagnostiqué très tôt au stade *in situ*, la survie à 5 ans est supérieure à 90 %. Or, plus le stade est avancé, plus ce taux diminue pour atteindre une survie à 1 an comprise entre 59 et 41 % lorsque le stade métastatique est atteint (46). Le dépistage se fait par l'étude des grains de beauté et la recherche d'apparition de nouvelles taches brunes sur la peau en appliquant la méthode ABCDE (**Figure 8**). Cette méthode considère comme suspectes les taches ou grains de beauté asymétriques, aux bords irréguliers, aux couleurs multiples, au diamètre supérieur à 6 mm, et montrant des signes d'évolution de leurs différents paramètres (14). Afin de faciliter le dépistage et de favoriser un diagnostic précoce, il est conseillé à chacun d'être acteur de sa santé et d'appliquer cette méthode pour examiner sa peau ou celle de ses proches.

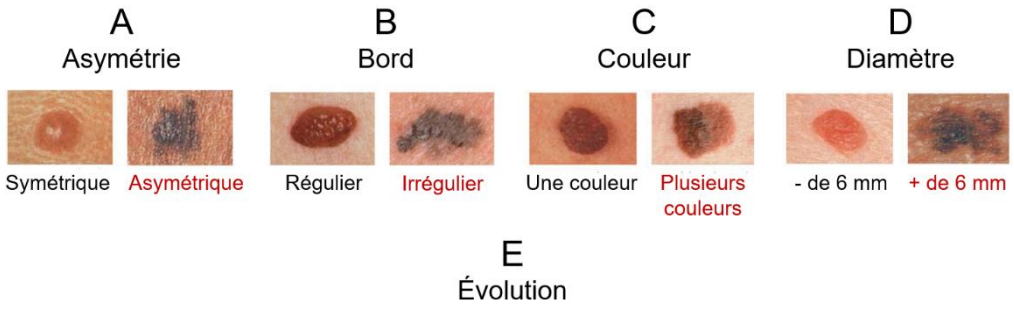


Figure 8 : Photos de grains de beauté sains et pathologiques illustrant la méthode de dépistage ABCDE

Il est également important de consulter un dermatologue dont l'expertise permet un examen clinique complet. Ce dernier réalise un recensement des grains de beauté sur la totalité du corps et suit leur évolution au fil des ans à l'aide d'outils optiques adaptés. Il effectue également la palpation des ganglions pour détecter d'éventuelles grosseurs issues de mélanomes disséminés. En cas de suspicion, le grain de beauté est complètement retiré. Ce prélèvement est utilisé pour établir le diagnostic et le stade du mélanome. Par la suite, des examens complémentaires peuvent inclure l'imagerie médicale ou la recherche de mutations génétiques (14,17).

- **Traitements**

Diagnostiqué à un stade primitif, le mélanome peut être retiré par excision ou exérèse chirurgicale. En revanche, si le mélanome a atteint le stade métastatique, un traitement médicamenteux est nécessaire. En cas de mutation du gène BRAF (60 %), les thérapies ciblées sont utilisées en première intention. Ce sont des inhibiteurs de la sérine-thréonine kinase BRAF (vémurafénib). L'immunothérapie est également employée en seconde intention pour les patients en récidive. Cette méthode vise à stimuler le système immunitaire contre les

cellules cancéreuses en utilisant des anticorps monoclonaux anti-PD1 ou anti-CTLA4, tels que le nivolumab ou l'ipilimumab. En l'absence de mutation du gène BRAF (40 %), les chimiothérapies classiques sont utilisées (dacarbazine, fotémustine, cisplatine). La radiothérapie est proposée en cas de métastases cérébrales et osseuses ou lorsqu'une chirurgie radicale est impossible. Cependant, les mélanomes se montrent fréquemment résistants aux traitements (14).

1.4.4. Cicatrisation cutanée

À la suite d'une agression faisant atteinte à l'intégrité de la peau, l'organisme enclenche un processus de cicatrisation. Ce mécanisme de réparation vise à rétablir la barrière cutanée, mais ne restaure pas l'intégralité des fonctions tissulaires. Il laisse place à une cicatrice généralement fibreuse, non vascularisée et peu fonctionnelle (47). Selon leur origine, les plaies peuvent être classées comme aiguës ou chroniques. Les plaies aiguës se forment à la suite d'une lésion externe (brûlures, coupures, chirurgies). En revanche, les plaies chroniques sont causées par des mécanismes endogènes associés à des conditions prédisposantes. Ces plaies chroniques sont donc souvent dues à des facteurs de risques et pathologies sous-jacentes (**Tableau 2**) et guérissent lentement ou de manière imprévisible (48).

Tableau 2 : Facteurs affectant la cicatrisation *(5,48)*

Facteurs	Exemples
Ischémie tissulaire	• Troubles affectant la vascularisation périphérique (diabète, insuffisance artérielle) • Techniques de réparation (sutures trop serrées)
Infections microbiennes	• Contamination importante de la plaie • Température élevée et humidité
Médicaments	• Antiplaquettaires et anticoagulants • Anti-inflammatoire (corticostéroïdes, immunosuppresseurs) • Chimiothérapies
Certains troubles	• Immunodépression (VIH, cancer) • Troubles de la synthèse du collagène (syndrôme d'Ehlers-Danlos)
Pathologies chroniques	• Diabète • Obésité
Autres	• Vieillissement • Tabagisme • Hormones (épinéphrine, cortisol, glucocorticoïde, testostérone) • Malnutrition ou dénutrition : régimes hypoprotéinés, hypocaloriques, carences en nutriments (vitamine C)

- **Processus de cicatrisation physiologique**

Le processus de guérison se divise en trois phases étroitement liées : la phase vasculaire et inflammatoire, la phase de prolifération et la phase de remodelage (**Figure 9**).

À la suite d'une lésion, la phase vasculaire (hémostase) a pour objectif de stopper tout saignement. Pour cela, la vasoconstriction des vaisseaux lésés limite l'afflux sanguin. Puis l'agrégation plaquettaire permet la formation d'un caillot sanguin, stabilisé ensuite par de la fibrine (49). La réaction inflammatoire suit le principe décrit précédemment (I.1.3. Inflammation) et permet l'élimination de corps étrangers et débris cellulaires. Parallèlement, des facteurs de croissance et cytokines sont libérés favorisant le recrutement de fibroblastes et de cellules endothéliales nécessaires à la phase suivante (49). Cette phase dure en environ 48 h, mais s'étend sur une dizaine de jours (47).

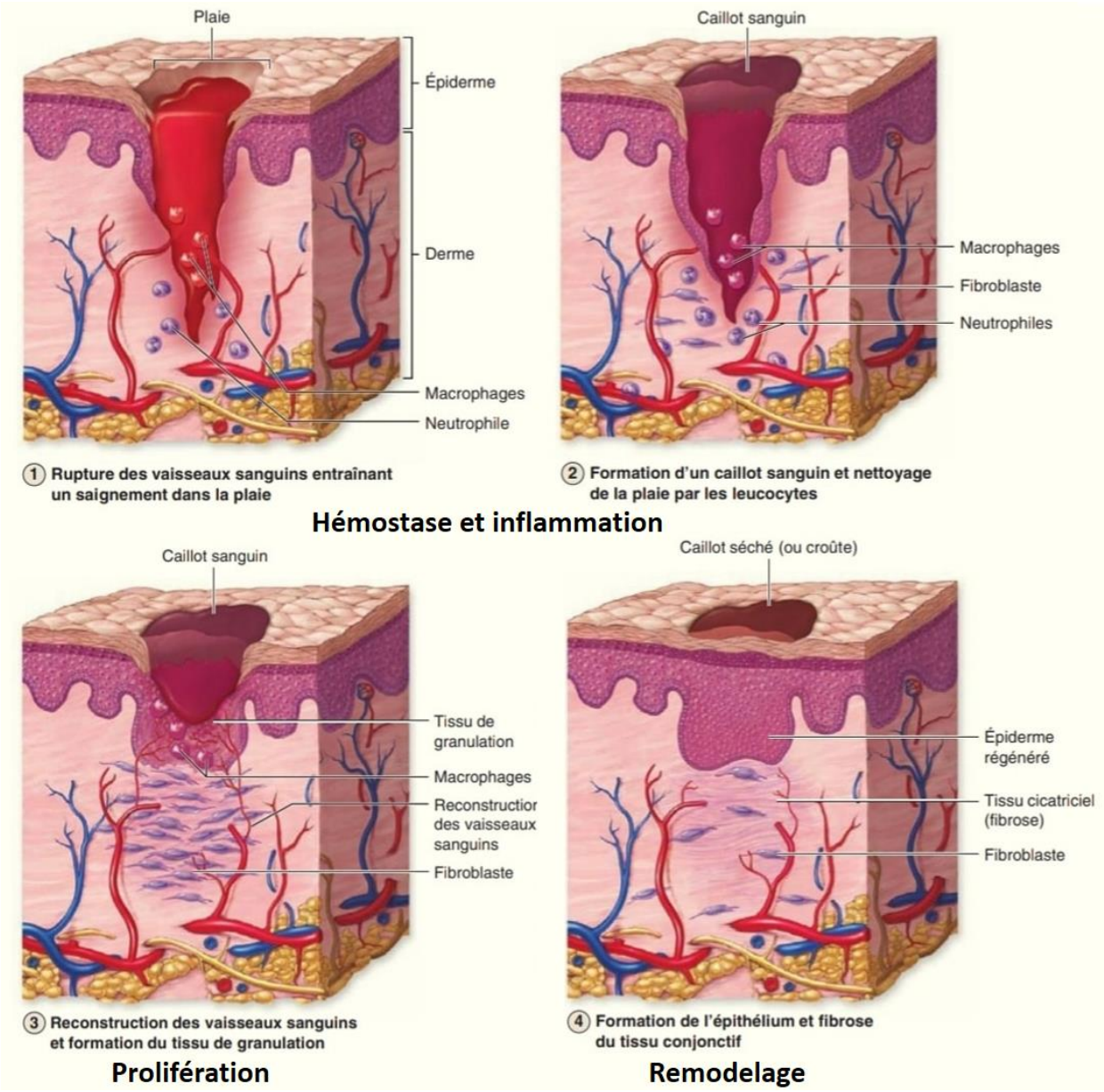


Figure 9 : Schéma des phases de cicatrisation (50) :
①Hémostase ②Inflammation ③Prolifération ④Remodelage

La phase proliférative prend ensuite le relais et a pour fonction principale de reconstruire le tissu conjonctif, la MEC et l'épithélium. L'ensemble de ces cellules fibroblastiques migrent et prolifèrent afin de synthétiser la MEC faite majoritairement de collagène et de fibronectine (47). D'une part, un tissu de granulation est formé à l'intérieur du site de la plaie. Il est constitué de cellules immunitaires qui éliminent les débris et micro-organismes. Aussi, l'angiogenèse est activée pour vasculariser le tissu de granulation. Ces néovaisseaux sanguins garantissent un apport en oxygène et en nutriments nécessaire à la survie et à l'activité cellulaire (49). Stimulés par les macrophages, certains fibroblastes se différencient ensuite en myofibroblastes qui intègrent le tissu de granulation. Leur capacité contractile permet de rapprocher les bords de la plaie. D'autre part, la réépithélialisation s'effectue dans le but de régénérer un épiderme garant de l'intégrité de la barrière cutanée. À partir de la périphérie de la plaie, les kératinocytes migrent et prolifèrent au-dessus du tissu de granulation. Cette phase dure en moyenne 2 à 3 semaines (47).

La dernière étape du processus de cicatrisation est la phase de remodelage qui s'étend sur une période prolongée de plusieurs mois, voire plus d'un an. À ce stade, la majorité des cellules du tissu de granulation (macrophages, myofibroblastes, cellules endothéliales) sont devenues obsolètes et entrent en apoptose ou quittent le site lésé (47). La néovascularisation régresse et la rougeur s'atténue. Les fibroblastes participent au remodelage de la MEC qui s'enrichit notamment en élastine. Toutefois, ce remodelage ne permet pas de retour à un tissu identique à l'initial. Il conduit à la formation d'une cicatrice (49).

- **Physiopathologie de la cicatrisation chez le diabétique**

Les plaies chroniques du pied diabétique résultent d'une combinaison de plusieurs composantes : neurologiques, vasculaires et immuno-inflammatoires, avec le plus souvent des complications infectieuses (50). La neuropathie diabétique regroupe l'atteinte du système nerveux autonome et des nerfs périphériques, avec notamment une anesthésie de la douleur. Cette pathologie se caractérise également par des déformations de type pied creux et par une augmentation de la pression aux points d'appui (28). Ainsi, des microtraumatismes répétés lors de la marche, qui ne sont pas ressentis, peuvent entraîner la formation de plaies. De plus, une sécheresse cutanée est observée chez ces patients, facilitant l'apparition de fissures et de crevasses qui sont une porte d'entrée pour les micro-organismes (50). L'artériopathie des membres inférieurs, causée par l'hyperglycémie, est à l'origine d'hypoxies, voire d'anoxie tissulaire, jouant un rôle majeur dans les retards de cicatrisation et la survenue de nécroses ischémiques (4,50). L'état d'hyperglycémie conduit de manière systématique au développement d'un stress oxydant délétère pour la cicatrisation. La cicatrisation des plaies du diabétique est également impactée par le stress oxydatif provoqué par l'hyperglycémie et par un contexte d'inflammation chronique (4).

1.5. Conclusion partielle

La peau est un organe essentiel qui joue un rôle de barrière protectrice contre les agressions extérieures, tout en remplissant des fonctions métaboliques et sensorielles. Étant à l'interface entre l'environnement extérieur et l'organisme, la peau est sujette à des agressions physiques, chimiques et aux rayonnements UV. Elle dispose donc de mécanismes de défense, tels que les processus de cicatrisation, la réaction inflammatoire associée au système immunitaire, et le système de production d'ERO et d'antioxydants. Néanmoins, lors d'agressions trop importantes (surexposition aux UV), ces mécanismes peuvent être dépassés, et des pathologies telles que les cancers de la peau peuvent survenir. Le stress oxydatif entraîne alors des dommages favorisant l'inflammation chronique et la cancérogenèse. L'inflammation, bien que nécessaire aux défenses et à la cicatrisation, peut devenir pathologique lorsqu'elle est prolongée, contribuant aux troubles dermatologiques et à la progression tumorale. Par ailleurs, les processus inflammatoires et oxydatifs perturbent la cicatrisation des plaies chroniques, notamment chez les diabétiques. Ainsi, le stress oxydatif, l'inflammation, la cicatrisation et le mélanome cutané sont étroitement liés par des mécanismes cellulaires et moléculaires communs.

Afin de prendre soin et de préserver la peau, nos travaux portent sur l'étude de plantes polynésiennes connues pour leurs usages traditionnels cutanés. Ces plantes pourraient constituer une source naturelle de composés antioxydants, anti-inflammatoires, anticancéreux et cicatrisants.

2. La flore polynésienne

Depuis des milliers d'années, les plantes ont été utilisées à des fins médicinales. De nos jours, près de 50 % de nos médicaments sont inspirés par la nature. Ces principes actifs peuvent être d'origine naturelle, c'est-à-dire extraits de la matière première organique ou synthétiques. Ces derniers sont produits par synthèse totale ou hémisynthèse. Ils peuvent être identiques aux composés naturels d'origine ou comporter des modifications améliorant leurs performances (10). Ainsi, afin d'identifier de nouveaux composés bioactifs, les ressources naturelles végétales, notamment celles utilisées en médecine traditionnelle, font l'objet d'études pharmacologiques.

Cette section 2 présente la flore polynésienne et aborde ces spécificités dues à l'environnement et au caractère unique du territoire polynésien. Les usages locaux de ces plantes en médecine traditionnelle et en soins cosmétiques sont ensuite présentés. Puis, sont énoncés les critères de sélection orientant le choix des plantes à étudier, en particulier pour cibler celles pertinentes pour les pathologies et troubles cutanés évoqués. Ensuite, les plantes choisies pour l'étude dans le cadre de nos travaux sont décrites de manière détaillée.

2.1. Géographies, climats, topographies et sols

La Polynésie française est un territoire d'outre-mer français situé au cœur de l'océan Pacifique, à plus de 6000 km de l'Amérique du Sud et de l'Australie (**Figure 10**). Elle comprend 118 îles regroupées en cinq archipels : la Société, les Gambiers, les Tuamotus, les Marquises, les Australes. Les îles de la Société sont les plus vastes et les plus peuplées. Les 6 plus importantes sont Tahiti et Moorea qui font partie des îles du Vent, ainsi que Raiatea, Tahaa, Huahine et Bora-Bora qui font partie des îles Sous-le-Vent.

En raison de sa forte extension en latitude (plus de 20° du nord au sud), chaque archipel de Polynésie française possède un climat spécifique. Ainsi, au nord l'archipel des Marquises a un climat tropical aride soumis aux alizés. Plus bas, l'archipel des Tuamotus a un climat tropical semi-aride exposé aux alizés. L'archipel de la Société présente un climat tropical humide, caractérisé par l'alternance d'une saison chaude et très pluvieuse de novembre à avril et d'une saison relativement fraîche et sèche de mai à octobre. Les températures sont comprises entre 25 et 30 °C et ne dépassent jamais 35 °C. Pour l'archipel des Gambiers, le climat est subtropical avec une forte pluviométrie et des vents marqués. Au sud, l'archipel des Australes possède les conditions météorologiques les plus sévères et plus particulièrement favorables aux cyclones, avec des pluies abondantes et constantes toute l'année ainsi que des vents plus soutenus et de fortes houles (51).

Les îles montagneuses hautes sont d'origine volcanique et ont un relief très abrupt et tourmenté composé de crêtes et de profondes vallées. Les plus hauts sommets se trouvent à Tahiti à plus de 2000 m : le mont Orohena (2 241 m) et le mont Aora'i (2 066 m). Ces zones montagneuses sont entourées d'une bande côtière plus ou moins large et urbanisée. Le sol des îles hautes est principalement composé de roches volcaniques (telle que le basalte, le

trachyte ou la diorite), recouvert d'humus ou d'argile. Le bord des lagons et le sol des îles basses (motus et atolls) sont eux composés de calcaires coralliens (9).

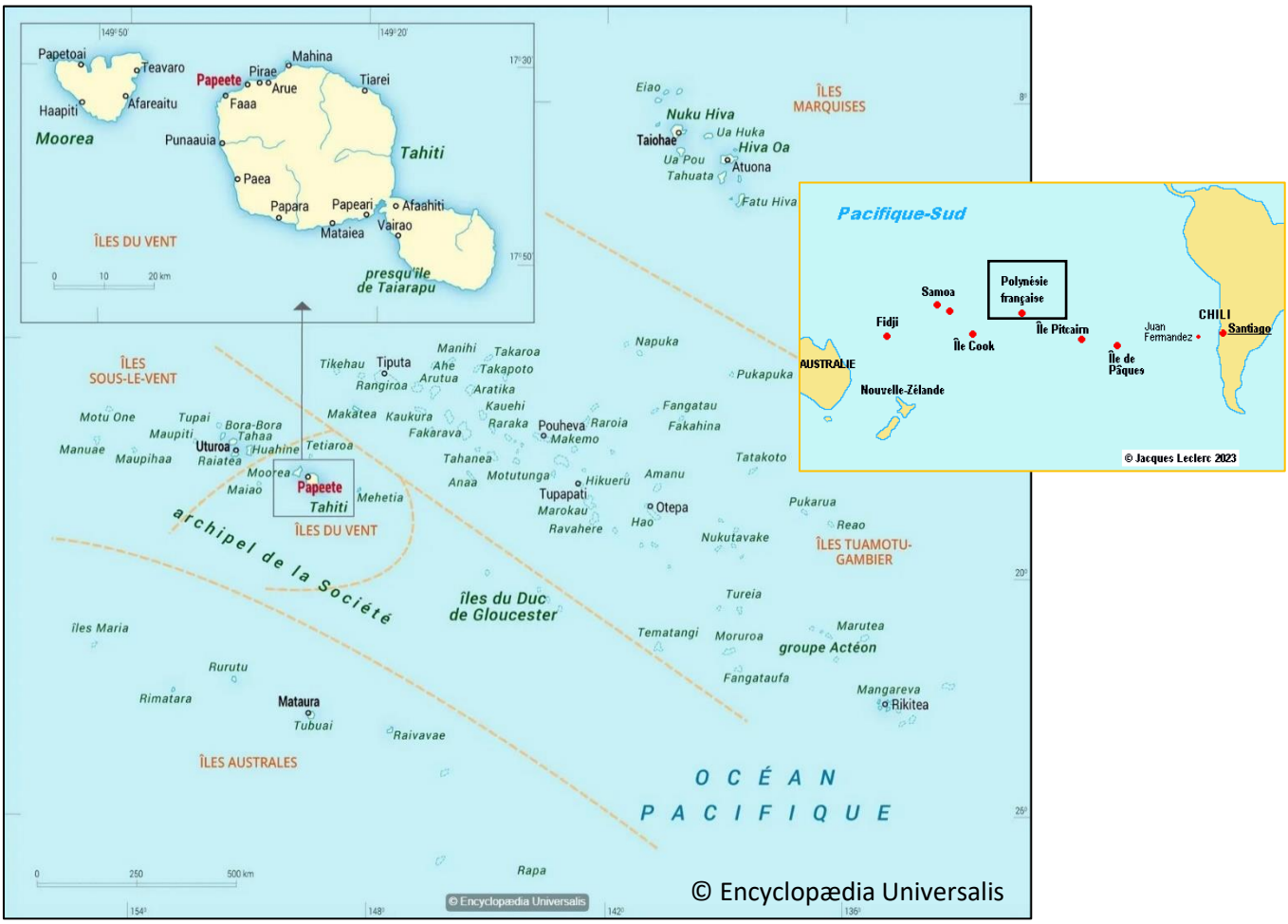


Figure 10 : La Polynésie française au cœur de l'océan Pacifique. Carte de la Polynésie française et de ses cinq archipels : la Société, les Gambiers, les Tuamotus, les Marquises, les Australes. Agrandissement de la zone regroupant Tahiti et Moorea (îles du Vent)

2.2. Familles botaniques, statut biogéographique et endémisme

Dispersées sur une surface maritime aussi vaste que l'Europe (5,5 millions km^2), les îles polynésiennes, ainsi séparées les unes des autres et isolées du reste du monde, possèdent une flore bien particulière. Les Rubiacées et les Euphorbiacées sont les deux familles les plus présentes en Polynésie française. On retrouve également une surreprésentation des Urticacées et des Myrsinacées par rapport à la flore mondiale. En effet, il s'agit de deux familles particulièrement dispersées par l'ingestion des fruits et dispersion des graines par les oiseaux (endozoochorie). Cette méthode de dispersion est particulièrement efficace à l'échelle de la Polynésie française pour pallier les grandes distances qui séparent les îles. Les fougères sont également très présentes, leurs spores étant facilement dispersées par le vent (anémochorie) (52).

Les botanistes classent la flore polynésienne selon son statut biogéographique. Les plantes indigènes comptent environ 900 espèces. Elles constituent la flore primaire, présente avant l'arrivée de l'homme. Parmi ces espèces indigènes, plus de 60% sont endémiques, donc retrouvées uniquement en Polynésie française. Le statut d'introduction polynésienne est attribué aux plantes introduites par les Polynésiens lors de leur migration et de leurs premiers établissements dans la région de l'Océanie il y a près d'un millier d'années. Parmi celles-ci, on compte par exemple le cocotier (*Coco nucifera*) ainsi que la canne à sucre (*Saccharum officinarum*). Enfin, les introductions modernes représentent les plantes importées après l'arrivée des Européens en Polynésie française au début du XIXe siècle. C'est le cas notamment de la menthe (*Mentha* spp), de l'ananas (*Ananas comosus*) et du jasmin (*Jasminum grandiflorum*). Aujourd'hui, l'importation de matériel végétal est strictement interdite afin de préserver un écosystème déjà fragilisé par des espèces envahissantes, telles que le *Miconia calvescens*, inscrites sur la liste de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) (52,53).

La flore primaire polynésienne est relativement pauvre comparée à d'autres territoires du Pacifique, tels que la Nouvelle-Calédonie (3500 espèces) ou les îles Hawaï (1400 espèces). Son originalité et principal atout réside dans son fort taux d'endémisme qui est dû à la grande dispersion géographique de ses îles et à la forte extension en latitude du territoire. De plus, si elle est bien étudiée sur le plan botanique, cette flore l'est encore très peu sur le plan chimique et pharmacologique. Seulement 10 à 20 % des plantes endémiques ont une référence bibliographique témoignant d'études scientifiques. Ces ressources végétales terrestres offrent donc de vastes perspectives en termes de bioprospection (54).

Ainsi, l'insularité et l'isolement géographique, associés aux facteurs climatiques, topographiques et édaphiques, ont impacté le taux d'endémisme de la flore polynésienne. Certaines espèces de cette flore unique sont très employées en médecine traditionnelle et en cosmétique, comme le décrivent les études ethnobotaniques récentes et passées.

2.3. Médecine traditionnelle polynésienne et pharmacopée

La médecine traditionnelle polynésienne est caractérisée par trois principaux types de soins : les soins par massages, les soins médicamenteux à base de plantes et les soins chamaniques spirituels/surnaturels. Les herboristes, ces guérisseurs spécialistes des plantes, appelés *tahu'a ra'au* en tahitien, sont aussi qualifiés de personnes « qui savent » ou encore de tradipraticiens. Le terme *ra'au* signifie plante et englobe également les plantes médicinales. Les médicaments préparés à base de plantes répondent donc à l'appellation *ra'au* Tahiti (55). Ils sont administrés par voie orale (boisson, potion) ou par voie cutanée (bain, emplâtre, onguent pour massage).

La transmission du savoir est principalement orale et intrafamiliale. Plus rarement, ce savoir est retranscrit par écrit dans des cahiers, appelés *buka pa'ari* ou « livres de la sagesse et des connaissances anciennes » (9,55,56). Avec le temps, la déperdition des savoirs anciens est une réalité (9,56). Quelques ouvrages retranscrivent des recettes, le plus conséquent étant celui

du pharmacien Paul Pétard (**Figure 11**) (9,55,57). Jusqu'à présent, plus de 300 plantes médicinales ont été décrites en Polynésie française (58). Elles sont utilisées pour traiter et prévenir un large éventail de maladies, notamment les troubles digestifs, musculo-squelettiques, nerveux, respiratoires, cutanés et urogénitaux (9).

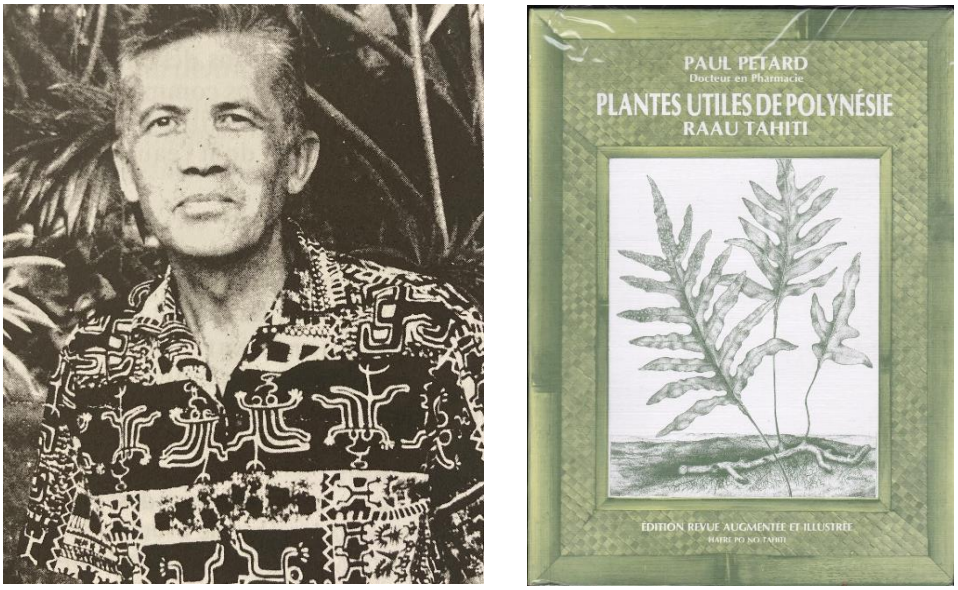


Figure 11 : Portrait de Paul Pétard et couverture de son ouvrage « Plantes utiles de Polynésie » aux éditions Haere Po No Tahiti

Les plantes pour les *ra'au* sont toujours employées à l'état frais. Les recettes de remèdes comportent très rarement un seul ingrédient. Elles sont constituées plutôt par une association de nombreuses plantes, le plus souvent supérieure à quatre (9). Selon l'étude ethnobotanique récente de Moretti et Butaud, 62,5 % des recettes recueillies sont des mélanges impliquant de 2 à 8 plantes (59). Pour la préparation des remèdes, les plantes sont collectées le jour même. Certaines sont cultivées dans les jardins (*faapu*) et d'autres doivent être récoltées à l'état sauvage. Par la suite, elles sont lavées et finement écrasées au moyen d'un *penu,* pilon en pierre volcanique (trachyte ou basalte) à l'intérieur d'un *'umete,* récipient en bois de forme ellipsoïdale (**Figure 12**) (9,55). Les unités de mesure, permettant le dosage, varient selon les organes de la plante. Les tiges, écorces et racines sont mesurées en pouces (*'initi*) ou en mains. Les herbes et plantes de petites tailles sont ajoutées par poignées (*'apu rima*). Les feuilles, les fleurs, les fruits et les bourgeons sont comptés un à un (55). La durée du traitement est de trois jours dans la plupart des cas (56). Les remèdes s'accompagnent souvent de nombreux *tapu* (interdit), principalement concernant l'alimentation, afin d'éviter les aliments crus, trop gras ou trop sucrés ainsi que la consommation d'alcool. La fin du traitement est fréquemment suivie d'une purge afin de nettoyer l'organisme (56).

La médecine traditionnelle se caractérise par une approche spirituelle et religieuse de la santé et de la guérison, qui s'accompagne de nombreuses croyances (60). Le *mana* (esprit) en est un exemple, il représente ici le « pouvoir de guérison » et est un don indispensable à l'efficacité du *ra'au* (56). Ainsi, la conceptualisation de la maladie selon la culture polynésienne est bien différente de celle de la médecine conventionnelle moderne. Les noms portés par les

ra'au qualifient la maladie ou le symptôme qu'ils visent à traiter et en ce sens, il peut parfois être difficile de les traduire ou de les assimiler à des concepts biomédicaux modernes (60). C'est le cas du *ra'au hea*, traduit par M. Grépin et F. Grépin comme étant « quelque chose de mauvais qui s'est logé dans l'organisme » (61). Paul Pétard l'attribue principalement aux leucorrhées et autres écoulements (9). Plus récemment, Chassagne *et al*. indique que ce *ra'au* peut être classé en deux catégories principales : les troubles cutanés et les troubles du système génito-urinaire (62).



Figure 12 : Photographies de la préparation d'un *ra'au* dans un '*umete* (A) et d'un *tenu* en basalte (B)

Ces usages traditionnels des plantes ont perduré dans le temps et sont toujours d'actualité. Ainsi, les récentes études ethnobotaniques effectuées dans l'archipel des Marquises et de la Société depuis 2015, montrent des usages conservés, mais aussi de nouveaux remèdes comme ceux ciblant la COVID-19 (62–64). La médecine traditionnelle, bien que couramment utilisée, est considérée comme un usage illégal de la médecine. Des cas d'intoxication et de décès notamment infantiles ont été rapportés. De 1966 à 1972, soit en 7 ans, 183 cas d'empoisonnement infantile (dont 56 décès) ont été enregistrés et imputés à l'utilisation de remèdes à base de plantes (9). En 2021, une peine d'un an de prison avec sursis a été prononcée suite au décès d'un nourrisson soigné aux *Ra'au* Tahiti (65). En effet, selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), les médecines traditionnelles ne sont pas sans risque. Les pratiques à base de plantes peuvent être sujettes à des mésusages, des erreurs d'identification botanique, des dosages peu précis. Néanmoins, l'OMS reconnaît les bienfaits qu'offrent les médecines traditionnelles encore largement utilisées dans plusieurs parties du monde. De nos jours, environ 40 % des produits pharmaceutiques sont à base de produits naturels et de nombreux médicaments proviennent des médecines traditionnelles. L'OMS œuvre donc en faveur d'une intégration de ces médecines complémentaires au système de santé. Ainsi, le concept de médecine intégrative comprend cette notion d'association de la médecine conventionnelle aux médecines traditionnelles pour une meilleure prise en charge des patients. Pour cela, des éléments de preuves scientifiques récents doivent garantir l'efficacité, l'innocuité et la qualité de ces soins (66).

2.4. Cosmétiques polynésiens et cosmétopée

Les produits cosmétiques se définissent selon la réglementation européenne comme des substances ou préparations qui sont destinées à être « mises en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain (épiderme, systèmes pileux et capillaires, ongles, lèvres et organes génitaux externes) ou avec les dents et les muqueuses buccales, en vue exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou d'en corriger les odeurs corporelles » (67). Ils se composent de divers ingrédients : les excipients, les additifs, les adjuvants et les ingrédients actifs. Les plantes, extraits de plantes et huiles essentielles font partie des ingrédients actifs qui composent les produits cosmétiques. Tout extrait de plantes, y compris médicinales, peut être utilisé comme ingrédient actif à condition de respecter les réglementations impliquant l'innocuité (Réglementation REACH au niveau européen), le respect des listes positives et négatives des substances cosmétiques (Directive 76/768) et d'être correctement étiqueté (Nomenclature INCI). Au niveau européen, la Commission européenne a créé une base de données, la « Cosmetic ingredient database » (CosIng, Cosmetics Ingredients), qui renseigne les données physicochimiques et toxicologiques de plus de 30 000 ingrédients actifs (dont des principes actifs naturels et extraits végétaux). À l'échelle internationale, la liste IECIC (Inventory of Existing Cosmetic Ingredients in China) des ingrédients ayant été utilisés et permis dans des produits fabriqués et vendus en Chine fait office de référence au niveau commercial.

Le terme « Cosmétopée », créé et déposé par la Cosmetic Valley, est une compilation du recensement des plantes et de leurs usages traditionnels destinée aux soins de la beauté (68). En Polynésie française, de nombreuses plantes sont couramment utilisées en cosmétique. Le soin le plus connu étant le *monoï* préparé par macération de boutons de fleurs de *tiare* (*Gardenia taitensis*) dans de l'huile de coprah (*Cocos nucifera*) (**Figure 13**). Sa production représente une activité industrielle dynamique. En 2002, 260 tonnes de *monoï* ont été commercialisées, dont 243 tonnes exportées, à 95 % en France métropolitaine (54). De nos jours, le *monoï* est toujours produit traditionnellement par des particuliers et vendu au marché local. Il est parfois préparé à base d'autres plantes, telles que le tipanié (*Plumeria rubra*), la vanille (*Vanilla tahitensis*) ou l'ylang-ylang (*Cananga odorata*) pour en faire varier la senteur.

Depuis le décret 92-340 de 1992, le *monoï* bénéficie d'une appellation d'origine contrôlée (AOC) garantissant la qualité des ingrédients utilisés ainsi que les conditions d'élaboration.



Figure 13 : Photographies du séchage du coprah (*Cocos nucifera*) permettant d'obtenir l'huile de coco. Préparation du *monoï* traditionnel à partir de fleurs de tiaré (*Gardenia taitensis*) macérées dans l'huile

L'huile de *Tamanu* est également un cosmétique très répandu en Polynésie française. Elle est utilisée pour les soins de la peau et des cheveux et ont lui attribue des propriétés antibactériennes, anti-inflammatoire et cicatrisante. Elle est produite à partir d'amandes de *Calophyllum inophyllum* séchées au soleil et pressées à froid. Cette huile est commercialisée localement en tant que produit fini ou bien elle entre dans la composition d'autres cosmétiques. Des cultures de cet arbre tendent à se développer en vue d'une exploitation à plus grande échelle étant donné qu'un arbre produit environ 5 kg d'huile par an (**Figure 14**) (54,56). Cette huile est composée d'environs 80% de lipides notamment des acides gras principalement insaturés tel que l'acide oléique et l'acide linoléique, et saturés avec l'acide



Figure 14 : Photographies de l'amande de *tamanu* et d'un flacon d'huile artisanale

palmitique et l'acide stéarique. On retrouve également des triglycérides, des glycolipides, des phospholipides et de faibles proportions de mono- et diglycérides. L'huile extraite des amandes comprend aussi environ 20% de fraction résineuse composée de molécules bioactives (Cf. I. 2.6.1.).

La récente étude de Jost *et al.* documente la cosmétopée aux îles Marquises. Parmi les plantes les plus utilisées, on retrouve évidemment le *G. taitensis* ainsi que le *C. nucifera*. Le *C. inophyllum* et le *Curcuma longa* sont également cités à de nombreuses reprises. Le *Rauvolfia nukuhivensis* et *Santalum insulare* var. *marchionense* sont deux espèces endémiques des îles Marquises, la première utilisée pour les soins d'hygiène intime, et l'autre pour l'hydratation, la cicatrisation et pour ses propriétés odorantes. D'autres plantes, d'introduction moderne, sont des ingrédients cosmétiques bien connus à l'international : la menthe (*Mentha* spp), le basilic (*Ocimum basilicum*), le citron vert (*Citrus aurantiifolia*), l'ylang-ylang (*Cananga odorata*) (69).

Aujourd'hui, le développement du marché cosmétique mondial privilégie de plus en plus les produits naturels, notamment ceux à base de matières végétales. Ainsi, le secteur des cosmétiques est probablement l'un des secteurs les plus propices à une valorisation économique des ressources végétales polynésiennes (54). Néanmoins, de nombreuses plantes polynésiennes ne font pas partie de la liste IECIC, ce qui pourrait constituer un frein à leur utilisation en cosmétique et à leur exportation à l'international. Ainsi, il est nécessaire d'évaluer leur activité biologique et de prouver leur innocuité par des études toxicologiques.

2.5. Critères de sélection des plantes étudiées

La sélection des plantes étudiées a été réalisée selon 4 critères principaux, inspirés d'une expertise collégiale portant sur les « Substances naturelles en Polynésie française, stratégie de valorisation » ayant stipulé ces points (54). Tout d'abord, les plantes sélectionnées doivent être utilisées en cosmétique et/ou en médecine traditionnelle polynésienne. Ces usages doivent être liés à des pathologies et troubles cutanés. Parmi les indications de *Ra'au* retenues, on retrouve par exemple les brûlures, les plaies, les dermatoses, les boutons, les démangeaisons, les éruptions cutanées.
Deuxièmement, leur statut bio-écologique a été pris en compte pour exclure les plantes protégées, menacées et rares selon la liste UICN, et ne conserver que les plantes abondantes, accessibles et renouvelables.

Troisièmement, le statut biogéographique a également été utilisé pour exclure les plantes introduites modernes et privilégier les plantes indigènes et les plantes introduites par les Polynésiens afin d'avoir un usage traditionnel ancestral de longue date.

Ensuite, l'importance des données dans la littérature, concernant à la fois la phytochimie et les activités biologiques, a été prise en compte. Ce critère est relatif, car l'absence de données pourrait permettre de documenter des plantes polynésiennes employées traditionnellement et pourrait être une source de nouveauté et de découverte. À l'inverse, la présence de

données phytochimiques pourrait renseigner les propriétés biologiques qui pourraient être attendues. De même, la présence de données sur les activités biologiques pourrait être un gage de réussite du projet dans la valorisation cosmétique et pharmacologique. Finalement, d'autres paramètres ont aussi été pris en compte, notamment l'appartenance à liste IECIC et l'utilisation en mélange. Avec l'objectif d'une valorisation cosmétique, les plantes présentes dans la liste IECIC sont priorisées pour une potentielle commercialisation à l'international. L'objectif étant également de combiner des extraits de plantes en s'inspirant de leur utilisation en mélange en médecine traditionnelle, ces plantes doivent être citées ensemble dans des recettes de *Ra'au*.

2.6. Plantes sélectionnées

Les critères appliqués ont abouti à la sélection de cinq plantes polynésiennes étudiées dans cette thèse :

- L'amande et les feuilles de *Calophyllum inophyllum*
- Les boutons de fleurs de *Gardenia taitensis*
- Les rhizomes de *Curcuma longa*
- Les feuilles vertes de *Cordia subcordata*
- Les racines aériennes de *Ficus prolixa*

Ces plantes font partie des plus utilisées en Polynésie française dans la médecine traditionnelle (9,60). Des parties de plantes renouvelables ont été préférées afin de respecter l'environnement. Selon des critères similaires, le *C. inophyllum* et le *G. taitensis* ont déjà été identifiés par l'expertise collégiale IRD comme étant des espèces exploitées et exploitables à fort potentiel. Le *F. prolixa* a également été cité comme étant une plante prometteuse et valorisable, mais, en l'absence de données bibliographiques, aucune orientation de recherche et de développement n'a pu être proposée par l'expertise collégiale (54).

2.6.1. *Calophyllum inophyllum*

- **Description générale et botanique**

Le *Calophyllum inophyllum* Linné, connu sous le nom de Laurier d'Alexandrie ou de *tamanu* à Tahiti. Il appartient à la famille des Calophyllacées, autrefois inclus dans la famille des Clusiaceae, issus de l'ordre des *Malpighiales*, de la sous-classe *Dilleniidae* et de la classe *Magnoliopsida*. C'est un arbre de taille moyenne au tronc épais et court, recouvert d'une écorce noire, rugueuse et crevassée (**Figure 15**). Il possède des feuilles vertes elliptiques, opposées, décussées et persistantes. Elles mesurent 8 à 15 cm de long et 4 à 8 cm de large. Le limbe est coriace et brillant à marge ondulée avec une nervure centrale blanc mat. Les



Figure 15 : Photographies de *Calophyllum inophyllum* (A), feuilles (B), fleurs (C) et fruits (D)

nervures secondaires sont très rapprochées, parallèles entre elles et perpendiculaires à la nervure centrale.

Ces fleurs blanches et parfumées sont disposées en inflorescence. Elles mesurent 2 à 2,5 cm de diamètre et comportent 4 sépales, 4 pétales libres et de nombreuses étamines jaunes. Il produit des grappes de fruits sphériques à l'épiderme lisse et vert, qui deviennent bruns et flétris à maturité. Ces drupes comprennent une pulpe fine, une coquille, une couche liégeuse et une grosse graine brune qualifiée d'amande (9,70).

Le *C. inophyllum* se retrouve principalement en bord de mer. En Polynésie française, cet arbre est une introduction polynésienne. Il est considéré comme un arbre qui a été sacralisé autrefois dans la culture polynésienne. En effet, on le retrouve planté près et dans les *marae* royaux, vestiges archéologiques d'anciens édifices religieux ou lieux de rassemblements sociaux (**Figure 16**).



Figure 16 : Photographie du grand *marae* Arahurahu situé à Paea (Tahiti)

Le bois du *tamanu* servait autrefois à la fabrication des grandes idoles dédiées aux *marae* ainsi qu'à la construction de pirogues et d'habitations (9,71). Il est apprécié pour la sculpture d'œuvres d'art, de meubles et d'objets du quotidien. Paul Gauguin l'utilisa également pour sculpter en 1892 son œuvre intitulée «Tii à la perle», exposée au musée d'Orsay (**Figure 17**).



Figure 17 : Photographie de « *Tii* à la perle », œuvre de Paul Gauguin, en bois de *C. inophyllum* sculpté

Cette statuette peinte et dorée représente une femme ornée d'une perle sur le front et d'une

chaînette en or autour du cou. Ainsi, très prisé pour la qualité de son bois, les forêts de *tamanu* autrefois présentes à Tahiti ont disparu. De nos jours, des plantations sont faites afin d'exploiter l'amande de *tamanu* comme ingrédient cosmétique pour les soins de la peau et des cheveux.

- **Usage en médecine traditionnelle et en cosmétique en Polynésie française**

Les fruits du *tamanu* sont séchés au soleil pendant 2 à 3 mois et pressés à froid pour produire une huile visqueuse utilisée de manière omniprésente dans le *ra'au* Tahiti. Comme décrit par Paul Pétard, cette huile de *tamanu* est principalement utilisée pour ses propriétés cicatrisantes. Elle permet donc de traiter les brûlures, les coups de soleil, les plaies infectées, les eczémas et de nombreux problèmes de peau (escarres, fistules, ulcères variqueux et lépreux) (9,72). Dans ses ouvrages, Paul Pétard décrit également des usages thérapeutiques traditionnels de feuilles de *tamanu*. Elles sont utilisées dans des recettes traditionnelles pour traiter les brûlures, pour leur propriété anti-herpétique, mais aussi pour soigner les dermatoses (urticaire et eczéma), les intertrigos, le prurit et les infections oculaires (conjonctivite) (9,72). Dans une étude ethnobotanique plus récente réalisée aux Marquises, Girardi *et al*. confirme un emploi toujours d'actualité des feuilles et fruits de *tamanu* pour traiter les démangeaisons, les allergies cutanées, les brûlures, les plaies (63). Dans l'archipel de la Société, les feuilles de *tamanu* sont utilisées pour traiter la varicelle, la rougeole, les infections cutanées, notamment celles fongiques, les éruptions pustuleuses et autres affections avec exsudation de pus (furoncles, abcès) (62,64).

L'huile de *tamanu* est utilisée et commercialisée en Polynésie française comme produit cosmétique pour les soins de la peau et des cheveux (56,73) et pour la cicatrisation (69). L'extrait de feuille ainsi que l'huile de *tamanu* sont des ingrédients cosmétiques autorisés au niveau européen (CosIng) et au niveau international (liste IECIC).

- **Usage traditionnel dans d'autres régions**

Le *C. inophyllum* étant largement répandu en région tropicale (**Figure 18**), il fait l'objet de nombreuses utilisations en médecine traditionnelle largement décrites par Dweck et Meadowsy (74). Les usages des fruits et des feuilles sont consignés dans le **Tableau 3**.

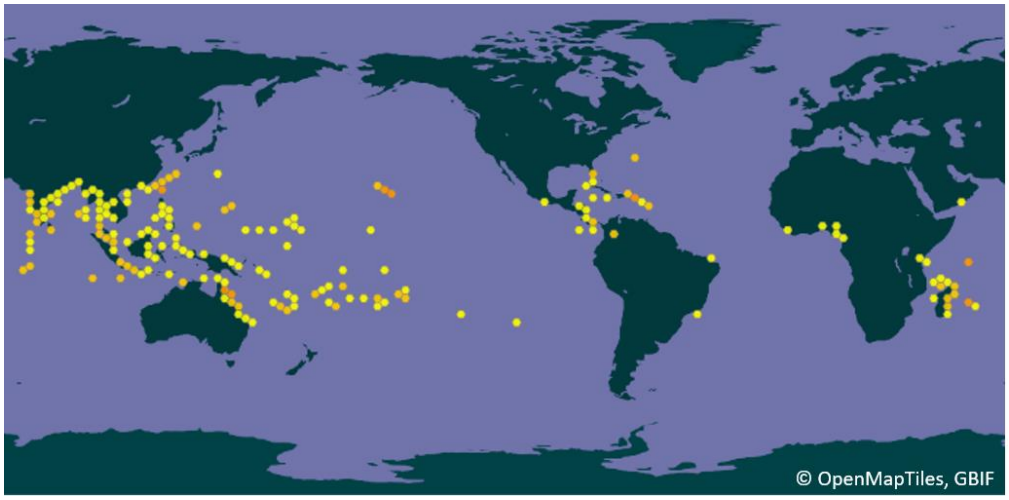


Figure 18 : Répartition mondiale de *C. inophyllum* entre 2010 et 2024 selon gbif.org

Tableau 3 : Usages en médecine traditionnelle des fruits et des feuilles de *C. inophyllum*

C. inophyllum	Lieu	Usages et Description
Fruit	Fidji	L'éther éthylique de l'huile était couramment préparé et utilisé dans les structures de soins pour traiter les patients souffrant de névrite, de sciatique, de zona et de douleurs causées par le cancer (9). L'huile est appréciée comme liniment pour les douleurs articulaires, l'arthrite et les ecchymoses. Elle est également appliquée sur les plaies suppurantes, y compris les plaies coralliennes. Cette huile est aussi utilisée sur les bébés pour prévenir les érythèmes fessiers et elle est frictionnée sur les membres des enfants qui sont lents à apprendre à marcher. L'huile est également utilisée occasionnellement à la place d'un stick pour les lèvres gercées et desséchées (74).
	Inde	L'huile est utilisée spécifiquement pour traiter les maladies de la peau. Elle est également appliquée par voie topique en cas de rhumatismes (74,75).
	Java	L'huile est revendiquée pour ses propriétés diurétiques (74).
	Madagascar	L'huile est utilisée contre le psoriasis et est antirhumatismal.
Feuilles	Cambodge	Les feuilles sont utilisées en inhalation contre les migraines et les vertiges, et l'huile est utilisée contre la gale (74).
	Madagascar	Les feuilles sont appliquées sur les yeux douloureux (74).
	Philippines	La macération de feuilles est utilisée comme astringent pour les hémorroïdes et comme soin oculaire (74).
	Indonésie	La macération de feuilles est utilisée comme lotion pour les yeux (74).
	Papouasie-Nouvelle-Guinée	Les feuilles sont souvent utilisées pour traiter divers problèmes de peau : ulcères, furoncles, coupures, plaies, boutons et éruptions cutanées. Pour cela, elles sont chauffées sur un feu et les feuilles ramollies sont utilisées comme compresses. Elles sont également bouillies pour obtenir une décoction appliquée sur la peau (74). Le latex laiteux des feuilles est dilué dans de l'eau et la solution est appliquée sur les yeux irrités et même douloureux (76).
	Nouvelle-Calédonie et Samoa	Les feuilles sont utilisées pour traiter les inflammations cutanées, les ulcères de jambe et les plaies (74).

- **Composition chimique**

Les études phytochimiques menées sur le *C. inophyllum* ont permis d'identifier de nombreux composés, les principaux étant des coumarines et chromanones, des xanthones et des triterpènes selon la répartition indiquée **Figure 19**.

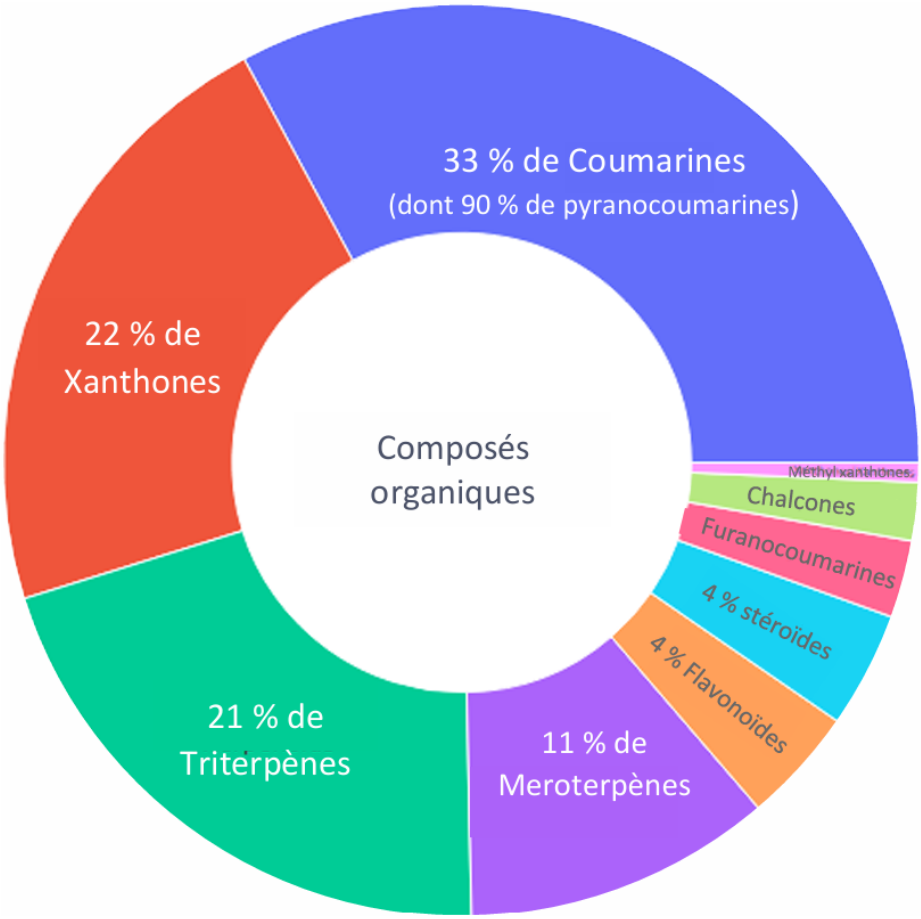


Figure 19 : Répartition chimique des métabolites secondaires identifiés chez *C. inophyllum* (générée avec VersaDB le 05/06/2024)

Néanmoins, la composition varie selon les organes de la plante étudiés (feuilles, fruits, écorces, branches, résines, racines). Les composés majoritaires sont des coumarines ainsi que des chromanones, dont les structures sont spécifiques du genre *Calophyllum*. Les coumarines sont des structures bicycliques possédant un noyau 2H-1-benzopyrane-2-one (en rouge). Au sein du genre *Calophyllum*, elles sont souvent associées à un ou deux noyaux pyranes formant ainsi des pyranocoumarines tri- (**Figure 20**) ou tétracycliques (**Figure 21**). Certaines pyranocoumarines sont également des néoflavonoïdes

De plus, en présence d'un phényl en position 4, ces coumarines peuvent être qualifiées de néoflavonoïdes (4-phénylchromène) (77). Ces pyranocoumarines sont présentes à la fois dans les feuilles et dans les fruits.

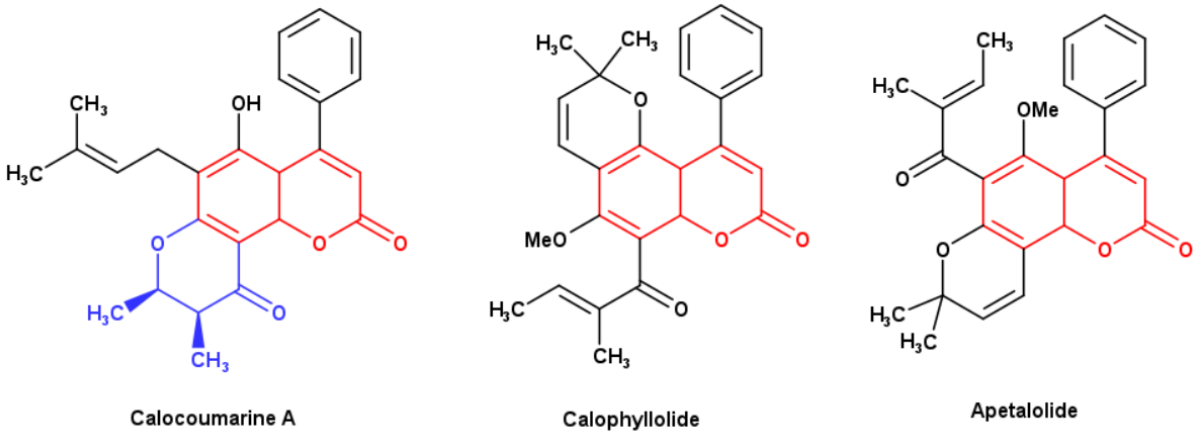


Figure 20 : Structures de quelques pyranocoumarines tricycliques identifiées chez *C. inophyllum*

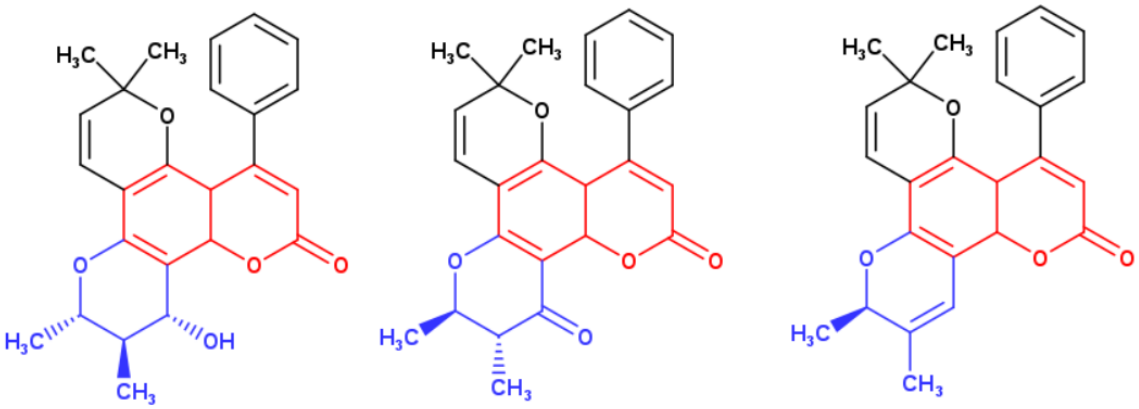


Figure 21 : Structures de quelques pyranocourarines tétracycliques identifiées chez *C. inophyllum*

Quelques furanocoumarines ont également été identifiées, uniquement dans les feuilles (**Figure 22**). Les chromanones possèdent un noyau 2,3-diméthylchroman-4-one (en bleu) (**Figure 23**) et sont souvent substitués par des chaînes isopropyles ainsi que des fonctions acides. Ces composés sont retrouvés aussi bien dans les feuilles que les fruits avec des proportions différentes selon la partie de la plante. Des xanthones tel que l'inoxanthone et le jacareubine ont également été identifiés uniquement dans les feuilles. Des triterpènes principalement à squelette oléanane et friédelane sont également présents, plus particulièrement dans les feuilles. Certains, notamment l'acide 27-acétyloxy-canophyllique, sont spécifiques du *C. inophyllum*. On note également la présence de quelques flavonoïdes (quercitrin, afzelin) au sein des feuilles (78).

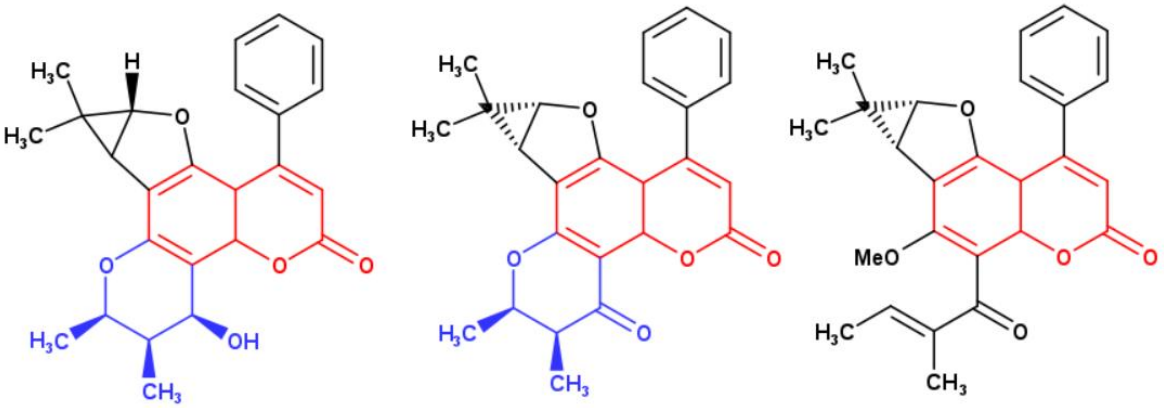


Figure 22 : Structures de quelques furanocoumarines identifiées à partir des feuillles de *C. inophyllum*

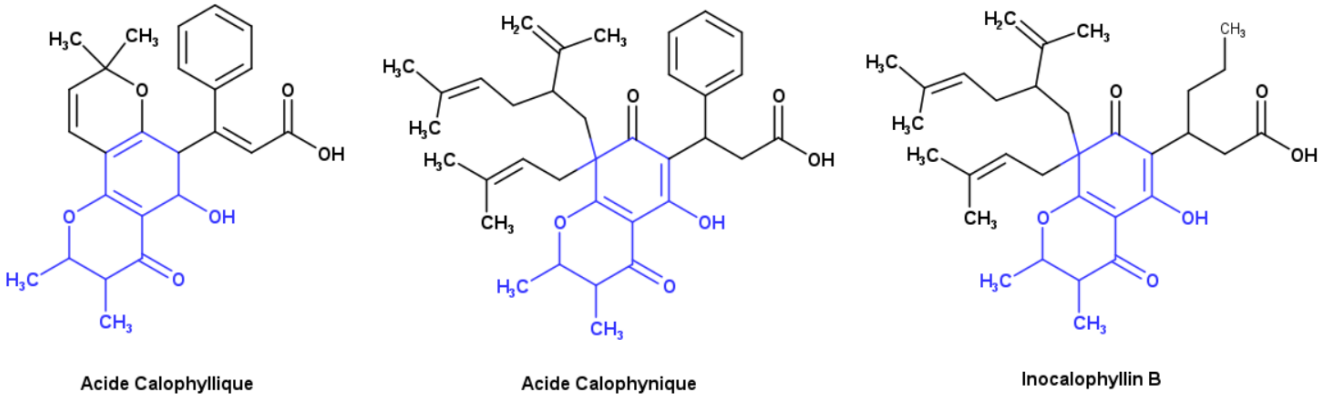


Figure 23 : Structures de quelques chromanones identifiées chez *C. inophyllum*

- **Activités biologiques**

Des propriétés cicatrisantes, antioxydantes, anticancéreuses, antibactériennes, antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires, antidiabétiques, ostéogéniques et neuropharmacologiques ont déjà été mises en évidence pour plusieurs extraits de *C. inophyllum* (79).

L'activité anticancéreuse de *C. inophyllum* a été montrée sur divers types cellulaires. En effet, l'extrait méthanolique d'amande a révélé une activité antiproliférative et une induction d'apoptose sur les cellules cancéreuses du sein (MCF-7) (80). L'extrait éthanolique de branche a également montré une activité cytotoxique et antiproliférative sur des cellules cancéreuses du sein et du poumon (81). Néanmoins, l'activité anticancéreuse n'a jamais été évaluée sur des mélanocytes.

Afin d'explorer ces propriétés cicatrisantes, l'huile de *Tamanu* a fait l'objet de nombreuses études expérimentales sur les animaux (82) et sur l'homme pour traiter des plaies (atones, post-opératoires, ulcères, fissures anales), des brûlures physiques et chimiques et des radiodermites (9). Plus récemment, l'activité cicatrisante de l'huile d'amande de *C. inophyllum* a été montrée sur des kératinocytes (HaCaT) (83). L'émulsion d'huile de *tamanu* a aussi été étudiée sur des cellules de peau humaine (kératinocytes et fibroblastes) et a montré une prolifération cellulaire, une production de glycosaminoglycanes et de collagène, ainsi qu'une activité de cicatrisation des plaies (84).

L'activité antioxydante de divers extraits de feuille et d'amande de *C. inophyllum* a été évaluée par Hugues *et al.* 2019 à travers le test Trolox indiquant l'extrait acétate d'éthyle de feuille comme étant le plus actif (1683,04 µmol Trolox équivalent/g de matière sèche). L'extrait éthanolique de branche a montré une réduction des ERO intracellulaires sur des cellules cancéreuses du sein et du poumon (81).

L'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux de feuille et éthanolique de fruit de *C. inophyllum* a été montrée via l'inhibition de la 5-LOX (85). L'extrait à l'acétone de feuille de *C. inophyllum* inhibe la production d'oxyde nitrique induite par le LPS, ainsi que l'expression de l'oxyde nitrique synthase inducible (iNOS), de la cyclooxygénase COX-2 et du facteur NF-κB de manière dose-dépendante (86). Enfin, l'extrait éthanolique d'écorce et de tige ainsi que celui d'amande ont montré une puissante activité anti-inflammatoire via l'inhibition de l'enzyme protéinase et de l'hémolyse de la membrane (87).

2.6.2. *Gardenia taitensis*

- **Description générale et botanique**

Le *Gardenia taitensis* de Candolle est aussi appelé *tiare* à Tahiti. Il appartient à la famille des Rubiacées, issues de l'ordre des *Gentianales* et la classe *Magnoliopsida*. C'est un arbuste aux feuilles obovales brillantes (**Figure 24**). Il produit des fleurs blanches très odorantes souvent composées de 6 à 7 pétales (9). Cette espèce est dioïque et présente donc des fleurs mâles et femelles sur des pieds distincts. Ces deux types de fleurs sont morphologiquement très proches. Les femelles possèdent un tube court, des pétales larges, un stigmate ouvert et des étamines sans pollen, tandis que les mâles ont un tube long, des pétales étroits, un stigmate fermé et des étamines remplies de pollen. En Polynésie française, les cultures sont principalement des pieds mâles, car plus florifères. Des fruits sont très rarement observés (88).



Figure 24 : Photographies d'un arbuste en fleur de *Gardenia taitensis* (A), bouton de fleur (B), fleurs femelle et mâle (C)

Cette plante est une introduction polynésienne. C'est une plante emblématique de la Polynésie française. Elle est au cœur de la culture polynésienne et est présente dans de nombreuses légendes (88). Ces fleurs servent à la confection de colliers et de couronnes couramment portés lors d'événements importants ou en gage de bienvenue. Enfin, cette plante est très employée dans les recettes de *ra'au* Tahiti et en cosmétique, notamment pour le *monoï*.

- **Usage en médecine traditionnelle et en cosmétique en Polynésie française**

Les fleurs de *G. taitensis* sont mentionnées dans de nombreuses recettes en médecine traditionnelle pour traiter différentes pathologies. Les recettes mentionnent parfois le stade de maturité de la fleur, bouton fermé ou ouvert en indiquant parfois le sexe de la fleur. Dans le cadre de cette étude, un intérêt particulier est montré pour les recettes de *ra'au* permettant de traiter les plaies infectées, les traumatismes dus à une chute ou un choc (entorses, luxations et fractures), les abcès cutanés et panaris, mais aussi les céphalées et névralgies dentaires, ou encore l'inflammation du tractus urogénital (9,60). L'étude ethnobotanique récente de Perchet et Butaud confirme l'utilisation actuelle de cette plante pour traiter les affections du système respiratoire, les problèmes dermatologiques (furoncles, plaies), les douleurs articulaires et pour prodiguer des bains en pédiatrie. De même aux îles Marquises, les boutons floraux sont cités dans de nombreuses recettes pour soulager les traumatismes dus aux chocs et chutes (fractures et hématomes), l'agitation de l'enfant avec fièvre, les convulsions et les affections buccales (aphtes et muguet) (63). De même, l'étude ethnobotanique de Chassagne *et al.,* menée dans l'archipel de la Société met en évidence l'emploi majeur de la fleur de *tiare* pour soigner les enfants, notamment atteints de troubles cutanés, d'eczéma, de fractures, mais aussi pour les soins du cordon ombilical et les gonflements du scrotum. Cette fleur est également associée à des remèdes pour les troubles respiratoires (asthme, toux, dyspnées), les troubles abdominaux (maux d'estomac), la filariose, les otites, et pour calmer l'irritabilité ou l'agitation des enfants (62). L'étude de Quenon *et al.* confirme l'usage des fleurs de *tiare* pour soigner divers troubles cutanés ainsi que les brûlures, les coups de soleil, les furoncles et les pustules (64).

Les fleurs de *tiare* sont également utilisées comme un ingrédient cosmétique majeur en Polynésie française. Communément macérée dans de l'huile de coprah (*C. nucifera*), cette préparation permet d'obtenir le *monoï*. Le *monoï* est appliqué pour les soins quotidiens de la peau et des cheveux et possède des propriétés hydratantes et parfumées, très appréciées pour les massages. Le *monoï* est également utilisé à des fins médicales et paramédicales comme protection solaire et soin de premiers secours (plaies, maux de ventre) (88). Quelques gouttes de monoï sont également ajoutées au bain des bébés, permettant ainsi de traiter les problèmes de peau (varicelle, chaleur épineuse ou croûtes de lait). Chez les jeunes garçons, le monoï est appliqué quotidiennement sur les parties génitales à la suite de la circoncision. Il peut également être appliqué après le tatouage pour apaiser, prévenir le dessèchement de la peau et favoriser le processus de cicatrisation (69). Cet ingrédient cosmétique est autorisé à l'échelle européenne (CosIng) et internationale (liste IECIC).

- **Usage traditionnel dans d'autres régions**

Le *G. taitensis* est répandu dans les îles du Pacifique (**Figure 25**). Les habitants des îles Cook se contentent de sentir les fleurs pour soulager les maux de tête. Les maux de tête liés à la migraine peuvent être soignés en immergeant la tête dans une solution contenant des fleurs écrasées. Les fleurs sont également utilisées pour traiter les maladies chroniques.

À Samoa, la plante est également utilisée pour traiter les inflammations chez les enfants et les infections oculaires (60,75). Les feuilles sont utilisées pour traiter les fortes fièvres et les paralysies du sommeil chez l'enfant, mais aussi comme soin de régulation du cycle menstruel (60).

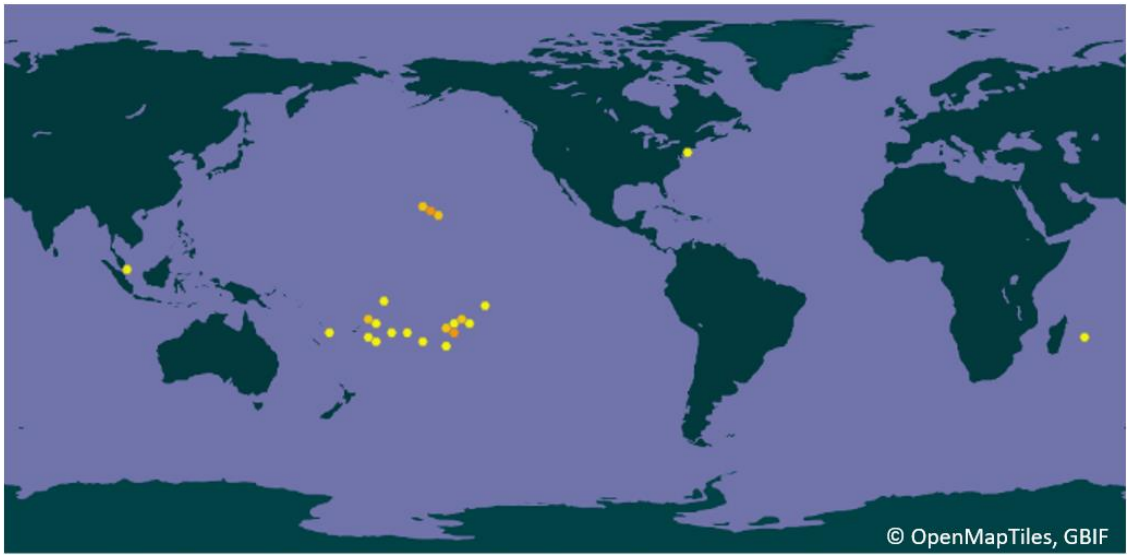


Figure 25 : Répartition mondiale de *G. taitensis* entre 2010 et 2024 selon gbif.org

- **Composition chimique**

La composition chimique de *G. taitensis* reste très peu étudiée, à l'exception de ses molécules odorantes décrites dans les travaux de Claude-Lafontaine (89). Les familles de composés les plus représentées dans la concrète sont les esters (28 %), les hydrocarbures (24 %), les éthers (17,1 %), les alcools (7 %) et les dérivés azotés (2 %). Parmi les esters, l'acétate de dihydroconiféryle est majoritaire (12,2 %). On retrouve également des benzoates, les tiglates et les salicylates (de 2-phényle éthyle, de (Z)-3-hexenyle, de benzyle, de dihydroconiféryle). Les hydrocarbures sont principalement constitués de n-alcanes en C23, C25, C27 et C29 ainsi que de quelques hydrocarbures terpéniques. Les éthers sont composés principalement du 2,3epoxysqualène et de plusieurs isomères d'oxydes de linalol. Parmi les alcools on retrouve le linalol (4,4 %), des alcools coniféryliques et dihydroconiféryliques. Les dérivés azotés sont constitués par des isomères de phénylacétaldoximes, le phénylacetonitrile et le 2-phénylnitroéthane. Ces derniers sont considérés comme étant responsables des propriétés odorantes de la fleur de *tiare* (89).

- **Activités biologiques**

À ce jour, à notre connaissance, aucune étude ne renseigne les propriétés biologiques du *G. taitensis*. La présence de la fleur de *tiare* au sein de remèdes aux fonctions très variées questionne la légitimité de son activité thérapeutique et pourrait amener à penser à un ajout rituel ou traditionnel de cette plante pour sa forte valeur symbolique (9). Néanmoins, la présence de salicylate montrée par Claude-Lafontaine laisse supposer des activités proches de l'acide salicylique, connu pour ses propriétés antiseptiques et antalgiques (89).

2.6.3. *Curcuma longa*

- **Description générale et botanique**

Le *Curcuma longa* Linné aussi appelé Safran d'Océanie ou *Rea tahiti* en tahitien. Il appartient à la famille des Zingibéracées, issues de l'ordre des *Zingiberales* et la classe *Liliopsida*. C'est une plante herbacée avec des pseudo-tiges feuillues pouvant atteindre jusqu'à 1 m de hauteur. Ces feuilles vertes sont pétiolées, oblongues et à nervures parallèles (**Figure 26**). Il possède des fleurs jaunes, tripartites, portées par un épi dressé et ne produit généralement pas de fruits (75). Cette plante se propage à partir de rhizomes ou tubercules. Ceux-ci pouvant mesurer 15 cm de long sur 2 cm de diamètre sont d'une couleur jaune orangé. Cette plante est particulièrement appréciée en Polynésie pour ses propriétés tinctoriales. Ces rhizomes servent donc de teinture pour les textiles, les *tapa* et la vannerie (9). Ils permettent également de peindre les corps lors de rituels et cérémonies. Ainsi, cette plante fait partie de la culture et des mythes polynésiens (90). Reconnus à travers le monde pour leurs propriétés aromatiques, les rhizomes sont très utilisés dans l'alimentation comme condiment, mais aussi comme colorant alimentaire (E100). En Polynésie française, ils sont également employés comme répulsif contre les moustiques, en cosmétique et en médecine traditionnelle (9).

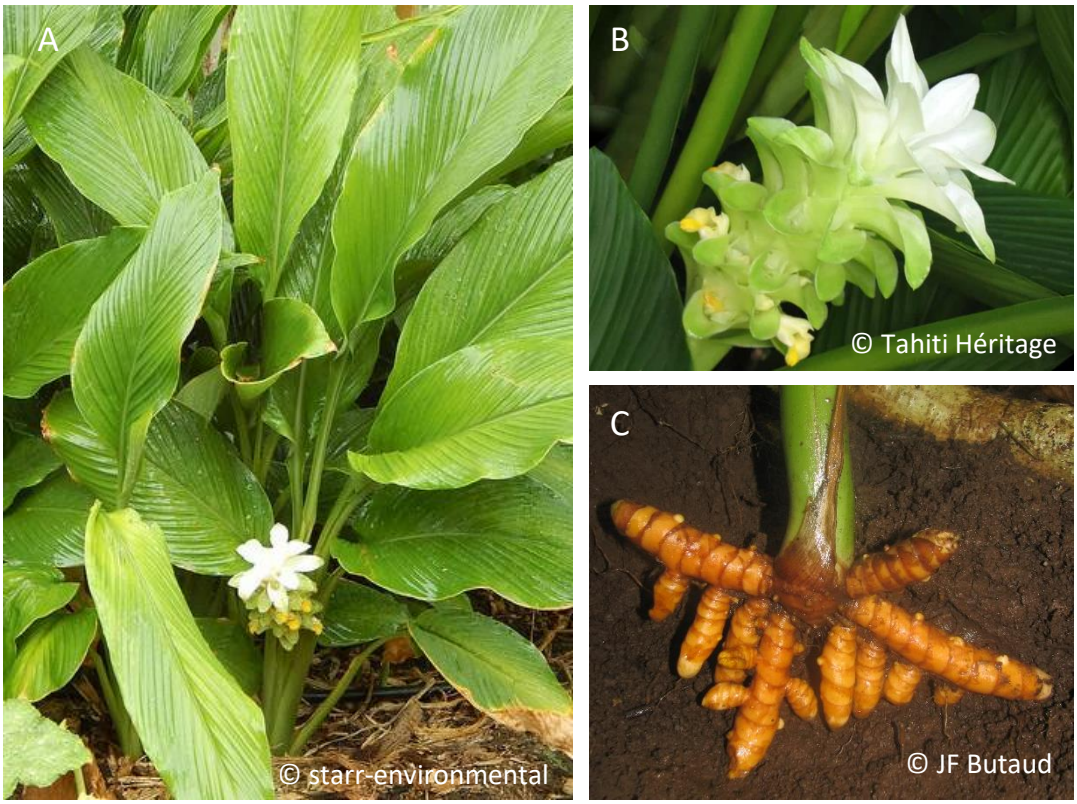


Figure 26 : Photographies d'un plant de *C. longa* (A), fleurs (B), rhizomes (C)

- **Usage en médecine traditionnelle et en cosmétique en Polynésie française**

Les rhizomes de *C. longa* sont très utilisés dans les *ra'au* Tahiti. Paul Pétard les cite notamment dans des recettes permettant de traiter les blennorragies, les leucorrhées, le diabète avec polyurie et l'incontinence urinaire (9). D'après l'étude ethnobotanique de Chassagne *et al*., le *C. longa* a de nombreuses utilisations pour soigner les enfants. Il sert d'agent détoxifiant, mais

aussi de traitements des troubles cutanés (eczéma, éruption cutanée due à la chaleur) et des troubles uro-génitaux (prurit vaginal, désordre du cycle menstruel, incontinence et infection urinaire, pertes vaginales et urétrales). Il permet également de calmer la toux, la fièvre, les troubles abdominaux et maux d'estomac, ainsi que l'irritabilité et l'agitation (62). Aux Marquises, les rhizomes sont incorporés dans une préparation dermocosmétique permettant la cicatrisation des plaies ou le traitement des abcès cutanés (63).

Les rhizomes de *C. longa* sont souvent incorporés au *monoï* pour les soins de la peau et des cheveux (56,63). Selon une étude de la cosmétopée aux îles Marquises de Jost *et al*., le *C. longa* est un ingrédient cosmétique très employé. Il entre dans la préparation de soins esthétiques essentiellement destinés à la séduction pour favoriser la beauté de la peau et des cheveux, et pour le parfum (69). Cet ingrédient cosmétique est autorisé au niveau européen (CosIng) et au niveau international (liste IECIC).

- **Usage traditionnel dans d'autres régions**

Largement répandu dans le Pacifique Sud et dans d'autres zones tropicales (**Figure 27**), de nombreuses régions font usage des rhizomes de *C. longa* (75).

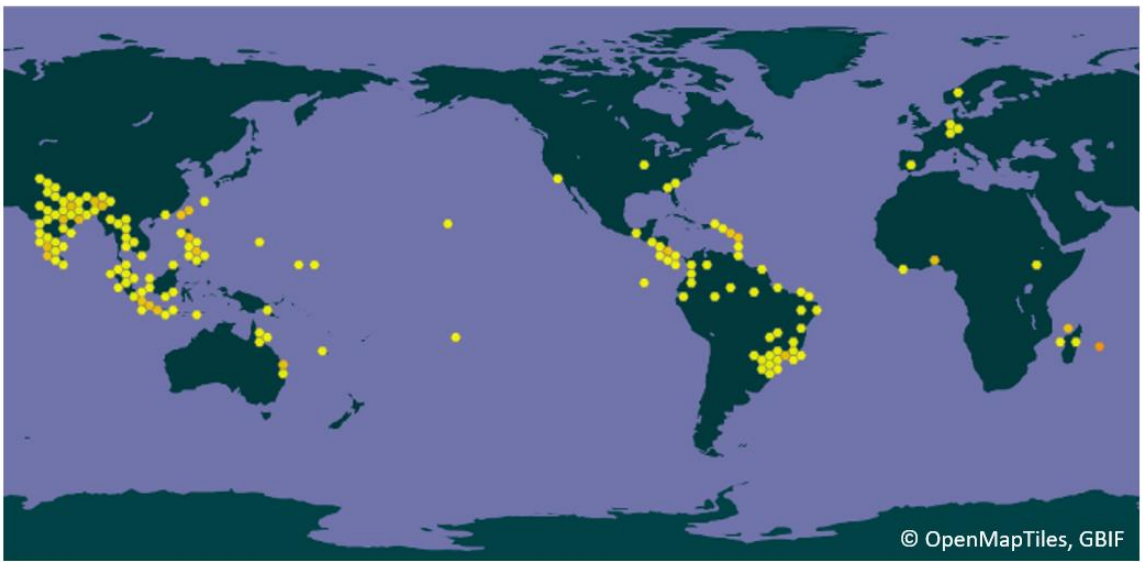


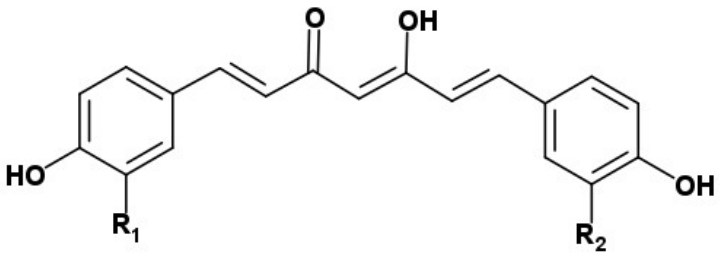
Figure 27 : Répartition mondiale de *C. longa* entre 2010 et 2024 selon gbif.org

À Tonga, ce rhizome est utilisé dans le traitement des plaies et des éruptions cutanées chez les nourrissons. On trouve des utilisations similaires à Niue, Futuna ainsi qu'à Samoa et dans les îles Cook. Dans ces deux derniers pays, il était courant d'enduire la mère et le nouveau-né de curcuma (75). Les Indo-Fidjiens utilisent un cataplasme de rhizome sur les entorses et les ecchymoses. Une solution de curcuma est utilisée pour traiter les maladies oculaires et les plaies ouvertes. Le rhizome est pilé et pressé dans de l'eau pour préparer une solution pour traiter les conjonctivites purulentes (91). En Nouvelle-Guinée, le rhizome et la tige sont utilisés dans un remède contre la dysenterie (75). Les habitants des îles Cook ingèrent des infusions de curcuma pour traiter les infections urinaires et l'appliquent en externe sur les plaies perforantes infectées (75). En Thaïlande, le *C. longa* est particulièrement utilisé pour les troubles cutanés, tels que les abcès, les ulcères et l'acné (92). Dans la médecine populaire

pakistanaise, le rhizome de *C. longa* est réduit en poudre et appliqué pour traiter les boutons et les plaies (93). Le rhizome de *C. longa* est connu sous le nom de yung-ba au Bhoutan et les praticiens de la médecine traditionnelle bhoutanaise le recommandent comme tonique, antidote, anti-inflammatoire, antiseptique et bon conservateur (94). Au Népal, la décoction de rhizome est administrée comme traitement contre les troubles hépatiques, antihelminthique, stimulant, tonique, et pour purifier le sang. En outre, la pâte de rhizome est appliquée en externe sur les foulures, les plaies et les blessures (95). Aux Philippines, le jus extrait du rhizome écrasé de *C. longa* est recommandé en boisson pour traiter l'arthrite et la toux, mais aussi directement appliqué sur les coupures et les blessures pour leur cicatrisation (96). Au Pérou, le jus de rhizome de *C. longa*, communément appelé Shapi natiyu, est également utilisé pour le traitement de la bronchite et du paludisme (97). En Colombie, il est traditionnellement consommé pour traiter les plaies, la thrombose, le diabète, l'obésité, l'arthrite, les infections rénales, l'hypercholestérolémie, mais aussi pour détoxifier le foie et renforcer le système immunitaire (98).

- **Composition chimique**

Les métabolites spécifiques présents dans le *C. longa* sont principalement des curcuminoïdes (2-9% de la composition totale). Ils donnent notamment sa couleur jaune orangé au tubercule. Trois composés sont très majoritaires et en proportion variable selon l'origine de la plante et le processus d'extraction : la curcumine I, la déméthoxycurcumine aussi appelée curcumine II, et la bisdéméthoxycurcumine ou curcumine III (**Figure 28**)



Curcumine : R_1 et R_2 = OCH3
Déméthoxycurcumine : R_1 = H, R_2 = OCH3
Bisdéméthoxycurcumine : R_1 et R_2 = H

Figure 28 : Structure des curcuminoïdes majoritaires présents dans les rhizomes de *C. longa*

Les curcuminoïdes, selon la tautomérie céto-énolique existent sous la forme dicétonique en conditions neutres, voire légèrement acides ou sous en conditions alcalines (99). Ces composés sont très lipophiles et leur biodisponibilité tend à être améliorée par diverses méthodes de formulation et d'administration : nanoparticules (β-cyclodextrines), microencapsulations (chitosane-alginate), nano-émulsion, complexes liposomaux, micellaires ou phospholipidiques, co-administration de pipérine (100). D'autres composés phénoliques sont également présents, notamment des dérivés d'acide cinnamique, tels que l'acide vanillique et l'acide férulique. L'huile essentielle de *C. longa* contient des terpénoïdes, dont une trentaine de monoterpènes et environ 140 sesquiterpènes.

- **Activités biologiques**

De nombreuses études ont été menées sur les rhizomes de *C. longa*, mettant en évidence un large éventail d'activités principalement attribuées à la présence de curcumine.

En effet, la curcumine possède la capacité d'interagir avec de nombreuses cibles impliquées dans les maladies de la peau. La **figure 29** présente les mécanismes moléculaires et les voies d'action les plus probables de la curcumine dans les problèmes dermatologiques. La curcumine aurait donc un impact positif sur la dermatite atopique (eczéma), le psoriasis, la sclérodermie, le vieillissement de la peau, les plaies chroniques, le cancer de la peau et les infections cutanées grâce à ses propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anticancéreuses et antimicrobiennes (101,102).

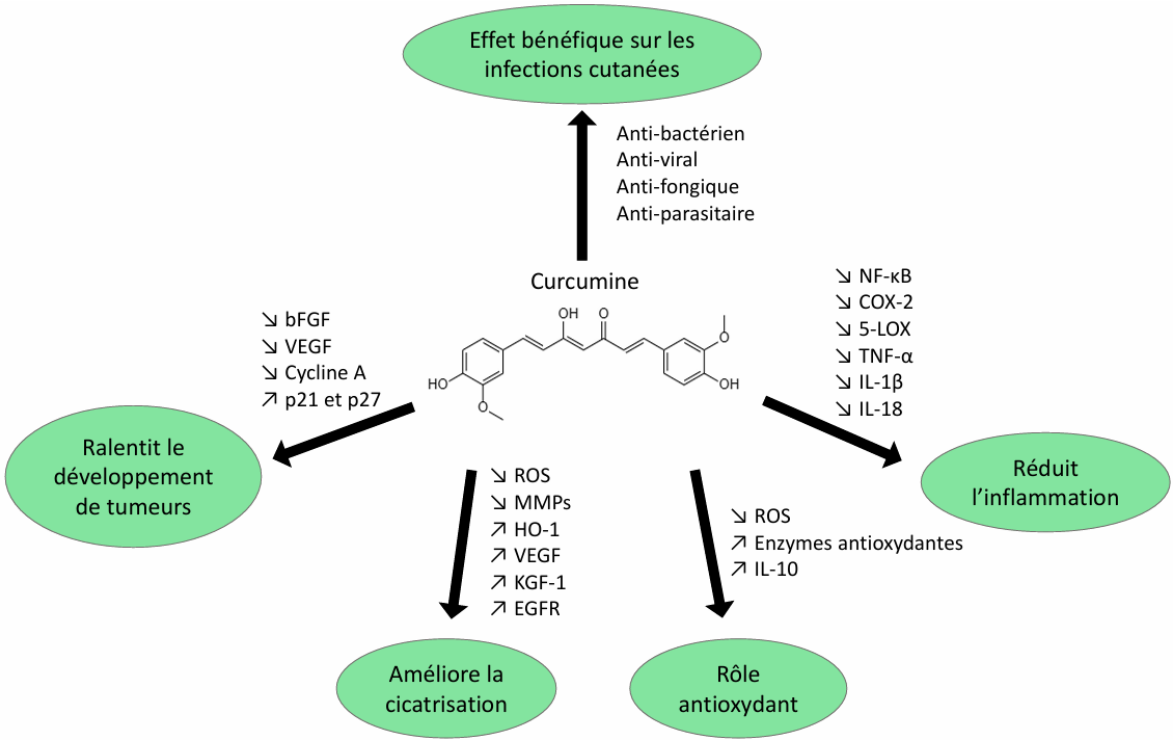


Figure 29 : Impact de la curcumine sur les pathologies cutanées (102)

Les extraits de rhizomes *C. longa* possèdent des propriétés cytotoxiques, antitumorales, embryotoxiques, antimutagènes, d'inhibition de la cancérogenèse (75). Depuis le début des années 2000, de nombreuses études ont montré les mécanismes anticancéreux à multiples facettes de la curcumine sur des lignées cellulaires de mélanomes. En effet, la curcumine a la capacité d'inhiber la croissance cellulaire en arrêtant le cycle cellulaire en phase S et G2/M notamment via la surexpression d'inhibiteurs de kinases cycline-dépendantes (p21 et p27) (103). La curcumine induit également la mort cellulaire par activation des mécanismes d'apoptose (104). Cette activité semble notamment due à l'inhibition de NF-κB et de la kinase IκB (105,106) ainsi qu'à la surexpression des caspases 3 et 9 (106–108) et l'augmentation du stress oxydatif (108). Les mécanismes mis en jeu semblent indépendants de p53 et des voies B-Raf, MEK, ERK et Akt (105,109). Les travaux menés par Szlasa *et al.* ont démontré l'activité prometteuse de la curcumine en tant qu'agent anticancéreux par thérapie photodynamique pour traiter les lignées cellulaires de mélanomes (A375 et C32), en montrant une

augmentation significative de l'effet cytotoxique et de la mort cellulaire par apoptose et nécrose (110).

Diverses études ont été menées afin d'évaluer l'impact du *C. longa* sur les processus de cicatrisation. Il a été identifié comme un modulateur du processus de cicatrisation des plaies, avec ses effets multiples couvrant les phases inflammatoires, prolifératives et de remodelage. En ciblant ces phases clés, la curcumine accélère effectivement la cicatrisation, mettant en évidence son potentiel thérapeutique dans l'amélioration de la réparation des tissus (101). Pour les patients diabétiques, les processus de cicatrisation sont altérés par l'inflammation à long terme et de l'augmentation du stress oxydatif. Ainsi, les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de la curcumine ont été évaluées sur des plaies chez les rats diabétiques. Il a été montré une augmentation une augmentation du niveau de cytokines anti-inflammatoires, telles que l'IL-10, et des enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase) entraînant une cicatrisation plus rapide et de meilleure qualité (111). La curcumine issue de *C. longa* est donc capable de réduire le temps de cicatrisation des plaies et d'améliorer le dépôt de collagène. Elle augmente également la densité des fibroblastes et des vaisseaux dans les plaies (102). Elle possède également des activités antimicrobiennes (antivirales, antibactériennes, antifongiques et antiparasitaires) bénéfiques pour traiter les infections de la peau ou éviter leur apparition en cas de plaies (102). Néanmoins, le caractère hydrophobe de la curcumine limite sa biodisponibilité et donc son activité biologique. De nouvelles méthodes de formulation développées sont donc évaluées afin d'améliorer l'administration par voie cutanée. Ainsi, le curcuma utilisé sous forme de gel en application locale sur des plaies entraîne une fermeture rapide de la plaie avec un niveau de collagène significativement plus élevé chez les souris (112). De même, le curcuma inséré en sandwich dans une membrane nanofibreuse favorise la cicatrisation des plaies en induisant la croissance du tissu de granulation, le dépôt de collagène et le remodelage du tissu épithélial sur un modèle de lésions cutanées dorsales chez le rat (113).

Néanmoins, la curcumine a également été identifiée comme composé PAINS (Pan Assay INterference compoundS) et IMPS (Invalid Metabolic PanaceaS). Les PAINS sont des composés dont on a observé qu'ils montraient une activité dans plusieurs types d'essais en interférant avec la lecture de l'essai plutôt que par des interactions spécifiques entre le composé et la cible. La curcumine présente tous les comportements connus des PAINS : marquage covalent des protéines, chélation des métaux, réactivité redox, agrégation, perturbation des membranes, interférence de la fluorescence et décomposition structurelle. De plus, elle présente de faibles performances en tant que piste médicamenteuse lors d'essais cliniques (114).

2.6.4. *Ficus prolixa*

- **Description générale et botanique**

Le *Ficus prolixa* G. Forster est appelé *Ora* à Tahiti, mais il est aussi connu sous le nom de Banian polynésien ou Figuier étrangleur (53). Il appartient à la famille des Moracées, issues de l'ordre des *Rosales* et la classe *Magnoliopsida*. C'est un arbre imposant qui peut mesurer jusqu'à 30 m (**Figure 30**).



Figure 30 : Photographie de *Ficus prolixa* (A), tronc (B), racines aériennes (C), feuilles et fruits (D), tapa marquisien contemporain (E)

Il possède un tronc complexe, formé de racines aériennes filiformes, anastomosées et terminées de filaments blancs, qui descendent des branches vers le sol. Il forme de petites figues blanches, rouges à noires à maturité, très appréciées des oiseaux, ce qui favorise sa dissémination par endozoochorie (9,72).

Cet arbre est considéré de nos jours comme un banian sacré en Polynésie française, car il est souvent trouvé à proximité de *Marae*. Néanmoins, il n'existe pourtant aucune trace d'une intention volontaire d'implanter ce *Ficus* proche des *marae*. De plus, l'âge des arbres sur les

différents sites indique une implantation postérieure à l'époque d'abandon des édifices. Ainsi, la localisation de ces arbres serait due à des conditions abiotiques propices. Il est également considéré comme associé à des lieux *tapu* (interdits, où il ne faut pas aller) ou à des lieux de sépultures (71,115). Ses racines aériennes servent également à la confection de *tapa*. Cet arbre indigène en Polynésie française est retrouvé exclusivement dans les îles du Pacifique (**Figure 31**).

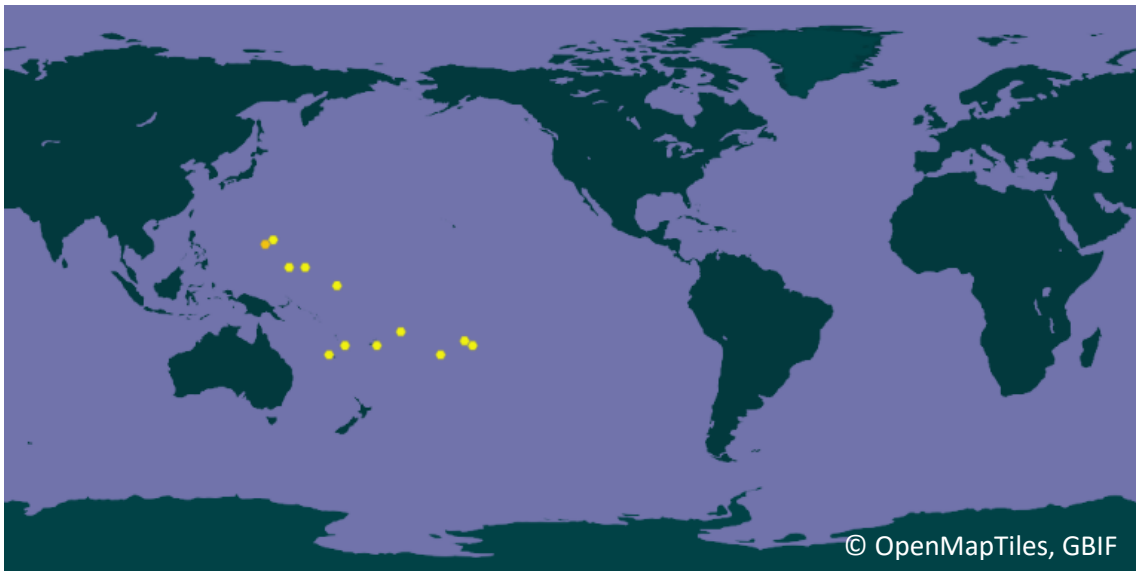


Figure 31 : Répartition mondiale de *F. prolixa* entre 2010 et 2024 selon gbif.org

- **Usage en médecine traditionnelle et en cosmétique en Polynésie française**

En médecine traditionnelle polynésienne, on emploie surtout l'extrémité des jeunes racines aériennes, mais les feuilles et les écorces sont également citées dans quelques préparations. Ses racines aériennes sont donc principalement employées pour traiter les plaies envenimées, certaines infections bactériennes (anthrax, blennorragie), les infections buccales (stomatite et gingivite), les bronchites et les leucorrhées (9).

Aux îles Marquises, l'étude récente de Girardi *et al.* décrit des indications similaires. Ainsi, les racines aériennes y sont toujours utilisées pour traiter les affections génitales (leucorrhée) et comme soin d'hygiène intime. Elles permettent de soigner des affections buccales (aphtes, mauvaise haleine, muguet, langue blanche) et sont utilisées comme soin de purge (63).

- **Composition chimique et activités biologiques**

À notre connaissance, à ce jour, aucune étude ne renseigne la composition phytochimique du *F. prolixa*. Des études menées sur d'autres espèces du genre *Ficus* ont montré une présence majoritaire de flavonoïdes (21 %) et isoflavonoïdes (7 %), de triterpènes (26 %) et de stéroïdes

(9 %) et de coumarines (8 %) (**Figure 32**). Une liste plus exhaustive des composés identifiés dans les plantes du genre *Ficus* est disponible en annexe (**Annexe 1**).

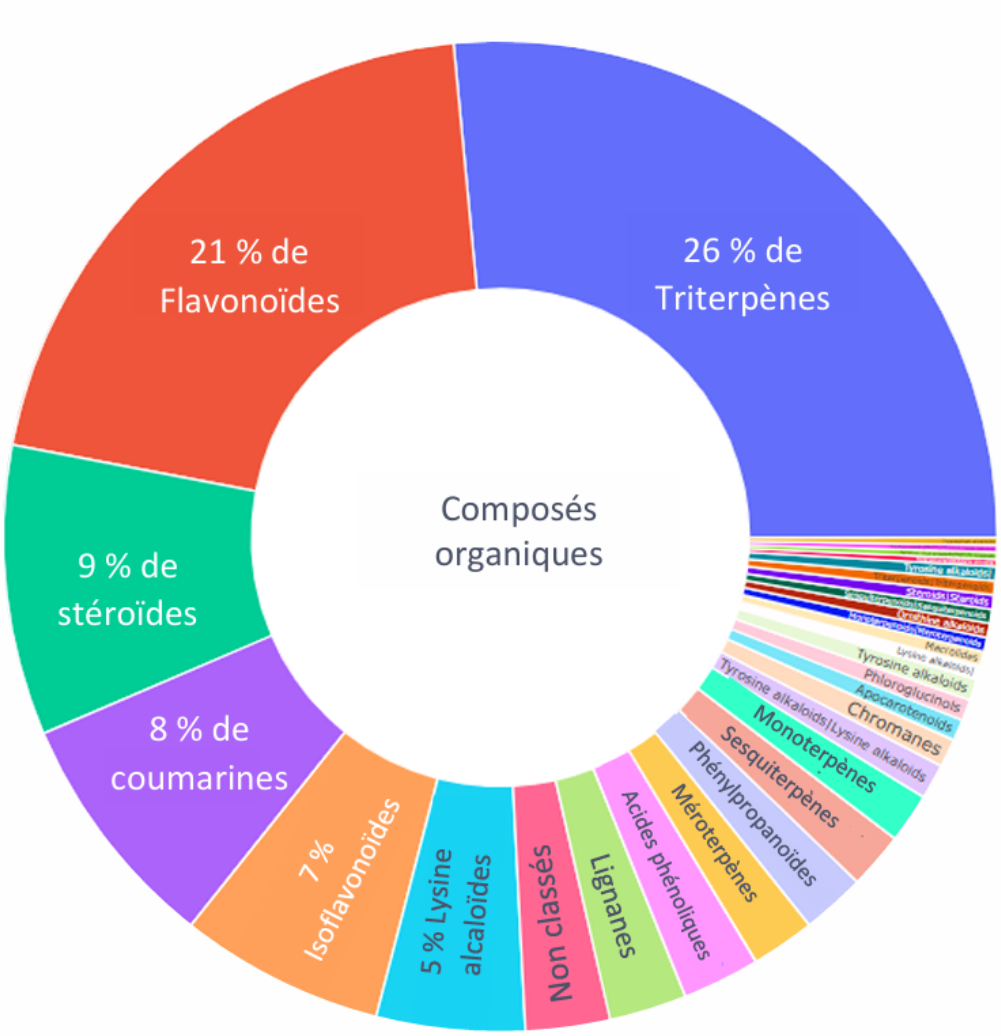


Figure 32 : Répartition chimique des métabolites secondaires identifiés dans le genre *Ficus* (générée avec VersaDB le 21.03.23)

Les propriétés biologiques du *F. prolixa* ne sont pas documentées dans la littérature, à notre connaissance. D'autres espèces du genre *Ficus,* présentant un système de racines aériennes similaires au *F. prolixa*, ont été étudiées. C'est le cas de *F. benghalensis* dont les extraits de racines aériennes ont révélé des propriétés antioxydantes (116,117). Les racines aériennes de *F. microcarpa* présentent des triterpènes avec une fonction acide en C-28 qui font partie des composés cytotoxiques les plus prometteurs présents dans les espèces *Ficus* : l'acide acetylbetulinique, l'acide acetylursolique, l'acide betulonique, l'acide ursolique et l'acide ursonique. Ces composés ont démontré une cytotoxicité sur trois lignées cellulaires cancéreuses humaines avec des valeurs CI_{50} comprises entre 4,0 et 9,4 µM (118,119).

2.6.5. *Cordia subcordata*

- **Description générale et botanique**

Cordia subcordata J.B. Lamarck appelé *Tou* en tahitien est aussi connu sous le nom de Noyer d'Océanie ou Faux-ébène (53). Il appartient à la famille des Boraginacées, issues de l'ordre des *Boraginales* et la classe des *Magnoliopsida*. Principalement retrouvé en zone côtière, cet arbre possède un tronc court à l'écorce gris-beige (**Figure 33**) (9).



Figure 33 : Photographies de *Cordia subcordata* (A), feuilles vertes (B), fruits et fleurs (C)

Sa taille peut aller jusqu'à 15 m, mais il avoisine souvent 5 à 7 m (120). Ces feuilles sont persistantes, alternes, entières, large et en forme de cœur. Elles sont initialement d'un vert clair, puis elles virent au jaune avant de tomber. Il possède des fleurs inodores orange, gamopétales en forme de trompette et légèrement ridées. Elles sont disposées en grappe à l'extrémité des branches. Les fruits ovoïdes mesurent de 2 à 3 cm de long. Ils sont verts à maturité, puis ils forment une drupe ligneuse très rigide à l'épiderme brun. Ils renferment

environ quatre graines blanches comestibles semblables à des amandes. Les fleurs et les fruits sont généralement disponibles tout au long de l'année (9,120).

Les fruits du *Tou* flottent facilement et sont transportés d'île en île sur l'océan (120). Ainsi, cet arbre, indigène en Polynésie française, se retrouve dans tout le Pacifique ainsi que dans certaines parties de l'océan Indien et de l'Afrique de l'est (**Figure 34**).

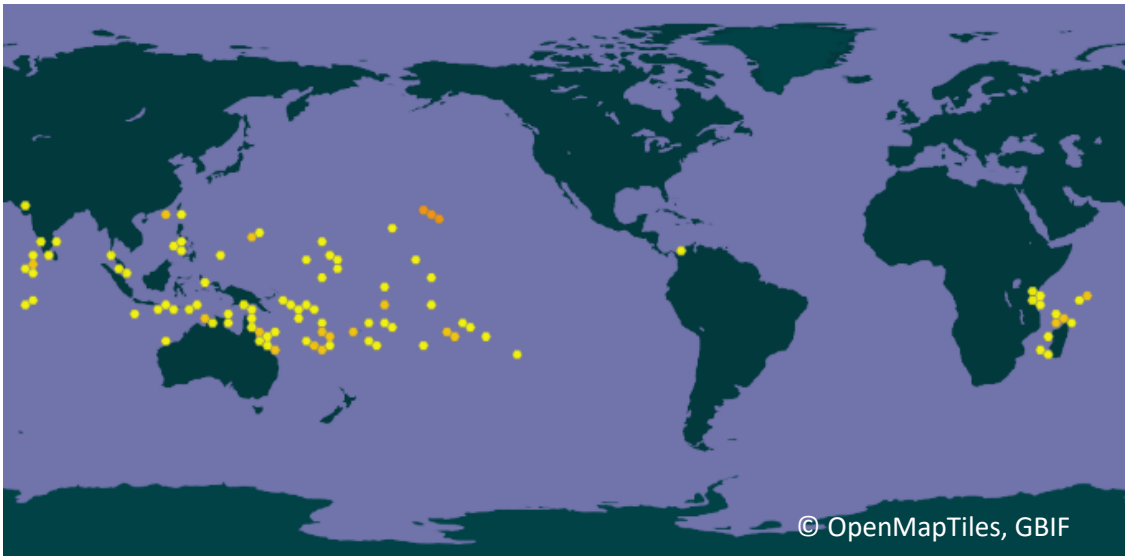


Figure 34 : Répartition mondiale de *Cordia subcordata* entre 2010 et 2024 selon gbif.org

En dehors de son usage en médecine traditionnelle, cet arbre est également très utilisé en ébénisterie. En effet, son bois brun est très résistant et offre un support de qualité à la confection de meubles ou d'objets sculptés qui sont d'une grande valeur. Il sert également de teinture. Ses feuilles fraîches incolores sont associées au fruit du *Ficus tinctoria* (*Mati*) pour obtenir une préparation d'un rouge écarlate utilisée pour colorer les *Tapa*, étoffes indigènes non tissées obtenues en soudant ensemble des fragments d'écorces par battage prolongé (9).

- **Usage en médecine traditionnelle polynésienne**

Les feuilles de *C. subcordata* sont très utilisées en médecine traditionnelle. Les feuilles vertes que l'on distingue des feuilles jaunes sont parfois employées seules ou en association aux feuilles jaunes en proportions égales. Les écorces et les fruits sont également cités dans certaines recettes. Les feuilles vertes sont donc utilisées pour soigner les plaies infectées, les toux et bronchites, les maladies du foie, les néphrites et l'albuminurie. Elles servent également de remède contre les maux d'oreilles, en particulier les abcès, les douleurs et les inflammations liés aux otites (9,75). Aux îles Marquises, les feuilles associées aux fruits permettent de traiter les sinusites et l'obstruction nasale chez les jeunes enfants, mais aussi de soulager les hémorroïdes et les traumatismes liés aux chutes ou chocs (fractures) (63,121). Dans l'archipel de la Société, les études ethnobotaniques renseignent l'usage des feuilles de *Tou* pour soigner les troubles cutanés (acné), les plaies, l'asthme, la toux, les bronchites et les conjonctivites (62,64).

- **Usage traditionnel dans d'autres régions**

Aux Fidji, la plante est utilisée pour traiter les douleurs associées aux rhumatismes et les gonflements des muscles et des articulations. En Nouvelle-Guinée, une préparation à base de feuilles est utilisée pour soigner les plaies ou les ulcères cutanés. Les habitants des îles Cook utilisent les feuilles dans des remèdes contre les gonflements abdominaux et les infections urinaires (75).

- **Composition chimique et activités biologiques**

À notre connaissance, à ce jour, aucune étude ne renseigne la composition phytochimique de *C. subcordata*. Des études menées sur d'autres espèces du genre *Cordia* ont montré une présence majoritaire de méroterpènes (16 %) et triterpènes (16 %), de naphtalènes (10 %) et flavonoïdes (7 %) (**Figure 35**). Une liste plus exhaustive des composés identifiés dans les plantes du genre *Cordia* est disponible en annexe (**Annexe 2**).

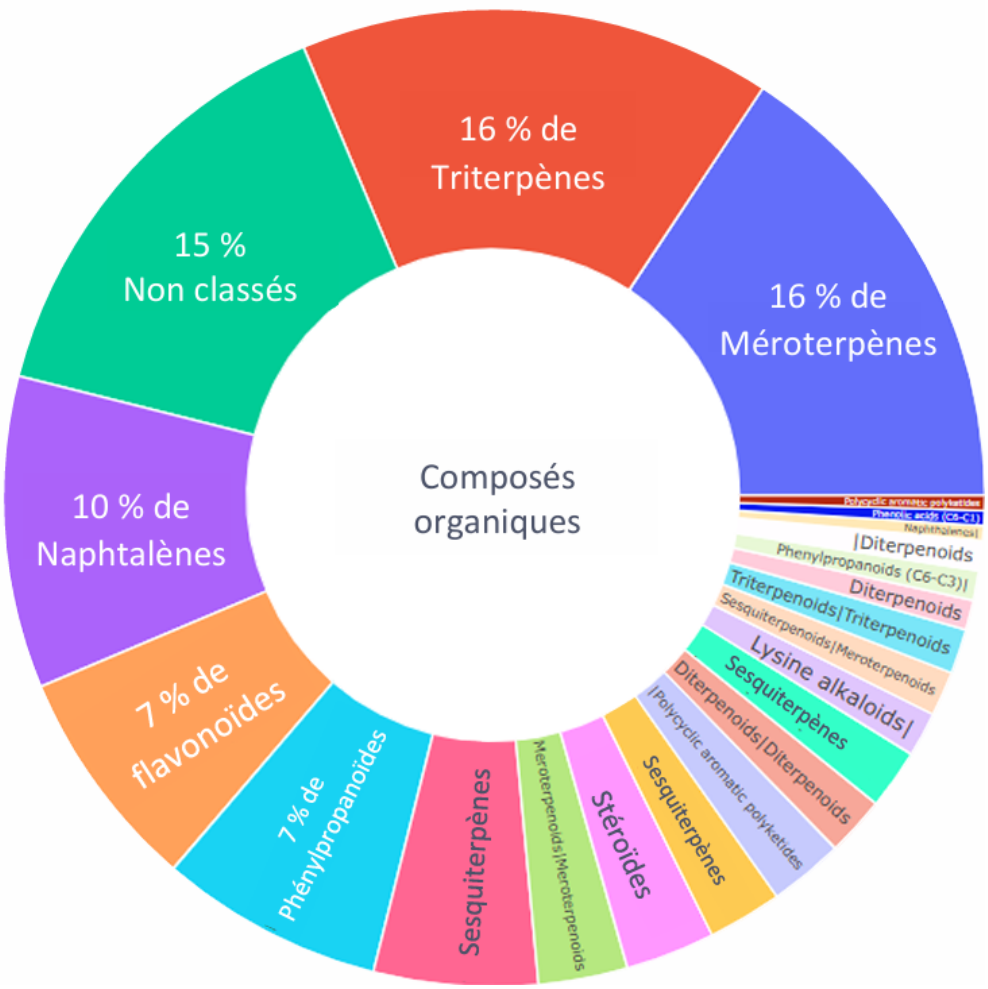


Figure 35 : Répartition chimique des métabolites secondaires identifiés dans le genre *Cordia* (générée avec VersaDB le 21.03.23)

De même, ses propriétés biologiques ont été très peu étudiées. Seules deux études mentionnent les activités antioxydantes et hépatoprotectives de l'extrait de feuilles investiguées sur le rat (122,123).

2.7. Conclusion partielle

Les plantes sont une source naturelle intéressante de composés antioxydants, anti-inflammatoires, anticancéreux et cicatrisants qui permettraient de traiter certaines problématiques de soins cutanés. La Polynésie française, en raison de son isolement géographique, présente une flore très spécifique et très peu étudiée d'un point de vue chimique et pharmacologique. Ces végétaux sont largement consommés localement pour la préparation de cosmétiques et de médicaments traditionnels à base de plantes (*ra'au* tahiti). Ainsi, cinq plantes ont été choisies selon différents critères, notamment les usages en médecine traditionnelle et en cosmétique, les statuts bio-géographique et bio-écologique, ainsi que les données de la littérature : le *C. inophyllum,* le *G. taitensis,* le *C. longa*, le *C. subcordata* et le *F. prolixa* (**Tableau 4**). Ces plantes font partie des plus utilisées en Polynésie française dans la médecine traditionnelle. Elles sont prometteuses pour une future valorisation cosmétique et pharmaceutique. Pour cela, leurs propriétés biologiques devraient être évaluées et leurs compositions chimiques être établies.

Tableau 4 : Synthèse présentant les plantes polynésiennes sélectionnées pour l'étude

Nom latin (*Nom tahitien*)	Statut bio-géographique	Parties de plante	Usages traditionnels d'intérêt	Activités biologiques	Composition chimique	Liste IECIC
Calophyllum inophyllum **(*Tamanu*)** 	Introduction polynésienne	Fruit	Brûlures, coups de soleil, plaies infectées, dermatoses, allergies cutanées Cosmétique (peau et cheveux)	Cicatrisante, antioxydante, anticancéreuse, antibactérienne, antivirale, antifongique, anti-inflammatoire, antidiabétique, ostéogénique, neuropharmacologique	Pyranocoumarines (calophylollide, inophyllums) chromanones, xanthones, triterpènes, flavonoïdes	Oui
		Feuille	Brûlures, herpès, dermatoses, intertrigos, prurit, conjonctivite, allergies cutanées			
Gardenia taitensis **(*Tiare)*** 	Introduction polynésienne	Fleur	Plaies infectées, traumatisme dû à une chute ou un choc, abcès cutanés et panaris, céphalées, névralgies, inflammation Cosmétique (*Monoï*)	Non documenté	Composés volatils : ester (acétate de dihydroconiféryle, benzoates, tiglates et salicylates), hydrocarbures, éthers, alcools	Oui
Curcuma longa **(*Rea*)** 	Introduction polynésienne	Rhizome	Agent détoxifiant, troubles cutanés (eczéma), plaies, Cosmétique (peau et cheveux)	Anti-inflammatoire, antibactérien, antifongique, cytotoxique, anti-levure, insecticide, antioxydant, antitumoral, anticoagulant, antihépatotoxique, antiviral, antihypercholestérolémique, antimutagène, immunosuppresseur,	Curcuminoïdes, dérivés d'acide cinnamique, sesquiterpènes et monoterpènes (huiles essentielles)	Oui
Ficus prolixa **(*Ora*)** 	Indigène	Racine aérienne	Plaies envenimées, infections bactériennes, infections buccales, bronchites, leucorrhées, purgatif, furoncle	Non documenté	Non documenté	Non
Cordia subcordata **(*Tou*)** 	Indigène	Feuille	Plaies infectées, troubles cutanés (acné), traumatismes liés aux chutes ou chocs, toux et bronchites, maux d'oreilles	Antioxydant, hépatoprotecteur	Non documenté	Non

3. Approche métabolomique et caractérisation des mélanges

Le métabolisme est un ensemble de réactions permettant la transformation de matière et d'énergie, nécessaires au bon fonctionnement des organismes vivants. Les composés formés au cours du métabolisme ou qui y participent sont appelés métabolites. Initialement classés en deux catégories par Albrecht Kössel en 1891, on distingue les métabolites primaires, indispensables à la vie (sucres, lipides, acides nucléiques, etc.), et les métabolites secondaires, utiles à l'adaptation des organismes à leur environnement (124).

Depuis le début des années 2000, cette classification a été remise en cause par Firn et Jones, qui proposent trois types de métabolites pour mieux prendre en compte le caractère évolutif (125). Ainsi, les métabolites basiques intégrés (primaires) correspondent à des voies métaboliques anciennes, très conservées, avec peu d'évolution possible et une faible diversité interorganismes. Les métabolites de soutien sont plus substituables et remplissent des fonctions en lien avec leurs propriétés physico-chimiques (par exemple, les pigments protecteurs contre les rayonnements UV). Enfin, les métabolites spécifiques ou spécialisés (secondaires) résultent de pressions de sélection évolutives (adaptation) et présentent des activités biologiques ciblées contre des protéines spécifiques (125).

En raison de leurs propriétés biologiques, les métabolites spécialisés issus des plantes constituent une source particulièrement intéressante de composés valorisables en médecine ou en cosmétique. Ainsi, leur étude a fait l'objet de développements et d'optimisations de méthodes efficientes pour identifier de nouveaux principes actifs d'origine naturelle (126).

À partir des plantes sélectionnées, cette étude vise à caractériser leur composition grâce à une approche métabolomique. Ainsi, cette section 3 détaille cet aspect à travers deux méthodes de déréplication : les réseaux moléculaires, basés sur les analyses LC-MS^2, et la procédure CaraMel, utilisant les analyses RMN. L'association de ces stratégies innovantes permet l'étude de composés en mélange tout en évitant des étapes fastidieuses de purification (127).

3.1. Approche métabolomique

La métabolomique correspond à l'étude de l'ensemble des métabolites de petite taille (<1500 Da), présents à un moment donné au sein d'un système biologique, tel que les cellules, les tissus ou les organismes. Comparé au génome, cet ensemble est très dynamique. Son expression est régulée et sujette à de nombreuses variations en fonction de multiples facteurs. Pour les végétaux, le métabolome d'une même espèce présente des variations qualitatives et quantitatives selon son environnement (saison de collecte, type de sol), son stade de croissance et la partie de la plante étudiée.

Il existe différentes approches selon les objectifs de l'étude :

- Une approche ciblée est employée pour étudier une famille chimique précise ou des métabolites connus dans un objectif quantitatif (exemple : la comparaison des taux de

métabolites au sein d'échantillons d'une même plante collectés à diverses saisons) (126).

- Une approche non ciblée est utilisée pour étudier un système dans sa globalité, sans connaissance *a priori* de sa composition, avec une démarche principalement qualitative et semi-quantitative (126). Dans le cadre de cette étude, cette seconde approche est privilégiée, étant donné le caractère exploratoire et l'absence de données phytochimiques pour certaines plantes.

Les études métabolomiques comprennent de nombreuses étapes permettant, *in fine*, l'identification de la structure des métabolites : elles commencent par l'échantillonnage des matières premières végétales, l'extraction, suivie d'étapes de simplification des extraits grâce à des techniques séparatives (**Figure 36**).

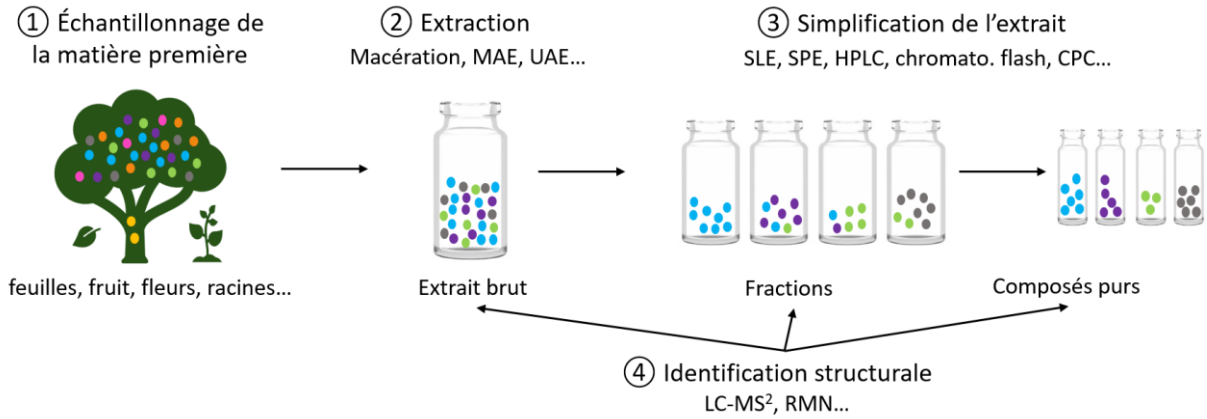


Figure 36 : Schéma de la méthodologie générale d'identification de composés en métabolomique

3.1.1. Échantillonnage

L'échantillonnage de la matière première et sa préparation en vue de l'extraction s'effectuent selon de bonnes pratiques indispensables, car la qualité de l'étude dépend directement de celle de la matière première (128). Ainsi, lors de la collecte des plantes sur le terrain, leur identification doit être certaine et vérifiée par un botaniste expert. Les données de collecte sont archivées à l'aide de photos et d'un herbier pour garantir leur authentification.

Pour assurer l'intégrité de la matière première, la présence de contaminants (terre, champignons, lichens) doit être évitée et éliminée autant que possible lors du traitement. La matière végétale est donc inspectée visuellement, triée, découpée et, si nécessaire, lavée. Par la suite, la présence d'eau est éliminée afin de protéger les végétaux d'éventuelles contaminations et de leur décomposition avant l'extraction. Les plantes sont donc rapidement lyophilisées ou séchées dans des conditions contrôlées (128). La température ne doit pas excéder 40 °C afin de ne pas dégrader les métabolites. Les plantes sont ensuite broyées si nécessaire.

Enfin, la matière première est conditionnée, étiquetée (en renseignant précisément le nom latin et vernaculaire, le lieu d'origine, le numéro de lot, le poids et la date), et stockée à l'abri de l'humidité (128).

3.1.2. Extraction

L'extraction consiste à séparer des métabolites de la fibre végétale et à les récupérer, généralement dans un solvant. Après des étapes de filtration et de séchage, l'extrait brut est obtenu. Les conditions sont optimisées selon trois principaux paramètres : le temps, la température et le type de solvant. La polarité du solvant influence le type de composés extraits. En fonction de l'approche, ciblée ou non, le solvant choisi est plus ou moins sélectif. La composition de l'extrait dépendra donc de la méthode appliquée et des solvants d'extraction.

L'extraction végétale est couramment pratiquée, par exemple lors de l'infusion de feuilles de thé ou de la préparation d'un café par percolation. Certains procédés sans solvant utilisent uniquement la force mécanique, comme l'extraction d'huile par pression à froid des fruits. En phytochimie, les extractions par macération, distillation ou au Soxhlet font partie des méthodes classiques. Par la suite, d'autres méthodes plus écologiques ont été développées, notamment par Farid Chemat, qui a défini le concept d'éco-extraction (129,130). Ces procédés d'extraction assistés par ultrasons (UAE), par micro-ondes (MAE) ou par CO_2 supercritique ont démontré leur efficacité, avec des rendements équivalents, voire supérieurs aux méthodes classiques (131). De plus, leur principal avantage est un temps d'extraction plus court, associé à une consommation d'énergie réduite. Le principe d'éco-extraction repose également sur le choix de solvants verts (biosourcés ou NADES), sur une sélection co-responsable des matières premières et sur l'utilisation et la gestion des co-produits (129,130).

Parmi les procédés connus, l'extraction assistée par ultrasons est particulièrement adaptée à une approche non ciblée. Cette méthode utilise des ultrasons inaudibles par l'être humain, dont la fréquence est supérieure à 20 kHz. Appliqués grâce à une sonde ou dans un bac, ils créent des microbulles de cavitation dans le solvant. Celles-ci grandissent jusqu'à devenir instables et implosent. Cette implosion propulse un jet d'une telle vitesse (360 km/h) sur la matière végétale, engendrant la rupture des parois cellulaires et la libération de leur contenu dans le solvant. Ce procédé présente également l'intérêt d'être transposable à l'échelle industrielle, avec des volumes allant jusqu'à 1000 L (132).

3.1.3. Simplification de l'extrait par chromatographie de partage centrifuge (CPC)

L'extrait brut, composé de centaines, voire de milliers de composés, est ensuite fractionné afin de simplifier la composition des échantillons et de faciliter leur analyse. Pour cela, des méthodes de pré-purification telles que l'extraction liquide-liquide en ampoule à décanter, l'utilisation d'un support solide inerte (SLE, composé de terre de diatomée), ou l'extraction sur phase solide (SPE) peuvent être utilisées. Par la suite, les méthodes modernes de

chromatographie préparative sont préférées pour le fractionnement des extraits et la purification des fractions afin d'obtenir des composés isolés (chromatographie en phase liquide sur colonne ouverte, HPLC, chromatographie flash, CPC) (133). Plus l'extrait brut est complexe, plus la procédure nécessite un nombre d'étapes important qui doivent être optimisées pour une séparation efficace.

- **Principe de la CPC**

La chromatographie de partage centrifuge est un procédé de séparation qui repose sur la distribution des analytes entre deux phases liquides non miscibles. La particularité de l'appareil CPC réside dans sa colonne en acier inoxydable constituée d'une superposition de disques découpés en cellules reliées par des canaux. Dans ces cellules, remplies de phase stationnaire et traversées par la phase mobile, s'effectuent les échanges de matière. Les cellules de type Twin-cells® sont les plus fréquemment employées. Composées de deux larges cellules séparées par une chicane, leur géométrie limite l'apparition de volumes morts et recentre l'écoulement de la phase mobile (134). Les canaux sont, eux, remplis par la phase mobile et permettent le flux de matière entre les cellules et d'un disque à l'autre. Des joints inter-disques isolent la colonne et mettent le système sous pression. Le tout est monté sur un rotor permettant une rotation autour d'un axe vertical (134) (**Figure 37**).

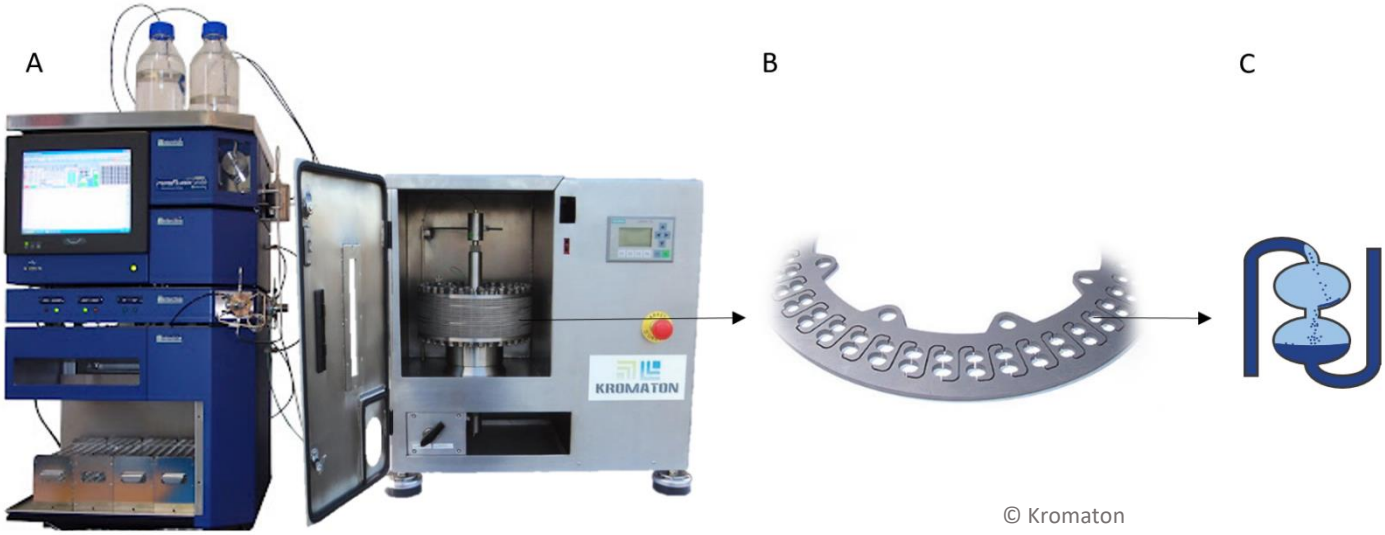


Figure 37 : Schéma d'un système CPC à différentes échelles
(A) Sur le module bleu, de haut en bas, sont disposés les solvants, la pompe, le dispositif d'injection et le collecteur. Dans le module gris, la colonne constituée d'une superposition de disques sur un rotor. (B) Un disque de la colonne composé de cellules gravées de type Twin-cells® et interconnectées par les canaux. (C) Schéma de Twin-cells® avec écoulement de la phase mobile en bleu foncé à travers la phase stationnaire en bleu clair.

Un système de CPC se compose d'une pompe permettant de faire circuler les solvants dans le système à un débit choisi. La phase stationnaire est d'abord introduite et maintenue dans la colonne grâce à la force centrifuge. Par la suite, l'ajout de la phase mobile induit une diminution du volume de phase stationnaire dans le système. À l'équilibre, le pourcentage de rétention est calculé et est satisfaisant s'il est compris entre 50 et 70 % (135). Ce paramètre

permet de vérifier que les conditions opératoires (débit et vitesse de rotation) offriront une bonne dispersion de l'écoulement et une bonne résolution. Selon la densité des deux phases, deux modes d'élution sont possibles (135):

- En mode descendant, la phase mobile traverse la colonne de haut en bas, car elle est plus dense que la phase stationnaire.
- En mode ascendant, la phase mobile est moins dense que la phase stationnaire et traverse la colonne de bas en haut.

L'échantillon à séparer est ensuite introduit via un injecteur. En fonction de leur coefficient de partage, les molécules s'échangent entre les phases et sont petit à petit éluées d'une cellule à une autre. Un détecteur UV permet un suivi de l'élution. Un collecteur récupère les composés séparés dans des tubes. En fin de manipulation, l'extrusion est effectuée. Cette étape consiste à inverser le mode d'élution afin de vider la colonne, ce qui permet de récupérer la phase stationnaire. L'ensemble des tubes collectés est ensuite regroupé après un contrôle par CCM.

- **Système biphasique et choix des solvants**

Afin d'optimiser la séparation des composés, le choix des solvants est essentiel. Les deux phases devant être non miscibles, le nombre de solvants utilisés varie de 2 à 5, voire plus. Néanmoins, l'association de deux solvants non miscibles est peu employée, car les possibilités sont limitées et les écarts de polarité sont moins favorables au partage des analytes. Les systèmes à plus de deux solvants sont préférés, car ils permettent d'ajuster la polarité. Ainsi, de nombreux systèmes de solvants sont décrits dans la littérature et précisent les proportions nécessaires pour obtenir un mélange biphasique (136).

Les systèmes à trois solvants sont représentés sous forme de diagramme de phase triangulaire (**Figure 38**). Les solvants utilisés sont nommés au sommet du triangle, tandis que les axes des abscisses et des ordonnées indiquent les proportions (en pourcentage) des deux premiers solvants. Par complémentarité, la proportion du troisième solvant peut être déduite. À l'intérieur du triangle, on distingue deux régions : la région monophasique, où les trois solvants sont parfaitement miscibles, et la région biphasique. Le diagramme offre ainsi une multitude de proportions possibles, avec des polarités variables, permettant de concevoir des systèmes de solvants biphasiques compatibles avec la CPC. Les zones mono- et biphasiques sont délimitées par la courbe binodale. Comme sa position dépend de la température, il est préférable de ne pas choisir des conditions de travail trop proches de cette limite (136).

À l'intérieur de la zone biphasique, des lignes de conjugaison sont tracées. Le long de ces lignes, les proportions varient, mais la composition des deux phases reste inchangée. Cela permet d'ajuster le volume de chaque phase sans affecter leurs propriétés physico-chimiques. En revanche, si ces propriétés (notamment la polarité) doivent être optimisées, il est nécessaire de changer de ligne.

Il existe plusieurs types de diagrammes :

- Type 1 : deux solvants non miscibles et un troisième miscible avec les deux premiers.
- Type 2 : deux solvants miscibles et un troisième non miscible avec les deux précédents.
- Type 0 : trois solvants miscibles par paires, mais pouvant former un système biphasique dans des proportions adéquates.

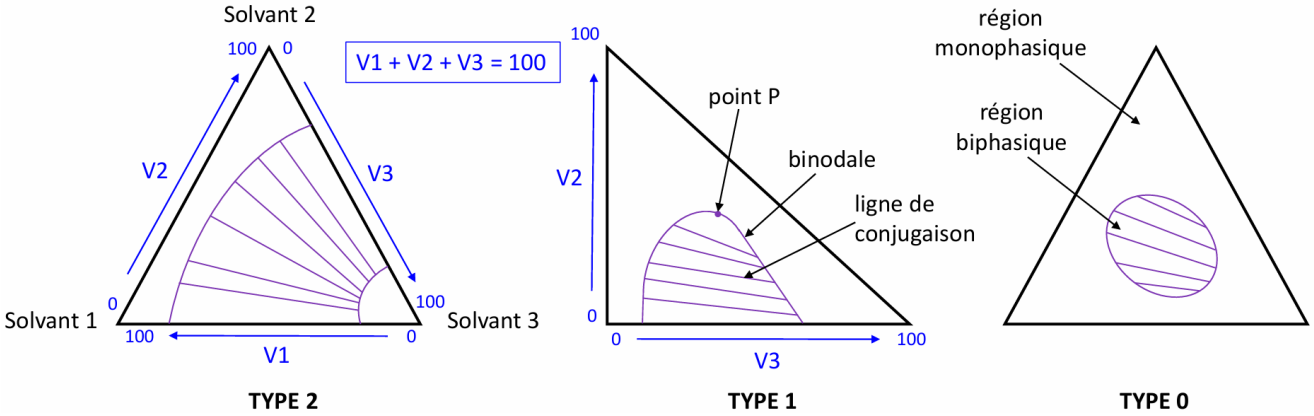


Figure 38 : Diagrammes de phase (136)

Les systèmes à quatre solvants sont largement utilisés, notamment les systèmes « Arizona » décrits par Margraff *et al*. Ils associent deux systèmes biphasiques binaires : l'heptane avec le méthanol et l'acétate d'éthyle avec l'eau. De nombreuses variantes, nommées de A à Z, couvrent une large gamme de polarités (136).

Pour sélectionner le système de solvants le plus adapté à un échantillon, des tests en piluliers sont réalisés. Les systèmes décrits dans la littérature peuvent être testés et ajustés. Par ailleurs, un système tertiaire peut être créé en choisissant un premier solvant dans lequel l'échantillon est entièrement soluble, puis deux solvants non miscibles de polarité supérieure et inférieure. Le premier solvant agit alors comme un co-solvant, facilitant la solubilisation de l'échantillon dans chaque phase en fonction de leur polarité. Le pourcentage de co-solvant peut être optimisé pour améliorer la répartition de l'échantillon entre les phases (136). Le coefficient de partage (K_D) peut également être calculé en effectuant le ratio des concentrations d'un composé d'intérêt entre les phases stationnaire et mobile. Il correspond au rapport des concentrations de l'analyte entre la phase stationnaire et la phase mobile. Ce coefficient doit se situer entre 0,2 et 10, une valeur proche de 1 étant préférable.

- **Intérêt de la CPC pour la caractérisation des mélanges**

Dans le but de caractériser les mélanges, la CPC permet de simplifier un extrait et de répartir les centaines de molécules qui le composent en fractions dont le nombre varie entre 10 et 20 selon la complexité de l'échantillon initial. Cette méthode de fractionnement a été préférée, car elle présente de nombreux avantages parmi lesquels :

- Un rendement théorique de 100 % : la phase stationnaire liquide permet une récupération intégrale de l'échantillon.
- Une absence de contamination croisée, étant donné que les composés ne sont pas absorbés et désorbés d'une phase solide (135).
- Aucune dénaturation des molécules fragiles par interaction avec un support solide.
- Un possible retour à l'échantillon initial, à l'identique, par récupération de la phase stationnaire et réunion des fractions.
- Une capacité de colonne de quelques mL à plusieurs L permettant une transposition possible de l'échelle du laboratoire à l'échelle industrielle (134).
- Une capacité de charge importante, 2 à 10 fois plus importante qu'en HPLC, permettant l'injection de quelques mg à plusieurs kg d'échantillons (135).

Par la suite, les fractions CPC simplifiées pourront être analysées à la fois en LC-MS^2, permettant la construction de réseaux moléculaires et l'annotation des composés, et en RMN pour l'identification de composés grâce à la procédure CaraMel.

3.1.4. Identification structurale

À la suite de chaque étape d'extraction, de fractionnement et de purification, les échantillons peuvent être analysés pour en déterminer la composition. Cette composition chimique décrite n'est pas exhaustive. Elle est plus ou moins représentative de la « composition réelle » de la plante, étant donné la multitude de paramètres qui l'influencent, notamment les solvants d'extraction ainsi que les méthodes séparatives et analytiques utilisées. Parmi les méthodes analytiques permettant l'identification structurale, la spectrométrie de masse (MS) et la RMN sont particulièrement employées (126).

- **LC-MS^2**

L'analyse d'un extrait s'effectue en utilisant une technique séparative, telle que la chromatographie liquide (LC), en amont du spectromètre de masse (MS) (**figure 39**). Chaque composé a un temps d'élution plus ou moins long en fonction de son affinité pour la phase stationnaire (colonne) et la phase mobile (solvant). Ainsi, la séparation s'opère et la résolution peut être optimisée en fonction du type de colonne utilisée (par exemple, phase normale ou phase inverse), des solvants choisis, et de la méthode d'élution (isocratique ou en gradient). Les composés étant séparés selon leurs propriétés physico-chimiques, comme leur polarité, leur ordre d'élution fournit des informations supplémentaires sur leur nature.

Cette séparation simplifie donc les échantillons complexes et améliore la détection des composés présents en faibles quantités (133).

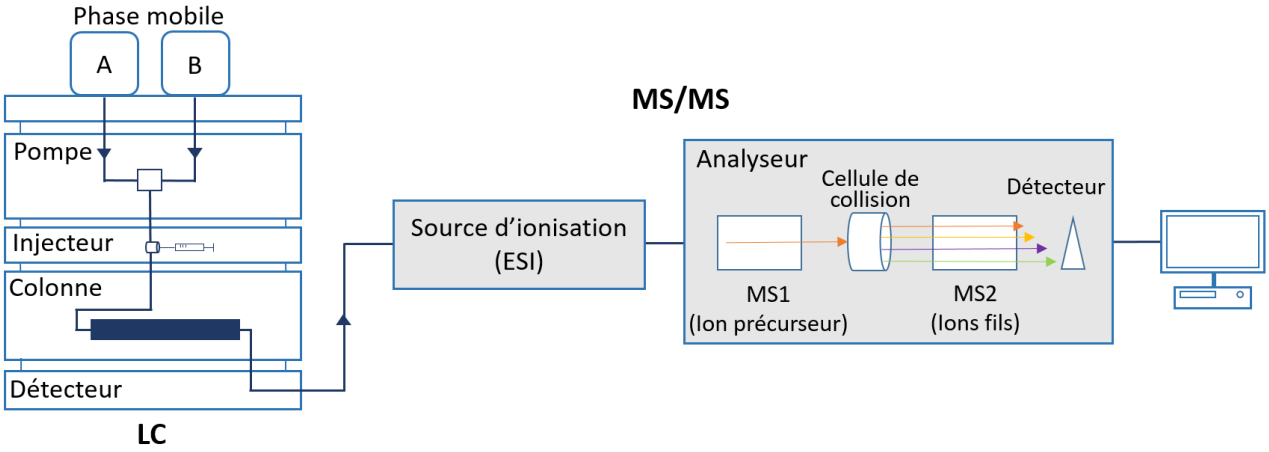


Figure 39 : Schéma des principales composantes d'un système LC-MS²

La spectrométrie de masse est une technique analytique permettant de recueillir les données de masse des composés et de les identifier. Pour cela, le spectromètre est composé d'une source d'ionisation, qui convertit les molécules de l'échantillon en ions à l'état gazeux. Suivant la source d'ionisation utilisée (électronique, chimique, électrospray, par bombardement d'atomes rapides) en mode positif ou négatif, l'ion moléculaire peut être formé par addition d'un ion (H^+, Na^+, NH_4^+). L'ion moléculaire peut également être fragmenté en ions fils suivant des mécanismes de fragmentation spécifiques à chaque type de structures moléculaires.

Grâce à une pompe à vide et un système de lentilles, ces ions sont accélérés et focalisés avant de traverser un analyseur. Celui-ci les sépare en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z) à l'aide d'un champ électromagnétique. Le détecteur décompte les ions et leurs abondances relatives pour envoyer les signaux correspondants à l'enregistreur (ordinateur). Celui-ci est équipé d'un logiciel d'acquisition qui permet d'enregistrer et de visualiser les spectres de masse ainsi que de traiter les données. La capacité d'ionisation des composés est variable et proportionnelle à l'intensité mesurée des ions. Cette intensité est donc peu représentative de l'abondance réelle du composé dans l'échantillon (133).

Deux spectromètres de masse à haute résolution placés en tandem permettent de générer des données analytiques offrant des informations structurales. En MS^1, à l'issue d'un premier processus de fragmentation, les ions précurseurs sont détectés et génèrent un premier spectre. Ces ions précurseurs peuvent ensuite être fragmentés à nouveau en traversant une cellule de collision. Les ions fils générés produisent un spectre MS^2 plus détaillé renseignant sur le schéma de fragmentation (**Figure 40**). La structure d'un composé influence sa fragmentation, ainsi des molécules partageant des motifs structuraux communs produisent des spectres similaires. Si le spectre MS^2 est suffisamment riche, il peut, en complément de la formule brute de l'ion, permettre de déterminer la classe chimique du composé, voire d'identifier sa structure. Néanmoins, cette méthode d'identification présente certaines limites, notamment liées aux structures spatiales, telles que la stéréochimie, l'isomérie et

l'énantiomérie. Les mécanismes de rupture des liaisons chimiques peuvent également être expliqués en analysant les spectres de fragmentation associés.

La quantité d'informations obtenue peut être optimisée grâce à l'utilisation de modes d'acquisition automatiques. Dans cette étude, l'acquisition dépendante des données (DDA) a été choisie. Ce mode opère en surveillant l'intensité des ions détectés dans le spectre MS^1. Dès qu'un ion précurseur dépasse un seuil prédéfini, le spectromètre passe automatiquement au mode MS^2 pour fragmenter les ions. Seuls les N ions ayant l'intensité la plus élevée dans le spectre MS^1 sont analysés en mode MS^2 (137).

Bien que la spectrométrie de masse soit une technique destructive, elle nécessite une quantité minime d'échantillons (de l'ordre du micromolaire) pour chaque analyse. Sa grande sensibilité en fait une méthode de choix pour les investigations métabolomiques, malgré les limites évoquées et une robustesse inférieure à celle de la RMN. Cette dernière reste plus fiable et cohérente dans des conditions variables ou en présence de perturbations potentielles (138).

Actuellement, la LC-MS est la technique la plus courante pour le profilage non ciblé de mélanges complexes, car elle permet de détecter des centaines à des milliers de molécules en une seule analyse. De plus, les données de fragmentation MS^2 peuvent être collectées simultanément pour identifier ces composés selon la richesse des banques de données (137).

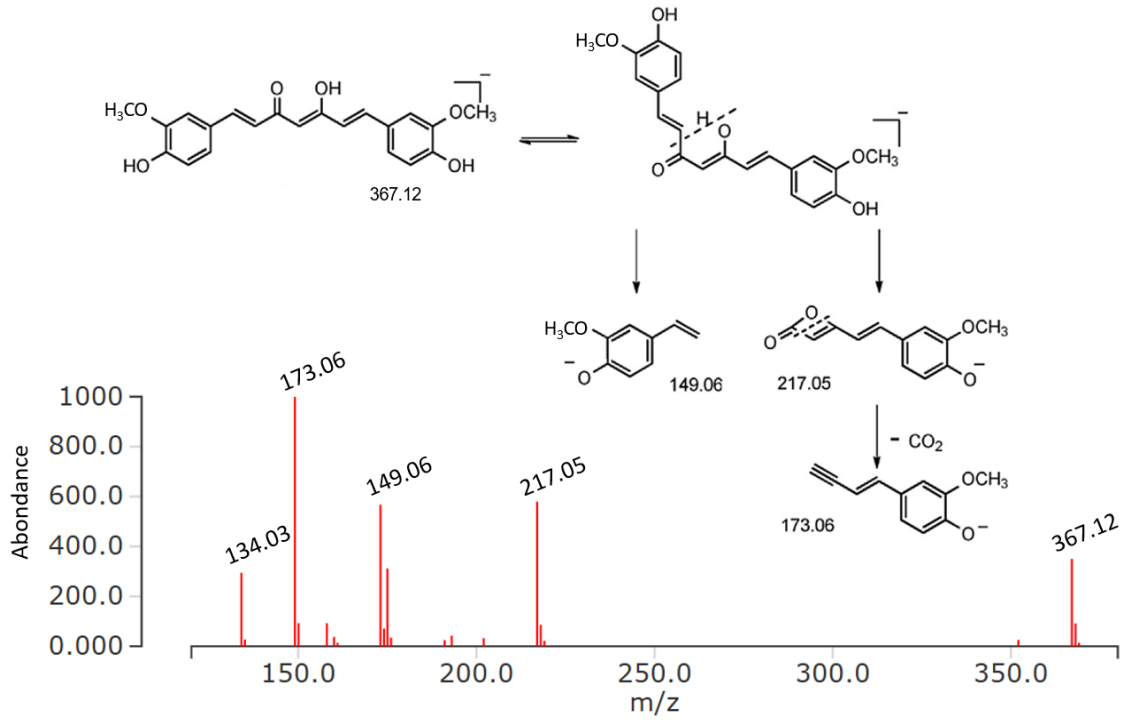


Figure 40 : Spectre MS^2 (139) et schéma de fragmentation (99) de la curcumine sous sa forme énol en ionisation négative

- **RMN**

La spectroscopie de Résonance magnétique nucléaire (RMN) est utilisée pour déterminer sans ambigüité la structure chimique des molécules organiques par l'analyse spectrale. Elle fournit des informations sur l'environnement structural des noyaux des atomes d'une molécule. Pour

ce faire, un champ magnétique externe statique (B_0) est appliqué, interagissant avec les noyaux atomiques ayant un spin non nul, comparables à de petits aimants. Ces noyaux alignent leurs spins parallèlement ou antiparallèlement au champ. Lorsqu'une onde radiofréquence est appliquée à la fréquence de Larmor ($\omega_0 = \gamma B_0$), où γ est le rapport gyromagnétique du noyau, les noyaux absorbent l'énergie et passent à un état excité. La relaxation des noyaux vers leur état fondamental génère un signal détecté par l'antenne du spectromètre RMN. Ce signal est traité numériquement par transformation de Fourier pour produire des spectres RMN (133).

Les appareils de RMN sont classés en fonction de la fréquence de résonance du noyau ^{1}H. Afin d'obtenir une haute résolution et une bonne sensibilité, cette fréquence est généralement comprise entre 500 et 800 MHz pour les études métabolomiques, mais elle peut atteindre aujourd'hui 1,2 GHz (133).

Les spectres RMN à une dimension (1D), tels que ceux du proton (^{1}H) et du carbone (^{13}C), sont utilisés pour obtenir des informations fondamentales. Les déplacements chimiques (δ) dépendent de l'environnement chimique de chaque type de noyau observé, permettant d'identifier les types de liaisons, les hybridations (sp^3, sp^2, sp) et les groupes fonctionnels présents (**Figure 41**). Les couplages scalaires (doublets, triplets) traduisent des interactions entre noyaux voisins. Les constantes de couplage (*J*) sont dues aux interactions entre protons voisins, et fournissent des indices sur la connectivité moléculaire et la géométrie spatiale. L'intégration des signaux (aires relatives) permet de dénombrer les différents types de noyaux isochrones par leur proportionnalité relative au nombre total de noyaux présents. La résolution et la finesse des signaux ^{13}C sont nettement meilleures que celles des signaux ^{1}H.

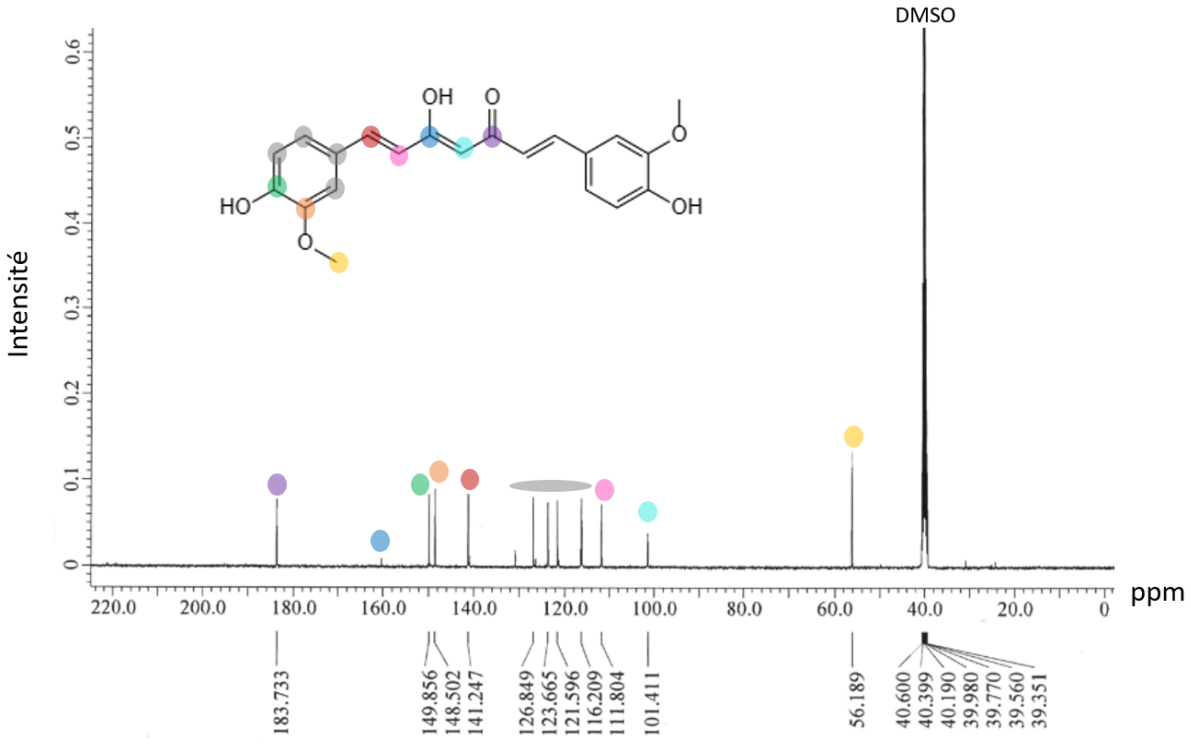


Figure 41 : Spectre ^{13}C de la curcumine

Les expériences de RMN à deux dimensions (2D) complètent les spectres 1D en offrant des informations sur les corrélations entre différents noyaux. Parmi les plus utilisées, on retrouve l'expérience COSY (*COrrelation SpectroscopY*), qui met en évidence les couplages homonucléaires entre protons voisins. L'expérience HSQC (*Heteronuclear Single-Quantum Correlation*) qui met en évidence les couplages directs entre ^{1}H et ^{13}C, offre une cartographie des atomes liés. L'expérience HMBC (*Heteronuclear Multiple-Bond Correlation*) permet de visualiser les couplages à longue distance (^{2}J à ^{4}J), essentiels pour établir des relations structurelles à travers plusieurs liaisons.

- **Complémentarité MS et RMN**

Les méthodes spectroscopiques MS et RMN présentent chacune ses avantages, mais aussi des inconvénients. La RMN est particulièrement prisée dans les études phytochimiques pour ses capacités à déterminer la structure complète des composés organiques sans altérer les échantillons. La RMN se distingue par sa robustesse et sa reproductibilité, rendant possible la comparaison des données entre laboratoires. Elle est également idéale pour quantifier les métabolites présents dans un échantillon. Néanmoins, lors d'analyses d'échantillons trop complexes, la RMN ne permet d'identifier que les composés majoritaires (138).
À l'inverse, la MS, grâce à une sensibilité élevée, peut détecter les analytes en faibles concentrations, permettant ainsi une description plus exhaustive des échantillons complexes. Cependant, seuls les composés ionisables sont détectés, et la robustesse de cette technique est moindre. Par ailleurs, les résultats analytiques obtenus dépendent fortement de la richesse des banques de données spectrales disponibles.
La spectrométrie RMN ou de masse, à elles seules, permettent difficilement d'explorer entièrement le métabolome d'un échantillon. Ces deux techniques sont complémentaires à travers leurs différences de propriétés (sensibilité, robustesse) et les types de composés détectés par chacune (138). Ainsi, l'association de ces deux techniques permet de maximiser le nombre de composés décrits tout en améliorant le niveau de confiance de leurs identifications. Une classification a été établie par Schymanski *et al*., définissant différents niveaux de confiance d'identification des composés (140):

- Niveau 0 : Niveau de confiance le plus élevé, correspondant à l'identification absolue d'un composé, c'est-à-dire à l'attribution sans ambiguïté d'une structure 3D incluant la stéréochimie. Cela requiert l'isolement du composé et son analyse par rayons X, dichroïsme circulaire ou polarimétrie (α_D).
- Niveau 1 : Métabolite identifié, avec une structure bidimensionnelle confirmée par deux méthodes différentes, comme la LC-MS et la RMN, et comparée à un standard.
- Niveau 2 : Métabolite annoté dont la structure probable correspond aux données de la littérature ou à une base de données.
- Niveau 3 : Annotation d'une famille chimique à partir de données spectrales ou physicochimiques, pouvant correspondre à plusieurs candidats probables (plusieurs isomères possibles).
- Niveau 4 : Métabolite inconnu pour lequel seules la formule brute et la masse exacte ont pu être renseignées.

Le niveau de confiance le plus élevé ne peut être atteint qu'après un processus chronophage de fractionnement et de purification, souvent fastidieux et coûteux. Ce processus doit donc être appliqué de préférence à la caractérisation de composés nouveaux. En revanche, la combinaison de la MS et de la RMN permet la caractérisation de mélanges complexes avec un niveau de confiance élevé, tout en couvrant largement le métabolome.

3.2. Déréplication et caractérisations des mélanges

Les méthodes de déréplication ont été développées afin d'identifier rapidement les composés connus au sein d'un mélange complexe. Ces méthodes, utilisées dans un premier temps, permettent ensuite de prioriser l'identification des métabolites d'intérêt dans ce mélange. La déréplication permet ainsi d'éviter de ré-isoler et de ré-identifier des composés déjà connus, offrant ainsi un gain considérable de temps et d'argent (127).

Pour ce faire, le processus de déréplication suivant consiste à simplifier les extraits par chromatographie de partage centrifuge puis les fractions résultantes sont ensuite analysées par LC-MS² et RMN. Après un traitement des données, celles issues de la LC-MS² permettent de générer des réseaux moléculaires, tandis que celles issues de la RMN permettent d'établir des cartes de chaleur selon la procédure CaraMel. Enfin, les composés connus sont annotés et identifiés grâce à diverses bases de données. Les résultats obtenus selon ces deux méthodes sont confrontés (**Figure 42**).

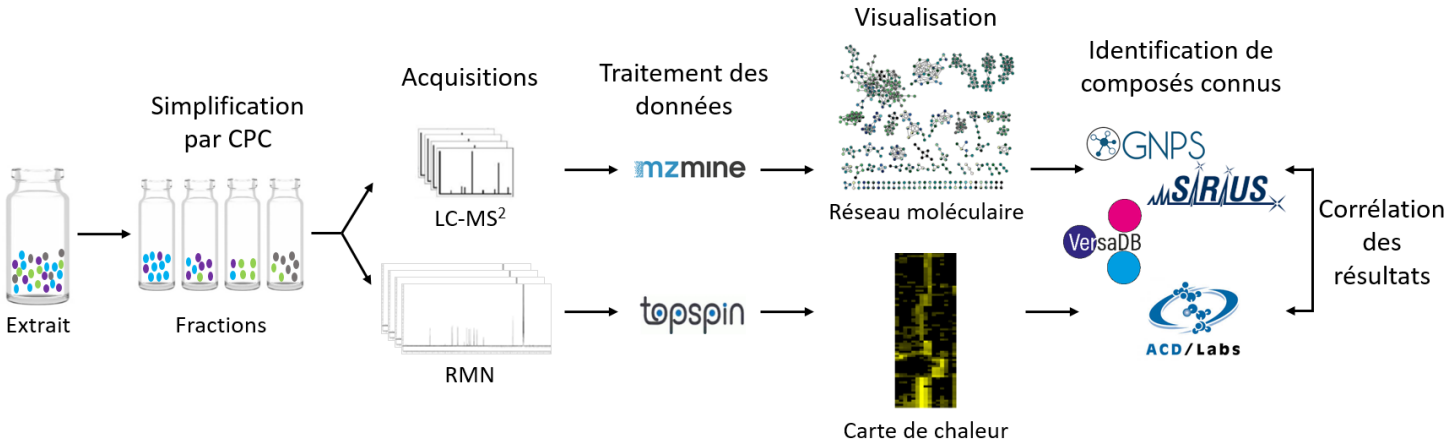


Figure 42 : Schéma général du processus de déréplication associant les réseaux moléculaires (analyses LC-MS²) à la procédure CaraMel (analyses RMN)

3.2.1. Réseaux moléculaires

La méthodologie des Réseaux Moléculaires ou « Molecular Networking » est une technique de déréplication employée pour investiguer le contenu moléculaire, notamment au sein d'échantillons végétaux (141). Elle utilise les données issues de la spectrométrie de masse en tandem, qui sont organisées afin d'offrir une vision d'ensemble du métabolome. En s'inspirant de l'astronomie, les réseaux sont constitués de « constellations » d'ions, aussi appelées clusters, où chaque ion est représenté par une perle (ou *node*) et associé à un spectre de fragmentation MS² (**Figure 43**). Ces ions sont reliés en fonction de leur similarité spectrale, qui est déterminée par un algorithme calculant un cosine score. Sachant que le mode de

fragmentation d'une molécule en MS^2 est dépendant de sa structure, deux molécules de structures similaires auront donc des spectres de fragmentation similaires. Ainsi, les clusters sont assimilables à une famille moléculaire (141). Dans un premier temps, une comparaison est effectuée avec les bases de données spectrales expérimentales afin d'identifier rapidement les composés connus. Ces composés présents au sein de clusters facilitent ainsi l'annotation de leurs voisins dont la structure est proche. Dans un second temps, l'étude de certains clusters peut être priorisée. L'absence de correspondance avec les bases de données peut être synonyme de nouveauté ou d'originalité structurale. Cette représentation sous forme de réseaux présente également l'avantage de pouvoir cumuler visuellement des informations. La taille des *nodes* peut renseigner sur l'abondance relative des ions. La structure des ions annotés peut être affichée sur les *nodes*. On peut associer la forme ou la couleur des *nodes* aux propriétés des molécules étudiées, telles que l'activité biologique, la taxonomie ou le type d'échantillons. Ainsi, une cartographie pourrait être établie, permettant de cibler l'étude de composés d'intérêt.

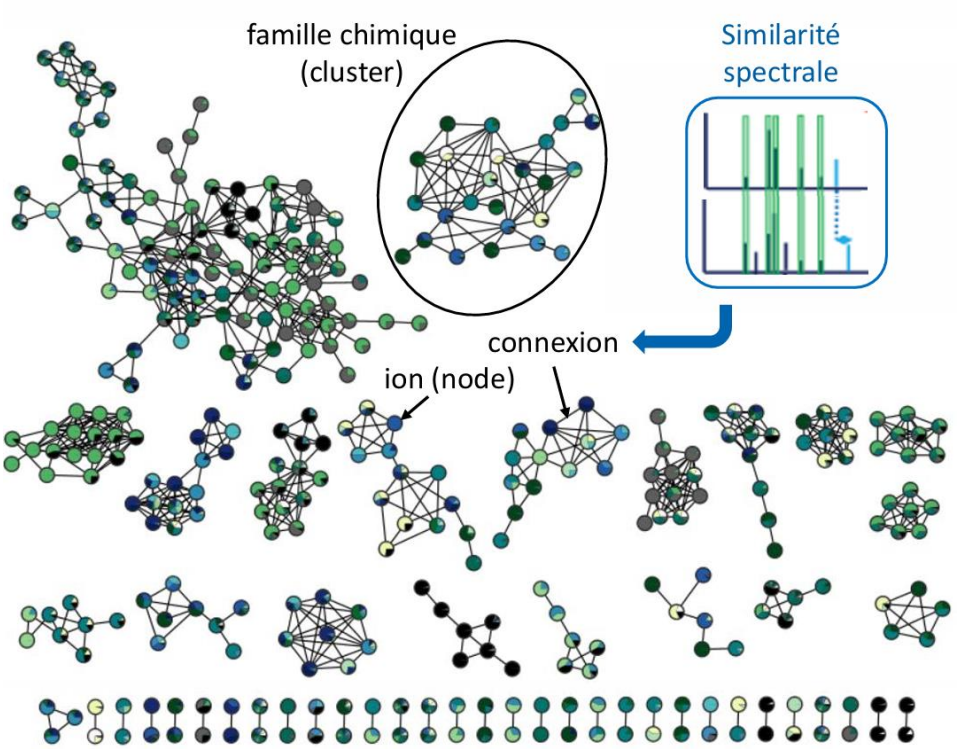


Figure 43 : Réseau moléculaire
Comparaison spectrale permettant la connexion entre des ions similaires pour la formation de cluster de famille chimique

- **Traitement des données MS^2**

L'étude des réseaux moléculaires est précédée par le traitement des données issues des analyses LC-MS^2. L'objectif est de transformer les données spectrales brutes en une liste d'ions détectés, d'estimer leur abondance et de débuter l'annotation chimique. Pour cela, le logiciel MZmine est l'un des outils les plus populaires (137). Après avoir importé les données sur cette plateforme, un seuil d'intensité est défini pour éliminer le bruit de fond. Des

chromatogrammes sont construits et lissés pour ensuite optimiser la résolution des pics chromatographiques. Les isotopes ^{13}C sont retirés. Les données ont alors été alignées pour corriger les variations de masses ou de temps de rétention. Diverses étapes de filtrage permettent de supprimer les doublons, de retirer les signaux associés aux échantillons de contrôle (blanc). Et des étapes optionnelles permettent de préparer l'annotation, par exemple en annotant les adduits ($[M+H]^+$, $[M+Na]^+$, $[M-H_2O]^-$). Les données quantitatives et qualitatives sont finalement exportées pour permettre la construction et l'annotation de réseaux.

- **Construction et visualisation de réseaux**

À partir des fichiers exportés depuis MZmine, les réseaux moléculaires peuvent être générés en prenant en compte la similarité entre deux spectres de fragmentation MS^2. La formation des clusters est déterminée par un algorithme calculant un paramètre appelé *cosine score*, qui correspond au degré de ressemblance des spectres MS^2 des molécules. Il est compris entre 0, pour deux spectres sans aucune similitude, et 1, pour des spectres identiques. Ainsi, un seuil est fixé arbitrairement, entre 0,5 et 0,7, afin de déterminer si les ions sont assez semblables pour être reliés.

La plateforme *Global Natural Products Social Molecular Networking* (GNPS) est la plus utilisée pour l'élaboration des réseaux moléculaires. Elle permet de réaliser un *Feature-Based Molecular Networking* (FBMN) pour construire un réseau moléculaire non uniquement basé sur la similarité spectrale, mais prenant également en compte les informations de détection telles que le temps de rétention et l'aire des pics (141). De plus, elle dispose d'une vaste base de données spectrales expérimentales, enrichie par les utilisateurs. Les réseaux obtenus sont donc directement annotés.

Le logiciel MetGem offre également la possibilité de construire des réseaux moléculaires à travers deux types de représentations. La première repose sur un calcul classique du cosine score. La seconde utilise l'algorithme t-SNE (*t-distributed stochastic neighbor embedding*), qui vise à rapprocher les *features* possédant des similarités (142). Ainsi, le t-SNE met en évidence les relations entre différentes familles moléculaires, y compris celles qui ne sont pas connectées dans les réseaux moléculaires classiques. Cette approche enrichit la compréhension des relations structurelles et fonctionnelles au sein des ensembles de données spectrales. MetGem propose également une comparaison des bases de données, dont GNPS, pour une annotation automatisée du réseau.

L'ensemble des données qualitatives et quantitatives issues de GNPS ou MetGem peut être exporté sur une plateforme permettant de visualiser et de remodeler les réseaux moléculaires. Pour cela, le logiciel Cytoscape est très employé. Selon les objectifs de l'étude, il est possible d'adapter la taille des *nodes* en fonction de l'abondance des ions. On peut varier la couleur des *nodes* afin de représenter divers types d'échantillons (*pie chart*).

- **Annotation**

L'annotation est effectuée grâce à trois outils : les bases de données spectrales expérimentales, les bases de données *in silico* et les logiciels d'annotation *de novo*.

L'annotation est menée d'abord de manière automatisée via GNPS ou MetGem pour obtenir les premières données. Ces premiers résultats sont ensuite vérifiés et complétés manuellement. D'autres bases de données expérimentales, telles que MassBank, peuvent être consultées. Cependant, l'usage de ces bases de données présente quelques limites. Les spectres MS renseignés dans les bases de données pour un même composé varient, car ils dépendent de l'appareil, des paramètres et des conditions d'acquisition. Aussi, ces bases de données ne sont pas exhaustives. Certains composés, tels que les flavonoïdes, sont très documentés, tandis que de nombreuses classes chimiques sont, à l'inverse, peu représentées. Ainsi, l'exploitation de ces bases de données permet finalement d'annoter seulement quelques composés parmi les plus communs.

Pour compléter l'annotation, des bases de données *in silico* ont été développées, permettant la prédiction des spectres. La plateforme en ligne *Competitive Fragmentation Modeling for Metabolite Identification* (CFM-ID) fonctionne par apprentissage automatique à partir de données expérimentales pour déterminer un modèle de fragmentation probable. En fonction du mode d'ionisation (positif ou négatif) choisi, la fragmentation des composés est prédite, générant ainsi des spectres MS^2 théoriques selon trois niveaux d'énergies différents. Cette méthode élargit considérablement les capacités d'annotation dans un contexte où les spectres expérimentaux sont rares. Néanmoins, les concordances entre spectres prédits et expérimentaux doivent être interprétées avec précaution, notamment en raison des différences dans les paramètres d'acquisition.

L'annotation *de novo* consiste à proposer des structures de composés à partir des spectres MS^2, sans s'appuyer sur des bases de données. Le logiciel SIRIUS, dont le développement a débuté en 2005, se concentre principalement sur l'élucidation de la structure de nouvelles molécules, mais il est également adapté à la déréplication de structures connues. Il comporte cinq modules qui permettent, en plus de l'annotation de novo de composés (MSNovelist), d'identifier leur formule brute (ZODIAC), de prédire leur empreinte moléculaire (*fingerprint*), de déterminer leur classe chimique (CANOPUS) et de rechercher les structures dans les bases de données (CSI:FingerID) (143).

Cet outil élargit les capacités d'annotation en couvrant des composés non référencés et des classes chimiques absentes des bases de données. Toutefois, la fiabilité des annotations dépend de la qualité des spectres expérimentaux, des modèles prédictifs et des ontologies disponibles.

3.2.2. La procédure CaraMel (Caractérisation des Mélanges)

Cette méthode de caractérisation des mélanges repose sur l'étude des spectres RMN du ^{13}C et peut être décrite en plusieurs étapes (144):

- Création de fractions chimiquement simplifiées par CPC
- Analyses par RMN (1D et 2D) des fractions et traitement des spectres ^{13}C sur TopSpin
- Alignement des données spectrales via un algorithme en Python
- Classification hiérarchique ascendante et création de cartes de chaleurs
- Identification de composé ou classe chimique par comparaison des données avec les bases de données.
- Analyse des spectres 1D et 2D pour confirmer l'identification

Pour commencer, l'étude de composés en mélange par RMN nécessite de simplifier les extraits qui contiennent des centaines de molécules. Pour cela, le fractionnement par CPC a été choisi, car il présente de nombreux avantages (Cf. I. 3.1.3.). Le but est d'obtenir une quinzaine de fractions chimiquement simplifiées. Cette étape est primordiale, car elle conditionne la suite de la procédure. Le choix du système de solvant doit donc être fait soigneusement pour que les fractions résultantes présentent une bonne répartition des métabolites.

Ensuite, les analyses par RMN des fractions sont effectuées en une dimension (^{1}H et ^{13}C) et en deux dimensions (COSY, HSQC, HMBC). La suite de la procédure CaraMel se concentre sur les données RMN du ^{13}C, tandis que les autres spectres permettront de valider les identifications *a posteriori*. En effet, le spectre ^{13}C, de par son amplitude allant jusqu'à plus de 200 ppm, a été préféré, car il limite le chevauchement de signaux des composés en mélange au sein d'une fraction et donc la perte d'information. De plus, les déplacements chimiques des carbones sont très sensibles à leur environnement et permettent de détecter des modifications minimes de la structure de la molécule. La résolution et la finesse des signaux ^{13}C sont par conséquent nettement meilleures que pour les signaux ^{1}H.

- **Traitement des données RMN**

Le traitement des données RMN du ^{13}C, effectué sur TopSpin, a pour but de phaser, calibrer les spectres et de sélectionner les signaux (pics) sans prendre en compte le bruit de fond. Par la suite, un script codé en langage Python est utilisé afin de regrouper ces listes en une seule et procéder à l'alignement des données dans un tableau. Celui-ci indique, dans la première colonne, les déplacements chimiques. Les colonnes suivantes correspondent aux fractions de 1 à n, et indiquent pour chaque déplacement chimique, la présence ou l'absence de signal en renseignant son intensité. En l'absence de signal, la valeur d'intensité est assimilée à « 0,00 ». Étant donné que de faibles variations de déplacement chimique peuvent avoir lieu pour les carbones d'un même composé présent dans plusieurs fractions, les valeurs similaires ont besoin d'être regroupées (145). Pour cela, l'algorithme renseigne dans un premier temps toutes les valeurs de déplacement chimique de 0 à 240 ppm, en les espaçant de 0,2 ppm. Ainsi, le spectre est découpé en fenêtres d'intervalles réguliers. Dans un second temps, les intensités

des signaux sont reportées pour chaque fraction, en effectuant une somme lorsque plusieurs signaux sont présents dans un intervalle. Enfin, une dernière étape consiste à retirer les lignes ne contenant que des « 0,00 », donc supprimer les déplacements chimiques pour lesquels aucun signal n'a été détecté dans les fractions (145).

- **Visualisation de cartes de chaleur**

Le logiciel PermutMatrix permet ensuite de réorganiser des données, afin de regrouper les déplacements chimiques qui appartiennent à la même molécule et de les visualiser sous forme de carte de chaleur. Pour cela, un traitement statistique par classification hiérarchique ascendante est appliqué. Il permet de réorganiser les données selon deux principes, les niveaux d'intensité similaires au sein d'une fraction et la variation d'intensité entre fractions (**Figure 44**). (i) En effet, dans un spectre ^{13}C contenant un mélange de composés, les déplacements chimiques ayant une intensité similaire peuvent être attribués *a priori* à un même composé. Néanmoins, le mélange pouvant être complexe, il peut être difficile d'attribuer les signaux en se basant sur ce principe uniquement. (ii) Le second principe permet donc de préciser l'attribution en se basant sur le comportement chromatographique des signaux. En effet, pour un composé présent dans plusieurs fractions successives, une variation d'intensité est observée. Elle reflète l'abondance graduelle du composé dans les fractions et est directement liée à l'élution du composé en CPC (144,145).

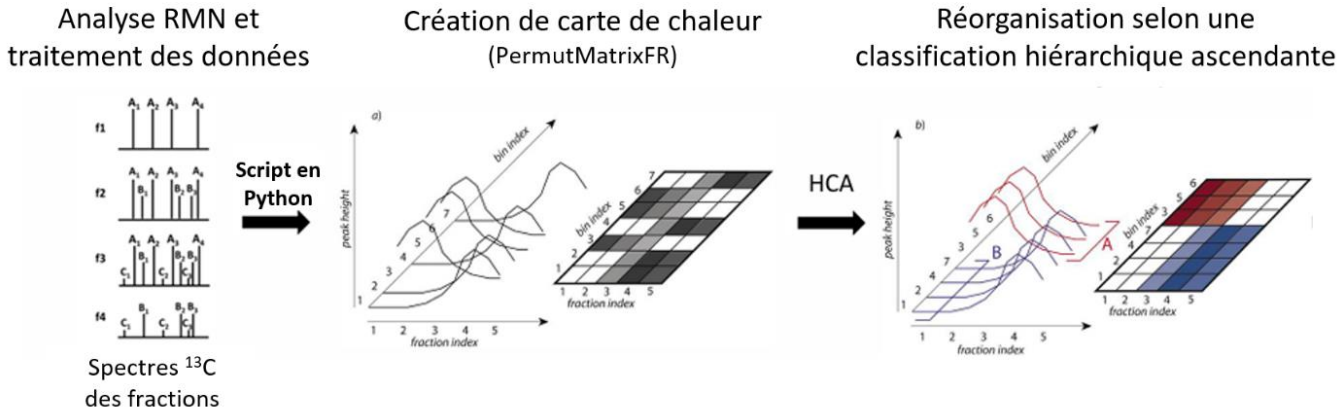


Figure 44 : Schéma des étapes de la procédure CaraMel (145)

Les données sont alors visualisées sous forme de carte de chaleur qui représente en colonnes les fractions et en lignes les déplacements chimiques (**Figure 45**). La présence d'un déplacement chimique dans une fraction est représentée par une case de couleurs, avec une intensité de couleur proportionnelle à l'intensité du signal. Visuellement, il est donc possible d'observer au sein de fractions adjacentes des clusters de déplacement chimique correspondant à un ou plusieurs composés.

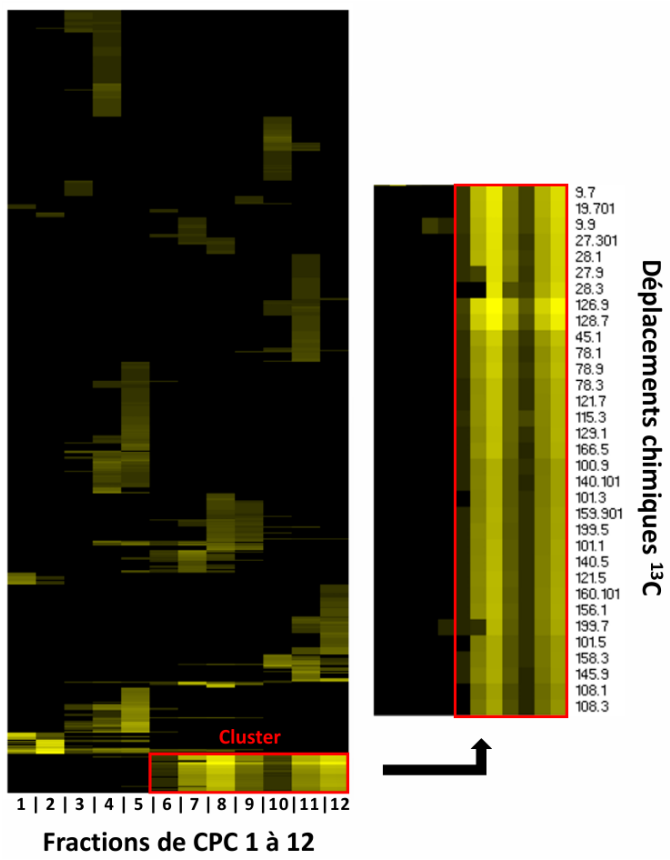


Figure 45 : Carte de chaleur

Réorganisation de données RMN de ^{13}C des fractions de CPC pour la mise en évidence de clusters facilitant l'identification structurale

- **Identification structurale**

Cette méthode de déréplication permet ensuite de rechercher dans les bases de données les déplacements chimiques d'un cluster pour l'identification rapide de la classe chimique ou du composé s'il est connu. L'utilisation du logiciel ACD/Labs permet également de simuler les spectres RMN 1D de composés.

La méthode CaraMel permet donc de prioriser l'étude de certaines fractions ou clusters présentant des composés d'intérêt (originaux, ou sans correspondance dans les bases de données donc potentiellement nouveaux). Elle rend possible la détermination structurale de composés majoritaires en mélange sans étapes de purification préalable. Néanmoins, le regroupement des signaux en cluster ne contient pas toujours avec exactitude tous les déplacements chimiques d'un composé. Certaines erreurs peuvent être dues à la présence de carbones quaternaires qui ont une faible intensité et un rapport signal sur bruit plus bas. Aussi,

le regroupement des pics en fenêtre de 0,2 ppm n'est pas toujours optimal et peut avoir un impact sur la carte de chaleur. C'est pourquoi il est toujours nécessaire d'analyser les spectres 1D et 2D pour confirmer l'identification des composés. De plus, comme cela était aussi le cas pour la MS, l'utilisation de base de données présente des limites, notamment en termes d'exhaustivité.

Dans ce contexte, l'application VersaDB conçue par Cordonnier *et al*. a été développée afin de pallier les limites des bases de données existantes, comme leur caractère non exhaustif ou l'absence de données spectrales complètes. L'application propose la création automatisée de bases de données constituées de spectres MS ou RMN prédits et personnalisées selon des critères taxonomiques et/ou chimiques. Elle utilise pour cela les structures renseignées par le site « Lotus natural products » et les outils de prédiction CFM-ID (MS^2) et nmrshiftdb2 (RMN) (146). VersaBD facilite donc la comparaison des données expérimentales avec les données simulées pour enrichir les annotations. Pour cela, les spectres MS^2 prédits peuvent être importés dans Sirus ou MetGem et les spectres RMN du ^{13}C prédits dans ACD/Labs.

3.3. Relation composition chimique et activité biologique

Dans cette caractérisation des mélanges, les composés identifiés ou annotés ne sont pas purifiés, ce qui ne permet donc pas d'évaluer directement l'activité. Ainsi, plusieurs méthodes peuvent être employées afin d'expliquer les propriétés biologiques des échantillons au regard de leur composition : le couplage de l'analyse HPLC au test DPPH et la cartographie de l'activité biologique sur les réseaux moléculaires.

3.3.1. Couplage HPLC-DPPH

Cette technique est un couplage en ligne d'un système HPLC au test DPPH (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle) qui permet de visualiser les composés actifs présents dans l'échantillon analysé. Elle a été appliquée et optimisée par Breaud *et al*. en se basant sur la méthode développée par Koleva *et al*. (147,148). Ce couplage comporte donc un système HPLC classique permettant la séparation et la détection à 325 nm des métabolites présents dans l'échantillon analysé (**Figure 46**). Ces composés entrent ensuite en réaction avec la solution de DPPH (de couleur violette) dans une boucle. La détection à 515 nm permet ensuite de distinguer les composés ayant permis de réduire le DPPH en DPPH-H (de couleur jaune pâle). Les échantillons sont également analysés en LC-MS^2 hors ligne, en utilisant une méthode d'élution identique, afin d'identifier la nature des composés actifs.

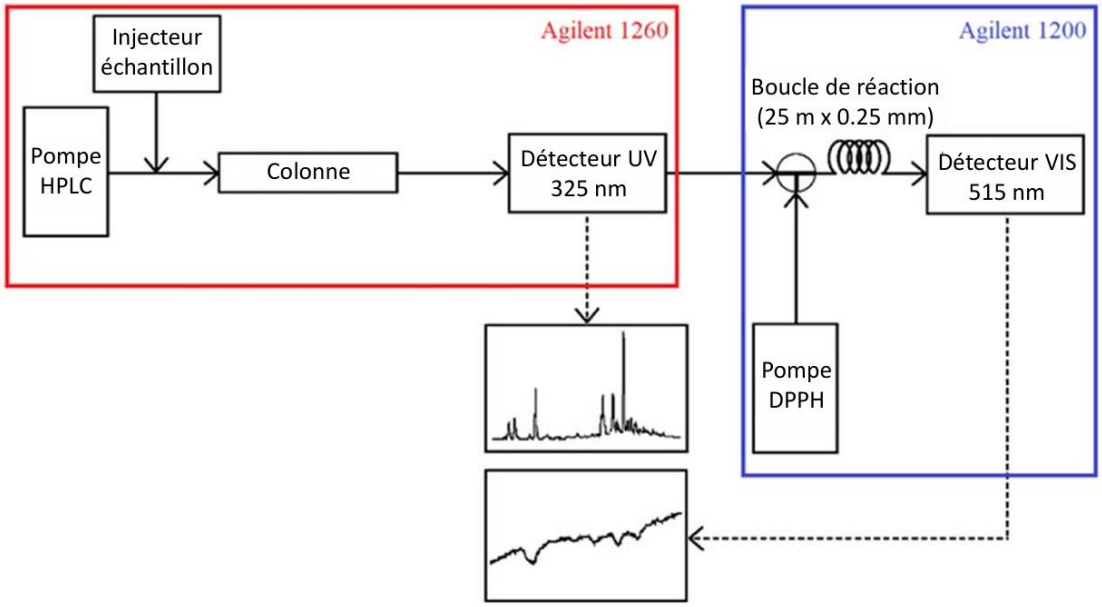


Figure 46 : Schéma du système de couplage HPLC-DPPH (148)

3.3.2. Cartographie de l'activité biologique

La cartographie de l'activité biologique sur un réseau moléculaire est une méthode couramment appliquée qui permet d'identifier des composés pouvant être responsables de l'activité (149). Pour cela, les tests d'activités biologiques doivent avoir été réalisés sur les mêmes échantillons que ceux ayant servi à construire le réseau moléculaire. La différence d'activité entre les fractions est un élément important afin d'obtenir un réseau contrasté. La

cartographie a pour but de distinguer visuellement les composés appartenant aux échantillons actifs en faisant varier la forme ou la couleur des *nodes*. Si les méthodes d'annotations le permettent, les composés supposés actifs peuvent être identifiés. En cas d'originalité structurale des composés d'un cluster d'activité, des composés sont difficilement annotables. Des processus de purification et des analyses RMN peuvent donc être nécessaires à l'identification de ces composés.

3.4. Conclusion partielle

La stratégie déréplicative permet d'identifier des composés déjà connus au sein d'un mélange complexe et propose un gain de temps par rapport à la procédure classique de purification et d'étude de composés isolés. Ainsi, l'utilisation de deux techniques analytiques complémentaires, la MS et la RMN, associée à deux stratégies de déréplications, les réseaux moléculaires et la méthode CaraMel, présente de nombreux avantages. Les composés connus renseignés par des bases de données expérimentales en libre accès ou par des bases de données prédites sont identifiés rapidement. La corrélation des différentes données permet d'obtenir des identifications et annotations avec un haut niveau de confiance. Cette méthodologie oriente et priorise l'étude de composés d'intérêt méconnus ou porteurs d'activités biologiques.

4. Conclusion

Cette première partie d'état de l'art a souligné les rôles essentiels de la peau qui protège l'organisme et rempli des fonctions métaboliques et sensorielles. Néanmoins, cet organe peut être affecté par des pathologies liées à l'inflammation, au stress oxydatif, mais aussi par des défauts des mécanismes de cicatrisation ainsi que par des cancers de la peau. Aussi, les mécanismes cellulaires et moléculaires détaillés ont montré l'interconnexion et l'impact de l'inflammation et du stress oxydatif sur le développement de plaies chroniques et sur la cancérogenèse. En outre, la peau est exposée au regard et son apparence est associée à la beauté, ce qui amène à l'usage de cosmétiques, et autres pratiques, telles que la surexposition aux UV, les tatouages ou les scarifications visant à l'embellir. La peau est donc un organe vital et esthétique, que l'on vient parfois à abimer, pour plaire et pour se plaire, mais dont il convient de prendre soin. Les plantes sont une source naturelle de composés antioxydants, anti-inflammatoires, anticancéreux et cicatrisants. En Polynésie française, celles-ci sont particulièrement utilisées en médecine traditionnelle (*ra'au tahiti*) et en cosmétiques pour les soins de la peau. En utilisant divers critères, notamment les usages traditionnels, les statuts bio-géographique et bio-écologique, cinq plantes ont été sélectionnées : le *C. inophyllum*, le *G. taitensis*, le *C. longa*, le *C. subcordata* et le *F. prolixa*. Ces plantes font partie des plus utilisées en Polynésie française en médecine traditionnelle et sont prometteuses pour une future valorisation cosmétique ou pharmaceutique. L'évaluation de leurs propriétés biologiques et la caractérisation de leurs compositions chimiques sont nécessaires. Ainsi, depuis plusieurs années, des méthodes déréplicatives sont développées afin de faciliter l'identification de composés déjà connus au sein d'un mélange complexe. Ces méthodes offrent un gain de temps et de moyen en évitant la purification et l'identification de composés isolés déjà connus. Pour cela, la spectrométrie de masse et la RMN sont deux techniques analytiques complémentaires très utilisées. La première permet la construction et l'annotation de réseaux moléculaires et la seconde permet d'appliquer à la procédure CaraMel pour identifier des composés étudiés en mélange grâce à la clusterisation de leurs déplacements chimiques. Enfin, des méthodes, telles que l'analyse HPLC-DPPH ou la cartographie de l'activité biologique sur les réseaux moléculaires, permettent de mettre en évidence des composés bioactifs au sein des mélanges.

Partie II : Matériels et Méthodes

Cette deuxième partie décrit les méthodes expérimentales et le matériel utilisés. Elle suit le déroulement des parties des résultats en commençant par la préparation des échantillons de l'étude, les protocoles des tests d'activités biologiques. Elle poursuit avec la description des méthodes de caractérisation chimique pour finir sur les méthodes permettant de corréler l'activité biologique à la composition chimique.

1. Échantillons de l'étude

Cette section 1 détaille les procédés ayant permis l'obtention des extraits bruts, des extraits à l'heptane, à l'acétate d'éthyle, au butanol et aqueux ainsi que des fractions de CPC.

1.1. Collecte, séchage, broyage

Toutes les parties de la plante ont été collectées entre janvier et mai 2022 en Polynésie française : feuilles de *C. inophyllum* L. (coordonnées GPS : -17,631237 ; -149,614159), feuilles de *C. subcordata* Lam. (-17,576955 ; -149,610608), fruit de *C. inophyllum* L. (-17,4822 ; -140,4539), racines aériennes de *F. prolixa* G. Forst (-17,678171 ; -149,587278), fleurs de *G. taitensis* DC (-17,736932 ; -149,282326). Les rhizomes de *C. longa* L. ont été achetés sur les marchés locaux. Les plantes ont été identifiées par le botaniste J.-F. Butaud, et des spécimens témoins ont été déposés à l'herbier de Polynésie française. Elles ont ensuite été séchées à l'étuve à 40 °C, à l'exception des fruits de *C. inophyllum* qui ont été séchés au soleil pendant 8 semaines. Une fois sèches, les parties de plantes ont été broyées en une poudre de 1-3 mm à l'aide d'un broyeur de base IKA MF 10. La matière première végétale a ensuite été extraite par extraction assistée aux ultrasons.

1.2. Extractions assistées aux ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons a été réalisée à l'aide du PEX 1N-cs (24 kHz, 150 W, Reus France) avec l'homogénéisateur HS-50A Witeg. Une température constante de 39 °C a été maintenue par le système de réfrigération CF30 Julabo. La poudre végétale (80 g) de chaque échantillon a été extraite une première fois dans 550 mL d'éthanol/eau (7:3 ; v/v) pendant 30 min. Ce premier extrait a ensuite été filtré et soumis à une seconde extraction pendant 30 min dans un solvant renouvelé. Après réunification, l'extrait brut a été concentré par évaporation rotative puis lyophilisé (Martin Christ Beta 2-8 LSC basic).

1.3. Partition liquide/liquide

Les extractions liquide/liquide ont été réalisées à partir de 20 g d'extrait brut mis en suspension dans 500 mL d'eau distillée. Des extractions successives sont ensuite effectuées dans une ampoule à décanter en ajoutant 3 x 200 mL de solvants de polarité croissante (heptane, acétate d'éthyle et n-butanol) et en séparant la phase organique de la phase aqueuse après agitation. Les extraits sont concentrés à l'évaporateur rotatif, transvasés en

pilulier et lyophilisés. Les extraits ont ensuite été analysés par HPTLC et par LC-MS^2 afin de sélectionner les extraits les plus pertinents à fractionner ou purifier.

1.4. HPTLC

Le dépôt automatisé de 10 µl d'échantillons (10 mg/mL) est réalisé par le module Camag automatic TLC sampler 4 sur plaque de silice (Merck, HPTLC plates silica gel 60 F 254, 200 x 100 mm). La migration automatisée s'effectue via le module Camag ADC 2 Automatic Developing Chamber avec la phase mobile $CHCl_3$/MeOH (9/1) pour les extraits heptane et acétate d'éthyle et la phase mobile AcOEt/Toluène/AF/AA (7/3/1/1) pour les extraits butanol et aqueux. Les plaques sont ensuite visualisées avec le module Camag TLC visualizer 2 sous lumière blanche et sous UV à 254 et 366 nm, de même après révélation à l'aide de vanilline (5 g/L dans de l'éthanol) et d'acide sulfurique 50 % (H_2SO_4/MeOH 1:1, v/v) et chauffage 2 min à 115 °C.

1.5. Fractionnement par CPC

Les extraits à l'acétate d'éthyle ont été sélectionnés pour être fractionnés par CPC sur une chaîne FCPE300 (Rousselet-Robatel Kromaton, Annonay, France). Les conditions de fractionnement étant variables selon échantillon, la méthode est ici décrite pour l'extrait à l'acétate d'éthyle de racine aérienne de *F. prolixa*. Les paramètres des autres manipulations réalisées sont détaillés dans le **Tableau 5**.

Des tests en pilulier sont effectués afin de sélectionner le système de solvant le plus approprié. Ainsi, le système AcOEt/ACN/eau (4/1/5) a été choisi avec une élution isocratique en mode descendant. La phase supérieure composée d'acétate d'éthyle et d'acétonitrile constitue donc la phase stationnaire et la phase inférieure composée d'eau et d'acétonitrile constitue donc la phase mobile. La colonne d'un volume de 303 mL est composée de 7 disques de 20 cm de diamètre comprenant 33 cellules chacun, soit un total de 231 cellules de type twin-cell d'environ 1 mL. Elle a été remplie avec la phase stationnaire du système d'élution et équilibrée avec la phase mobile à 20 mL/min et 1200 rpm. La rétention initiale a été mesurée à 70 %. L'extrait brut (994 mg) a été dissous dans 12 mL de phase stationnaire et 4 ml de phase mobile et injecté (injecteur 3725 Rheodyne) dans la colonne CPC à travers une boucle de 18 mL. L'évolution de l'élution est suivie en cours de manipulation grâce à un détecteur UV à 254 et 366 nm (détecteur UVD 170s, Dionex, Sunnyvale, CA, USA). Un collecteur automatique permet le remplissage de tubes de 20 mL (collecteur de fractions

Pharmacia Superfrac, Uppsala, Suède). En fin d'élution, la colonne a été extrudée en commutant la vanne en mode ascendant. Les tubes collectés au cours de l'ensemble de l'expérience (élution et extrusion) ont été regroupés en fonction de leur profil sur CCM. Les fractions sont concentrées à l'évaporateur rotatif, transvasées en pilulier et lyophilisées. Ainsi, 15 fractions ont été obtenues, dont 6 d'extrusion.

Tableau 5 : Conditions de fractionnement par CPC selon les échantillons

Extraits à l'AcOEt	*F. prolixa*	*C. subcordata*	*G. taitensis*	Résine de *C. inophyllum*
Système solvant	AcOEt/ACN/eau (4/1/5)	AcOEt/ACN/eau (3/2/5)	AcOEt/MeOH/eau (4/1/5)	Hep/AcOEt/MeOH/eau (4/1/4/1)
Masse d'extraits	994 mg	733 mg	834 mg	1030 mg
Mode d'élution	Descendant	Descendant	Descendant	Ascendant
Rotation	1200 rpm	1300 rpm	1300 rpm	1300 rpm
Débit	20 mL/min	12 mL/min	12 mL/min	12 mL/min
Rétention initiale	70 %	55 %	58 %	58 %
Nombre de fractions (extrusion)	15 (6)	16 (3)	14 (4)	12 (3)

2. Tests d'activités biologiques

Cette section 2 présente les protocoles des tests d'activités antioxydantes, cytotoxiques, anti-mélanomes, anti-inflammatoires et cicatrisantes.

2.1. Propriétés antioxydantes et anti-radicalaires

Les tests TPC, DPPH et FRAP ont été réalisés à l'IMBE à Aix-Marseille Université tandis que les tests AOP1 et 2 ont été effectués par l'entreprise toulousaine AntiOxydant Power en tant que prestataire.

2.1.1. TPC

La teneur en composés phénoliques (TPC) a été déterminée selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu adaptée par El Hosry *et al*. (150). Les extraits bruts ont été préparés à une concentration de 3 mg/mL dans de l'éthanol/eau (1:1, v/v). Dans une fiole jaugée de 100 mL, 5 mL des solutions préparées ont été mélangés avec 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, lot BCBP2077V), 4 mL de Na_2CO_3 7,5 % (m/v) (Fluka Biochemika, 347579/1 596 lot.71345), et complétés avec de l'eau distillée. Les échantillons ont été incubés pendant 2 h 30 min dans l'obscurité à 30 °C dans une étuve. L'absorbance des solutions a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis (Thermo Scientific Genesys 10S). Le TPC a été exprimé en mg d'équivalent d'acide gallique (EAG) par g d'extraits.

2.1.2. Test DPPH

La capacité à piéger les radicaux libres a été évaluée avec du DPPH (1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl) selon Blois *et al.* et adapté aux plaques de 96 puits (Sterilin Ltd, Newport UK) (151). La solution de DPPH (Sigma Aldrich, D9132-5G lot STBD2362V) a été préparée 3 heures avant utilisation, conservée à température ambiante dans l'obscurité et renouvelée chaque jour. Pour cela, 4 mg de réactif ont été solubilisés dans 100 mg de méthanol. Le contrôle positif et les échantillons ont été dilués avec du méthanol pour obtenir différentes concentrations finales en puits allant de 3 à 15 µg/mL pour l'acide ascorbique (Sigma Aldrich lot SLBB4446), de 5 à 100 µg/mL pour les extraits bruts, à l'exception du *F. prolixa* qui a nécessité des concentrations plus faibles allant de 1,25 à 50 µg/mL. Le plan de la plaque a été réalisé selon

Breaud *et al*. et était composé d'un blanc (250 µL de MeOH), d'un contrôle négatif (50 µL de MeOH avec 200 µL de solution de DPPH), d'un contrôle positif et d'échantillons à différentes concentrations en triplicata (50 µL de contrôle positif ou d'échantillon avec 200 µL de solution de DPPH) (148). La plaque à 96 puits a été placée dans le spectrophotomètre pour microplaques (BioTek EON, Providence, RI, USA) et a été incubée pendant 1 h à 30 °C. L'absorbance a ensuite été lue à 517 nm. Le pourcentage de DPPH-H a été calculé à l'aide de la formule suivante (avec Abs correspondant à l'absorbance) :

$$\% \text{ of DPPH-H} = [(Abs_{controle} - Abs_{échantillon})/Abs_{controle}] \times 100$$

La concentration permettant d'obtenir 50 % d'efficacité (CE_{50}, en µg/mL) a été calculée en utilisant l'équation de la courbe polynomiale exprimant le pourcentage de DPPH-H en relation avec la concentration. Le test effectué en triplicat à permit l'analyse statistique réalisée par un test ANOVA ordinaire à sens unique suivi de tests de comparaisons multiples de Dunnett avec une p value ≤ 0,0001.

2.1.3. Test FRAP

Les propriétés antioxydantes ont été déterminées à l'aide d'une version modifiée du test FRAP (de l'anglais « ferric reducing antioxidant power ») décrit par Benzie et Strain (152). L'essai a été réalisé dans une plaque à 96 puits (Sterilin Ltd, Newport UK). La solution FRAP a d'abord été préparée en mélangeant un volume de réactif TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine) 10 mM (Honeywell Fluka lot BCBK6346V) (en solution avec de l'acide chlorhydrique 40 mM), un volume de chlorure de fer(III) 20 mM hexahydratés (Honeywell Riedel-de-Haën lot 02550) et dix volumes de tampon d'acétate de sodium 300 mM (pH 3,6). Ensuite, le contrôle positif et les échantillons ont été dilués avec de l'eau distillée pour obtenir différentes concentrations finales en puits allant de 0,5 à 5 µg/mL pour l'acide ascorbique (Sigma Aldrich lot SLBB4446) et de 2,5 à 20 µg/mL pour les extraits bruts. La plaque était composée d'un blanc (50 µl d'eau distillée avec 200 µl de solution FRAP), d'un contrôle positif et d'échantillons à différentes concentrations en triplicata (50 µl de contrôle positif ou d'échantillon avec 200 µl de solution FRAP). La plaque à 96 puits a été placée dans le spectrophotomètre pour microplaques (BioTek EON, Providence, RI, USA) et incubée pendant 30 minutes à 40 °C. L'absorbance a été lue à 593 nm. Les données obtenues ont été calculées et exprimées en valeur FRAP en mmol Fe^{2+}/g. Le test effectué en triplicat à permit l'analyse statistique réalisée par un test ANOVA ordinaire à sens unique suivi de tests de comparaisons multiples de Dunnett avec une p value ≤ 0,0001.

2.1.4. Test AOP1

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antioxydante intracellulaire. Ce test utilise la technologie brevetée Light-Up Cell System (LUCS) basée sur la production intracellulaire d'espèces réactives à l'oxygène grâce à l'ajout dans le milieu de culture d'un acide nucléique fluorescent et photo-inductible. L'application de flash lumineux en présence de ce biocapteur cellulaire entraine la production d'oxygène singulet qui déclenche une cascade biochimique entraînant la production d'ERO et augmentant la fluorescence émise. En présence de composés antioxydants, l'effet observé est un retard dans l'évolution cinétique de l'émission de fluorescence.

L'échantillon a été solubilisé à une concentration finale de 50 mg/mL dans un milieu de culture Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) et centrifugé à 8700 rpm pendant 10 min. Les expériences ont été réalisées avec le surnageant. Les kératinocytes épidermiques humains immortalisés (HaCaT), provenant de l'American Type Cell Collection (numéro de catalogue CRL-2404), ont été ensemencées dans des plaques à 96 puits avec une densité de 40 000 cellules/puits dans du milieu DMEM supplémenté en sérum de veau fœtal (FCS) et maintenu dans l'incubateur pendant 24 h à 37 °C/5 % CO_2. Après 1 h d'incubation avec le biocapteur, les cellules ont été incubées en présence d'échantillons (8 concentrations obtenues par dilutions log^2 en série) pendant 1 h à 37 °C/5 % CO_2. Les expériences ont été réalisées dans du milieu DMEM sans FCS. Au moins deux expériences indépendantes ont été réalisées chacune sur des puits en triplicata. La fluorescence a été mesurée (RFU à 535 nm) selon une procédure récurrente d'application de LED à 480 nm (20 itérations) sur l'ensemble de la plaque à 96 puits. Les profils cinétiques ont été enregistrés. La monographie de l'échantillon présente les valeurs brutes de RFU enregistrées pendant la cinétique pour chaque concentration testée et les valeurs normalisées correspondantes. L'indice cellulaire antioxydant ou indice AOP est calculé à partir des profils cinétiques normalisés selon la formule suivante :

$$\text{AOP index (\%)} = 100 - 100\ ({}_0\int^{20} \text{RFU}_{\text{échantillon}} / {}_0\int^{20} \text{RFU}_{\text{contrôle}})$$

En compilant les indices AOP en fonction du logarithme (10) de la concentration de l'échantillon, des courbes dose-réponse ont été obtenues et soumises à un ajustement sigmoïde selon la formule suivante (avec SC correspondant à la concentration de l'échantillon et HS correspondant à la pente de la sigmoïde) :

$$\text{AOP index} = \text{AOP index}_{\text{min}} + (\text{AOP index}_{\text{max}} - \text{AOP index}_{\text{min}}) / (1 + 10^{(\text{Log(CE50-SC)*HS})})$$

La CE_{50} (concentration permettant d'obtenir 50% d'efficacité), la CE_{10} et la CE_{90} sont ensuite évaluées.

2.1.5. Test AOP2

L'étude a été réalisée sur des cellules HaCaT. Les cellules ont été ensemencées dans des plaques à 96 puits à une densité de 40 000 cellules/puits dans un milieu DMEM supplémenté en FCS et maintenues dans un incubateur pendant 24h à 37° C/5 % CO_2. Les cellules ont

ensuite été incubées en présence d'échantillons (8 concentrations obtenues par dilutions log2 en série) pendant 17 h à 37 °C/5 % CO_2. Les expériences ont été réalisées dans un milieu DMEM sans FCS. Au moins deux expériences indépendantes ont été réalisées chacune sur des puits dupliqués. Les cellules ont été traitées après l'incubation de 17 h avec un mélange comprenant une solution de lyse cellulaire et de la luciférine, substrat de la luciférase, (BPS Bioscience, USA) pendant 40 min. La luminescence a été lue sur un appareil Varioskan (Fischer). Les valeurs de luminescence (RLU) révèlent l'expression du gène de la luciférase après la promotion de l'ARE (Antioxidant Response Element). Les résultats sont présentés sous forme d'augmentation de la luminescence (AL) des valeurs de contrôle à t = 30 min selon la formule suivante :

$$\text{Augmentation de la luminescence (AL)} = RLU_{échantillon} / RLU_{contrôle}$$

Les valeurs CE_{10}, CE_{50}, CE_{90} et les pentes de colline sont calculées à partir de l'ajustement sigmoïde selon la formule :

$$AL = AL_{min} + (AL_{max} - AL_{min})/(1 + 10^{(Log(CE50-SC)*HS)})$$

Dans le cas où l'ajustement de la sigmoïde ne fonctionnerait pas, les CE_{10} et CE_{50} sont extrapolées.

2.2. Activité cytotoxique et anti-prolifération

Les tests de viabilité cellulaire ont été réalisés par l'unité MEDyC à l'université de Reims Champagne-Ardenne en tant que prestataire. Et les tests d'activité sur la prolifération et la mort cellulaire ont été effectués par l'équipe ImPACcell de l'unité Biosit à l'université de Rennes 1 en tant que partenaire du projet CAMELIA.

2.2.1. Viabilité cellulaire (AlamarBlue)

Les cellules HaCaT ont été achetées auprès de Cell Lines Service (numéro de catalogue 300493) et les fibroblastes dermiques (CIhuFIB) ont été achetés auprès d'InSCREENex (numéro de catalogue INS-CI-1010). Ces deux lignées cellulaires ont été maintenues dans du DMEM à haute teneur en glucose (4,5 g/L), supplémenté avec 10 % de sérum bovin fœtal (FBS) et 1 % de pénicilline/streptomycine à 37 °C dans une atmosphère humidifiée à 5 % de CO_2. Le milieu de croissance complet a été renouvelé tous les 2 ou 3 jours et l'absence de mycoplasmes dans les cellules a été vérifiée régulièrement.

Pour l'ensemencement des cellules en plaques à 96 puits, le milieu de culture est retiré et un lavage avec 5 mL de PBS est réalisé. Le PBS est ensuite retiré et 1 mL de trypsine-EDTA est ajouté pour décoller les cellules (5 à 10 min à l'étuve 37 °C). Après vérification au microscope optique de l'état des cellules, 5 mL de milieu de culture sont ajoutés. Les cellules sont transférées dans un falcon 15 mL pour les centrifuger à 200 g pendant 10 min à température ambiante. Le surnageant est retiré et le culot cellulaire est repris dans 5 mL de milieu de culture. Les cellules sont comptées avec une cellule de comptage Malassez (Dépôt 15 µL). Enfin les cellules sont ensemencées à raison de 20 000 cellules/puits en plaques à 96 puits (200 µL/puits) et incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 h.

Pour la préparation des échantillons, des solutions mères à 100 mg/mL ou 50 mg/mL sont préparées à partir des extraits bruts secs solubilisés dans du DMSO et passés au bain à ultrasons 10 min.
Pour ajouter les échantillons aux plaques à 96 puits, le milieu de culture est retiré. À partir des solutions mères, des solutions filles à 1 mg/mL sont préparées en utilisant du milieu de culture. Les solutions filles sont ensuite utilisées pour obtenir la gamme de concentrations suivante : 1 µg/mL, 10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL). Le DMSO est utilisé comme contrôle négatif et même à la plus forte concentration de 200 µg/mL, on ne dépasse pas la limite de cytotoxicité du DMSO qui est de 0,1 %. Les plaques sont incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 h.
L'Alamarblue (résazurine) est préparé à 0,2 mg/mL, vortexé et filtré (0,2 µM) puis dilué (1/10ème) dans une solution saline tamponnée au phosphate de Dulbecco 1X (DPBS, Gibco, Batch # 2653659-14190) pour obtenir 0,02 mg/mL (Merck, R7017). Ce réactif est un indicateur de viabilité cellulaire qui utilise le pouvoir réducteur des cellules vivantes pour convertir la résazurine (composé bleu non fluorescent) en résorufine à fluorescence rouge. Après le retrait du surnageant cellulaire des plaques à 96 puits, 200 µL de solution d'Alamarblue sont ajoutés. Les plaques sont incubées à l'étuve à 37 °C pendant 4 à 5 h selon le type cellulaire. Une mesure quantitative de la viabilité est réalisée à l'aide du lecteur de microplaques (TECAN Infinite 200® PRO 30050303 - 1009001474, Grödig, Austria) avec une longueur d'onde d'excitation à 560 nm et une longueur d'onde d'émission à 595 nm). Les données des triplicats sont exprimées en moyenne +/- SEM. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism via le test de Mann-Whitney à un niveau de signification de 5 %.

2.2.2. Inhibition de la croissance ou induction de la mort cellulaire

Les kératinocytes (HaCaT) et fibroblastes humains (HDF) de peaux normales ont été achetés auprès de Lonza (Bâle, Suisse), la lignée de cellules cancéreuse Mel 501 a été obtenue auprès de la collection ECACC (Porton Down, Royaume-Uni). Les cellules ont été cultivées à 37 °C et 5 % CO_2 dans des milieux recommandés par l'ECACC : DMEM pour les kératinocytes et fibroblastes, et RPMI pour les cellules de mélanomes. Tous les milieux de culture ont été complétés par 10 % de FBS, 1 % de pénicilline-streptomycine et 2 mM de glutamine.
Les cellules ont été ensemencées dans des plaques à 96 puits (4000 cellules/puits) et 24 h après elles sont exposées aux extraits de plantes. On réalise une gamme de concentrations finales en puits V/V : 0,01 %, 0,03 %, 0,09 %, 0,3 %, 0,9 %, 2,5 %. Le DMSO est utilisé comme contrôle négatif. Comme témoins positifs, les molécules standards (Roscovitine, Taxol et Doxorubicine) sont solubilisées dans du DMSO. Après 48 h de traitement, les cellules ont été lavées avec une solution tampon (le PBS, pour phosphate-buffered saline) et fixées dans éthanol/acide acétique (90/5 %) pendant 20 minutes. Le Hoechst 33342 (B2261 Sigma) a été utilisé pour la coloration des noyaux. L'acquisition et l'analyse des images ont été effectuées à l'aide d'un lecteur Cellomics ArrayScan VTI/HCS (ThermoScientific). La survie (%) est calculée

comme le nombre de cellules après exposition aux extraits (%) sur le nombre de cellules après traitement DMSO (%).
Les CI_{50} relatives sont calculées à l'aide de XLfit 5.5.0.5 (idbs, Microsoft Excel) selon le modèle logistique à 4 paramètres ou modèle dose-réponse sigmoïde (**Figure 47**):

$$fit = A + \frac{(B-A)}{(1+\frac{C}{x}*D)}$$

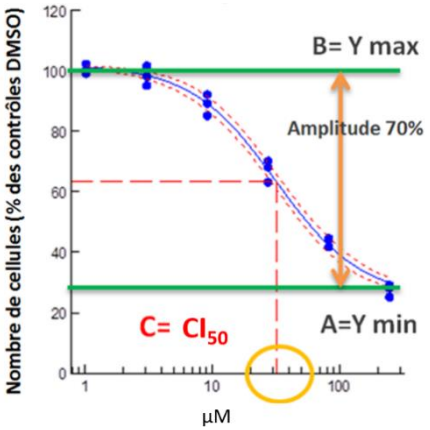


Figure 47 : Équation et sigmoïde dose-réponse permettant de déterminer la CI_{50} relative

2.2.3. Prolifération cellulaire

Les cellules mélanomes ont été ensemencées dans des plaques à 96 puits (2 000 cellules/puits) avec 100 µl de milieu de culture pendant 48 h. Elles sont ensuite exposées aux échantillons pendant 24 h aux concentrations C/2, C et Cx2. Le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif. Différents contrôles positifs ont été utilisés. Le taxol, un inhibiteur de la dépolymerisation des microtubules, bloque la division cellulaire. Le Pi-103 est un inhibiteur de kinases, notamment de mTOR, une sérine/thréonine impliquée dans la prolifération cellulaire.

L'EdU, un analogue de la thymine, est utilisé pour déterminer le nombre de cellules bloquées en phase G1 et S du cycle cellulaire. Pour cela, les cellules ont été incubées 2 h à l'EdU, puis lavées au PBS et fixées au paraformaldéhyde à 3,7 %. Enfin les cellules ont été lavées et perméabilisées au Triton à 0,5 % afin d'effectuer un marquage de l'EdU incorporé au Cy3-azide (fluorescent en vert).

Pour les cellules en mitose, une méthode d'immunodétection est utilisée. La phosphorylation de l'histone H3 sert de marqueur pour déterminer le nombre de cellules bloquées en phase M. Pour cela, les cellules ont été lavées, saturées et marquées par l'anticorps primaire de l'histone H3 phosphorylée. Après une nuit d'incubation à 4 °C, les cellules ont été lavées et marquées avec un anticorps secondaire Dylight 649 anti-mousse (fluorescent en rouge).

Le Hoechst 33342 (B2261 Sigma) est utilisé pour la coloration des noyaux. Après un dernier lavage, l'acquisition et l'analyse des images a été effectuées à l'aide d'un lecteur Cellomics ArrayScan VTI/HCS (ThermoScientific). Les tests réalisés en triplicat l'analyse statistique via le test de Mann-Whitney avec un seuil de p à 5 %.

2.2.4. Mort cellulaire

Le test de détermination de la nécrose et de l'apoptose cellulaire sur Mel 501 est basé sur les changements dans la perméabilité de la membrane. Ils sont distingués à l'aide de marqueurs fluorescents spécifiques. L'iodure de Propidium (fluorescence rouge) révèle les cellules nécrotiques. Le YO-PRO-1 (fluorescence verte) traverse sélectivement les membranes plasmiques des cellules apoptotiques. Le produit Hoechst 33342 (fluorescence bleue) indique les cellules vivantes. Le pourcentage de cellules nécrotiques et apoptotiques est évalué par rapport aux cellules totales. Pour cela, les cellules Mel 501 sont incubées 24 h en présence des échantillons testés puis colorées avec le Hoechst, l'IP et le Yo-Pro. Les concentrations utilisées, C/2, C, Cx2, sont basées sur les résultats précédents. L'acquisition et l'analyse des images ont été effectuées à l'aide d'un lecteur Cellomics ArrayScan VTI/HCS (ThermoScientific).

2.3. Inflammation

Les tests d'activité sur la voie de signalisation NF-κB ont été effectués par l'équipe ImPACcell de l'unité Biosit à l'université de Rennes 1 en tant que partenaire du projet CAMELIA. Les tests sur la voie métabolique de la 5-LOX ont été réalisés par l'unité MEDyC à l'université de Reims Champagne-Ardenne en tant que prestataire.

2.3.1. Voie de signalisation NF-κB

La lignée cellulaire monocytaire (THP1) est ensemencée en plaque à 96 puits (15 000 cellules/puits) dans un milieu de culture RPMIc. Le phorbol-12-myristate-13-acétate (0,1 ng/mL) est ajouté pour induire la différenciation des cellules en macrophage pendant 3 jours. Après un rinçage au PBS, les cellules sont pré-incubées pendant 2 h 30 min avec les échantillons aux concentrations C/2, C et Cx2 soit 62,5, 125 et 250 µg/mL, à l'exception du *C. longa* testé à 12,5, 25 et 50 µg/mL et du calophyllolide testé à 5, 10 et 20 µg/mL. Le DSMO est utilisé comme contrôle négatif (0,0625, 0,125 et 0,25 µg/mL). La moitié des puits reçoivent les lipopolysaccharide bactériens (0,2 µg/ml) et sont incubés 6 h supplémentaires. Les LPS entraînent l'activation de NF-κB et sa translocation nucléaire. Les cellules sont ensuite fixées au paraformaldéhyde et le NF-κB est immunodétecté par un anticorps spécifique et un anticorps secondaire couplé à un fluorochrome (rouge). La plaque à 96 puits est scannée par l'Arrayscan (Thermo Scientific). Cette analyse permet de quantifier la fluorescence dans le noyau et dans le cytoplasme. Les résultats expriment la différence de fluorescence entre le noyau et le cytoplasme. Les tests réalisés en triplicat l'analyse statistique via le test de Mann-Whitney avec un seuil de p à 5 %.

2.3.2. Voie métabolique de la 5-LOX

Les cellules HaCaT et CIhuFIB ont été maintenues dans du DMEM à haute teneur en glucose (4,5 g/L), supplémenté avec 10 % de FBS et 1 % de pénicilline/streptomycine à 37 °C dans une atmosphère humidifiée à 5 % de CO_2. Le milieu de croissance complet a été renouvelé tous les 2 ou 3 jours et l'absence de mycoplasmes dans les cellules a été vérifiée régulièrement.

Pour l'ensemencement des cellules en plaques à 12 puits, le milieu de culture est retiré et un lavage avec 5 mL de PBS est réalisé. Le PBS est ensuite retiré et 1 mL de trypsine-EDTA est ajouté pour décoller les cellules (5 à 10 min à l'étuve 37 °C). Après vérification au microscope optique de l'état des cellules, 5 mL de milieu de culture sont ajoutés. Les cellules sont transférées dans un falcon de 15 mL pour les centrifuger à 200 g pendant 10 min à température ambiante. Le surnageant est retiré et le culot cellulaire est repris dans 5 mL de milieu de culture. Les cellules sont comptées avec une cellule de comptage Malassez (dépôt de 15 µL). Enfin, les cellules sont ensemencées à raison de 100 000 ClhuFIB par puits ou 150 000 HaCaT par puits (soit 1 mL/puits) et incubées à l'étuve à 37 °C pendant 48 h.

Pour la préparation des échantillons, des solutions mères à 100 mg/mL ou 50 mg/mL sont préparées à partir des extraits bruts solubilisés dans du DMSO et passés au bain à ultrasons 10 min. Elles sont diluées en utilisant du milieu de culture pour atteindre une concentration de 100 µg/mL et 10 µg/mL pour l'extrait de *C. longa*.

Pour ajouter les échantillons aux plaques à 12 puits, le milieu de culture est retiré et 1 mL d'échantillon est inséré par puits en duplicats. Comme contrôle négatif, des cellules non traitées cultivées dans un milieu DMEM complet ont été utilisées. Les plaques sont incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 h.

Après 24 h, le protocole (kit E-EL-H0223) du kit ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) pour l'arachidonate-5-lipoxygénase humaine (5-LOX, AE63331HU, Diagomics, Blagnac, France) est appliqué. Les cellules traitées sont rincées une fois avec du DPBS1X froid. Puis la plaque est incubée avec de la trypsine à 37 °C jusqu'au décollement des cellules. La trypsine est stoppée avec du milieu de culture et la suspension cellulaire est centrifugée à 1000 g pendant 5 minutes. Après élimination du milieu, les culots cellulaires sont rincés trois fois avec du DPBS1X refroidi (avec une centrifugation entre chaque lavage) avant d'être lysés dans du DPBS1X additionné d'un cocktail d'inhibiteurs de protéase et d'inhibiteurs de phosphatase (10 mM NaF, 2 mM Na_3VO_4) pendant 30 minutes à 4 °C en vortexant toutes les 5 min. Chaque échantillon a été passé aux ultrasons deux fois pendant 15 secondes, puis centrifugé à 1500 g pendant 10 minutes à 4 °C. Les surnageants clairs sont transférés dans de nouveaux tubes. La concentration en protéines est déterminée par la méthode Bradford. Les concentrations de 5-LOX dans 85 µg de lysats cellulaires sont analysées avec le kit Diagomics ELISA selon les instructions du fabricant. L'absorbance à 450 nm a été mesurée à l'aide d'un photomètre pour microplaques (Multiskan FC, 51119000-357714379, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, États-Unis). Les concentrations des biomarqueurs ont été calculées à l'aide d'une courbe standard. Trois expériences indépendantes ont été réalisées avec chaque échantillon testé en double. Les données des triplicats sont exprimées en moyenne +/- SEM. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism par un test t-Student non apparié avec un seuil p à 5 %.

2.4. Cicatrisation

Les tests de cicatrisation aussi appelés « scratch wound-healing assay » ont été réalisés par l'unité MEDyC à l'université de Reims Champagne-Ardenne en tant que prestataire.

Les cellules HaCaT et CIhuFIB sont maintenues dans du milieu DMEM à haute teneur en glucose, complété par 10 % de FBS et 1 % de pénicilline/streptomycine dans une chambre à atmosphère et température contrôlées à 37 °C et 5 % de CO_2. Le milieu de croissance complet est renouvelé tous les 2 ou 3 jours et l'absence de mycoplasmes dans les cellules est vérifiée régulièrement.
Deux jours avant les expériences, 40 000 cellules HaCaT ou 10 000 cellules CIhuFIB sont ensemencées de chaque côté d'un insert de culture Ibidi® (Cat#2490948-80209, Clinisciences, Nanterre, France) et placées dans une plaque de culture à 24 puits et incubées à 37 °C et 5 % CO_2 dans un milieu de croissance complet jusqu'à l'obtention d'une monocouche de cellules complètement confluentes. Pour mesurer l'effet de la migration cellulaire uniquement, les cellules affamées sont incubées à 37 °C pendant 2 h pour les HaCaT et 30 min pour les CIhuFIB, avec de la mitomycine C (5 µg/mL, Cat#M4287, Merck, Darmstadt, Allemagne). La mitomycine C est un antimitotique permettant d'inhiber la prolifération cellulaire. Pour évaluer l'effet de la migration et de la prolifération cellulaire, cette étape n'est pas réalisée et le test s'effectue sans mitomicyne C. Les inserts Ibidi® à 2 puits ont ensuite été retirés pour créer un espace standardisé de 500 µm et les cellules ont été lavées une fois avec du milieu de culture FBS à 2,5 % pour éliminer les débris cellulaires redondants. Le milieu a été remplacé par du milieu FBS à 2,5 % contenant du DMSO (solvant de contrôle négatif) ou des extraits de plantes à une concentration de 100 µg/mL ou 10 µg/mL pour le *C. longa*. Les cellules ont pu migrer dans un incubateur approprié. Les trois mêmes zones par puits ont été suivies aux points de temps 0, 16, 24 et 48 h en utilisant le système d'imagerie EVOS® FL. Chaque condition a été réalisée au moins en triple et les expériences ont été répétées indépendamment au moins trois fois. Le pourcentage de fermeture de la plaie a été calculé à l'aide du logiciel ImageJ. Le niveau de fermeture de la plaie à un temps donné a été évalué en calculant le pourcentage de la zone sans cellule (aire de la cicatrice), divisé par la zone sans cellule à l'état initial et comparé au contrôle négatif. Les données des triplicats sont exprimées en moyenne +/- SEM. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism via le test de Mann-Whitney avec un seuil p à 5 %.

3. Caractérisation chimique

Cette section présente les procédés ayant permis l'annotation de composés via les réseaux moléculaires utilisant les analyses LC-MS^2 et l'identification de composés selon la procédure CaraMel à partir des données RMN. Elle décrit également les méthodes employées pour identifier les composés responsables des propriétés biologiques.

3.1. LC-MS^2

Les analyses LC-MS^2 ont été réalisées d'une part à l'IMBE à Aix-Marseille Université sur un QToF pour les extraits bruts et d'autre part à l'ICMR à l'université de Reims Champagne-Ardenne sur un Q Exactive pour les extraits à l'heptane, à l'AcOEt, au butanol et aqueux ainsi que pour les fractions de CPC.

3.1.1. Analyse

Les analyses LC-MS^2 à l'IMBE ont été réalisées sur un système Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific®) équipé d'un détecteur à barrette de photodiodes et couplé à un spectromètre de masse haute résolution (Bruker Impact II QToF) équipé d'une source d'ionisation par électrospray. Les solutions d'échantillons ont été préparées en solubilisant 1 mg d'extrait brut sec dans 1 ml d'éthanol/eau (7:3, v/v). La séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 (2,1x100 mm, 1,8 µm) à 43 °C. La phase mobile était composée d'eau (A) et d'acétonitrile (B), toutes deux acidifiées avec de l'acide formique à 0,1 %, et le gradient suivant a été appliqué : maintien isocratique pendant 2 min à 5 % B, 5 à 50 % B sur 2 à 17 min, 50 à 100 % B sur 17 à 27 min, puis maintien isocratique pendant 2 min à 100 % B (27 à 29 min). Pour le rééquilibrage de la colonne, cela a ensuite été suivi d'une diminution à 5 % B en 1 min et maintenu pendant 3 min. Le volume d'injection était de 1 mL et le débit était de 0,8 mL/min. Une solution d'étalonnage d'acétate de formiate de sodium a été injectée au début de chaque cycle à titre d'étalonnage. Les spectres de masse ont été acquis en modes positif et négatif dans une gamme de masse de m/z 50 à 1200 avec une fréquence d'acquisition à 4 Hz. Les paramètres de nébulisation ont été définis de la manière suivante : pression du gaz de nébulisation (N_2) à 3,5 bar débit du gaz de séchage à 12 L/min et température de séchage à 200 °C. La tension du capillaire du spectromètre de masse a été réglée à 3 500 V en mode positif et 3 000 V en mode négatif. La fragmentation a été effectuée avec une gamme d'énergie de collision par paliers de 20 à 40 eV.

Les analyses LC-MS^2 à l'ICMR ont été réalisées sur un système HPLC binaire Vanquish Horizon (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) couplé à un spectromètre de masse Orbitrap Q Exactive (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) équipé d'une source d'ionisation par électrospray HESI-II. Les solutions d'échantillons ont été préparées en solubilisant 1 mg d'échantillon sec dans 1 ml d'ACN/DMSO. La séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne Phenomenex Kinetex Polar C18 (4,6x150 mm, 2,6 µm) à 40 °C. La phase mobile était composée d'eau (A) et d'acétonitrile (B), toutes deux acidifiées avec de l'acide formique à 0,1 %, et le gradient suivant a été appliqué : 5 à 100 % B de 0 à 18,5 min et un

maintien isocratique à 100 % B de 18,5 à 28 min. Pour l'équilibrage de la colonne, cela a ensuite été suivi d'une diminution à 5 % B maintenu pendant 4 min. Le volume d'injection était de 1 µL et le débit était de 0,4 mL/min. Un étalonnage externe a été effectué à l'aide d'une solution d'étalonnage (CalMix) avant l'analyse. Les paramètres suivants ont été appliqués pour le quadripôle : tension de pulvérisation à 3 500 V ; température capillaire à 320 °C ; température de chauffage du gaz à 300 °C ; niveau RF de la lentille à 55 ; tension de source à 3,5 kV ; débit de gaz de gainage N_2 à 60 unités ; débit de gaz auxiliaire à 20 unités ; débit de gaz de balayage à 1 unité.

3.1.2. Traitement des données

Les données brutes issues de l'analyse UHPLC-MS/MS ont été calibrées à l'aide du logiciel Bruker Compass Data Analysis 5.0 SR1 (64 bits) et converties au format mzXML à l'aide du logiciel GNPS Vendor Conversion master. Les données ont ensuite été importées dans MZmine 3 et traitées selon le flux de travail suivant : détection des masses, construction de chromatogrammes, lissage des chromatogrammes, résolution des pics chromatographiques (déconvolution), filtrage des isotopes ^{13}C, alignement, remplissage des lacunes, filtrages, pré-annotation et export (**Figure 48**).

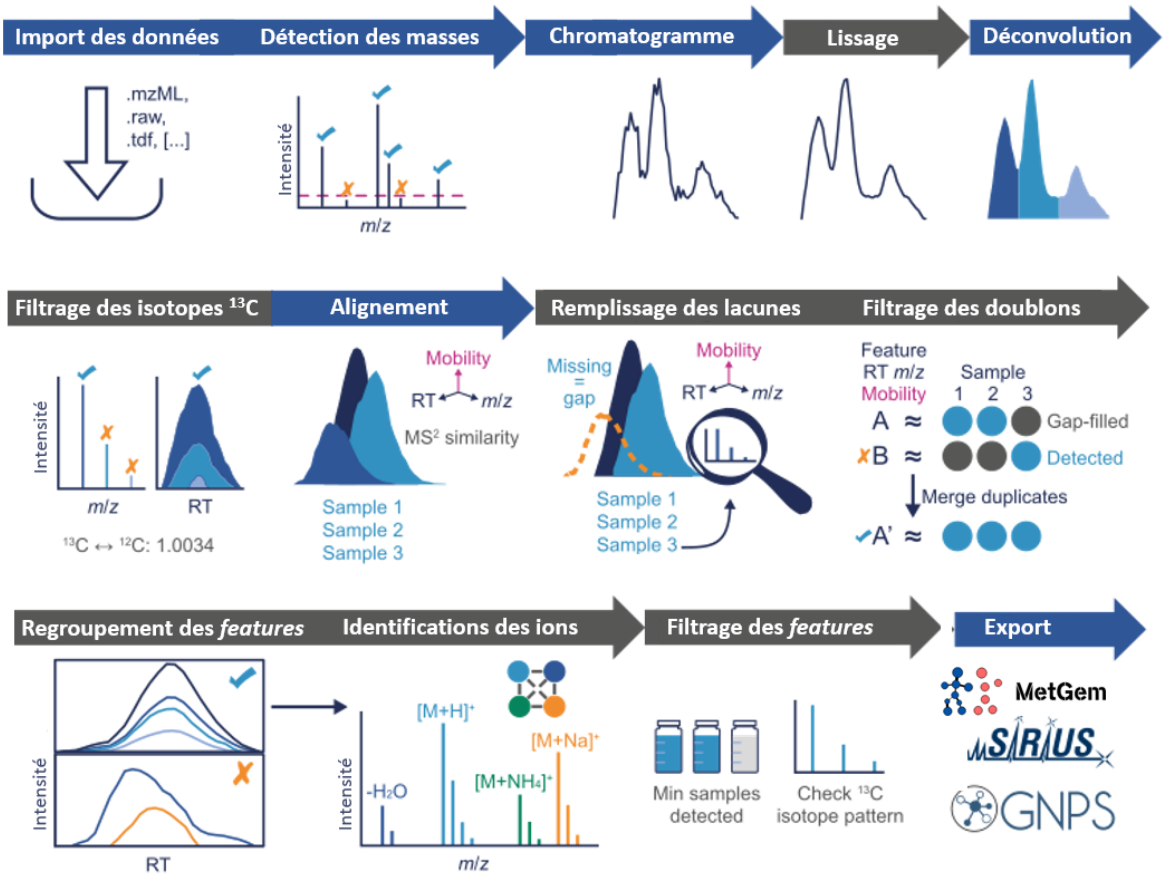


Figure 48 : Schéma des étapes de traitement des données LC-MS² sur MZmine (137).
En bleu, les étapes strictement nécessaires et en gris les étapes facultatives.

Pour chaque traitement de données des plantes étudiées, les paramètres à chaque étape ont été optimisés individuellement et sont donc différents selon les échantillons. Les valeurs des

paramètres indiqués sont celles de *C. subcordata* (**Tableau 6**) ayant permis de générer le réseau moléculaire (**Figure 82**). Ces paramètres ont été ajustés en suivant les directives d'utilisation de MZmine 3 selon Damiani *et al*. (137):

- Détection des signaux des spectres de masse (« mass detection »):

Un seuil d'intensité, pouvant correspondre à un niveau de bruit, a été défini pour exclure les signaux de faible intensité. Ce seuil varie selon les paramètres d'acquisition et le type d'analyseur (QToF ou Q Exactive). Chaque spectre de masse traité génère une liste associant le m/z à l'intensité.

Les étapes suivantes permettent la détection des ions ou « *features* ». Un « *feature* » désigne un signal produit par une entité chimique détectée lors de l'analyse MS et défini par un m/z, une intensité et un temps de rétention (RT). Les expériences en MS non ciblées génèrent des centaines, voire des milliers de *features*. L'objectif des étapes suivantes est donc de conserver les *features* pertinents tout en éliminant les signaux parasites. De plus, les *features* détectés dans différents échantillons seront alignés pour permettre une comparaison cohérente entre échantillons.

Tableau 6 : Paramètres utilisés sur MZmine 3 pour *C. subcordata*

Paramètres	***C. subcordata***
Détection des signaux des spectres de masse :	
Niveau de bruit MS^1	1E6
Niveau de bruit MS^2	1E4
Construction des chromatogrammes :	
Min. de scans consécutifs Intensité min. Hauteur absolue min. Tolérance m/z	3 1E4 1E4 10 ppm
Lissage des chromatogrammes :	
Algorithme	Loess smoothing
Résolution des pics chromatographiques :	
Seuil chromatographique Portée min. de recherche RT Hauteur relative min. Hauteur absolue min. Rapport min. sommet/bord Gamme de durée du pic Min. de scans consécutifs	95 % 0,01 5 % ; 0 % 1E4 1,6 0,1-1 min 3
Filtrage des isotopes ^{13}C :	
Tolérance m/z Tolérance RT	10 ppm 0,1 min
Alignement :	
Tolérance m/z Poids du m/z Tolérance RT Poids du RT Poids de la mobilité	10 ppm 75 0,2 25 1

- Construction des chromatogrammes (*ADAP chromatogram builder*) :

Cette étape crée un chromatogramme pour chaque valeur m/z détectée sur un nombre minimum de scans MS^1 consécutifs. Les chromatogrammes ayant un nombre suffisant de points de données et une intensité adéquate sont conservés.

- Lissage des chromatogrammes (*smoothing*) :

Cette étape est effectuée uniquement si les profils présentent d'importantes fluctuations d'intensité entre des points de données consécutifs, car un lissage excessif peut entraîner une distorsion de la forme des pics.

- Résolution des pics chromatographiques (*Local minimum resolver*) :

Les tracés de chromatogrammes peuvent contenir plusieurs pics qu'il est nécessaire de séparer et d'ajuster en optimisant différents paramètres. Cette étape de déconvolution permet donc de séparer les composés de m/z identiques, mais ayant des temps de rétention différents.

- Filtrage des isotopes ^{13}C :

Cette étape facultative supprime les *features* correspondant aux isotopes ^{13}C et assigne le modèle isotopique récupéré au pic monoisotopique. Toutefois, des critères de filtrage trop stricts peuvent entraîner l'élimination erronée de signaux ^{13}C.

- Alignement (*Join aligner*) :

Les analyses MS non ciblées visent à comparer qualitativement ou quantitativement les analytes détectés dans plusieurs échantillons. Cependant, les fluctuations instrumentales peuvent empêcher la détection d'un même analyte avec les mêmes paramètres (dérives en temps de rétention, précision de masse). L'alignement permet de corriger ces variations en définissant des seuils de tolérance et en regroupant les données correspondant à un même analyte.

- Remplissage des lacunes (*Gap filling*) :

Les signaux de faible intensité peuvent être omis lors des étapes de traitement, créant des valeurs manquantes (gaps). Cette étape permet de récupérer les signaux pertinents en inspectant ces lacunes et les données brutes correspondantes.

- Filtre des doublons :

Ce module détecte les doublons qui peuvent provenir du *gap filling* ou de l'alignement et les fusionne en un seul *feature*. Pour éviter les suppressions erronées, il est recommandé d'utiliser des tolérances plus strictes que celles définies pour l'alignement initial.

Par la suite, diverses étapes optionnelles permettent de préparer l'annotation par les opérations suivantes :

- Regroupement des *features* et connexion des ions d'une molécule (« metaCorrelate ») :

Ce module recherche des *features* ayant des temps de rétention qui se chevauchent et des profils chromatographiques similaires, afin de les annoter comme des *features* corrélées. Le

profil chromatographique peut être pris en compte pour distinguer les ions provenant réellement d'une même molécule de ceux qui co-éluent (sans lien chimique).

- Identification des ions (*Ion Identity Networking*) :

Cette étape examine les features corrélées (issues de l'étape précédente) afin d'annoter les adduits ($[M+H]^+$, $[M+Na]^+$, $[M-H_2O]^-$). Lorsque la différence de m/z entre deux features correspond à un adduit ou une modification possible, elles sont annotées.

Pour finir, les données quantitatives (au format .csv) et qualitatives (au format .mgf) sont exportées pour permettre la construction et l'annotation de réseaux.

3.1.3. Construction et annotation des réseaux moléculaires

À partir des fichiers exportés depuis MZmine, les réseaux moléculaires ont été générés en utilisant MetGem avec un *cosine score* à 0,7, un nombre de voisins maximum (TopK) à 10, et un minimum d'ions fragmentés correspondant à 5. Le réseau est ensuite annoté en utilisant les bases de données de GNPS qui sont à disposition sur MetGem. Les bases de données taxonomiques prédictives, spécifiques à la famille de plantes issues de VersaDB sont également utilisées. Les réseaux moléculaires ainsi que les métadonnées sont ensuite exportés sur le logiciel Cytoscape pour en modifier le visuel. La taille des *nodes* correspond à la somme des intensités des ions et les *nodes* sont découpés en part correspondant à la proportion de l'ion dans chaque fraction.

Les données sont ensuite importées dans le logiciel SIRIUS pour poursuivre l'annotation. Tout d'abord, SIRIUS permet de générer un ensemble de formules moléculaires candidates grâce à l'analyse des motifs isotopiques sur les données MS^1. Les données MS^2 permettent de construire un arbre de fragmentation décrivant les réactions de fragmentation conduisant aux pics de fragments. Le spectre est ainsi annoté en attribuant une formule brute à chaque pic de fragment. Les pics qui ne sont pas annotés sont considérés comme du « bruit ». Pour cela, le module ZODIAC a été utilisé. Il propose un classement des formules candidates en prenant en compte les fragments communs et les pertes entre les arbres de fragmentation de différents composés d'un ensemble de données (153,154).

SIRIUS peut également déterminer l'empreinte moléculaire d'un composé. Cette empreinte est unique à un composé et peut être comparée à l'empreinte digitale d'un être humain. Elle est représentée sous la forme d'un code binaire indiquant la présence ou l'absence de sous-structures au sein de la molécule. Elle permet, par comparaison, de savoir si deux composés sont similaires. Pour cela, le module CSI:FingerID utilise des algorithmes d'apprentissage automatique pour prédire les empreintes moléculaires, notamment à partir des données issues de l'arbre de fragmentation. Les empreintes sont ensuite comparées à des bases structurales, générant une liste classée de candidats d'annotation. Ce module a donc été utilisé pour proposer des structures en deux dimensions. En effet, l'identité et la connectivité des atomes (y compris la multiplicité des liaisons) peuvent être prédites, mais pas la stéréochimie (155).

Le module COSMIC, basé sur l'intelligence artificielle, a été utilisé pour assigner un score de confiance aux identifications de structures fournies par CSI:FingerID. Ce concept permet d'utiliser CSI:FingerID à haut débit pour des milliers de composés et de sélectionner les identifications les plus fiables, simplifiant ainsi l'interprétation des données (155,156).
Le module CANOPUS (*Class Assignment and Ontology Prediction Using mass Spectrometry*) a été utilisé pour prédire la classe chimique des composés sans recherche dans une base de données. Ce module peut ainsi fournir des informations structurelles pour des composés pour lesquels il n'existe ni données spectrales ni données structurales de référence (157,158).
Enfin, l'outil MSNovelist est utilisé pour générer des candidats structurels *de novo* pour surmonter les limites des recherches dans les bases de données de structures. Les structures sont générées à partir de la formule brute et de l'empreinte moléculaire.

3.2. RMN

Les analyses RMN ont été réalisées d'une part au spectropôle à Aix-Marseille Université pour les extraits bruts et d'autre part à l'ICMR à l'université de Reims Champagne-Ardenne pour les fractions de CPC.

3.2.1. Analyse

Les composés à analyser ont été dissous dans 600 µL de DMSO. Les expériences RMN 1D ^{1}H, ^{13}C et 2D (COSY ^{1}H, HSQC ^{1}H-^{13}C, HMBC ^{1}H-^{13}C) ont été réalisées à 298 K sur un spectromètre Avance AVIII-600 (Bruker, Allemagne) (^{1}H à 600 MHz et ^{13}C à 150 MHz) équipé d'une cryosonde TCI de 5 mm. Les expériences RMN 2D ont été réalisées à l'aide des programmes d'impulsions de la librairie standard Bruker (logiciel TopSpin 3.2).

3.2.2. Traitement des données pour la procédure CaraMel

Après l'acquisition des données RMN, le traitement des données ^{13}C effectué à l'aide du logiciel TopSpin, comprend le phasage des spectres, la correction de la ligne de base et la calibration des spectres sur le signal du solvant, ici le DMSO-d_6 à 39,52 ppm. Les pics sont ensuite sélectionnés grâce à une commande automatique (« peak picking » ou « pp ») avec une sensibilité de détection ajustée (entre 2 et 3) afin d'éviter le bruit de fond. Les signaux correspondant au solvant ne doivent pas être pris en compte et sont donc retirés de la liste des pics manuellement. Il est fondamental lors de ces étapes d'avoir une calibration identique et une sensibilité de détection des pics conservée pour chaque spectre afin d'avoir des données comparables par la suite. Pour chaque spectre, les données sont exportées en format texte dans un fichier listant les déplacements chimiques et leurs intensités associées. Par la suite, un script codé en langage Python est utilisé afin de regrouper et d'aligner les données. Le logiciel PermutMatrix est ensuite utilisé pour réorganiser des données selon une classification hiérarchique ascendante, afin de regrouper les déplacements chimiques qui appartiennent à la même molécule (144,145).

3.2.3. Identification structurale

Cette méthode permet de rechercher, dans les bases de données, les déplacements chimiques d'un cluster pour l'identification de la classe chimique ou du composé s'il est connu. Pour cela, le logiciel ACD/Labs a été utilisé en y ajoutant notamment des données RMN prédites issues de VersaDB correspondant aux composés issus de plantes de même famille taxonomique que la plante étudiée. L'étude complète des spectres 1D et 2D a été réalisée afin d'établir la structure des composés sans ambiguïté. Les structures et déplacements chimiques des composés identifiés connus sont listés en Annexes (**Annexe 9, 10, 11, 12, 13**). D'autres outils prédictifs, tels que CSEARCH et nmrshiftdb2 ont été utilisés pour faciliter et confirmer les identifications structurales.

4. Relations composition chimique et activité biologique

Deux méthodes ont été utilisées afin de faire le lien entre les activités biologiques mesurées et la composition chimique. Une cartographie des activités anti-inflammatoires et cicatrisantes des fractions de CPC de *C. subcordata* et *G. taitensis* a été appliquée sur les réseaux moléculaires. Et l'utilisation du couplage HPLC-DPPH a permis d'identifier les principaux composés anti-radicalaires.

4.1. Cartographie de l'activité biologique

Les réseaux moléculaires des fractions de CPC de *C. subcordata* et *G. taitensis* ont été construits et annotés comme indiqué dans la section 3.1. LC-MS^2. Les tests d'activités anti-inflammatoires via l'inhibition de la 5-LOX et les tests de cicatrisation ont été réalisés sur ces mêmes fractions (section 2.3.2. et 2.4.). Afin de reporter les résultats des tests d'activités biologiques sur les réseaux moléculaires, un code couleur est établi. Pour l'activité cicatrisante, le vert distingue les composés des fractions qui accélèrent la cicatrisation et de l'orange est appliqué aux composés des fractions qui la ralentissent. Pour l'activité anti-inflammatoire, les composés des fractions qui réduisent la concentration de la 5-LOX sont en vert. Tous les composés des fractions inactives sont grisés. En fonction de la significativité des résultats des tests statistiques, les couleurs sont plus ($p \leq 0,01$) ou moins ($p \leq 0,05$) foncées afin de représenter l'intensité de l'activité. Ce code couleur permet de visualiser, sur les réseaux moléculaires, des clusters ou des composés isolés qui sont spécifiques des fractions actives et qui pourraient donc être responsables de l'activité.

4.2. Couplage HPLC-DPPH

Cette méthode décrite par Breaud *et al*. permet d'identifier les composés antiradicalaires dans les extraits bruts (148). Les composés ont d'abord été séparés à l'aide d'un système HPLC Agilent 1260, puis détectés à l'aide d'un détecteur DAD UV-Vis (DADG7117C) à 325, 280, 254 et 210 nm. Ensuite, les composés ont réagi avec la solution DPPH (80 g/mL) dans une boucle (25 m 0,25 mm, temps de contact de 1 min 14 s) alimentée par une autre pompe HPLC (pompe quaternaire G1311A) à 60 °C avec un débit de 0,2 mL/min. La solution réactionnelle finale est

détectée par un détecteur DAD UV-Vis (DAD G1315B) à 515 nm. La colonne Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 (2,1 × 100 mm, 1,8 µm) à 43 °C a été utilisée pour la séparation chromatographique. La phase mobile était composée d'eau (A) et d'acétonitrile (B), acidifiée à l'acide formique à 0,1 % (Carlo Erba, Italie), et le gradient suivant a été appliqué : maintien isocratique pendant 2 min à 5 % B, 5 à 50 % de B sur 2 à 17 min, 50 à 100 % de B sur 17 à 27 min, puis maintien isocratique pendant 2 min à 100 % de B, suivi d'une diminution à 5 % de B pour l'équilibrage de la colonne. Pour l'annotation des composés responsables de l'activité, le même gradient et la même colonne ont été utilisés pour l'analyse HPLC-DPPH en ligne et l'analyse LC-MS^2. Les extraits bruts ont été préparés à une concentration de 10 mg/mL. Le volume d'injection était de 1 µL et le débit de 0,2 mL/min. La rutine était utilisée comme contrôle positif et a permis de déterminer le temps entre les détecteurs.

Partie III : Résultats et discussion

Cette troisième partie compile et discute les résultats obtenus, en commençant par les procédés ayant permis d'obtenir, à partir des plantes collectées, les extraits et fractions constituant les échantillons étudiés. Les résultats des tests d'activités antioxydants, anticancéreux, anti-inflammatoires et cicatrisants sont ensuite exposés. Par la suite, la caractérisation chimique des échantillons est détaillée, notamment en se focalisant sur les extraits de plantes les plus prometteurs au vu de leurs activités biologiques. Les résultats des analyses LC-MS^2 et RMN, et leur représentation en réseaux moléculaires et carte de chaleur selon la méthode CaraMel sont donc développés. Enfin, les résultats des tests d'activités biologiques sont étudiés conjointement avec la composition chimique des extraits de plantes et des fractions issues afin d'identifier les composés pouvant être responsables de l'activité.

1. Échantillons de l'étude

Les cinq plantes sélectionnées font partie des plantes les plus utilisées dans la médecine traditionnelle polynésienne, en particulier pour des indications de soins cutanées. Ces plantes ont tout d'abord été collectées, puis séchées en étuve et broyées. L'extraction assistée aux ultrasons a permis d'obtenir les extraits bruts. Par la suite, ces extraits bruts ont été séparés en quatre extraits par partition liquide/liquide en ampoule à décanter avec des solvants de polarités croissantes : heptane, acétate d'éthyle (AcOEt), n-butanol, eau.

Les analyses HPTLC et LC-MS^2 réalisées sur ces extraits ont permis de sélectionner les extraits à l'acétate d'éthyle pour les fractionnements par CPC. Ces extraits ont été considérés les plus pertinents au vu de leurs richesses relatives en métabolites. Les extraits au butanol pourront être purifiés ultérieurement par HPLC préparative afin d'approfondir l'étude de leur composition avec plus de précision. Cette section 1 présente donc l'ensemble des étapes ayant permis d'obtenir les échantillons étudiés (**Figure 49**).

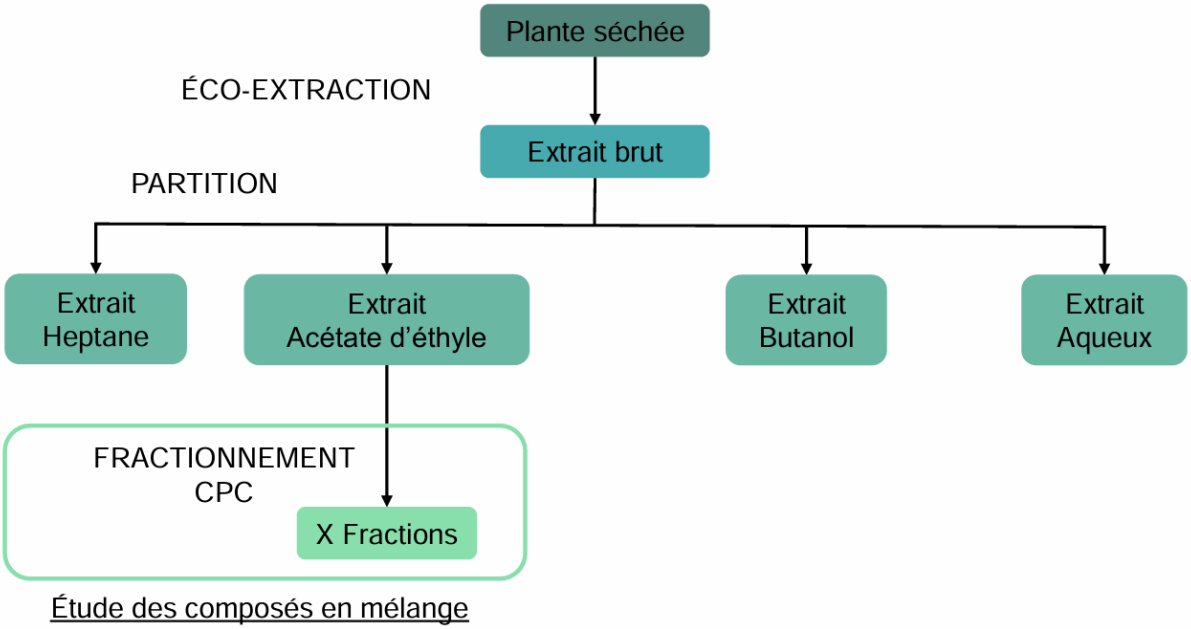


Figure 49 : Schéma général du processus de simplification des extraits bruts

1.1. Éco-extraction

Dans le but de réduire l'impact sur l'environnement, les principes d'éco-extraction ont été adoptés dans cette étude. Le choix des matières premières s'est porté sur des plantes médicinales parmi les plus abondantes en Polynésie française et sur des parties de plantes renouvelables. De plus, afin de ne pas épuiser le milieu naturel, des cultures de *G. taitensis*, *C. inophyllum* et de *C. longa* sont présentes sur le territoire. Étant donné l'objectif de valorisation industrielle potentielle, il est primordial de s'assurer en amont de la préservation de la biodiversité pour éviter toute surexploitation des ressources naturelles. Le choix des solvants d'extraction s'est ensuite porté sur des solvants verts, l'eau et l'éthanol. L'eau est le solvant le plus sûr pour l'environnement. Il est également peu coûteux. Mais étant très polaire, il a été associé à de l'éthanol pour optimiser l'extraction de métabolites à polarité moyenne. Ce dernier peut être bio-sourcé donc non issu de l'industrie pétrochimique. C'est également un solvant peu toxique et couramment utilisé dans l'industrie cosmétique. Le ratio choisi eau/éthanol (7:3, v/v) permet de maximiser la teneur en eau tout en ayant une polarité favorable à l'extraction des métabolites secondaires. Ainsi, ces solvants garantiront la sécurité des consommateurs et des opérateurs avec un moindre impact sur l'environnement. Enfin un procédé d'extraction assistée par ultrasons (UAE) a été employé afin d'intensifier et d'augmenter les performances de l'étape d'extraction. Cette méthode utilise les ultrasons afin de créer des microbulles qui ne cessent de croître pour finalement imploser. Ce processus de cavitation, au contact du matériel végétal, brise les parois cellulaires et libère ainsi des molécules dans le solvant. L'UAE a été choisie, car elle présente de nombreux avantages. Par rapport à des méthodes conventionnelles, elle réduit considérablement le temps d'extraction, permettant ainsi de diminuer la consommation d'énergie, tout en offrant des rendements équivalents ou supérieurs.

L'UAE a été effectué et, après concentration à l'évaporateur rotatif et lyophilisation, six extraits bruts ont été obtenus avec des rendements satisfaisants allant de 16,5 à 33,1 % (m/m) selon la plante étudiée (**Tableau 7**).

Tableau 7 : Rendements des extractions assistées aux ultrasons

Plantes	Organes	Masse (g)	Rendement (%, m/m)	Aspect
Ficus prolixa	Racines aériennes	62,46	16,5	Poudre marron
Cordia subcordata	Feuilles	85,68	17,5	Poudre vert foncé brillante
Gardenia taitensis	Fleurs	167,10	30,8	Poudre marron clair brillante
Calophyllum inophyllum	Amande	218,45	33,1	Extrait biphasique : huile vert clair et résine marron clair
Calophyllum inophyllum	Feuilles	151,96	21,5	Poudre vert mat
Curcuma longa	Rhizomes	80,93	24,6	Poudre orange

Par rapport aux méthodes conventionnelles, une diminution de la durée d'extraction et de meilleurs rendements ont effectivement été constatés. En effet, Hughes *et al*. ont appliqué une macération de 12 heures sur des fruits de *C. inophyllum*, ce qui a permis d'obtenir des rendements d'extraction de 0,76 % avec de l'eau, de 10,32 % avec de l'éthanol/eau (1:1, v/v) et de 11,98 % avec de l'éthanol (85). En comparaison, une heure d'UAE a permis d'obtenir un rendement de 33,1 % avec de l'éthanol/eau (7:3, v/v). De même, la méthode UAE a donné un rendement de 21,5 % pour les feuilles de *C. inophyllum*, alors qu'une méthode de percolation à température ambiante pendant 24 heures avec 95 % d'éthanol avait donné un rendement de 12 % selon Prasad *et al*. (159). De la même manière, le rendement de l'extrait de *C. longa* était plus élevé avec le procédé UAE (24,6 %) qu'avec la méthode d'extraction Soxhlet (8,9 %) décrite par Patil *et al*. utilisant de l'éthanol à 99 % pendant 12 heures à 60 °C (160).
Ainsi, le procédé d'éco-extraction adopté a permis d'obtenir des quantités largement suffisantes à l'ensemble des tests d'activités biologiques et à l'étude de la composition chimique.
Cette étape d'extraction offre de nombreuses perspectives. Après la caractérisation de la composition chimique et l'identification des principes actifs, la méthode pourrait être optimisée afin d'augmenter les teneurs des composés d'intérêt. De plus, il pourrait être envisagé d'utiliser l'huile de *C. inophyllum*, issue de l'extraction du fruit, comme solvant d'extraction. Cette approche permettrait de se passer de solvants, mais aussi de réutiliser cette huile végétale comme un coproduit qui participerait à la formulation. Par la suite, des équipements d'UAE à grand volume ayant été acquis dans le cadre de ce projet, le procédé d'extraction pourrait être transposé de l'échelle pilote à l'échelle industrielle. Enfin, dans l'objectif d'une valorisation cosmétique, ces éco-extraits pourraient, s'ils répondent à tous les critères, prétendre à une certification biologique ou naturelle.

1.2. Partition liquide/liquide

Dans le but de réaliser l'étude de la composition chimique, chaque extrait brut a été séparé en quatre extraits par des partitions liquide/liquide utilisant des solvants de polarités croissantes : l'heptane, l'acétate d'éthyle, le n-butanol et l'eau. Elles ont été réalisées en ampoule à décanter à partir de 20 g d'extrait brut. Pour l'extrait brut d'amande de *C. inophyllum* biphasique, ce procédé a été appliqué à la phase résineuse, potentiellement plus concentrée en métabolites secondaires. Cette méthode n'utilisant pas de phase solide pour la séparation, elle présente peu de perte et les rendements totaux sont élevés, allant de 94 à 99 % (**Tableau 8**). Les extraits bruts ayant été obtenus à partir d'éthanol 70%, ils comportent une faible proportion de composés apolaires et les extraits à l'heptane ont donc globalement un faible rendement. La résine de *C. inophyllum* fait exception en raison de la présence d'acide gras. Les extraits aqueux obtenus représentent une proportion importante, avec des rendements allant de 54 à 76 %. Les extraits à l'AcOEt et au butanol ont, eux, des proportions intermédiaires avec des rendements compris entre 4 et 31 %. Afin de renseigner la composition de ces échantillons, des analyses HPTLC ont été réalisées. Le but étant notamment de sélectionner quels extraits seront à fractionner par CPC. Après plusieurs essais

sur CCM, une phase mobile $CHCl_3$/MeOH (9/1) a été préférée pour les extraits à l'heptane et à l'AcOEt et une solution AcOEt/Toluène/AF/AA (7/3/1/1) pour les extraits butanol et aqueux. Les résultats sont ensuite révélés sous UV à 366 nm et sous lumière blanche après pulvérisation de vanilline sulfurique (**Figure 50**). Des photos complémentaires des plaques, sous UV à 254 nm et après pulvérisation de vanilline sulfurique sous UV à 254 et 366 nm, sont disponibles en annexe (**Annexes 3 et 4**).

Tableau 8 : Rendements des partitions liquide/liquide et masse des extraits obtenus

Plantes	Solvant	Masse (g)	Rendement (%)	Rendement total
F. prolixa	Heptane AcOEt Butanol Aqueux	1,6 1,0 4,5 12,0	**8** **5** **22,2** **59,6**	98,7%
C. subcordata	Heptane AcOEt Butanol Aqueux	1,0 0,7 2,1 15,6	**4,9** **3,6** **10,0** **75,7**	94,3%
G. taitensis	Heptane AcOEt Butanol Aqueux	0,6 0,8 3,6 14,2	**2,9** **4,2** **17,7** **70**	94,8%
C. inophyllum résine	Heptane AcOEt Butanol Aqueux	4,2 2,3 1,2 11,9	**20,7** **11,2** **6** **58,5**	97,6%
C. inophyllum feuille	Heptane AcOEt Butanol Aqueux	1,3 2,8 3,6 10,9	**6,4** **14** **18** **55**	97,7%
C. longa	Heptane AcOEt Butanol Aqueux	1,2 6,7 1,2 11,8	**5,4** **30,8** **5,3** **54,1**	95,6%

Sur les plaques des HPTLC, on observe la présence de chlorophylles dans les extraits à l'heptane et à l'AcOEt de feuilles de *C. inophyllum*, de *C. subcordata* et dans les fleurs de *G. taitensis*. On constate la présence majoritaire de curcumines dans les extraits à l'heptane et à l'AcOEt de *C. longa*. On remarque aussi la présence de sucres et autres composés très polaires qui migrent très peu, dans tous les extraits aqueux et au butanol. L'ensemble des extraits à l'AcOEt et au butanol présentent tous deux des composés de polarité moyenne. Les extraits à l'AcOEt montrent une grande diversité de composés avec une bonne répartition à l'élution. Ils semblent plus adaptés pour une transposition en fractionnement par CPC et une bonne séparation des composés dans les fractions. Sachant que les fractions obtenues par CPC constituent un mélange de composés à analyser en RMN, leurs compositions ne doivent pas être trop complexes pour rester exploitables. Les extraits à l'AcOEt ont donc été sélectionnés pour le fractionnement par CPC. Les fractions résultantes pourront être analysées en LC-MS^2 pour l'étude des réseaux moléculaires et en RMN pour un traitement des données selon la

procédure CaraMel. Les autres extraits seront analysés en LC-MS^2 avec un mode d'ionisation en positif et négatif pour compléter la caractérisation chimique des plantes étudiées.

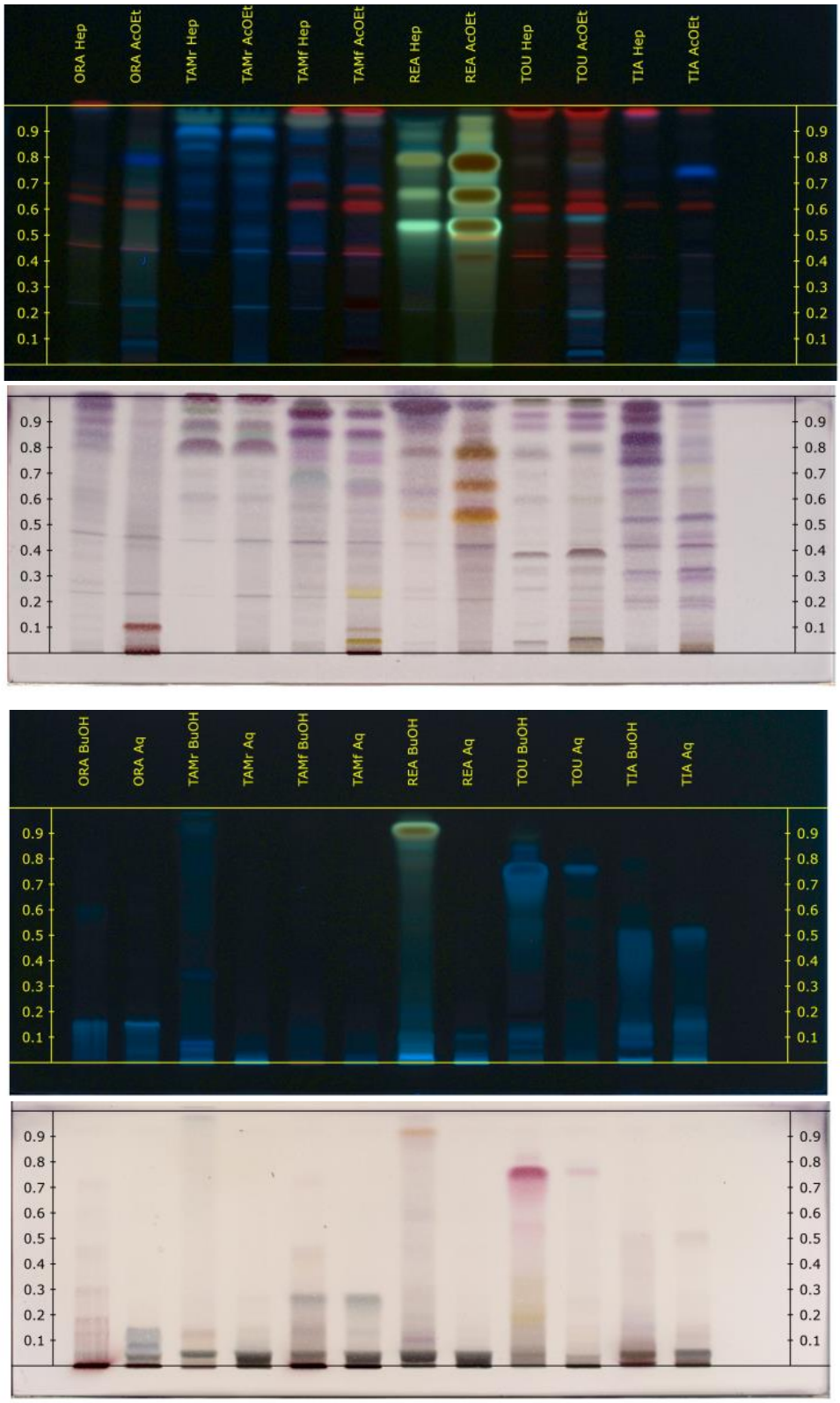


Figure 50 : Photo des plaques HPTLC des extraits à l'heptane, à l'AcOEt, au butanol et aqueux sous UV à 366 nm et sous lumière blanche après pulvérisation de vanilline sulfurique

(ORA=*F. prolixa*, TAMr=résines de *C. inophyllum*, TAMf=feuilles de *C. inophyllum*, REA=*C. longa*, TOU=*C. subcordata*, TIA=*G. taitensis*)

1.3. Fractionnement par CPC

Le fractionnement par CPC permet de simplifier un extrait complexe en répartissant les molécules qui le composent dans les différentes fractions. Le nombre de fractions varie de 10 à 20 selon la complexité de l'échantillon initial. Cette méthode de fractionnement présente de nombreux avantages. Cette technique qui utilise deux phases liquides permet d'obtenir un rendement théorique de 100 % en collectant la phase stationnaire lors de l'extrusion. L'absence de phase solide permet d'éviter les phénomènes d'absorption ou de désorption, ce qui empêche les contaminations croisées. Elle limite également la dégradation des molécules fragiles. Ainsi, la manipulation totalement réversible et la réunion des fractions obtenues permettent un retour à l'identique de l'échantillon initial.

Les extraits ayant montré une activité biologique prometteuse ont été fractionnés. Pour le *F. prolixa*, un système AcOEt/ACN/eau (4/1/5) a été utilisé en mode descendant. Ainsi, la phase stationnaire est composée d'un mélange AcOEt/ACN et la phase mobile du mélange ACN/eau. Après analyse par CCM et regroupement des tubes, 15 fractions ont été obtenues, avec un rendement de 91 % (**Figure 51**). Les 6 dernières fractions, de 10 à 15, font partie de l'extrusion.

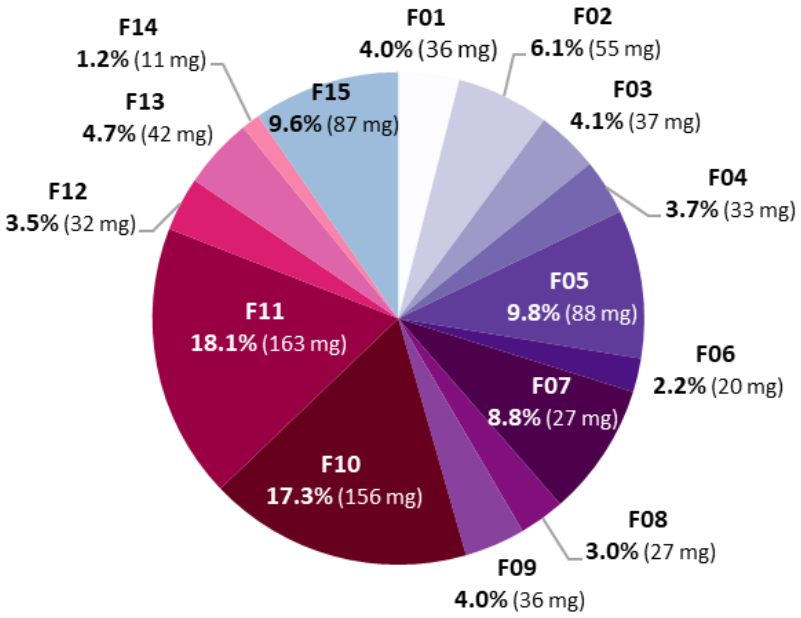


Figure 51 : Diagramme circulaire des proportions et masses des fractions de CPC de *F. prolixa*

L'extrait à l'AcOEt de *C. subcordata* a été fractionné en utilisant un système biphasique AcOEt/ACN/eau (3/2/5) en mode descendant. La phase stationnaire apolaire (AcOEt/ACN) était donc traversée par une phase mobile polaire composée d'ACN et d'eau. Après regroupement des tubes selon les analyses par CCM, 16 fractions ont été obtenues avec un rendement global de 94 %.

Les trois dernières fractions sont issues de la phase d'extrusion. (**Figure 52**).

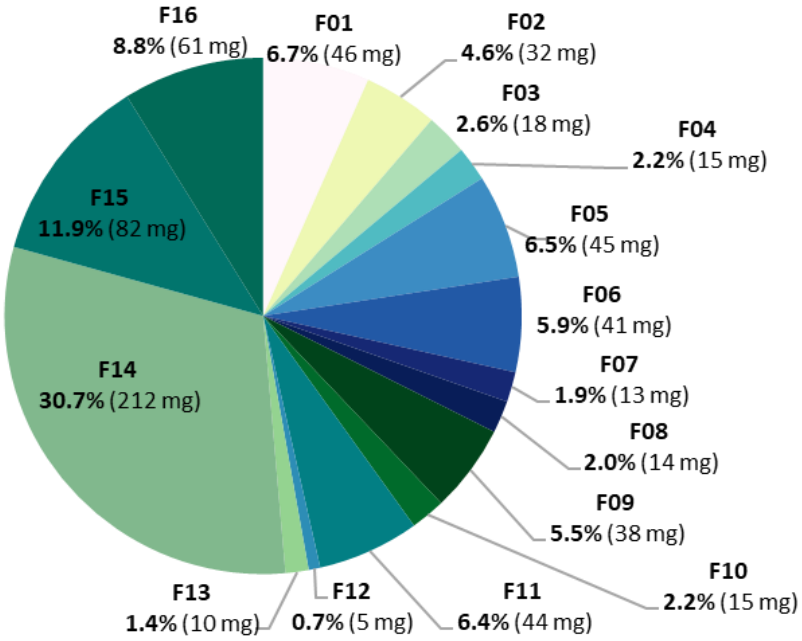


Figure 52 : Diagramme circulaire des proportions et masses des fractions de CPC de *C. subcordata*

L'extrait à l'AcOEt de *G. taitensis* a été fractionné en utilisant un système de solvant AcOEt/MeOH/eau (4/1/5) en mode descendant. La phase stationnaire était donc un mélange AcOEt/MeOH et la phase mobile un mélange MeOH/eau. Après analyse CCM et regroupement des tubes, 14 fractions ont été obtenues, avec un rendement de 94 % (**Figure 53**). Les fractions 11 à 14 font partie de l'extrusion.

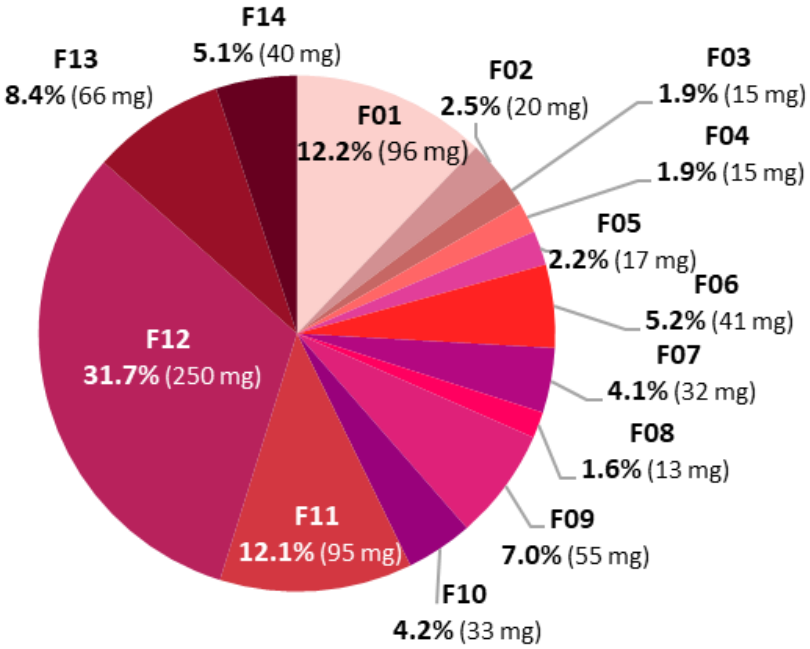


Figure 53 : Diagramme circulaire des proportions et masses des fractions de CPC de *G. taitensis*

Un système à quatre solvants Hep/AcOEt/MeOH/eau (4/1/4/1) en mode ascendant a été utilisé pour le fractionnement par CPC de l'extrait à l'AcOEt de résine de *C. inophyllum*. La phase stationnaire polaire était donc composée d'un mélange MeOH/eau et traversée par une phase mobile plus apolaire constituée d'heptane et d'AcOEt. Un rendement de 94 % a été obtenu et, parmi les 12 fractions résultantes, la 10, la 11 et la 12 font partie de l'extrusion (**Figure 54**).

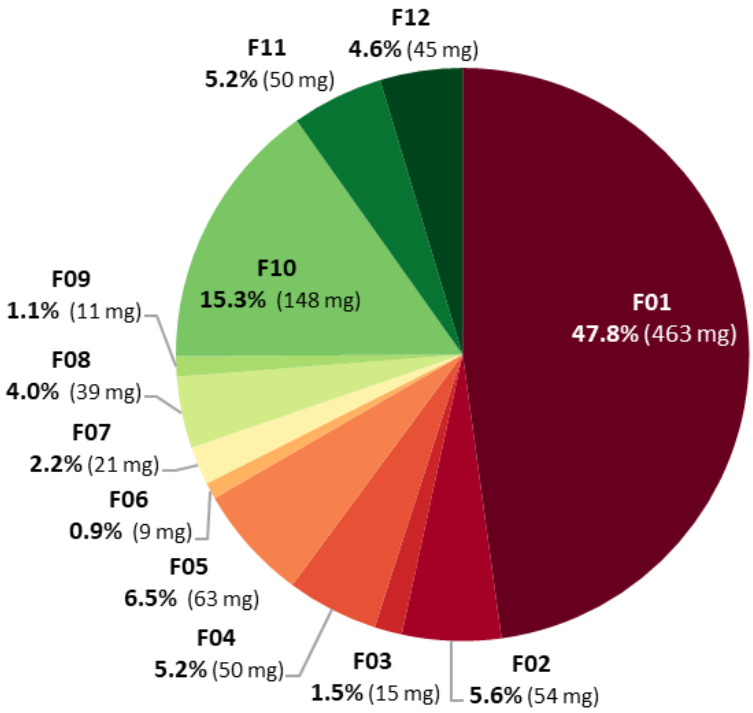


Figure 54 : Diagramme circulaire des proportions et masses des fractions de CPC de résine de *C. inophyllum*

1.4. Conclusion partielle

Les éco-extractions assistées aux ultrasons ont permis d'obtenir des extraits bruts en quantité suffisante pour l'ensemble de l'étude. Avec l'utilisation de solvant vert et de plantes abondantes ou cultivées, ce procédé s'inscrit dans une démarche éco-responsable.

Par la suite, les partitions liquide/liquide et le fractionnement par CPC ont permis de simplifier les extraits en vue de l'étude de leur composition chimique. Ces échantillons pourront être analysés à la fois en LC-MS^2, pour la construction de réseaux moléculaires et l'annotation des composés, et en RMN pour l'identification de composés grâce à la procédure CaraMel.

2. Tests d'activités biologiques

Afin d'envisager une valorisation pharmaceutique ou cosmétique des plantes polynésiennes sélectionnées pour les soins de la peau, leurs propriétés biologiques sont investiguées. Les tests *in vitro* et *in cellulo* prévus dans le cadre de cette étude, visent à évaluer les activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives sur les mélanomes cutanés et cicatrisantes. Les extraits bruts sont testés dans un premier temps avant de poursuivre les tests avec d'autres échantillons lorsqu'une plante révèle une activité prometteuse. L'innocuité des échantillons de l'étude sur les cellules de la peau est également vérifiée.

2.1. Propriétés antioxydantes et antiradicalaires

Les ERO sont des composés oxydants qui jouent un rôle primordial pour favoriser la croissance, la prolifération et la différenciation cellulaires (21). Néanmoins, leur grande réactivité induit des modifications irréversibles des protéines, des lipides et des acides nucléiques, et ses dommages peuvent engendrer la mort cellulaire. Le système oxydoréducteur est donc régulé par la présence d'antioxydants enzymatiques ou non. En cas de déséquilibre, le stress oxydatif peut être responsable, au niveau de la peau d'acné, de vieillissement de la peau, de cancers ou encore de défaut de cicatrisation (4,8,23,25). L'apport d'antioxydants naturels peut alors présenter une solution pour rétablir l'équilibre. Les tests suivants permettent donc d'évaluer les propriétés antioxydantes et antiradicalaires des extraits bruts des plantes étudiées.

2.1.1. Teneur en composés phénoliques (TPC)

- **Principe de l'évaluation de la TPC**

Les composés phénoliques, tels que les flavonoïdes, les coumarines, les xanthones et les acides phénoliques, sont des composés naturels présents dans les plantes, connus pour avoir des propriétés antioxydantes. Les composés phénoliques sont caractérisés par un noyau aromatique avec des substituants -OH ou -OCH_3. Ils ont la possibilité de donner un atome d'hydrogène ou un électron en raison de leur capacité à rapidement stabiliser le radical phénol formé (161). C'est pourquoi une quantité élevée de composés phénoliques au sein d'un extrait peut suggérer des propriétés antioxydantes et antiradicalaires. La teneur en composés phénoliques des extraits bruts a donc été évaluée selon la méthode Folin-Ciocalteu (150).

- **Résultats**

Les résultats ont été exprimés en équivalent d'acide gallique (EAG) et sont présentés dans le **tableau 9**. L'extrait de feuilles de *C. inophyllum* a montré une TPC de 143 mg EAG/g. Cette teneur est cohérente avec l'étude de Hapsari *et al*. qui ont décrit une valeur assez similaire pour un extrait éthanolique (124,89 mg EAG/g) (162). En effet, les feuilles de *C. inophyllum* sont connues pour contenir plus de xanthones et de flavonoïdes que les fruits (163). Les fruits de *C. inophyllum* ont montré un taux plus faible que les feuilles avec une TPC de 71 mg EAG/g. Cette différence est probablement due à la forte proportion de lipides dans cet extrait huileux, induisant ainsi un effet de dilution. Cassien *et al*. ont également obtenu une faible teneur dans

un extrait similaire (14 mg EAG/g) (164). Une TPC de 140 mg EAG/g a été obtenue pour les rhizomes de *C. longa*, en raison de leurs principaux constituants les curcuminoïdes. Une étude antérieure menée par Singh *et al*. a montré une TPC de 112,50 mg EAG/g pour un extrait éthanolique de curcuma obtenu par UAE, décrivant ainsi une valeur similaire à nos résultats (165). À notre connaissance, ce test n'avait pas été réalisé sur des extraits de *G. taitensis*, *C. subcordata*, ou de *F. prolixa* auparavant. Les valeurs de cette étude sont donc les premières établies et n'ont pu être comparées à des résultats antérieurs. De plus, la composition de ces plantes n'est peu, voire pas renseignée dans la littérature. Une TPC de 75 mg EAG/g est mesurée pour l'extrait de fleurs de *G. taitensis*, tandis que l'extrait de *C. subcordata* avait une TPC de 139 mg EAG/g. La teneur la plus élevée a été obtenue pour l'extrait brut de racines aériennes de *F. prolixa* avec une valeur de 148 mg EAG/g.

Tableau 9 : Teneurs en composés phénoliques dosées dans les extraits bruts

Exprimées en équivalent d'acide gallique (EAG)

Plantes	TPC (mg EAG/g Extract)
F. prolixa	148
C. inophyllum feuille	143
C. longa	140
C. subcordata	139
G. taitensis	75
C. inophyllum fruit	71

2.1.2. Activité antiradicalaire *in vitro*

- **Principe du test au DPPH**

L'activité antiradicalaire des extraits bruts a été évaluée par le test utilisant le réactif 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Le DPPH se caractérise par une couleur violette correspondant à une absorbance en spectrophotométrie UV/Vis à 517 nm. Ce test évalue la capacité à réduire le radical azoté du DPPH pour obtenir le DPPH-H qui donne une couleur jaune à la solution d'extrait à évaluer. En présence de composés donneurs d'hydrogène, on observe une diminution de l'absorbance corrélée à la concentration. La concentration efficace permettant de diminuer l'absorbance de 50 % et donc de neutraliser 50 % des radicaux libres (CE_{50} en µg/mL) est calculée à partir des triplicats et comparée à un contrôle positif, l'acide ascorbique (CE_{50} = 5,17 µg/mL). Plus la CE_{50} est faible, plus l'activité antiradicalaire est élevée.

- **Résultats**

La CE_{50} obtenue pour les extraits étudiés varie de 8,75 à 27,03 µg/mL (**figure 55**). La gamme de concentrations utilisée allant de 5 à 100 µg/mL n'a pas permis de déterminer avec précision la CE_{50} de l'extrait de fruit de *C. inophyllum*. La faible activité antiradicalaire de cet extrait avait été mentionnée par les travaux de Cassien *et al*. avec une CE_{50} de 432 µg/ml pour l'huile de *C. inophyllum* pressée à froid (164). L'extrait de feuilles de *C. inophyllum* a montré une activité antiradicalaire plus élevée avec une CE_{50} de 10,18 µg/ml. L'extrait de rhizome de *C. longa* avait

une CE_{50} de 23,89 µg/ml, en accord avec les résultats de Sabir *et al*. qui ont décrit des résultats similaires pour un extrait éthanolique de curcuma (CE_{50} = 27,2 µg/ml) (166).

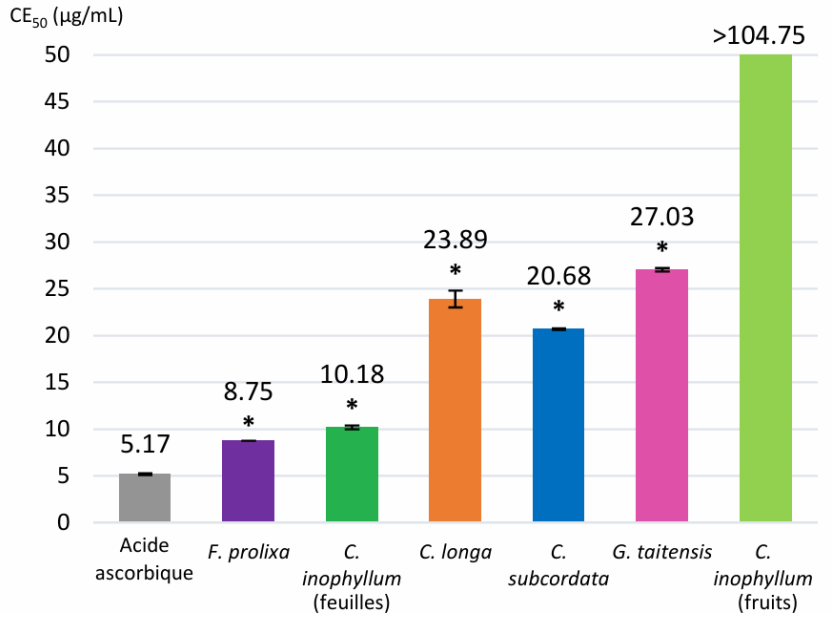


Figure 55 : Activité antiradicalaire des extraits bruts évaluée par le test DPPH

Exprimée par la concentration efficace neutralisant 50 % des radicaux libres (CE_{50})

* = significativement différent du contrôle avec p ≤ 0,0001

Malgré une faible teneur en composés phénoliques, l'extrait de fleurs de *G. taitensis* possède une activité antiradicalaire avec une CE_{50} de 27,03 µg/mL. Cette activité peut également être due à des constituants non phénoliques. De telles propriétés ont été précédemment rapportées dans le genre *Gardenia* dans les fleurs de *G. jasminoides* (167,168). Parmi les extraits de plantes étudiés, l'extrait brut de *F. prolixa* avait la valeur CE_{50} la plus basse (CE_{50} = 8,75 µg/mL), suggérant l'activité antiradicalaire plus importante.

2.1.3. Activité antioxydante *in vitro*

- **Principe du test FRAP**

Afin de déterminer l'activité antioxydante, le test FRAP (d'après l'anglais « ferric-reducing antioxidant power ») évalue la capacité à réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} au sein du complexe formé par le 2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ). Cette réaction induit un changement de couleur de la solution testée qui devient bleue, ce qui correspond à une absorbance en spectrophotométrie UV/Vis à 593 nm. Plus la valeur de FRAP est élevée, plus l'activité antioxydante est forte. Le test a été réalisé en triplicat. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif montrant une valeur de FRAP de 11,85 mmol Fe^{2+}/g.

- **Résultats**

Les valeurs de FRAP obtenues pour les extraits de plantes étudiés sont comprises entre 0,89 et 4,23 mmol Fe^{2+}/g (**Figure 56**). L'extrait de fruits de *C. inophyllum* a montré la valeur de FRAP la plus faible (0,89 mmol Fe^{2+}/g) parmi les extraits testés, indiquant de faibles propriétés antioxydantes. La valeur de FRAP de l'extrait de feuilles de *C. inophyllum* était plus élevée (2,89

mmol Fe^{2+}/g) que celle de l'extrait de fruits. Les travaux de Hughes *et al*. décrivaient également cette différence d'activité antioxydante entre les feuilles et les fruits de *C. inophyllum* (85).

Pour le *C. longa*, dont les propriétés antioxydantes sont bien documentées, la valeur de FRAP obtenue était de 3,32 mmol Fe^{2+}/g (169). L'extrait de *C. subcordata* a révélé une valeur de FRAP de 3,03 mmol Fe^{2+}/g. Les propriétés de cette plante sont très peu documentées, mais une étude antérieure a montré l'activité antioxydante d'un extrait éthanolique de ses feuilles sur les rongeurs (122). La valeur de FRAP de l'extrait de *G. taitensis* se révèle être assez basse (1,25 mmol Fe^{2+}/g). L'extrait de *F. prolixa* a montré la valeur de FRAP la plus élevée (4,23 mmol Fe^{2+}/g), indiquant la meilleure activité antioxydante parmi les extraits de plantes étudiés.

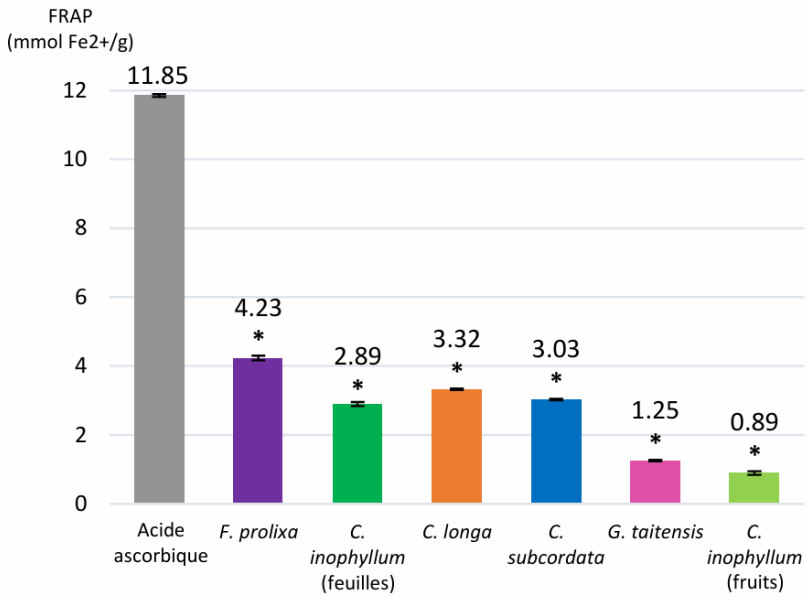


Figure 56 : Activité antioxydante des extraits bruts évaluée par le test FRAP

Exprimée par le taux de Fe^{2+} formé

* = significativement différent du contrôle avec p ≤ 0,0001

Dans cette étude, les résultats des tests DPPH et FRAP des extraits testés semblent cohérents entre eux et avec les teneurs en composés phénoliques des extraits. Les extraits bruts contenant une grande quantité de composés phénoliques, comme le *F. prolixa*, semblent avoir de meilleures propriétés antioxydantes et antiradicalaires. À notre connaissance, aucune étude n'avait encore rapporté les propriétés du *F. prolixa*. Une autre espèce de *Ficus*, le *F. microcarpa*, possède des propriétés antioxydantes et antiradicalaires, comme l'ont décrit Ao *et al*. avec notamment un test DPPH indiquant une CE_{50} de 6,8 µg/mL pour un extrait méthanolique de racines aériennes (170).

Ainsi, parmi les cinq extraits de plantes étudiés, *F. prolixa* a montré les activités antioxydantes et antiradicalaires les plus prometteuses. Cet extrait a donc été sélectionné pour investiguer ses propriétés au niveau intracellulaire sur kératinocytes grâce aux tests AOP1 et AOP2.

2.1.4. Activité antioxydante intracellulaire

Les tests d'activité antioxydante intracellulaire ont été effectués par l'entreprise toulousaine AntiOxydant Power en tant que prestataire.

- **Principe du test AOP1**

De l'anglais « AntiOxidant Power », le test AOP1 permet d'évaluer l'activité antioxydante intracellulaire. Ce test utilise la technologie brevetée Light-Up Cell System (LUCS) basée sur la production intracellulaire d'espèces réactives à l'oxygène grâce à l'ajout dans le milieu de culture du thiazole orange (TO) (**Figure 57**). Ce biocapteur est un acide nucléique fluorescent et photo-inductible. En condition initiale, une faible quantité de TO s'incorpore à l'ADN et la majorité est rejetée hors de la cellule par les transporteurs d'efflux. Dans un second temps, l'application de flash lumineux en présence de ce biocapteur entraîne la production d'oxygène singulet qui déclenche une cascade biochimique entraînant la production d'ERO. La présence d'ERO dans la cellule perturbe les mécanismes physiologiques et réduit la sortie du TO. La quantité de TO incorporée à l'ADN et la fluorescence émise augmentent (171). Par conséquent, plus le nombre de flashs lumineux augmente, plus la quantité d'ERO est élevée et plus la fluorescence mesurée l'est également. En présence de composés antioxydants, un retard dans l'évolution cinétique de l'émission de fluorescence est observé. Cette approche évalue la capacité des échantillons à neutraliser le stress oxydatif intracellulaire (172).

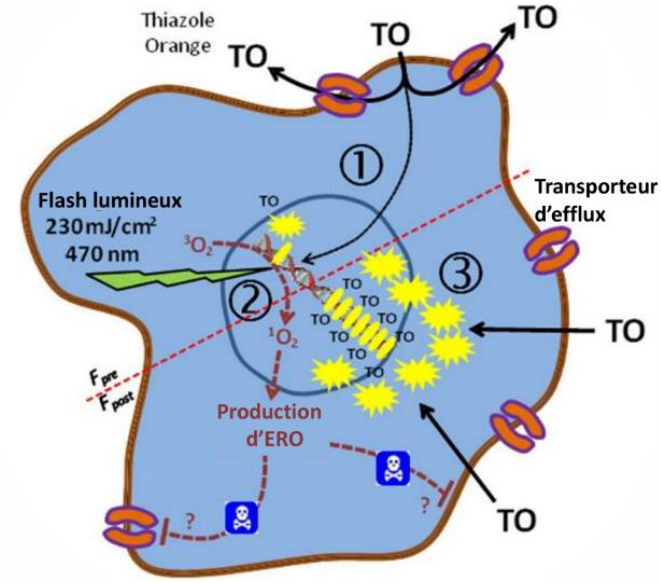


Figure 57 : Schéma du mécanisme de la technologie LUCS utilisée dans le test AOP1 (171)
① TO expulsé par les transporteurs d'efflux, seule une petite quantité de TO atteint l'ADN
② Application de flash lumineux qui va induire la production d'ERO
③ Stress oxydatif et perte de fonctions cellulaires permettant l'entrée massive de TO et l'augmentation de la fluorescence

- **Résultats**

Ce test, réalisé sur des kératinocytes humains (HaCaT), a permis d'évaluer l'activité antioxydante intracellulaire de l'extrait de *F. prolixa*. Le graphique cinétique (**Figure 58A**) montre le % de fluorescence par rapport au nombre de flashs lumineux appliqués, et ce à différentes concentrations d'extrait de *F. prolixa* (allant de 0,012 mg/mL à 3,125 mg/mL). La sigmoïde noire est le contrôle négatif (sans extrait ajouté), montrant l'augmentation de la fluorescence caractéristique d'une réponse cellulaire normale lors de l'induction de la production d'ERO. Les courbes dose-réponse ont montré l'indice antioxydant, calculé en fonction du logarithme décimal de la concentration de l'échantillon (**Figure 58B**).

L'extrait brut de *F. prolixa* a montré une activité antioxydante neutralisant les radicaux libres intracellulaires sur les cellules HaCaT avec une CE_{50} de 268,0 µg/mL. La CE_{10} de 77,6 µg/mL indique la concentration nécessaire pour avoir une activité antioxydante. La CE_{90} de 924,6 µg/mL représente la concentration qui neutralise 90 % des ERO produits. Aucun effet cytotoxique n'a été détecté après 1 h pour toutes les concentrations testées. À titre d'exemple de comparaison, le resvératrol a une CE_{50} de 0,26 µg/mL sur ce même test (données non publiées). Ainsi, l'extrait de *F. prolixa* a démontré, à travers le test AOP1, sa capacité à réduire le stress oxydatif au sein des cellules cutanées et à fournir une forte activité antioxydante directe, et ce à des concentrations non cytotoxiques. Ces données sont des résultats prometteurs en vue d'une utilisation topique de cet extrait antioxydant.

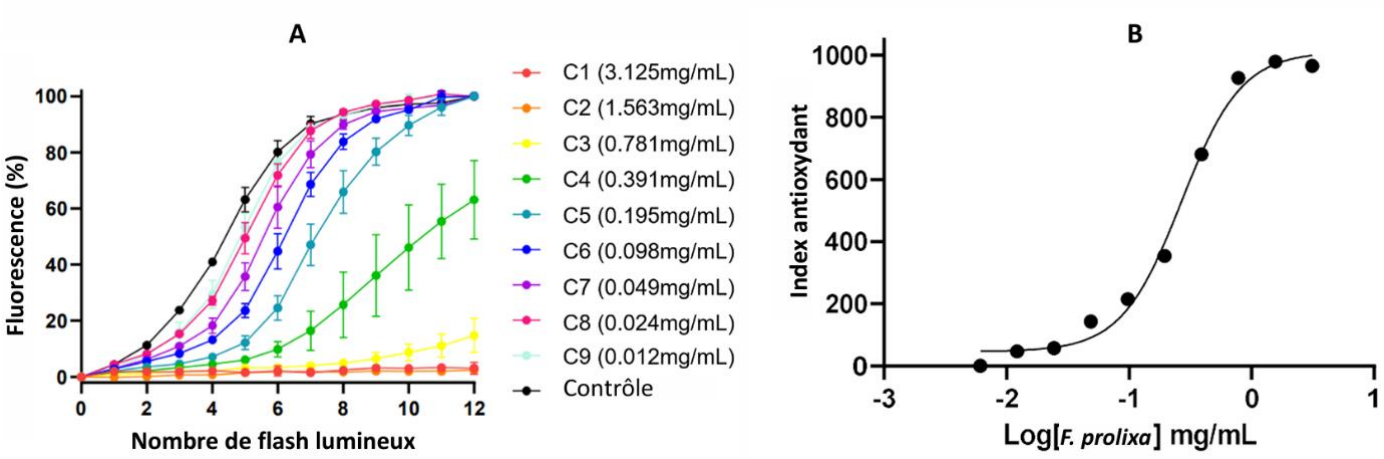


Figure 58 : Activité antioxydante intracellulaire de l'extrait brut de *F. prolixa* évaluée par le test AOP1. (A) données cinétiques : fluorescence (%) obtenue avec des flashs lumineux croissants à chaque concentration testée ; (B) graphique dose-réponse (CE_{50} = 268,0 µg/ml).

- **Principe du test AOP2**

Le test AOP2 a également été réalisé afin de déterminer l'activité antioxydante indirecte de l'extrait de *F. prolixa* en évaluant l'impact de l'échantillon sur la voie génomique ARE/NrF2. Cette voie génomique est bien connue pour augmenter la capacité des cellules à s'adapter au stress oxydant (24). Ce test utilise l'approche gène rapporteur dont le principal objectif est d'étudier le promoteur d'un gène d'intérêt, c'est-à-dire la régulation de son expression. Le test AOP2 mesure donc la capacité de l'échantillon à induire la translocation nucléaire du facteur de transcription Nrf2, issus du complexe cytosolique Keap1/Nrf2, permettant l'activation de la séquence promotrice ARE. Dans les kératinocytes utilisés, la séquence promotrice ARE est couplée à l'expression de l'enzyme luciférase qui, en présence de luciférine, catalyse la production du composé luminescent oxyluciférine. Ainsi, l'expression du gène est quantifiée par mesure de la luminescence.

- **Résultats**

Sur ce test AOP2, l'extrait brut de *F. prolixa* n'a pas montré d'activité antioxydante indirecte par l'activation de la voie Nrf2 sur les cellules HaCaT en comparaison aux contrôles négatif et positif. Les résultats des différentes concentrations testées (allant de 0,8 à 195 µg/mL) sont disponibles en annexe (**Annexe 5**). Aucun effet cytotoxique n'a été détecté, après 17 h de traitement, pour toutes les concentrations.

2.2. Activité cytotoxique et anti-mélanome

Les tests d'activités cytotoxiques sont effectués afin de déterminer l'impact des échantillons sur les viabilités des kératinocytes et des fibroblastes. Cette condition doit être vérifiée avant de réaliser d'autres tests sur ses cellules. Ce test permet également de vérifier l'innocuité des extraits sur les cellules de la peau pour une future application topique. Par la suite, les tests anti-mélanomes cutanés permettent de déterminer l'activité des échantillons sur ces cellules cancéreuses. Les mélanomes cutanés sont la forme la plus agressive des cancers de la peau et les recherches se poursuivent afin de mettre en évidence des traitements plus spécifiques et ciblant les cellules cancéreuses.

2.2.1. Viabilité cellulaire

Ce test a été réalisé en amont des tests d'inflammations et de cicatrisations afin d'évaluer la toxicité des échantillons sur les kératinocytes (HaCaT) et les fibroblastes (ClhuFIB).

- **Principe du test AlamarBlue**

Le réactif AlamarBlue est un indicateur de viabilité cellulaire. Il utilise le pouvoir réducteur des cellules vivantes pour convertir la résazurine (composé bleu non fluorescent) en résorufine à fluorescence rouge, ensuite quantifié par spectrofluorimétrie.

- **Résultats**

Les extraits bruts ont été testés en triplicatas et les résultats ont été comparés au contrôle négatif (DMSO) pour exprimer le pourcentage de cellules viables en fonction de la concentration, allant de 1 à 200 µg/mL. Ainsi, seul l'extrait de *C. longa* a révélé une forte cytotoxicité sur les kératinocytes et les fibroblastes avec une CI_{50} de 30 µg/mL et 40 µg/mL respectivement (**Figure 59)**. Les autres extraits ont montré une faible, voire une absence d'activité sur ces deux types cellulaires, ce qui montre leur relative innocuité. Leurs résultats au test AlamarBlue sont disponibles en annexe (**Annexe 6**).

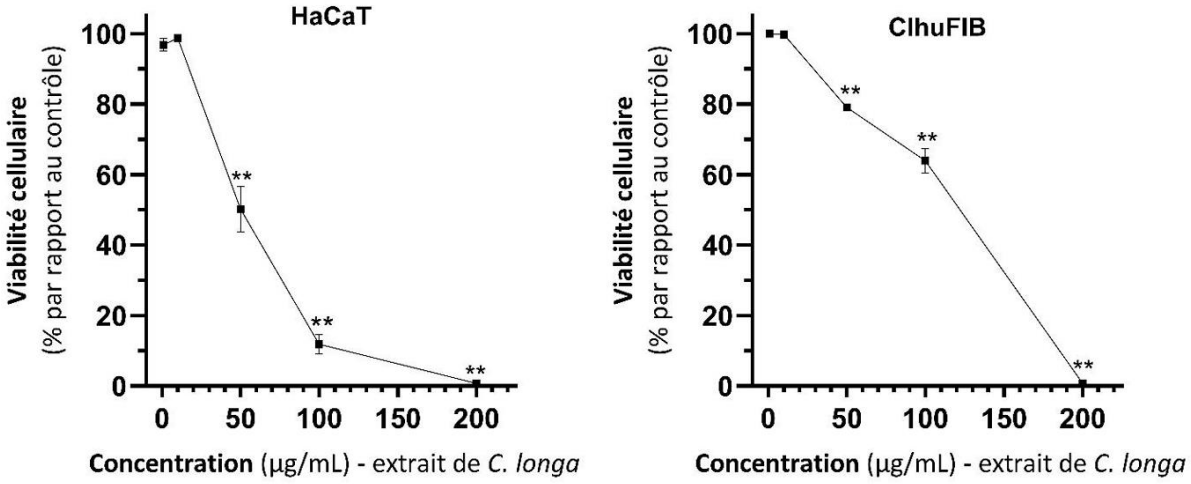


Figure 59 : Activités cytotoxiques de l'extrait de *C. longa* évaluées par AlamarBlue sur les kératinocytes (HaCat) et les fibroblastes (ClhuFIB)

** = différence significative par rapport au contrôle à $p \leq 0,01$

2.2.2. Inhibition de la prolifération ou induction de la mort cellulaire

- **Principe**

Ce test procède à un criblage primaire permettant de mettre en évidence les échantillons qui pourraient avoir un impact sur le cycle cellulaire ou sur la mort cellulaire. Pour cela, les cellules (kératinocytes, fibroblastes et mélanomes) ont été exposées aux échantillons. Les noyaux sont ensuite colorés au Hoechst et comptés. Le nombre de cellules est donc rapporté au contrôle négatif (DMSO) et exprimé en fonction de la concentration des échantillons. Une CI_{50} relative est calculée selon l'amplitude de la sigmoïde obtenue ou estimée. La roscovitine a servi de contrôle positif (**Figure 60**).

- **Résultats sur les kératinocytes et les fibroblastes**

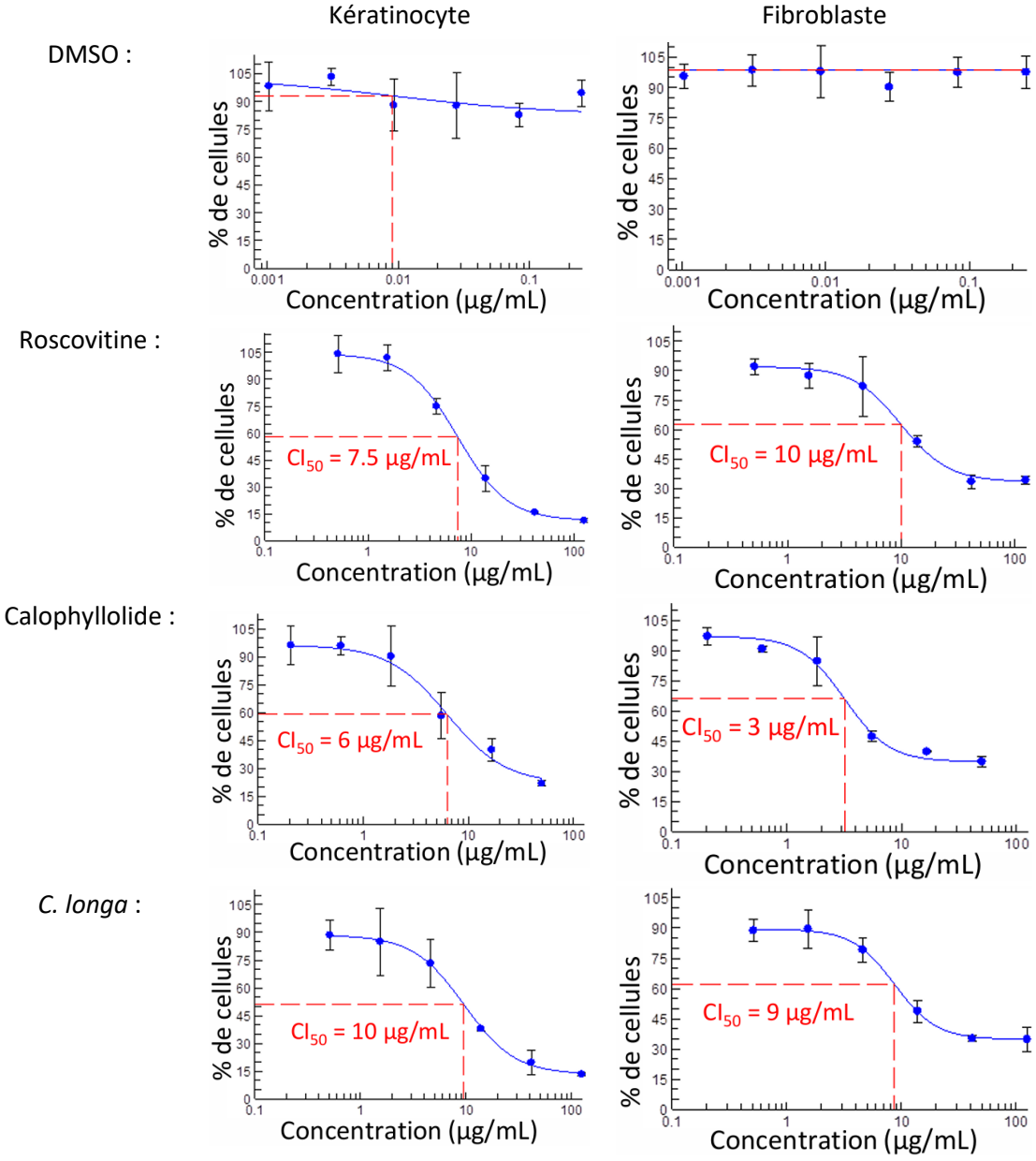


Figure 60 : Graphique de l'activité inhibitrice sur les kératinocytes et les fibroblastes
Exprimée par la CI_{50} relative calculée selon l'amplitude de la sigmoïde

Sur les kératinocytes et les fibroblastes, le calophyllolide montre une activité similaire, voire supérieure au contrôle positif de la roscovitine. À notre connaissance, aucune étude antérieure ne renseigne les propriétés cytotoxiques de ce composé sur des cellules saines. L'extrait de *C. longa* a aussi révélé une activité sur ces deux types cellulaires, indiquant des résultats cohérents avec ceux des tests de viabilité cellulaire Alamarblue réalisés au laboratoire MEDyC à Reims. Selon deux revues de la littérature, peu d'études ont été menées sur la cytotoxicité du *C. longa* et de la curcumine sur les cellules saines (114,173). Les résultats suggèrent que le *C. longa* et la curcumine sont généralement cytotoxiques et ne montrent pas de préférence pour les cellules normales par rapport aux cellules cancéreuses (114,173). En cohérence avec nos résultats, l'étude de Calderon-Jacinto *et al*. sur la curcumine révèle la cytotoxicité de ce composé sur les kératinocytes et les fibroblastes (174). Les autres extraits bruts n'ont montré qu'une faible ou une absence d'activité aux concentrations testées. Les figures de ces résultats sont disponibles en annexe (**Annexe 7**).

- **Résultats sur la lignée cellulaire de mélanome cutanée**

Sur la lignée de cellules de mélanomes (Mel501), l'extrait de fruit de *C. inophyllum* a révélé une CI_{50} de 49 µg/mL, proche de l'activité de la roscovitine (CI_{50} = 44 µg/mL) (**Figure 61**). En revanche, l'extrait de feuilles a montré une activité environ deux fois plus faible avec une CI_{50} de 111 µg/mL. L'huile obtenue par extraction par pression à froid a montré une activité moins importante toujours remarquable (CI_{50} = 71 µg/mL) par rapport à l'extrait de fruit obtenu par ultrasons. Shanmugapriya *et al*. ont révélé l'activité cytotoxique de l'extrait de méthanol du fruit de *C. inophyllum* sur des cellules cancéreuses du sein (MCF-7) en utilisant un test MTT (CI_{50} = 23,59 µg/mL) (175). Le calophyllolide a montré une forte inhibition des cellules de mélanomes (CI_{50} = 5,5 µg/mL), avec activité supérieure au contrôle positif. Yimdjo *et al*. avaient déjà identifié le calophyllolide comme un agent cytotoxique contre le carcinome épidermoïde humain du nasopharynx (KB) avec une CI_{50} de 3,5 µg/mL. Dans cette étude, ce composé était le plus actif parmi la calaustraline et l'inophyllum C et E aussi isolés de l'extrait de fruit de *C. inophyllum* (176). De même, dans une étude antérieure portant sur le *Calophyllum brasiliense*, le calophyllolide a induit l'inhibition la plus importante de la viabilité des cellules leucémiques humaines (HL-60) (CI_{50} = 8,7 µM) parmi d'autres néoflavonoïdes actifs (GUT-70, brasimarin-C, inophyllum A, D, C et E) (177). Par conséquent, les activités observées des extraits pourraient être attribuées à la présence et à la proportion de calophyllolide. Les néoflavonoïdes sont une classe chimique particulièrement présente dans le genre *Calophyllum* et connue pour leur activité cytotoxique. Seuls quelques composés ont été étudiés contre le mélanome. Le 5,7-dihydroxy-4-phénylcoumarine et le 7-Hydroxy-4-phénylcoumarine ont révélé une activité anti-mélanogène sur un modèle de poisson zèbre (178). Ainsi, cette étude est la première à décrire l'activité cytotoxique de l'extrait de feuilles et de fruit de *C. inophyllum*, et du calophyllolide contre des cellules de mélanomes. L'extrait de *C. longa* présente une CI_{50} = 11 µg/mL sur les cellules de mélanomes. En effet, le *C. longa* principalement composé de curcumine a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses sur les mélanomes. Ainsi, l'étude de Odot *et al*. décrit l'effet de la curcumine sur la viabilité des cellules de mélanome de souris (B16-R) avec une CI_{50} de 18 µM après 48

heures d'exposition (104). L'extrait de *F. prolixa* possède une activité plus faible avec une CI_{50} = 127 µg/mL. Enfin, *G. taitensis* et *C. subcordata* n'ont pas montré d'activité sur la lignée de cellules de mélanomes aux concentrations testées.

Pour élucider le mode d'action des échantillons les plus actifs, l'impact sur la prolifération cellulaire et la mort cellulaire sont évalués sur la lignée de cellules de mélanomes (Mel501).

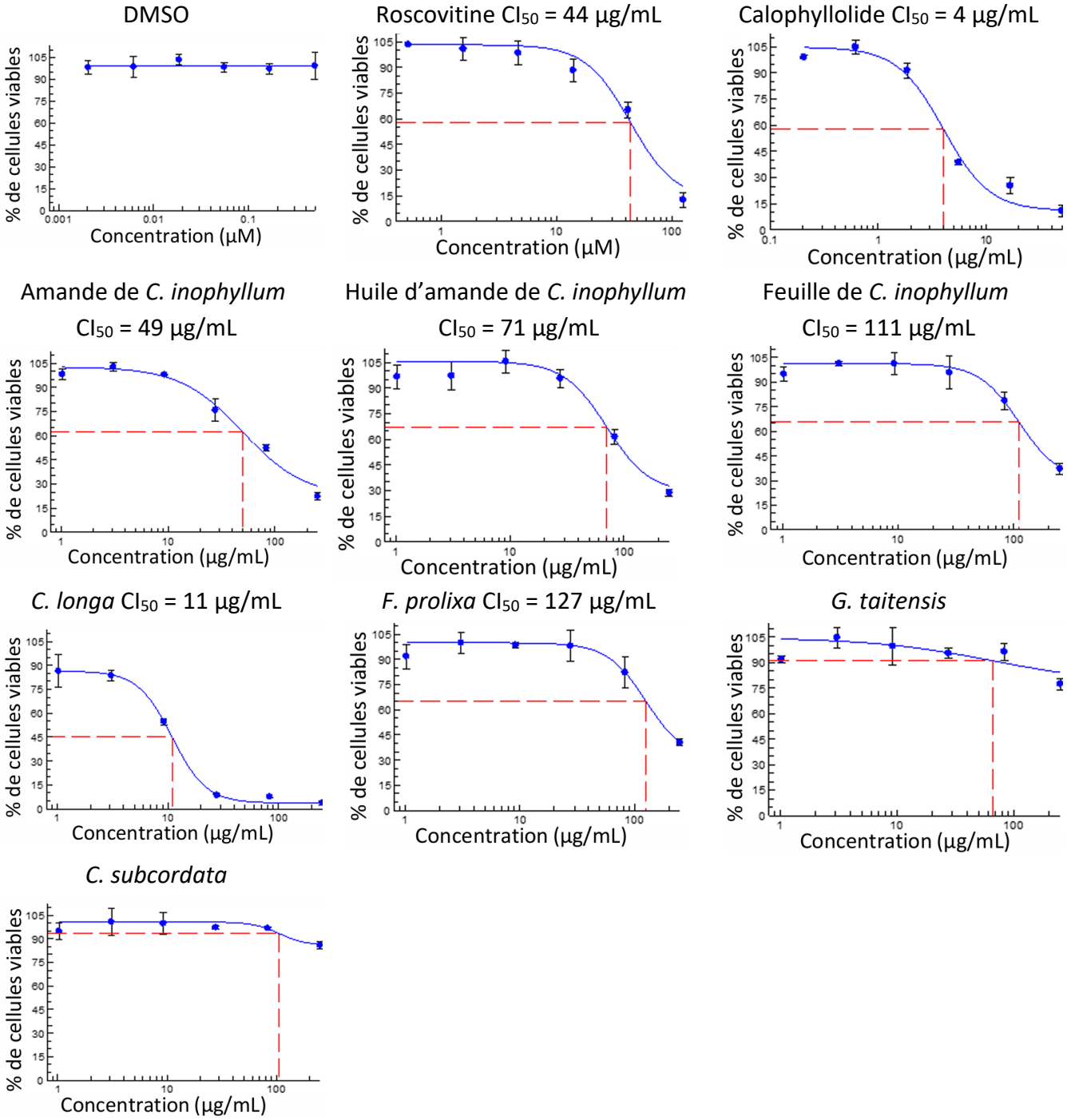


Figure 61 : Graphique de l'activité inhibitrice sur les cellules de mélanomes

Exprimée par la CI_{50} relative calculée selon l'amplitude de la sigmoïde

2.2.3. Prolifération cellulaire

- **Principe du test**

Ce test permet de déterminer l'impact des échantillons sur la prolifération des cellules de mélanomes (Mel501). Les noyaux des cellules sont colorés en bleu grâce au Hoechst et peuvent ainsi être comptés. L'utilisation d'un analogue de nucléotide (Edu) couplé à un marqueur fluorescent vert (Cy3-azide) permet de distinguer les cellules ayant répliqué leur ADN (phase S). En comparaison avec un contrôle négatif (DMSO), on observe une diminution du pourcentage de cellules fluorescentes vertes lorsque le cycle cellulaire a été stoppé en phase G1 ou S. L'immunodétection des histones H3 phosphorylés est utilisée pour distinguer les cellules en division cellulaire (phase M) qui apparaissent en fluorescence rouge. Cette phase mitotique étant très courte, elle est peu observable sur le contrôle négatif. Lors d'un blocage du cycle cellulaire en phase M, on distingue donc une augmentation de ces cellules en cours de mitose (**Figure 62**).

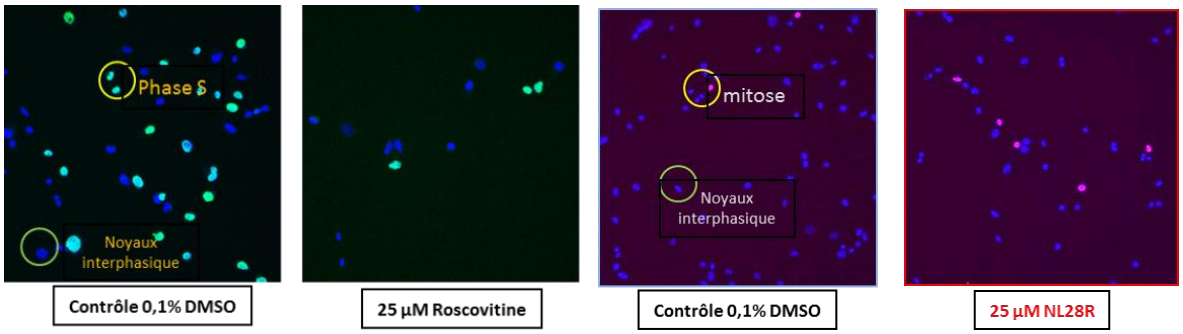


Figure 62 : Photo de microscopie à fluorescence montrant l'inhibition du cycle cellulaire en phase S (Roscovitine) et en phase M (NL28R) comparé à un contrôle négatif (DMSO)

- **Résultats**

À la suite du criblage primaire, les échantillons les plus actifs, c'est-à-dire le calophyllolide et les extraits de *C. longa* et d'amande de *C. inophyllum* ont été sélectionnés pour évaluer leur impact sur la prolifération des cellules de mélanomes. Trois concentrations (C, C/2 et Cx2) ont été testées en triplicatas. Les trois échantillons testés ont révélé un impact sur la prolifération cellulaire avec une inhibition de la réplication de l'ADN lors des phases G1 ou S (**Figure 63**).

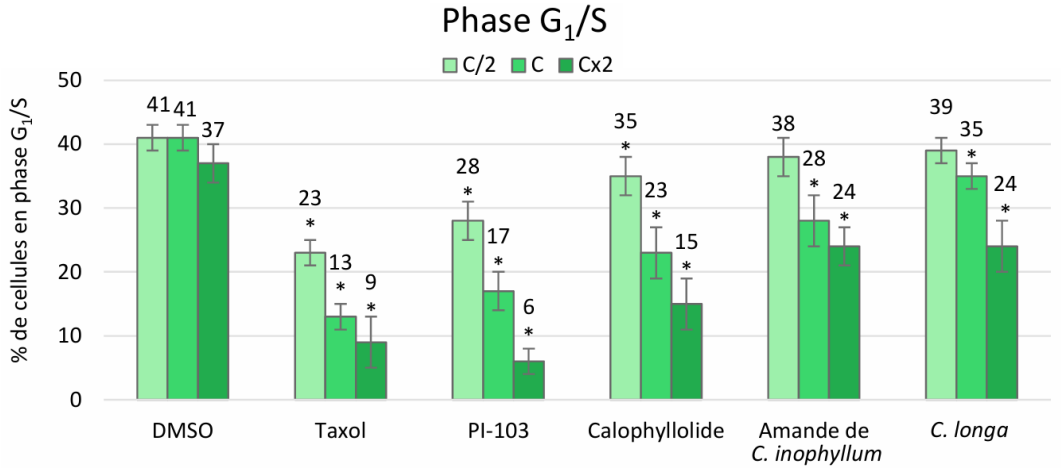


Figure 63 : Évaluation de l'inhibition des phases G_1/ S par comptage des cellules

* = différence significative par rapport au contrôle à p ≤ 0,05

Le PI-103 (C = 2 µM), inhibiteur de sérine/thréonine kinase (mTOR), a servi de contrôle positif. Le calophyllolide (C = 2 µg/mL) s'est révélé être un inhibiteur du cycle cellulaire avec une activité similaire au PI-103. À une concentration de 4 µg/mL, il dévoile un taux de cellules en phase G1/S de 9 %, ce qui est quatre fois inférieur au contrôle négatif. César Ruiz-Marcial *et al*. ont également démontré l'effet antiprolifératif de néoflanonoïdes isolés de *Calophyllum brasiliense*, mammea A/BA, et mammea A/BB, avec l'altération de la transition entre les phases G1 et S (179). La présence du calophyllolide pourrait expliquer l'activité antiproliférative de l'extrait d'amande de *C. inophyllum* (C = 92 µg/mL) qui montre également une inhibition en phase G_1/S aux trois concentrations testées. Shanmugapriya *et al*. ont évalué l'impact de l'extrait de fruit de *C. inophyllum* sur le cycle de cellules cancéreuses MCF-7 et ont montré des résultats similaires avec une accumulation de cellules en phase G0/G1 associée à une diminution du pourcentage de cellules en phase S suggérant un blocage du cycle cellulaire dans la phase précoce de la synthèse de l'ADN (80). Les résultats concernant l'extrait de *C. longa* (C = 11 µg/mL) suggèrent également une diminution du nombre de cellules en interphase.

Le taxol (C = 0,02 µM), inhibiteur de la dépolymérisation de microtubules, a servi de contrôle positif pour l'étude de l'impact sur la phase M (**Figure 64**). L'extrait de *C. longa* a montré une augmentation des cellules en phase M donc un blocage lors de la mitose. D'après les résultats précédents, l'extrait de *C. longa* semble posséder une activité anti-proliférative en bloquant de la phase M du cycle cellulaire, induisant une diminution du nombre de cellules observé en phase G1 et S. En effet, selon la littérature, la curcumine inhibe de manière significative la prolifération des cellules de mélanomes (B16F10) et induit une diminution des cellules en phase G1 associée à une accumulation de cellules en phases S- G2/M (103,180).

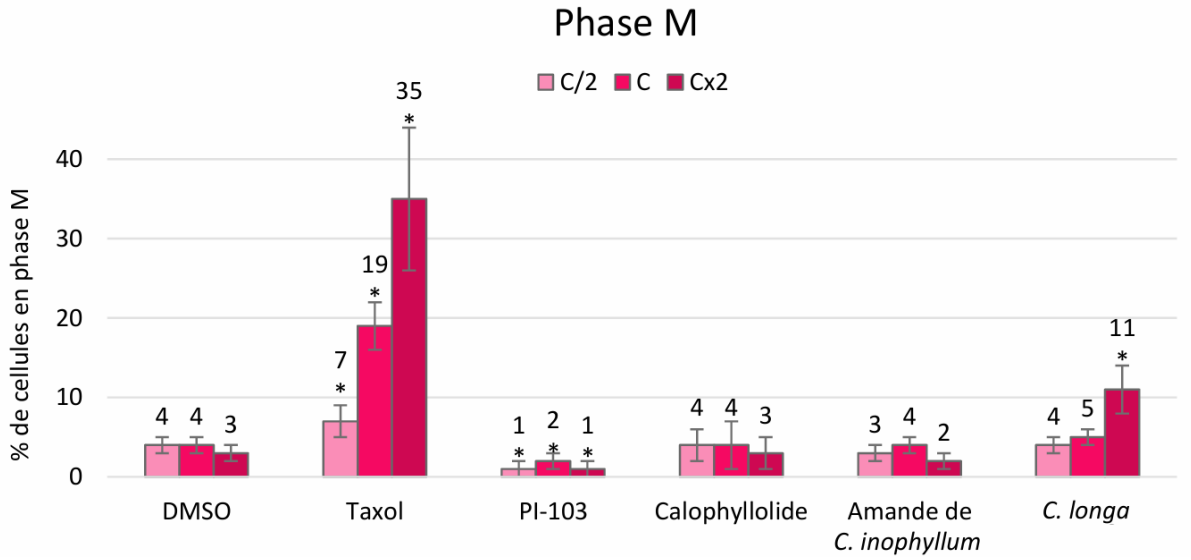


Figure 64 : Évaluation de l'inhibition de la division cellulaire (phase M) par comptage des cellules * = différence significative par rapport au contrôle à p ≤ 0,05

Les autres échantillons évalués montrent un taux de cellules en phase M inchangé ou diminué. Le calophyllolide et l'extrait d'amande de *C. inophyllum* n'ont donc pas d'impact sur la phase M et confirment leur activité anti-proliférative par inhibition de la réplication de l'ADN.

2.2.4. Mort cellulaire

- **Principe du test**

Ce test utilise différents marqueurs fluorescents pour distinguer les cellules apoptotiques en vert, des cellules nécrotiques en rouge ou vivantes en bleu. Elles peuvent ainsi être visualisées par microscopie à fluorescence (**Figure 65**).

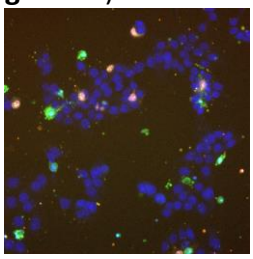


Figure 65 : Photo en microscopie à fluorescence de cellules apoptotiques (en vert), de cellules nécrotiques (en rouge) et de cellules vivantes (en bleu)

- **Résultats**

Les échantillons ont été testés à trois concentrations (C, C/2 et Cx2). Le taxol (C = 0,005 µM) est utilisé comme contrôle positif (**Figure 66**). Le calophyllolide (C = 4 µg/mL) montre une augmentation du nombre de cellules apoptotiques par rapport au contrôle négatif (DMSO). Malgré l'activité du calophyllolide, l'extrait d'amande de *C. inophyllum* (C = 30 µg/mL) n'a pas montré d'induction des mécanismes de mort cellulaire. Cette différence d'activité peut être expliquée par les concentrations utilisées, plus faibles que pour les tests antérieurs. L'étude de Shanmugapriya *et al*. a montré que l'extrait de fruits de *C. inophyllum* induit l'apoptose des cellules MCF-7 du cancer du sein par l'arrêt du cycle cellulaire. Cet extrait augmente également la production d'ERO dans les cellules traitées, induisant notamment une régulation à la hausse des protéines pro-apoptose Bax et p53 et d'une régulation à la baisse de la protéine anti-apoptotique Bcl-2 conduisant également à l'induction de l'apoptose (80). L'extrait de *C. longa* (C = 4 µg/mL) semble également inducteur d'apoptose. Les échantillons n'ont pas montré d'impact sur le nombre de cellules nécrotiques aux concentrations testées. Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature. De nombreuses études ont montré que la curcumine induit une mort cellulaire par apoptose sur les cellules de mélanomes (104,105,180).

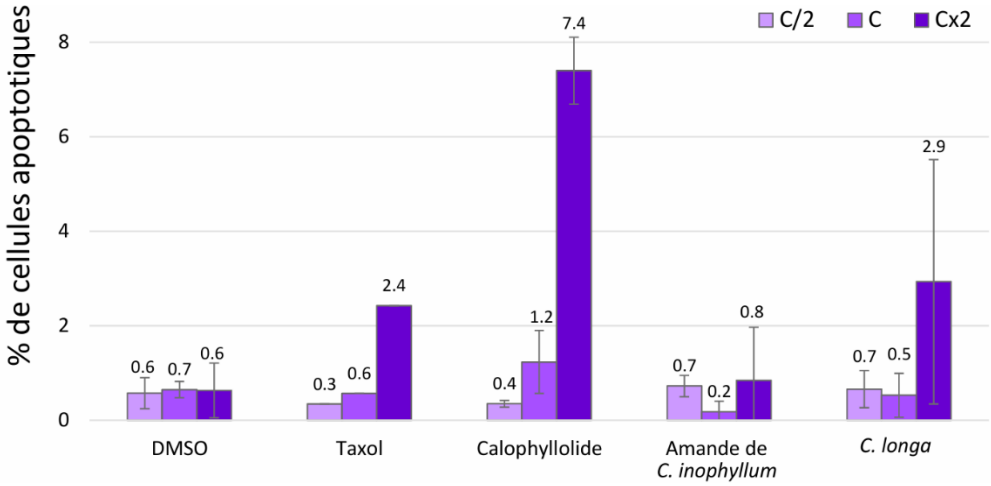


Figure 66 : Évaluation de la capacité à induire l'apoptose par compactage des cellules

2.3. Inflammation

L'inflammation est un mécanisme physiologique dont le fonctionnement repose sur un équilibre entre les signaux pro et anti-inflammatoires. Une dérégulation de ce système conduit à une réponse inflammatoire soutenue entraînant une inflammation chronique impliquée dans de nombreuses pathologies (psoriasis, cancers, diabètes et plaies chroniques) (26,28). La présente étude se focalise sur la voie métabolique de la 5-LOX et la voie de signalisation NF-κB, toutes deux impliquées dans le développement de cancers de la peau et autres pathologies cutanées liées à l'inflammation (29–32).

2.3.1. Voie de signalisation NF-κB

- **Principe du test**

Au sein des macrophages, le facteur de transcription NF-κB régule un programme d'expression génique de la réponse immunitaire. Ces changements comprennent l'induction ou la répression d'un large éventail de gènes qui régulent l'inflammation, la prolifération cellulaire, la migration et la survie cellulaire. Ce processus est étroitement régulé, mais une perte de contrôle est retrouvée en cas de maladies inflammatoires et de cancers (31,32). Le facteur de transcription NF-κB est initialement situé dans le cytoplasme. Sous l'action de lipopolysaccharides (LPS) bactériens ou d'échantillons pro-inflammatoires, NF-κB est transloqué dans le noyau. Afin de déterminer la position de NF-κB dans la cellule, celui-ci est immunodétecté en utilisant un anticorps spécifique et un second anticorps couplé à un fluorochrome. Cette analyse permet donc de quantifier la fluorescence dans le noyau et dans le cytoplasme et d'en calculer la différence (**Figure 67**). Chaque échantillon est évalué sur trois concentrations C/2, C et Cx2, avec et sans LPS, en triplicats. Pour les extraits bruts, la concentration C a été fixée à 125 µg/mL, à l'exception de *C. longa* en raison de sa cytotoxicité (C = 25 µg/mL). Le calophyllolide est évalué avec une concentration C à 10 µg/mL et le DMSO est utilisé comme contrôle négatif.

- **Résultats**

Les résultats montrent que le calophyllolide favorise la translocation de NF-κB en l'absence de LPS, indiquant une activité pro-inflammatoire. Dans la littérature, ce composé est décrit comme anti-inflammatoire, notamment par l'étude de Nguyen *et al*. qui montre une diminution de l'expression de cytokines pro-inflammatoires (IL-1β, IL-6, et TNF-α) (181). Néanmoins, aucune étude ne mentionne son action directe sur NF-κB. L'extrait d'amandes et l'extrait de feuilles de *C. inophyllum* ne semblent pas avoir d'impact sur le facteur de transcription. Il n'est pas fait mention dans la littérature de l'action de l'amande de *C. inophyllum* sur la voie de signalisation de NF-κB. Pour les feuilles, ces résultats diffèrent de ceux de la littérature. En effet, Tsai *et al*. ont décrit l'activité anti-inflammatoire de l'extrait à l'acétone de feuilles de *C. inophyllum*. Dans leurs travaux, l'extrait inhibait la translocation nucléaire de NF-κB, induite par les LPS dans les macrophages, à une concentration de 10 µg/mL (86). Au vu de l'activité du calophyllolide, il est possible qu'une forte proportion de ce composé dans les extraits de *C. inophyllum* favorise la translocation de NF-κB au noyau en

l'absence de LPS et induise donc une activité pro-inflammatoire. L'extrait de *F. prolixa* montre une tendance pro-inflammatoire aux concentrations élevées Cx2. Étant donné l'absence de données bibliographiques sur les activités biologiques de *F. prolixa*, ce résultat ne peut être confronté à la littérature. À l'inverse, les extraits de *G. taitensis*, *C. subcordata* et de *C. longa* semblent posséder de bonnes propriétés anti-inflammatoires. L'extrait de *G. taitensis* inhibe la translocation de NF-κB en présence de LPS. De même pour l'extrait de *C. subcordata* et de *C. longa* qui maintiennent NF-κB dans le cytoplasme en l'absence et en présence de LPS. L'étude de Kim *et al*. montre des résultats similaires sur des macrophages (BV2) avec un extrait éthanolique de *C. longa* qui révèle une inhibition de la voie NF-κB et de la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1β, l'IL-6 et le TNF-α (182). La présente étude décrit pour la première fois les propriétés anti-inflammatoires de *C. subcordata* et *G. taitensis* via l'inhibition de NF-κB. Des tests complémentaires seraient nécessaires pour vérifier si l'action sur la translocation de NF-κB s'accompagne effectivement de l'expression de gènes et de la synthèse de protéines pro-inflammatoires.

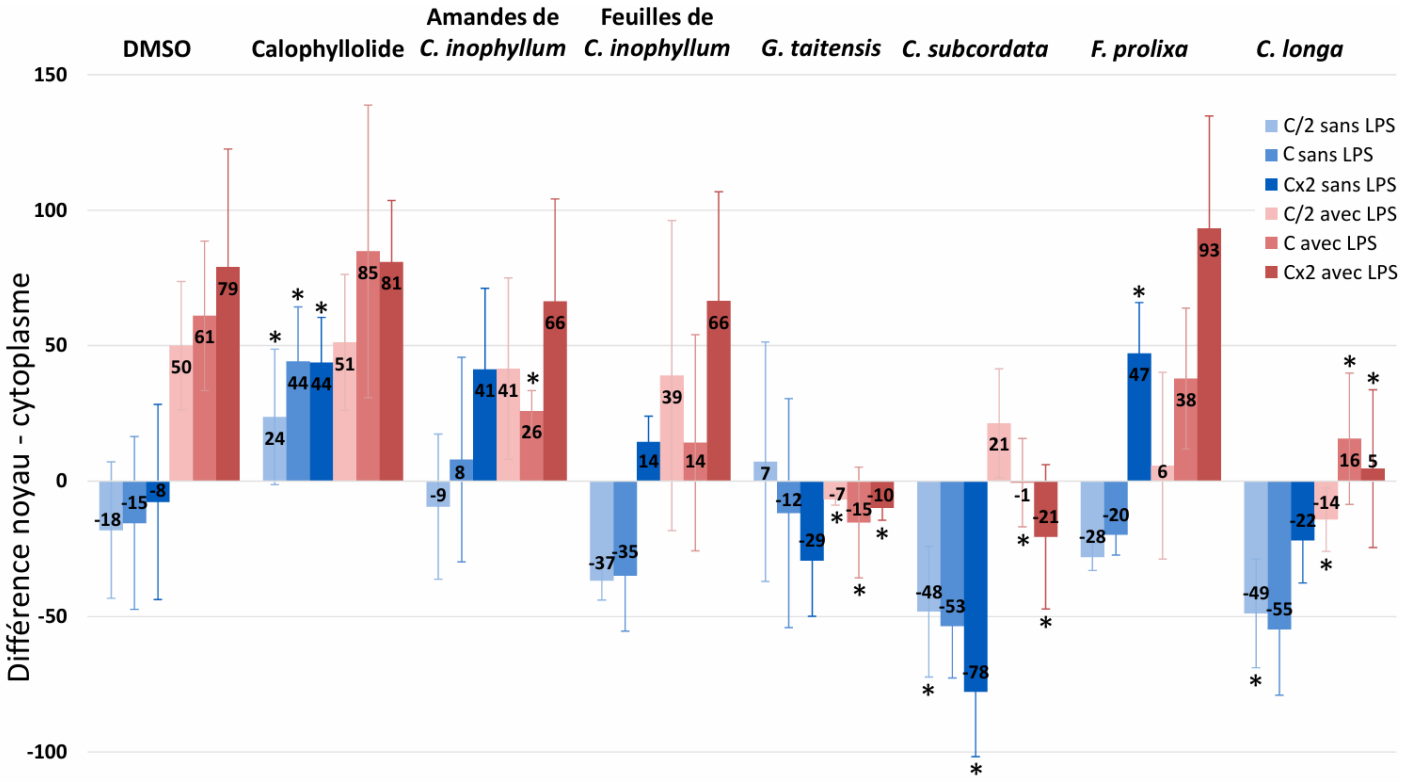


Figure 67 : Activation de la voie NF-κB en présence ou en l'absence de LPS
* = différence significative par rapport au contrôle avec p ≤ 0,05

2.3.2. Voie métabolique de la 5-LOX

- **Principe du test**

La voie métabolique de la 5-LOX transforme l'acide arachidonique en leucotriènes d'une part et d'autre part en 5-HPETE puis en dérivés de celui-ci. Ces composés ont une activité pro-inflammatoire qui est impliquée dans des pathologies cutanées, telles que le psoriasis et l'eczéma et le développement de cancers de la peau (29,30). Ainsi, l'inhibition de la 5-LOX et, par conséquent, la diminution de ses produits induits serait une stratégie anti-inflammatoire

efficace. Dans la présente étude, le test effectué en triplicats permet de mesurer la capacité des échantillons à diminuer la concentration de 5-LOX intracellulaire dans les kératinocytes (HaCat) et les fibroblastes (CIhuFIB). Les cellules sont traitées 24 h avec les extraits bruts à une concentration de 100 µg/mL, à l'exception de l'extrait de *C. longa* testé à 10 µg/mL en raison de sa cytotoxicité.

- **Résultats**

Des cellules en milieu de culture non traitées ont été utilisées comme contrôle négatif. La concentration basale de 5-LOX est plus faible dans les HaCaT (13,2 pg/mL) que dans les CIhuFIB (29,3 pg/mL) (**Figure 68**).

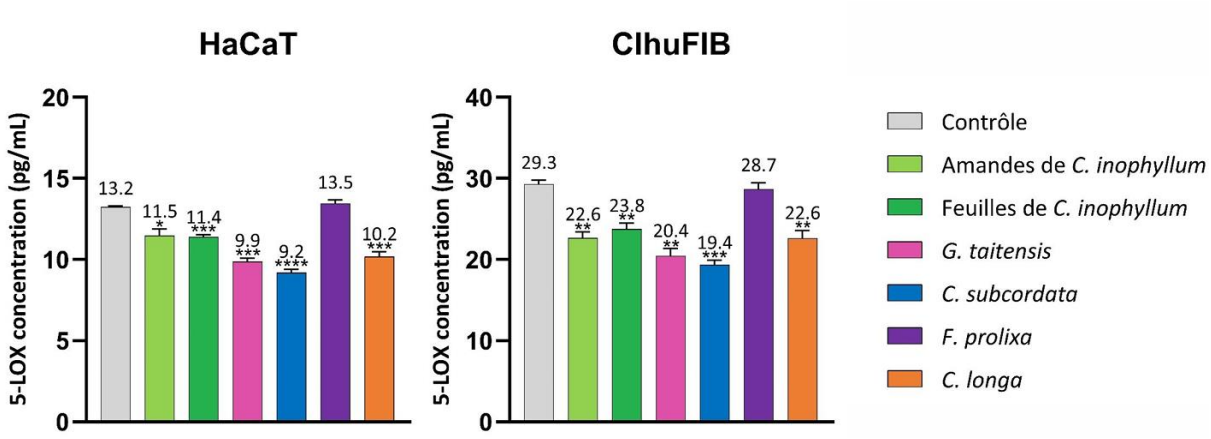


Figure 68 : Concentration de la 5-LOX dans les kératinocytes (HaCat) et les fibroblastes (CIhuFIB) traités avec les extraits bruts * = significativement différent du contrôle avec * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01, *** p ≤ 0,001 et **** p ≤ 0,0001

Les résultats sont similaires pour les deux types cellulaires. Ils montrent une diminution de la 5-LOX pour tous les extraits à l'exception de l'extrait de *F. prolixa* qui ne montre aucun effet sur la concentration de 5-LOX par comparaison au contrôle. L'extrait d'amandes de *C. inophyllum* diminue de 13 % (11,5 pg/mL) la 5-LOX dans les HaCat et de 23 % (22,6 pg/mL) dans les CIhuFIB. L'extrait de feuilles de *C. inophyllum* montre des résultats similaires à l'amande avec une diminution de la 5-LOX de 14 % (11,4 pg/mL) dans les HaCat et de 19 % (23,8 pg/mL) dans les CIhuFIB. L'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux de feuilles et éthanolique d'amandes de *C. inophyllum* a précédemment été montrée une capacité à inhiber la 5-LOX via un test in vitro (85). L'extrait de *C. longa* réduit la concentration de 5-LOX de 23 % (10,2 pg/mL) dans les HaCat et de 23 % (22,6 pg/mL) dans les CIhuFIB. Le curcuma est connu pour ses propriétés anti-inflammatoires. L'étude de Kim *et al*. a évalué l'activité d'un extrait de *C. longa in vivo* chez le rat, pour déterminer son impact sur l'inflammation au niveau des articulations. Leur résultat montre une réduction significative des taux de 5-LOX et de LTB_4 (183). Les extraits de *G. taitensis* et de *C. subcordata* ont révélé l'activité anti-inflammatoire la plus importante. En présence d'extrait de *G. taitensis*, la concentration de 5-LOX a été diminuée de 25 % (9,9 pg/mL) dans les HaCat et de 30 % (20,4 pg/mL) dans les CIhuFIB. Après traitement des cellules avec l'extrait de *C. subcordata* une diminution de 5-LOX de 31 % (9,2 pg/mL) dans les HaCat et de 34 % (19,4 pg/mL) dans les CIhuFIB est constatée. La présente

étude décrit pour la première fois leurs propriétés anti-inflammatoires à travers la diminution de la 5-LOX.

Les fractions CPC de ces deux extraits ont donc été évaluées sur ce même test à une concentration de 100 µg/mL sur les kératinocytes afin de mesurer leur activité. La concentration basale de 5-LOX dans les HaCaT est à 66,8 pg/mL pour le contrôle négatif de *C. subcordata* et de 58,4 pg/mL pour celui de *G. taitensis* (**Figure 69**).

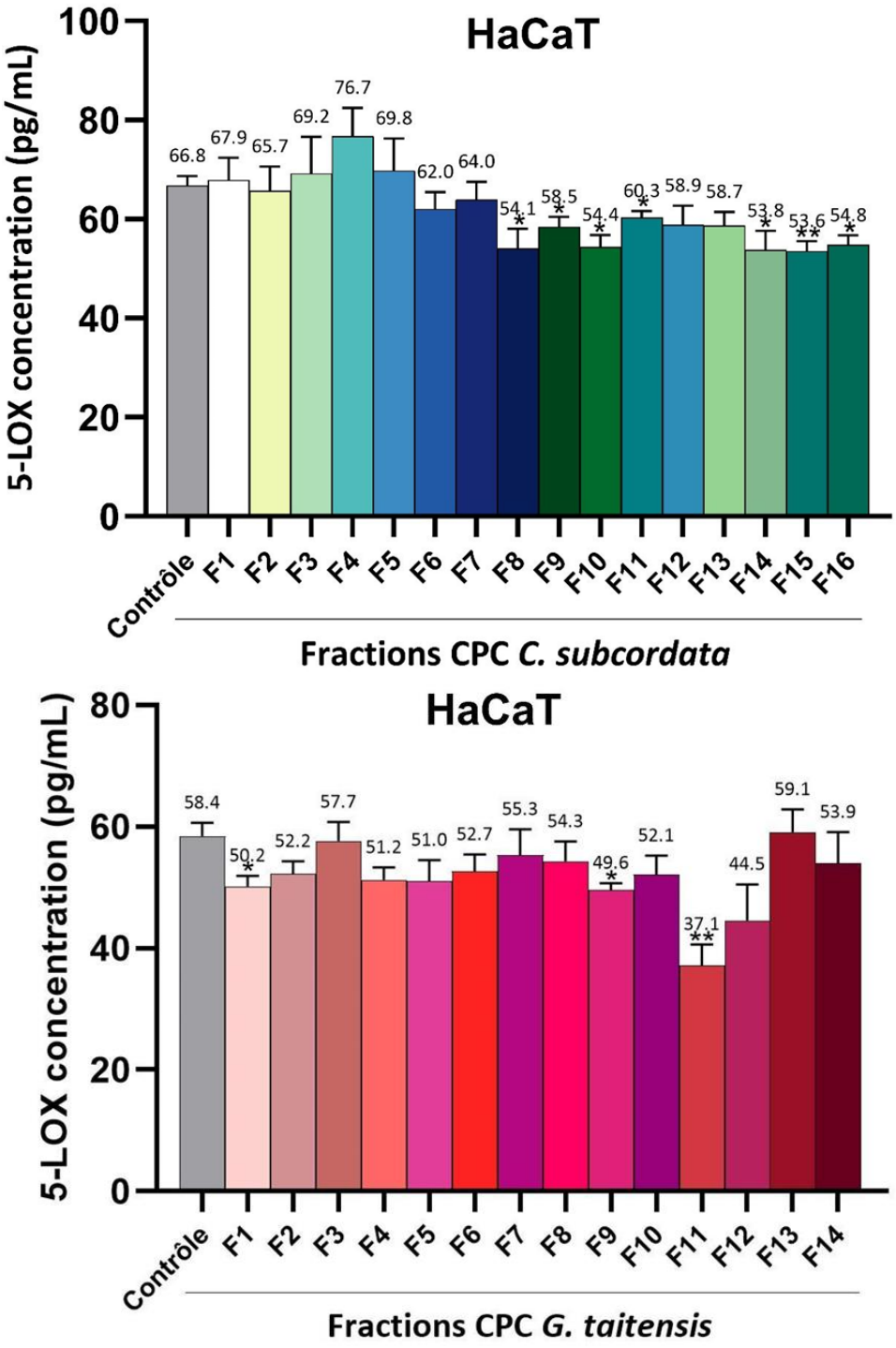


Figure 69 : Concentration de la 5-LOX dans les kératinocytes traités avec les fractions de CPC de *C. subcordata* et *G. taitensis*

* = significativement différent du contrôle avec * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01

Pour l'extrait de *C. subcordata*, les fractions 8 à 11 et 14 à 16 ont montré une diminution de la concentration de 5-LOX. La fraction 15 s'est révélée être la plus active avec une concentration de 5-LOX à 53,6 pg/mL et donc une diminution de 20 %. Pour l'extrait de *G. taitensis*, trois fractions ont réduit la concentration de 5-LOX : les fractions 1, 9 et 11. Cette dernière possède l'activité la plus importante avec une diminution de 37 % (37,1 pg/mL). Par la suite, la composition chimique des fractions est approfondie afin d'établir une relation entre leur activité et les molécules qui les composent. Sur l'ensemble des tests cicatrisants, l'absence de contrôle positif ne permet pas de comparaison avec un inhibiteur connu de la 5-LOX. Des tests complémentaires pourraient être effectués afin de vérifier si les échantillons inhibent effectivement l'oxydation de l'acide arachidonique.

2.4. Cicatrisation

La cicatrisation de la peau est un mécanisme de réparation qui vise à rétablir la barrière cutanée. Pour cela, une première phase vasculaire et inflammatoire limite les saignements. Elle est suivie d'une phase de prolifération permettant de reconstituer la MEC et les cellules du derme et de l'épiderme. Enfin, lors de l'étape de remodelage, les éléments mis en place pour la cicatrisation régressent. Ce phénomène laisse place à un tissu cicatriciel fibreux, non vascularisé et peu fonctionnel par rapport au tissu d'origine (47,49). Ce processus de cicatrisation peut être affecté par le stress oxydatif, des défauts de vascularisation, une inflammation défaillante ou excessive, la chaleur ou encore l'humidité (5 et 48). Cela conduit alors à une plaie chronique.

- **Principe des tests**

Afin d'estimer les propriétés cicatrisantes des échantillons étudiés, ceux-ci sont soumis à un test de cicatrisation *in vitro* appelé « scratch wound healing assay » qui permet le suivi de la migration et de la prolifération cellulaire. Ce test modélise une plaie cutanée, matérialisée ici par une brèche entre deux monocouches de kératinocytes (HaCat) ou de fibroblastes (CIhuFIB). Après application des échantillons, un système d'imagerie permet de suivre l'évolution de la fermeture de la brèche du tapis cellulaire au fil des heures. Ce test permet donc d'évaluer l'impact des échantillons sur la prolifération et la migration cellulaire. Afin de préciser l'activité des échantillons, de la mitomycine C peut être ajoutée. Cet agent alkylant inhibe la synthèse de l'ADN et bloque la prolifération cellulaire, ce qui permet de mesurer uniquement l'impact des échantillons sur la migration cellulaire. Les échantillons évalués en triplicats à une concentration de 100 µg/mL, à l'exception du *C. longa* qui était à 10 µg/mL en raison de sa cytotoxicité. Ils sont comparés à un tapis cellulaire non traité correspondant au contrôle négatif.

2.4.1. Cicatrisation des fibroblastes

Les fibroblastes jouent un rôle important dans la cicatrisation. Ils migrent au site de la plaie et prolifèrent afin de synthétiser en masse les composantes de la MEC : fibronectine, collagènes, élastine. Certains fibroblastes se différencient ensuite en myofibroblastes et intègrent le tissu de granulation. Ils possèdent une capacité contractile, semblable aux cellules musculaires, et permettent de rapprocher les bords de la plaie.

- **Impact des extraits bruts sur la migration et la prolifération**

En condition de contrôle, les cellules montrent, en 24 h, une cicatrisation presque complète (87 %) (**Figure 70**). Les résultats révèlent une inhibition de la cicatrisation tout au long du test pour les extraits de feuilles de *C. inophyllum*, de *F. prolixa* et de *C. subcordata* avec un pourcentage de cicatrisation à 24 h de 17 %, 18 % et 37 % respectivement. L'extrait de *G. taitensis* montre également une migration et une prolifération plus lente que le contrôle avec à 24 h un pourcentage de cicatrisation de 68 %. L'extrait de *C. longa* est inactif et ne montre pas de différence significative par rapport au contrôle. Enfin, l'extrait d'amandes de *C. inophyllum* montre une accélération de la cicatrisation à 8 h par rapport au contrôle. Mais cette différence s'estompe ensuite à 12 h et 24 h.

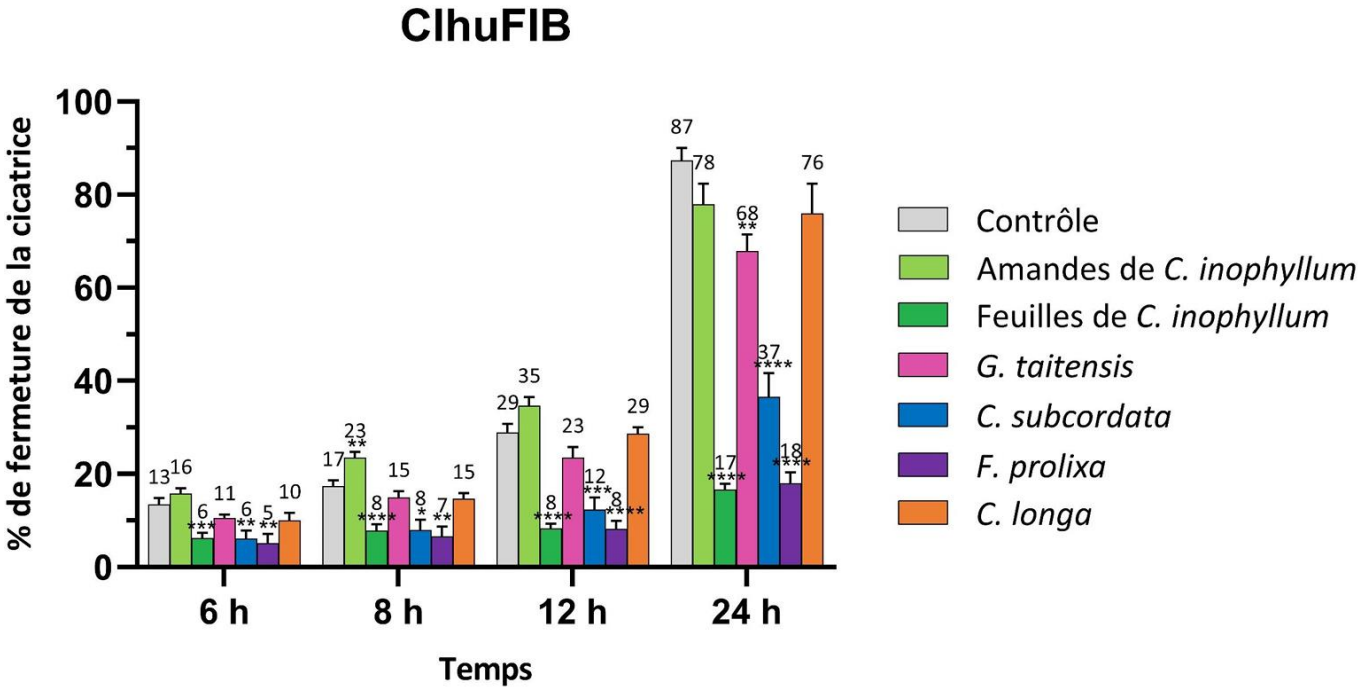


Figure 70 : Impact des extraits bruts sur la migration et la prolifération des fibroblastes

* = significativement différent du contrôle avec * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01, *** p ≤ 0,001 et **** p ≤ 0,0001

- **Impact des extraits bruts sur la migration**

En présence de mitomycine C, le test permet de mesurer uniquement la migration des fibroblastes. En condition de contrôle, les cellules montrent, en 24 h, une cicatrisation presque complète (96 %) (**Figure 71**). Les résultats suivent la même tendance que le test sans mitomycine C. De nouveau, les extraits de feuilles de *C. inophyllum* et de *F. prolixa* ralentissent la migration des fibroblastes tout au long avec un pourcentage de cicatrisation finale de 45 % et 33 % respectivement. Les extraits de *C. longa*, de *C. subcordata* et de *G. taitensis* sont inactifs sur la migration des fibroblastes et ne montrent pas de différence significative par rapport au contrôle. L'activité inhibitrice des extraits *C. subcordata* et de *G. taitensis* sur la cicatrisation de fibroblastes est donc principalement due à une inhibition de la prolifération des cellules. L'extrait d'amandes de *C. inophyllum* est le seul montrant un impact positif sur les fibroblastes avec une accélération de la migration à 6 h par rapport au contrôle. Mais son effet accélérateur ne perdure pas à 12 h et 24 h.

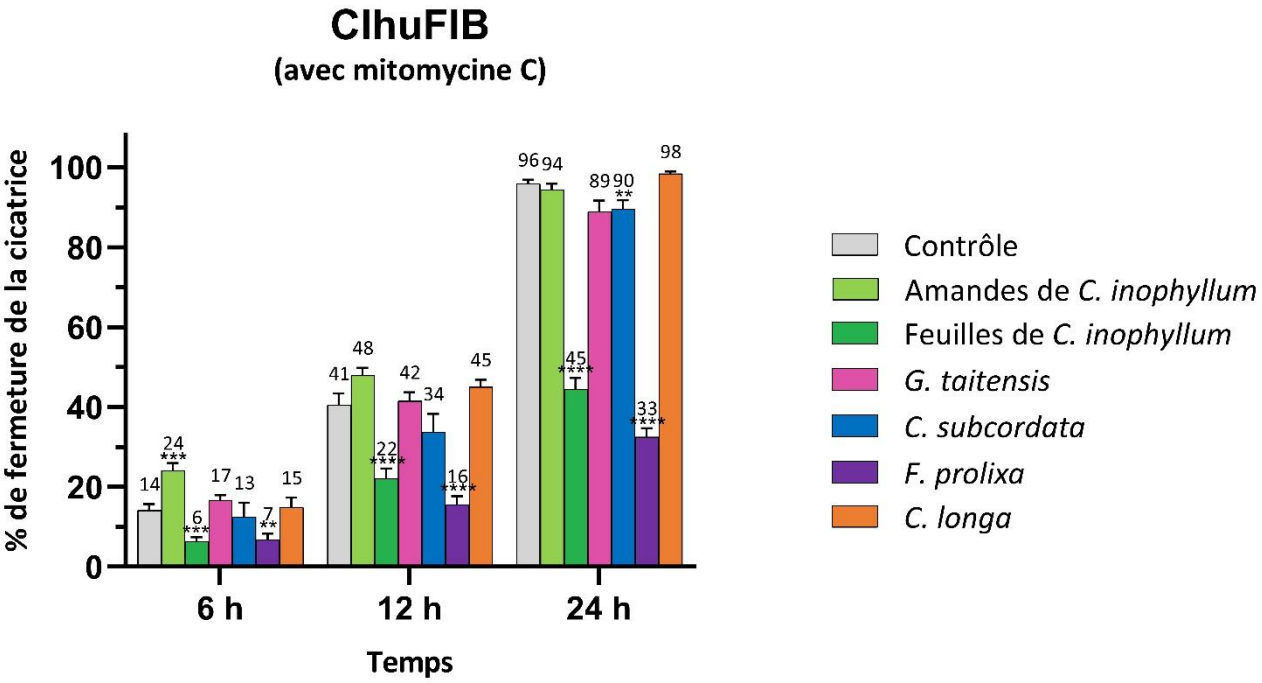


Figure 71 : Impact des extraits bruts sur la migration des fibroblastes (avec mitomycine C)

* = significativement différent du contrôle avec * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ et **** $p \leq 0,0001$

2.4.2. Cicatrisation des kératinocytes

Lors de la cicatrisation, les kératinocytes interviennent à la phase de réépithélialisation afin de régénérer un épiderme garant de l'intégrité de la barrière cutanée. À partir de la périphérie de la plaie, ces cellules migrent et prolifèrent au-dessus du tissu de granulation.

- **Impact des extraits bruts sur la migration et la prolifération**

Les conditions de contrôle montrent une fermeture cicatricielle à 86 % à 48 h (**Figure 72**). Sur les kératinocytes, l'extrait de *F. prolixa* montre à nouveau un ralentissement de la cicatrisation à 16 et 24 h. *In fine*, sa cicatrisation à 48 h est semblable à celle du contrôle. Les extraits de *C. longa* et de feuilles et d'amandes de *C. inophyllum* sont inactifs sur les kératinocytes et ne montrent pas de différence significative par rapport au contrôle. L'étude de Léguillier *et al*., qui avait pour objectif d'évaluer les propriétés cicatrisantes d'échantillons d'huile de *C. inophyllum* sur des kératinocytes avec un test similaire, montre des résultats qui diffèrent. L'huile d'olive était utilisée comme contrôle négatif et les échantillons d'huile de *C. inophyllum* sont testés aux concentrations 0,01, 0,1 et 1 % diluées dans l'huile d'olive. Après 15 min de traitement et 24 h de migration et de prolifération, les cellules traitées à 0,1 % d'huile *de C. inophyllum* montrent un pourcentage de cicatrisation deux fois plus élevé que le contrôle (83). Cependant, les extraits de *G. taitensis* et de *C. subcordata* révèlent une forte accélération de la migration et de la prolifération des kératinocytes à 16 h et 24 h. Leur cicatrisation est presque complète à 40 h, avec une fermeture de la brèche à 96 et 98 %. Aucunes études n'ayant été faites sur les propriétés cicatrisantes de ses deux plantes, elles sont ici mentionnées pour la première fois.

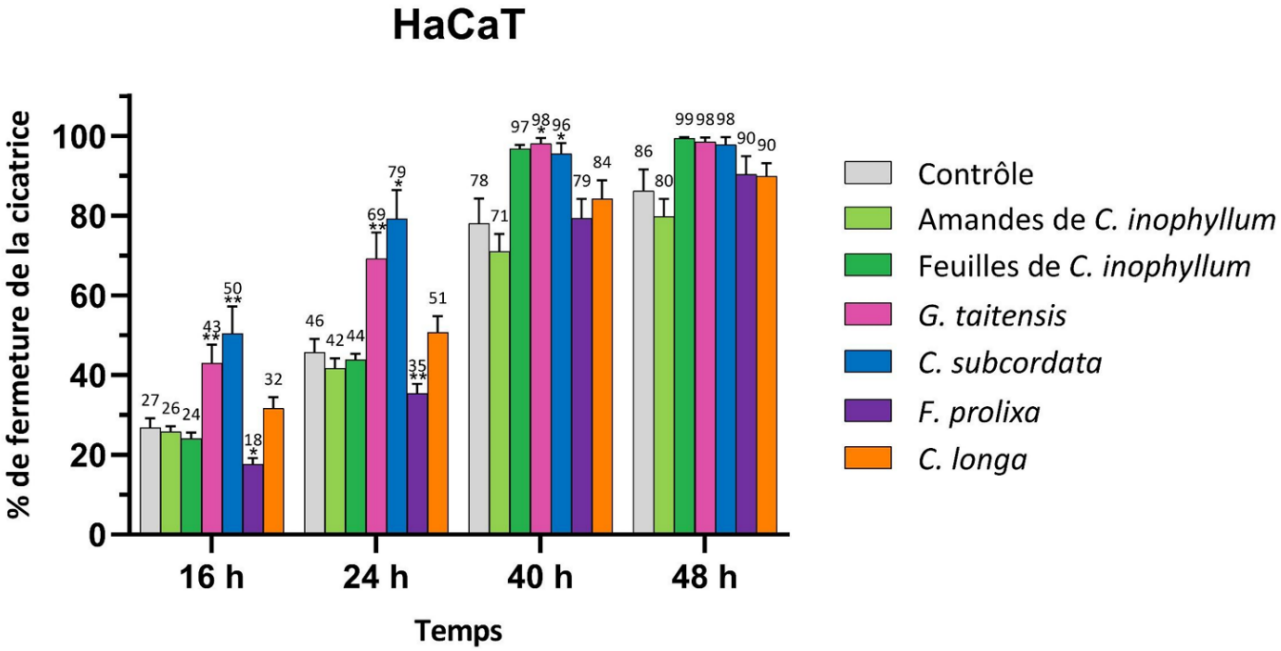


Figure 72 : impact des extraits bruts sur la migration et la prolifération des kératinocytes

* = significativement différent du contrôle avec * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01, *** p ≤ 0,001 et **** p ≤ 0,0001

- **Impact des extraits bruts sur la migration**

Pour ce test, de la mitomycine C a été ajoutée afin de mesurer uniquement la migration des kératinocytes. En l'absence de prolifération, les kératinocytes du contrôle négatif ne montrent qu'une fermeture partielle (34 %) de la cicatrice en 48 h (**Figures 73 et 74**). Les résultats suivent la même tendance que le test sans mitomycine C. L'extrait de *F. prolixa* inhibe totalement la migration des kératinocytes tout au long du test avec un pourcentage de cicatrisation finale de 9 %. Les résultats de ce test montrent donc que l'extrait de *F. prolixa* a plus d'impact sur la migration que sur la prolifération des kératinocytes. Les extraits de *C. longa* et de feuilles et d'amandes de *C. inophyllum* sont inactifs sur la migration des kératinocytes et ne montrent pas de différence significative par rapport au contrôle. L'extrait de *C. subcordata* accélère légèrement la migration des kératinocytes à 48 h avec une cicatrisation à 53 % (**Figure 74**). L'extrait de *G. taitensis* présente une cicatrisation similaire à *C. subcordata* avec une cicatrisation à 48 h à 52 %. L'activité de ces deux extraits sur la cicatrisation des kératinocytes semble donc principalement due à une augmentation de la prolifération des cellules.

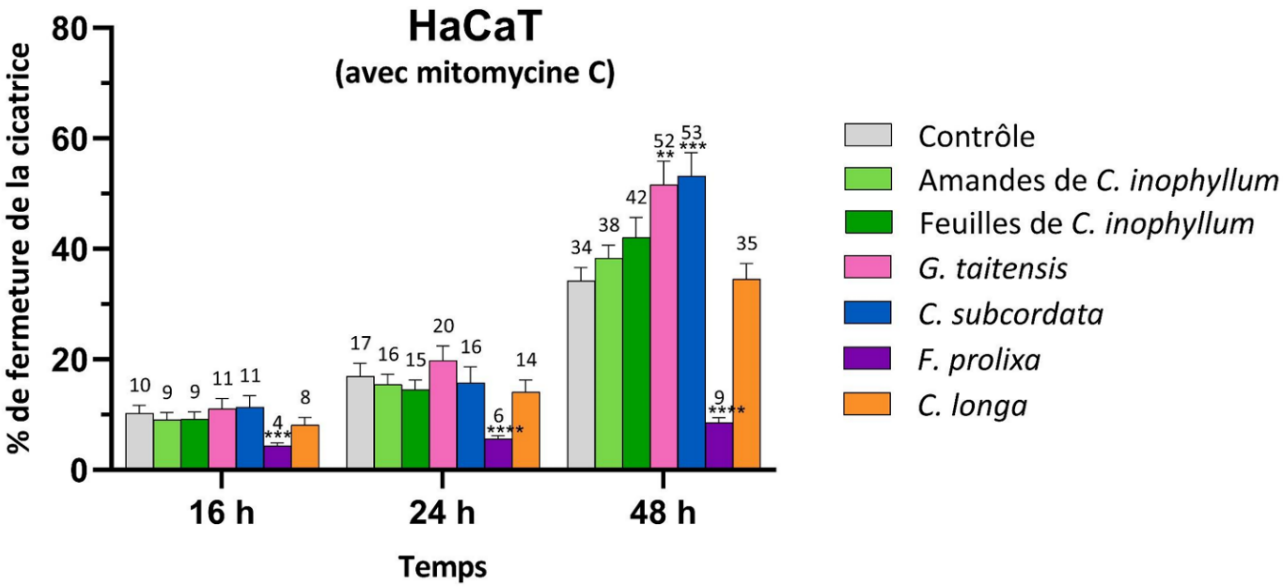


Figure 73 : impact des extraits bruts sur la migration des kératinocytes (avec mitomycine C)

* = significativement différent du contrôle avec * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01, *** p ≤ 0,001 et **** p ≤ 0,0001

- **Bilan de l'activité cicatrisante des extraits bruts**

Pour le *F. prolixa* qui inhibe la cicatrisation, les résultats sur les kératinocytes et les fibroblastes sont similaires. L'absence de données bibliographiques sur le *F. prolixa* ne permet pas de comparer ces résultats à d'autres études. L'extrait de *C. longa* est resté inactif sur tous les tests des deux types cellulaires. Cette plante est pourtant citée dans la littérature et en médecine traditionnelle pour ses propriétés cicatrisantes (93,184,185). Des études *in vivo* chez le rongeur indiquent que l'application topique quotidienne de curcumine permettrait une cicatrisation et une régénération de l'épithélium plus rapide via de divers mécanismes. La curcumine augmenterait le collagène, notamment grâce à l'inhibition de la MMP-9. Ce composé favoriserait également la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes

(111,112). Les autres extraits montrent des résultats différents selon le type cellulaire. Pour l'amande de *C. inophyllum*, la cicatrisation est légèrement accélérée sur les fibroblastes, mais l'extrait est inactif sur les kératinocytes. Ces résultats ne reflètent pas les propriétés cicatrisantes attribuées à l'huile de *C. inophyllum* d'après la littérature. Les études *in vivo* chez le rat de l'huile de *C. inophyllum* montrent, par rapport au contrôle, un recrutement des cellules immunitaires plus important, une densité vasculaire plus élevée, une formation de tissus de granulation plus importante et un taux de collagènes plus élevé, une ré-épithélialisation plus rapide (186,187). Les feuilles de *C. inophyllum* qui inhibaient la cicatrisation des fibroblastes sont inactives sur les kératinocytes. Les extraits de *G. taitensis* et de *C. subcordata* inhibent la prolifération des fibroblastes et activent celle des kératinocytes. Ces deux derniers extraits ont montré les meilleures propriétés cicatrisantes. Aucune étude antérieure ne mentionne leurs propriétés cicatrisantes par des tests d'activités biologiques. Ainsi, pour approfondir les effets ci-présents, les tests sont reproduits sur leurs fractions de CPC et l'étude de leurs compositions chimiques permettra ensuite de mieux comprendre leurs activités biologiques.

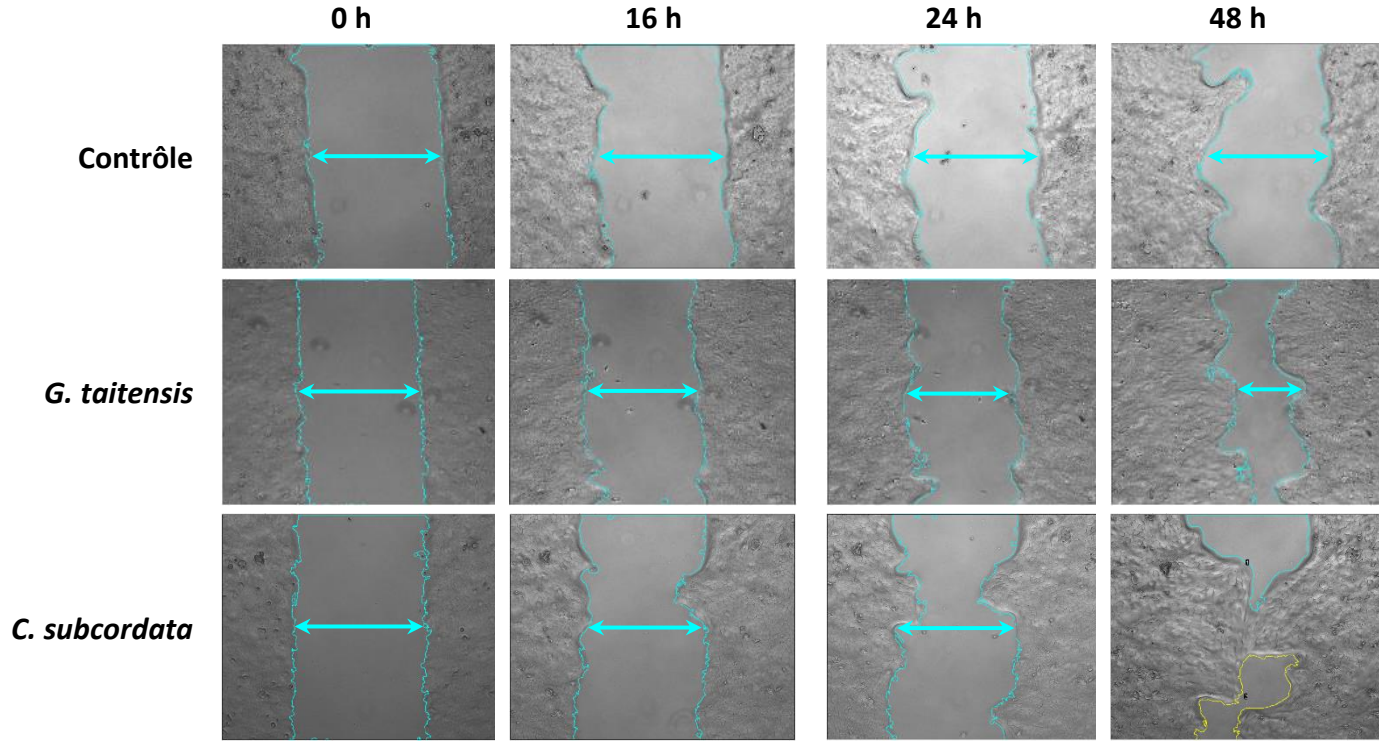


Figure 74 : Photo de la brèche séparant deux monocouches kératinocytes à 0 h, 16 h, 24 h et 48 h dans les conditions d'étude avec mitomycine C

- **Impact des fractions de CPC de *C. subcordata* sur la migration et la prolifération**

Parmi les 16 fractions évaluées, trois ont révélé des résultats significativement différents des conditions de contrôle (**Figure 75**). La fraction 15 de *C. subcordata* accélère la migration et la prolifération des kératinocytes à 16 h et montre une cicatrisation presque totale (97 %) à 24 h, contrairement au contrôle négatif (67 %). En revanche, les fractions 13 et 16 ralentissent la cicatrisation. La fraction 13 inhibe fortement la cicatrisation avec un pourcentage de fermeture cicatricielle à 24 h de 38 % contre 97 % pour le contrôle négatif. La fraction 16 présente un retard de cicatrisation à 24 h, mais aboutit à une cicatrisation complète similaire au contrôle. L'étude de la composition de ces fractions permettra par la suite de discuter leurs activités biologiques.

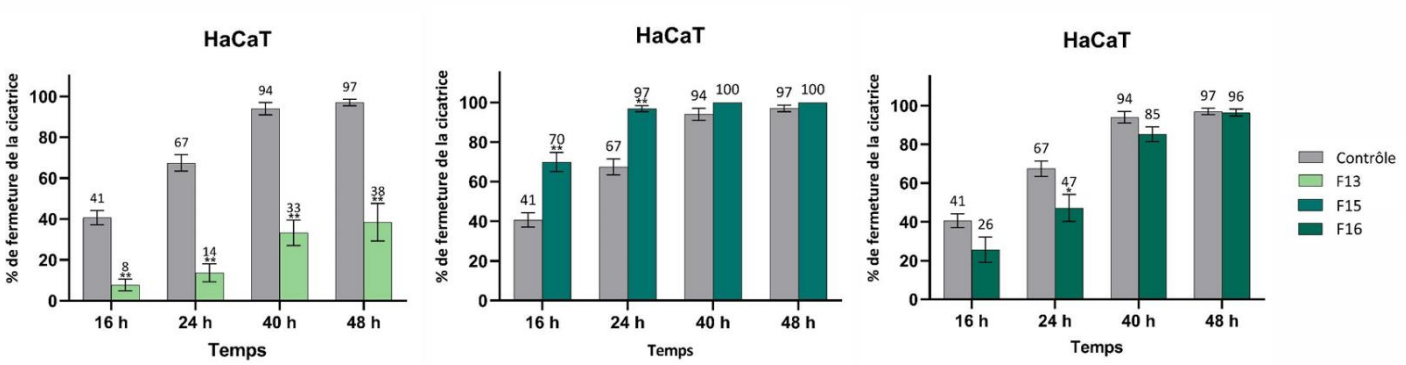


Figure 75 : impact des fractions de CPC de *C. subcordata* sur la migration et la prolifération des kératinocytes

- **Impact des fractions de CPC de *G. taitensis* sur la migration et la prolifération**

Parmi les 14 fractions évaluées, dix ont révélé des résultats significativement différents des conditions de contrôle. Les fractions 1, 3, 6, 7 et 9 accélèrent la migration et la prolifération des kératinocytes (**Figure 76**). La fraction 1 montre la meilleure activité avec une cicatrisation à 16 h de 72 % et une cicatrisation complète à 24 h.

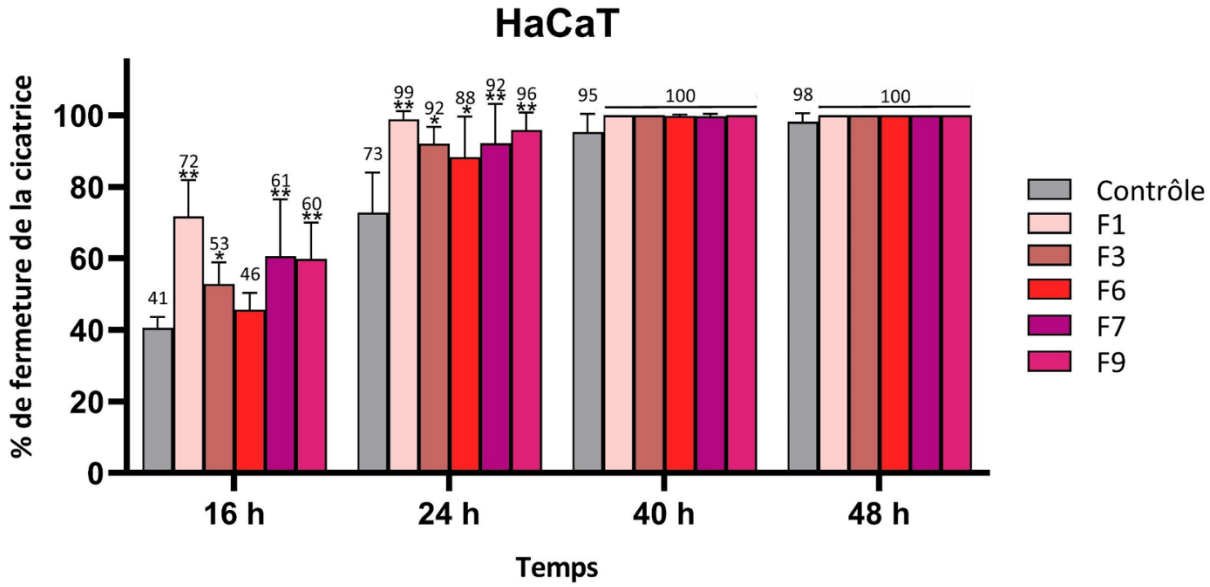


Figure 76 : Fractions de CPC de *G. taitensis* activant la migration et la prolifération des kératinocytes

À l'inverse, les fractions 8, 10 à 12 et 14 ralentissent la migration et la prolifération des kératinocytes (**Figure 77**). Les fractions 11 et 12 inhibent fortement la cicatrisation avec, à 48 h, une fermeture cicatricielle de 43 et 35 % respectivement. La caractérisation chimique de l'ensemble des fractions permettrait de faire le lien entre les activités mesurées et les constituants présents dans ces fractions.

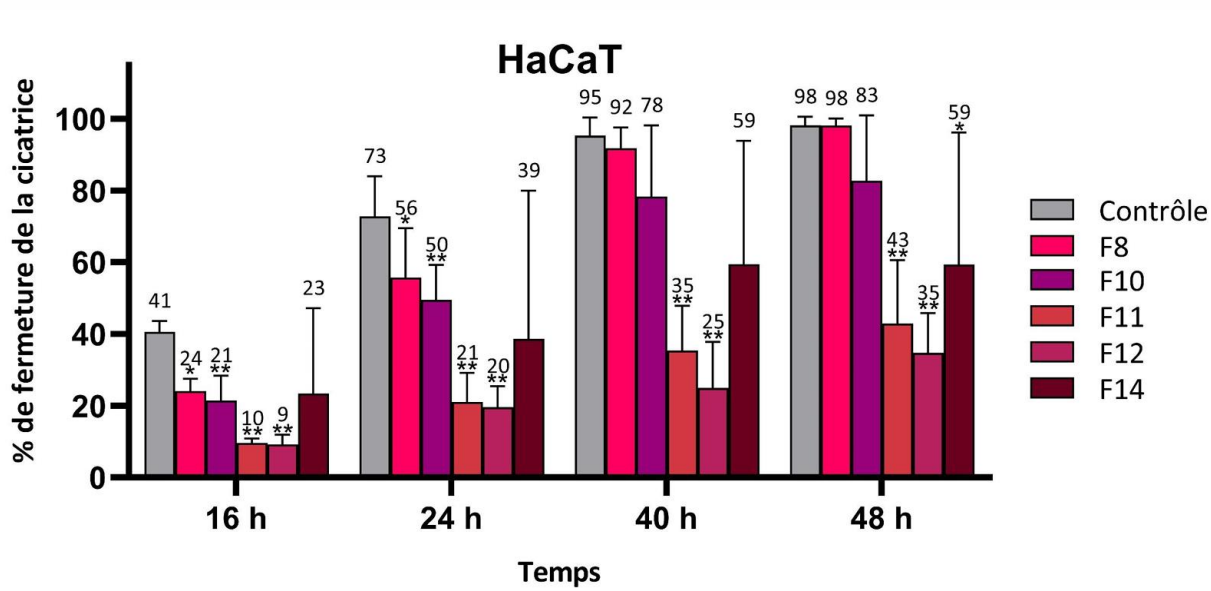


Figure 77 : Fractions de CPC de *G. taitensis* inhibant la migration et la prolifération des kératinocytes

L'ensemble des tests de cicatrisation ont été effectués en l'absence de contrôle positif, ce qui ne permet pas de comparer les échantillons à un composé cicatrisant d'usage. L'utilisation du « scratch wound-healing test » est courante pour investiguer les propriétés des extraits végétaux. Néanmoins, ce modèle composé de cellules en monocouche est assez éloigné des conditions de cicatrisation physiologiques. Une perspective pourrait permettre d'évaluer les échantillons les plus prometteurs sur un modèle cellulaire en trois dimensions, plus proche des conditions réelles ou sur un modèle animal.

2.5. Conclusion partielle

Les tests menés ont permis d'évaluer les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, cicatrisantes, cytotoxiques et anti-prolifératives des cinq extraits de plantes étudiées. Afin d'avoir une vue d'ensemble, les résultats de l'évaluation des activités biologiques des extraits bruts sont synthétisés dans le **Tableau 10**.

Tableau 10 : Tableau récapitulatif des activités biologiques des extraits bruts étudiés

		Amande de *C. inophyllum*	Feuille de *C. inophyllum*	*F. prolixa*	*G. taitensis*	*C. subcordata*	*C. longa*
Antioxydant		/	++	+++	+	++	++
Cytotoxique		/	/	/	/	/	+++
Anti-proliférative mélanome cutané		+++ Phase G1/S	+	/	/	/	+++ Phase M
Inhibition Nf-κB		/	/	–	+	++	++
Inhibition 5-LOX		+	++	/	++	+++	++
Kératinocyte	**Prolifération et migration**	/	/	– –	+++	+++	/
	Migration Mitomycine C	/	/	– – –	/	++	/
Fibroblaste	**Prolifération et migration**	+	– – –	– – –	–	– –	/
	Migration Mitomycine C	+	–	–	/	/	/

Le vert correspond à l'effet désiré, le gris à l'absence d'effet et l'orange à un effet indésirable. Le symbole + indique la présence de l'activité mentionnée, le / l'absence d'activité et le – une activité opposée. Un gradient de couleurs plus ou moins foncé ainsi que le nombre de symboles renseigne l'intensité relative des activités mesurées.

La présente étude décrit pour la première fois les propriétés biologiques de l'extrait de racines aériennes de *F. prolixa*. Cet extrait révèle une importante activité antioxydante et antiradicalaire à la fois *in vitro* selon les tests FRAP et DPPH, mais aussi *in cellulo* sur des kératinocytes selon le test AOP1. Il n'a pas montré d'activité cytotoxique sur les cellules de la peau ni d'activité anti-mélanome. Il révèle des propriétés pro-inflammatoires en activant la voie NF-κB ainsi qu'une inhibition de la migration et de la prolifération des kératinocytes et des fibroblastes. Cet extrait a donc un réel potentiel comme agent antioxydant. Néanmoins, au vu des résultats aux autres tests, il ne serait pas pertinent de l'inclure dans la composition d'un produit cosmétique ou pharmaceutique cicatrisant.

L'extrait de feuille de *C. inophyllum* a révélé des propriétés antioxydantes, antiradicalaires et anti-inflammatoires via l'inhibition de la 5-LOX. Il ne montre pas de cytotoxicité sur les cellules de la peau. En revanche, il inhibe la cicatrisation des fibroblastes et ne révèle aucune activité cicatrisante sur les kératinocytes. Les résultats de l'extrait d'amande de *C. inophyllum* sont

bien différents. L'extrait étudié ne présente pas de propriétés antioxydantes aux concentrations testées. Il favorise la cicatrisation des fibroblastes sans impacter celle des kératinocytes. L'étude de ses propriétés anti-inflammatoires montre une inhibition de la 5-LOX potentiellement due à la présence de calophyllolide. Le calophyllolide montre également un blocage de leur cycle cellulaire en phase G_1/S et une induction de leur apoptose. Ce composé pourrait donc être responsable de l'activité de l'extrait brut d'amande de *C. inophyllum* qui inhibe la prolifération des cellules cancéreuses sans cytotoxicité sur les cellules saines de la peau. La présente étude décrit pour la première fois l'activité anti-mélanome de cet extrait.

L'extrait de *C. longa*, indique des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires via l'inhibition de la 5-LOX et de NF-κB, et anti-prolifératives en bloquant le cycle cellulaire des cellules cancéreuses en phase M. Néanmoins, cet extrait ne montre pas de propriétés cicatrisantes et révèle une forte cytotoxicité sur les cellules de la peau.

L'extrait de *G. taitensis* ainsi que celui de *C. subcordata* ont montré des propriétés antioxydantes. La présente étude décrit, pour la première fois, les propriétés anti-inflammatoires des extraits de *C. subcordata* et de *G. taitensis* qui ont montré une inhibition de NF-κB et de la 5-LOX. Ces extraits révèlent également, pour la première fois, des propriétés cicatrisantes en favorisant la prolifération des kératinocytes. De plus, ils n'ont pas montré de cytotoxicité sur les cellules de la peau.

Ainsi, quatre extraits de plantes ont été sélectionnés afin de réaliser une étude approfondie de leur composition chimique : l'amande de *C. inophyllum*, le *F. prolixa*, le *G. taitensis* ainsi que le *C. subcordata*. Cette étude permettra de documenter leurs phytochimies encore peu connues et de mieux comprendre leurs activités biologiques. L'extrait de feuilles de *C. inophyllum* ayant des propriétés moindres par rapport à l'extrait d'amande, sa composition est décrite succinctement afin de comparer les deux extraits et de mieux comprendre leur activité. La composition chimique de l'extrait de *C. longa* sera décrite de manière succincte, étant donné que celle-ci est bien documentée dans la littérature et que cet extrait cytotoxique n'était pas le plus actif.

3. Caractérisation chimique des extraits de plantes

Afin de documenter la composition chimique de chaque extrait de plante, les analyses LC-MS^2 et RMN ont été réalisées sur les extraits bruts, les partitions liquide/liquide et les fractions obtenues par CPC. Des méthodes analytiques déréplicatives sont ensuite utilisées afin d'identifier et d'annoter les métabolites avec un haut niveau de confiance et sans étapes de purifications. La procédure CaraMel utilise les données de RMN pour générer des cartes de chaleur qui facilitent l'identification structurale des composés en mélange dans les fractions de CPC. La construction de réseaux moléculaires permet de regrouper en familles chimiques les composés présents dans les fractions. Les annotations ont ensuite été faites en utilisant les bases de données spectrales (GNPS) et prédictives (VersaDB) et via le logiciel SIRIUS. Les métabolites identifiés sont ensuite discutés au regard des résultats des tests biologiques réalisés afin d'établir une relation entre la composition chimique et l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, cicatrisante et anti-mélanome.

3.1. Composition chimique de l'extrait de *F. prolixa*

À ce jour, à notre connaissance, la phytochimie de *F. prolixa* n'est renseignée par aucune étude antérieure. Une recherche bibliographique a permis de passer en revue les composés décrits dans d'autres espèces du genre *Ficus*. La liste de ces composés est disponible en annexe (**Annexe 1**). Ainsi, les études menées sur le genre *Ficus* ont montré la présence majoritaire de flavonoïdes (21 %) et isoflavonoïdes (7 %), de triterpènes (26 %) et stéroïdes (9 %) et de coumarines (8 %) (**Figure 32**).

L'extrait brut de racines aériennes de *F. prolixa* obtenu par UAE à l'éthanol 70 %, a été analysé en LC-MS^2 et en RMN. Les partitions liquide/liquide permettant d'obtenir les extraits à l'heptane, à l'acétate d'éthyle, au butanol et aqueux ont été analysées en LC-MS^2 en mode d'ionisation positif et négatif afin de compléter l'annotation globale de *F. prolixa*. L'extrait à l'AcOEt a été utilisé pour procéder au fractionnement par CPC en utilisant le système de solvants AcOEt/ACN/eau (4/1/5) en mode descendant. Les 15 fractions obtenues ont été analysées à la fois en LC-MS^2 et en RMN. Les analyses menées sur l'ensemble des échantillons ont permis d'annoter 160 composés en spectrométrie de masse (**Tableau 11**) et d'identifier 14 composés en RMN (**Figure 78**) grâce à la procédure CaraMel. Tous sont décrits pour la première fois dans *F. prolixa*. Les déplacements chimiques des composés identifiés sont disponibles en annexe (**Annexe 9**).

Parmi les composés identifiés, l'hordenine semble majoritaire dans l'extrait brut. C'est la première description de ce composé dans le genre *Ficus*. Cet alcaloïde présente une structure de type phényléthylamine proche de l'adrénaline, ce qui lui confère des activités pharmacologiques sur le système sympathique. Ainsi, ce composé est inclus dans des compléments alimentaires pour la perte de poids et les performances sportives. L'hordenine possède des propriétés anti-inflammatoires *in vitro* et *in vivo* notamment via l'inhibition de la voie NF-κB (188,189). Ce composé a fait également l'objet de brevets pharmaceutiques et cosmétiques coréen comme principe actif pour prévenir ou traiter le cancer de la peau. Le

brevet indique une excellente capacité à inhiber la prolifération et la croissance des cellules cancéreuses cutanées, tout en n'ayant aucun effet sur les cellules normales de la peau (190).

L'extrait est également composé de nombreux flavonoïdes. L'épicatéchine ainsi qu'une procyanidines de type B ont notamment été identifiées dans les fractions obtenues par CPC. Ces composés sont connus chez d'autres espèces au sein du genre *Ficus* tel que *F. carica* et ont montré une activité anti-radicalaire au test DPPH à des concentrations micromolaire (191,192). En effet, l'épicatéchine et ses dérivés sont connus pour leur capacité à réduire le stress oxydatif. Car au-delà de leur activité anti-radicalaire, ils permettent l'activation de Nrf2 qui favorise la production d'antioxydants et l'inhibition de NF-κB, réduisant ainsi l'expression de composés oxydants et l'inflammation (193). Les procyanidines, oligomères d'épicatéchines et catéchines, possèdent des propriétés similaires, mais ont de moins bonnes propriétés d'absorption. Elles ont la capacité d'interagir avec les composants des bicouches lipidiques membranaires (cholestérols, radeaux lipidiques) et donc d'activer des voies de signalisation, notamment anti-inflammatoires et antioxydantes (193). L'étude de Li *et al*. a montré que les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de la procyanidine B2 participent à améliorer la cicatrisation sur modèle animal. Ce composé a également montré une capacité à augmenter l'angiogenèse, favorisant ainsi la perfusion et la suivie des tissus lésés (194) .

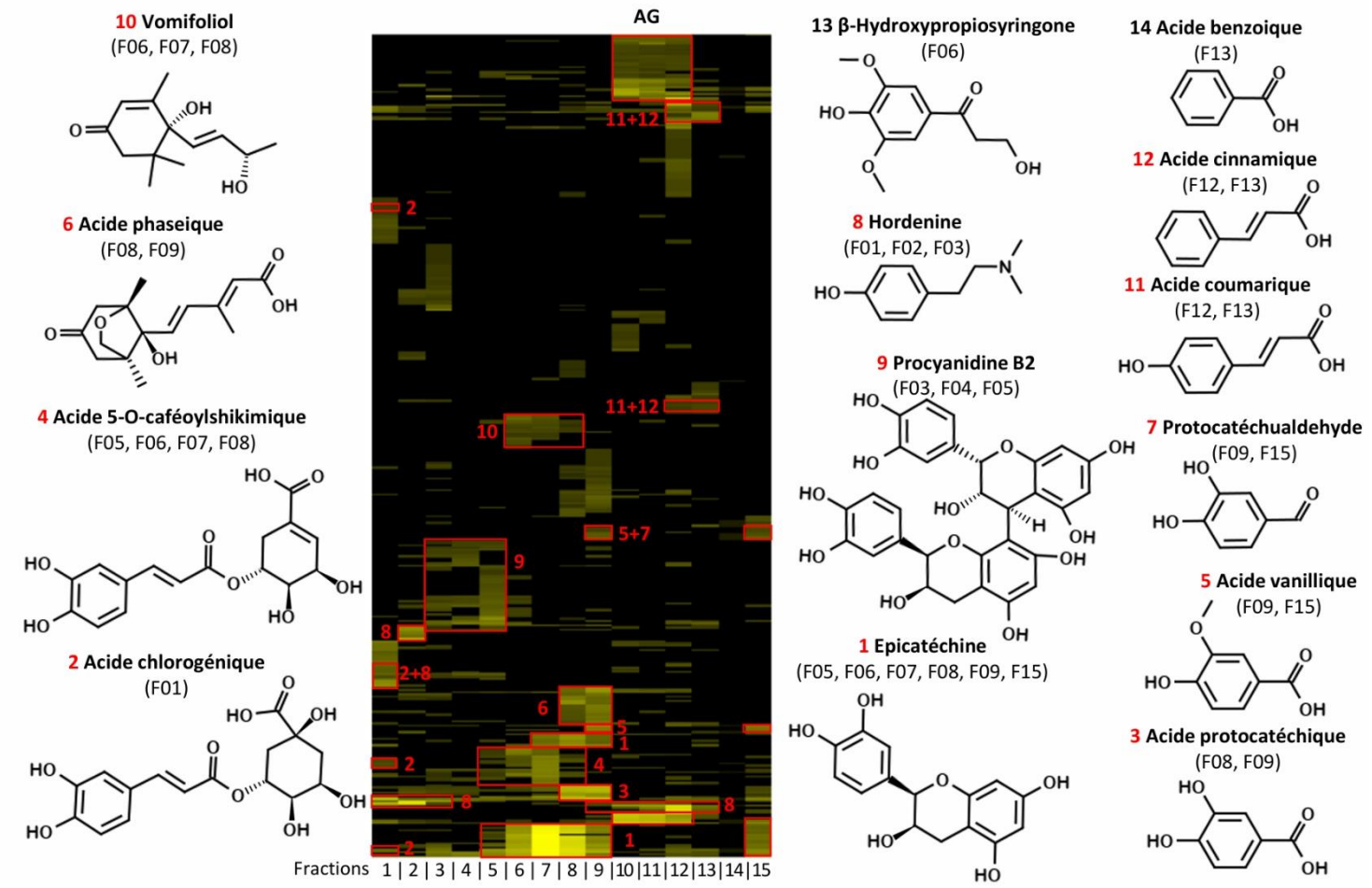


Figure 78 : Carte de chaleur des fractions de CPC 1 à 15 de *F. prolixa* avec clusters et structures des composés identifiés correspondants

L’extrait de *F. prolixa* contient également des acides phénoliques et autres dérivés d'acide cinnamique et shikimique. L’acide 5-*O*-caféoylshikimique est identifié pour la première fois au sein du genre *Ficus*. L’acide chlorogénique identifié en RMN ainsi que le protocatechualdehyde, l’acide coumarique, l’acide cinnamique, l’acide benzoïque, l’acide vanillique et l’acide protocatéchique ont précédemment été identifiés dans d’autres espèces du genre *Ficus* (119,192,195–197). Ces composés sont caractérisés par un cycle aromatique comportant des substituants –OH ou $–OCH_3$. Ils ont la capacité de donner un atome d'hydrogène ou un électron grâce à leur aptitude à stabiliser le radical phénol formé par résonance (161). Ce sont donc de bons antioxydants, mais ils sont aussi connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobiennes (198–203). Certains sont inscrits sur la liste des ingrédients cosmétiques européens (CosIng). C’est le cas de l’acide benzoïque dont les propriétés antimicrobiennes sont utilisées comme agent conservateur. L’acide chlorogénique est un ingrédient antioxydant et un agent de protection et d'entretien de la peau. Aussi, l’acide cinnamique est employé comme agent parfumant et d’entretien de la peau. Le β-hydroxypropiosyringone, précédemment décrit dans *Ficus erecta*, possède des propriétés antioxydantes, mais révèle une absence d’activité antiradicalaire (204–206).
Deux apocaroténoïdes, le vomifoliol et l’acide phaséique, ont été identifiés en RMN. C’est la première description de ses deux composés au sein du genre *Ficus*. Le vomifoliol révèle dans l’étude de Michel *et al*. dans propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes à travers divers tests *in vitro* et *in cellulo* sur des cellules immunitaires. En effet, il montre une inhibition des enzymes impliqués dans l’inflammation (LOX, hyaluronidase, COX-2, élastase-2 et MMP-9). À des concentrations micromolaires, le vomifoliol régule à la baisse l'expression de NF-κB et la libération de cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-8, IL-6 et IL-1β). Il augmente également la sécrétion de la cytokine anti-inflammatoire (IL-10) et réduit significativement le niveau d'ERO (207). L’acide phaséique est une hormone végétale issue du catabolisme de l'acide abscissique. Elle est principalement étudiée pour son impact dans les végétaux, notamment dans les mécanismes d’arrêt de photosynthèse et l'abscission.

Tableau 11 : Ensemble des composés annotés en LC-MS^2 et identifiés en RMN dans l'extrait de *F. prolixa*

Le symbole ◊ indique les composés précédemment identifiés dans le genre *Ficus* et les composés mentionnés en gras correspondent à ceux identifiés en RMN.

Familles chimiques	Noms des composés	m/z	Adduits	Échantillons	Références RMN
Acides aminés et peptides	Arginine	175,1189	[M+H]+	Aq	
	Glutamate	148,0603	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Leucine	132,1019	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Tryptophane	205,0972	[M+H]+	Aq,BuOH	
	N-acétylphénylalanine	206,0818	[M-H]-	BuOH	
	Phénylalanine	166,0865	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Stachydrine	144,1019	[M+H]+	Aq,BuOH,F14, F1, F2	
	4-guanidinobutanal	130,0975	[M+H]+	Aq,BuOH, F2	
	Acide 4-guanidinobutyrique	146,0923	[M+H]+	Aq,BuOH	
	5-oxo-L-proline	130,0499	[M+H]+	Aq	
	N-Fructosyl pyroglutamate	290,0881	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Acide pantothenique	220,1179 218,103	[M+H]+ [M-H]-	Aq,BuOH,F1,F3,F4,F2	
Bases nucléiques	Guanine	152,0566	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Uridine	243,0621	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
Saccharides	Tréhalose	387,1144	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Raffinose	549,168	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Palatinose	341,1087 683,2259	[M-H]- [2M-H]-	BuOH,Aq	
Alcaloïdes	10S-hydroxypheophorbide A	609,2719	[M+H]+	Hep,AcOEt	
	Linamarine	248,1126	[M+H]+	Aq	
	Hydroxyéthyl tetraméthylpiperidinol	202,18	[M+H]+	BuOH	
	Bétaine	118,0863	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Hordenine (8)	166,1227	[M+H]+	Aq,AcOEt,F14,F12,F10, F9,F1,F5,F8,F11,F3,F15, F4,F7,F13,F6,F2	(208)
	Acide indol-3-acrylique	188,0706	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Indole ◊	118,0654	[M+H]+	BuOH	
	Acide indol-3-acétique	176,0706	[M+H]+	F14,F15,F13	
	Indole-3-carbaldehyde	146,0601	[M+H]+	AcOEt	
	Pheophorbide A	593,2766	[M+H]+	AcOEt, Hep	
	Hordenine-glucoside	328,18	[M+H]+	F1,F2	
	2-acétyl-4-méthylpyridine	136,0757	[M+H]+	F14,F9,F15,F13	
	6-méthylpyridin-3-ol	110,0602	[M+H]+	F14,F9,F5,F8,F3,F15,F4	
	Niacinamide	123,0554	[M+H]+	F9,F5,F8,F3,F15,F4,F7,F 2	
	N-méthyltyramine	152,107	[M+H]+	F14,F12,F9,F1,F5,F8,F1 1,F3,F15,F4,F7,F2	
Carbohydrates	L-gulonique acide γ-lactone	177,0397	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
Polycétides	Sedanolide	195,1381	[M+H]+	Hep	
Shikimates et Phénylpropanoïdes	Butyl Benzyl Phthalate	313,1434	[M+H]+	Hep	
	Dibutyl phthalate	279,1591	[M+H]+	Hep	
	Acide phthalique anhydride	149,0234	[M+H]+	Hep	
	β-hydroxypropiosyringone (13) ◊	-	-	F6	(205)
Dérivés d'acide cinnamique et shikimique	Acide 2-coumaroylquinique	339,1074	[M+H]+	BuOH	
	Acide 3-*O*-feruloylquinique	367,1038	[M-H]-	BuOH	
	Acide cryptochlorogénique	353,0878	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	4-hydroxybenzaldehyde	123,0441	[M+H]+	F14,F12,F9,F5,F8,F15,F 4,F7,F13,F6	

	Acide 5-*O*-caféoylshikimique (4)	337,0917 319,0812	[M+H]+ [M+H-H2O]+	BuOH,AcOEt,F9,F5,F8,F3,F15,F4,F7,F13,F6,F2	(209)
	Acide caféique ◊	181,0495 163,039	[M+H]+ [M+H-H2O]+	BuOH,AcOEt	
	Acide chlorogénique (2) ◊	355,1023 377,0843 353,0878 707,1837	[M+H]+ [M+Na]+ [M-H]- [2M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq,F1, F2	(210)
	Acide coumarique (11) ◊	165,0547 147,0441	[M+H]+ [M+H-H2O]+	AcOEt,F13,F9,F5,F8,F15,F7,F6,F2	(211)
	Ethyl vanillate	197,0807	[M+H]+	F9,F5,F8,F15,F7,F6	
	Protocatéchualdehyde (7) ◊	139,039	[M+H]+	F9,F14,F12,F5,F8,F11,F3,F15,F4,F7,F13,F6,F2	(212)
	Acide cinnamique (12) ◊	-	-	F12,F13	(213)
Flavonoïdes	Tricetine ◊	301,0355	[M-H]-	AcOEt	
	Epicatechin-4-β-8-4'-méthylepigallocatechine	607,146	[M-H]-	BuOH	
	Epicatechin-4-β-8-epigallocatechine	593,1311	[M-H]-	AcOEt	
	Arecatannin A1	851,2201 849,2062	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,F9,F5,F8,F15,F4,F7,F6	
	Epicatechin 3-O-vanillate	441,1184	[M+H]+	F14,F12,F9,F15,F13	
	3',4',7-Trihydroxyflavanone	271,0617	[M-H]-	AcOEt	
	3,7,3',4'-Tetrahydroxyflavanone	289,0708	[M+H]+	F14,F9,F5,F8,F3,F15,F4,F7,F13,F6,F2	
	3-Acetoxy-5,7,4'-trihydroxyflavanone	331,081	[M+H]+	F2, F3, F4	
	Steppogenine ◊	289,0708	[M+H]+	F12,F10,F11,F15	
	5,7,4'-Trihydroxy-3',5'-diméthoxyflavanone	315,0861	[M+H-H2O]+	F5,F3,F4	
	Eriodictyonone	301,0723	[M-H]-	AcOEt	
	5-desoxyquercetine	287,0548	[M+H]+	F14,F12,F9,F5,F8,F15,F4,F7,F13	
	5-Hydroxy-7,8,2',3'-tetraméthoxyflavone 5-glucoside	519,1513	[M-H]-	BuOH	
	6,8-di-C-glucopyranosylnaringenine	595,1688	[M-H]-	BuOH	
	6-méthyldihydroquercetine	317,0669	[M-H]-	AcOEt	
	Aesculitannin C	863,1838	[M+H]+	F12,F10,F11,F15,F13	
	Agathisflavone	537,0846	[M-H]-	AcOEt,Aq	
	Amurensisin	441,082 439,0676	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt	
	Apigenin-6-C-glucoside ◊	433,1133	[M+H]+	F9,F8,F3,F15,F4,F2	
	Arecatannin A2	1155,2783 1153,2651	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,F14,F5,F3,F4,F13,F2	
	Arecatannin A3	1443,3422 1441,3296	[M+H]+ [M-H]-	BuOH	
	Arecatannin B1	867,2147	[M+H]+	BuOH,AcOEt	
	Epicatechin 3-O-(3,4-dihydroxybenzoate)	427,1024	[M+H]+	F9,F5,F8,F3,F15,F4,F7,F6,F2	
	Cinchonain I (Ia, Ib, Ic ou Id)	453,1183 451,104	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,F14,F12,F9,F8,F15,F13	
	Cinnamtannin B2	1151,2484	[M-H]-	AcOEt	
	Dihydrokaempferol ◊	287,0564	[M-H]-	AcOEt	
	Dihydroquercetine ◊	305,0655 303,0512	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Epicatéchine (1) ◊	291,0861 289,0719 325,0482	[M+H]+ [M-H]- [M+Cl]-	BuOH,AcOEt,Aq,F14,F12,F10,F9,F5,F8,F11,F3,F15,F4,F7,F13,F6,F2	(214)
	Epicatechin 3-*O*-p-hydroxybenzoate	411,1075	[M+H]+	F9,F5,F8,F3,F15,F4,F7	
	Epicatechin-(4-β-8)-epicatechin-(2-β-7,4-β-8)-catechin	865,1994	[M+H]+	AcOEt,F14,F9,F5,F8,F3,F15,F4,F7,F6	
	Epigallocatechin	305,0665	[M-H]-	BuOH,AcOEt	

	Epigallocatechin-(2-β-7,4-β-8)-epicatechine	593,1297	[M+H]+	AcOEt	
	Eriodictyol ◊	289,0706 287,056	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt	
	Eriodictyol-6-C-glucoside	451,1238	[M+H]+	BuOH,AcOEt,F9,F5,F8,F3,F15,F4,F7,F2	
	Gambiriin C	563,1557	[M+H]+	F14,F9,F5,F8,F15,F7,F13,F6	
	Garcinia biflavonoïde 2	573,1051	[M-H]-	AcOEt	
	Isorhamnetin 3-galactoside	477,1045	[M-H]-	AcOEt	
	Isorhamnetin 3-robinobioside	623,1634	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Kaempferol ◊	287,0551	[M+H]+	AcOEt,F12,F9,F11,F15,F13	
	Kandelin A-1	741,1825	[M+H]+	F9,F8,F15,F7,F6	
	Luteoline ◊	285,0405	[M-H]-	Hep,AcOEt	
	Luteolin-6-C-glucoside	449,1081 447,0937	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,F2, F3, F4	
	Manniflavanone	589,1003	[M-H]-	AcOEt	
	Naringenine ◊	271,0613	[M-H]-	AcOEt	
	Naringenin-6-C-glucoside ◊	435,1289 433,1142	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,F5,F3,F4	
	Neobaicaleine	373,093	[M-H]-	AcOEt	
	Padmatin	319,0814	[M+H]+	AcOEt	
	Phloretin 3',5'-Di-C-glucoside	597,1834	[M-H]-	BuOH	
	Procyanidine A1	577,1353	[M+H]+	AcOEt	
	Procyanidine A2	577,1351	[M+H]+	BuOH,AcOEt,F14,F12,F9,F5,F8,F11,F3,F15,F4,F7,F13,F6	
	Procyanidine A4	593,1297	[M+H]+	F5,F3,F15,F4,F6,F2	
	Manniflavanone	593,1295	[M+H]+	F14,F9,F5,F8,F3,F15,F4,F7,F6,F2	
	Procyanidine B1 ◊	577,1362	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	Procyanidine B2 (9) ◊	579,1507 577,1365	[M+H]+ [M-H]-	Aq,BuOH,AcOEt,F9,F5,F8,F3,F15,F4,F7,F2	(215)
	Procyanidine C1 ◊	867,215 865,2011	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq,F9,F5,F8,F3,F15,F4,F7,F6,F2	
	Quercetin 3-(6'-ferulylglucoside)	639,1366	[M-H]-	AcOEt	
	Quercetin 3-*O*-2(g)-rhamnosyl-rutinoside	755,2054	[M-H]-	BuOH	
	Quercetin 3-*O*-glucopyranoside ◊	465,1036 463,0889	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,F9,F5,F8,F15,F4,F7,F6,F2	
	Quercetin 3-*O*-rutinoside ◊	611,1618 609,1474	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,F9,F3,F4,F2	
	Quercetin 3-rhamnoside ◊	447,094	[M-H]-	AcOEt	
	Quercetin 3-rutinoside 7-galactoside ◊	771,1997	[M-H]-	BuOH	
	Quercetin-3-*O*-arabinoside	433,078	[M-H]-	AcOEt	
	Quercetine ◊	303,0498 301,0356	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,F14,F9,F5,F8,F3,F15,F4,F7,F13,F6,F2	
	2-(3,4-dihydroxyphényl)-3,5,10,11-tetrahydroxy-3,4-dihydro-2H-isochromeno[3,4-h]chromen-8-one	425,0868	[M+H]+	F14,F12,F9,F15,F13	
	Vitisinol	575,1196	[M+H]+	F14,F12,F11,F15,F13	
Isoflavonoïdes	Parvisoflavone B ◊	353,1022	[M+H]+	AcOEt,F12,F10,F11,F15,F13	
Chalcone	2',4',4-Trihydroxychalcone	255,0664	[M-H]-	AcOEt	
Coumarines	7-hydroxycoumarine ◊	165,0912	[M+H]+	F12,F1,F15,F13	
	Esculetin	179,0339 177,0187	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,F14,F9,F8,F15,F13	
	Vaginol	263,0914	[M+H]+	F14,F9,F8,F15,F7,F13	
Naphtalène	2,6-diméthoxynaphthalene	189,091	[M+H]+	F14,F12,F15,F13	

Acides phénoliques	**Acide protocatéchique (3) ◊**	153,0185	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	(216)
	Ethyl syringate	227,0913	[M+H]+	AcOEt,F9,F5,F8,F3,F15, F4,F7,F6	
	Acide vanillique (5) ◊	151,039	[M+H-H2O]+	F9	(217)
	Acide (2,5-dihydroxyphényl)acétique	151,039	[M+H-H2O]+	AcOEt	
	4-vinylphénol	121,0649	[M+H]+	Aq,BuOH,AcOEt,F14,F12,F10,F9,F1,F5,F8,F11,F3,F15,F4,F7,F13,F6,F2	
	Acide benzoique (14) ◊	-	-	F13	(218)
Phénol	5-(4-Hydroxypentyl)-1,3-benzenediol	197,1173	[M+H]+	F14,F10,F9,F8,F15,F7,F13	
Phényléthanoïdes	Sayaendoside	415,1611	[M-H]-	BuOH	
Quinone	13''-carboxy-α-tocopherol	461,3627	[M+H]+	Hep	
Lignanes	7-Hydroxylariciresinol	375,1451	[M-H]-	AcOEt	
	8-hydroxypinoresinol	375,1442	[M+H]+	AcOEt	
	8-Hydroxypinoresinol 4-glucoside	535,1833	[M-H]-	BuOH	
	Aschantin	401,1598	[M+H]+	F14,F12,F15,F15	
	Fraxiresorcinol	405,1547	[M+H]+	F14,F15,F7,F13	
	Hedyotol C	583,2205	[M-H]-	AcOEt	
	Matairesinol ◊	357,1346	[M-H]-	AcOEt	
	Pinoresinol	341,1385	[M+H-H2O]+	F9,F8,F3,F15,F7,F2	
	Pinoresinol glucoside	519,1879	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Pluviatolide	357,1333	[M+H]+	F14,F12,F15,F13	
Apocaroténoïdes	3-Oxo-7,8-dihydro-α-ionone	209,1536	[M+H]+	F14,F9,F5,F8,F15,F7,F6	
	Acide abscisique	265,1433 247,1326 229,1224 263,1289 527,266	[M+H]+ [M+H-H2O]+ [M+H-2H2O]+ [M-H]- [2M-H]-	BuOH,AcOEt,F14,F12,F9,F8,F15,F13	
	Acide dihydrophaseique	281,1393	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Acide phaseique (6)	263,128	[M+H-H2O]+	F9,F8,F15,F7	(219)
	Vomifoliol (10)	207,138	[M+H-H2O]+	F6,F14,F12,F9,F5,F8,F15,F7,F13	(220)
Monoterpenoïdes	Cuminaldehyde	149,0961	[M+H]+	F14,F12,F15,F14	
Steroïdes	Stigmastan-3,5-diene	397,3833	[M+H]+	AcOEt	
	22S-hydroxy-24-méthylene-cholesterol	415,3571	[M+H]+	Hep	
	Sitostenone	413,3779	[M+H]+	AcOEt	
	Stigmasta-4,22,25-trien-3-one	409,3466	[M+H]+	Hep	
	Stigmasta-5,7,22,25-tetraene-3-ol	409,3466	[M+H]+	Hep	
Triterpénoïdes	Acide (3β,19α)-3-(acétyloxy)-19-hydroxyoléan-12-en-28-oique	515,3742	[M+H]+	Hep	
	30-*O*-acétyl-oléan-11,13(18)-dien-3-one	481,3684	[M+H]+	Hep	
	11-oxo-β-amyrin	441,3727	[M+H]+	Hep	
	11-oxooléan-12-en-3β-ol acétate	483,3833	[M+H]+	Hep	
	28-oxours-12-en-3-yl acétate	483,384	[M+H]+	Hep	
	Acide acétylursolique ◊	499,3789	[M+H]+	Hep	
	Aglaiabbreviatin B	457,3308	[M+H]+	Hep	
	Acide betulinique ◊	439,3576	[M+H-H2O]+	Hep	
	Acide brahmique	503,3393	[M-H]-	Hep,AcOEt	
	Acide maslinique	473,363	[M+H]+	Hep	
	Acide miqueromerique	455,3524	[M+H]+	Hep	
	Acide oléanolique ◊	439,3576	[M+H-H2O]+	Hep,AcOEt	
	Acide polyporenique B	483,3477	[M+H]+	Hep	

Les données LC-MS^2 ont permis d'annoter d'une part des métabolites primaires, tels que des acides aminés, des bases nucléiques et des sucres. D'autre part, les métabolites secondaires annotés montrent une importante proportion de flavonoïdes, d'alcaloïdes et de triterpènes.

Parmi les flavonoïdes, l'extrait compte de nombreux monomères et oligomères de catéchine et épicatéchine. Ces composés, notamment les procyanidines de type B et C, ont précédemment été identifiés dans le *F. carica* (191). La présente étude a également permis l'annotation d'autres polymères, tels que l'aesculitannin C, le cinnamtannin B2 et des arecatannins. Les triterpènes, principalement présents dans l'extrait à l'heptane, ont été annotés avec notamment l'acide acetylursolique et l'acide oléanolique. Ces deux composés, précédemment été identifiés dans les racines aériennes de *F. microcarpa*, possèdent des propriétés cytotoxiques sur des lignées cellulaires cancéreuses (118). Parmi les alcaloïdes annotés, le bétaïne et le niacinamide sont des ingrédients cosmétiques listés. Des lignanes tels que le matairesinol et quelques coumarines, comme le 7-hydroxycoumarine ont également été annotés et sont connus chez le *F. carica* (119). La majorité des métabolites primaires et secondaires annotés en LC-MS^2 sont décrits pour la première fois dans le genre *Ficus*.

3.2. Composition chimique de l'extrait de *C. subcordata*

À ce jour, à notre connaissance, la phytochimie de *C. subcordata* n'est renseignée par aucune étude antérieure. Des études sur d'autres espèces du genre *Cordia* ont montré la présence de terpènes, de flavonoïdes, de naphtalènes et de quinones (**Figure 35** et **Annexe 2**).

L'extrait brut de feuille de *C. subcordata*, obtenu par UAE à l'éthanol 70 %, a été analysé en LC-MS^2 et en RMN. Les partitions liquide/liquide permettant d'obtenir les extraits à l'heptane, à l'acétate d'éthyle, au butanol et aqueux ont été analysés en LC-MS^2 en mode d'ionisation positif et négatif afin de compléter l'annotation globale de l'extrait de *C. subcordata*. L'extrait à l'AcOEt a été utilisé pour procéder au fractionnement par CPC en utilisant le système de solvant AcOEt/ACN/eau (3/2/5) en mode descendant. Les 16 fractions obtenues ont été analysées à la fois en LC-MS^2 et en RMN. Les analyses RMN ont permis d'identifier, notamment grâce à la procédure CaraMel, 26 composés dont un nouvellement décrit (**Figure 79**) et 165 composés ont été annotés (**Tableau 13**). Ils sont décrits pour la première fois dans *C. subcordata*. Les déplacements chimiques des composés identifiés sont disponibles en annexe (**Annexe 10**).

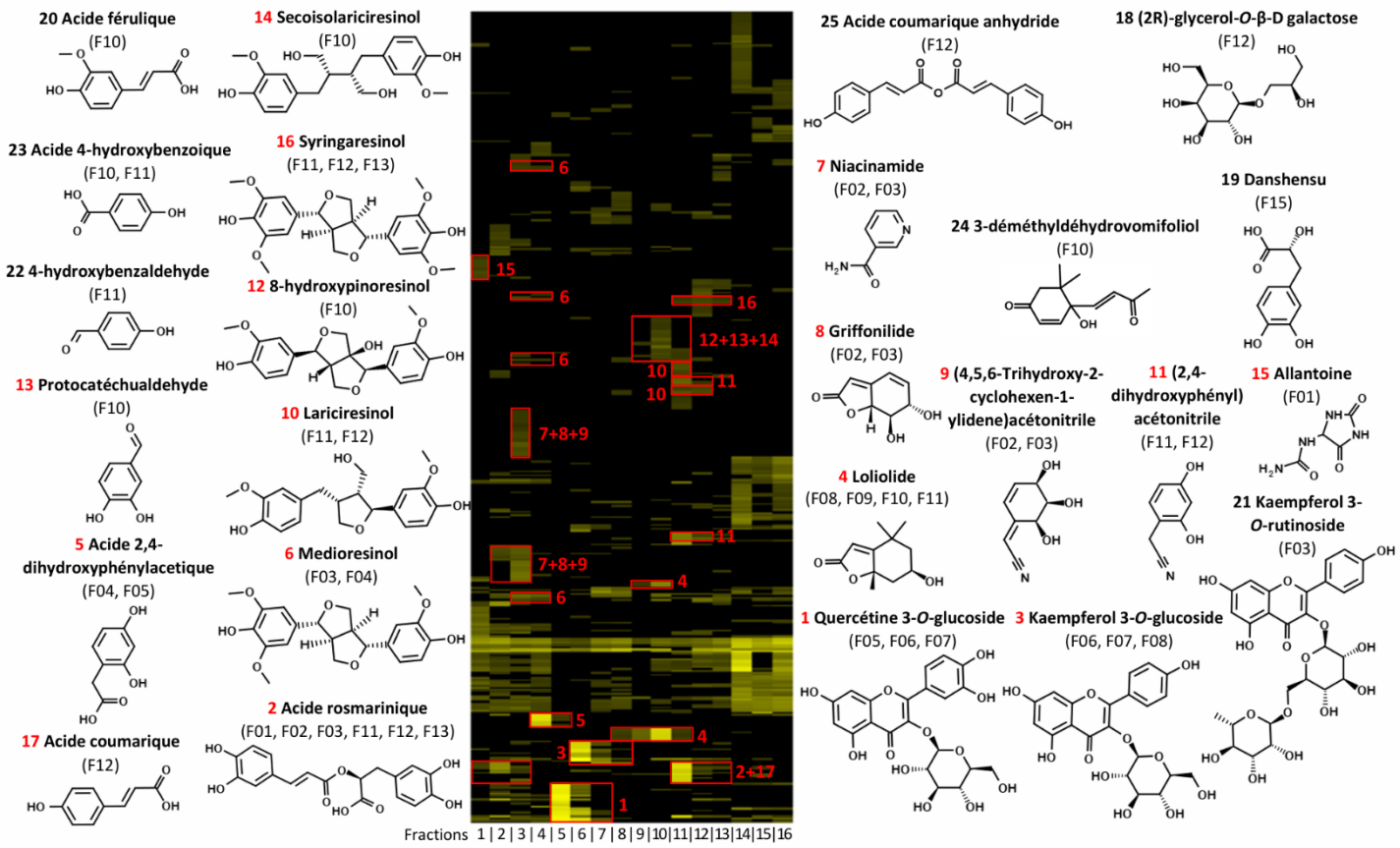


Figure 79 : Carte de chaleur des fractions de CPC 1 à 16 de *C. subcordata* avec les clusters et les structures des composés identifiés correspondants

Les analyses RMN ont tout d'abord permis d'identifier deux sucres, le (2R)-glycerol-*O*-β-D galactose et du saccharose. Le second fait partie des composés majoritaires dans l'extrait brut et a précédemment été rapporté dans *C. trichotoma* (221).

L'extrait de *C. subcordata* contient de nombreux composés phénoliques. De par leur structure, les composés phénoliques sont de bons antioxydants et antiradicalaire mais ils possèdent aussi des propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobiennes (161,202,222). L'acide rosmarinique est majoritaire dans l'extrait brut. C'est le constituant le plus courant chez les Boraginacées dont le genre *Cordia* fait partie (223) . Ce composé présente des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes favorables aux soins de la peau (223,224). Néanmoins, il présente une faible biodisponibilité en raison d'un métabolisme et d'une élimination rapide, ce qui encourage l'utilisation de méthodes de formulation à libération prolongée (224).

Le danshensu, aussi appelé l'acide salvianique A, a été identifié par RMN. Selon les données de la littérature, ce composé présente des propriétés cicatrisantes et anti-inflammatoires (225,226). Il a également montré un effet antitumoral sur les mélanomes cutanés en inhibant l'invasion et la migration des cellules (B16F10) de manière dose-dépendante, bloquant ainsi la formation de métastases (227).

Parmi ces composés phénoliques, des flavonoïdes ont été identifiés : la quercetin 3-*O*-glucoside, le kaempferol 3-*O*-glucoside et le kaempferol 3-*O*-rutinoside. On retrouve également des acides phénoliques et des dérivés d'acide cinnamique et shikimique tels que l'acide 4-hydroxybenzoïque, l'acide 2,4-dihydroxyphénylacétique, l'acide coumarique, le protocatechualdehyde, le 4-hydroxybenzaldehyde et l'acide férulique. Les composés phénoliques sont particulièrement utilisés en cosmétiques, notamment pour leur propriété antioxydante, mais aussi antimicrobienne, apaisante et protectrice cutanée. C'est le cas de l'acide rosmarinique, de l'acide férulique, de la quercetin 3-*O*-glucoside, du kaempferol 3-*O*-glucoside et du kaempferol 3-*O*-rutinoside. Le 4-hydroxybenzaldehyde est utilisé comme agent parfumant et l'acide 4-hydroxybenzoïque comme conservateur.

Des lignanes ont été identifiées : le secoisolariciresinol et le syringaresinol, le 8-hydroxypinoresinol, le lariciresinol et le medioresinol. Les lignanes sont connues pour exercer des activités antioxydantes, anti-radicalaires et anti-inflammatoires. En effet, elles régulent les enzymes antioxydantes en activant la voie de signalisation Nrf2-ARE. Les effets anti-inflammatoires des lignanes résultent de l'inhibition des voies NF-κB et MAPK (198,205,206,228).

Des alcaloïdes ont été identifiés au sein de l'extrait de *C. subcordata*. Le niacinamide (nicotinamide) est très répandu dans les produits cosmétiques pour renforcer la barrière cutanée, apaiser les peaux sensibles et lisser les imperfections, telles que l'acné (229). En facilitant la réparation de l'ADN, en modulant les voies inflammatoires et en atténuant le stress oxydatif, le niacinamide contribue à prévenir le photovieillissement et à traiter les affections inflammatoires chroniques, telles que la dermatite atopique. Des études cliniques incluant du niacinamide par voie topique sont également en cours pour traiter le psoriasis ou encore le lupus (230). L'allantoïne est un composé précédemment identifié dans plusieurs espèces du genre *Cordia* (221,231). C'est également un ingrédient cosmétique très fréquent qui possède des propriétés astringentes, anti-irritantes, anti-inflammatoires, cicatrisantes et hydratantes (223). Il entre donc dans la composition de produits en tant qu'émollient et agent

renforçant la peau. Il contribue ainsi à atténuer les symptômes inflammatoires cutanés (rougeurs, gonflements, démangeaisons) en réduisant le taux d'interleukines (IgE, IL-5). Il participe au processus de cicatrisation des plaies en stimulant la prolifération des fibroblastes (223). Deux composés à fonction nitrile ont été identifiés, le (4,5,6-Trihydroxy-2-cyclohexen-1-ylidene)acétonitrile et le (2,4-dihydroxyphenyl)acétonitrile. Ces composés sont peu fréquents et leurs activités biologiques sont peu documentées (232). Néanmoins, le lithospermoside, un composé similaire, a montré une forte activité hypoglycémiante chez des souris diabétiques et fait l'objet d'un brevet pour le traitement de cette pathologie (233).

Enfin, des apocaroténoïdes et benzofuranes ont été identifiés. Le loliolide présente des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (234–236). Ce composé a fait l'objet de plusieurs brevets mettant en avant ses propriétés anti-inflammatoires, anti-rides, cicatrisantes, antioxydantes et protectrices contre les effets des particules fines de pollution et les UVB sur la peau (237–242). Le griffonilide reste peu étudié et aucune donnée bibliographique ne renseigne ses propriétés biologiques significatives. Le 4-hydroxy-5,5-diméthyl-4-(3-oxo-1-buten-1-yl)-2-cyclohexen-1-one ($C_{12}H_{16}O_3$, 208,3 g/mol) est un composé nouvellement décrit dans la nature dont la caractérisation par RMN est présentée dans le **tableau 12** ci-dessous. Il est issu de la fraction 10 et sa structure a été identifiée pour la première fois en milieu naturel par analogie au dehydrovomifoliol avec lequel elle diffère par l'absence de groupement méthyl en position 3 (**Figure 80**). Cet apocaroténoïde pourrait donc être nommé 3-déméthyldéhydrovomifoliol.

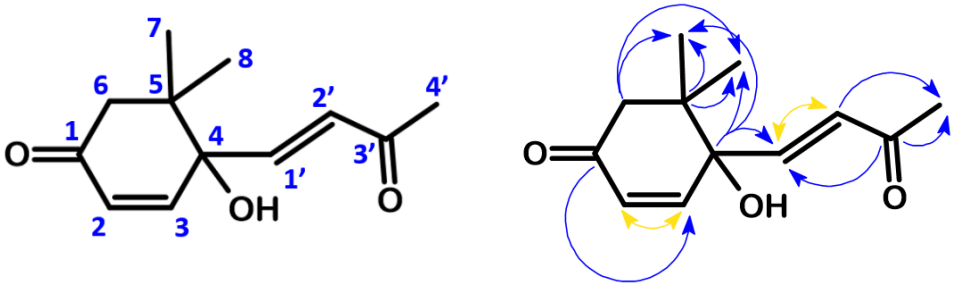


Figure 80 : Structure du 3-déméthyldéhydrovomifoliol numéroté et avec les corrélations COSY (en jaune) et HMBC (en bleu)

Tableau 12 : Déplacements chimiques du 3-déméthyldéhydrovomifoliol et comparaison avec la base de données prédictives CSearch

Numérotation	^{1}H (ppm)	^{13}C (ppm)	Prédiction ^{13}C (ppm)
1	-	198,3	194,9
2	6,3	130,5	128,4
3	7,0	147,1	146,1
4	-	68,9	68,4
5	-	34,5	38,5
6	1,9 ;1,4	46,5	48,9
7	0,9	24,8	24,9
8	1,1	19,7	24,9
1'	7,1	143,5	135,1-150,9
2'	6,0	132,3	135,6
3'	-	197,5	199,2
4'	2,2	27,4	28,0

Tableau 13 : Ensemble des composés annotés en LC-MS^2 et identifiés en RMN dans l'extrait de *C. subcordata*

Le symbole ◊ indique les composés précédemment identifiés dans le genre *Cordia* et les composés mentionnés en gras correspondent à ceux identifiés en RMN.

Familles chimiques	Noms des composés	m/z	Adduits	Échantillons	Références RMN
Saccharides	Acide gluconique	195,0502	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Maltitol	343,1397	[M-H]-	BuOH,Aq	
	(2R)-glycerol-*O*-β-D galactose (18) ◊	-	-	F12	(243)
	Palatinose	341,1086 683,2248	[M-H]- [2M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq,Hep	
	Saccharose (26)	365,1053 387,1142 741,1438	[M+Na]+ [M+FA-H]- [2M-2H+Na]-	AcOEt,BuOH,Aq,Hep	(244)
	Acide ascorbique	175,0239	[M-H]-	Aq	
Acide gras hydroxylé	Acide citrique	191,019	[M-H]-	Aq	
Acide gras	Acide stearidonique	277,2162	[M+H]+	BuOH,Aq	
Bases nucléiques	5'-Deoxy-5'-(méthylsulfinyl)adénosine	314,0917	[M+H]+	BuOH,Aq,F3,F2,F1	
	5'-Méthylthioadénosine	298,0969	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Adénosine	268,1038	[M+H]+	BuOH	
	Guanine, 9-β-D-xylofuranosyl-	284,0987	[M+H]+	BuOH	
	Isopentenyl-Adenine-9-glucoside	366,1771	[M+H]+	F3,F2	
	N6-Threonylcarbamoyladénosine	413,1419	[M+H]+	Aq	
	2-*O*-Méthyladénosine	282,1189	[M+H]+	F2	
	Uridine	243,0622	[M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq	
Acides aminés et peptides	N-cis-p-coumaroyltyrosine	326,1033	[M-H]-	BuOH	
	1-β-D-glucopyranosyl-L-tryptophan	367,1502	[M+H]+	BuOH	
	Acide (R)-piperidine-2-carboxylique	130,0863	[M+H]+	F2,F1	
	5-Oxo-L-norleucine	146,0811	[M+NH4]+	F2,F1	
	Acide anthranilique	102,0340	[M+H-2H2O]+	F9,F7,F8,F10,F3,F2,F12, F13,F4,F1	
	Tryptophane	205,0971 188,0706 203,082	[M+H]+ [M+NH4]+ [M-H]-	BuOH,Aq	
	Tyrosine	182,0811	[M+H]+	BuOH,Aq,F1	
	N-(1-Deoxy-1-fructosyl)isoleucine	276,1441	[M+H-H2O]+	F1	
	N-acétyl-D-tryptophan	245,0928	[M-H]-	BuOH,Aq	
	N-acétylphénylalanine	206,0817	[M-H]-	BuOH,Aq	
	N-Fructosyl pyroglutamate	290,088	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Phénylalanine	166,0863	[M+H]+	F2,F1	
	N,N,N-Triméthyl-L-alanyl-L-proline betaine	229,1546	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Valyl-Proline	215,1390	[M+NH4]+	F1	
	Acide pantothenique	220,1181 202,1074 218,1028	[M+H]+ [M-H]- [M-H2O+H]+	BuOH,Aq,F3,F2,F4,F1	
Alcaloïdes	**Allantoine (15) ◊**	157,0358	[M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq,	(245)
	Indole	118,0652	[M+H]+	F9,F8,F10,F11,F2,F12,F 13	
	Acide indole-3-acétique	176,0705	[M+H]+	F9,F10,F11	
	Indole-3-carboxaldéhyde	146,0598	[M+H]+	F11,F12,F13	
	Indoline	120,0809	[M+H]+	F1	
	Acide kynurenique	190,0499	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Lumichrome	243,0875	[M+H]+	BuOH,Aq	

	Acide 1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline-3-carboxylique	217,0972	[M+H]+	BuOH	
	2-(3,4-dihydroxyphényl)acétamide	168,0654	[M+H]+	F2,F5,F4,F1	
	Acide 4-pyridoxique	182,045	[M-H]-	BuOH,Aq	
	7-Formylindole	146,06	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Acide nicotinique	124,0394	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Acide Xanthurenique	206,0448	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Dicoumaroyl Spermidine	438,239 436,2246	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,F16,F15	
	Ethyl nicotinate	152,0708	[M+H]+	F9	
	Prunasin amide	314,1233	[M+H]+	F2,F1	
	Feruloylputrescine	265,1545	[M+H]+	BuOH	
	Niacinamide (7)	123,0553	[M+H]+	BuOH,Aq,AcOEt,F9,F7,F8,F10,F11,F3,F2,F12,F13,F5,F4,F1,F6	(246)
	Pyridoxine	170,0811 152,0705	[M+H]+ [M+H-H2O]+	F2	
	Lithospermoside	330,1182	[M+H]+	AcOEt,BuOH,Aq	
	10S-Hydroxypheophorbide A	609,2717	[M+H]+	AcOEt,Hep,F14,F16,F15	
	Pheophorbide A	593,2764	[M+H]+	AcOEt,Hep,F14,F16,F15	
	(4,5,6-Trihydroxy-2-cyclohexen-1-ylidene)acetonitrile (9)	-	-	F2,F3	(233)
	(2,4-dihydroxyphenyl)acetonitrile (11)	-	-	F11,F12	(247)
Anthraquinones	Catenarin	269,0446	[M+H-H2O]+	F6	
Shikimates et phénylpropanoïdes	Acide 3,4-dihydroxyphényllactique	395,0983	[2M-H]-	BuOH,Aq	
	Osmanthuside H	431,1562	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Rhodioloside	299,1134	[M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq	
	3,4'-Dihydroxypropiophenone-O-glucoside	327,1084	[M-H]-	BuOH,Aq	
	N1-trans-Feruloylagmatine	307,1764	[M+H]+	BuOH	
	Epiphyllic acid	357,0616	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Acide rosmarinique (2) ◊	361,0915 383,0739 343,0810 721,1770 359,077 395,0534 719,1619	[M+H]+ [M+Na]+ [M-H2O+H]+ [2M+H]+ [M-H]- [M+Cl]- [2M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq,F9,F11,F2,F12,F1	(248)
	Danshensu (15)	-	-	F15	(249)
Acides phénoliques	Benzaldéhyde	124,0759	[M+NH4]+	F6	
	Acide glucosyloxyphénylacétique	337,0884	[M+Na]+	F3	
	Acide phthalique	149,0229	[M+H-H2O]+	F12,F13	
	Acide 2,4-dihydroxyphénylacétique (5)	151,0389	[M+H-H2O]+	F5,F4	(250)
	Ethyl syringate	227,0914	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Acide shikimique	173,0447	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Alcool vanillique	137,0597	[M+H-H2O]+	F3,F2,F5,F6	
	Acide 4-hydroxybenzoique (23) ◊	-	-	F10,F11	(251)
Dérivés d'acide cinnamique et shikimique	Acide cinnamique méthyl ester	163,0754	[M+H]+	BuOH,Aq,F7,F8,F2,F6	
	Acide nicotinique méthyl ester	138,055	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Salviaflaside	521,1307	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Protocatechualdéhyde (13)	139,039	[M+H]+	BuOH, AcOEt,F9,F10	(212)
	1-*O*-Feruloylglucose	339,1066	[M+H-H2O]+	F7,F8,F10,F4,F6	
	Acide coumarique (17)	165,0547 147,0438	[M+H]+ [M+H-H2O]+	Aq,F9,F7,F8,F10,F11,F2,F12,F13	(211)
	Acide férulique (20)	195,0652 177,0546	[M+H]+ [M-H2O+H]+	BuOH,AcOEt,Aq	(211)
	Acide caféique ◊	163,0389	[M+H-H2O]+	BuOH,AcOEt,Aq,F9,F11,F15	
	Acide caféique éthyl ester	209,0810	[M+H]+	F16,F11	

	Acide sinapique	207,0653	[M+H-H2O]+	BuOH,Aq,F3,F5,F4,F6	
	Acide 4-*O*-β-D-glucosyl-4-coumarique	344,1341	[M+NH4]+	Aq	
	4-hydroxybenzaldehyde (22) ◊	-	-	F11	(252)
	Acide rosmarinique méthyl ester ◊	357,0971	[M+H-H2O]+	F15	
	Acide coumarique anhydride (25)	-	-	F12	**Prédiction CSearch**
	Acide quinique	191,0552	[M-H]-	BuOH,Aq	
Flavonoïdes	Luteolin 7-(6''-malonylglucoside)	535,1094	[M+H]+	BuOH,AcOEt	
	Quercetin 3-*O*-α-L-arabinopyranoside	433,0781	[M-H]-	AcOEt	
	Naringenine	273,0753 271,0612	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,F9,F7,F6	
	Quercetin-3-*O*-rutinose ◊	611,1609 609,1473 1219,2994	[M+H]+ [M-H]- [2M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq,F3,F2,F4,F1	
	Quercetin 3-(glucoside-2-synapoyl)	671,1609	[M+H]+	F9,F10,F11	
	Isorhamnetin 3-[6''-(2-(E)-butenoyl)-glucoside]	547,1444	[M+H]+	F11,F12,F13	
	Isorhamnetin 3-*O*-(6''-*O*-feruloyl)-glucoside	655,1640	[M+H]+	F12,F13	
	Kaempferol ◊	287,0549	[M+H]+	BuOH,AcOEt,F9,F7,F14,F16,F8,F10,F11,F3,F2,F12,F13,F5,F4,F1,F6,F15	
	Kaempferol 3-(6''-acétylglucoside)	491,1177 513,0995	[M+H]+ [M+Na]+	F9,F7,F10,F11,F3,F12,F13,F4	
	Luteolin 7-(6''-malonylglucoside)	535,1096	[M+H]+	F2,F1	
	Kaempferol 3-[6''-(3-hydroxy-3-méthylglutaryl)glucoside]	575,1391	[M+H-H2O]+	F9,F10	
	Kaempferol 3-*O*-rutinoside (21) ◊	595,1658 617,1459 593,1514	[M+H]+ [M+Na]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,F3,F2,F4	(253)
	Kaempferol-3-*O*-glucoside (3)	449,1075 471,0893 447,0934 895,195	[M+H]+ [M+Na]+ [M-H]- [2M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq,Hep,F9,F7,F14,F16,F8,F10,F11,F3,F2,F12,F13,F5,F4,F6,F15	(253)
	Kaempferol-*O*-acétylglucoside	491,1187	[M+H]+	AcOEt	
	Naringenin 7-*O*-β-D-glucoside	433,1142	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Quercetin ◊	303,0499	[M+H]+	BuOH,Aq,AcOEt,F9,F7,F14,F16,F8,F10,F11,F3,F2,F12,F13,F5,F4,F1,F6,F15	
	Quercetin 3-*O*-glucoside (1)	465,1026 463,0884 927,1849 487,0840	[M+H]+ [M-H]- [2M-H]- [M+Na]+	BuOH,AcOEt,Aq, F9,F7,F14,F16,F8,F10,F11,F3,F2,F12,F13,F5,F4,F1,F6,F15	(233)
	Quercetin 3-*O*-malonylglucoside	551,104	[M+H]+	BuOH,F2,F1	
	Quercetin-3,4'-*O*-di-β-glucoside	625,142	[M-H]-	BuOH	
	Quercetin-3-D-xyloside	435,0922	[M+H]+	F7,F6	
	Quercetin-3-*O*-glucose-6''-acétate	507,1130 505,0996 529,0945	[M+H]+ [M-H]- [M+Na]+	AcOEt,BuOH, F9,F7,F8,F10	
	Syringetin-3-*O*-glucoside	509,1298 507,1148	[M+H]+ [M-H]-	BuOH	
Chalcones	Phloretin	275,0904	[M+H]+	F7,F8	
	Phloretin-2'-*O*-glucoside	435,1302	[M-H]-	AcOEt	
Lignanes	Pinoresinol 4-*O*-glucoside	519,1873	[M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq	
	Syringaresinol β-D-glucoside	598,2504 603,2050 625,2147	[M+NH4]+ [M+Na]+ [M+FA-H]-	BuOH,Aq,F3,F2	
	Syringaresinol-di-β-D-glucopyranoside	787,268	[M+FA-H]-	BuOH,Aq	

	2,6-Diméthoxy-4-[3-(7-méthoxy-1,3-benzodioxol-5-yl)-1,3,3a,4,6,6a-hexahydrofuro[3,4-c]furan-6-yl]phénol	417,1537	[M+H]+	F9,F8,F10,F11,F3	
	Lanicepside B	537,1988	[M-H]-	BuOH,Aq	
	4-Ketopinoresinol	373,1279	[M+H]+	F9,F11,F3,F4	
	7-Hydroxylariciresinol	359,1480	[M+H]+	F7,F8,F4,F6	
	7-Hydroxymatairesinol	375,1432	[M+H]+	F3,F2,F4	
	8-Hydroxypinoresinol (12)	375,1441 357,1323	[M+H]+ [M+H-H2O]+	AcOEt,F9,F8,F10,F11,F12,F9,F10,F3,F4	(254)
	Arctigenin-4-glucoside	573,1752	[M+K]-	BuOH,Aq	
	Episyringaresinol 4'-*O*-β-D-glncopyranoside	603,2057	[M+Na]+	Aq	
	Fraxiresinol	405,1540 387,1429	[M+H]+ [M+H-H2O]+	F10,F11 F10,F11,F3,F4	
	Hydroxymatairésinol	357,1334	[M+H-H2O]+	BuOH,AcOEt,F16,F11	
	lariciresinol 4-*O*-glucoside	540,2446 521,2028	[M+NH4]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq	
	Matairesinol	323,1271 341,1379	[M+H-2H2O]+ [M+H-H2O]+	F7,F8,F3,F2,F4,F6	
	matairesinoside	519,1877	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Medioresinol (6)	371,1477 389,1592	[M+H-H2O]+ [M+H]+	F7,F8,F3,F2,F6	(255)
	Secoisolariciresinol (14)	327,1588 345,1692 361,1655	[M+H-2H2O]+ [M+H-H2O]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq, F3,F2,F1	(256)
	Syrigaresinol 4'-*O*-glucoside	579,209	[M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq	
	Syringaresinol (16)	419,1693 417,1556 383,1483 401,1588	[M+H]+ [M-H]- [M+H-2H2O]+ [M+H-H2O]+	BuOH,Aq,F7,F8,F3,F2,F5,F6,F11,F12,F13	(255)
	Lariciresinol (10)	-	-	F11,F13	(257)
	Syringin	395,1316	[M+Na]+	BuOH	
	3-déméthoxymatairesinol	345,1323	[M+H]+	F3,F4	
	Isoeucommin A	533,2026 573,1932	[M+H-H2O]+ [M+Na]+	F2,F3	
Néolignanes	Dehydrodiconiferyl alcool 4-*O*-β-D-glucopyranoside	503,1917 538,2291	[M+H-H2O]+ [M+NH4]+	BuOH,Aq,F3,F2	
	Acide sagerinique	719,1625	[M-H]-	Aq	
	Monométhyl lithospermate	553,1348 551,12	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,Aq	
	Acide lithospermique	539,119 537,1045 521,1081	[M+H]+ [M-H]- [M+H-H2O]+	BuOH,Aq,F11,F2,F12	
	Acide lithospermique B	719,1616 717,1472 736,1883	[M+H]+ [M-H]- [M+NH4]+	AcOEt,BuOH,Aq	
	Acide salvianolique C	493,1139	[M+H]+	F14,F15	
Coumarines	Daphnetin	179,0339	[M+H]+	BuOH	
	Daphnin	379,0434	[M+K]-	AcOEt	
	Esculetin	179,0336 177,0186	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq,F9,F8,F10,F11,F3,F2,F13	
	Isofraxidin	223,0596	[M+H]+	F11,F12,F13	
	Sagecoumarin	537,1021 1073,1954	[M+H]+ [2M+H]+	F12,F13	
	Edgeworthin	339,0493 357,0595	[M+H]+ [M+H+H2O]+	F12,F13	
	Scopoletin	193,0495	[M+H]+	F9,F10,F11	
Phénol	4-aminophénol	148,0157	[M+K]-	BuOH	

Naphthalene	2,6-Diméthoxynaphthalene	189,0906	[M+H]+	F9,F7,F8,F11,F3,F2,F12, F4	
Apocaroténoïdes	Vomifoliol	225,1480	[M+H]+	BuOH,Aq,F7,F6	
	3-Oxo-7,8-dihydro-α-ionone	209,1534	[M+H]+	F3,F2,F6	
	3-Oxo-α-ionone	207,1379	[M+H]+	F7,F2,F1,F8,F3,F6	
	3-déméthyldéhydrovomifoliol (24)	-	-	F10	(258)
	9,13-dihydroxy-4-megastigmen-3-one 9-glucoside	389,2171	[M+H]+	BuOH	
	Acide abscisique	229,1215 247,1323 263,1289	[M+H-2H2O]+ [M+H-H2O]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,F12,F13 F11,F12,F13	
	Roséoside	387,2014	[M+H]+	BuOH	
	Loliolide (4)	197,1170	[M+H-H2O]+	F9,F7,F14,F16,F8,F10,F 11,F3,F12,F13,F1,F15	(259)
Monoterpénoïdes	3-Méthylbut-3-enyl β-d-glucopyranoside	266,1596	[M+NH4]+	F2,F1	
	Nopol	149,1326	[M+H-H2O]+	BuOH,Aq	
	Carveol	135,1169	[M+H-H2O]+	BuOH,F7,F6	
Sesquiterpénoïdes	3,5,6-Trihydroxy-7-megastigmen-9-one	225,1479	[M+H-H2O]+	F9,F7,F8,F10,F6	
	Acide lychnophoique	235,1694	[M+H]+	Hep	
Stéroïdes	β-sitostenone	413,3781	[M+H]+	F14,F16,F15	
	β-Sitosterol	397,3832	[M+H-H2O]+	F14,F16,F2,F1,F15	
	Fucosterol	395,3668	[M+H-H2O]+	F9,F7,F14,F16,F8,F10,F 3,F13,F15	
Triterpenoïdes	Cauloside C	765,4446	[M-H]-	AcOEt	
	Acide oléanolique ◊	439,3575	[M+H-H2O]+	BuOH	
Octadécanoïdes	Acide cucurbique-3-glucoside	373,1868	[M-H]-	BuOH,Aq	
Polycétide	Orcinol glucoside	285,0979	[M-H]-	Aq	
Stilbenes	4,4'-Dihydroxy-3,3'-diméthoxy-stilbene	273,1122	[M+H]+	F6	
Non classé	2-Cyclohexen-1-one	549,256	[M+FA-H]-	BuOH	
	Coniferyl alcool-(1-(3-hydroxy-4-methoxy-phenyl)propanol-1-glucoside)	521,2028	[M+H-H2O]+	BuOH,Aq	
	Acide enol-phénylpyruvique-glucoside-(4-hydroxy cinnamoate)	471,1297	[M-H]-	BuOH	
	Griffonilide (8)	-	-	F2,F3	(260)

Les données LC-MS^2 ont permis d'annoter d'une part des métabolites primaires, tels que des acides aminés, des bases nucléiques et des sucres. D'autre part, les métabolites secondaires annotés présentent une importante proportion de lignanes qui n'était pas documentées dans le genre *Cordia*. On retrouve également des néolignanes tels que l'acide lithospermique, l'acide lithospermique B et le monométhyl lithospermate qui sont des composés notamment identifiés chez *Lithospermum erythrorhizon* appartenant à la famille des boraginacées. L'extrait révèle également de nombreux flavonoïdes glycosylés et des alcaloïdes. Quelques coumarines ont également été annotées pour la première fois dans le genre *Cordia*. Par rapport aux données de la littérature sur le genre *Cordia*, peu de triterpènes, de meroterpènes et de naphtalènes ont été annotés. Les majorités des métabolites annotés en LC-MS^2 sont décrites pour la première fois dans le genre *Cordia*.

3.3. Composition chimique de l'extrait de *G. taitensis*

Le *G. taitensis* très utilisé en cosmétique principalement pour ses propriétés odorantes. Il entre donc dans la composition du Monoï et de nombreux parfums. Ses composés volatils ont donc été documentés notamment par Claude-Lafontaine *et al*. (89). Parmi les esters, hydrocarbures, éthers, alcools et dérivés azotés décrits, les propriétés odorantes ont été attribuées principalement au phénylacetonitrile et au 2-phénylnitroéthane. Il a également été suggéré que les propriétés médicinales pouvaient être dues à la présence de salicylates et dérivés, qui laisse supposer des activités antiseptiques et antalgiques proches de l'acide salicylique (89). Malgré de nombreux usages en médecine traditionnelle, la phytochimie de *G. taitensis* est à ce jour encore peu documentée. Ainsi, les résultats ci-présents renseignent la composition chimique des extraits et fractions issus de boutons de fleurs de *G. taitensis*, afin de mieux comprendre les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et cicatrisantes montrées précédemment.

L'extrait brut de fleurs de *G. taitensis*, obtenu par UAE à l'éthanol 70 %, a été analysé en LC-MS^2 et en RMN. Les partitions liquide/liquide permettant d'obtenir les extraits à l'heptane, à l'acétate d'éthyle, au butanol et aqueux ont été analysés en LC-MS^2 en mode d'ionisation positif et négatif afin de compléter l'annotation globale de *G. taitensis*. L'extrait AcOEt a été utilisé pour procéder au fractionnement par CPC en utilisant un système de solvant AcOEt/MeOH/eau (4/1/5) en mode descendant. Les 14 fractions obtenues ont été analysées à la fois en LC-MS^2 et en RMN. Les analyses RMN ont permis d'identifier 15 composés, notamment grâce à la procédure CaraMel (**Figure 81**) et un total de 177 composés ont été annotés (**Tableau 14**). Les déplacements chimiques des composés identifiés sont disponibles en annexe (**Annexe 11**). La plupart des composés sont décrits pour la première fois chez *G. taitensis* et certains sont déjà connus dans d'autres espèces du genre *Gardenia*. Ainsi, l'extrait de *G. taitensis* est principalement composé de flavonoïdes, d'iridioïdes et de saponines.

On retrouve dans *G. taitensis* des iridioïdes, notamment le gardénoside qui est majoritaire dans l'extrait brut. Ce composé a également été identifié dans *G. jasminoides* (261). Plusieurs brevets incluant le gardénoside comme principe actif ont été déposés, notamment pour des masques hydratants pour le visage ou comme soin anti-démangeaisons (262,263). Un autre brevet concerne des produits cosmétiques ou pharmaceutiques ayant des propriétés anti-rides et améliorant l'élasticité de la peau grâce à la forte activité de promotion de la synthèse des collagènes de type I et III du gardénoside (264). Ces propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes ont également été documentées (265,266). L'acide mussaenosidique, également connu du genre *Gardenia*, possède des propriétés anti-inflammatoires avec une capacité à inhiber la LOX-15 avec une CI_{50} de 0,22 mM comparable à la CI_{50} de la quercétine (contrôle positif) à 0,14 mM (267,268). Le β-gardiol ($C_{11}H_{14}O_6$) et le dunnisinin ($C_{11}H_{14}0_5$) sont deux iridioïdes de structure analogue qui diffèrent par la présence d'un groupement hydroxyl. Leurs activités biologiques sont peu décrites dans la littérature (269).

Des composés phénoliques ont été identifiés par RMN, notamment des dérivés d'acides cinnamique et shikimique tels que l'acide coumarique, l'acide férulique et l'acide 3,5-di-*O*-caféoyl-4-*O*-(3-hydroxy-3-méthyl)glutaroylquinique. Ce dernier est un des composés majoritaires au sein de l'extrait brut et il a précédemment été mentionné dans *G. jasminoides* (261). Il existe peu de données renseignant les propriétés biologiques de ce composé, excepté l'étude de Nishizawa *et al*. qui mentionne des propriétés anti-inflammatoires, dont l'inhibition de la 5-LOX (270). Parmi ces composés phénoliques, des flavonoïdes glycoside ont aussi été identifiés : la quercétine 3-*O*-glucoside, la quercétine 3-*O*-rutinoside. Ces deux composés ont déjà été identifiés dans *G. jasminoides* (261). Ces composés, connus pour leurs propriétés antioxydantes sont listés CosIng. On retrouve également le dihydroconiféryl alcool, un dérivé de lignine qui présente une activité anti-radicalaire évaluée par le test DPPH avec une CI_{50} à 32 µM (206,271).

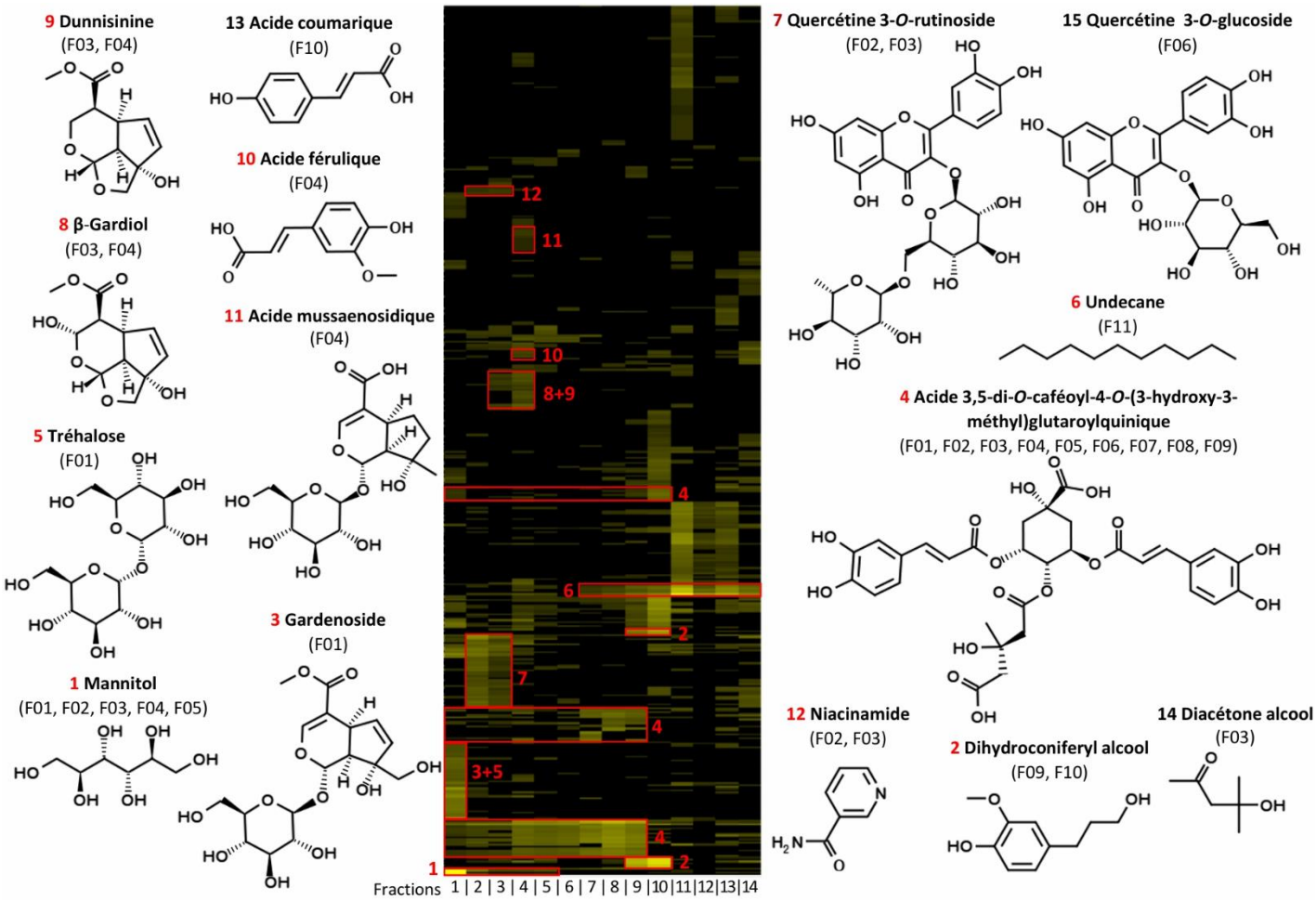


Figure 81 : Carte de chaleur des fractions de CPC 1 à 14 de *G. taitensis* avec les clusters et les structures des composés identifiés correspondants

La diacétone alcool a été identifiée. Ce composé volatil est parfois retrouvé dans les boutons de fleurs (272,273). Il est également listé comme ingrédient cosmétique en tant que solvant ou parfum, mais il n'est pas utilisé pour les soins de la peau.

Le niacinamide (nicotinamide) est un alcaloïde très répandu dans les produits cosmétiques pour renforcer la barrière cutanée, apaiser les peaux sensibles et lisser les imperfections, telles

que les boutons d’acné (229). En facilitant la réparation de l'ADN, en modulant les voies inflammatoires et en atténuant le stress oxydatif, le niacinamide contribue à prévenir le photovieillissement et à traiter les affections inflammatoires chroniques, telles que la dermatite atopique. Des études cliniques incluant du niacinamide par voie topique sont également en cours pour traiter le psoriasis ou encore le lupus (230).

L’undecane est un hydrocarbure répertorié dans la liste CosIng principalement utilisé comme émollient pour les soins de la peau. Il a également révélé des propriétés anti-inflammatoires sur les kératinocytes et les mastocytes (274).

Enfin deux sucres ont été identifiés en RMN, le mannitol qui est majoritaire dans l’extrait brut et le tréhalose présent dans la fraction 1.

Tableau 14 : Ensemble des composés annotés en LC-MS^2 et identifiés en RMN dans l'extrait de *G. taitensis*

Les composés mentionnés en gras correspondent à ceux identifiés en RMN.

Familles chimiques	Noms des composés	m/z	Adduits	Échantillons	Références RMN
Saccharides	2-deoxy-D-glucose	165,0756 163,0602	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,Aq	
	β-D-glucopyranoside, 2-phénylethyl 2-*O*-β-D-xylopyranosyl-	415,1605	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Acide gluconique	195,0500	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Maltitol	343,1237	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Mannitol (1)	183,0862 181,0708	[M+H]+ [M-H]-	Hep,BuOH,AcOEt,Aq, F1	(275)
	Raffinose	503,1616	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Palatinose	341,1086 683,225	[M-H]- [2M-H]-	Hep,BuOH,AcOEt,Aq	
	Tréhalose (5)	365,1054 387,1142	[M+Na]+ [M-H]-	Hep,BuOH,AcOEt,Aq, F1	(275)
Bases nucléiques	Guanosine	282,0842	[M-H]-	BuOH	
	Méthylthioadenosine sulfoxide	314,0914	[M+H]+	F1	
	Adenine	136,0617	[M+H]+	Hep,BuOH,Aq,AcOEt,F1, F2	
	Uridine	243,0619	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	Guanine	152,0566	[M+H]+	F1,F2	
Acides aminés et peptides	Acide 1-méthylpipecolinique	144,1018	[M+H]+	F1	
	Arginine	175,1188	[M+H]+	BuOH,Aq	
	D-Proline	116,0707	[M+H]+	F1	
	Glutamate	148,0603	[M+H]+	F1,F2	
	L-Tyrosine	182,0811	[M+H]+	BuOH	
	N-acetylphénylalanine	206,0818	[M-H]-	Aq	
	Phenylalanine	166,0863	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Tryptophane	205,097 203,0821	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,Aq	
	1-β-D-Glucopyranosyl-L-tryptophane	367,1501	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Fructoselysine	309,1653	[M+H]+	Aq	
	N-Fructosyl isoleucine	294,1544 276,1440	[M+H]+ [M+H-H2O]+	F1	
	N-Fructosyl pyroglutamate	290,0881	[M+H]+	BuOH,AcOEt,Aq	
	O-Mannopyranosylthreonine	282,1179 264,1074	[M + H]+ [M+H-H2O]+	F1,F2	
	N-(1-Deoxy-1-fructosyl)valine	280,1388 262,1283 244,1178	[M + H]+ [M+H-H2O]+ [M+H-2H2O]+	F1	
	Tyrosine glucoside	344,1340 326,1234	[M + H]+ [M+H-H2O]+	F1	
	Acide pantothenique	220,1179	[M+H]+	Aq	
Alcaloïdes	**Niacinamide (12)**	123,0554	[M + H]+	F1,F2,F3	(246)
	Méthyl 3-indoleglyoxylate	204,0657	[M + H]+	F13,F14	
	Ethyl β-carboline-3-carboxylate	241,0973	[M + H]+	F4,F11,F12,F13	
	Pheophorbide A	593,2764	[M+H]+	Hep,AcOEt	
	Amygdalin	502,157	[M-H+FA]-	BuOH	
Shikimates et phénylpropa-noïdes	Acide 3-phénylpropionique	133,0648	[M+H-H2O]+	BuOH	
	Dihydroconiferyl alcool (2)	-	-	F9,F10	(276)
	4-Hydroxyacétophénone	137,0599	[M+H]+	F13,F14	
	Dihydroconiferyl alcool glucoside	362,1809	[M+NH4]+	BuOH,Aq	
	Icariside F2	420,1867	[M+NH4]+	BuOH,Aq	

	Isopeonol	149,0597	[M+H-H2O]+	BuOH,Aq,AcOEt	
Dérivés d'acides shikimiques et cinnamiques	Acide quinique	191,0553	[M-H]-	Hep,BuOH,AcOEt,Aq	
	Acide shikimique	173,0447	[M-H]-	Hep,BuOH,AcOEt,Aq	
	Acide 3,5-di-*O*-caféoyl-4-*O*-(3-hydroxy-3-méthyl)glutaroylquinique (4)	661,1765 1321,345 683,1566 659,1623	[M+H]+ [2M+H]+ [M+Na]+ [M-H]-	BuOH,Aq,AcOEt,F3,F4,F5,F7,F8	(270)
	Acide caffeique	163,069	[M+H-H2O]+	F1	
	Acide chlorogenique	355,102 353,0877	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,Aq,AcOEt,F3,F4,F8	
	Acide chlorogenique méthyl ester	367,1032	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	Acide férulique (10)	177,0546	[M+H-H2O]+	BuOH,Aq,AcOEt,F3,F4,F5,F8	(211)
	Acide férulique *O*-glucoside	379,1004	[M + Na]+	F2,F3	
	Acide féruloylquinique	367,1034	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Acide néochlorogenique	353,0878	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	Acide coumarique (13)	147,0440	[M+H-H2O]+	F10	(211)
	Arillatose B	517,1561	[M-H]-	BuOH	
Acides phénoliques	Gaultherin	469,1325	[M+Na]+	F2	
	Salicine	309,0946	[M+Na]+	F2	
	Alcool vanillique	137,0597	[M+H-H2O]+	BuOH,AcOEt,Aq	
Phényléthanoïdes	2-Phényléthyl β-primeveroside	434,2025	[M+NH4]+	BuOH	
	Paeonol	149,0598	[M+H-H2O]+	AcOEt	
Acide dicarboxylique	Meglutol	161,0447	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
Hydroxycétone	**Diacetone alcool (14)**	-	-	F3	(277)
Alcane	**Undecane (6)**	-	-	F11	(278)
Dihydrochalcones	Phloretin-2'-*O*-glucoside	435,1294	[M-H]-	AcOEt	
Coumarines	4-méthylumbelliferone	177,0547	[M+H]+	F1,F2	
	Esculetin	179,0340	[M+H]+	F10	
	Gerberinside	339,1066	[M+H]+	F2,F3,F4	
	Scopoletin	193,0497	[M+H]+	F2,F3	
Furanocoumarine	Phellopterin	517,1343 515,1200	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,Aq,AcOEt	
Flavonoïdes	(-)-Taxifolin 3'-glucoside	465,104	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Kaempferol-3-O-(6'''-trans-p-coumaroyl-2''-glucosyl)rhamnoside	741,2035	[M+H]+	AcOEt	
	Variabiloside F	757,1981	[M+H]+	BuOH,AcOEt	
	Sinensine	449,1085	[M-H]-	BuOH	
	3',5-Dihydroxy-4',5',6,7-tetraméthoxyflavone	375,1079	[M+H]+	F11,F12,F13	
	3-Méthylquercetin	317,0657	[M+H]+	F11,F12,F13	
	4'-Méthoxyquercetin	317,0655	[M+H]+	BuOH	
	5,5''-Dihydroxy-3,6,7,2'',4''-pentaméthoxyflavone 5''-glucoside	567,1717	[M + H]+	F7	
	5,7,3',4'-Tetrahydroxy-3,6,8-triméthoxyflavone	377,0867 375,0722	[M+H]+ [M-H]-	Hep,BuOH,AcOEt,F11,F12,F13,F14	
	5,7,3'-Trihydroxy-3,6,4',5'-tetraméthoxyflavone	391,1024 389,0882	[M+H]+ [M-H]-	Hep,AcOEt,F11,F12,F13,F14	
	5,7,8,3'',4''-Pentahydroxy-3,6-diméthoxyflavone	363,0712	[M + H]+	F12,F13	
	Isorhamnetin-3-rutinoside	623,1623	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	5,7-dihydroxy-3,6-diméthoxy-2-(3,4,5-triméthoxyphényl)-4H-chromen-4-one	405,1183 403,1036	[M+H]+ [M-H]-	Hep,BuOH,AcOEt,F11,F12,F13,F14	
	6-Hydroxymyricetin 6,3'',5''-triméthyl ether 3-glucoside	539,1390	[M+H]+	F5	
	Andrographidin B	493,1347	[M+H]+	BuOH,AcOEt	
	Camelliquercetiside D	757,1985	[M+H]+	F13,F14	
	Casticin	375,1077	[M + H]+	F11,F12,F13	
	Centaureidin	361,0917	[M+H]+	Hep,BuOH,AcOEt	

	Dihydrokaempferol	287,0561	[M-H]-	AcOEt	
	Diméthoxy-myricetin-3-*O*-glucoside	507,1146	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Eriodictyol-7-*O*-glucoside	449,1088	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Hibiscetin 3,7,4''-triméthyl ether	377,0869	[M+H]+	F11,F12,F13	
	Iridin	521,1302	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Kaempferol 3-méthyl ether	301,0707	[M+H]+	F11,F12,F13	
	Isorhamnetin 3-(6''-p-coumaroylglucosyl)-(1->2)-rhamnoside	771,2144	[M+H]+	F13,F14	
	Isorhamnetin 3-galactoside	479,1187 477,1043	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Isorhamnetin 3-rutinoside	625,1773 623,1623	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,F2,F3	
	Jaceidin	361,0917 359,0772	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt, F11,F12,F13,F14	
	Jacein	523,1456	[M+H]+	F5,F6	
	Kaempferol	287,0549	[M+H]+	BuOH,AcOEt,F1,F2	
	Kaempferol 3-*O*-β-D-galactopyranosyl-(1-2)-β-D-glucopyranoside	611,1619	[M+H]+	F1,F2	
	Kaempferol-3-*O*-(6'''-trans-p-coumaroyl-2''-glucosyl)rhamnoside	741,2037 739,1891	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,F12,F13,F14	
	Kaempferol-3-*O*-glucoside	449,1082 447,0937	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	Kaempferol-3-*O*-rutinoside	595,1664 593,152	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,F2,F3	
	Limocitrin	347,0763	[M+H]+	F11,F12,F13	
	Malvidin-3-galactoside	491,1200	[M+H]+	BuOH,AcOEt	
	Mearnsetin	333,0606	[M+H]+	F11,F12,F13	
	Myricetin 3,3',4'-Triméthylether	359,0774	[M-H]-	Hep,AcOEt	
	Naringenin	273,0759 271,0611	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt, F11,F12,F13	
	Naringenin 7-*O*-β-D-glucoside	433,1142	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Nobiletin	403,1392	[M + H]+	F12,F13	
	Quercetin	303,0498 301,0354	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt	
	Quercetin 3,4'-diméthyl ether	331,0811 329,0667	[M+H]+ [M-H]-	Hep,BuOH,AcOEt,F11,F12, F13,F14	
	Quercetin 3-α-L-arabinofuranoside	433,0778	[M-H]-	AcOEt	
	Quercetin 3-*O*-[2''-*O*-(6'''-*O*-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranosyl]-α-L-rhamnopyranoside	755,1841	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Quercetin 3-*O*-malonylglucoside	551,1043	[M+H]+	BuOH	
	Quercetin-3,4'-*O*-di-β-glucoside	625,1418	[M-H]-	BuOH	
	Quercetin-3-*O*-(6'''-trans-p-coumaroyl-2''-glucosyl)rhamnoside	755,1839	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Quercetin-p-feruloyl-glucosyl-rhamnoside	787,2089 785,1949	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt,F13,F14	
	Quercétine 3-*O*-glucoside (15)	465,1027 463,0884 927,1855	[M+H]+ [M-H]- [2M-H]-	BuOH,Aq,AcOEt,F6	(233)
	Quercétine 3-*O*-rutinoside (7)	611,1608 633,1408 609,1468	[M+H]+ [M+Na]+ [M-H]-	BuOH,Aq,AcOEt,F1,F2,F3,F4	(253)
	Neobaicaleine	373,093	[M-H]-	Hep,AcOEt	
	Syringetin	347,0762	[M+H]+	AcOEt,F11,F12,F13,F14	
	Dihydroquercetin	305,0654 303,0507	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,AcOEt	
Lignanes	Fragransin B2	405,1912 422,2179	[M+H]+ [M+H3N+H]+	F13,F14	
	Fragransin C1	375,1806	[M+H]+	F13	

	Nectandrin B	345,1698	[M+H]+	F13,F14	
	Secoisolariciresinol	327,159	[M+H-2H2O]+	BuOH, F14	
Iridioïdes	(1R,7R,8S,10R)-7,8,11-trihydroxyguai-4-en-3-one 8-*O*-β-D-Glucopyranoside	431,2277	[M+H]+	Hep,BuOH,Aq,AcOEt, F1,F2	
	Acide loganique-O-férulate	575,1727	[M+Na]+	F3,F4,F5	
	Ladroside	537,1615	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	α-hydroxygéniposide	422,1654	[M+NH4]+	BuOH,Aq	
	Acide 6'-*O*-p-hydroxybenzoylmussaenosidique	495,1508	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	Acide mussaenosidique-(8-hydroxy-2,6-dimethyl-octa-2,6-dienoate)	541,2294	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	Acide mussaenosidique-(8-hydroxy-2,6-dimethyl-octenoate)	543,2451	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Acide 7-deoxyloganique	359,1347	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	Apodanthoside	401,109	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	Gardoside-(4-hydroxy cinnamate)	519,1505	[M-H]-	BuOH,AcOEt	
	Feretoside	427,1211	[M+Na]+	BuOH,Aq	
	Gardénoside (3)	427,1213 403,1246	[M+Na]+ [M-H]-	BuOH,Aq,F1,F2	(1)
	Genipin	209,0807 225,0761	[M+H-H2O]+ [M-H]-	BuOH,Aq,AcOEt	
	Genipin 1-gentiobioside	549,1829	[M-H]-	BuOH	
	Géniposide	411,1263 387,1294 433,1352	[M+Na]+ [M-H]- [M-H+FA]-	BuOH,Aq,AcOEt	
	Acide geniposidique	373,1145	[M-H]-	AcOEt	
	Acide mussaenosidique (11)	375,1296	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	(279)
	Theviridoside	403,125	[M-H]-	BuOH	
	β-Gardiol (8)	-	-	F3,F4	(280)
	Dunnisinine (9)	-	-	F3,F4	(281)
Apocaroténoïdes	Acide abscisique	247,1328 263,1288	[M+H-H2O]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,F14	
Monoterpènes	Nopol	149,1325	[M+H-H2O]+	Hep,AcOEt	
	Geranyl 6-O-α-L-arabinofuranosyl-β-D-glucopyranoside	466,265 447,2235	[M+NH4]+ [M-H]-	BuOH	
Sesquiterpènes	Caryophyllene epoxide	203,1795	[M-H-H2O]-	Hep,AcOEt	
Triterpènes	Acide 24-epi-pinfaensique	503,3377	[M+H]+	F13,F14	
	Acide 3-hydroxylup-20(29)en-23,28-dioique	487,3423	[M+H]+	F13,F14	
	Acide 3-oxoglycyrrhetinique	469,3325	[M+H]+	F12,F13	
	Acide 6-Hydroxy-3-oxo-20(29)-lupen-28-oique	471,3478	[M+H]+	F13,F14	
	Acide betulinique	457,3684	[M+H]+	F12,F13	
	Acide betulonique	455,3528 437,3416	[M+H]+ [M+H-H2O]+	BuOH,Aq	
	Cycloartane-3,24-dione	441,3735	[M+H]+	F11,F12,F13	
	Acide elemonique	455,3525	[M+H]+	F12,F13	
	Erythrodiol	443,3887 425,3780	[M+H]+ [M+H-H2O]+	AcOEt,Hep,BuOH,F11,F12,F13	
	Glochidone	423,3623	[M+H]+	Hep,AcOEt,F11,F12,F13, F14	
	Lupeone	425,3778	[M+H]+	F11,F12,F13	
	Ocotillone	459,3831 441,3730	[M+H]+ [M+H-H2O]+	Hep,BuOH,AcOEt	
	Acide oleanolique	439,3570	[M+H-H2O]+	BuOH,Aq	
	Papyriogenin A	467,3170	[M+H]+	F13,F14	
	Protopanaxadiol	425,3783 499,3758	[M+H-2H2O]+ [M + Na]+	Hep,AcOEt,F11,F12,F13	
	Acide sumaresinolique	473,3627	[M+H]+	Hep	

	Acide tormentique	489,3576 487,3432	[M+H]+ [M-H]-	Hep,BuOH,AcOEt,F12,F13	
	Acide trametenolique	457,3684	[M+H]+	F11,F12,F13	
	Acide ursolique	457,3671	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Uvaol	443,3888	[M+H]+	Hep,AcOEt	
Saponines	Bayogenin-3-O-β-D-Glucuronopyranoside-28-O-β-D-glucopyranosyl ester	825,4316	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Ilexoside XLVIII	809,4356	[M-H]-	BuOH,Aq	
	Chikusetsusaponin iva	795,4529 793,4371	[M+H]+ [M-H]-	BuOH,Aq	
	Acide β-D-Glucopyranosiduronique, (3β,4α)-17-carboxy-23-hydroxy-28-norolean-12-en-3-yl	647,3814	[M-H]-	BuOH	
	Calenduloside E	631,3857	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	Zingibroside R1-(6-deoxy-galactopyranose)	941,5111 958,5385	[M+H]+ [M+NH4]+	BuOH,Aq	
	Calenduloside H	955,4932	[M-H]-	BuOH,AcOEt,Aq	
	Calenduloside H-*O*-glucoside	1103,564	[M+H]+	BuOH,Aq	
	Ginsenoside F2	829,4989	[M-H+FA]-	BuOH	
	Ginsenoside Rg3	829,4974	[M-H+FA]-	BuOH	
	Panaxatriol	459,3839	[M+H-H2O]+	F11,F12,F13	
	Tuberoside A	957,5062	[M+H]+	BuOH	
	1-[3-{[3-(galactopyranosyl)-glucopyranosyl]oxy}-28-oxoolean-12-en-28-yl]-glucopyranose	987,52	[M-H+FA]-	BuOH	

3.4. Composition chimique de l'extrait d'amandes de *C. inophyllum*

L'amande de *C. inophyllum* (*Tamanu*) est principalement utilisée pour produire de l'huile de Tamanu, appliqué en médecine traditionnelle pour traiter les plaies et les brûlures. Les études menées sur sa composition décrivent principalement des néoflavonoïdes, des pyranocoumarines et des benzopyranes spécifiques aux Calophyllacées (74,282). Dans cette étude, les analyses sont réalisées sur l'extrait brut dans un premier temps avant de se focaliser sur la fraction résineuse de l'extrait dans un second temps, en raison de sa composition et de son activité supposée plus importante (164).

L'extrait brut d'amandes de *C. inophyllum* obtenu par UAE à l'éthanol 70 %, a été analysé en LC-MS^2 et en RMN. Puis la phase huileuse de l'extrait a été séparée de la résine qui est utilisée pour la suite des analyses. Les partitions liquide/liquide ont permis d'obtenir les extraits à l'heptane, à l'acétate d'éthyle, au butanol et aqueux qui ont été analysés en LC-MS^2 en mode d'ionisation positif et négatif afin de compléter l'annotation globale de *C. inophyllum*. L'extrait AcOEt de résine de *C. inophyllum* a été utilisé pour le fractionnement par CPC en utilisant un système à quatre solvants Hep/AcOEt/MeOH/eau (4/1/4/1) en mode ascendant. Les 12 fractions obtenues ont été analysées à la fois en LC-MS^2 et en RMN. Les analyses menées sur l'ensemble des échantillons ont permis d'annoter 211 composés en spectrométrie de masse (**Tableau 16**) et d'identifier 16 composés en RMN (**Figure 82**). Les déplacements chimiques des composés identifiés sont disponibles en annexe (**Annexe 12**). La procédure CaraMel a également permis l'identification d'un composé nouvellement décrit.

Un sucre a été identifié, le 2-deoxyribonolactone, ainsi que deux acides gras : l'acide oléique et l'acide linoléique. Ces deux composés sont connus comme étant majoritaires parmi les acides gras insaturés présents dans l'amande de *C. inophyllum* (86,283). Ces deux ingrédients cosmétiques sont utilisés comme émollients afin d'adoucir et d'assouplir la peau.

Parmi les composés phénoliques identifiés en RMN, on retrouve des acides phénoliques et des dérivés d'acide cinnamique et shikimique particulièrement utilisés en cosmétiques. L'acide gallique utilisé en cosmétique pour son activité antioxydante possède également des propriétés anti-inflammatoires et antidiabétiques (202). L'acide 4-hydroxybenzoïque, listé CosIng, est utilisé comme conservateur en raison de ses propriétés antimicrobiennes. L'acide coumarique est un antioxydant connu pour favoriser la synthèse du collagène (200). L'acide protocatéchique a démontré, selon Bhattacharjee *et al*., des propriétés antidiabétiques. En effet, ce composé stimule le métabolisme du glucose, régulant ainsi la glycémie et le statut lipidique. Il réduit également la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et atténue considérablement la production d'ERO, la peroxydation lipidique et la carbonylation des protéines (284). L'acide 4-hydroxyphénylacétique, a été étudié sous forme d'hydrogel biodégradable par action enzymatique composé de poly(L-lysine) greffées à l'acide 4-hydroxyphénylacétique. Cette préparation présente des propriétés antibactériennes sur *E. coli* et *S. aureus*. L'hydrogel a montré une amélioration de la cicatrisation des plaies associée à une réépithélialisation chez le rat. La réponse inflammatoire a été atténuée avec une

diminution de la synthèse de cytokines pro-inflammatoires et l'angiogenèse a été favorisée (285).

La 4-Hydroxyxanthone, précédemment identifiée dans l'écorce de *C. inophyllum*, est ici décrite pour la première fois dans l'amande. L'étude de ce composé a révélé une activité cytotoxique modérée sur des cellules cancéreuses du col de l'utérus (HeLa) (286). Aussi, l'étude de Capettini *et al*. a montré les propriétés vasorelaxants et antioxydantes de ce composé (287).

Deux benzopyranes ont été identifiés, l'inocalophyllin A et B. Les propriétés biologiques de l'inocalophyllin A n'ont pas été investiguées. Une étude sur l'inocalophyllin B montre des propriétés antioxydantes et antiradicalaire ainsi qu'une capacité à inhiber la peroxydation lipidique (288).

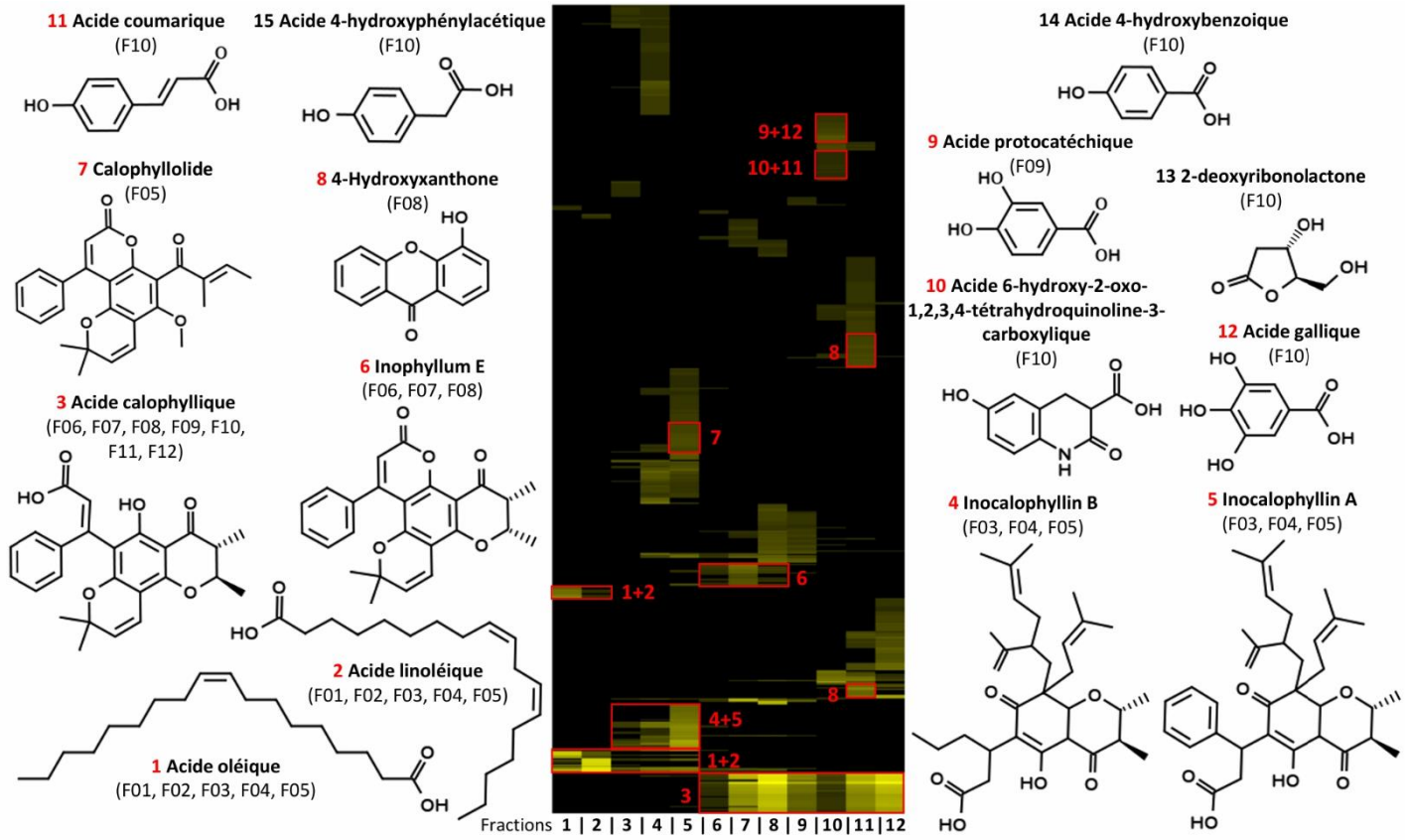


Figure 82 : Carte de chaleur des fractions de CPC 1 à 12 de *C. inophyllum* avec les clusters et les structures des composés correspondants

Parmi les néoflavonoïdes identifiés, le calophyllolide, l'acide calophyllique et l'inophyllum E sont communément retrouvés dans l'amande de *C. inophyllum* (159). Le calophyllolide a démontré dans l'étude de Nguyen *et al*. une amélioration de la cicatrisation des plaies cutanées chez la souris. Il présente également des propriétés antibactériennes sur staphylocoque doré (*S. aureus*) et une cytotoxicité contre les cellules du carcinome épidermoïde humain du nasopharynx (KB) (176). L'acide calophyllique s'est révélé actif dans un modèle *in vivo* d'hyperlipidémie en réduisant le cholestérol total, les triglycérides et les phospholipides, et en réactivant l'activité lipolytique post-héparine. Il a également démontré

une activité antioxydante et antiradicalaire. L'inophyllum E également évalué a montré des activités néanmoins plus faibles (159).

Dans le cadre de cette étude, un composé de structure alcaloïdique ($C_{10}H_9NO_4$) a également été identifié pour la première fois à l'état naturel. Il s'agit de l'acide 6-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylique (**Figure 83** et **Tableau 15**). Ce composé nouvellement décrit est la forme acide de la structure mentionnée par Lin *et al*. le 6-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate. Cette étude montre la capacité de ce composé à inhiber l'adipogenèse (289).

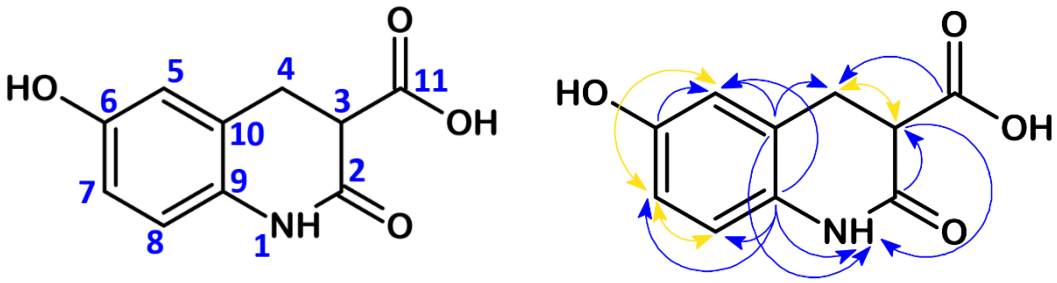


Figure 83 : Structure du 6-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylique numéroté et avec les corrélations COSY (en jaune) et HMBC (en bleu)

Tableau 15 : Déplacements chimiques du 6-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylique et comparaison avec le 6-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate (289)

Numérotation	^{1}H (ppm)	^{13}C (ppm)	Lin *et al*. 2023 (MeOH-d$_4$)	
			^{1}H (ppm)	^{13}C (ppm)
1	10,1	-	-*	-
2	-	172,6	-	171,8
3	3,6	42,6	3,7	42,8
4	2,8 ;2,6	34,6	3,0 ;2,8	33,9
5	6,7	112,2	6,8	111,6
6	-	152,6	-	152,9
7	6,6	113,9	6,7	113,9
8	6,6	109,8	6,7	110,0
9	-	134,9	-	134,5
10	-	130,8	-	130,2
11	-	178,1	-	179,6
OMe	-	-	3,7	51,0

*Valeur non indiquée dans la publication de référence

Tableau 16 : Ensemble des composés annotés en LC-MS^2 et identifiés en RMN dans l'extrait de *C. inophyllum*

Les composés mentionnés en gras correspondent à ceux identifiés en RMN.

Familles chimiques	Noms des composés	m/z	Adduits	Échantillons	Références RMN
Saccharides	Tréhalose	387,1144	[M-H]-	Aq,BuOH	
	Fructose 6-phosphate	259,0128	[M-H]-	Aq,BuOH	
	Glucono-1,5-lactone	177,0397	[M-H]-	AcOEt,Aq,BuOH	
	Acide maltobionique	357,1037	[M-H]-	Aq,BuOH	
	Palatinose	341,1087 377,0856 683,2258	[M-H]- [M+Cl]- [2M-H]-	Aq,BuOH	
	Raffinose	503,1621 549,1678	[M-H]- [M+FA-H]-	Aq,BuOH	
	2-deoxyribonolactone (13)	-	-	F10	(290)
	Sorbitol	181,071	[M-H]-	AcOEt,Aq,BuOH	
	Glucose	179,0554	[M-H]-	AcOEt,Aq,BuOH,Hep	
	Acide gluconique	195,0502	[M-H]-	Aq,BuOH	
	N-Acétyl-D-glucosamine	204,0867	[M-H2O+H]+	F10	
	Xylitol	151,0602	[M-H]-	Aq,BuOH	
	1,6-Anhydroglucose	161,0447	[M-H]-	AcOEt,Aq,BuOH	
Acide gras	**Acide oléique (1)**	-	-	F1,F2,F3,F4,F5	(291)
	Acide linoléique (2)	263,237	[M-H2O+H]+	Hep,Aq,AcOEt,BuOH,F7,F3,F10,F11,F4,F2,F1,F6,F5,F9,F12,F8	(291)
Acides aminés et peptides	1-β-D-Glucopyranosyl-L-tryptophan	367,1502	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Arginine	175,1188	[M+H]+	Aq,BuOH	
	L-Tryptophane	205,0972 203,0822	[M+H]+ [M-H]-	Aq,BuOH	
	N-acetylphénylalanine	206,0819	[M-H]-	AcOEt,Aq,BuOH	
	N-Aceyl-L-tyrosine	222,077	[M+Cl]-	Aq,BuOH	
	Norleucine	132,1019	[M+H]+	Aq,BuOH, F10	
	Phénylalanine	166,0863	[M+H]+	Aq,BuOH,F10	
	Proline anhydride	195,1129	[M+H]+	BuOH	
	Carnitine	162,1123	[M+H]+	Aq,BuOH,F10	
	L-proline betaine	144,1018	[M+H]+	Aq,BuOH,F10	
	Valylleucine	231,1703 213,1599	[M+H]+ [M+H-H2O]+	Aq,BuOHF10,F11,	
	Alanylleucine	203,1391	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Alanylphénylalanine	237,1234	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Isoleucylproline	229,1547	[M+H]+	Aq,BuOH	
	isoleucyltyrosine	295,1652	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Isoleucylvaline	231,1704	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Konbamidine	263,1027	[M+H]+	Aq,BuOH	
	L-glutamyl-L-phénylalanine	295,129	[M+H]+	Aq	
	L-groline, 5-oxo-L-prolyl-	227,1026	[M+H]+	Aq,BuOH	
	L-tryptophan N-glucoside	367,1503	[M+H]+	Aq,BuOH	
	L-tryptophan-L-asparagine	319,1449	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Méthyl L-pyroglutamate	144,0656	[M+H]+	Aq,BuOH	
	N-(1-Deoxy-1-fructosyl)isoleucine	294,1546 276,1442	[M+H]+ [M-H2O+H]+	Aq,BuOH,F10	
	N2-(Carboxyméthyl)-L-arginine	233,1242	[M+H]+	Aq	
	N-Acétyl-L-tyrosine	224,0915	[M+H]+	Aq,BuOH	
	N-Acétyltryptophane	247,1078	[M+H]+	BuOH	
	N-Fructosyl phénylalanine	328,1388	[M+H]+	Aq,BuOH	

	N-Fructosyl pyroglutamate	290,0883	[M-H]-	Aq	
	Prolylphénylalanine	263,139	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Prolyltryptophane	302,15	[M+H]+	BuOH	
	L-Pyroglutamyl-L-phénylalanine	277,1183	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Tyrosylleucine	295,1654	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Valylphénylalanine	265,1547	[M+H]+	Aq,BuOH	
	5-Oxo-L-prolyl-L-tyrosine	293,1132	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Cyclo(-D-Ala-L-Pro)	169,0972	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Cyclo(Leu-Ala)	185,1285	[M+H]+	AcOEt,BuOH	
	Cyclo-(Leu-Leu)	227,1755	[M+H]+	F10,F11,	
	Cyclo(L-Leu-D-Pro)	211,1441	[M+H]+	AcOEt,BuOH, F10,F11,	
	Cyclo(L-pro-L-tyr)	261,1234	[M+H]+	BuOH	
	Cyclo(L-Val-L-Leu)	213,1597	[M+H]+	AcOEt,BuOH	
	Cyclo(Phe-Leu)	261,1598	[M+H]+	AcOEt,BuOH,F10,F11	
	Cyclo(-Phe-Pro)	245,1288	[M+H]+	F10,F11,	
	Cyclo(Phe-Ser)	235,1077	[M+H]+	BuOH	
	Cyclo(-Pro-Val)	197,1285	[M+H]+	AcOEt,BuOH	
	Cyclo-(Val-Phe)	247,144	[M+H]+	AcOEt,BuOH,F10,F11	
	Cyclométhyltryptophane	217,0973	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Fructoselysine	309,1653	[M+H]+	Aq,BuOH	
	FruLeulle	407,2393	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Phénylalanylphénylalanine	295,1444	[M-H2O+H]+	F10,F11	
	Acide pantothenique	220,118 218,1032	[M+H]+ [M-H]-	Aq,BuOH	
	Argininosuccinate	291,1294	[M+H]+	Aq,BuOH	
	N-succinyl-isoleucine	230,1033	[M-H]-	Aq,BuOH	
Bases nucléiques	Cytidine	242,0782	[M-H]-	Aq,BuOH	
	Guanosine	282,0846	[M-H]-	Aq,BuOH	
	Uridine	245,0767 243,062	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,Aq,BuOH	
	Adénine	136,0616	[M+H]+	Aq,AcOEt,BuOH,F10,F11,F12	
	Adénosine	268,1032	[M+H]+	Aq,AcOEt,BuOH	
	Cytosine	112,0507	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Guanine	152,0566	[M+H]+	Aq,BuOH	
	N6,N6-Diméthyl-xylo-adénosine	296,1353	[M+H]+	BuOH	
	Tyrosine	182,0812	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Uracile	113,0347	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Xanthine	153,0407 151,0253	[M+H]+ [M-H]-	Aq,AcOEt,BuOH	
Alcaloïdes	Acide tétrahydroharman-3-carboxylique	231,1128	[M+H]+	BuOH	
	Acide 6-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tétrahydroquinoline-3-carboxylique (10)	208,0604 206,0453 190,0498	[M+H]+ [M-H]- [M+H-H2O]+	Aq,AcOEt,BuOH,F10	(289)
	Acide hydroxyindoleacétique	192,0656	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Isatin	148,0393	[M+H]+	Aq,AcOEt,BuOH	
	Metacetamol	255,8999	[M-H]-	AcOEt	
	Niacinamide	123,0554	[M+H]+	AcOEt,BuOH	
	Zeanoside B	366,0839	[M-H]-	Aq	
	2-Méthyl-5-hydroxypyridine	110,0601	[M+H]+	Aq,AcOEt,BuOH	
	Acide 5-hydroxypyridine-2-carboxylique	140,0341	[M+H]+	Aq,AcOEt,BuOH	
	5-Indolol	134,0601	[M+H]+	Aq,AcOEt,BuOH	
	6-(hydroxyméthyl)pyridin-3-ol	126,055	[M+H]+	Aq,AcOEt,BuOH,F10,F11,F12	
	Abromine	118,0863	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Acide nicotinique	124,0394	[M+H]+	Aq,AcOEt,BuOH	
	Indole-3-carbaldehyde	146,0601	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Pyridoxine	170,081	[M+H]+	Aq,BuOH	

	Acide xanthurenique	206,0447	[M+H]+	BuOH	
	1-(2-hydroxyéthyl)-2,2,6,6-tétraméthyl-4-piperidinol	202,1803	[M+H]+	F7,F10,F11,F4,F2,F1,F5,F12, F8	
	Acide 1,2,3,4-tétrahydroisoquinoline-3-carboxylique	178,0863	[M+H]+	Aq,BuOH	
	2-(héxopyranosyloxy)-2-méthylpropanenitrile	248,1125	[M+H]+	Aq,BuOH	
	2,6-dihydroxyquinoline	162,0549	[M+H]+	Aq,BuOH,F10	
	Acide 2-hydroxy-6-méthylisonicotinique	154,0498	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Acide N-méthylnicotinique	138,0548	[M+H]+	Aq,BuOH,F10	
Benzopyranes	Acide isorecedensique	405,2275 403,2131	[M+H]+ [M-H]-	Hep,AcOEt,BuOH,F7,F8	
	Inocalophyllin A (5)	561,322 583,3041	[M+H]+ [M+Na]+	F7,F4,F6,F5	(292)
	Inocalophyllin B (4)	527,3376 549,3194 525,3228	[M+H]+ [M+Na]+ [M-H]-	AcOEt,Aq,BuOH,Hep,F3,F4,F2,F5	(292)
	Inocalophyllin B méthyl ester	541,353 563,3347 1075,649	[M+H]+ [M+Na]+ [2M+Na]+	F7,F3,F4,F5	
Acide dicarboxylique	Acide 2-isopropylmalique	175,0606	[M-H]-	Aq,BuOH	
Shikimates et phénylpropanoïdes	Benzyl alcool β-D-rutinoside	461,1677	[M-H]-	Aq,BuOH	
Chalcones	Aspalathin	451,1261	[M-H]-	Aq	
	Eriodictyol chalcone	289,0705	[M+H]+	AcOEt,BuOH,F10	
	Phloretin (Dihydronaringenin)	275,0911	[M+H]+	BuOH	
	Eriodictiol	289,0705 287,0563	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH	
Chromanones	Acide caledonique	459,2746	[M+H]+	F7,F10,F11,F4,F6,F9,F12,F8	
Chromones	Cassiaside	405,1178	[M+H]+	BuOH	
	Aloesin	393,1197	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
Acide phénolique	1,6-digalloyl-β-D-glucopyranose	483,0794	[M-H]-	BuOH	
	b-glucogallin	331,0673	[M-H]-	Aq,BuOH	
	4-hydroxybenzaldéhyde	123,0441	[M+H]+	Aq,BuOH	
	Acide gallique (12)	-	-	F10	(252)
	Acide 4-hydroxyphénylacetique (15)	-	-	F10	(293)
	Acide 4-hydroxybenzoique (14)	-	-	F10	(251)
	Acide protocatéchique (9)	-	-	F9	(216)
Dérivés d'acide shikimique et cinnamique	Acide shikimique	173,0447	[M-H]-	Aq,BuOH	
	Acide coumarique (11)	165,0546	[M+H]+	Aq,BuOH,F10	(211)
	6-*O*-(trans-4-coumaroyl)-α-D-glucopyranose	325,0933	[M-H]-	BuOH	
	Acide 3-glucoside caféique	341,0883	[M-H]-	Aq,BuOH	
	Lavandoside	355,1041	[M-H]-	Aq,BuOH	
Phényléthanoïdes	Salidroside	299,1139	[M-H]-	Aq,BuOH	
	3,4'-Dihydroxypropiophenone-3-glucoside	327,1091	[M-H]-	Aq,BuOH	
	2-Phényléthyl D-rutinoside	448,2183	[M+NH4]+	BuOH	
Phloroglucinols	Maclurin	263,055	[M+H]+	BuOH	
Flavonoïdes	Néodiosmin	609,1824 607,1686	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Quercétin 3,4'-diméthyl éther	331,0813	[M+H]+	AcOEt	
	Quercétin 3-O glucoside	449,1084	[M+H]+	AcOEt	
	Prunin-3'-apiose	565,157	[M-H]-	AcOEt,Aq,BuOH	
	5,7,3',4'-tétrahydroxyflavanone 7-α-L-arabinofuranosyl-(1->6)-glucoside	581,1524	[M-H]-	AcOEt,Aq,BuOH	
	Herbacetin-7-méthyl ether 3-rhamnose	461,1102	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Catéchin-7-*O*-glucoside	451,1258	[M-H]-	Aq,BuOH	
	Dihydrokaempferol	287,0563	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Dihydroquercétine	303,0512	[M-H]-	AcOEt,BuOH	

	Epicatéchine	291,0862 289,072	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,Aq	
	Eriodictyol 7-*O*-rutinoside	597,1824 595,1682	[M+H]+ [M-H]-	BuOH	
	Eriodictyol-7-*O*-glucoside	449,1094	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Isorhamnetin 3-rutinoside-7-glucoside	785,2178	[M-H]-	BuOH	
	kaempferol 3-*O*-rhamnoside	431,0994	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Kaempferol 3-*O*-rutinoside	595,1668 593,153	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Kaempferol 3-rutinoside-7-rhamnoside	741,2252 739,2119	[M+H]+ [M-H]-	BuOH	
	Luteoline	285,0408	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Luteolin 4'-méthyl éther	301,0705 299,0563	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,Hep	
	Naringenine	273,0756 271,0614	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Naringenin 4''-*O*-α-L-rhamnopyranoside	419,1339	[M+H]+	BuOH	
	Naringenin 7-*O*-glucoside	433,115	[M-H]-	AcOEt	
	Naringenin 7-rutinoside	581,1874 615,1507	[M+H]+ [M+Cl]-	BuOH	
	Naringin 6''-rhamnoside	727,2095 725,2313	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Néohesperidine	609,1849	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Pinocembrin 7-*O*-rutinoside	563,1787	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Procyanidine A2	575,121	[M-H]-	AcOEt	
	Quercétine	303,0499 301,0356	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,F10,F11,F1,F12	
	Quercétin 3-rhamnoside	449,1085 447,094	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,F10	
	Theaflavanoside II	713,2301 711,2172	[M+H]+ [M-H]-	BuOH	
Isoflavonoïdes	Puerarine	417,1183 415,104	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Vogelin I	439,1749	[M+H]+	F10,F11,F6,F5	
	Durmillone	379,1179 361,1071 401,1001	[M+H]+ [M-H2O+H]+ [M+Na]+	F10,F11	
Neoflavonoïdes	**Acide calophyllique (3)**	421,1648 863,3045 443,1465 403,15	[M+H]+ [2M+Na]+ [M+Na]+ [M-H2O+H]+	Hep,Aq,AcOEt,BuOH,F7,F10, F11,F6,F9,F12,F8,F4,F1,F5	(294)
	Inophyllum E (6)	403,1545 425,1361 805,3012 827,2836 787,3465 822,3283	[M+H]+ [M+Na]+ [2M+H]+ [2M+Na]+ [2M+H-H2O]+ [2M+NH4]+	AcOEt,F7,F6,F8	(294)
	Calophyllolide (7)	417,1697 439,1517	[M+H]+ [M+Na]+	Hep,Aq,AcOEt,BuOH,F7,F10, F11,F4,F2,F6,F5,F12,F8	(294)
	Tomentolide A	403,1539 425,1361 401,1397	[M+H]+ [M+Na]+ [M-H]-	Hep,Aq,AcOEt,BuOH,F7,F10, F11,F6,F5,F9,F12,F8	
	MAB5	405,1703	[M+H]+	F11,F4,F5,F12	
	Inophyllum B	403,1555	[M-H]-	AcOEt,BuOH,Hep	
	Inophyllum A / D	405,1689 387,1592	[M+H]+ [M-H2O+H]+	F7,F3,F10,F11,F4,F6,F5,F9,F 12,F8	
Coumarines	Esculetin	179,0341 177,0187	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,F10	
	Isobaisseoside	487,1455	[M+H]+	BuOH	

	Isorecedensolide	373,2012 371,1864	[M+H]+ [M-H]-	Hep,AcOEt,BuOH	
Pyranocoumarines	Acide isochapelierique	423,1808 421,1665	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,Hep,F10,F11,F4,F6	
	11,12-Anhydroinophyllum P	387,1589	[M+H]+	Hep,AcOEt,BuOH	
	Calanolide D (12-Oxocalanolide C)	369,17 391,152	[M+H]+ [M+Na]+	F7,F10,F5,F9,F12,F8	
	Inophyllum P	405,1696 403,1555	[M+H]+ [M-H]-	Hep,AcOEt,BuOH	
	Tamanolide (RTN2.11)	397,2013 419,183	[M+H]+ [M+Na]+	F7,F4,F6,F5,F12	
	Tamanolide C	383,1855 405,1675	[M+H]+ [M+Na]+	F7,F3,F10,F11,F4,F6,F5,F9,F12,F8	
	Tamanolide D/P	385,2012 407,1829 367,1906	[M+H]+ [M+Na]+ [M-H2O+H]+	F7,F3,F10,F11,F4,F6,F5,F12,F8	
	Tamanolide E	383,1855 405,1675	[M+H]+ [M+Na]+	F7,F3,F10,F4,F6,F5,F9,F12,F8	
	Calanolide GUT-70	383,1856 405,17 381,1709	[M+H]+ [M+Na]+ [M-H]-	AcOEt,Hep,F10,F11	
	Inophynone	377,1744	[M+H]+	Hep,AcOEt,BuOH,F7,F10,F11,F6,F9,F12,F8	
	12-méthoxycalanolide A/B	385,2008	[M+H]+	Hep,AcOEt,BuOH	
	Calanolide A/B	371,186	[M+H]+	F7,F3,F4,F6,F5,F12	
	Junosmarin	347,1489	[M+H]+	AcOEt,BuOH	
	12-oxocalanolide A/B	369,1699	[M+H]+	F10,F11	
	Acide calopolyanique	417,2277	[M+H]+	F10,F11	
Xanthones	1,3-dihydroxy-2,5-diméthoxyxanthone	289,0706 287,0563	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,Hep,F10,F11	
	1,6,8-trihydroxy-2,3-diméthoxyxanthen-9-one	305,0656	[M+H]+	AcOEt	
	1-Hydroxy-5,6-dimethoxyxanthone	273,0758 271,0613	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,Hep,F10,F11	
	3-Hydroxy-4-methoxyxanthone	243,0654	[M+H]+	F11,F12	
	Acide apetalique	389,1953	[M+H]+	Hep,AcOEt,BuOH	
	Acide calolongique	389,1963 387,1816	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,Hep,F10,F11,F4,F6,F12	
	Acide blancoique	417,2274	[M+H]+	Hep,AcOEt	
	Alloathyriol	273,0407	[M-H]-	AcOEt,BuOH,Hep	
	Garcinone B	395,1493	[M+H]+	AcOEt	
	Osajaxanthone	311,0913	[M+H]+	Hep,AcOEt	
	1,3,5-trihydroxy-2-prényl-9H-xanthene-9-one	311,0927	[M-H]-	AcOEt,BuOH,Hep	
	1,3,5-trihydroxy-4-méthoxyxanthone	275,0548	[M+H]+	BuOH	
	Cudraxanthone F	409,1663	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
	1,3-dihydroxy-9H-xanthen-9-one-3(6-O-(6-mannopyranosyl)-glucopyranose)	537,1612	[M+H]+	BuOH	
	3,4-dihydroxyxanthone	227,0347	[M-H]-	AcOEt,BuOH,Hep	
	4-hydroxyxanthone (8)	213,0547	[M+H]+	F11,F12	(286)
	5-hydroxy-1-méthoxyxanthone	243,0653	[M+H]+	F11,F9,F12,F8	
	Buchanaxanthone	259,0602 257,0456	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH,F7,F9,F8,F10,F11	
	Corymbiferine	303,051	[M-H]-	AcOEt	
	Desacetylgentiabavarutinoside	583,1669 581,153	[M+H]+ [M-H]-	AcOEt,BuOH	
	Euxanthone	229,0497	[M+H]+	F10,F11	
	Euxanthone-7-*O*-rutinoside	537,1613	[M+H]+	BuOH	
	Acide cordato-oblongique	361,1641	[M+H]+	Hep,AcOEt,BuOH	
	1,3,5-trihydroxy-2-méthoxyxanthone	275,055	[M+H]+	F10,F11	
	1,3,6-trihydroxy-2,7-dimethoxyxanthone	305,0657	[M+H]+	F10,F11	

	2-(3-Methylbut-2-enyl)-1,3,5-trihydroxyxanthone	313,1074	[M+H]+	F11	
Apocaroténoïdes	Acide abscisique	263,1289	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
diterpènes	Acide 16-(β-D-Glucopyranosyloxy)-6,7,17-trihydroxykauran-19-oique	575,2727	[M+Cl]-	BuOH	
Sesquiterpenoïdes	Lychnopholide	359,1492	[M+H]+	F10,F11	
Monoterpenoïdes	Deméthylligstroside	533,168	[M-H]-	AcOEt,BuOH	
Non classé	Erigeside C	359,0994	[M-H]-	Aq,BuOH	

3.5. Composition chimique de l'extrait de feuilles de *C. inophyllum*

Les feuilles de *C. inophyllum* sont utilisées en médecine traditionnelle sur la peau pour soigner les brûlures, l'herpès, les dermatoses, le prurit ou encore les allergies cutanées. D'après la littérature, la composition chimique des feuilles diffère de celle de l'amande. Les néoflavonoïdes, les pyranocoumarines et les benzopyranes sont spécifiques et majoritaires chez les Calophyllacées (295). Aussi, l'amande et les feuilles ayant montré des activités différentes, cette section vise également à comparer leur composition chimique.

L'extrait brut de feuilles de *C. inophyllum*, obtenu par UAE à l'éthanol 70 %, a été analysé en RMN révélant la présence d'acide shikimique, dont les déplacements chimiques sont disponibles en annexe (**Annexe 13**). Ce composé avait été isolé à partir de feuilles de *C. inophyllum* par Prasad *et al*. (159). L'acide shikimique est un ingrédient cosmétique présentant des propriétés antivirales, exfoliantes, désodorisantes, anti-acnéiques, anti-pelliculaires, blanchissantes et hydratantes. Il régule également la quantité de sébum sécrétée et possède des propriétés antibactériennes, anti-inflammatoires, stimulantes pour la pousse des cheveux, anti-âge et antifongiques (296).

Cet extrait a également été analysé en LC-MS^2 en mode d'ionisation positif et négatif (**Figure 84** et **Tableau 17**). Par rapport à l'amande de Tamanu, les feuilles révèlent la présence de flavonoïdes, tels que l'épicatéchine et l'amentoflavone (159). L'épicatéchine et ses dérivés sont connus pour leur capacité à réduire le stress oxydatif grâce à l'activation de Nrf2 qui favorise la production d'antioxydants et l'inhibition de NF-κB, réduisant ainsi l'expression de composés oxydants et l'inflammation (193). L'amentoflavone est un ingrédient cosmétique utilisé comme antioxydant. Il possède également des propriétés anti-inflammatoires. L'étude de Benvenutti *et al*. a montré sa capacité à diminuer le taux de cytokines pro-inflammatoires produites par les macrophages et a augmenté le taux d'IL-10 anti-inflammatoire (297).

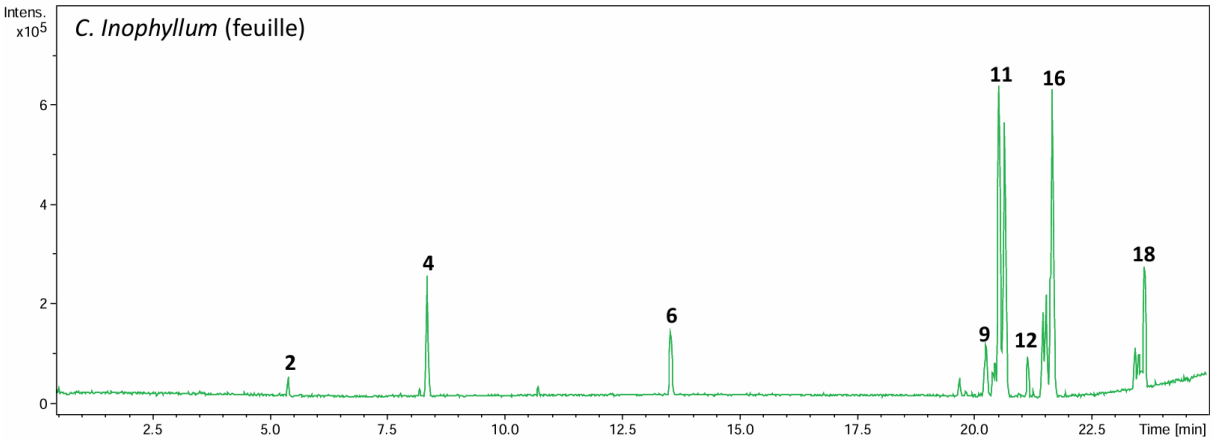


Figure 84 : Profil chromatographique de l'extrait brut de feuilles de *C. inophyllum*, analysé par LC-MS^2 (Qtof) en modes d'ionisation positive

La jacareubine est une xanthone identifiée spécifiquement dans les feuilles de *C. inophyllum* (298). Les résultats de Castillo-Arellano *et al*. suggèrent que la jacareubine pourrait être une molécule antioxydante, anti-allergique et anti-inflammatoire efficace. En effet, elle inhibe la dégranulation des mastocytes avec une CI_{50} à 46 nM. La capacité antioxydante de la jacareubine s'est révélée supérieure à celle de l'α-tocophérol et de l'acide caféique, et similaire à celle du trolox. *In vivo*, la jacareubine a inhibé les réactions anaphylactiques passives chez la souris (299).

L'inophyllum G est une furanocoumarine mentionnée dans les feuilles de C*. inophyllum* par Patil *et al*. qui possède une faible activité antivirale (294).

On retrouve également l'icariside B5, un apocaroténoïde dont la littérature ne mentionne pas les propriétés antioxydantes ou anti-inflammatoires.

Tableau 17 : Métabolites annotés dans l'extrait brut de feuilles de *C. inophyllum*, analysé par LC-MS^2 (Qtof) en modes d'ionisation positive et négative

N°	Familles chimiques	Annotations	Formules brutes	RT (min)	MS m/z	Références
1	Flavonoïde	Procyanidine type B*	$C_{30}H_{26}O_{12}$	5,06	579,1505 $[M+H]^+$ 577,1351 $[M-H]^-$	(78,192,300,301)
2	Flavonoïde	Epicatéchine*	$C_{15}H_{14}O_6$	5,41	291,0867 $[M+H]^+$ 289,0716 $[M-H]^-$ 313,0687 [M+Na]+	(192,302,303)
3	Apocaroténoïde	Icariside B5*	$C_{19}H_{32}O_8$	6,70	389,2179 $[M+H]^+$	(304)
4	Flavonoïde	Quercétine-*O*-glucoside	$C_{21}H_{20}O_{11}$	8,34	449,1081 $[M+H]^+$ 447,0930 $[M-H]^-$ 471,0903 [M+Na]+	(78,305,306)
5	Flavonoïde	Kaempferol-*O* glucoside	$C_{21}H_{20}O_{10}$	9,21	433,1127 $[M+H]^+$ 431,0977 $[M-H]^-$	(307)
6	Flavonoïde	Amentoflavone*	$C_{30}H_{18}O_{10}$	13,54	539,0986 $[M+H]^+$ 537,0834 $[M-H]^-$ 561,0793 [M+Na]+	(159)
7	Flavonoïde	2,3-dihydroamentoflavone*	$C_{30}H_{20}O_{10}$	14,01	541,1136 $[M+H]^+$ 539,0983 $[M-H]^-$	(308,309)
8	Xanthone	Jacareubine*	$C_{18}H_{14}O_6$	16,80	327,0869 $[M+H]^+$ 325,0721 $[M-H]^-$	(298,310,311)
9	Néoflavonoïde	Inophyllum G*	$C_{25}H_{24}O_5$	20,27	405,1701 $[M+H]^+$ 403,1550 $[M-H]^-$ 427,1518 [M+Na]+	(294)
10	Néoflavonoïde	Tomentolide A	$C_{25}H_{22}O_5$	20,43	403,1547 $[M+H]^+$	(312)
11	Néoflavonoïde	Acide calophyllique	$C_{25}H_{24}O_6$	20,55	421,1653 $[M+H]^+$ 419,1496 $[M-H]^-$ 443,1468 [M+Na]+	(159)
12	Néoflavonoïde	Soulattrolone	$C_{25}H_{22}O_5$	21,16	403,1540 $[M+H]^+$	(313)
13	Pyranocoumarine	Tamanolide E	$C_{23}H_{26}O_5$	21,28	383,1855 $[M+H]^+$ 405,1667 [M+Na]+ 400,2113 $[M+NH_4]$+	standard
14	Néoflavonoïde	Inophyllum A ou D	$C_{25}H_{24}O_5$	21,47	405,1691 $[M+H]^+$	(294)
15	Néoflavonoïde	Inophyllum E	$C_{25}H_{22}O_5$	21,54	403,1540 $[M+H]^+$ 425,1359 [M+Na]+ 420,1806 $[M+NH_4]$+	(294)
16	Néoflavonoïde	Calophyllolide	$C_{26}H_{24}O_5$	21,64	417,1696 $[M+H]^+$ 439,1514 [M+Na]+ 434,1961 $[M+NH_4]$+	(294)
17	Pyranocoumarine	Inophyllum P	$C_{25}H_{24}O_5$	21,70	405,1688 $[M+H]^+$ 427,1515 [M+Na]+	(294)
18	Benzopyrane	Inocalophyllin A	$C_{35}H_{44}O_6$	23,64	561,3209 $[M+H]^+$ 559,3056 $[M-H]^-$	(292)
19	Benzopyrane	Inocalophyllin B	$C_{32}H_{46}O_6$	23,88	527,3373 $[M+H]^+$ 525,3212 $[M-H]^-$ 549,3186 [M+Na]+	(292) standard
20	Alcaloïde	Phéophorbide A*	$C_{35}H_{36}N_4O_5$	24,73	593,2764 $[M+H]^+$	(314)

*composés non identifiés dans l'amande de *C. inophyllum*

La comparaison des profils chromatographiques permet de visualiser la différence de composition entre l'extrait de feuille (en vert) et l'extrait d'amande (en marron). La fenêtre chromatographique est agrandie entre 20 et 25 min où se situent les néoflavonoïdes et les benzopyranes (**Figure 85**). Les feuilles de *C. inophyllum* possèdent des composés en commun avec l'amande. C'est notamment le cas de l'acide calophyllique, du soulatrollone, de l'inophyllum E, du calophyllolide, et de l'inocalophyllin A. Néanmoins, ces composés semblent présents dans des proportions inférieures par rapport à l'amande. On note également que de nombreux composés sont présents uniquement dans l'amande de *C. inophyllum* (tamanolides, 12-méthoxycalanolide B, inocalophyllin B).

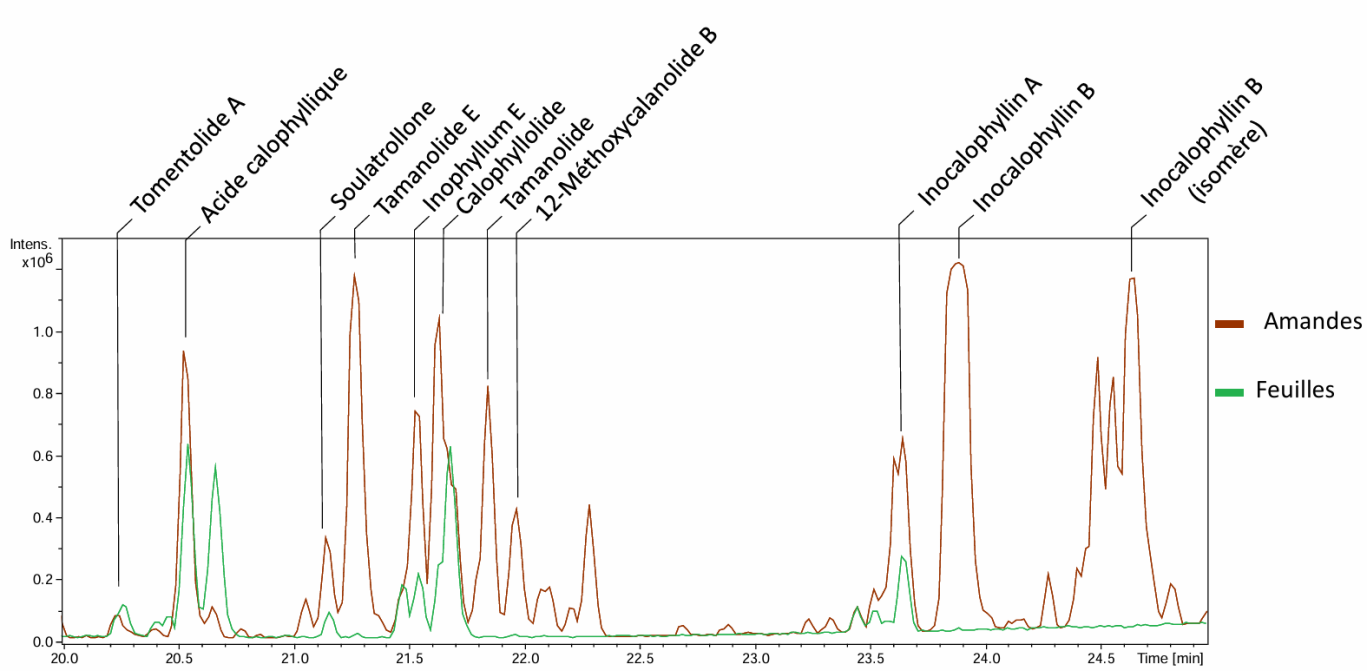


Figure 85 : Comparaison des profils chromatographiques de l'amande et des feuilles de *C. inophyllum*, entre 20 et 25 min, et noms des composés annotés

3.6. Composition chimique de l'extrait de *C. longa*

Le rhizome de *C. longa* est particulièrement utilisé en médecine traditionnelle pour les soins de la peau et des cheveux, mais aussi pour traiter les plaies et l'eczéma (9). Les tests biologiques ont effectivement montré que l'extrait présente des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires allant dans ce sens. La composition chimique de *C. longa* est bien renseignée dans la littérature. Le rhizome comporte principalement des curcuminoïdes auxquels on attribue les propriétés du *C. longa*.

L'extrait brut de rhizomes de *C. longa*, obtenu par UAE à l'éthanol 70 %, a été analysé en RMN montrant la curcumine comme composé majoritaire. Cet extrait a également été analysé en LC-MS^2 en mode d'ionisation positif et négatif (**Figure 86** et **Tableau 18**). Les composés annotés sont principalement des curcuminoïdes (curcumine, deméthoxycurcumine, bisdeméthoxycurcumine), tous précédemment mentionnés chez *C. longa*. Des sesquiterpènes ont également été identifiés : le turmeronol A, le tumérone et l'α-atlantone.

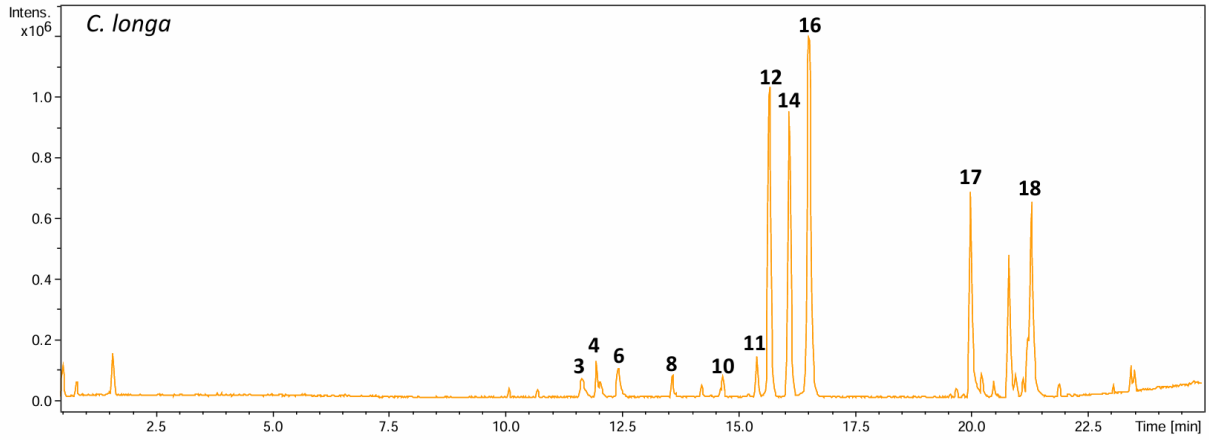


Figure 86 : Profil chromatographique de l'extrait brut de *C. longa*, analysé par LC-MS^2 (Qtof) en modes d'ionisation positive

Tableau 18 : Métabolites annotés dans l'extrait brut de *C. longa*, analysé par LC-MS^2 (Qtof) en modes d'ionisation positive et négative

N°	Familles chimiques	Annotations	Formules brutes	RT (min)	MS m/z	Références
1	Curcuminoïde	Tétrahydrocurcumine	$C_{21}H_{24}O_6$	11,48	373,1651 $[M+H]^+$ 395,1465 $[M+Na]^+$	(99)
2	Curcuminoïde	Curcumalongine A	$C_{20}H_{16}O_6$	11,63	353,1024 $[M+H]^+$ 351,0877 $[M-H]^-$ 375,0846 $[M+Na]^+$	(99)
3	Curcuminoïde	Bisdeméthoxycurcumine (forme céto)	$C_{19}H_{16}O_4$	11,66	309,1126 $[M+H]^+$ 307,0979 $[M-H]^-$ 331,0945 $[M+Na]^+$	(99)
4	Curcuminoïde	Curcumalongine B	$C_{21}H_{18}O_7$	11,98	383,1129 $[M+H]^+$ 381,0985$[M-H]^-$ 405,0945 $[M+Na]^+$	(99)
5	Curcuminoïde	Deméthoxycurcumine (forme céto)	$C_{20}H_{18}O_5$	12,06	339,1230 $[M+H]^+$ 337,1083 $[M-H]^-$ 361,1046 $[M+Na]^+$	(99)
6	Curcuminoïde	Curcumine (forme céto)	$C_{21}H_{20}O_6$	12,44	369,1337 $[M+H]^+$ 367,1195 $[M-H]^-$ 391,1159 $[M+Na]^+$	(99)
7	Curcuminoïde	Divanillalacétone	$C_{19}H_{18}O_5$	12,93	327,1234 $[M+H]^+$	(315)
8	Curcuminoïde	1,7-Bis (4-hydroxyphényl)-1,4,6-heptatrien-3-one	$C_{19}H_{16}O_3$	13,61	293,1176 $[M+H]^+$ 291,1026 $[M-H]^-$ 315,0990 $[M+Na]^+$	(99)
9	Curcuminoïde	Deméthylcurcumine	$C_{20}H_{18}O_6$	14,63	355,1182 $[M+H]^+$ 353,1032 $[M-H]^-$	(316)
10	Curcuminoïde	Calebine A	$C_{21}H_{20}O_7$	14,68	385,1290 $[M+H]^+$ 407,1118 $[M+Na]^+$	(185)
11	Curcuminoïde	1,7-Bis(4-hydroxyphényl)-1-heptene-3,5-dione	$C_{19}H_{18}O_4$	15,42	311,1285 $[M+H]^+$ 309,1135 $[M-H]^-$ 333,1103 $[M+Na]^+$	(1)
12	Curcuminoïde	Bisdeméthoxycurcumine (forme énol)	$C_{19}H_{16}O_4$	15,69	309,1129 $[M+H]^+$ 307,0978 $[M-H]^-$ 331,0945 $[M+Na]^+$	(99)
13	Sesquiterpène	Turmeronol A	$C_{15}H_{20}O_2$	16,09	233,1547 $[M+H]^+$ 255,1352 $[M+Na]^+$	(99)
14	Curcuminoïde	Deméthoxycurcumine (forme énol)	$C_{20}H_{18}O_5$	16,11	339,1238 $[M+H]^+$ 337,1087 $[M-H]^-$ 361,1058 $[M+Na]^+$	(99)
15	Curcuminoïde	Dihydrocurcumine	$C_{21}H_{22}O_6$	16,16	371,1497 $[M+H]^+$ 369,1345 $[M-H]^-$ 393,1313 $[M+Na]^+$	(317)
16	Curcuminoïde	Curcumine (forme énol)	$C_{21}H_{20}O_6$	16,53	369,134 $[M+H]^+$ 367,1187 $[M-H]^-$ 391,1158 $[M+Na]^+$	(99)
17	Sesquiterpène	Tumérone	$C_{15}H_{20}O$	20,01	217,1592 $[M+H]^+$ 239,1411 $[M+Na]^+$	(318)
18	Sesquiterpène	α-Atlantone	$C_{15}H_{22}O$	21,31	219,1750 $[M+H]^+$ 241,1570 $[M+Na]^+$	(99)

3.7. Conclusion partielle

Les analyses menées sur les extraits de *F. prolixa* et de *C. subcordata* ont permis une large caractérisation de leur composition chimique, qui n'avait pas été décrite auparavant dans la littérature. Pour l'extrait de *F. prolixa*, parmi les 160 composés annotés en spectrométrie de masse et les 14 composés identifiés en RMN, des flavonoïdes ainsi que des acides phénoliques, des alcaloïdes et des triterpènes ont majoritairement été décrits. Pour l'extrait de *C. subcordata*, parmi les 165 composés annotés et les 26 composés identifiés, ce sont des flavonoïdes, des acides phénoliques, des alcaloïdes et des lignanes qui ont majoritairement été décrits. De plus, un apocaroténoïde, le 3-déméthyldéhydrovomifoliol est nouvellement décrit comme composé naturel pour la première fois.

Cette étude menée sur l'extrait de *G. taitensis* a permis de caractériser la composition chimique de l'extrait éthanolique de boutons de fleurs. Au total, 177 composés ont été annotés en spectrométrie de masse et 15 composés ont été identifiés en RMN. Dans l'extrait étudié, on retrouve principalement des flavonoïdes, des iridioïdes et des saponines. La majorité des composés sont décrits pour la première fois chez *G. taitensis* étant donné que seuls les composés volatils avaient été étudiés auparavant dans la littérature.

L'étude de l'extrait d'amandes de *C. inophyllum* a permis de caractériser sa composition chimique grâce à la procédure CaraMel et la construction de réseaux moléculaires. Au total, 211 composés ont été annotés en spectrométrie de masse et 16 composés ont été identifiés en RMN, dont un alcaloïde naturel nouvellement décrit : l'acide 6-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylique. Dans l'extrait étudié, on retrouve principalement des néoflavonoïdes, des pyranocoumarines et des benzopyranes. Cet extrait d'amande a pu être comparé à l'extrait de feuilles de C*. inophyllum*. Ce dernier présente également des pyranocoumarines, des néoflavonoïdes et des benzopyranes, mais ses composés sont moins diversifiés et présents en proportion plus faible par rapport à l'amande. En revanche, l'extrait de feuilles possède en plus des flavonoïdes, des xanthones, telles que la jacareubine et des composés phénoliques, tels que l'acide shikimique.

Enfin, l'extrait de rhizomes de C*. longa* montre une composition similaire à celle décrite dans la littérature avec une importante proportion de curcuminoïdes identifiés, avec la curcumine comme composé majoritaire.

4. Relation composition chimique et activité biologique

Après avoir évalué les activités biologiques et décrit la composition chimique des extraits de plantes, cette section vise à identifier les composés pouvant être responsables des activités mesurées. Pour cela, le couplage HPLC-DPPH est utilisé afin de mettre en évidence les principaux composés anti-radicalaires. Pour les activités cicatrisantes et anti-inflammatoires, les fractions de CPC des extraits les plus actifs ont été testées afin de réaliser une cartographie de ses activités sur les réseaux moléculaires. Enfin, les activités biologiques connues des composés annotés et identifiés sont discutées au regard des activités des extraits.

4.1. *F. prolixa*

Parmi les extraits testés, celui du *F. prolixa* a révélé l'activité antioxydante et antiradicalaire la plus élevée aussi bien *in vitro* et *in cellulo*. Afin d'identifier les composés responsables de l'activité antiradicalaire des extraits de plantes étudiés, l'analyse HPLC a été combinée au test DPPH. Les composés des extraits de plantes ont d'abord été séparés et détectés à 280 nm. Ensuite, en sortie de colonne, ils sont mis à réagir avec la solution de DPPH, directement incorporée au système analytique. Le blanchiment de la solution induit par les composés actifs est ensuite détecté à 515 nm. La rutine a été utilisée comme contrôle positif pour déterminer le décalage du temps d'élution entre les deux systèmes de détection. En utilisant une méthode analytique similaire, ces composés actifs peuvent être caractérisés par analyse UHPLC-MS/MS. Cette analyse a révélé que l'activité antiradicalaire de l'extrait de *F. prolixa* est due à plusieurs composés bioactifs, dont l'acide chlorogénique, la procyanidine B2, l'épicatéchine, l'acide 5-*O*-caféoylshikimique et des procyanidines de type C (**Figure 87**).

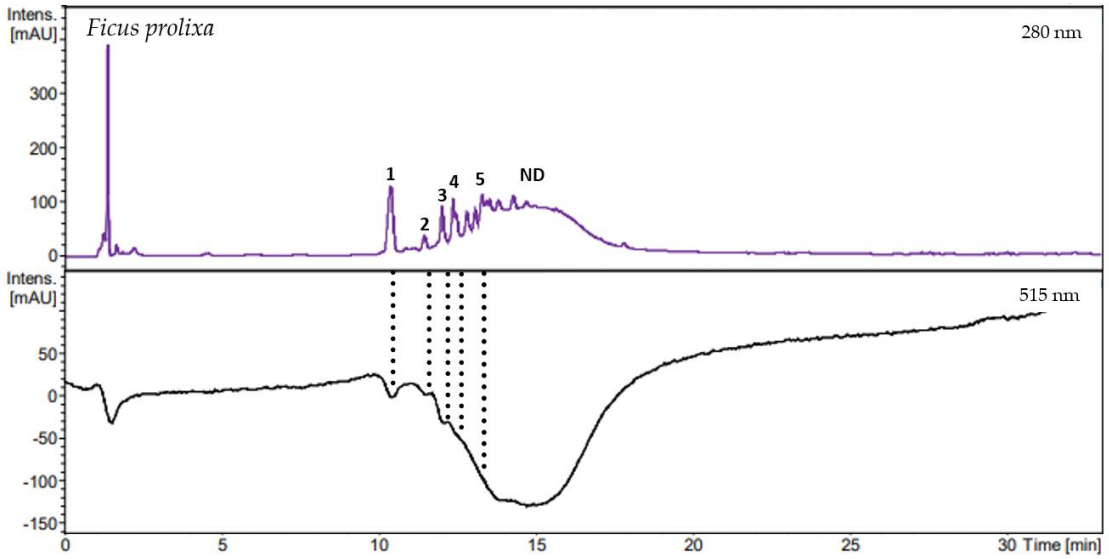


Figure 87 : Chromatogrammes de l'analyse couplant l'HPLC au DPPH de l'extrait brut de *F. prolixa*. Le profil de l'extrait brut a été enregistré à 280 nm et l'activité antiradicalaire des composés correspondants, représentés par des pics négatifs, a été enregistrée à 515 nm : acide chlorogénique (**1**), procyanidine B2 (**2**), épicatéchine (**3**), acide 5-*O*-caféoylshikimique (**4**), procyanidine de type C (**5**), ND : Non déterminé.

Néanmoins, la séparation des composés actifs n'étant pas optimale, certains n'ont pas pu être annotés. La méthode aurait pu être améliorée et être appliquée sur les fractions de CPC. L'étude de Perret *et al*. décrit l'analyse de fractions de CPC à travers un système HPLC couplé d'une part à une pompe avec une solution de DPPH et un détecteur DAD, et d'autre part à un détecteur HRMS/MS. Cette méthode permet une plus large identification des composés actifs dans les fractions CPC par rapport à l'extrait brut grâce à une analyse directe en spectrométrie de masse et à l'analyse ultérieure des fractions en RMN (319).

Malgré la présence dans l'extrait de composés connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, cicatrisantes et anti-mélanomes, l'extrait a révélé une activité pro-inflammatoire sur la voie NF-κB, une inhibition de la cicatrisation ainsi qu'une absence d'activité anti-mélanome.

4.2. *C. subcordata*

L'extrait brut de *C. subcordata* a révélé une activité antioxydante et anti-radicalaire. Afin d'identifier les composés responsables de cette activité, l'extrait a été analysé en HPLC couplé au test DPPH. Après une séparation des composés et leur détection à 280 nm, ils sont mis à réagir avec la solution de DPPH, directement incorporée au système analytique. Les composés actifs induisent un blanchiment de la solution détecté à 515 nm. En utilisant une méthode analytique similaire, ces composés actifs peuvent être caractérisés par analyse LC-MS^2. Cette analyse a révélé que l'activité antiradicalaire de l'extrait de *C. subcordata* est majoritairement dû à l'acide rosmarinique (**2**) mais aussi à la quercétine-*O*-glucoside (1) et à l'acide lithospermique B aussi appelé l'acide salvianolique B ou Danfensuan B (**Figure 88**).

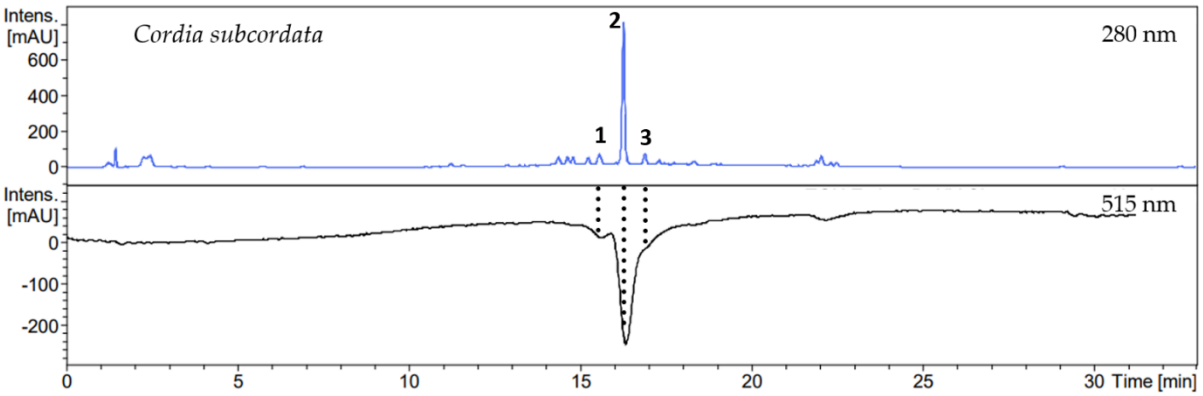


Figure 88 : Chromatogrammes de l'analyse couplant l'HPLC au DPPH de l'extrait brut de *C. subcordata*. Le profil de l'extrait brut a été enregistré à 280 nm et l'activité des composés correspondants, représentés par des pics négatifs, a été enregistrés à 515 nm : quercétine-*O*-glucoside (1), acide rosmarinique (2), acide lithospermique B (3)

L'acide rosmarinique possède des propriétés antioxydantes et une capacité à neutraliser les radicaux libres au sein des cellules cutanées (224). De plus, il a une action cyto-protectrice contre le stress oxydatif induit par les UVB dans les kératinocytes (HaCaT). En effet, il réduit significativement les ERO intracellulaires induits par les UVB et atténue les dommages

oxydatifs causés aux protéines, à l'ADN et aux lipides. Il renforce également l'activité des enzymes antioxydantes en activant la voie Nrf2 (224). Selon les relations structure-activité rapportées dans la littérature par Truzzi *et al*., les acides hydroxycinnamiques, en particulier les dérivés de l'acide caféique, et les flavonoïdes, tels que les dérivés de la quercétine, comptent parmi les plus puissants antiradicalaires (320). L'acide lithospermique B présente également des propriétés antioxydantes reconnues (321). L'étude de Ly *et al*. a comparé l'activité antioxydante d'oligomères d'acide rosmarinique tel que l'acide lithospermique B. La capacité à réduire l'oxydation du méthyl linoleate était évaluée et l'acide rosmarinique a montré une activité plus élevée par rapport à l'acide lithospermique B et aux composés utilisés comme contrôles, l'α-tocophérol et la quercétine (322). L'acide lithospermique B est un ingrédient cosmétique listé (CosIng) pour les soins et la protection de la peau.

L'extrait brut de *C. subcordata* a montré des propriétés anti-inflammatoires via l'inhibition de la 5-LOX et cicatrisantes en améliorant la prolifération des kératinocytes. Ainsi, les fractions CPC ont été évaluées sur ces mêmes tests. D'après les résultats (cf. III. 2.3.2. et 2.4.2.), un code couleur a été appliqué afin de réaliser une cartographie de l'activité sur les réseaux moléculaires (**Tableau 19**).

Tableau 19 : Activités cicatrisantes et anti-inflammatoire des fractions de CPC de *C. subcordata* (Tou) et couleurs appliquées à la cartographie des activités sur les réseaux moléculaires

<table>
<tr><th>TOU</th><th>Cicatrisation (migration et prolifération HaCat)</th><th>Inflammation (5-LOX)</th></tr>
<tr><td>F1</td><td rowspan="11">Idem contrôle</td><td rowspan="7">Idem contrôle</td></tr>
<tr><td>F2</td></tr>
<tr><td>F3</td></tr>
<tr><td>F4</td></tr>
<tr><td>F5</td></tr>
<tr><td>F6</td></tr>
<tr><td>F7</td></tr>
<tr><td>F8</td><td rowspan="4">Inhibition</td></tr>
<tr><td>F9</td></tr>
<tr><td>F10</td></tr>
<tr><td>F11</td></tr>
<tr><td>F12</td><td rowspan="2">Idem contrôle</td></tr>
<tr><td>F13</td><td>Ralentit fortement</td></tr>
<tr><td>F14</td><td>Idem contrôle</td><td>Inhibition</td></tr>
<tr><td>F15</td><td>Accélère fortement</td><td>Forte inhibition</td></tr>
<tr><td>F16</td><td>Ralentit</td><td>Inhibition</td></tr>
</table>

Pour la migration et la prolifération des HaCat, la fraction 15 qui accélère la cicatrisation est colorée en vert, tandis que les fractions 13 et 16 qui ralentissent la cicatrisation sont en orange. Pour l'inflammation, les fractions 8 à 11 et 14 à 16, qui montrent une inhibition de la 5-LOX sont colorées en vert. Aussi, un gradient de couleur est appliqué, du clair au foncé selon

le seuil des tests statistiques ($p \leq 0,05$ * ou $p \leq 0,01$ **), indiquant ainsi l'intensité de l'activité. L'ensemble des composés des fractions actives sont donc colorés (vert ou orange) tandis que les autres sont gris, le but étant de mettre en évidence des clusters de composés susceptibles d'être responsables de l'activité (**Figure 89**).

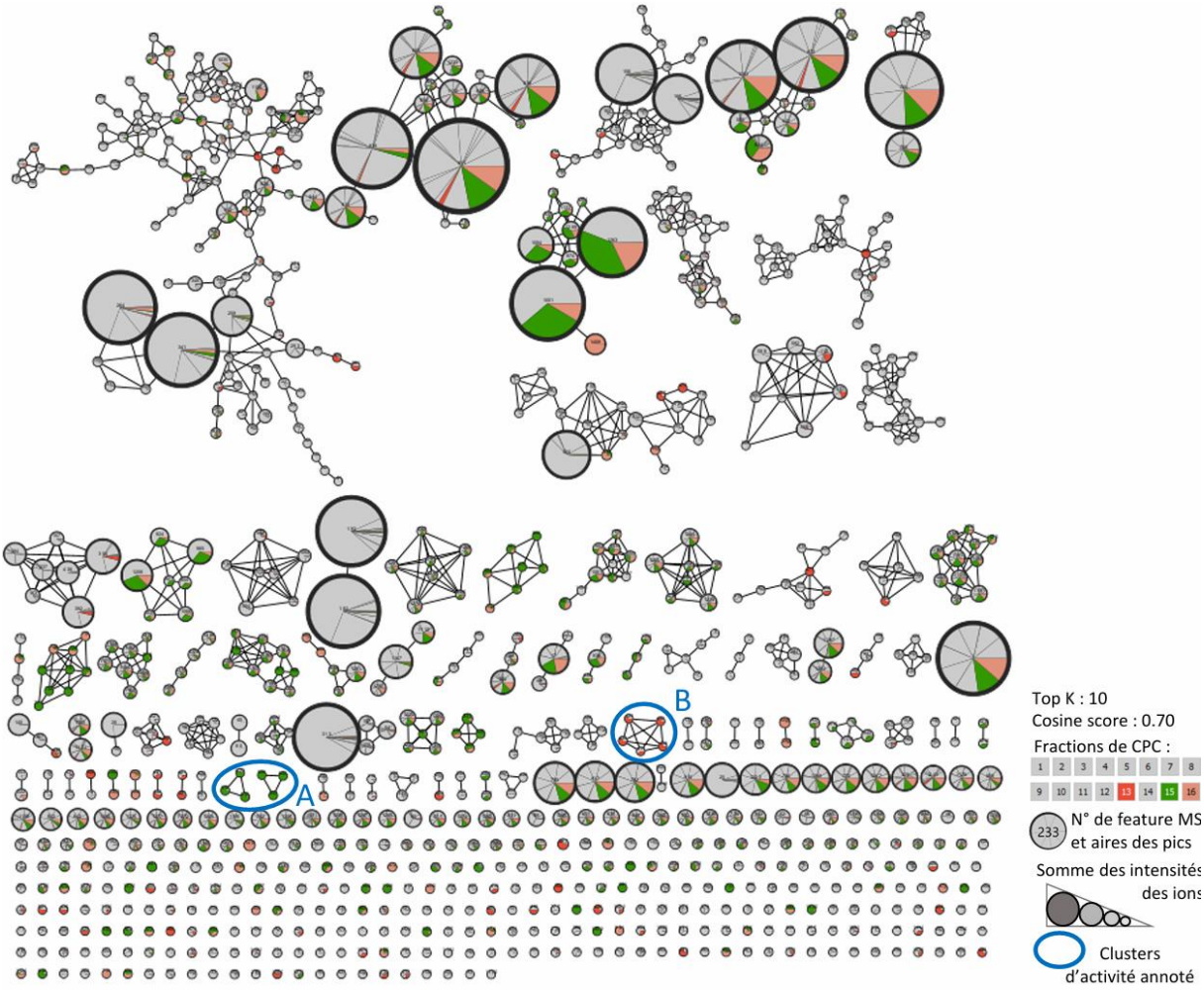


Figure 89 : Réseau moléculaire des fractions de CPC de *C. subcordata* avec la cartographie de l'activité cicatrisante

La fraction 15 est la seule fraction de cette plante ayant permis d'accélérer la cicatrisation. En RMN, le danshensu a été identifié comme un des composés majoritaires dans cette fraction. Selon les données de la littérature, le danshensu a montré des propriétés cicatrisantes en augmentant la production de mélanine et de collagène dans les cellules de fibroblastes humains (Detroit 551) et en favorisant leur prolifération (225). Le dérivé ionique sodé du danshensu est connu pour améliorer le taux de cicatrisation des plaies chez le rat, notamment en régulant la réponse inflammatoire et l'apoptose (226). La cartographie de l'activité cicatrisante révèle deux dérivés de l'acide rosmarinique (Cluster A) : l'acide rosmarinique méthyl ester et l'acide salvianolique C, majoritairement présent dans la fraction 15 (**Figure 90 A**). Leurs propriétés cicatrisantes ne sont pas renseignées dans la littérature. Néanmoins, ces deux composés sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires qui pourraient justifier la forte activité inhibitrice de la 5-LOX dans la fraction 15, L'acide rosmarinique méthyl ester

est capable d'inhiber l'expression des cytokines pro-inflammatoires induite par les LPS, notamment l'interleukin IL-1β, l'IL-6, l'IL-10, la protéine chimioattractante monocytaire-1, l'interféron-β et l'iNOS. Il supprime également l'activation de NF-κB (323). L'acide rosmarinique methyl inhibe également la production de NO (CI_{50} à 0,6 µM) et de COX-2 et induit l'expression de HO-1 dès 0,1 µM (324). L'acide salvianolique C a démontré une atténuation de la réponse inflammatoire médiée par NF-κB via l'activation de la signalisation Nrf2 à la fois *in vivo* et *in vitro* (325).

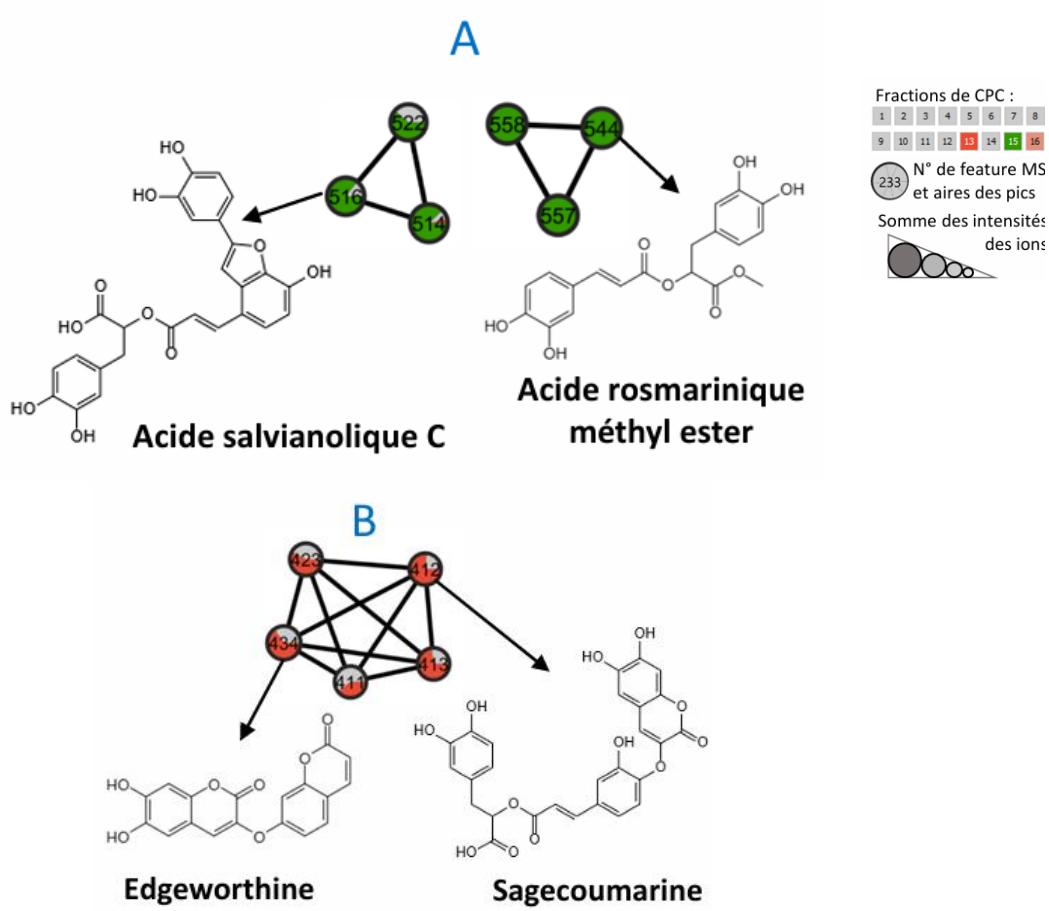


Figure 90 : Clusters mis en évidence par la cartographie de l'activité cicatrisante
A : Structures des composés spécifiques de la fraction 15 qui favorise la cicatrisation.
B : Structures des composés spécifiques de la fraction 13 qui inhibe la cicatrisation.

Deux autres clusters sont mis en évidence par la cartographie de l'activité anti-inflammatoire (**Figure 91**). Le premier cluster contient le loliolide qui est majoritairement présent dans les fractions 9,10 et 11. Selon l'étude de Han *et al*., le loliolide améliore la viabilité cellulaire de kératinocytes stimulés par l'IFN-γ/TNF-α en réduisant la production de ROS intracellulaires et en activant Nrf2. Il diminue également l'expression des cytokines proinflammatoire et supprime l'activation de la protéine kinase MAPK et la signalisation de NF-κB (236). Le loliolide supprime la production intracellulaire d'ERO dans les fibroblastes exposés aux UVB tout en augmentant la viabilité cellulaire. Le loliolide supprime de manière dose-dépendante les réponses inflammatoires médiées par NF-κB et MAPK ainsi que l'expression des cytokines pro-inflammatoires IL-1β, 6, 8, 33 et TNF-α. De plus, le loliolide régule à la baisse l'expression de MMP induite par les UVB, en indiquant une activité anti-rides profonde qui était en outre attribuable à l'inhibition de l'activité de la collagénase et de l'élastase. L'ensemble des

données et preuves disponibles suggère que le loliolide possède des effets protecteurs contre le vieillissement prématuré de la peau causé par l'exposition aux UVB (234). Dans les fibroblastes humains, exposés à de fines particules de pollution, le loliolide améliore les taux de MMP, de cytokines inflammatoires et de chimiokines avec une activité réduite de la collagénase et de l'élastase (235).

Le second cluster contient des dérivés d'acide cinnamique et shikimique notamment l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide sinapique ainsi que l'acide rosmarinique (**7**) également confirmé en RMN. Ils sont majoritaires dans les fractions 9, 10 et 11. L'acide caféique ainsi que l'acide rosmarinique et ses dérivés sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, notamment via l'interaction avec les LOX (168,326,327). L'acide caféique a des effets antioxydants, anti-inflammatoires, immunomodulateurs et réparateurs des tissus (328). L'acide rosmarinique inhibe la voie MAPK et NF-κB ainsi que la surexpression de COX-2 et de PGE2, faisant de lui un bon anti-inflammatoire notamment utilisé pour réduire l'inflammation chronique dans la dermatite atopique. Il participe à limiter la perte excessive d'eau transépidermique et à accélérer l'hydratation de la peau (223).

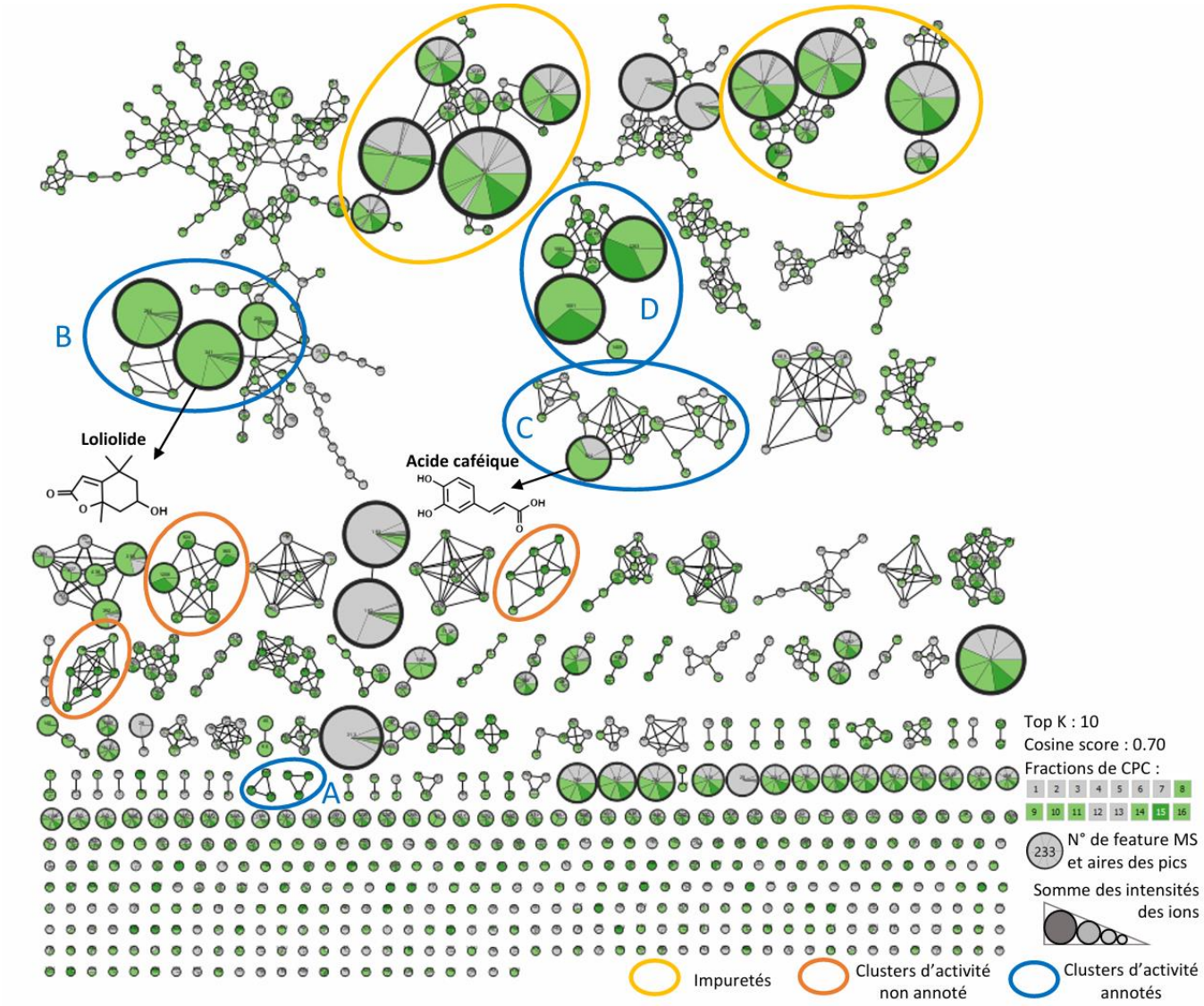


Figure 91 : Réseau moléculaire des fractions de CPC de *C. subcordata* avec la cartographie de l'activité anti-inflammatoire

D’un autre côté, la fraction 13 ralentit fortement la cicatrisation. Un petit cluster (Cluster B) est mis en évidence par la cartographie de l’activité cicatrisante avec deux coumarines annotées comme étant le sagecoumarine et l’edgeworthine (**Figure 90 B**). Selon Elhady *et al*., l’edgeworthine possède une activité cytotoxique sur la lignée cellulaire cancéreuse HepG2 avec une CI_{50} à 32,5 µM (329). Aussi, l’étude de Li *et al*. révèle que l’edgeworthine est capable d’inhiber l'activité lyase de l'ADN polymérase Beta, avec des valeurs CI_{50} de 32,1 µg/mL (94,8 µM). Cette ADN polymérase est la principale enzyme de réparation de l'ADN par excision de base. Un défaut de fonctionnement de cette enzyme peut provoquer l’apoptose de la cellule. Aussi, l’edgeworine, qui diffère de l’edgeworthine par l’absence d’un groupement hydroxyle, associé à un anticancéreux, potentialise l’activité cytotoxique en empêchant la cellule cancéreuse de réparer son ADN (330). Ces données montrent donc que ce composé pourrait donc être responsable de l’inhibition de la cicatrisation.
Pour ces deux cartographies de l’activité cicatrisante et anti-inflammatoire, le réseau moléculaire présente des clusters correspondants à des impuretés liées à la colonne chromatographique. Aussi, certains clusters ou nodes isolés sont été mis en évidence par les cartographies, néanmoins les ions présents n’ont pas pu être annotés.

4.3. *G. taitensis*

L'extrait brut de *G. taitensis* a révélé une activité anti-radicalaire. Afin d'identifier les composés actifs, l'extrait a été analysé en HPLC couplé au test DPPH en ligne. Après une séparation des composés et une détection à 280 nm, ils sont mis à réagir avec la solution de DPPH, directement incorporée au système analytique. Les composés actifs induisent un blanchiment de la solution détecté à 515 nm. En utilisant une méthode analytique similaire, les composés actifs sont caractérisés par analyse LC-MS^2. Cette analyse a révélé que l'activité antiradicalaire de l'extrait de *G. taitensis* est dû au composé majoritaire, l'acide 3,5-di-*O*-caféoyl-4-*O*-(3-hydroxy-3-méthyl)glutaroylquinique (**Figure 92**). Sa structure possède deux sous-unités d'acide caféique estérifié. Appartenant aux composés phénoliques, ce polyphénol présente donc les caractéristiques structurales pouvant permettre une activité antiradicalaire, mais peu d'études renseignent les activités de ce composé. Kim *et al*. qui ont étudié le 3,5-di-*O*-caféoyl-4-*O*-(3-hydroxy-3-methyl)glutaroylquinate (forme estérifiée de l'acide identifié) ont révélé une CI_{50} de 4,4 µg/mL au test DPPH (331).

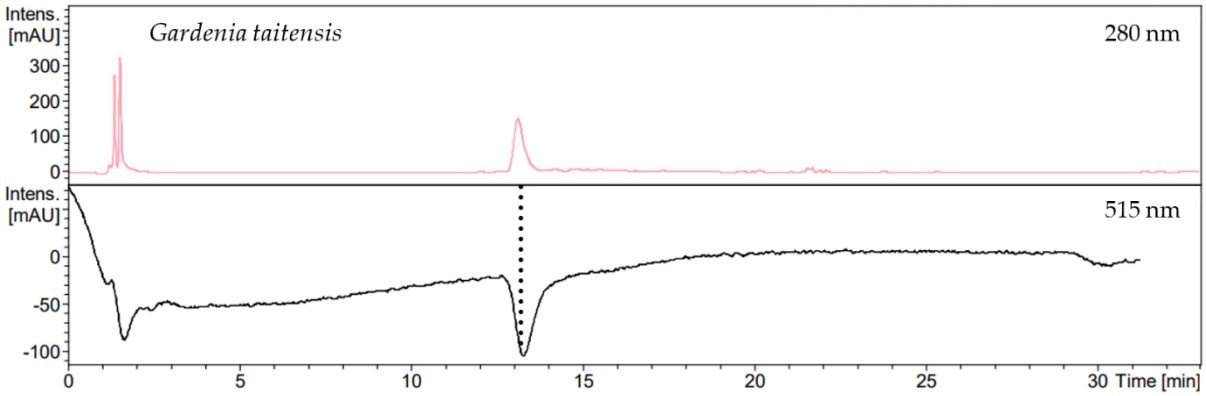


Figure 92 : Chromatogrammes de l'analyse couplant l'HPLC au DPPH de l'extrait brut de *G. taitensis*. Le profil de l'extrait brut a été enregistré à 280 nm et l'activité du composé correspondant, représenté par un pic négatif, a été enregistré à 515 nm : l'acide 3,5-di-*O*-caféoyl-4-*O*-(3-hydroxy-3-méthyl)glutaroylquinique

L'extrait brut de *G. taitensis* a également montré des propriétés anti-inflammatoires via l'inhibition de la 5-LOX et cicatrisantes en améliorant la migration et la prolifération des kératinocytes. Ainsi, les fractions obtenues par CPC ont été évaluées sur ces mêmes tests. D'après les résultats (cf. III. 2.3.2. et 2.4.2.), un code couleur a été appliqué afin de réaliser une cartographie de l'activité biologique sur les réseaux moléculaires (**Tableau 20**).

Pour la migration et la prolifération des cellules HaCat, les fractions 1, 3, 6, 7 et 9 qui accélèrent la cicatrisation sont colorées en vert tandis que les fractions 8, 10 à 12 et 14 qui ralentissent la cicatrisation sont en orange. Pour l'inflammation, les fractions 1, 9 et 11 qui montrent une inhibition de la 5-LOX sont colorées en vert. L'ensemble des composés des fractions actives sont donc verts, tandis que les composés présents dans les autres fractions sont en gris, le but étant de mettre en évidence des clusters de composés susceptibles d'être responsables de

l'activité. Aussi, un gradient de couleur est appliqué, du clair au foncé selon le seuil des tests statistiques ($p \leq 0,05$ * ou $p \leq 0,01$ **), indiquant ainsi l'intensité relative de l'activité.

Tableau 20 : Activités cicatrisantes et anti-inflammatoires des fractions de CPC de *G. taitensis* (*Tia*) et couleurs appliquées à la cartographie des activités sur les réseaux moléculaires

TIA	Cicatrisation (migration et prolifération HaCat)	Inflammation (5-LOX)
F1	Accélère fortement	Inhibition
F2	Idem contrôle	Idem contrôle
F3	Accélère fortement	
F4	Idem contrôle	
F5		
F6	Accélère bien	
F7	Accélère bien	
F8	Ralentit	
F9	Accélère fortement	Inhibition
F10	Ralentit bien	Idem contrôle
F11	Ralentit fortement	Forte inhibition
F12	Ralentit fortement	Idem contrôle
F13	Idem CTL	
F14	Ralentit	

La fraction 1 de *G. Taitensis* présente à la fois des propriétés cicatrisantes et anti-inflammatoires. La cartographie de l'activité révèle un groupe (cluster A) de composés constitués d'acides aminés glycosilés comprenant le N-(1-déoxy-1-fructosyl)valine, le N-Fructosyl isoleucine, la tyrosine glucoside et le *O*-mannopyranosylthréonine (**Figure 93**). Néanmoins, il n'y a pas de données de la littérature notifiant leurs propriétés cicatrisantes ou anti-inflammatoires. Le gardénoside a également été identifié par RMN comme composé majoritaire de la fraction 1. Chez la souris, des travaux ont testé le gardénoside afin de réduire les infections mammaires liées au Staphylocoque doré. Ainsi, cette étude a montré que l'atténuation de l'infection pouvait être liée aux propriétés anti-inflammatoires du gardénoside. Ce composé a révélé une diminution de l'activité de la myéloperoxydase, de la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 et TNF-α), ainsi que de l'activation de NF-κB. Par ailleurs, le traitement au gardénoside a entraîné une augmentation du taux d'enzymes relatives à l'activité antioxydante et une augmentation de l'expression de Nrf2 (265).

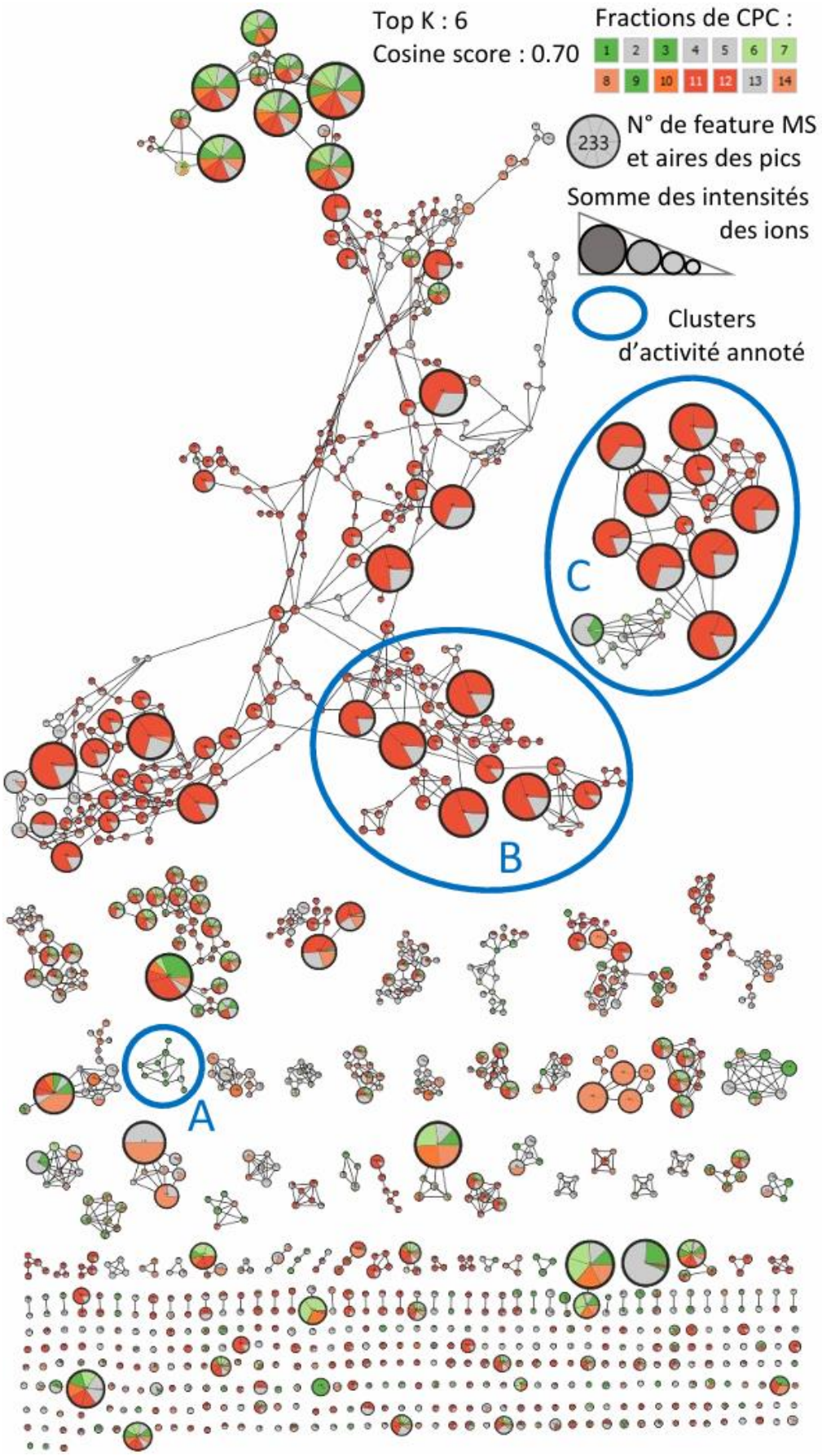


Figure 93 : Réseau moléculaire des fractions de CPC de *G. taitensis* avec la cartographie de l'activité cicatrisante

Dans un contexte d'inflammation osseuse (arthrose), le gardénoside diminue l'expression des gènes de l'IL-6, de COX-2 et diminue la production d'ERO. Il atténue efficacement la dégradation de la MEC causée par l'IL-1 et favorise la synthèse de la MEC en régulant à la hausse l'expression du collagène II et en régulant à la baisse l'expression des MMP-3 et MMP-13. Cette étude confirme une inhibition de la voie de signalisation NF-κB (266). Le géniposide, dont la structure diffère du gardénoside par l'absence d'un groupement hydroxyle, présente des propriétés anti-inflammatoires similaires. Ce composé administré par voie orale a démontré une amélioration de la cicatrisation de plaies sur modèle de rats diabétiques (332). Ainsi, au vu des propriétés anti-inflammatoires documentées, le gardénoside peut être responsable de l'inhibition de la 5-LOX. Aussi, cette activité anti-inflammatoire associée à son activité antioxydante décrite dans la littérature peuvent participer à favoriser la cicatrisation.

La fraction 3, qui a révélé une forte accélération de la cicatrisation, est notamment composée de niacinamide. L'étude de Smith *et al*. a investigué l'activité du niacinamide administré par voie injectable. Le composé a révélé une capacité à augmenter la densité capillaire dans la peau lésée par rapport au contrôle (solution saline). Ce traitement a également accéléré le taux de cicatrisation des brûlures chez le rat. De plus la réépithélialisation s'est révélée presque complète au bout de 7 jours tandis qu'elle a pris 14 à 21 jours chez les animaux traités par solution saline (333). L'étude de Ashkani Esfahani *et al*., décrit une application topique du niacinamide. Leurs résultats ont révélé une amélioration de la cicatrisation des plaies grâce aux effets anti-inflammatoires, antioxydants et inducteurs d'épithélialisation de ce composé. Le niacinamide améliorait également la régénération tissulaire en augmentant la prolifération des fibroblastes, la synthèse de collagène et la vascularisation (334).

Pour les fractions 6, 7 et 9, qui accélèrent également la cicatrisation, la cartographie ne montre pas quels sont les produits actifs des fractions. Des composés non spécifiques de ces fractions tels que la quercétine 3-*O*-glycoside, le dihydroconyféryl alcool ou l'acide 3,5-di-*O*-caféoyl-4-*O*-(3-hydroxy-3-méthyl)glutaroylquinique, peuvent contribuer à l'activité des fractions par leur association et leur action synergique. Aussi, des composés non ionisés en LC-MS^2 en mode positif et donc non visible sur le réseau moléculaire pourraient participer à l'activité cicatrisante.

Les fractions 11 et 12 ralentissent la cicatrisation. La cartographie de l'activité cicatrisante met en évidence un premier cluster (cluster C) principalement composé de flavonoïdes méthoxylés tels que le limocitrin, le jaceidin, le 5,7,3''-Trihydroxy-3,6,4'',5''-tetramethoxyflavone et le casticin (**Figure 93**). Un second cluster (cluster B) composé de terpènes (glochidone, lupeone, erythrodiol, Panaxatriol, dihydroniloticine) est mis en évidence. Ces composés pourraient contribuer à ralentir la cicatrisation.

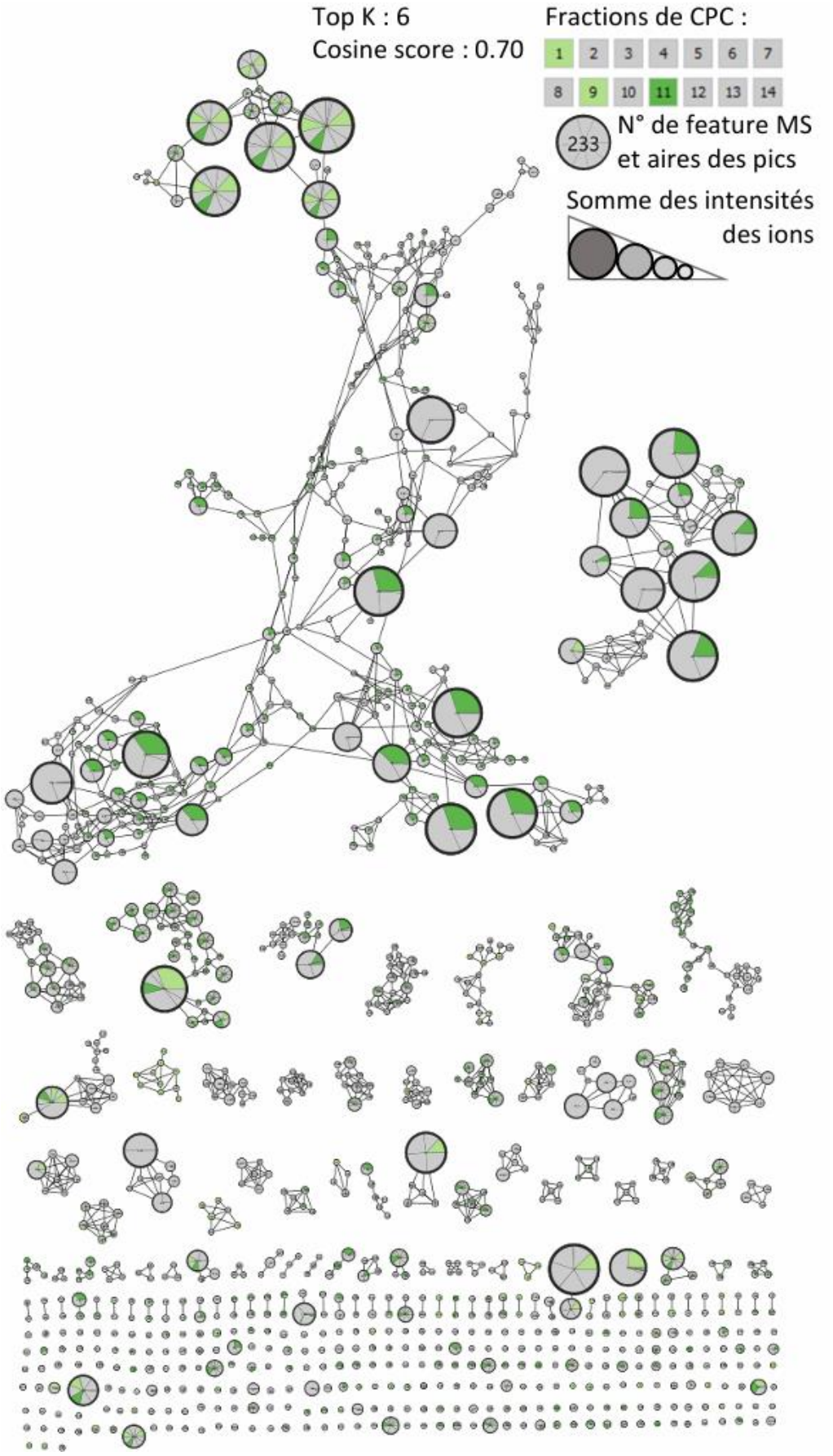


Figure 94 : Réseau moléculaire des fractions de CPC de *G. taitensis* avec la cartographie de l'activité anti-inflammatoire

Pour l'activité anti-inflammatoire, parmi les composés des fractions 1, 9 et 11, aucun cluster n'a été mis en évidence (**Figure 94**).
L'undecane a néanmoins été identifié en RMN comme étant un composé majoritaire dans la fraction 11. L'étude de Choi *et al*. a révélé que ce composé possède la capacité d'inhiber la synthèse de médiateurs de l'inflammation, comme l'histamine. En dessous de 100 µM, l'undecane n'a montré aucun effet sur la viabilité cellulaire des kératinocytes. Il inhibe la dégranulation des mastocytes, c'est-à-dire la libération d'histamine et de TNF-α. Le traitement avec des concentrations graduelles d'undécane (1, 5 et 10 µM) a inhibé de manière significative l'activation de NF-κB dans les cellules HaCaT stimulées par le TNF-α/IFN-γ, et ce, de manière dose-dépendante, avec une saturation autour de 5 µM. L'undécane a considérablement réduit l'expression de l'ARNm des cytokines pro-inflammatoires, telles que la chimiokine régulée par le thymus et l'activation (TARC), la chimiokine dérivée des macrophages (MDC) et l'interleukine-8 (IL-8) dans les cellules HaCat. Ainsi, un potentiel de développement de l'undécane a été évoqué comme stratégie pharmacologique pour améliorer les maladies inflammatoires de la peau, telles que la dermatite atopique (274).

4.4. Amandes de *C. inophyllum*

Dans cette étude, l'extrait d'amande de *C. inophyllum* a montré des propriétés antiprolifératives sur les cellules de mélanomes cutanées. Ces propriétés ont été attribuées au calophyllolide également actif (cf. II. 2.2.).
L'extrait d'amande a également montré une activité cicatrisante sur les fibroblastes. En effet, l'étude de Nguyen *et al*. évalue directement le calophyllolide (6 mg) en application topique une fois par jour sur les plaies chez la souris pendant 14 jours. Le calophyllolide a montré des propriétés cicatrisantes avec une fermeture de plaie plus rapidement que pour le contrôle négatif et que la povidone iodée (contrôle positif) aux jours 3, 5 et 7. La cicatrisation était presque totale (97 %) au jour 14 après le traitement, avec une récupération complète des couches épidermiques et dermiques (181). Aussi, ces travaux ont également porté sur l'étude de son activité anti-inflammatoire qui a révélé une réduction de l'activité de la myeloperoxidase (98 %), permettant ainsi de réduire la production d'ERO. Le calophyllolide a également régulé à la baisse les cytokines pro-inflammatoires (IL-1β, IL-6 et TNF-α) et régulé à la hausse l'expression de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 (181). Ces propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires sont favorables à la cicatrisation.

4.5. Feuilles de *C. inophyllum*

L'extrait de feuilles de *C. inophyllum* a montré des propriétés antioxydantes et antiradiacalaire, contrairement à l'extrait d'amandes. L'analyse HPLC couplée au test DPPH a permis d'identifier la quercétine-*O*-glucoside comme composé majoritairement actif (**Figure 95**). Ce qui explique la différence d'activité entre les deux extraits, étant donné que ce composé est présent dans l'amande dans des proportions bien moindres.

L'extrait a aussi montré une activité inhibitrice de la 5-LOX qui peut être due à la présence de composés aux propriétés anti-inflammatoires reconnues comme l'acide shikimique, l'épicatéchine, l'amentoflavone ou encore la jacareubine (193,296,297,299). L'étude de Tsai *et al*. avait également montré les capacités anti-inflammatoires des feuilles de *C. inophyllum* extraites à l'acétone, notamment sa capacité à inhiber COX-2. En revanche, leur étude a montré un extrait actif sur la voie de signalisation NF-κB en inhibant sa translocation nucléaire. Cette étude mentionne l'amentoflavone et l'acide oléanolique comme des composés majoritaires (86). Ces deux composés sont décrits dans la littérature comme des inhibiteurs de NF-κB (335,336). Ainsi, cette différence d'activité pourrait être expliquée par des proportions plus faibles en amentoflavone et en acide oléanolique dans notre extrait.

Enfin, l'absence de propriétés anticancéreuses et cicatrisantes mesurées pourrait être due à la faible présence de calophyllolide dans l'extrait de feuille par rapport à l'extrait d'amande de *C. inophyllum*.

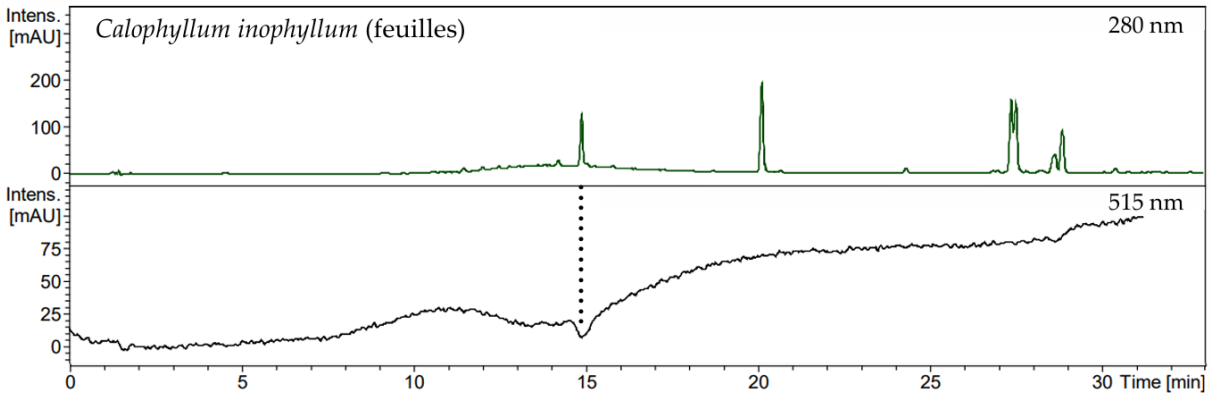


Figure 95 : Chromatogrammes de l'analyse couplant l'HPLC au DPPH de l'extrait brut de feuilles de *C. inophyllum*

Le profil de l'extrait brut a été enregistré à 280 nm et l'activité du composé correspondant, représenté par un pic négatif, a été enregistré à 515 nm : quercétine-*O*-glucoside

4.6. *C. longa*

Les études menées sur les rhizomes de *C. longa*, mettant en évidence un large éventail d'activités, notamment anti-inflammatoires, antioxydantes et anticancéreuses principalement attribuées à la présence de curcumine (101,102). De nombreuses études ont montré les mécanismes anticancéreux à multiples facettes de la curcumine sur des lignées cellulaires de mélanomes, notamment sa capacité à inhiber la croissance cellulaire en arrêtant le cycle cellulaire en phase S et G2/M (103). La curcumine possède également des propriétés anti-inflammatoires. Elle inhibe la voie de signalisation NF-κB dans les macrophages, diminuant ainsi l'expression de cytokines pro-inflammatoires (IL-1β, IL-18) (337). Elle possède également la capacité d'inhiber la 5-LOX avec une CI_{50} à 24 µM (338). Dans cette étude, l'extrait de *C. longa* a montré des propriétés antioxydantes et antiradicalaires. L'analyse HPLC couplée au test DPPH a permis d'identifier la forme énol de la déméthoxycurcumine et la forme énol de la curcumine comme étant responsables de l'activité (**Figure 96**). En effet, ces deux composés sont listés comme ingrédients cosmétiques antioxydants.

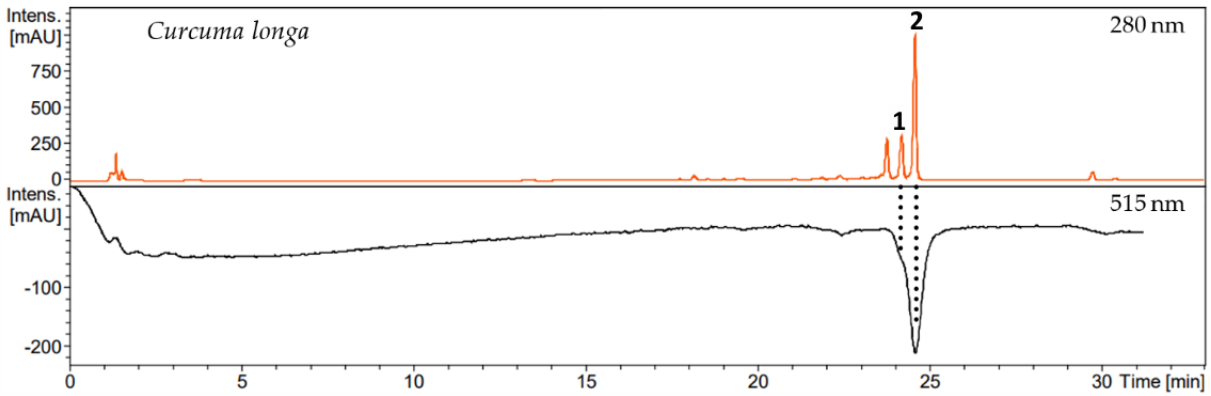


Figure 96 : Chromatogrammes de l'analyse couplant l'HPLC au DPPH de l'extrait brut de *C. longa*. Le profil de l'extrait brut a été enregistré à 280 nm et l'activité antiradicalaire des composés correspondants, représentés par des pics négatifs, a été enregistrée à 515 nm : déméthoxycurcumine (**1**) et curcumine (**2**)

Néanmoins, la curcumine a également été identifiée comme étant un composé PAINS (Pan Assay Interference compoundS). Ces composés sont supposés être responsables de résultats faux positifs, c'est-à-dire qu'ils révèlent une activité dans de nombreux tests d'activités biologiques en interférant avec la lecture de l'essai plutôt que par des interactions spécifiques avec la cible. La curcumine présente toutes les caractéristiques et comportements connus des PAINS tels que la liaison covalente de protéines, la chélation des métaux, la réactivité oxydoréductrice, l'agrégation, la déstabilisation de membranes et l'interférence de la fluorescence. De plus, elle présente de faibles performances en tant que piste médicamenteuse lors d'essais cliniques (114).

4.7. Conclusion partielle

L'extrait de *F. prolixa* s'est démarqué par son importante activité antioxydante et anti-radicalaire qui a également été démontrée *in cellulo*. Ses propriétés ont été attribuées, grâce à l'analyse HPLC-DPPH, à la présence de composés phénoliques : l'acide chlorogénique, la procyanidine B2, l'épicatéchine, l'acide 5-*O*-caféoylshikimique et des procyanidines de type C.

Pour l'extrait de *C. subcordata*, l'activité antiradicalaire a été attribuée, grâce à l'analyse HPLC-DPPH, à la présence de composés phénoliques, tels que l'acide rosmarinique. Cet extrait ayant révélé des propriétés cicatrisantes et anti-inflammatoires, celles-ci ont également été évaluées sur les fractions de CPC. L'étude de la composition chimique de ces fractions selon la procédure CaraMel et via la construction de réseaux moléculaires a permis d'identifier et d'annoter des composés pouvant être responsables de l'activité. Ainsi, les propriétés cicatrisantes pourraient être attribuées au danshensu, identifié en RMN dans la fraction 15 la plus active. La cartographie de l'activité biologique suggère une activité anti-inflammatoire due à plusieurs composés, tels que le loliolide, l'acide rosmarinique et ses dérivés (l'acide rosmarinique méthyl ester et l'acide salvianolique C).

L'extrait de *G. taitensis* indique une activité antiradicalaire due à la présence de l'acide 3,5-di-*O*-caféoyl-4-*O*-(3-hydroxy-3-méthyl)glutaroylquinique selon l'analyse HPLC-DPPH. L'extrait brut a montré des propriétés cicatrisantes et anti-inflammatoires, c'est pourquoi ces propriétés ont à nouveau été évaluées sur les fractions de CPC. L'étude de la composition chimique de ces fractions selon la procédure CaraMel a permis d'identifier des composés majoritaires pouvant être responsables de l'activité. Ainsi, les propriétés cicatrisantes pourraient être attribuées au gardénoside et au niacinamide tandis que l'activité anti-inflammatoire semblerait due à l'undecane.

L'extrait d'amandes de *C. inophyllum* a révélé une activité antiproliférative ciblant les cellules de mélanomes cutanées. L'extrait a également montré des propriétés cicatrisantes en accélérant la migration et de la prolifération des fibroblastes ainsi que des propriétés anti-inflammatoires en inhibant la 5-LOX. L'ensemble de ses propriétés pourrait être attribué au calophyllolide selon les tests d'activités réalisés sur ce composé et d'après les données de la littérature. L'étude de l'extrait de feuilles de *C. inophyllum* a principalement indiqué des propriétés antioxydante et antiradicalaire attribuées à la présence de quercétine-*O*-glucoside d'après l'analyse HPLC-DPPH. Son activité anti-inflammatoire pourrait être due à l'acide shikimique, qui est majoritaire dans l'extrait brut. L'absence de propriétés anticancéreuses et cicatrisantes mesurées pourrait être due à la faible présence de calophyllolide dans l'extrait de feuille par rapport à l'extrait d'amande de *C. inophyllum*.

Cette étude menée sur l'extrait de C*. longa* a révélé sa cytotoxicité sur les kératinocytes et les fibroblastes. L'extrait a également montré des propriétés anti-prolifératives, antioxydantes, antiradicalaires et anti-inflammatoires à des concentrations non-cytotoxiques. L'ensemble de ses propriétés ont été attribuées à la curcumine d'après l'analyse HPLC-DPPH et les données

de la littérature. Néanmoins, la curcumine est considérée comme étant des PAINS, donc susceptible de rendre des résultats faussement positifs.

5. Conclusion

Cette troisième partie a détaillé les procédés d'extraction et de simplification des extraits qui ont permis l'obtention des échantillons étudiés avec de bons rendements. L'étude de la composition des extraits bruts a par la suite montré que la méthode d'éco-extraction employée a permis d'extraire de manière exhaustive des composés sur une large de polarité. L'étude des activités biologiques met en avant l'extrait de *F. prolixa* pour ses propriétés antioxydantes et antiradicalaires, l'extrait d'amandes de *C. inophyllum* pour ses propriétés anti-mélanocytes et les extraits de *G. taitensis* et de *C. subcordata* pour leurs propriétés anti-inflammatoire et cicatrisante. L'étude de l'activité biologique et de la composition chimique de ses extraits a donc été approfondie par rapport à l'extrait de feuilles de *C. inophyllum* et l'extrait de *C. longa*. L'étude des fractions de CPC en utilisant la construction de réseaux moléculaires et la procédure CaraMel s'est révélée efficace pour l'annotation et l'identification de composés connues. Cette dernière méthode a également permis l'identification de deux composés naturels nouvellement décrits. Grâce à ces analyses réalisées, il a été possible de caractériser de manière approfondie la composition chimique des extraits de *F. prolixa* et de *C. subcordata*, qui n'avaient pas été décrites auparavant dans la littérature. En ce qui concerne l'extrait de *G. taitensis*, la plupart des composés ont été décrits pour la première fois, car les études antérieures ne portaient que sur les composés volatils. Néanmoins, au regard des informations disponibles sur les bases de données utilisées, l'annotation de certaines familles de composés, telle que les flavonoïdes, est plus évidente que d'autres. Aussi, certains clusters, peut-être porteur d'originalité structurale n'ont pas pu être annotés. Il pourrait donc être intéressant de cibler ses composés lors d'un processus de purification. Pour finir, la composition chimique et l'activité biologique des extraits ont été analysées conjointement, notamment grâce à l'analyse HPLC-DPPH et la cartographie de l'activité biologique sur les réseaux moléculaires. Ainsi, pour chaque extrait, nous avons pu identifier les principaux composés responsables de l'activité antiradicalaire. La cartographie a mis en évidence des clusters d'activité permettant d'émettre des hypothèses sur l'activité des composés annotés. Néanmoins, la purification de ces composés et des tests complémentaires seraient nécessaire pour confirmer leur activité.

Conclusion générale et perspectives

Les travaux de cette thèse avaient pour but d'évaluer les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, cicatrisantes et anti-mélanomes et de caractériser la composition chimique d'extraits de plantes polynésiennes.

Ainsi, cinq plantes ont été sélectionnées selon leurs usages en médecine traditionnelle et en cosmétique, leurs statuts bio-géographique et bio-écologique, ainsi que les données de la littérature : *C. inophyllum*, le *G. taitensis*, le *C. longa*, le *C. subcordata* et le *F. prolixa*.

Les éco-extractions assistées aux ultrasons se sont révélées performantes, permettant d'obtenir des extraits bruts avec de bons rendements tout en offrant un gain de temps et une consommation d'énergie réduite. Avec l'utilisation de solvant vert (éthanol et eau) et de plantes abondantes ou cultivées, ce procédé s'inscrit dans une démarche éco-responsable compatible avec les objectifs de valorisations cosmétiques. Le fractionnement par CPC s'est montré efficace pour simplifier rapidement les extraits, en vue des tests d'activité biologiques et de l'étude de la composition chimique, tout en révélant les avantages d'une chromatographie liquide/liquide. Les tests d'activités biologiques ont permis de vérifier l'innocuité des extraits sur les cellules de la peau et d'évaluer leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, cicatrisantes et anti-mélanomes. L'emploi complémentaire de deux méthodes de déréplication utilisant les analyses LC-MS^2 et RMN a permis une large caractérisation de la composition chimique des extraits végétaux. La procédure CaraMel a permis l'identification structurale de composés étudiés en mélange ainsi que la découverte de composés naturels nouvellement décrits. Ces identifications viennent confirmer les annotations de composés des réseaux moléculaires. Afin de faire le lien entre la composition chimique et l'activité biologique, la méthode d'analyse HPLC-DPPH a permis d'identifier les composés porteurs d'activité anti-radicalaire. Enfin, la cartographie de l'activité biologique sur les réseaux moléculaires a permis de mettre en évidence des composés pouvant être responsables des activités cicatrisantes et anti-inflammatoires.

La présente étude décrit, pour la première fois, les propriétés biologiques et la composition chimique du *F. prolixa*. L'extrait de racines aériennes a révélé une activité antioxydante et antiradicalaire *in vitro* et qui a également été confirmée *in cellulo* sur des kératinocytes. Cette activité a été attribuée, grâce à l'analyse HPLC-DPPH, à la présence de composés phénoliques, tels que l'acide chlorogénique, l'épicatéchine, l'acide 5-*O*-caféoylshikimique et des procyanidines. L'emploi des réseaux moléculaires et de la procédure CaraMel ont ensuite permis d'annoter 160 composés et d'en identifier 14, avec majoritairement des flavonoïdes ainsi que des acides phénoliques, des alcaloïdes et des triterpènes. L'extrait de racines aériennes de *F. prolixa* présente un réel potentiel de valorisation comme agent antioxydant. Néanmoins, au vu des résultats aux autres tests d'activités biologiques, il ne serait pas pertinent de l'inclure dans la composition d'un produit cosmétique ou pharmaceutique cicatrisant ou anti-inflammatoire.

Les extraits de *G. taitensis* et de *C. subcordata* ont montré des propriétés antioxydantes, mais ils se sont particulièrement distingués par leurs propriétés anti-inflammatoires et cicatrisantes. Ces deux extraits ont montré une inhibition de NF-κB et de la 5-LOX ainsi qu'une augmentation de la prolifération des kératinocytes.

Cette étude décrit pour la première fois la composition chimique de *C. subcordata* avec 165 composés annotés en spectrométrie de masse et les 26 composés identifiés en RMN, dont un nouvellement décrit comme composé naturel : le 3-déméthyldéhydrovomifoliol. L'extrait compte principalement des flavonoïdes, des acides phénoliques, des alcaloïdes et des lignanes. L'activité antiradicalaire de cet extrait a été attribuée, grâce à l'analyse HPLC-DPPH, à la présence d'acide rosmarinique. Aussi, l'étude des fractions de CPC a permis d'investiguer des propriétés cicatrisantes et anti-inflammatoires, notamment en cartographiant ses activités sur le réseau moléculaire. La cartographie de l'activité suggère une activité anti-inflammatoire due à plusieurs composés, tels que le loliolide, l'acide rosmarinique et ses dérivés (l'acide rosmarinique méthyl ester et l'acide salvianolique C). Enfin, l'activité cicatrisante pourrait être attribuée au danshensu qui est majoritairement présent dans la fraction active.

Cette étude menée sur le *G. taitensis* a permis de caractériser la composition chimique de l'extrait éthanolique de boutons de fleurs, dont seuls les composés volatils avaient été décrits auparavant dans la littérature. Au total, 177 composés ont été annotés en spectrométrie de masse et 15 composés ont été identifiés. Dans l'extrait étudié, on retrouve principalement des flavonoïdes, des iridioïdes et des saponines, et la majorité des composés sont décrits pour la première fois chez *G. taitensis*. L'analyse HPLC-DPPH réalisée a permis d'attribuer l'activité antioxydante de cet extrait à la présence de l'acide 3,5-di-*O*-caffeoyl-4-*O*-(3-hydroxy-3-méthyl)glutaroylquinique. L'étude des fractions de CPC montre que les propriétés cicatrisantes pourraient être attribuées au gardénoside et au niacinamide tandis que l'activité anti-inflammatoire semblerait due à l'undecane. Au vu de leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et cicatrisantes, les extraits de feuilles de *C. subcordata* et de fleurs de *G. taitensis* présentent un fort potentiel pour le développement de produits cosmétiques ou pharmaceutiques de soins de la peau.

Les extraits de feuilles et d'amande de *C. inophyllum* ont montré des activités biologiques différentes. L'extrait de feuille, contrairement à l'extrait d'amande, présente des propriétés antioxydantes en raison de la proportion plus importante en flavonoïdes, notamment en quercétine 3-*O*-glycoside. En revanche, la proportion et la diversité des pyranocoumarines, néoflavonoïdes et benzopyranes sont plus faibles dans les feuilles par rapport aux amandes. C'est le cas du calophyllolide, plus important dans l'extrait d'amandes de *C. inophyllum*. Ce composé a montré une forte activité anti-prolifération en bloquant le cycle cellulaire de mélanocytes cutanés en phase G1/S et en induisant leur apoptose. La présente étude décrit donc pour la première fois l'activité anti-mélanome de l'extrait d'amande de *C. inophyllum* qui inhibe la prolifération des cellules cancéreuses cutanées. En comparaison, l'activité anti-mélanome de l'extrait de feuilles était moindre. La présence de calophyllolide pourrait également expliquer les propriétés cicatrisantes de l'extrait d'amande de *C. inophyllum*. Cet

extrait favorise la cicatrisation des fibroblastes, contrairement à l'extrait de feuille qui inhibe leur prolifération. Les deux extraits montrent également des propriétés anti-inflammatoires en inhibant la 5-LOX. Cette étude menée sur de *C. inophyllum* a permis de comparer les activités biologiques et la phytochimie des feuilles et de l'amande tout en étayant la composition chimique déjà documentée de cette plante. Pour l'extrait d'amandes, 211 composés ont été annotés en spectrométrie de masse et 16 composés ont été identifiés en RMN, dont un alcaloïde naturel nouvellement décrit pour la première fois : l'acide 6-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylique. Au vu de ses activités anti-prolifératives, anti-inflammatoires et cicatrisantes, l'extrait d'amande de *C. inophyllum* présente un meilleur potentiel de valorisation en produit de soins cutanés cosmétiques ou pharmaceutiques, par rapport à l'extrait de feuilles de *C. inophyllum*.

L'extrait de *C. longa* est le seul qui a révélé une forte cytotoxicité sur les cellules de la peau. L'extrait montre, à des concentrations non cytotoxiques, des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires via l'inhibition de la 5-LOX et de NF-κB. Il montre également une activité anti-proliférative sur les cellules de mélanomes cutanés en bloquant le cycle cellulaire en phase M. L'ensemble de ses activités biologiques peuvent être attribuées à la présence de curcumine dont les propriétés sont largement documentées dans la littérature. Au vu de sa cytotoxicité, l'extrait de rhizomes de *C. longa* présente un plus faible potentiel pour une valorisation cosmétique ou pharmaceutique en comparaison aux autres extraits étudiés.

Cette étude a donc permis de documenter la composition chimique et les activités biologiques sur la peau de plantes polynésiennes qui font partie des plus utilisées en Polynésie française dans la médecine traditionnelle.

Selon les objectifs du projet CAMELIA, cette étude présente de nombreuses perspectives. L'optimisation des conditions d'éco-extraction pourrait permettre d'augmenter les taux de composés actifs dans les extraits. Les éco-extractions pourraient également être réalisées en utilisant l'huile de *C. inophyllum* comme solvant à condition qu'elle permette une bonne extraction des composés actifs et que l'activité des extraits soit maintenue. Cette méthode réduirait le nombre d'étapes de fabrication en supprimant des étapes d'évaporation des solvants et de formulation. La méthode d'extraction assistée aux ultrasons pourrait ensuite être transposée de l'échelle du laboratoire à l'échelle pilote en utilisant l'extracteur à grand volume dont est dotée l'université de la Polynésie française. L'étude transcriptomique pourrait être réalisée sur les fractions de CPC actives des extraits de *C. subcordata* et de *G. taitensis* afin de mieux comprendre les mécanismes de biosynthèse impliqués dans les activités cicatrisantes et anti-inflammatoires observées. Les composés susceptibles d'être responsables de l'activité pourraient être isolés afin de préciser leurs activités. L'étude d'éventuelles synergies d'action de l'extrait de *C. subcordata* ou de l'extrait de *G. taitensis* en mélange avec l'extrait d'amande de *C. inophyllum* pourrait être réalisée. Au vu des propriétés démontrées dans la présente étude, l'association de ses extraits pourrait offrir des effets complémentaires, additionnés, voire synergiques, ce qui présenterait un réel intérêt pour une valorisation pharmaceutique ou cosmétique, pour les soins de la peau.

Références bibliographiques

1. Liou RJ, Earley MJ, Forrester JD. Effect of climate on surgical site infections and anticipated increases in the United States. Sci Rep. 2022;12:19698.
2. Service-Public.pf [En ligne]. Direction de la santé de Polynésie française. Diabète; [cité le 31 janv 2025]. Disponible: https://www.service-public.pf/dsp/diabete/
3. Santé.gouv.fr [En ligne]. Ministère du travail, de la santé, des solidarités et des familles. Diabète; 2024 [cité le 31 janv 2025]. Disponible: https://sante.gouv.fr/soins-et-maladies/maladies/article/diabete
4. Deng L, Du C, Song P, Chen T, Rui S, Armstrong DG, et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Wound Healing. Oxid Med Cell Longev. 2021;2021:8852759.
5. Gushiken LFS, Beserra FP, Bastos JK, Jackson CJ, Pellizzon CH. Cutaneous Wound Healing: An Update from Physiopathology to Current Therapies. Life. 2021;11(7):665.
6. Karin M. Nuclear factor-κB in cancer development and progression. Nature. 2006;441(7092):431-6.
7. Pfeifer GP, Besaratinia A. UV wavelength-dependent DNA damage and human non-melanoma and melanoma skin cancer. Photochem Photobiol Sci. 2012;11(1):90-7.
8. Baek J, Lee MG. Oxidative stress and antioxidant strategies in dermatology. Redox Rep. 2016;21(4):164-9.
9. Pétard P. Plantes utiles de Polynésie : Raau Tahiti. Edition Haere po no Tahiti; 1986. 354 p.
10. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. J Nat Prod. 2020;83(3):770-803.
11. Caesar LK, Cech NB. Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1 + 1 does not equal 2. Nat Prod Rep. 2019;36(6):869-88.
12. Zhou X, Seto SW, Chang D, Kiat H, Razmovski-Naumovski V, Chan K, et al. Synergistic Effects of Chinese Herbal Medicine: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research. Frontiers in Pharmacology. 2016;7:201.
13. Bessaguet F, Seuve É, Desmoulière A. La peau. Actualités Pharmaceutiques. 2022;61(615):57-61.
14. Institut national du cancer. Les traitements du mélanome de la peau [En ligne]. 2016 p. 114. (Guides patients Cancer info). Disponible: https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Melanome-de-la-peau/La-peau
15. Robert L, Labat-Robert J, Robert AM. Physiology of skin aging. Pathologie Biologie. 2009;57(4):336-41.
16. Quan T, Fisher GJ. Role of Age-Associated Alterations of the Dermal Extracellular Matrix Microenvironment in Human Skin Aging: A Mini-Review. Gerontology. 2015;61(5):427-34.
17. Collège des enseignants en dermatologie de France. Dermatologie. 8e éd. [En ligne]. Elsevier Masson; 2022 [cité le 30 janv 2025]. Disponible: https://www-elsevierelibrary-fr.docelec.univ-lyon1.fr/pdfreader/dermatologie15188903
18. L'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps). Evaluation des risques liés à la dépigmentation volontaire. 2011 p. 18.
19. Tsague MLN. Dépigmentation volontaire de la peau au Cameroun, et narcissisme pathologique [Thèse de doctorat]. Amiens, France : Université de Picardie Jules Verne; 2021.
20. Baudin B. Stress oxydant et protections antioxydantes. Revue Francophone des Laboratoires. 2020;(522):22-30.
21. Sauer H, Wartenberg M, Hescheler J. Reactive Oxygen Species as Intracellular Messengers During Cell Growth and Differentiation. Cellular Physiology and Biochemistry. 2001;11(4):173-86.

22. Schreck R, Albermann K, Baeuerle PA. Nuclear factor kappa B: an oxidative stress-responsive transcription factor of eukaryotic cells (a review). Free Radic Res Commun. 1992;17(4):221-37.
23. Addor FAS. Antioxidants in dermatology. An Bras Dermatol. 2017;92(3):356-62.
24. Ma Q. Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2013;53:401-26.
25. de Lima Cherubim DJ, Buzanello Martins CV, Oliveira Fariña L, da Silva de Lucca RA. Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. Journal of Cosmetic Dermatology. 2020;19(1):33-7.
26. Noack M, Kolopp-Sarda MN. Cytokines et inflammation : physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. Revue Francophone des Laboratoires. 2018;(499):28-37.
27. Nathan C. Points of control in inflammation. Nature. 2002;420(6917):846-52.
28. Dardenne C. Mécanismes de dérégulation de la polarisation des macrophages et de la résolution de l'inflammation au cours de la cicatrisation de plaies cutanées chez des souris diabétiques de type 2: restauration par application topique d'aspirine [Thèse de doctorat]. Toulouse, France : Université Toulouse III Paul Sabatier; 2015.
29. Jampilek J, Dolezal M, Opletalova V, Hartl J. 5-Lipoxygenase, Leukotrienes Biosynthesis and Potential Antileukotrienic Agents. Current Medicinal Chemistry. 2006;13(2):117-29.
30. Steele VE, Holmes CA, Hawk ET, Kopelovich L, Lubet RA, Crowell JA, et al. Lipoxygenase Inhibitors as Potential Cancer Chemopreventives. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 1999;8(5):467-83.
31. Wullaert A, Bonnet MC, Pasparakis M. NF-κB in the regulation of epithelial homeostasis and inflammation. Cell Res. 2011;21(1):146-58.
32. Bell S, Degitz K, Quirling M, Jilg N, Page S, Brand K. Involvement of NF-kB signalling in skin physiology and disease. Cellular Signalling. 2002;15:1-7.
33. Schneider I, Bucar F. Lipoxygenase inhibitors from natural plant sources. Part 1: Medicinal plants with inhibitory activity on arachidonate 5-lipoxygenase and 5-lipoxygenase/cyclooxygenase. Phytotherapy Research. 2005;19(2):81-102.
34. Hu C, Ma S. Recent development of lipoxygenase inhibitors as anti-inflammatory agents. Medchemcomm. 2017;9(2):212-25.
35. Grant GE, Rokach J, Powell WS. 5-Oxo-ETE and the OXE receptor. Prostaglandins & Other Lipid Mediators. 2009;89(3):98-104.
36. Courtois G, Israël A. Pathologies humaines associées à des dysfonctionnements de la voie de signalisation NF-κB. J Soc Biol. EDP Sciences; 2004;198(2):93-6.
37. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF-κB signaling in inflammation. Sig Transduct Target Ther. 2017;2(1):1-9.
38. Institut national du cancer. Panorama des cancers en France. 2023 p. 39.
39. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2024;1-35.
40. Institut du cancer de Polynésie française. Incidence des cancers en Polynésie française. 2024 p. 110.
41. Institut national du cancer. Rapport au président de la République sur la lutte contre les cancers en Polynésie française et son accompagnement opérationnel. 2021 p. 51.
42. Bureau d'étude et d'évaluation des programmes de santé. Cancers en Polynésie française, statistiques du Registre des cancers. Direction de la santé de la Polynésie française; 2016 p. 57.
43. Édition professionnelle du Manuel MSD [En ligne]. Nambudiri VE. Mélanome - Troubles dermatologiques; 2023 [cité le 3 mai 2024]. Disponible:

https://www.msdmanuals.com/fr/professional/troubles-dermatologiques/cancers-cutanés/mélanome
44. Zeng L, Gowda BHJ, Ahmed MG, Abourehab M, Chen ZS, Zhang C, et al. Advancements in nanoparticle-based treatment approaches for skin cancer therapy. Molecular Cancer. 2023;22(10):1-50.
45. SantéPubliqueFrance.fr [En ligne]. Institut national du cancer. Risques solaires : mieux comprendre pour mieux se protéger; 2017 [cité le 21 janv 2025]. Disponible: https://www.santepubliquefrance.fr/presse/2017/risques-solaires-mieux-comprendre-pour-mieux-se-proteger
46. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, et al. Final Version of the American Joint Committee on Cancer Staging System for Cutaneous Melanoma. JCO. 2001;19(16):3635-48.
47. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. Nature. 2008;453(7193):314-21.
48. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management. Clin Microbiol Rev. 2001;14(2):244-69.
49. Laverdet B, Girard D, Desmoulière A. Physiologie de la peau, réparation cutanée et réaction stromale. Actualités Pharmaceutiques. 2018;57(581):20-3.
50. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic Autonomic Neuropathy. Diabetes Care. 2003;26(5):1553-79.
51. Météo-France, Laurent V, Maamaatuaiahutapu K. Atlas climatologique de la Polynésie française. 2019e éd. Vol. 1. Papeete : Météo-France. DIRPF (Direction interrégionale de Polynésie française); 2019. 232 p.
52. Florence J. Flore de la Polynésie française. IRD Orstom Editions. 1997. 393 p. (Faune et Flore Tropicales; vol. 1).
53. Butaud JF. Guide floristique des jardins du Musée - Te Ohi o te Fenua. Tahiti, Polynésie française : Musée de Tahiti et des Îles - Te Fare Manaha; 2016.
54. Guézennec J, Moretti C, Simon JC, Hazebroucq ML, Institut de recherche pour le développement (France), rédacteurs. Substances naturelles en Polynésie française: stratégies de valorisation. Version bilingue. Paris : IRD Editions, Institut de recherche pour le développement; 2006. 301 p. (Collection Expertise collégiale).
55. Panoff M. Recettes de la Pharmacopée tahitienne traditionnelle. jatba. 1966;13(12):619-40.
56. Butaud JF, Girardi C, Ollier C, Ingert N, Raharivelomanana P, Weniger B, et al. Usages actuels des plantes médicinales aux îles Marquises. Bulletin de la Societe des Etudes Oceaniennes. 2014;Les vertus des plantes(332).
57. Oliver DL. Rank and Status in Polynesia and Melanesia: Essays in honor of professor Douglas Oliver [En ligne]. Société des Océanistes; 1978 [cité le 27 avr 2023]. Disponible: http://books.openedition.org/sdo/938
58. Hittinger M, Butaud JF, Chassagne F. Revue des plantes et autres substances naturelles de la pharmacopée traditionnelle en Polynésie française. Ethnopharmacologia [En ligne]. 2025 [cité le 21 août 2025];(71-72). Disponible: https://dataverse.ird.fr/citation?persistentId=doi:10.23708/0KZZJA
59. Costa B, Labrosse P, Meyer JY, Raharivelomanana P. Actes du Colloque CIPAM & Cos 10, 19-23 novembre 2018 - Tahiti, Polynésie française.
60. Cox PA. Polynesian Herbal Medicine. Dans: Islands, Plants, and Polynesians: An Introduction to Polynesian Ethnobotany . Paul Alan Cox and SandraAnne Banack1991. Portland, Oregon; 1991. p. 240.

61. Grépin F, Grépin M, biologique FD des centres d'expérimentations nucléaires S mixte de controle, Toofa L, Teai T. La médecine tahitienne traditionnelle: Raau tahiti [En ligne]. Les éditions du Pacifique; 1984. Disponible: https://books.google.fr/books?id=gZWDGAAACAAJ
62. Chassagne F, Butaud JF, Ho R, Conte E, Hnawia É, Raharivelomanana P. Traditional medical practices for children in five islands from the Society archipelago (French Polynesia). J Ethnobiol Ethnomed. 2023;19(44):1-56.
63. Girardi C, Butaud JF, Ollier C, Ingert N, Weniger B, Raharivelomanana P, et al. Herbal medicine in the Marquesas Islands. Journal of Ethnopharmacology. 2015;161:200-13.
64. Quenon C. Enquête ethnopharmacologique et étude phytochimique de plantes utilisées en médecine traditionnelle polynésienne [Thèse de doctorat]. Lille, France : Université de Lille; 2020.
65. Radio1.pf [En ligne]. Collet F. Décès d'un bébé soigné par la médecine traditionnelle : prison avec sursis ou relaxe pour les prévenus - Radio1 Tahiti; [cité le 3 juin 2024]. Disponible: https://www.radio1.pf/deces-dun-bebe-soigne-par-la-medecine-traditionnelle-prison-avec-sursis-ou-relaxe-pour-les-prevenus/
66. Who.int [En ligne]. Organisation Mondiale de la Santé. Médecine traditionnelle; [cité le 3 juin 2024]. Disponible: https://www.who.int/fr/news-room/questions-and-answers/item/traditional-medicine
67. Journal officiel de l'Union européenne [En ligne]. Règlement (CE) N° 1223/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques; 2009 [cité le 28 août 2024]. Disponible: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/HTML/?uri=CELEX%3A32009R1223
68. Ansel JL. Le concept de cosmétopée à travers les usages traditionnels et les propriétés phytochimiques des ligneux de la Polynésie française [Thèse de doctorat]. Tahiti, Polynésie française, France : Université de la Polynésie française; 2016.
69. Jost X, Ansel JL, Lecellier G, Raharivelomanana P, Butaud JF. Ethnobotanical survey of cosmetic plants used in Marquesas Islands (French Polynesia). J Ethnobiology Ethnomedicine. 2016;12(1):55.
70. Friday JB, Okano D. *Calophyllum inophyllum* (Kamani). Hōlualoa, Hawai'i : Permanent Agriculture Resources; 2006 p. 17. (Species Profiles for Pacific Island Agroforestry.).
71. Larrue S. Du sens de l'arbre dans le paysage en Polynésie française. Géographie et cultures. 2007;(62):113-30.
72. Pétard P. Raau Tahiti, Plantes médicinales polynésiennes et remèdes tahitiens. Technical Document. 1972. (South Pacific Commission; vol. 167).
73. Maclet JN, Barrau J. Catalogue des plantes utiles aujourd'hui présentes en Polynésie française (suite et fin). jatba. 1959;6(4):161-84.
74. Dweck AC, Meadows T. Tamanu (*Calophyllum inophyllum*) – the African, Asian, Polynesian and Pacific Panacea. Intern J of Cosmetic Sci. 2002;24(6):341-8.
75. World Health Organization. Medicinal plants in the South Pacific: information on 102 commonly used medicinal plants in the South Pacific. Manila : World Health Organization, Regional Office for the Western Pacific; 1998. 254 p.
76. World Health Organization. Medicinal plants in Papua New Guinea: information on 126 commonly used medicinal plants in Papua New Guinea. Manila, Philippines : World Health Organization, Western Pacific Region; 2009. 313 p.
77. Swamy MK, Kumar P, Ahamad T, Mishra DP, Khan MF. Plant Neoflavonoids: Chemical Structures and Biological Functions. Dans: Plant-derived Bioactives [En ligne]. Singapore : Springer Singapore; 2020 [cité le 25 avr 2024]. p. 35-57. Disponible: http://link.springer.com/10.1007/978-981-15-2361-8_3

78. Hughes K, Ho R, Greff S, Herbette G, Filaire E, Ranouille E, et al. Feature-Based Molecular Networks Identification of Bioactive Metabolites from Three Plants of the Polynesian Cosmetopoeia Targeting the Dermal Papilla Cells of the Hair Cycle. Molecules. 2022;27(1):105.
79. Oo W. Pharmacological Properties of *Calophyllum inophyllum* – Updated Review. Journal of Photochemistry and Photobiology C Photochemistry Reviews. 2018;2:28-32.
80. Shanmugapriya, Chen Y, Kanwar JR, Sasidharan S. Anticancer Activity and Molecular Mechanism of Polyphenol Rich *Calophyllum inophyllum* Fruit Extract in MCF-7 Breast Cancer Cells. Nutrition and Cancer. 2017;69(8):1308-24.
81. Ruangsuriya J, Sichaem J, Tantraworasin A, Saeteng S, Wongmaneerung P, Inta A, et al. Phytochemical Profiles and Anticancer Effects of *Calophyllum inophyllum* L. Extract Relating to Reactive Oxygen Species Modulation on Patient-Derived Cells from Breast and Lung Cancers. Scientifica. 2023;2023:1-16.
82. Pocidalo J, Chaslot M. Action de l'huile de *Calophyllum* sur les brûlures expérimentales. C R Seances Soc Biol Fil. 1955;149(3-4):357-9.
83. Léguillier T, Lecsö-Bornet M, Lémus C, Rousseau-Ralliard D, Lebouvier N, Hnawia E, et al. The Wound Healing and Antibacterial Activity of Five Ethnomedical *Calophyllum inophyllum* Oils: An Alternative Therapeutic Strategy to Treat Infected Wounds. PLoS ONE. Public Library of Science; 2015;10(9):e0138602.
84. Ansel JL, Lupo E, Mijouin L, Guillot S, Butaud JF, Ho R, et al. Biological Activity of Polynesian *Calophyllum inophyllum* Oil Extract on Human Skin Cells. Planta Med. 2016;82(11/12):961-6.
85. Hughes K, Ho R, Butaud JF, Filaire E, Ranouille E, Berthon JY, et al. A selection of eleven plants used as traditional Polynesian cosmetics and their development potential as anti-aging ingredients, hair growth promoters and whitening products. Journal of Ethnopharmacology. 2019;245:112159.
86. Tsai SC, Liang YH, Chiang JH, Liu FC, Lin WH, Chang SJ, et al. Anti-inflammatory effects of *Calophyllum inophyllum* L. in RAW264.7 cells. Oncology Reports. 2012;28(3):1096-102.
87. Perumal SS, Ekambaram SP, Dhanam T. *In vivo* antiarthritic activity of the ethanol extracts of stem bark and seeds of *Calophyllum inophyllum* in Freund's complete adjuvant induced arthritis. Pharmaceutical Biology. 2017;55(1):1330-6.
88. Perchet M, Butaud JF. Le tiare tahiti – *Gardenia taitensis* – reflet d'une partie de l'identité culturelle polynésienne. Dans: Actes du Colloque CIPAM & Cos 10. 2023. p. 104-11.
89. Claude-Lafontaine A, Raharivelomanana P, Bianchini JP. Volatile Constituents of the Flower Concrete of *Gardenia taitensis* DC. J Essent Oil Res. 1992;4:335-43.
90. Orliac C. Le Dieu Rao de Mangareva et le *Curcuma longa*. jso. 2002;(114-115):201-7.
91. Singh YN. Traditional medicine in Fiji: Some herbal folk cures used by Fiji Indians. Journal of Ethnopharmacology. 1986;15(1):57-88.
92. Saising J, Maneenoon K, Sakulkeo O, Limsuwan S, Götz F, Voravuthikunchai SP. Ethnomedicinal Plants in Herbal Remedies Used for Treatment of Skin Diseases by Traditional Healers in Songkhla Province, Thailand. Plants. 2022;11(7):880.
93. Ahmad M, Zafar M, Shahzadi N, Yaseen G, Murphey TM, Sultana S. Ethnobotanical importance of medicinal plants traded in Herbal markets of Rawalpindi- Pakistan. Journal of Herbal Medicine. 2018;11:78-89.
94. Wangchuk P, Pyne SG, Keller PA. Ethnobotanical authentication and identification of Khrog-sman (Lower Elevation Medicinal Plants) of Bhutan. Journal of Ethnopharmacology. 2011;134(3):813-23.
95. Singh AG, Kumar A, Tewari DD. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Terai forest of western Nepal. J Ethnobiology Ethnomedicine. 2012;8(1):19.
96. Abe R, Ohtani K. An ethnobotanical study of medicinal plants and traditional therapies on Batan Island, the Philippines. Journal of Ethnopharmacology. 2013;145(2):554-65.

97. Odonne G, Valadeau C, Alban-Castillo J, Stien D, Sauvain M, Bourdy G. Medical ethnobotany of the Chayahuita of the Paranapura basin (Peruvian Amazon). Journal of Ethnopharmacology. 2013;146(1):127-53.
98. Bussmann RW, Paniagua Zambrana NY, Romero C, Hart RE. Astonishing diversity—the medicinal plant markets of Bogotá, Colombia. J Ethnobiology Ethnomedicine. 2018;14(1):43.
99. Jia S, Du Z, Song C, Jin S, Zhang Y, Feng Y, et al. Identification and characterization of curcuminoids in turmeric using ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time of flight tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 2017;1521:110-22.
100. Ali ZC. Études chimiques et biologiques d'*Aframomum sceptrum* (Zingiberaceae) et de la curcumine [Thèse de doctorat]. Paris, France : Université Paris-Sud; 2013.
101. Mo Z, Yuan J, Guan X, Peng J. Advancements in Dermatological Applications of Curcumin: Clinical Efficacy and Mechanistic Insights in the Management of Skin Disorders. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2024;17:1083-92.
102. Kasprzak-Drozd K, Niziński P, Hawrył A, Gancarz M, Hawrył D, Oliwa W, et al. Potential of Curcumin in the Management of Skin Diseases. IJMS. 2024;25(7):3617.
103. Abusnina A, Keravis T, Yougbaré I, Bronner C, Lugnier C. Anti-proliferative effect of curcumin on melanoma cells is mediated by PDE1A inhibition that regulates the epigenetic integrator UHRF1. Molecular Nutrition & Food Research. 2011;55(11):1677-89.
104. Odot J, Albert P, Carlier A, Tarpin M, Devy J, Madoulet C. *In vitro* and *in vivo* anti-tumoral effect of curcumin against melanoma cells. International Journal of Cancer. 2004;111(3):381-7.
105. Siwak DR, Shishodia S, Aggarwal BB, Kurzrock R. Curcumin-induced antiproliferative and proapoptotic effects in melanoma cells are associated with suppression of IκB kinase and nuclear factor κB activity and are independent of the B-Raf/mitogen-activated/extracellular signal-regulated protein kinase pathway and the Akt pathway. Cancer. 2005;104(4):879-90.
106. Marin YE, Wall BA, Wang S, Namkoong J, Martino JJ, Suh J, et al. Curcumin downregulates the constitutive activity of NF-kB and induces apoptosis in novel mouse melanoma cells. Melanoma Research. 2007;17:274-83.
107. Lu C, Song E, Hu DN, Chen M, Xue C, Rosen R, et al. Curcumin Induces Cell Death in Human Uveal Melanoma Cells through Mitochondrial Pathway. Current Eye Research. 2010;35(4):352-60.
108. Manica D, Silva GB da, Silva AP da, Marafon F, Maciel SFV de O, Bagatini MD, et al. Curcumin promotes apoptosis of human melanoma cells by caspase 3. Cell Biochemistry and Function. 2023;41(8):1295-304.
109. Bush JA, Cheung KJJ, Li G. Curcumin Induces Apoptosis in Human Melanoma Cells through a Fas Receptor/Caspase-8 Pathway Independent of p53. Experimental Cell Research. 2001;271(2):305-14.
110. Szlasa W, Supplitt S, Drąg-Zalesińska M, Przystupski D, Kotowski K, Szewczyk A, et al. Effects of curcumin based PDT on the viability and the organization of actin in melanotic (A375) and amelanotic melanoma (C32) – *in vitro* studies. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2020;132:110883.
111. Kant V, Gopal A, Pathak NN, Kumar P, Tandan SK, Kumar D. Antioxidant and anti-inflammatory potential of curcumin accelerated the cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. International Immunopharmacology. 2014;20(2):322-30.
112. Yen Y, Pu C, Liu C, Chen Y, Chen Y, Liang C, et al. Curcumin accelerates cutaneous wound healing via multiple biological actions: The involvement of TNF-α, MMP-9, α-SMA, and collagen. International Wound Journal. 2018;15(4):605-17.

113. Chen K, Pan H, Ji D, Li Y, Duan H, Pan W. Curcumin-loaded sandwich-like nanofibrous membrane prepared by electrospinning technology as wound dressing for accelerate wound healing. Materials Science and Engineering C. 2021;127:112245.
114. Nelson KM, Dahlin JL, Bisson J, Graham J, Pauli GF, Walters MA. The Essential Medicinal Chemistry of Curcumin. J Med Chem. 2017;60(5):1620-37.
115. Larrue S, Meyer JY. Distribution of Native Banyan fig-trees on Archaeological Remains in the island of Tahiti (Pacific Ocean) : "Novel Habitat" or Past Human Cultivation ? Dans: Biodiversity and Societies in the Pacific Islands. Presses universitaires de Provence (PUP) / Australian National University (ANUe); 2013. p. 183-96.
116. Ramasamy A, Anandakumar K, Kathiresan K. *In vitro* antioxidant potential and acetylcholinesterase inhibitory effect of *Ficus benghalensis* aerial root extract. African Health Sciences. 2022;22(4):291-9.
117. Etratkhah Z, Esmaeil S, Ebrahimi S, Dehaghi NK, Seifalizadeh Y. Antioxidant activity and phytochemical screening of *Ficus benghalensis* aerial roots fractions. Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences. 2019;8(1):24-7.
118. Chiang YM, Chang JY, Kuo CC, Chang CY, Kuo YH. Cytotoxic triterpenes from the aerial roots of *Ficus microcarpa*. Phytochemistry. 2005;66(4):495-501.
119. Lansky EP, Paavilainen HM, Pawlus AD, Newman RA. *Ficus* spp. (fig): Ethnobotany and potential as anticancer and anti-inflammatory agents. Journal of Ethnopharmacology. 2008;119(2):195-213.
120. Friday JB, Okano D. *Cordia subcordata* (kou). Hōlualoa, Hawai'i : Permanent Agriculture Resources; 2006 p. 15. (Species Profiles for Pacific Island Agroforestry.).
121. Moretti C, Butaud JF, Girardi C, Ollier C, Ingert N, Raharivelomanana P, et al. Médecine et pharmacopée végétale traditionnelles aux Iles Marquises (Polynésie française). Ethnopharmacologia. 2015;(53):7-27.
122. Gandhimathi R, Saravana Kumar A. Evaluation of Antioxidant Activity of *Cordia Subcordata* Lam. Against Carbon Tetrachloride (CCl4) Induced Erythrocyte Damage In Rats. Pharmacologyonline. 2009;720-7.
123. Kumar AS, Gandhimathi R, Kumar KKS, Kumar KP. Hepatoprotective potential of *Cordia subcordata* Lam. against carbon tetra chloride (CCl4)-induced hepatotoxicity in Wistar albino rats. 2009;1.
124. Hartmann T. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. Phytochemistry. 2007;68(22):2831-46.
125. Firn RD, Jones CG. A Darwinian view of metabolism: molecular properties determine fitness. Journal of Experimental Botany. 2009;60(3):719-26.
126. Frédérich M, Pirotte B, Fillet M, de Tullio P. Metabolomics as a Challenging Approach for Medicinal Chemistry and Personalized Medicine. J Med Chem. 2016;59(19):8649-66.
127. Wolfender JL, Nuzillard JM, van der Hooft JJJ, Renault JH, Bertrand S. Accelerating Metabolite Identification in Natural Product Research: Toward an Ideal Combination of Liquid Chromatography–High-Resolution Tandem Mass Spectrometry and NMR Profiling, *in Silico* Databases, and Chemometrics. Anal Chem. 2019;91(1):704-42.
128. OMS. Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales [En ligne]. Geneva; 2003. Disponible: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/42869/9242546275-fre.pdf
129. Chemat F, Fabiano-Tixier AS, Abert-Vian M. Les six principes de l'éco-extraction du végétal. Opérations unitaires Génie de la réaction chimique [En ligne]. 2018 [cité le 13 janv 2025]; Disponible: https://www.techniques-ingenieur.fr/doi/10.51257/a/v1/j4922
130. Chemat F, Vian MA, Cravotto G. Green extraction of natural products: concept and principles. Int J Mol Sci. 2012;13(7):8615-27.

131. Jacotet-Navarro M, Rombaut N, Fabiano-Tixier AS, Danguien M, Bily A, Chemat F. Ultrasound versus microwave as green processes for extraction of rosmarinic, carnosic and ursolic acids from rosemary. Ultrasonics Sonochemistry. 2015;27:102-9.
132. Chemat F, Rombaut N, Sicaire AG, Meullemiestre A, Fabiano-Tixier AS, Abert-Vian M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. Ultrasonics Sonochemistry. 2017;34:540-60.
133. Bourderioux A, Bourjot M, Lordel-Madeleine S, Valois L. Mémo visuel de chimie analytique. Dunod. 2020. 240 p. (Tout en fiches).
134. Marchal L, Renault JH, Chollet S. Chromatographie de partage centrifuge - Mise en œuvre, modélisation et changement d'échelle. Opérations unitaires Génie de la réaction chimique [En ligne]. 2017 [cité le 2 déc 2024]; Disponible: https://www.techniques-ingenieur.fr/doi/10.51257/a/v1/j2787
135. Faure K. Chromatographie de partage centrifuge - Principes et applications. Techniques d'analyse [En ligne]. 2016 [cité le 2 déc 2024]; Disponible: https://www.techniques-ingenieur.fr/doi/10.51257/a/v1/p1496
136. Camacho-Frias E, Foucault A. Les systemes de solvants en chromatographie de partage centrifuge. Analusis. 1996;5(24):159-67.
137. Damiani T, Heuckeroth S, Smirnov A, Mokshyna O, Brungs C, Korf A, et al. Reproducible mass spectrometry data processing and compound annotation in MZmine 3. Chemrxiv; 2024.
138. Letertre MPM, Dervilly G, Giraudeau P. Combined Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Mass Spectrometry Approaches for Metabolomics. Anal Chem. 2021;93(1):500-18.
139. MassBank.eu [En ligne]. Curcumin Mass Spectrum; 2009 [cité le 2 févr 2025]. Disponible: https://massbank.eu/MassBank/RecordDisplay?id=MSBNK-Fiocruz-FIO00944&dsn=Fiocruz
140. Schymanski EL, Jeon J, Gulde R, Fenner K, Ruff M, Singer HP, et al. Identifying Small Molecules via High Resolution Mass Spectrometry: Communicating Confidence. Environ Sci Technol. American Chemical Society; 2014;48(4):2097-8.
141. Wang L, Liu S, Xing J, Liu Z, Song F. Characterization of interaction property of multi-components in *Gardenia jasminoides* with aldose reductase by microdialysis combined with liquid chromatography coupled to mass spectrometry: Characterization of interaction property of multi-components in *Gardenia jasminoides*. Rapid Commun Mass Spectrom. 2016;30(Suppl.1):87-94.
142. Olivon F, Elie N, Grelier G, Roussi F, Litaudon M, Touboul D. MetGem Software for the Generation of Molecular Networks Based on the t-SNE Algorithm. Anal Chem. 2018;90(23):13900-8.
143. Dührkop K, Fleischauer M, Ludwig M, Aksenov AA, Melnik AV, Meusel M, et al. SIRIUS 4: a rapid tool for turning tandem mass spectra into metabolite structure information. Nat Methods. 2019;16(4):299-302.
144. Hubert J, Nuzillard JM, Purson S, Hamzaoui M, Borie N, Reynaud R, et al. Identification of Natural Metabolites in Mixture: A Pattern Recognition Strategy Based on 13C NMR. Anal Chem. 2014;86(6):2955-62.
145. Bakiri A, Plainchont B, de Paulo Emerenciano V, Reynaud R, Hubert J, Renault JH, et al. Computer-aided Dereplication and Structure Elucidation of Natural Products at the University of Reims. Molecular Informatics. 2017;36(10):1700027.
146. Cordonnier J, Remy S, Kotland A, Leroy R, Darme P, Bertaux B, et al. Improving the chemical profiling of complex natural extracts by joint 13C NMR and LC-HRMS2 analysis and the querying of *in silico* generated chemical databases. Chemrxiv; 2024.
147. Koleva II, Niederländer HAG, Van Beek TA. An On-Line HPLC Method for Detection of Radical Scavenging Compounds in Complex Mixtures. Anal Chem. 2000;72(10):2323-8.

148. Breaud C, Lallemand L, Mares G, Mabrouki F, Bertolotti M, Simmler C, et al. LC-MS Based Phytochemical Profiling towards the Identification of Antioxidant Markers in Some Endemic *Aloe* Species from Mascarene Islands. Antioxidants. Multidisciplinary Digital Publishing Institute; 2023;12(1):50.
149. Olivon F, Allard PM, Koval A, Righi D, Genta-Jouve G, Neyts J, et al. Bioactive Natural Products Prioritization Using Massive Multi-informational Molecular Networks. ACS Chem Biol. 2017;12(10):2644-51.
150. Hosry LE, Boyer L, Garayev EE, Mabrouki F, Bun SS, Debrauwer L, et al. Chemical Composition, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Roots and Fruits of *Berberis libanotica*. Natural Product Communications. 2016;11(5):645-8.
151. Blois MS. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Nature. 1958;181(4617):1199-200.
152. Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Analytical Biochemistry. 1996;239(1):70-6.
153. Ludwig M, Nothias LF, Dührkop K, Koester I, Fleischauer M, Hoffmann MA, et al. ZODIAC: database-independent molecular formula annotation using Gibbs sampling reveals unknown small molecules. BioRxiv; 2019.
154. Böcker S, Dührkop K. Fragmentation trees reloaded. Journal of Cheminformatics. 2016;8(1):5.
155. Dührkop K, Shen H, Meusel M, Rousu J, Böcker S. Searching molecular structure databases with tandem mass spectra using CSI:FingerID. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2015;112(41):12580-5.
156. Hoffmann MA, Nothias LF, Ludwig M, Fleischauer M, Gentry EC, Witting M, et al. Assigning confidence to structural annotations from mass spectra with COSMIC. BioRxiv; 2021.
157. Dührkop K, Nothias LF, Fleischauer M, Reher R, Ludwig M, Hoffmann MA, et al. Systematic classification of unknown metabolites using high-resolution fragmentation mass spectra. Nat Biotechnol. 2021;39(4):462-71.
158. Kim HW, Wang M, Leber CA, Nothias LF, Reher R, Kang KB, et al. NPClassifier: A Deep Neural Network-Based Structural Classification Tool for Natural Products. J Nat Prod. 2021;84(11):2795-807.
159. Prasad J, Shrivastava A, Khanna AK, Bhatia G, Awasthi SK, Narender T. Antidyslipidemic and antioxidant activity of the constituents isolated from the leaves of *Calophyllum inophyllum*. Phytomedicine. 2012;19(14):1245-9.
160. Patil SS, Bhasarkar S, Rathod VK. Extraction of curcuminoids from *Curcuma longa* : comparative study between batch extraction and novel three phase partitioning. Preparative Biochemistry and Biotechnology. 2019;49(4):407-18.
161. Dumanović J, Nepovimova E, Natić M, Kuča K, Jaćević V. The Significance of Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense System in Plants: A Concise Overview. Frontiers in Plant Science. 2021;11:552969.
162. Hapsari S, Yohed I, Kristianita RA, Jadid N, Aparamarta HW, Gunawan S. Phenolic and flavonoid compounds extraction from *Calophyllum inophyllum* leaves. Arabian Journal of Chemistry. 2022;15(3):103666.
163. Susanto DF, Aparamarta HW, Widjaja A, Jadid N, Gunawan S. Isolation and identification of cholestane and dihydropyrene from *Calophyllum inophyllum*. Heliyon. 2019;5(11):e02893.
164. Cassien M, Mercier A, Thétiot-Laurent S, Culcasi M, Ricquebourg E, Asteian A, et al. Improving the Antioxidant Properties of *Calophyllum inophyllum* Seed Oil from French Polynesia: Development and Biological Applications of Resinous Ethanol-Soluble Extracts. Antioxidants (Basel). 2021;10(2):199.
165. Singh K, Srichairatanakool S, Chewonarin T, Prommaban A, Samakradhamrongthai RS, Brennan MA, et al. Impact of Green Extraction on Curcuminoid Content, Antioxidant Activities

and Anti-Cancer Efficiency (*In Vitro*) from Turmeric Rhizomes (*Curcuma longa* L.). Foods. 2022;11(22):3633.

166. Sabir SM, Zeb A, Mahmood M, Abbas SR, Ahmad Z, Iqbal N. Phytochemical analysis and biological activities of ethanolic extract of *Curcuma longa* rhizome. Braz J Biol. 2020;81:737-40.
167. Wang R, Wei Y. A Study on the Antioxidant Activities in Different Parts of *Gardenia Jasminoides*. The Frontiers of Society, Science and Technology. 2019;1(3):24-9.
168. Yu R, Li Y, Si D, Yan S, Liu J, Si J, et al. Identification, quantitative and bioactivity analyses of aroma and alcohol-soluble components in flowers of *Gardenia jasminoides* and its variety during different drying processes. Food Chemistry. 2023;420:135846.
169. Quirós-Fallas MI, Vargas-Huertas F, Quesada-Mora S, Azofeifa-Cordero G, Wilhelm-Romero K, Vásquez-Castro F, et al. Polyphenolic HRMS Characterization, Contents and Antioxidant Activity of *Curcuma longa* Rhizomes from Costa Rica. Antioxidants (Basel). 2022;11(4):620.
170. Ao C, Deba F, Tako M, Tawata S. Biological activity and composition of extract from aerial root of *Ficus microcarpa* L. fil. International Journal of Food Science & Technology. 2009;44(2):349-58.
171. Derick S, Gironde C, Perio P, Reybier K, Nepveu F, Jauneau A, et al. LUCS (Light-Up Cell System), a universal high throughput assay for homeostasis evaluation in live cells. Sci Rep. 2017;7(1):18069.
172. Gironde C, Rigal M, Dufour C, Furger C. AOP1, a New Live Cell Assay for the Direct and Quantitative Measure of Intracellular Antioxidant Effects. Antioxidants. 2020;9(6):471.
173. Soleimani V, Sahebkar A, Hosseinzadeh H. Turmeric (*Curcuma longa*) and its major constituent (curcumin) as nontoxic and safe substances: Review. Phytotherapy Research. 2018;32(6):985-95.
174. Calderon-Jacinto R, Matricardi P, Gueguen V, Pavon-Djavid G, Pauthe E, Rodriguez-Ruiz V. Dual Nanostructured Lipid Carriers/Hydrogel System for Delivery of Curcumin for Topical Skin Applications. Biomolecules. 2022;12(6):780.
175. Shanmugapriya, Chen Y, Kanwar JR, Sasidharan S. Effects of *Calophyllum inophyllum* fruit extract on the proliferation and morphological characteristics of human breast cancer cells MCF-7. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2016;6(4):291-7.
176. Yimdjo MC, Azebaze AG, Nkengfack AE, Meyer AM, Bodo B, Fomum ZT. Antimicrobial and cytotoxic agents from *Calophyllum inophyllum*. Phytochemistry. 2004;65(20):2789-95.
177. Ito C, Murata T, Itoigawa M, Nakao K, Kaneda N, Furukawa H. Apoptosis inducing activity of 4-substituted coumarins from *Calophyllum brasiliense* in human leukaemia HL-60 cells. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2006;58(7):975-80.
178. Veselinović JB, Kocić GM, Pavic A, Nikodinovic-Runic J, Senerovic L, Nikolić GM, et al. Selected 4-phenyl hydroxycoumarins: In vitro cytotoxicity, teratogenic effect on zebrafish (*Danio rerio*) embryos and molecular docking study. Chemico-Biological Interactions. 2015;231:10-7.
179. Ruiz-Marcial C, Chilpa RR, Estrada E, Reyes-Esparza J, Fariña GG, Rodríguez-Fragoso L. Antiproliferative, cytotoxic and antitumour activity of coumarins isolated from *Calophyllum brasiliense*. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2007;59(5):719-25.
180. Nabavi SM, Russo GL, Tedesco I, Daglia M, Orhan IE, Nabavi SF, et al. Curcumin and Melanoma: From Chemistry to Medicine. Nutrition and Cancer. 2018;70(2):164-75.
181. Nguyen VL, Truong CT, Nguyen BCQ, Vo TNV, Dao TT, Nguyen VD, et al. Anti-inflammatory and wound healing activities of calophyllolide isolated from *Calophyllum inophyllum* Linn. PLoS ONE. 2017;12(10):e0185674.
182. Kim KW, Lee YS, Yoon D, Kim GS, Lee DY. The ethanolic extract of *Curcuma longa* grown in Korea exhibits anti-neuroinflammatory effects by activating of nuclear transcription factor

erythroid-2-related factor 2/heme oxygenase-1 signaling pathway. BMC Complement Med Ther. 2022;22(1):1-11.

183. Kim H, Jung J, Lee M, Kim M, Kang N, Kim OK, et al. *Curcuma longa* L. extract exhibits anti-inflammatory and cytoprotective functions in the articular cartilage of monoiodoacetate-injected rats. Food Nutr Res. 2024;68:10402.
184. Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of *Curcuma longa*. Planta Med. 1991;57(1):1-7.
185. Ayati Z, Amiri MS, Emami SA, Ramezani M, Sahebkar A, Tafazoli A, et al. Ethnobotany, Phytochemistry and Traditional Uses of *Curcuma* spp. and Pharmacological Profile of Two Important Species (*C. longa* and *C. zedoaria*): A Review. Current Pharmaceutical Design. 2019;25(8):871-935.
186. Erdogan SS, Gur TF, Terzi NK, Dogan B. Evaluation of the cutaneous wound healing potential of tamanu oil in wounds induced in rats. J Wound Care. 2021;30(Sup9a):Vi-Vx.
187. Krishnappa M, Abraham S, Furtado SC, Krishnamurthy S, Rifaya A, Asiri YI, et al. An Integrated Computational and Experimental Approach to Formulate Tamanu Oil Bigels as Anti-Scarring Agent. Pharmaceuticals (Basel). 2024;17(1):102.
188. Su Y, Liu Y, He D, Hu G, Wang H, Ye B, et al. Hordenine inhibits neuroinflammation and exerts neuroprotective effects via inhibiting NF-κB and MAPK signaling pathways *in vivo* and *in vitro*. International Immunopharmacology. 2022;108:108694.
189. Zhang X, Du L, Zhang J, Li C, Zhang J, Lv X. Hordenine Protects Against Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury by Inhibiting Inflammation. Frontiers in Pharmacology. 2021;12:712232.
190. Park SH, Lee SY, Kim JH, Park GH, inventeur. Pharmaceutical Composition Comprising Hordenine as Active Ingredient for Preventing or Treating Skin Cancer [En ligne]. KR102493627 (B1), 2023 [cité le 25 juill 2025]. Disponible: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20230131&DB=&locale=en_EP&CC=KR&NR=102493627B1&KC=B1&ND=1
191. de Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC. Quantitative Analysis of Flavan-3-ols in Spanish Foodstuffs and Beverages. J Agric Food Chem. 2000;48(11):5331-7.
192. Ao C, Higa T, Ming H, Ding Y ting, Tawata S. Isolation and identification of antioxidant and hyaluronidase inhibitory compounds from *Ficus microcarpa* L. fil. bark. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2010;25(3):406-13.
193. Fraga CG, Oteiza PI, Galleano M. Plant bioactives and redox signaling: (–)-Epicatechin as a paradigm. Molecular Aspects of Medicine. 2018;61:31-40.
194. Li Y, Zhu Y, Hu F, Liu L, Shen G, Tu Q. Procyanidin B2 regulates the Sirt1/Nrf2 signaling pathway to improve random-pattern skin flap survival. Phytotherapy Research. 2023;37(9):3913-25.
195. Lee CK, Lu CK, Kuo YH, Chen JZ, Sun GZ. New Prenylated Flavones from the Roots of *Ficus beecheyana* . Journal of the Chinese Chemical Society. 2004;51(2):437-41.
196. Cruz JM dos A, Corrêa RF, Lamarão CV, Kinupp VF, Sanches EA, Campelo PH, et al. *Ficus* spp. fruits: Bioactive compounds and chemical, biological and pharmacological properties. Food Research International. 2022;152:110928.
197. Ramadan MA, Ahmad AS, Nafady AM, Mansour AI. Chemical composition of the stem bark and leaves of *Ficus pandurata* Hance. Natural Product Research. 2009;23(13):1218-30.
198. Mssillou I, El Abdali Y, Amrati FEZ, Lim A, Khalid A, Makeen HA, et al. Unlocking the therapeutic potential of protocatechualdehyde: pharmacological applications and mechanism insights. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol; 2025.
199. Chen F, Zhang X, Wang J, Wang F, Mao J. P-coumaric Acid: Advances in Pharmacological Research Based on Oxidative Stress. CTMC. 2024;24(5):416-36.
200. Boo YC. p-Coumaric Acid as An Active Ingredient in Cosmetics: A Review Focusing on its Antimelanogenic Effects. Antioxidants. 2019;8(8):275.

201. Xie J, Xiong S, Li Y, Xia B, Li M, Zhang Z, et al. Phenolic acids from medicinal and edible homologous plants: a potential anti-inflammatory agent for inflammatory diseases. Frontiers in Immunology. 2024;15:1345002.
202. Afnan, Saleem A, Akhtar MF, Sharif A, Akhtar B, Siddique R, et al. Anticancer, Cardio-Protective and Anti-Inflammatory Potential of Natural-Sources-Derived Phenolic Acids. Molecules. 2022;27(21):7286.
203. Jalali O, Best M, Wong A, Schaeffer B, Bauer B, Johnson L. Protocatechuic Acid as a Topical Antimicrobial for Surgical Skin Antisepsis: Preclinical Investigations. JBJS Open Access. 2020;5(3):e19.00079.
204. Lee TH, Kuo YC, Wang GJ, Kuo YH, Chang CI, Lu CK, et al. Five New Phenolics from the Roots of *Ficus beecheyana*. J Nat Prod. 2002;65(10):1497-500.
205. Nakasone Y, Takara K, Wada K, Tanaka J, Yogi S, Nakatani N. Antioxidative Compounds Isolated from Kokuto, Non-centrifugal Cane Sugar. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 1996;60(10):1714-6.
206. Chin YW, Chai HB, Keller WJ, Kinghorn AD. Lignans and Other Constituents of the Fruits of *Euterpe oleracea* (Açai) with Antioxidant and Cytoprotective Activities. J Agric Food Chem. 2008;56(17):7759-64.
207. Michel P, Wajs-Bonikowska A, Magiera A, Wosiak A, Balcerczak E, Czerwińska ME, et al. Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of (6S,9R)-Vomifoliol from *Gaultheria procumbens* L.: *In Vitro* and *Ex Vivo* Study in Human Immune Cell Models. International Journal of Molecular Sciences. 2025;26(4):1571.
208. Priscilla J, Dhas DA, Hubert Joe I, Balachandran S. Spectroscopic, electron localization function, chemical reactivity and antihypertensive activity study on hordenine alkaloid by density functional theory approach. Journal of Molecular Structure. 2021;1229:129823.
209. Fukuoka M. Chemical and Toxicological Studies on Bracken Fern, Pteridium aquilinum var. latiusculum. VI. Isolation of 5-O-Caffeoylshikimic Acid as an Antithiamine Factor. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 1982;30(9):3219-24.
210. Chaitanya MVNL, Marisetti AL, Kaur H, Singh A, Singh SK, Sethi N, et al. Exploring the anticancer potential of *Lasia spinosa* rhizomes: insights from molecular docking and DFT investigations on chlorogenic acid and beyond. Natural Product Research. 2024;1-6.
211. Elhagrasi A, Mahmoud A, Foda D, Ibrahim N, Yousef O. Secondary metabolites and Biological activities of *Allium porrum* L. attack Ehrlich ascites carcinoma in mice. Egypt J Chem. 2019;62(Special Issue Part 1):211-27.
212. Hu D, Qing G, Liu X, Cheng J, Zhang K, He L. A Study and In Vitro Evaluation of the Bioactive Compounds of Broad Bean Sprouts for the Treatment of Parkinson's Syndrome. Molecules. 2024;29(21):5160.
213. Gu L, Zhang Y. Unexpected CO2 Splitting Reactions To Form CO with N-Heterocyclic Carbenes as Organocatalysts and Aromatic Aldehydes as Oxygen Acceptors. J Am Chem Soc. 2010;132(3):914-5.
214. Xie Y, Wang J, Geng YM, Zhang Z, Qu YF, Wang GS. Pheonolic Compounds from the Fruits of *Viburnum sargentii* Koehne. Molecules. 2015;20(8):14377-85.
215. Watson A, Wallis C, Franz AH. NMR solution structures and MD-simulation of procyanidin B1, B2, and C1. Arkivoc. 2018;(3):279-301.
216. Jiang Y, Lu Y, Zhang YY, Chen DF. Anti-complementary constituents of *Houttuynia cordata* and their targets in complement activation cascade. Natural Product Research. 2014;28(6):407-10.
217. Carpinteyro Diaz AE, Herfindal L, Holmelid B, Brede C, Andersen HL, Vedeler A, et al. Cytotoxic Natural Products from the Jurassic Relict *Osmunda regalis* L. Molecules. 2024;29(17):4247.
218. Tang S, Rauch M, Montag M, Diskin-Posner Y, Ben-David Y, Milstein D. Catalytic Oxidative Deamination by Water with H2 Liberation. J Am Chem Soc. 2020;142(49):20875-82.

219. Hirai N, Kondo S, Ohigashi H. Deuterium-labeled Phaseic Acid and Dihydrophaseic Acids for Internal Standards. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2003;67(11):2408-15.
220. Hammami S, Jannet HB, Bergaoui A, Ciavatta L, Cimino G, Mighri Z. Isolation and Structure Elucidation of a Flavanone, a Flavanone Glycoside and Vomifoliol from *Echiochilon Fruticosum* Growing in Tunisia. Molecules. 2004;9(7):602-8.
221. Menezes JESA, Lemos TLG, Silveira ER, Braz-Filho R, Pessoa ODL. Trichotomol, a New Cadinenediol from *Cordia trichotoma*. J Braz Chem Soc. 2001;12(6):787-90.
222. Isacescu E, Chiroi P, Zanoaga O, Nutu A, Budisan L, Pirlog R, et al. Melanoma Cellular Signaling Transduction Pathways Targeted by Polyphenols Action Mechanisms. Antioxidants. 2023;12(2):407.
223. Chrzanowska E, Denisow B, Ekiert H, Pietrzyk Ł. Metabolites Obtained from Boraginaceae Plants as Potential Cosmetic Ingredients—A Review. Molecules. 2024;29(21):5088.
224. Kowalczyk A, Tuberoso CIG, Jerković I. The Role of Rosmarinic Acid in Cancer Prevention and Therapy: Mechanisms of Antioxidant and Anticancer Activity. Antioxidants. 2024;13(11):1313.
225. Chen YS, Lee SM, Lin YJ, Chiang SH, Lin CC. Effects of Danshensu and Salvianolic Acid B from *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Lamiaceae) on Cell Proliferation and Collagen and Melanin Production. Molecules. 2014;19(2):2029-41.
226. Zhang Q, Fu T, Dai J, Zhou Z, Shen C. Sodium Danshensu promotes the healing of stage 2 pressure injury wounds in ischemia/reperfusion injury rat models: possible regulation of apoptosis and inflammatory response. J Tradit Chin Med. 2021;41(4):571-80.
227. Zhang J, Zhang Q, Liu G, Zhang N. Therapeutic potentials and mechanisms of the Chinese traditional medicine Danshensu. European Journal of Pharmacology. 2019;864:172710.
228. Jang WY, Kim MY, Cho JY. Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anti-Menopausal, and Anti-Cancer Effects of Lignans and Their Metabolites. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(24):15482.
229. Ong RR, Goh CF. Niacinamide: a review on dermal delivery strategies and clinical evidence. Drug Deliv Transl Res. 2024;14(12):3512-48.
230. Camillo L, Zavattaro E, Savoia P. Nicotinamide: A Multifaceted Molecule in Skin Health and Beyond. Medicina. 2025;61(2):254.
231. Tiwari KP, Srivastava SD. Chemical Investigation of the Stem Bark of *Cordia obliqua*. Planta Med. 1979;36(06):191-2.
232. Giurleo D. A phytochemical exploration of *Griffonia simplicifolia* seeds and leaves [Thèse de doctorat]. New Brunswick, New Jersey, USA : Rutgers University of New Jersey; 2017.
233. Saldanha LL, Delgado AQ, Marcourt L, Camaforte NA de P, Vareda PMP, Ebrahimi SN, et al. Hypoglycemic active principles from the leaves of *Bauhinia holophylla*: Comprehensive phytochemical characterization and *in vivo* activity profile. PLoS ONE. 2021;16(9):e0258016.
234. Fernando IPS, Heo SJ, Dias MKHM, Madusanka DMD, Han EJ, Kim MJ, et al. (−)-Loliolide Isolated from *Sargassum horneri* Abate UVB-Induced Oxidative Damage in Human Dermal Fibroblasts and Subside ECM Degradation. Marine Drugs. 2021;19(8):435.
235. Fernando IPS, Dias MKHM, Madusanka DMD, Kim HS, Han EJ, Kim MJ, et al. Effects of (–)-Loliolide against Fine Dust Preconditioned Keratinocyte Media-Induced Dermal Fibroblast Inflammation. Antioxidants. 2021;10(5):675.
236. Han EJ, Fernando IPS, Kim HS, Lee DS, Kim A, Je JG, et al. (–)-Loliolide Isolated from *Sargassum horneri* Suppressed Oxidative Stress and Inflammation by Activating Nrf2/HO-1 Signaling in IFN-γ/TNF-α-Stimulated HaCaT Keratinocytes. Antioxidants. 2021;10(6):856.
237. Ahn GN, Kim MJ, Han EJ, inventeur. Composition for alleviating harmful effect on skin caused by fine dust containing Loliolide as an active ingredient [En ligne]. KR20220114935 (A), 2022 [cité le 29 juill 2025]. Disponible:

https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20220817&DB=&locale=en_EP&CC=KR&NR=20220114935A&KC=A&ND=1

238. Ahn GN, Han EJ, Kim MJ, Park SY, Jeon HN, inventeur. Composition for preventing or treating atopic dermatitis comprising loliolide [En ligne]. KR20230025253 (A), 2023 [cité le 29 juill 2025]. Disponible: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20230221&DB=&locale=en_EP&CC=KR&NR=20230025253A&KC=A&ND=1
239. Cho JY, Kim SG, Yang WS, Park SH, Park KJ, Jang SG, et al., inventeur. A composition comprising loliolide for improving skin wrinkle [En ligne]. KR20190116620 (A), 2019 [cité le 29 juill 2025]. Disponible: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20191015&DB=&locale=en_EP&CC=KR&NR=20190116620A&KC=A&ND=1
240. Cho JY, Kim SG, Park SH, Park KJ, Jang SG, Kim DS, et al., inventeur. A composition comprising loliolide for wound healing [En ligne]. KR102099697 (B1), 2020 [cité le 29 juill 2025]. Disponible: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20200410&DB=&locale=en_EP&CC=KR&NR=102099697B1&KC=B1&ND=1
241. Kim HS, Lee DS, Lee JM, Yim MJ, Ko SC, Shin JM, et al., inventeur. Anti-inflammatory composition comprising loliolide as an active ingredient [En ligne]. KR20220170522 (A), 2022 [cité le 29 juill 2025]. Disponible: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20221230&DB=&locale=en_EP&CC=KR&NR=20220170522A&KC=A&ND=2
242. Lee DS, Lee JM, Yim MJ, Choi G, Kim HS, inventeur. Antioxidant composition comprising loliolide as an active ingredient [En ligne]. KR20220058739 (A), 2022 [cité le 29 juill 2025]. Disponible: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20220510&DB=&locale=en_EP&CC=KR&NR=20220058739A&KC=A&ND=1
243. Liu X, Dong T, Zhou Y, Huang N, Lei X. Exploring the Binding Proteins of Glycolipids with Bifunctional Chemical Probes. Angewandte Chemie International Edition. 2016;55(46):14330-4.
244. Hubert J, Chollet S, Purson S, Reynaud R, Harakat D, Martinez A, et al. Exploiting the Complementarity between Dereplication and Computer-Assisted Structure Elucidation for the Chemical Profiling of Natural Cosmetic Ingredients: Tephrosia purpurea as a Case Study. J Nat Prod. 2015;78(7):1609-17.
245. Kanasheva N, Fedorishin DA, Lyapunova MV, Bukterov MV, Kaidash OA, Bakibaev AA, et al. The Determination of the Biocompatibility of New Compositional Materials, including Carbamide-Containing Heterocycles of Anti-Adhesion Agents for Abdominal Surgery. Molecules. 2024;29(4):851.
246. RunHui L, Heng L, YongLi L, Ming Y, XiKe X, HuiLiang L, et al. N-containing compounds from the traditional Chinese medicine ChanSu. Chem Nat Compd. 2009;45(4):599-600.
247. Ballester A, Verwey A, Overeem JC. 2-Hydroxyphenyl acetic acid and 2,4-dihydroxyphenyl acetonitrile from *Erica scoparia*. Phytochemistry. 1975;14(7):1667-8.
248. Wang M, Li J, Rangarajan M, Shao Y, LaVoie EJ, Huang TC, et al. Antioxidative Phenolic Compounds from Sage (*Salvia officinalis*). J Agric Food Chem. 1998;46(12):4869-73.
249. Papaemmanouil C, Chatziathanasiadou MV, Chatzigiannis C, Chontzopoulou E, Mavromoustakos T, Grdadolnik SG, et al. Unveiling the interaction profile of rosmarinic acid and its bioactive substructures with serum albumin. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2020;35(1):786-804.

250. Chiba T, Akizawa T, Matsukawa M, Kawai N, Kono Y, Yoshioka M. Syntheses and Biological Activities of Joro Spider Toxin Analogs to Spidamine and Joramine. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 1997;45(1):93-100.
251. Wang Z, Peng S, Peng M, Wang C. Isolation of polyphenol compounds from olive waste and inhibition of their derivatives for α-glucosidase and α-amylase. Natural Product Research. 2020;34(16):2398-402.
252. Kappen J, Rashan L, Franke K, Wessjohann LA. Profiling and Bioactivity of Polyphenols from the Omani Medicinal Plant *Terminalia dhofarica* (syn. *Anogeissus dhofarica*). Molecules. 2025;30(4):952.
253. Chemam Y, Benayache S, Marchioni E, Zhao M, Mosset P, Benayache F. On-Line Screening, Isolation and Identification of Antioxidant Compounds of *Helianthemum ruficomum*. Molecules. 2017;22(2):239.
254. Shao SY, Yang YN, Feng ZM, Jiang JS, Zhang PC. An Efficient Method for Determining the Relative Configuration of Furofuran Lignans by 1H NMR Spectroscopy. J Nat Prod. 2018;81(4):1023-8.
255. Deyama T, Ikawa T, Nishibe S. The Constituents of *Eucommia ulmoides* OLIV. II. Isolation and Structures of Three New Lignan Glycosides. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 1985;33(9):3651-7.
256. Wang L, Li X, Zhang S, Lu W, Liao S, Liu X, et al. Natural products as a gold mine for selective matrix metalloproteinases inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2012;20(13):4164-71.
257. Okuyama E, Suzumura K, Yamazaki M. Pharmacologically Active Components of Todopon Puok (*Fagraea racemosa*), a Medicinal Plant from Borneo. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 1995;43(12):2200-4.
258. Clemente-Tejeda D, Bermejo FA. Oxidation of alkenes with non-heme iron complexes: suitability as an organic synthetic method. Tetrahedron. 2014;70(49):9381-6.
259. Tamuli R, Nguyen T, Macdonald JR, Pierens GK, Fisher GM, Andrews KT, et al. Isolation and *In Vitro* and *In Vivo* Activity of Secondary Metabolites from *Clerodendrum polycephalum* Baker against Plasmodium Malaria Parasites. J Nat Prod. 2023;86(12):2661-71.
260. Han Q, Jiang B, Mei S, Ding G, Sun H, Xie J, et al. Constituents from the roots of *Semiaquilegia adoxoides*. Fitoterapia. 2001;72(1):86-8.
261. Guo H, Liu X, Jiang Y, He J, Ge W, Hao H, et al. Characterization and quantification of the Chinese medical formula Zhi-Zi-Chi decoction, a systematic strategy for the attenuation and synergy of compatibility mechanism. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2023;223:115130.
262. Gao X, Dai K, 高小军, 戴凯玲, inventeur. Gardenoside soft facial mask and preparation method thereof [En ligne]. CN105030609 (B), 2018 [cité le 31 juill 2025]. Disponible: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20180501&DB=&locale=en_EP&CC=CN&NR=105030609B&KC=B&ND=1
263. Gao X, Gao X, Dai K, 高小军, 高欣玥, 戴凯玲, inventeur. Gardenoside antipruritic skin care essence and preparation method thereof [En ligne]. CN105055242 (B), 2018 [cité le 31 juill 2025]. Disponible: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20180302&DB=&locale=en_EP&CC=CN&NR=105055242B&KC=B&ND=1
264. Song HJ, Kim MS, Lee HJ, Lee SH, inventeur. Compositions for improving skin wrinkle or enhancing skin elasticity comprising gardenoside [En ligne]. KR101656322 (B1), 2016 [cité le 31 juill 2025]. Disponible: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20160909&DB=&locale=en_EP&CC=KR&NR=101656322B1&KC=B1&ND=1

265. Sui G, Jiang W, Guan L. Gardenoside attenuates *Staphylococcus aureus*-induced mastitis by inhibiting inflammation and ferroptosis through Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling pathway. Microbiology Spectrum. 2024;13(1):e02262-24.
266. Xia T, Zhao R, He S, Wang L, Fu X, Zhao Y, et al. Gardenoside ameliorates inflammation and inhibits ECM degradation in IL-1β-treated rat chondrocytes via suppressing NF-κB signaling pathways. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2023;640:164-72.
267. Amin A, Tuenter E, Foubert K, Iqbal J, Cos P, Maes L, et al. *In Vitro* and *In Silico* Antidiabetic and Antimicrobial Evaluation of Constituents from *Kickxia ramosissima* (*Nanorrhinum ramosissimum*). Front Pharmacol. 2017;8:232.
268. Chang WL, Wang HY, Shi LS, Lai JH, Lin HC. Immunosuppressive Iridoids from the Fruits of *Gardenia jasminoides*. J Nat Prod. 2005;68(11):1683-5.
269. Ahmad I, Malik A, Afza N, Anis I, Fatima I, Nawaz SA, et al. Enzymes Inhibitory Constituents From *Buddleja crispa*. Zeitschrift für Naturforschung B. 2005;60(3):341-6.
270. Nishizawa M, Izuhara R, Kaneko K, Koshihara Y, Fujimoto Y. 5-Lipoxygenase inhibitors isolated from gardeniae fructus. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1988;36(1):87-95.
271. Rubens M, Falireas P, Vanbroekhoven K, Van Hecke W, Kaya GE, Baytekin B, et al. Molecular Design of Lignin-Derived Side-Chain Phenolic Polymers toward Functional Radical Scavenging Materials with Antioxidant and Antistatic Properties. Biomacromolecules. 2023;24(8):3498-509.
272. Watanabe N, Watanabe S, Nakajima R, Moon JH, Shimokihara K, Inagaki J, et al. Formation of Flower Fragrance Compounds from Their Precursors by Enzymic Action during Flower Opening. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 1993;57(7):1101-6.
273. Cecotti R, Carpana E, Falchero L, Paoletti R, Tava A. Determination of the Volatile Fraction of *Polygonum bistorta* L. at Different Growing Stages and Evaluation of Its Antimicrobial Activity against Two Major Honeybee (*Apis mellifera*) Pathogens. Chemistry & Biodiversity. 2012;9(2):359-69.
274. Choi D, Kang W, Park T. Anti-Allergic and Anti-Inflammatory Effects of Undecane on Mast Cells and Keratinocytes. Molecules. 2020;25(7):1554.
275. da Silva Brandão M, Silva Abreu L, Geris R. *Phialomyces macrosporus*: Chemical Constituents, Antimicrobial Activity and Complete NMR Assignments for the 7,7′-Biphyscion. Chemistry & Biodiversity. 2019;16(9):e1900353.
276. Bai J, Wang S yao, Pan K, Luo H jun, Zou K, Wang H. Ligulariatinside A, a new sesquiterpene glycoside from roots of *Ligularia veitchiana*. Natural Product Research. 2025;39(2):262-8.
277. Novikov VL, Shestak OP. Thermal and photochemical oxidation of 2-acetylcyclopentanone with atmospheric oxygen. Russ Chem Bull. 2012;61(6):1099-110.
278. Black PJ, Edwards MG, Williams JMJ. Borrowing Hydrogen: Indirect “Wittig” Olefination for the Formation of C–C Bonds from Alcohols. European Journal of Organic Chemistry. 2006;2006(19):4367-78.
279. Venditti A, Frezza C, Sciubba F, Foddai S, Serafini M, Nicoletti M, et al. Secoiridoids and other chemotaxonomically relevant compounds in Pedicularis: phytochemical analysis and comparison of *Pedicularis rostratocapitata* Crantz and *Pedicularis verticillata* L. from Dolomites. Natural Product Research. 2016;30(15):1698-705.
280. Farid HAR, Kunert O, Haslinger E, Seger C. Isolation and Structure Elucidation of Iridoide and Coumarin Derivatives from *Xeromphis nilotica* (Rubiaceae). Monatshefte für Chemie. 2002;133(11):1453-8.
281. Wei X, Xie H, Ge X, Zhang F. Iridoids from *Dunnia sinensis*. Phytochemistry. 2000;53(8):837-40.
282. Su XH, Zhang ML, Li LG, Huo CH, Gu YC, Shi QW. Chemical Constituents of the Plants of the Genus *Calophyllum*. Chemistry & Biodiversity. 2008;5(12):2579-608.

283. Raharivelomanana P, Ansel JL, Lupo E, Mijouin L, Guillot S, Butaud JF, et al. Tamanu oil and skin active properties: from traditional to modern cosmetic uses. OCL. 2018;25(5):D504.
284. Bhattacharjee N, Dua TK, Khanra R, Joardar S, Nandy A, Saha A, et al. Protocatechuic Acid, a Phenolic from *Sansevieria roxburghiana* Leaves, Suppresses Diabetic Cardiomyopathy via Stimulating Glucose Metabolism, Ameliorating Oxidative Stress, and Inhibiting Inflammation. Front Pharmacol. 2017;8:251.
285. Tian L, Wang Z, Lei T, Feng L, Li Y, Wang K, et al. PLL-g-HPA Hydrogel Loaded Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Promote Burn Wound Healing in Rat Model by Regulating Inflammation Response. J Inflamm Res. 2025;18:779-89.
286. Mah SH, Ee GCL, Teh SS, Sukari MA. *Calophyllum inophyllum* and *Calophyllum soulattri* source of anti-proliferative xanthones and their structure-activity relationships. Nat Prod Res. 2015;29(1):98-101.
287. Capettini LSA, Campos LVA, Santos MH dos, Nagem TJ, Lemos VS, Cortes SF. Vasodilator and Antioxidant Effect of Xanthones Isolated from Brazilian Medicinal Plants. Planta Medica. 2008;75:145-8.
288. Soulaimana ARB. Identification, caractérisation, évaluation de la capacité antioxydante et valorisation des huiles de Sésame et de Tamanu [Thèse de doctorat]. Marseille, France : Université d'Aix-Marseille; 2013.
289. Lin YY, Lin YK, Lin YH, Chiang CF. Novel compounds of Djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz) increases collagen, antioxidants, inhibits adipogenesis. Natural Product Research. 2024;38(16):2763-72.
290. Masuda Y, Tsuda H, Murakami M. C1 Oxidation/C2 Reduction Isomerization of Unprotected Aldoses Induced by Light/Ketone. Angewandte Chemie International Edition. 2020;59(7):2755-9.
291. Xu Y, Wang Q, Bao W, Pa B. Antihyperlipidemic Effect, Identification and Isolation of the Lipophilic Components from *Artemisia integrifolia*. Molecules. 2019;24(4):725.
292. Shen YC, Hung MC, Wang LT, Chen CY. Inocalophyllins A, B and Their Methyl Esters from the Seeds of *Calophyllum inophyllum*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2003;51(7):802-6.
293. Milne JE, Storz T, Colyer JT, Thiel OR, Dilmeghani Seran M, Larsen RD, et al. Iodide-Catalyzed Reductions: Development of a Synthesis of Phenylacetic Acids. J Org Chem. 2011;76(22):9519-24.
294. Patil AD, Freyer AJ, Eggleston DS, Haltiwanger RC, Bean MF, Taylor PB, et al. The inophyllums, novel inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase isolated from the Malaysian tree, *Calophyllum inophyllum* Linn. J Med Chem. 1993;36(26):4131-8.
295. Beaugendre C. Caractérisation des résines de *Calophyllum inophyllum* L. : approches déréplicatives pour la recherche de composés antimicrobiens [Thèse de doctorat, en ligne]. Paris, France : Université de Paris; 2021 [cité le 17 avr 2023]. Disponible: https://u-paris.fr/theses/detail-dune-these/
296. Batory M, Rotsztejn H. Shikimic acid in the light of current knowledge. Journal of Cosmetic Dermatology. 2022;21(2):501-5.
297. Benvenutti L, Gerhardt GM, Lucinda RM, Gerlach OMS, Cechinel-Filho V, Klein-Júnior LC, et al. The effects of *Calophyllum brasiliense* leaves extract and isolated compound amentoflavone: implications in the resolution of inflammation. J Pharm Pharmacol. 2025;77(7):961-9.
298. Jackson B, Locksley HD, Scheinmann F. The isolation of 6-desoxyjacareubin, 2-(3,3-dimethylallyl)-1,3,5,6-tetrahydroxyxanthone and jacareubin from *Calophyllum inophyllum*. Phytochemistry. 1969;8(5):927-9.
299. Castillo-Arellano JI, Guzmán-Gutiérrez SL, Ibarra-Sánchez A, Hernández-Ortega S, Nieto-Camacho A, Medina-Campos ON, et al. Jacareubin inhibits FcεRI-induced extracellular calcium

entry and production of reactive oxygen species required for anaphylactic degranulation of mast cells. Biochemical Pharmacology. 2018;154:344-56.

300. MassBank.eu [En ligne]. Procyanidin B1 [M-H]- MassBank Record: MSBNK-BS-BS003943; [cité le 27 juin 2023]. Disponible: https://massbank.eu/MassBank/RecordDisplay?id=MSBNK-BS-BS003943
301. MassBank.eu [En ligne]. Procyanidin B1 [M+H]+ MassBank Record: MSBNK-RIKEN-PR100266; [cité le 27 juin 2023]. Disponible: https://massbank.eu/MassBank/RecordDisplay?id=MSBNK-RIKEN-PR100266&dsn=RIKEN
302. MassBank.eu [En ligne]. (+)-Epicatechin [M+H]+MassBank Record: MSBNK-RIKEN-PR100263; [cité le 27 juin 2023]. Disponible: https://massbank.eu/MassBank/RecordDisplay?id=MSBNK-RIKEN-PR100263&dsn=RIKEN
303. MassBank.eu [En ligne]. (+)-Epicatechin [M-H]- MassBank Record: MSBNK-RIKEN-PR100688; [cité le 27 juin 2023]. Disponible: https://massbank.eu/MassBank/RecordDisplay?id=MSBNK-RIKEN-PR100688&dsn=RIKEN
304. GNPS.ucsd.edu [En ligne]. Icariside B5 [M+H]+ GNPS Library Spectrum CCMSLIB00000578418; [cité le 29 juin 2023]. Disponible: http://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/gnpslibraryspectrum.jsp?SpectrumID=CCMSLIB00000578418
305. MassBank.eu [En ligne]. Quercitrin [M+H]+MassBank Record: MSBNK-Fiocruz-FIO00579; [cité le 27 juin 2023]. Disponible: https://massbank.eu/MassBank/RecordDisplay?id=MSBNK-Fiocruz-FIO00579
306. MassBank.eu [En ligne]. Quercitrin [M-H]- MassBank Record: MSBNK-Fiocruz-FIO00585; [cité le 27 juin 2023]. Disponible: https://massbank.eu/MassBank/RecordDisplay?id=MSBNK-Fiocruz-FIO00585
307. MassBank.eu [En ligne]. Kaempferol-3-O-alpha-L-rhamnoside [M-H]- MassBank Record: MSBNK-RIKEN-PR100970; [cité le 27 juin 2023]. Disponible: https://massbank.eu/MassBank/RecordDisplay?id=MSBNK-RIKEN-PR100970
308. Zheng JX, Zheng Y, Zhi H, Dai Y, Wang NL, Fang YX, et al. New 3',8''-Linked Biflavonoids from *Selaginella uncinata* Displaying Protective Effect against Anoxia. Molecules. Molecular Diversity Preservation International; 2011;16(8):6206-14.
309. GNPS.ucsd.edu [En ligne]. 2,3-Dihydroamentoflavone [M+H]+ GNPS Library Spectrum CCMSLIB00000848211; [cité le 28 juin 2023]. Disponible: http://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/gnpslibraryspectrum.jsp?SpectrumID=CCMSLIB00000848211
310. Abe F, Nagafuji S, Okabe H, Akahane H, Estrada-Muñiz E, Huerta-Reyes M, et al. Trypanocidal Constituents in Plants 3. Leaves of *Garcinia intermedia* and Heartwood of *Calophyllum brasiliense*. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 2004;27(1):141-3.
311. Stark TD, Salger M, Frank O, Balemba OB, Wakamatsu J, Hofmann T. Antioxidative Compounds from *Garcinia buchananii* Stem Bark. J Nat Prod. 2015;78(2):234-40.
312. Chaturvedi AK, Parmar SS, Bhatnagar SC, Misra G, Nigam SK. Anticonvulsant and antiinflammatory activity of natural plant coumarins and triterpenoids. Research Communications in Chemical Pathology and PharmacologyPharmacology. 1974;9(1):11-22.
313. Gustafson KR, Bokesch HR, Fuller RW, Cardellina JH, Kadushin MR, Soejarto DD, et al. Calanone, a novel coumarin from *Calophyllum teysmannii*. Tetrahedron Letters. 1994;35(32):5821-4.
314. GNPS.ucsd.edu [En ligne]. Pheophorbide A [M+H]+ GNPS Library Spectrum CCMSLIB00000076748; [cité le 28 juin 2023]. Disponible: http://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/gnpslibraryspectrum.jsp?SpectrumID=CCMSLIB00000076748

315. Xiao YC, Xie J, Yu M, Liu M, Ran J, Xi Z, et al. Bisabocurcumin, a new skeleton curcuminoid from the rhizomes of *Curcuma longa* L. Chinese Chemical Letters. 2011;22(12):1457-60.
316. Dao TT, Nguyen PH, Won HK, Kim EH, Park J, Won BY, et al. Curcuminoids from *Curcuma longa* and their inhibitory activities on influenza A neuraminidases. Food Chemistry. 2012;134(1):21-8.
317. Kita T, Imai S, Sawada H, Seto H. Isolation of Dihydrocurcuminoids from Cell Clumps and Their Distribution in Various Parts of Turmeric (*Curcuma longa*). Biosci Biotechnol Biochem. 2009;73(5):1113-7.
318. Wang SJ, Kao CL, Li WJ, Yeh HC, Li HT, Chen CY. A New Sesquiterpenoid of *Curcuma longa*. Chem Nat Compd. 2024;60(4):645-8.
319. Perret J, Ragheed-Georges S, Remy S, Cordonnier J, Sayagh C, Borie N, et al. Integrated online DPPH-assisted multimodal dereplication workflow for identifying antioxidant compounds in complex mixtures and its application to a supercritical CO2 extract of Makwaen pepper by-product. Journal of Chromatography A. 2025;1757:466172.
320. Truzzi E, Marchetti L, Gibertini G, Benvenuti S, Cappellozza S, Giovannini D, et al. Phytochemical and functional characterization of cultivated varieties of *Morus alba* L. fruits grown in Italy. Food Chemistry. 2024;431:137113.
321. He G, Chen G, Liu W, Ye D, Liu X, Liang X, et al. Salvianolic Acid B: A Review of Pharmacological Effects, Safety, Combination Therapy, New Dosage Forms, and Novel Drug Delivery Routes. Pharmaceutics. 2023;15(9):2235.
322. Ly TN, Shimoyamada M, Yamauchi R. Isolation and Characterization of Rosmarinic Acid Oligomers in *Celastrus hindsii* Benth Leaves and Their Antioxidative Activity. J Agric Food Chem. 2006;54(11):3786-93.
323. So Y, Lee SY, Han AR, Kim JB, Jeong HG, Jin CH. Rosmarinic Acid Methyl Ester Inhibits LPS-Induced NO Production via Suppression of MyD88- Dependent and -Independent Pathways and Induction of HO-1 in RAW 264.7 Cells. Molecules. 2016;21(8):1083.
324. Choi HG, Tran PT, Lee JH, Min BS, Kim JA. Anti-inflammatory activity of caffeic acid derivatives isolated from the roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Arch Pharm Res. 2018;41(1):64-70.
325. Song J, Zhang W, Wang J, Yang H, Zhao X, Zhou Q, et al. Activation of Nrf2 signaling by salvianolic acid C attenuates NF-κB mediated inflammatory response both in vivo and in vitro. International Immunopharmacology. 2018;63:299-310.
326. Qu Y, Mo S, Hou F, Wei N, Sun X, Wang K. Selective inhibition of TRPV3 channel by natural rosmarinic acid and its analogs for alleviation of skin lesions through downregulation of NF-κB pathway. Journal of Biological Chemistry. 2025;301(6):110267.
327. Chai T ting, Huang Y na, Ren S tian, Jin D li, Fu J jing, Guo J yan, et al. Inhibitory effects of ultrasonic and rosmarinic acid on lipid oxidation and lipoxygenase in large yellow croaker during cold storage. Ultrasonics Sonochemistry. 2023;92:106229.
328. Armutcu F, Akyol S, Ustunsoy S, Turan FF. Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects (Review). Experimental and Therapeutic Medicine. 2015;9(5):1582-8.
329. Elhady SS, Abdelhameed RFA, El-Ayouty MM, Ibrahim AK, Habib ES, Elgawish MS, et al. New Antiproliferative Triflavanone from *Thymelaea hirsuta*—Isolation, Structure Elucidation and Molecular Docking Studies. Molecules. 2021;26(3):739.
330. Li SS, Gao Z, Feng X, Hecht SM. Biscoumarin Derivatives from *Edgeworthia gardneri* that Inhibit the Lyase Activity of DNA Polymerase β. J Nat Prod. American Chemical Society; 2004;67(9):1608-10.
331. Kim HJ, Kim EJ, Seo SH, Shin CG, Jin C, Lee YS. Vanillic Acid Glycoside and Quinic Acid Derivatives from Gardeniae Fructus. J Nat Prod. 2006;69(4):600-3.

332. Chen X yan, Jiang W wen, Liu Y ling, Ma Z xia, Dai J qiang. Anti-inflammatory action of geniposide promotes wound healing in diabetic rats. Pharmaceutical Biology. 2022;60(1):294-9.
333. Smith YR, Klitzman B, Nixon Ellis M, Kull FC. The effect of nicotinamide on microvascular density and thermal injury in rats. Journal of Surgical Research. 1989;47(5):465-9.
334. Ashkani Esfahani S, Khoshneviszadeh M, Namazi MR, Noorafshan A, Geramizadeh B, Nadimi E, et al. Topical Nicotinamide Improves Tissue Regeneration in Excisional Full-Thickness Skin Wounds: A Stereological and Pathological Study. Trauma Mon. 2015;20(4):e18193.
335. Liang J, Hu J, Hong X, Zhou M, Xia G, Hu L, et al. Amentoflavone maintaining extracellular matrix homeostasis and inhibiting subchondral bone loss in osteoarthritis by inhibiting ERK, JNK and NF-κB signaling pathways. J Orthop Surg Res. 2024;19:662.
336. Bojuan L, Youdong Z, Lei W, Lixin X, Jinyang M. Oleanolic Acid Alleviates Neuronal Ferroptosis in Subarachnoid Hemorrhage by Inhibiting KEAP1-Nrf2 and NF-κB Pathways. Drug Development Research. 2025;86(3):e70105.
337. Ran Y, Su W, Gao F, Ding Z, Yang S, Ye L, et al. Curcumin Ameliorates White Matter Injury after Ischemic Stroke by Inhibiting Microglia/Macrophage Pyroptosis through NF-κB Suppression and NLRP3 Inflammasome Inhibition. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2021;2021(1):1552127.
338. Rudrapal M, Eltayeb WA, Rakshit G, El-Arabey AA, Khan J, Aldosari SM, et al. Dual synergistic inhibition of COX and LOX by potential chemicals from Indian daily spices investigated through detailed computational studies. Scientific Reports. Nature Portfolio; 2023;13(1):1-27.

Annexes

Annexe 1 : Données de la littérature de la phytochimie du genre *Ficus*

Famille	Nom	Plante	Bibliographie
Acide aminé et peptide	Asparagine	*F. septica*	Kuo *et al*. (2002)
	Indicaxanthine	*F. benghalensis*	Baldassano *et al*. (2010)
Acides gras et dérivés	Politamide	*F. polita*	Pergaud *et al*. (2010)
	10-oxotetracosyl icosanoate	*F. hispida*	Wang *et al*. (1975)
	Ceryl alcool	*F. macrophylla*	Galbraith *et al*. (1965)
	Nonacosane	*F. macrophylla*	Galbraith *et al*. (1965)
	Hentriacontane	*F. macrophylla*	Galbraith *et al*. (1965)
	Tritriacontane	*F. macrophylla*	Galbraith *et al*. (1965)
	Ficusolide diacétate	*F. microcarpa*	Li *et al*. (2000)
Alcaloïdes	Septicine	*F. septica*	Russel *et al*. (1963)
	Phyllosterone	*F. septica*	Ueda *et al*. (2009)
	2-méthoxy-4-[(E)-2-pyrrolidin-2-ylethenyl]phénol	*F. septica*	Ueda *et al*. (2009)
	10R,13αR-tylophorine N-oxide	*F. septica*	Damu *et al*. (2005)
	Antofine	*F. septica*	Ueda *et al*. (2009)
	14α-hydroxyisocrebrine N-oxide	*F. septica*	Ueda *et al*. (2009)
	10S,13αR-tylophorine N-oxide	*F. septica*	Lansky *et al*. (2008)
	Deoxypergularinine	*F. septica*	Lansky *et al*. (2008)
	14-hydroxy-3,4,6,7-tetraméthoxyphenanthroindolizidine	*F. septica*	Ueda *et al*. (2009)
	14-hydroxy-2,3,4,6,7-pentaméthoxyphenanthroindolizidine	*F. septica*	Ueda *et al*. (2009)
	Isotylocrebrine	*F. septica*	Damu *et al*. (2005)
	Ficuseptamine A, B et C	*F. septica*	Ueda *et al*. (2009)
	Ficuseptine A	*F. septica*	Lansky *et al*. (2008)
	Indole	*F. carica*	Gibernau *et al*. (1997)
	Reticuline	*F. pachyrrhachis*	Khan *et al*. (1993)
	Norreticuline	*F. pachyrrhachis*	Khan *et al*. (1993)
	Tylophorine	*F. septica*	Damu *et al*. (2005)
Anthraquinones	Emodin-6-*O*-glucoside	*F. natalensis*	Mbougnia *et al*. (2012)
	Emodine	*F. natalensis*	Mbougnia *et al*. (2012)
Chromanes	Spatheliachromene	*F. formosana*	Sheu *et al*. (2005)
	Ficuformodiol A et B	*F. formosana*	Sheu *et al*. (2005)
Coumarines	Bergenine	*F. racemosa*	Li *et al*. (2004)
	Melleine	*F. formosana*	Lansky *et al*. (2008)
	4',5'-Dihydropsoralen	*F. carica*	Lansky *et al*. (2008)
	3-Chloro-7-méthoxy-4-méthylcoumarine	*F. benghalensis*	Parveen *et al*. (2011)
	7-méthoxy-2,2-diméthyl-pyrano[3,2-g]chromen-8-one	*F. nervosa*	Chen *et al*. (2010)
	5,6-*O*-β-D-diglucopyranosylangelicine	*F. ruficaulis*	Chang *et al*. (2004)
	6-*O*-β-D-glucopyranosyl-5-hydroxyangelicine	*F. ruficaulis*	Chang *et al*. (2004)
	5-*O*-β-D-glucopyranosyl-6-hydroxyangelicine	*F. ruficaulis*	Chang *et al*. (2004)
	5-*O*-β-D-glucopyranosyl-8-hydroxypsoralene	*F. ruficaulis*	Chang *et al*. (2004)
	3,4,5-trihydroxydehydro-α-ionol-9-*O*-β-d-glucopyranoside	*F. ruficaulis*	Chang *et al*. (2004)
	6-(α-D-glucopyranosyloxy)-7-hydroxycoumarine	*F. septica*	Wu *et al*. (2002)
	8-Hydroxybergaptol 5-*O*-glucoside	*F. ruficaulis*	Chang *et al*. (2004)
	Angelicine	*F. carica*	Gibernau *et al*. (1997)
	Bergaptene	*F. pumila*	Pistelli *et al*. (2000)
	Esculetin 6-*O*-glucoside	*F. septica*	Wu *et al*. (2002)
	Marmesine	*F. nervosa*	Chen *et al*. (2010)
	Orlandine	*F. benghalensis*	Naczk *et al*. (1992)

	Psoralene	*F. carica* *F. hirta* *F. formosana*	Okahara *et al*. (1936) Li *et al*. (2006) Huang *et al*. (2013)
	Scopoletine	*F. nervosa*	Chen *et al*. (2010)
	Seseline	*F. erecta*	Lee *et al*. (2004)
	7-hydroxycoumarine	*F. carica*	Lansky *et al*. (2008)
	Xanthyletine	*F. nervosa*	Chen *et al*. (2010)
Shikimates et Phénylpropanoïdes	Pungenine	*F. septica*	Ueda *et al*. (2009)
	2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-diméthoxyphényl)propan-1-one	*F. erecta*	Lee *et al*. (2002)
	3-éthoxy-3-(4-hydroxy-3,5-diméthoxyphényl)propane-1,2-diol	*F. erecta*	Lee *et al*. (2002)
	β-hydroxypropiosyringone	*F. erecta*	Lee *et al*. (2002)
	4'-Hydroxyacetophenone	*F. erecta*	Lee *et al*. (2004)
	Benzyl β-D-glucoside	*F. pumila* *F. elastica*	Kitajima *et al*. (1998) Cruz *et al*. (2022)
	1-*O*-caféoylglucose	*F. carica* *F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Acide 5-p-coumaroylquinique	*F. carica*	Almahy *et al*. (2003)
	3-phényl-2-propenal	*F. carica*	Gibernau *et al*. (1997)
	Eugenol	*F. carica*	Gibernau *et al*. (1997)
	Acide rosmarinique	*F. sycomorus*	Kim *et al*. (2012)
Dérivés d'acide shikimique et cinnamique	Acide caféique	*F. benjamin* *F. carica* *F. auriculata* *F. microcarpa* *F. palmata* *F. racemosa* *F. sycomorus*	Cruz *et al*. (2022)
	Acide chlorogénique	*F. carica* *F. auriculata* *F. hispida* *F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Syringaldehyde	*F. septica* *F. formosana*	Kuo *et al*. (2002) Huang *et al*. (2013)
	4-Hydroxybenzaldehyde	*F. septica* *F. nervosa* *F. erecta*	Kuo *et al*. (2002) Chen *et al*. (2010) Lee *et al*. (2004)
	protocatéchualdehyde	*F. septica*	Kuo *et al*. (2002)
	Acide cinnamique	*F. benjamin* *F. carica* *F. sycomorus*	Cruz *et al*. (2022)
	Acide férulique	*F. carica* *F. racemosa* *F. sycomorus*	Cruz *et al*. (2022)
	Acide coumarique	*F. erecta* *F. carica*	Lee *et al*. (2004) Cruz *et al*. (2022)
Phénylethanoïdes	Homovanillyl alcool	*F. nota*	Kim *et al*. (2012)
Acides phénoliques	Acide 4-hydroxybenzoique	*F. carica*	Cruz *et al*. (2022)
	Acide quinique	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
	Acide syringique	*F. carica* *F. racemosa* *F. sycomorus*	Cruz *et al*. (2022)
	Acide tannique	*F. racemosa*	Cruz *et al*. (2022)
	Acide-4-*O*-rhamnoside vannillique	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Gallate de méthyle	*F. carica*	Cruz *et al*. (2022)
	Resorcinol	*F. carica*	Cruz *et al*. (2022)

	Acide 2,4,5-trihydroxybenzoique	*F. glumosa*	Nana *et al*. (2012)
	Acide protocatéchique	*F. pandurata* *F. carica* *F. bizanae* *F. glumosa* *F. hispirida* *F. palmata*	Ramadan *et al*. (2009) Cruz *et al*. (2022)
	Isovanillin	*F. erecta*	Lee *et al*. (2004)
	Vanilline	*F. erecta* *F. racemosa* *F. sycomorus*	Lee *et al*. (2004) Cruz *et al*. (2022)
	Acide 4-méthoxybenzoique	*F. mucuso*	Bankeu *et al*. (2011)
	(R)-(−)-Mellein	*F. formosana*	Lansky *et al*. (2008)
	Acide vanillique	*F. septica* *F. carica* *F. auriculata* *F. racemosa* *F. sycomorus*	Lansky *et al*. (2008) Cruz *et al*. (2022)
	Acide benzoique	*F. sycomorus*	Cruz *et al*. (2022)
	Acide bétulinique	*F. carica*	Cruz *et al*. (2022)
	Acide ellagique	*F.carica*	Cruz *et al*. (2022)
	Acide gallique	*F. auriculata* *F. racemosa* *F. palmata* *F. hispirida*	Cruz *et al*. (2022)
Phénol	Ficusol	*F. microcarpa*	Li *et al*. (1998)
	Paeonol	*F. benghalensis*	Naczk *et al*. (1992)
	4,4'-(1,3-Dioxane-4,5-diyl)bis(2-méthoxyphenol)	*F. erecta*	Lee *et al*. (2002)
Flavonoïdes	Quercetin 3-*O*-glucopyranoside	*F. auriculata* *F. carica* *F. palmata* *F. pandurata*	Cruz *et al*. (2022) Siewek *et al*. (1985) Ramadan *et al*. (2009)
	Ficubee A et B	*F. erecta*	Lee *et al*. (2004)
	4',5,6,7,8-pentaméthoxyflavone	*F. hirta*	Li *et al*. (2006)
	4',5,7-trihydroxyflavone	*F. hirta* *F. sur*	Li *et al*. (2006) Cruz *et al*. (2022)
	Schliebenone A	*F. hispida*	Cruz *et al*. (2022)
	5-hydroxy-4',6,7,8-tetraméthoxy flavone	*F. hirta*	Li *et al*. (2006)
	Chrysoeriol	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Eriodictyol	*F. carica* *F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Eriodictyol-7-*O*-β-D-glucoside	*F. Hirta*	Cruz *et al*. (2022)
	Epigallocatechin gallate	*F. carica*	de Pascual-Teresa *et al*. (2000)
	Dihydrokaempferol	*F. cordata*	Poumale *et al*. (2008)
	Dihydroquercetine	*F. cordata*	Poumale *et al*. (2008)
	Conrauiflavonol	*F. conraui*	Kengap *et al*. (2011)
	Procyanidine B2	*F. carica*	de Pascual-Teresa *et al*. (2000)
	Procyanidine B1	*F. carica*	de Pascual-Teresa *et al*. (2000)
	Procyanidine B7	*F. carica*	de Pascual-Teresa *et al*. (2000)
	Procyanidine B4	*F. carica*	de Pascual-Teresa *et al*. (2000)

	Procyanidine B3	*F. carica*	de Pascual-Teresa *et al*. (2000)
	Procyanidine C1	*F. carica*	de Pascual-Teresa *et al*. (2000)
	3,5,4'-Trihydroxy-6'',6''-diméthylpyrano[2,3:7,6]flavone	*F. conraui*	Kengap *et al*. (2011)
	2''-*O*-β-D-Xylopyranosylquercitrine	*F. sagittata*	Naressi *et al*. (2012)
	Kaempferol-3-*O*-glucorhamnoside	*F. pandurata*	Ramadan *et al*. (2009)
	4',5,6,7-tetraméthoxyflavone	*F. altissima*	Sharaf *et al*. (2000)
	Prodelphinidine B	*F. carica*	de Pascual-Teresa *et al*. (2000)
	3',4',5',5,7-Pentaméthoxyflavone	*F. maxima*	Diaz *et al*. (1997)
	Kaempferol-3-*O*-rhamnoside-7-*O*-rhamnoside	*F. septica*	Lansky *et al*. (2008)
	Acacetin 7-glucoside	*F. lyrata*	Basudan *et al*. (2005)
	5-Hydroxy-2,2-diméthyl-8-phénylpyrano[3,2-g]chromen-6-one	*F. formosana*	Sheu *et al*. (2005)
	Isovitexin 2''-*O*-rhamnoside	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	Acacetin-7-*O*-neohesperidoside	*F. lyrata*	Basudan *et al*. (2005)
	7-Méthoxychroman-2-one	*F. sagittata*	Naressi *et al*. (2012)
	Apigenin-2-*O*-rhamnose-C-acetylglucopyranoside	*F. carica*	Cruz *et al*. (2022)
	Apigenin-6-C-glucoside-8-C-xyloside	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Apigenin-8-C-glucoside-6-C-xyloside	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Apigénine	*F. auriculata* *F. carica* *F. nervosa*	Cruz *et al*. (2022) Chen *et al*. (2010)
	Artemetine	*F. altissima*	Sharaf *et al*. (2000)
	Kaempferol 3-*O*-glucoside (Astragalin)	*F. carica* *F. palmata*	Siewek *et al*. (1985) Cruz *et al*. (2022)
	Carpachromène	*F. nervosa* *F. formosana*	Chen *et al*. (2010) Huang *et al*. (2013)
	Chrysin	*F. pumila*	Pistelli *et al*. (2000)
	Cyanidin-3-(malonyl-glucoside)	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Cyanidin-3,5-*O*-diglucoside	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Cyanidin-3-*O*-glucoside	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Cyanidin-3-*O*-rutinoside	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Epicatéchine	*F. auriculata* *F. carica* *F. microcarpa* *F. racemosa* *F. virens*	Cruz *et al*. (2022) de Pascual-Teresa *et al*. (2000)
	Catéchine	*F. auriculata* *F. carica* *F. sur* *F. lyrata* *F. palmata* *F. racemosa* *F. microcarpa* *F. sycomorus*	Cruz *et al*. (2022)
	Gallocatéchine	*F. carica*	de Pascual-Teresa *et al*. (2000)
	Hesperetin 7-rutinoside	*F. erecta* *F. hirta*	Lansky *et al*. (2008) Li *et al*. (2006)
	Apigenin-6-C-glucoside	*F. auriculata* *F. carica* *F. microcarpa*	Cruz *et al*. (2022) Kiem *et al*. (2011)
	Kaempferol 3-rhamnoside	*F. elastica*	Kim *et al*. (2012)

	Kaempferol	*F. auriculata* *F. mucuso* *F. carica* *F. microcarpa* *F. sycomorus* *F. formosana*	Cruz *et al*. (2022) Bankeu *et al*. (2011)
	Licoflavone C	*F. conraui*	Kengap *et al*. (2011)
	Luteoline	*F. cordata* *F. palmata* *F. carica* *F. microcarpa* *F. Hirta*	Kuete *et al*. (2008) Cruz *et al*. (2022)
	Luteolin 6-C-glucoside 8-C-arabinoside	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Luteoline-8,6-C-diglucoside	*F. lyrata*	Cruz *et al*. (2022)
	Luteoline-8-C-glucoside	*F. carica*	Cruz *et al*. (2022)
	Myricétine	*F. auriculata* *F. sycomorus* *F. carica*	Cruz *et al*. (2022) Kim *et al*. (2012) Lugasi *et al*. (2002)
	Myricetin hexaméthyl ether	*F. altissima*	Sharaf *et al*. (2000)
	Myricétin 3-*O*-rhamnoside	*F. elastica*	Cruz *et al*. (2022)
	Naringénine	*F. pumila* *F. benjamina* *F. carica* *F. sycomorus*	Pistelli *et al*. (2000) Cruz *et al*. (2022)
	Naringénine-6-C-glucoside	*F. Hirta*	Cruz *et al*. (2022)
	Naringénine-7-*O*-β-D-glucoside	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Naringénine-8-C-glucoside	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Naringénine 7-rhamnoglucoside	*F. carica*	Almahy *et al*. (2003)
	Kaempferol-3-*O*-rutinoside	*F. carica* *F. palmata*	Siewek *et al*. (1985) Cruz *et al*. (2022)
	Norartocarpetin	*F. formosana*	Sheu *et al*. (2005)
	Norartocarpanone	*F. formosana*	Lansky *et al*. (2008)
	Obovatine	*F. formosana*	Lansky *et al*. (2008)
	Pelargonidin-3-*O*-glucoside	*F. carica*	Cruz *et al*. (2022)
	Pelargonidin-3-*O*-rutinoside	*F. carica*	Cruz *et al*. (2022)
	3-*O*-Méthylquercétine	*F. mucuso*	Bankeu *et al*. (2011)
	Quercétine	*F. racemosa* *F. auriculata* *F. carica* *F. microcarpa* *F. palmata* *F. pandurata*	Cruz *et al*. (2022) Ramadan *et al*. (2009)
	Quercétine-3-*O*-rutinoside-7-*O*-glucoside	*F. palmata*	Cruz *et al*. (2022)
	Quercetin 3-rhamnoside	*F. elastica* *F. auriculata*	Cruz *et al*. (2022)
	Quercitrine-7-*O*-glucopyranoside	*F. glumosa* *F. sycomorus*	Cruz *et al*. (2022)
	Quercetin 3-rutinoside	*F. auriculata* *F. carica* *F. sycomorus* *F. pandurata* *F. ruficaulis* *F. palmata* *F. racemosa*	Cruz *et al*. (2022) El-Kholy *et al*. (1966) Chang *et al*. (2004) Ramadan *et al*. (2009)
	Apigenin-6-glucoside-8-arabinoside	*F. carica*	Siewek *et al*. (1985)
	Steppogenine	*F. formosana*	Sheu *et al*. (2005)

	Tangeretine	*F. erecta*	Lansky *et al*. (2008)
	Tricetine	*F. pumila*	Pistelli *et al*. (2000)
	Xanthomicrol	*F. lyrata*	Basudan *et al*. (2005)
	Isoglabranine	*F. glumosa* *F. formosana*	Nana *et al*. (2012) Lansky *et al*. (2008)
	Icariside F2	*F. elastica*	Kim *et al*., (2012)
	Pinocembrin-7-*O*-β-D-glucoside	*F. Hirta*	Cruz *et al*. (2022)
	Apigenin 8-C-glucoside	*F. auriculata* *F. carica*	Cruz *et al*. (2022)
Isoflavonoïdes	Ficusine A et B	*F. septica*	Nomura *et al*. (1995)
	Isolupinisoflavone E	*F. microcarpa*	Li *et al*. (1997)
	2'-hydroxybiochanine A	*F. nymphaeifolia*	Lansky *et al*. (2008)
	Ficuisoflavone	*F. microcarpa*	Li *et al*. (1997)
	Erycibenine A	*F. nymphaeifolia*	Lansky *et al*. (2008)
	Alpinumisoflavone	*F. nervosa*	Chen *et al*. (2010)
	Cajanine	*F. nervosa*	Chen *et al*. (2010)
	Coryline	*F. mucuso*	Bankeu *et al*. (2011)
	Genisteine	*F. pumila* *F. hispida*	Pistelli *et al*. (2000) Cruz *et al*. (2022)
	Isoderrone	*F. mucuso*	Bankeu *et al*. (2011)
	Isowighteone	*F. mucuso*	Bankeu *et al*. (2011)
	Parvisoflavone B	*F. nervosa*	Chen *et al*. (2010)
	Prunetine	*F. nervosa*	Chen *et al*. (2010)
	Wighteone	*F. mucuso*	Bankeu *et al*. (2011)
	3'-formyl-5,7-dihydroxy-4'-méthoxyisoflavone	*F. hispida*	Cruz *et al*. (2022)
	Isoorientine	*F. lyrata* *F. carica*	Cruz *et al*. (2022)
	Isowigtheone hydrate	*F. hispida*	Cruz *et al*. (2022)
Lignanes	Lyoniside	*F. glumosa*	Nana *et al*. (2012)
	Ficusesquilignan A	*F. microcarpa*	Li *et al*. (1997)
	Matairesinol	*F. carica*	Kuhnle *et al*. (2009)
	Syringaresinol	*F. septica*	Kuo *et al*. (2002)
	Syringine	*F. elastica*	Ragasa, C. *et al*. (2014)
	Threo-2,3-bis(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-3-ethoxypropan-1-ol	*F. erecta*	Lee *et al*. (2002)
Macrolides	Lasiodiplodine	*F. nervosa*	Chen *et al*. (2010)
Phloroglucinols	1-(4-hydroxy-2-méthoxyphényl)ethanone	*F. benghalensis*	Naczk *et al*. (1992)
Polyketides	Feroxidine	*F. elastica*	Kim *et al*., (2012)
Apocaroténoïdes	Roséoside	*F. elastica*	Kim *et al*., (2012)
	4-Hydroxy-4-(2-hydroxyéthyl)-3,3,5-triméthylcyclohexan-1-one	*F. microcarpa*	Kuo *et al*. (1999)
	Acide ficusique	*F. microcarpa*	Li *et al*. (1998)
	Citroside B	*F. elastica*	Tsai *et al*. (2012)
Caroténoïdes	β-Carotène	*F. odorata*	Tsai *et al*. (2012)
	Lutéine	*F. odorata*	Verma *et al*. (2015)
diterpénoïdes	Phytol	*F. benghalensis*	Kim *et al*. (2012)
Meroterpenoïdes	Acide 3-(7-méthoxy-2,2-diméthylchromen-6-yl)prop-2-enoique	*F. formosana*	Sheu *et al*. (2005)
	VE-FPL	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	α-Tocopherol	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
Monoterpenoïdes	Ficusolide	*F. microcarpa*	Kou *et al*. (1999)
	Limonene	*F. carica*	Buttery *et al*. (1986)
	Linalool dihydroepoxide	*F. carica*	Gibernau *et al*. (1997)
	Linalool	*F. carica*	Gibernau *et al*. (1997)
	Trans-β-ocimene	*F. carica*	Buttery *et al*. (1986)
	α-pinene	*F. carica*	Buttery *et al*. (1986)
	myrcene	*F. carica*	Buttery *et al*. (1986)

	β-pinene	*F. carica*	Buttery *et al*. (1986)
Sesquiterpenoïdes	Germacrene D	*F. carica*	Gibernau *et al*. (1997)
	Pumilaside C	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	Farnesene	*F. carica*	Buttery *et al*. (1986)
	Corchoionoside C	*F. elastica*	Verma *et al*. (2015)
	Globulol	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
Stéroïdes	4,22-Stigmastadiène-3-one	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
	Acétate d'ergostérol	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
	β-progestérone	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
	Furostanol	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
	Dihydrobrassicasterol	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
	β-sitosterol-3-*O*-glucoside	*F. natalensis* *F. septica*	Ragasa *et al*. (2016) Lansky *et al*. (2008)
	β-sitosteryl-3β-glucopyranoside-6'-*O*-palmitate	*F. odorata*	Parveen *et al*. (2009)
	Sitoindoside I	*F. carica*	Rubnov *et al*. (2001)
	Stigmasterol-3-*O*-β-D-glucoside	*F. virens*	Sayed *et al*. (2001)
	Stigmast-5-ene-3β,24-diol	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	O-stearyl-β-D-glucosyl-β-sitosterol	*F. carica*	Rubnov *et al*. (2001)
	β-Sitosteryl 6'-*O*-linoleoyl-β-D-glucopyranoside	*F. carica*	Rubnov *et al*. (2001)
	Stigmasta-5-en-3-*O*-(6-*O*-heptadecanoyl-β-D-glucopyranoside	*F. glumosa*	Nana *et al*. (2012)
	7-oxo-β-sitosterol	*F. erecta*	Lee *et al*. (2004)
	7a-Hydroxysitosterol	*F. erecta*	Lee *et al*. (2004)
	24-hydroxystigmast-4-en-3-one	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	3-hydroxy-5,7-epidioxyergosta-6,22-diene	*F. nervosa*	Chen *et al*. (2010)
	7β-hydroxysitosterol	*F. erecta*	Lee *et al*. (2004)
	Sitogluside	*F. polita*	Pergaud *et al*. (2010)
	β-sitosterol	*F. septica* *F. pumila* *F. natalensis* *F. nota* *F. vallis-choudae* *F. formosana*	Kuo *et al*. (2002) Kitajima *et al*. (1998) Bankeu *et al*. (2017) Mbougnia *et al*. (2012) Ragasa *et al*. (2016)
	Stigmasterol	*F. benjamina* *F. benghalensis* *F. septica* *F. hirta* *F. formosana*	Parveen *et al*. (2009) Almahy *et al*. (2003) Verma *et al*. (2015) Ragasa *et al*. (2016) Huang *et al*. (2013)
	Phytosterol	*F. polita* *F. pandurata* *F. septica*	Pergaud *et al*. (2010) Ramadan *et al*. (2009) Lansky *et al*. (2008)
Triterpénoïdes	Serrat-3-one	*F. benjamina*	Li *et al*. (2006)
	3β-acétoxy-α-amyrine	*F. hirta*	Parveen *et al*. (2009)
	3β-acétoxy-β-amyrine	*F. hirta*	Li *et al*. (2006)
	3β-hydroxy-stigmast-5-en-7-one	*F. hirta*	Verma *et al*. (2015)
	Acétate de cycloartanyle	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
	Acétate de lanosterol	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
	Acétate de lupenyle	*F. benghalensis*	Tsai *et al*. (2012)
	Fridelanol	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
	Lanostérol	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
	Cyclolaudenol	*F. benghalensis*	Verma *et al*. (2015)
	β-amyrin palmitate	*F. vallis-choudae*	Bankeu *et al*. (2017)
	Acide acétylursolique	*F. microcarpa*	Chiang *et al*. (2005)
	3-acétoxy-1,11-epidioxy-12-ursene	*F. microcarpa*	Lansky *et al*. (2008)

	(20S)-3-acétoxy-20-hydropéroxy-30-norlupane	*F. microcarpa*	Lansky *et al*. (2008)
	Lanosta-7,24-dien-3-one	*F. glumosa*	Nana *et al*. (2012)
	Acide betulonique	*F. microcarpa*	Lansky *et al*. (2008)
	Acide acétylbetulinique	*F. microcarpa*	Lansky *et al*. (2008)
	Cycloart-25-ene-3,24-diol	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	11-(acétyloxy)urs-12-en-3-yl acetate	*F. microcarpa*	Kuo *et al*. (2000)
	3β-acétoxy-11α-hydropéroxy-12-ursene	*F. microcarpa*	Kuo *et al*. (2000)
	3β-acétoxy-11α-hydroxy-12-oleanene	*F. microcarpa*	Kuo *et al*. (2000)
	β-Amyrone	*F. pandurata*	Ramadan *et al*. (2009)
	3β-acétoxy-20,24-diméthoxydammaran-22-en-25-ol	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	(23Z)-3β-acétoxyeupha-7,23-dien-25-ol	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	Acide 3-*O*-cis-p-coumaroyltormentique	*F. mucuso*	Bankeu *et al*. (2011)
	Acide ursonique	*F. microcarpa*	Chiang *et al*. (2005)
	3β-acétoxycycloart-25-en-24-ol	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	3β-acétoxycycloart-23-en-25-ol	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	3β-acétoxy-22,23,24,25,26,27-hexanordammaran-20-one	*F. fistulosa* *F. pumila*	Tuyen *et al*. (1999) Kitajima *et al*. (1999)
	3β-acétoxy-20,21,22,23,24,25,26,27-octonordammaran-17β-ol	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	Acide olean-12-en-28-oique	*F. microcarpa*	Chiang *et al*. (2005)
	3β-24-méthylenecycloartan-3-ol	*F. carica*	Ahmed *et al*. (1988)
	Lanosterol-11-one acetate	*F. fistulosa*	Tuyen *et al*. (1999)
	Lanosta-8,24-dien-3-one	*F. glumosa*	Nana *et al*. (2012)
	Deshikendrylester	*F. fistulosa*	Tuyen *et al*. (1999)
	20-taraxasten-3β-ol	*F. microcarpa*	Kuo *et al*. (1999)
	Marsformoxide B	*F. fistulosa*	Tuyen *et al*. (1999)
	3β-acétyl ursa-14:15-en-16-one	*F. fistulosa*	Tuyen *et al*. (1999)
	Ilexole	*F. carica*	Ahmed *et al*. (1988)
	24-Methylenecycloartanol	F. fistulosa	Tuyen *et al*. (1999)
	Acide 3α-hydroxy-isohop-22(29)-en-24-oique	*F. sarmentosa*	Kitajima *et al*. (1998)
	Acide betulinique	*F. pandurata* *F. polita*	Ramadan *et al*. (2009) Pergaud *et al*. (2010)
	Glutinole	*F. pumila*	Kitajima *et al*. (1998)
	Lupeole	*F. polita* *F. septica* *F. carica*	Pergaud *et al*. (2010) Kuo *et al*. (2013) Lansky *et al*. (2008)
	Méthyl 2,3-dihydroxylup-20(29)-en-28-oate	*F. pandurata*	Ramadan *et al*. (2009)
	Simiarenole	*F. septica*	Kuo *et al*. (2002)
	Squalene	*F. septica* *F. odorata*	Wu *et al*. (2002) Li *et al*. (2006)
	Taraxerol	*F. sarmentosa* *F. natalensis*	Kitajima *et al*. (1998) Ragasa *et al*. (2016)
	Acide ursolique	*F. elastica* *F. pandurata* *F. microcarpa*	Ramadan *et al*. (2009) Verma *et al*. (2015) Chiang *et al*. (2005)
	α-amyrine	*F. pumila* *F. septica* *F. pandurata*	Kitajima *et al*. (1998) Bankeu *et al*. (2017) Ramadan *et al*. (2009)
	Acétate d'α-Amyrine	*F. pandurata* *F. benghalensis*	Ramadan *et al*. (2009) Verma *et al*. (2015)
	β-amyrine	*F. cordata* *F. pumila* *F. vallis-choudae* *F. septica*	Poumale *et al*. (2008) Kitajima *et al*. (1998) Ragasa *et al*. (2016) Bankeu *et al*. (2017)

	Rhoiptelenol	*F. pumila* *F. sarmentosa*	Kitajima *et al*. (1998)
	Friedeline	*F. benjamina* *F. cordata*	Parveen *et al*. (2009) Poumale *et al*. (2008)
	Acide oléanolique	*F. nervosa* *F. cordata* *F. elastic* *F. microcapa*	Chen *et al*. (2010) Poumale *et al*. (2008) Kim *et al*. (2012) Chiang *et al*. (2005)
	Acétate de lupéole	*F. carica* *F. macrophylla* *F. odorata*	Galbraith *et al*. (1965) Li *et al*. (2006)
	β-amyrin acetate	*F. conraui* *F. sarmentosa*	Kengap *et al*. (2011) Kitajima *et al*. (1998)

Annexe 2 : Données de la littérature de la phytochimie du genre *Cordia*

Famille de molécules	Molécules	Espèces	Bibliographie
Acides gras et dérivés	Acide linoléique	*C. sinensis*	Daulatabad *et al*. (1992)
	Acide malvalique	*C. sinensis*	Daulatabad *et al*. (1992)
	Acide oléique	*C. sinensis*	Daulatabad *et al*. (1992)
	Acide ricinoléique	*C. sinensis*	Daulatabad *et al*. (1992)
	Acide stéarique	*C. sinensis*	Daulatabad *et al*. (1992)
	Acide sterculique	*C. sinensis*	Daulatabad *et al*. (1992)
	Acide myristique	*C. sinensis*	Daulatabad *et al*. (1992)
	Acide palmitique	*C. sinensis*	Daulatabad *et al*. (1992)
	Acide docosanoique	*C. dichotoma*	Raghuvanshi *et al*. (2022)
	Hentricontanol	*C. dichotoma*	Raghuvanshi *et al*. (2022)
	Hentriacontane	*C. dichotoma*	Raghuvanshi *et al*. (2022)
	Octacosanol	*C. dichotoma*	Raghuvanshi *et al*. (2022)
	(5-formylfuran-2-yl)méthyl octadécanoate	*C. dichotoma*	Siddiqui *et al*. (2010)
Saccharides	D-fructopyranose	*C. dichotoma*	Manners *et al*. (1977)
	Fructose	*C. dichotoma*	Saleh *et al*. (1969)
	Hex-2-ulofuranosyl hexopyranoside	*C. dichotoma* *C. trichotoma*	Saleh *et al*. (1969) Menezes *et al*. (2001)
	Raffinose	*C. dichotoma*	Saleh *et al*. (1969)
Polyols	Pinitol	*C. boissieri*	Domínguez *et al*. (1973)
Alcaloïdes	Allantoine	*C. trichotoma* *C. oncocalyx* *C. boissieri* *C. dichotoma*	Menezes *et al*. (2001) Pessoa *et al*. (1995) Domínguez *et al*. (1973) Tiwari *et al*. (1979)
	Cordioxime	*C. platythyrsa*	Christelle *et al*. (2011)
	Cordiarimide A et B	*C. globifera*	Parks *et al*. (2010)
Dérivés d'acide cinnamique et shikimique	Acide chlorogénique	*C. dichotoma*	Pawar *et al*. (2018)
	Acide caféique	*C.sebestena*	Dai *et al*. (2010)
	4-Hydroxybenzaldehyde	*C. dichotoma*	Raghuvanshi *et al*. (2022)
Shikimates et phénylpropanoïdes	1-méthoxy-4-(phénoxyméthyl)benzene	*C. dichotoma*	Siddiqui *et al*. (2010)
	Acide 2-hydroxy-3-(4-méthoxyphényl)propanoique	*C. dichotoma*	Begum *et al*. (2011)
	3-(3-hydroxy-2,4,5,6-tetraméthoxyphényl)prop-2-enal	*C. americana*	Moir *et al*. (1973)
	Ethyl p-hydroxyphényllactate	*C. dichotoma*	Begum *et al*. (2011)
	Latifolicinin C	*C. dichotoma*	Raghuvanshi *et al*. (2022)
	4'-Hydroxypropiophenone	*C. dichotoma*	Raghuvanshi *et al*. (2022)
	3-(3-hydroxy-2,4,5,6-tetraméthoxyphényl)prop-2-enal	*C. americana*	Moir *et al*. (1973)
	1-(3'-méthoxypropanoyl)-2,4,5-triméthoxybenzene	*C. alliodora*	Ioset *et al*. (2000)
	Acide 3-(2',4',5'-triméthoxyphényl) propanoique	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2001)
	Acide rosmarinique	*C. americana* *C. dichotoma* *C. verbenacea* *C. sebestena*	Geller *et al*. (2010) Wang *et al*. (1996) Ticli *et al*. (2005) Dai *et al*. (2010)
	Benzyl benzoate	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Cordixanthone	*C. platythyrsa*	Atchade *et al*. (2012)
	Acide rosmarinique méthyl ester	*C. dichotoma* *C. sebestena*	Wang *et al*. (1996) Dai *et al*. (2010)
	4'-Hydroxyacetophenone	*C. dichotoma*	Raghuvanshi *et al*. (2022)
	Salicylate de méthyle	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Coniferyl aldéhyde	*C. dichotoma*	Begum *et al*. (2011)
	Acide rosmarinique 3-*O*-β-D-glucoside	*C. dichotoma*	Begum *et al*. (2011)
	Sebestenoide A, B, C et D	*C. sebestena*	Dai *et al*. (2010)
	Netpetoidine A et B	*C. sebestena*	Dai *et al*. (2010)

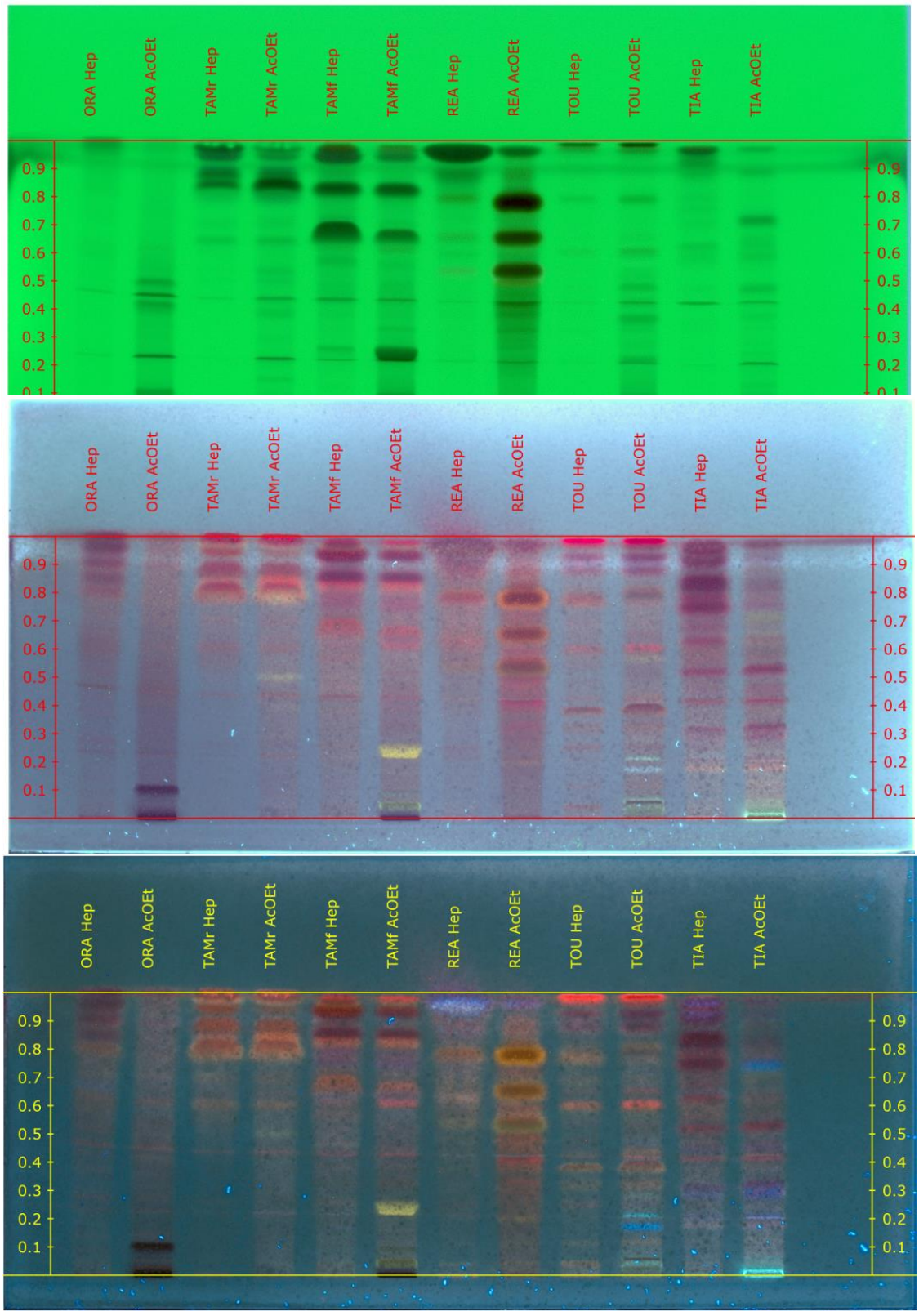
Flavonoïdes	3',5-dihydroxy-4'-méthoxy flavanone-7-*O*-α-L-rhamnopyranoside	*C. dichotoma*	Jamkhande *et al*. (2013)
	5,7-iméthoxytaxifolin-3-*O*-α-L-rhamnopyranoside	*C. dichotoma*	Chauhan *et al*. (1977)
	Apigénine	*C. dichotoma*	Ganjare *et al*. (2011)
	Hesperetin-7-*O*-β-L-rhamnopyranoside	*C. dichotoma*	Chauhan *et al*. (1978)
	Isorhamnetine	*C. dichotoma*	Kuppast *et al*. (2006)
	Kaempferol	*C. dichotoma*	Kuppast *et al*. (2006)
	Kaempferol-3-*O*-2G-rhamnosylrutinoside	*C. dichotoma*	Wang *et al*. (1996)
	Isorhamnetin 3-rhamnoglucoside	*C. dichotoma*	Wang *et al*. (1996)
	Kaempferol-3-rutinoside	*C. dichotoma*	Wang *et al*. (1996)
	Quercetin-3-*O*-2G-rhamnosylrutinoside	*C. dichotoma*	Wang *et al*. (1996)
	Quercetin 3-rhamnoside	*C. dichotoma*	Jamkhande *et al*. (2013)
	Robinine	*C. dichotoma*	Wang *et al*. (1996)
	Cordigol	*C. goetzei*	Marston *et al*. (1988)
	Calodenin B	*C. goetzei*	Marston *et al*. (1988)
	Artemetine	*C. verbenacea* *C. curassavica*	Sertié *et al*. (1990)
	Brickelline	*C. verbenacea* *C.curassavica*	Velde *et al*. (1982)
	Cordigone	*C. goetzei*	Marston *et al*. (1988)
	Kaempferol 3,4'-di-*O*-méthyl ether	*C. boissieri*	Domãnguez *et al*. (1973)
	Quercetin-3-rutinoside	*C. martinicensis* *C. dichotoma* *C. francisci*	Rapisarda *et al*. (1992)
	Quercetine	*C. dichotoma*	Saleh *et al*. (1969)
Lignanes	Rufescenolide B, C, D	*C. americana*	Fernandez *et al*. (2013)
	Acide yunnanéique I et J	*C. americana*	Fernandez *et al*. (2013)
Acides phénoliques	Méthyl 2-(hydroxyméthyl)-4,6-diméthoxybenzoate	*C. dichotoma*	Siddiqui *et al*. (2010)
	Acide 4-hydroxybenzoique	*C. dichotoma*	Raghuvanshi *et al*. (2022)
	Acide gallique	*C. verbenacea*	Matias *et al*. (2013)
Quinones	Alliodorine	*C. fragrantissima* *C. alliodora*	Mori *et al*. (2008) Manners *et al*. (1973) Manners *et al*. (1977)
	2-(2Z)-(3-hydroxy-3,7-diméthylocta-2,6-dienyl)-1,4-benzenediol	*C. alliodora*	Ioset *et al*. (2000)
	Alliodorol	*C. alliodora*	Manners *et al*. (1973)
	Allioquinol C	*C. alliodora*	Manners *et al*. (1973)
	Cordiachrome A, B, C, D, E, F et G	*C. alliodora* *C. fragrantissima* *C. trichotoma*	Manners *et al*. (1973) Mori *et al*. (2008) Moir *et al*. (1973) Menezes *et al*. (2001)
	Cordiaquinol C	*C. alliodora* *C. fragrantissima*	Manners *et al*. (1973) Mori *et al*. (2007)
	Cordiaquinol I, J et K	*C. fragrantissima*	Mori *et al*. (2007)
	Cordiaquinone A, B, J, K	*C. curassavica*	Ioset *et al*. (2000)
	Cordiol A	*C. alliodora*	Manners *et al*. (1973)
	Oncocalyxone A	*C. trichotoma* *C. oncocalyx* *C. glazioviana*	Menezes *et al*. (2001) Pessoa *et al*. (2003) da Costa *et al*. (1999)
	Leucocordiachrome H	*C. americana*	Moir *et al*. (1973)
Terpénoïdes	Chlorophylle A et B	*C. dichotoma*	Afzal *et al*. (2004)
Apocaroténoïdes	β-Damascenone	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
Caroténoïdes	19'-Z-violaxanthine	*C. dichotoma*	Afzal *et al*. (2004)
	Antheraxanthine	*C. dichotoma*	Afzal *et al*. (2004)
	Luteine	*C. dichotoma*	Afzal *et al*. (2004)

	Violaxanthine	*C. dichotoma*	Afzal *et al*. (2004)
	α et β Carotene	*C. dichotoma*	Afzal *et al*. (2004)
Monoterpénoïdes	(+)-Sabinène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Bornyl acetate	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Cis-Sabinène Hydraté	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Citronellol	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Cytronellyl acetate	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Geraniol	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Linalool	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	O-Cymène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Perillene	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Sylvestrene	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Terpinen-4-ol	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Terpinolène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Trans-β-Ocimène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	α-Phellandrene	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	α-Pinene	*C. africana* *C. verbenacea* *C. curassavica*	Ashmawy *et al*. (2015) De Carvalho *et al*. (2004) Rodrigues *et al*. (2012)
	α-Terpinene	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	β-Myrcène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	β-Pinene	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	γ-Terpinène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
Diterpénoïdes	(+) -Beyerene	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Phytol	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Acide cordioique	*C. dichotoma*	Siddiqui *et al*. (2006)
	Acide cordifolique	*C. dichotoma*	Siddiqui *et al*. (2006)
	Auxemime	*C. oncocalyx*	Marques *et al*. (2000)
Triterpénoïdes	Acide 3α-hydroxyolean-12-en-27-oique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Acide 3-oxoolean-12-en-27-oique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Acide 3,29-dioxoolean-12-en-27-oique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Acide 3α-hydroxy-29-oxoolean-12-en-27-oique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Acide 3α-hydroxyolean-12-ene-27,29-dioique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Acide 3α,29 dihydroxyolean-12-en-27-oique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Acide 3,29-dioxoolean-12-en-27-oique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Acide 3α,29-dihydroxyolean-12-en-27-oique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Acide 3α-hydroxy-29-oxoolean-12-en-27-oique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Acide 3α-hydroxyolean-12-en-27-oique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Acide 3α-hydroxyolean-12-ene-27,29-oique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Acide 3-oxoolean-12-en-27-oique	*C. alliodora*	Chen *et al*. (1983)
	Betuline	*C. dichotoma*	Agnihotri *et al*. (1987)
	Lup-20(29)-ene-3-*O*-β-D-maltoside	*C. dichotoma*	Chauhan *et al*. (1978)
	Lup-20(29)-ene-3-*O*-α-L-rhamnopyranoside	*C. dichotoma*	Srivastava *et al*. (1983)
	Squalène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	α-amyrine	*C. dichotoma*	Pawar *et al*. (2018)
	β-amyrine	*C. dichotoma*	Agnihotri *et al*. (1987)
	3α,6β,25-trihydroxy-20(*S*),24(*S*)-epoxydammarane	*C. spinescens*	Nakamura *et al*. (1997)
	Cordialine A et B	*C. curassavica* *C. verbenacea*	Velde *et al*. (1982)
	3*α*-acétoxy-6β,25-dihydroxy-20(*S*),24(*S*)-epoxydammarane	*C. spinescens*	Nakamura *et al*. (1997)
	Cabraleadiol	*C. spinescens*	Nakamura *et al*. (1997)
	Ocotillol	*C. spinescens*	Nakamura *et al*. (1997)
	Acide oléanolique	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2001)
Sesquiterpénoïdes	1β,4β,6α-Trihydroxy-eudesmane	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2004)

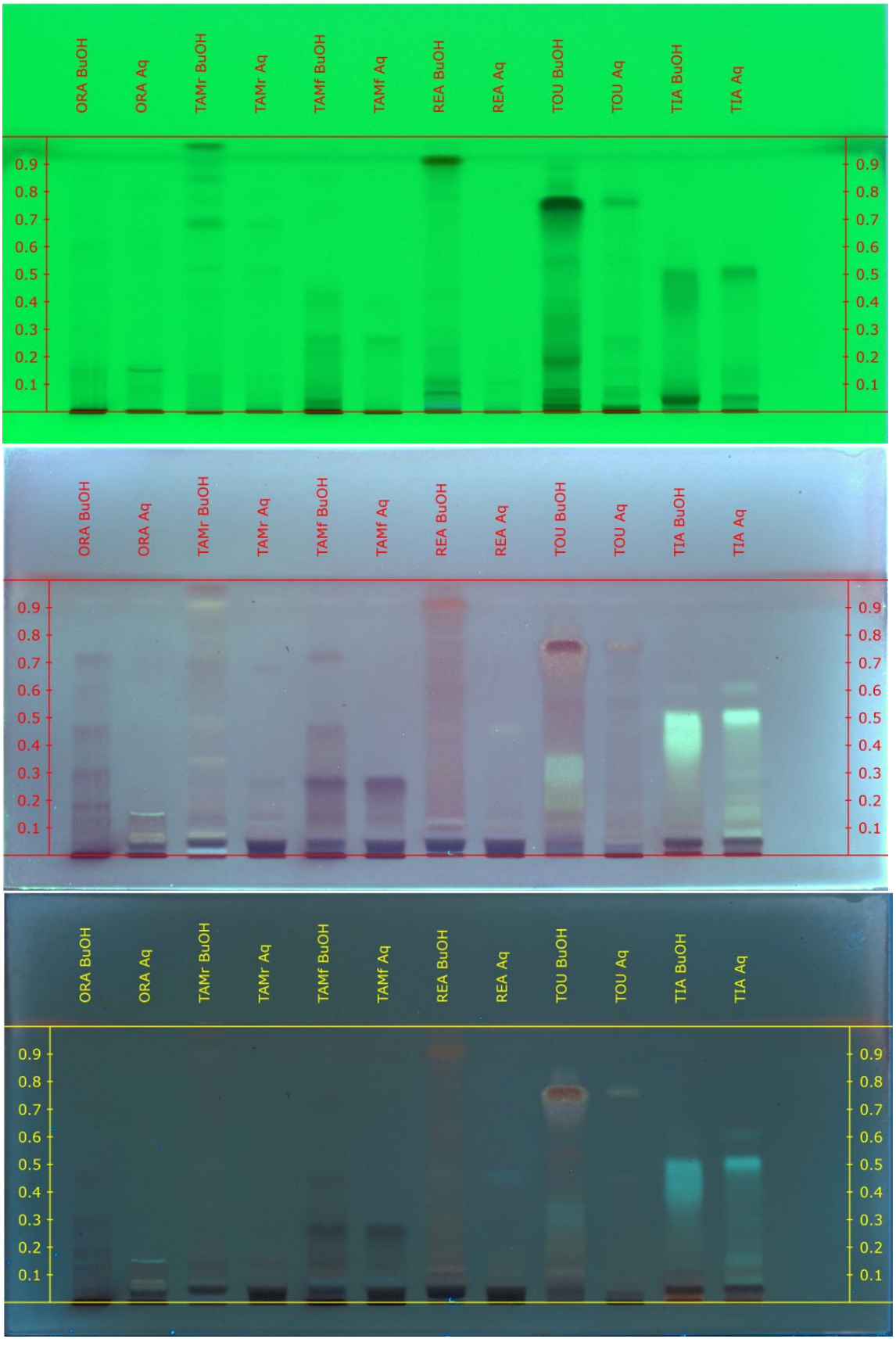
	Spathulenol	*C. curassavica*	Hernandez *et al*. (2007)
	1β,4β,7α-Trihydroxyeudesmane	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2004)
	1β,4β,11-Trihydroxyoppositane	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2004)
	(E, E) -Farnesol	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Sativene Epoxide	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Alloaromadendrene	*C. verbenacea*	Rodrigues *et al*. (2012)
	Bicyclogermacrene	*C. verbenacea*	Rodrigues *et al*. (2012)
	Caryophyllène oxide	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Dihydroedulan-I	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Epi-a-muurolol	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2005)
	Germacrène D	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Guaia-3,10(4)-dien-11-ol	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2005)
	Hexahydrofarnesyl acetone	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Oncocalyxone A	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2001)
	Phellandral	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Trichotomol	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2001)
	Tricyclène	*C. verbenacea*	Meccia *et al*. (2009)
	α-Cadinol	*C. trichotoma* *C. africana*	Menezes *et al*. (2001) Ashmawy *et al*. (2015)
	α-Calacorène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	α-Caryophyllène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	α-Copaene	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	α-Farnescène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	α-Humulene	*C. verbenacea*	Fernandes *et al*. (2007)
	α-Muurolène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	α-Muurolol	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2001)
	β-Bergamotene	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	β-Caryophyllene	*C. verbenacea* *C. africana* *C. curassavica*	Fernandes *et al*. (2007) Ashmawy *et al*. (2015) Santos *et al*. (2006)
	β-Cubebène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	β-Elemene	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	γ-Cadinène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	γ-Muurolène	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	δ-Cadinene	*C. africana* *C. verbenacea* *C. trichotoma*	Ashmawy *et al*. (2015) De Carvalho *et al*. (2004) Menezes *et al*. (2005)
	τ-Muurolol	*C. africana*	Ashmawy *et al*. (2015)
	Cordinol	*C. dichotoma*	Begum *et al*. (2011)
	Globiferine	*C. globifera*	Dettrakul *et al*. (2009)
	α-Cadinol	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2001)
	α-eudesmol	*C. trichotoma*	Seikel *et al*. (1964)
	β-eudesmol	*C. trichotoma*	Seikel *et al*. (1964)
	γ-eudesmol	*C. trichotoma*	Seikel *et al*. (1964)
	Guaiol	*C. trichotoma*	Seikel *et al*. (1964)
	rac-acetylcoradiaquinol I	*C. fragrantissima*	Mori *et al*. (2007)
Meroterpénoïdes	Cordiaquinol K	*C. fragrantissima*	Mori *et al*. (2008)
	2-(3-hydroxy-3,7-diméthylocta-1,6-dienyl)benzene-1,4-diol	*C. alliodora*	Ioset *et al*. (2000)
	2-(8-hydroxy-3,7-diméthylocta-2,6-dienyl)benzene-1,4-diol	*C. alliodora* *C. elaeagnoides*	Stevens *et al*. (1973) Manners *et al*. (1983)
	2-[8-hydroxy-3-(hydroxyméthyl)-7-méthylocta-2,6-dienyl] benzene-1,4-diol	*C. alliodora* *C. elaeagnoides*	Stevens *et al*. (1973) Manners *et al*. (1983)
	5,5-diméthyl-5,6,7,8,8a,9,10,10a-octahydroanthracene-1,4,8a-triol	*C. alliodora*	Stevens *et al*. (1973)

	8-(2,5-dihydroxyphényl) -2,6-diméthylocta-2,6-dienal	*C. fragrantissima* *C. alliodora*	Mori *et al*. (2008) Stevens *et al*. (1973)
	Glaziovianol	*C. glazioviana*	da Costa *et al*. (1999)
	2-(3,7-diméthylocta-2,6-dien-1-yl)benzene-1,4-diol	*C. elaeagnoides*	Manners *et al*. (1983)
	2-{2-[2,5-bis(acetyloxy)phényl]éthylidene}-6-méthyl-7-oxohept-5-en-1-yl acetate	*C. elaeagnoides*	Manners *et al*. (1983)
	5-(6-hydroxy-2-méthylchromen-2-yl)-2-méthylpent-2-enal	*C. elaeagnoides*	Manners *et al*. (1983)
	5-(6-hydroxy-2-méthylchromen-2-yl)-2-méthylpenta-2,4-dienal	*C. elaeagnoides*	Manners *et al*. (1983)
	5,5-Diméthyl-5,7,8,9,10,10a-hexahydro-1,4,8a(6H)-anthracenetriol	*C. alliodora*	Manners *et al*. (1977)
	8-(2,5-dihydroxyphényl)-6-hydroxy-2,6-diméthylocta-2,7-dienal	*C. fragrantissima*	Mori *et al*. (2007) Mori *et al*. (1964)
	Cordiachromene A	*C. elaeagnoides* *C. globifera*	Manners *et al*. (1983) Dettrakul *et al*. (2009)
	Geranylhydroquinone	*C. elaeagnoides*	Manners *et al*. (1983)
	Méthyl 8-(2,5-dihydroxyphényl)-2,6-diméthylocta-2,6-dienoate	*C. elaeagnoides*	Manners *et al*. (1983)
Stéroïdes	Datiscoside	*C. dichotoma*	Jamkhande *et al*. (2013)
	β-Sitosterol glucopyranoside	*C. platythyrsa*	Christelle *et al*. (2011)
	β-Sitosterol-β-D-glucose	*C. trichotoma*	Menezes *et al*. (2001)
	β-Sitosterin	*C. dichotoma* *C. sinensis* *C. oncocalyx* *C. trichotoma*	Tiwari *et al*. (1972) Seshadri *et al*. (1940) Pessoa *et al*. (1995) Menezes *et al*. (2001)
	β-Sitosterol 3-*O*-β-D-galactopyranoside	*C. oncocalyx* *C. trichotoma*	Pessoa *et al*. (1995) Menezes *et al*. (2001)
Saponines	3β-*O*-[α-L-rhamnopyranosyl-β-D-glucopyranosyl] acide ursolique 28-*O*-[β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl] ester	*C. rufescens*	Santos *et al*. (2003)
	3β-*O*-[α-L-rhamnopyranosyl-β-D-glucopyranosyl] acide pomolique 28-*O*-[β-D-glucopyanosyl-β-D-glucopyranosyl] ester	*C. rufescens*	Santos *et al*. (2005)
	3β-*O*-[α-L-rhamnopyranosyl-β-D-glucopyranosyl] acide oleanolique 28-*O*-[β-D-xylopyranosyl-β-D-glucopyanosyl-β-D-glucopyranosyl] ester	*C. rufescens*	Santos *et al*. (2005)
	3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-β-D-glucopyranosyl acide pomolique 28-*O*-β-D-glucopyranosyl ester	*C. rufescens*	Santos *et al*. (2007)
	3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-β-D-glucopyranosyl acide oleanolique 28-*O*-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl ester	*C. rufescens*	Santos *et al*. (2007)
Naphtalènes	1,4-Naphthalenedione, 6-[2-(1,2,6-trimethyl-3-oxocyclohexyl)ethyl]	*C.curassavica*	Ioset *et al*. (2000)
	1,4-Naphthalenedione, 6-[2-(2,2-dimethyl-6-methylene-3-oxocyclohexyl)ethyl]	*C.curassavica*	Ioset *et al*. (2000)
	1,2-dihydroxy-7-méthoxy-10-méthyl-5,8-dioxophenanthrene-3-carbaldéhyde	*C. glazioviana*	da Costa *et al*. (1999)
Polycétides polycycliques aromatiques	Auxenone	*C. oncocalyx*	Marques *et al*. (2000)
	Oncocalyxonol	*C. oncocalyx*	Marques *et al*. (2000)
Non classé	(2,5-dioxoimidazolidin-4-yl) urea	*C. dichotoma*	Jamkhande *et al*. (2013)
	4-Méthyl, 4-éthényl-3-(1-méthyl éthényl)-1-(1-méthyl	*C. curassavica*	Hernandez *et al*. (2007)
	Butyl (2r)-2-hydroxy-3-(4-hydroxyphényl)propanoate	*C. dichotoma*	Begum *et al*. (2011)
	Méthyl 3-(2,4,5-triméthoxyphényl)propanoate	*C. alliodora*	Ioset *et al*. (2000)

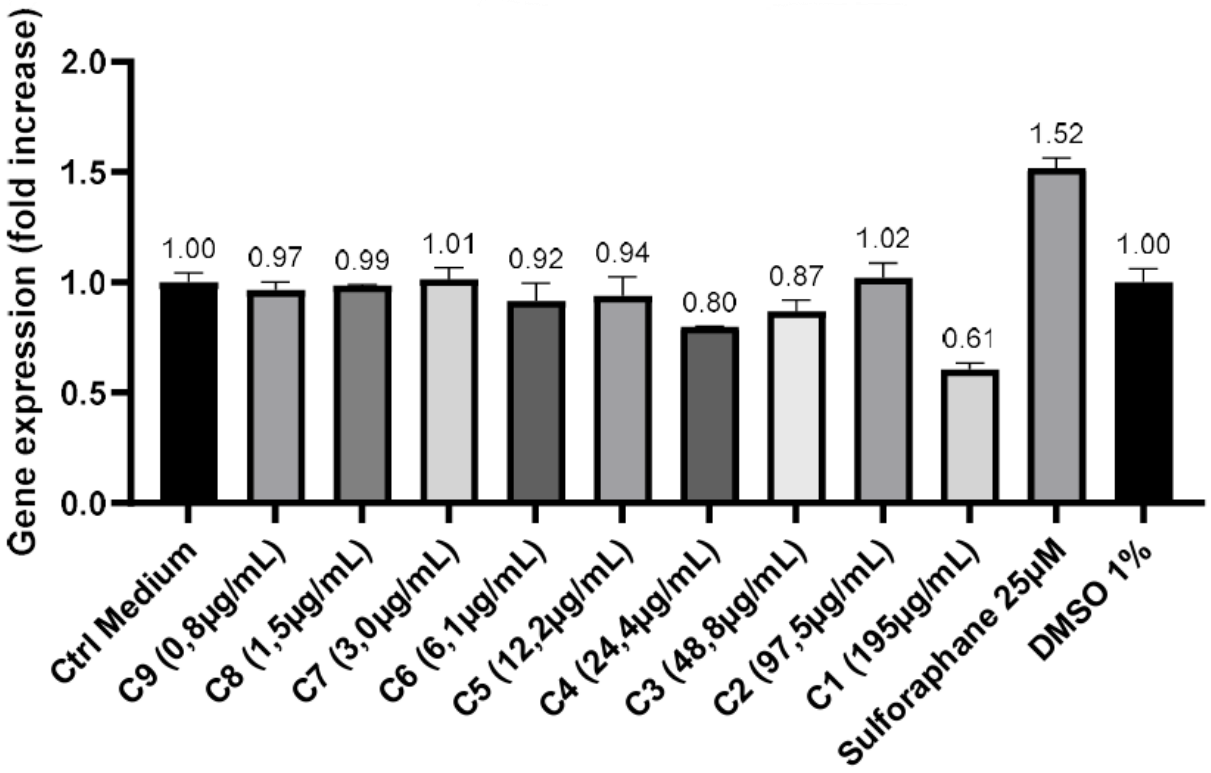
Annexe 3 : Photo des plaques HPTLC des extraits à l'heptane et à l'AcOEt sous UV à 254 nm et sous UV à 254 et 366 nm après pulvérisation de vanilline sulfurique



Annexe 4 : Photo des plaques HPTLC des extraits au butanol et aqueux sous UV à 254 nm et sous UV à 254 et 366 nm après pulvérisation de vanilline sulfurique

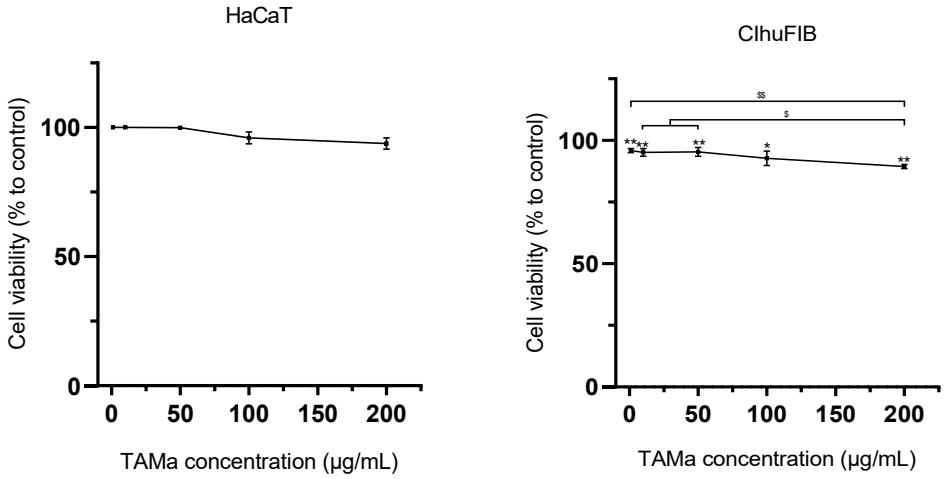


Annexe 5 : Test AOP 2

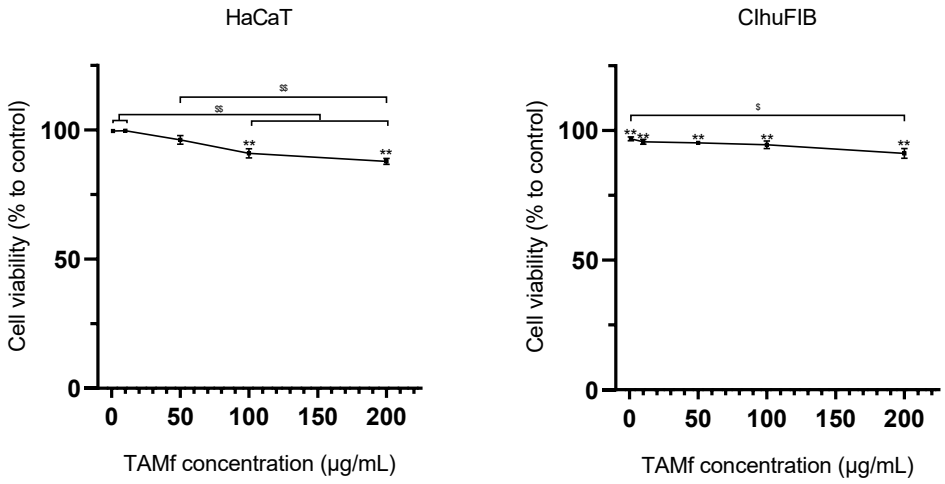


Annexe 6 : Test de viabilité cellulaire des extraits bruts sur kératinocytes et fibroblastes

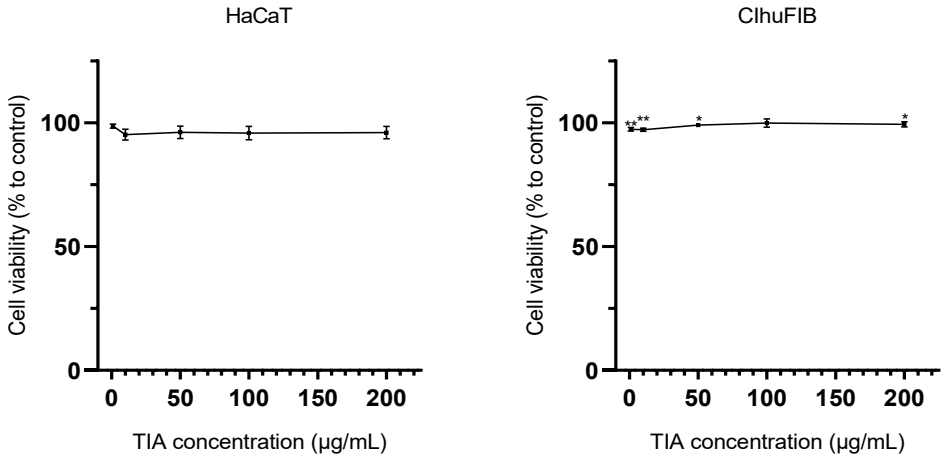
Amande de *C. inophyllum* (TAMa) :



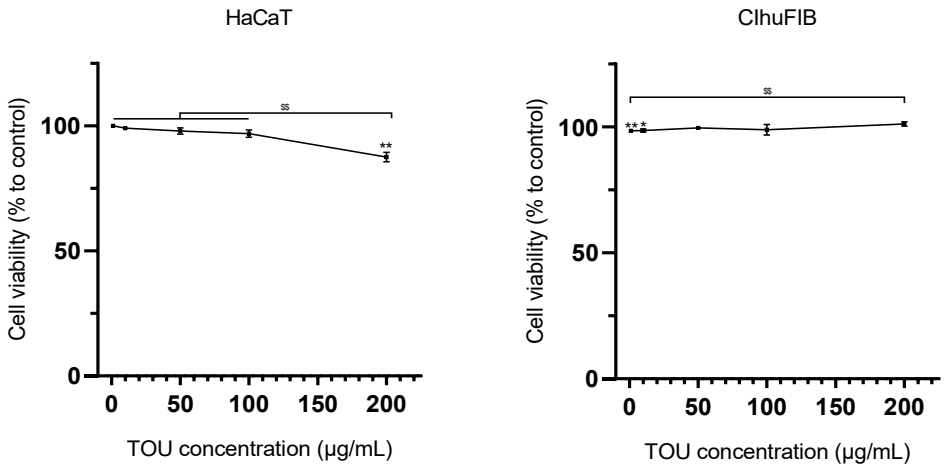
Feuille de *C. inophyllum* (TAMf) :



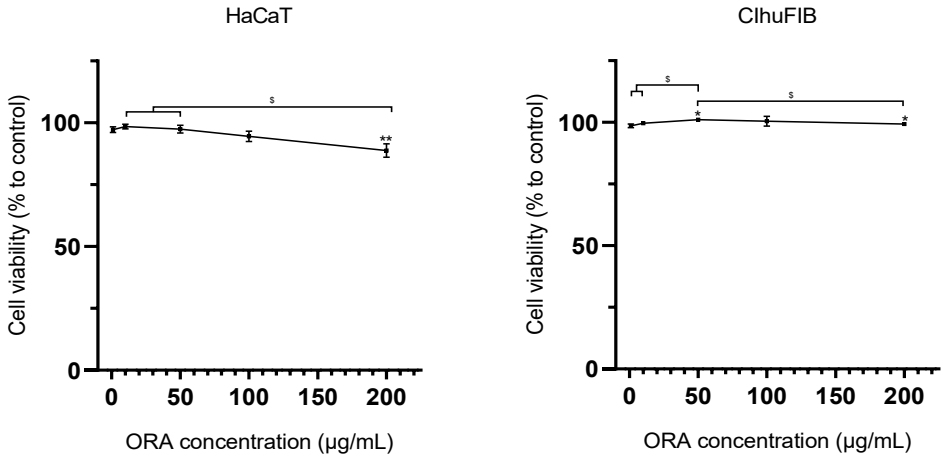
Fleur de *G. taitensis* :



Feuille de *C. subcordata* :

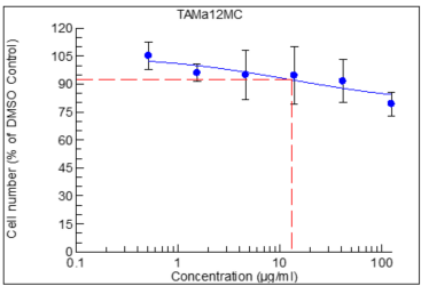


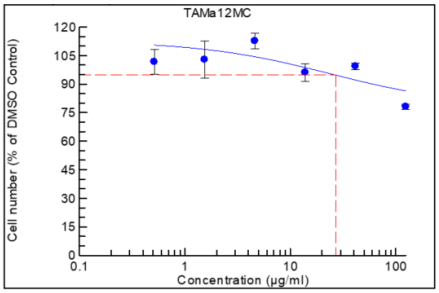
Racine aérienne de *F. prolixa* :



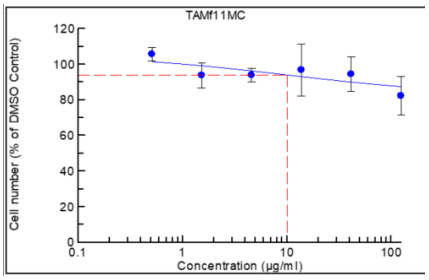
Annexe 7 : Inhibition de la prolifération ou induction de la mort cellulaire

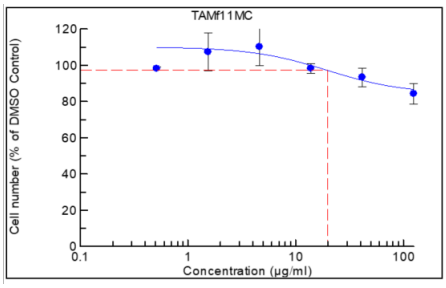
Amande *C. inophyllum* : Kératinocyte Fibroblaste



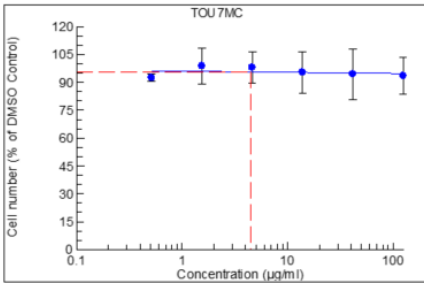


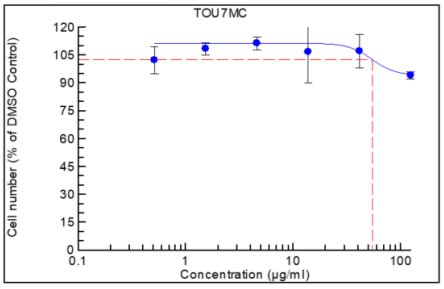
Feuille *C. inophyllum* : Kératinocyte Fibroblaste



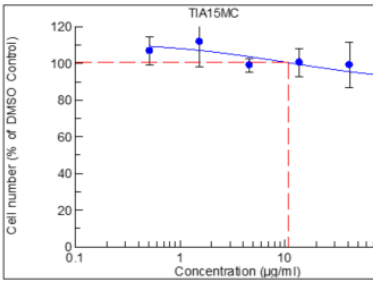


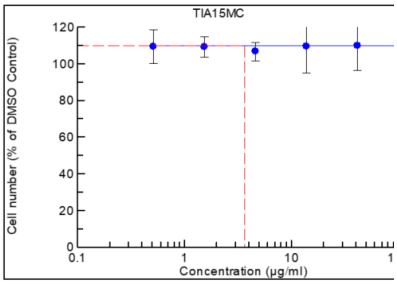
C. subcordata : Kératinocyte Fibroblaste



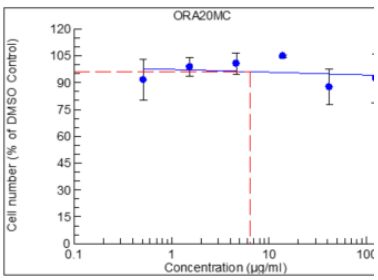


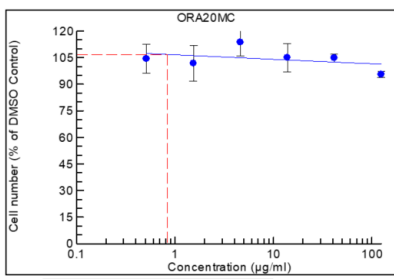
G. taitensis : Kératinocyte Fibroblaste



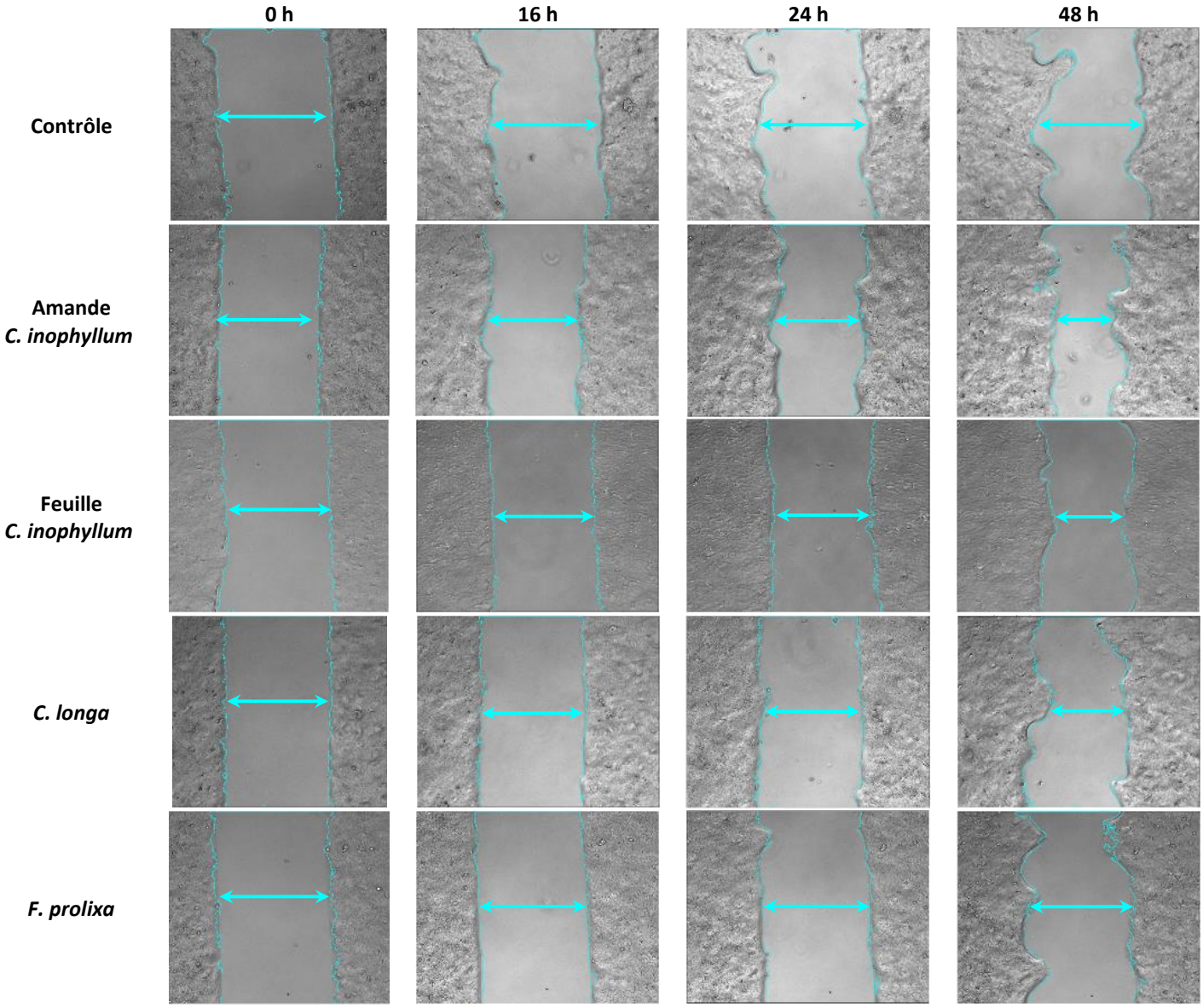


F. prolixa : Kératinocyte Fibroblaste



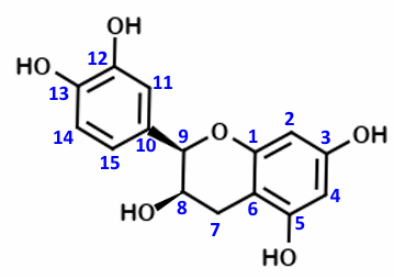


Annexe 8 : Photo de la brèche séparant deux monocouches kératinocytes à t = 0h, 16h, 24h et 48h.



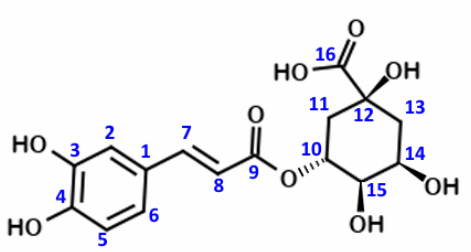
Annexe 9 : Déplacements chimiques des composés identifiés en RMN avec la méthode CaraMel chez *F. prolixa*

1. Epicatéchine



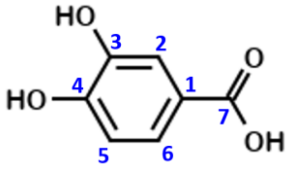
$C_{15}H_{14}O_6$	290,3 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 17334-50-8
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	156,1	-
2	94,4	5,7
3	156,6	-
4	95,4	5,9
5	156,9	-
6	98,8	-
7	28,5	2,7 ;2,5
8	65,2	4,0
9	78,4	4,7
10	130,9	-
11	115,2	6,9
12	144,8	-
13	144,8	-
14	115,1	6,7
15	118,3	6,7

2. Acide chlorogénique



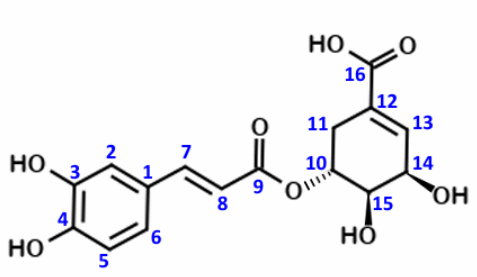
$C_{16}H_{18}O_9$	354,3 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 327-97-9
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	125,9	-
2	115,1	7,1
3	145,9	-
4	148,7	-
5	116,1	6,8
6	121,6	7,0
7	145,1	7,4
8	114,9	6,2
9	166,5	-
10	71,7	5,1
11	38,7	1,9 ;1,8
12	75,0	-
13	38,1	2,0 ;1,7
14	70,6	3,9
15	72,7	3,5
16	177,6	-

3. Acide protocatéchique



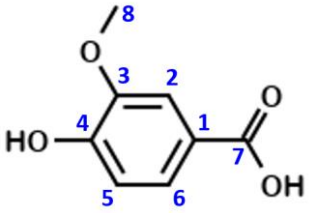
$C_7H_6O_4$	154,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 99-50-3
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	122,1	-
2	116,8	7,4
3	145,2	-
4	150,3	-
5	115,5	6,8
6	122,3	7,3
7	167,8	-

4. Acide 5-O-caféoylshikimique



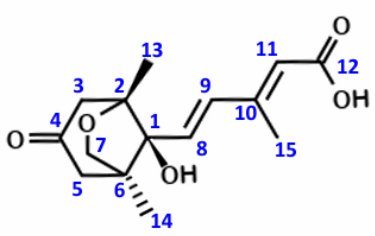
$C_{16}H_{18}O_8$	336,3 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 73263-62-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	125,8	-
2	115,3	7,1
3	145,9	-
4	148,8	-
5	116,1	6,8
6	121,8	7,0
7	145,7	7,5
8	114,4	6,3
9	166,5	-
10	70,2	5,1
11	28,0	2,7 ;2,2
12	128,2	-
13	139,0	6,7
14	68,1	3,8
15	65,8	4,3
16	175,1	-

5. Acide vanillique



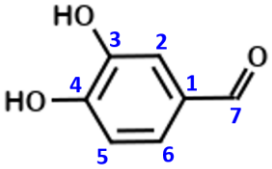
$C_8H_8O_4$	168,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 121-34-6
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	122,1	-
2	113,1	7,4
3	147,6	-
4	151,4	-
5	115,4	6,7
6	123,9	7,5
7	167,7	-
8	55,9	3,8

6. Acide phaseique



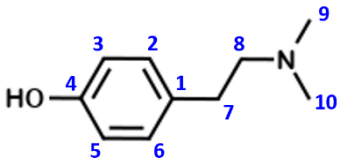
$C_{15}H_{20}O_5$	280,3 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 24394-14-7
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	81,7	-
2	86,5	-
3	53,4	2,8 ;2,3
4	208,8	-
5	52,3	2,7 ;2,3
6	48,6	-
7	77,0	3,8,3,5
8	133,9	6,5
9	131,0	8,0
10	149,8	-
11	118,9	5,7
12	167,4	-
13	19,5	1,1
14	15,7	0,9
15	21,2	2,0

7. Protocatéchualdehyde



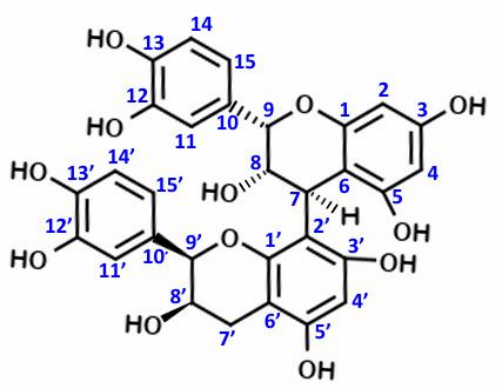
$C_7H_6O_3$	138,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 139-85-5
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	129,2	-
2	114,7	7,2
3	146,3	-
4	152,6	-
5	115,9	6,9
6	124,9	7,3
7	191,5	9,7

8. Hordenine



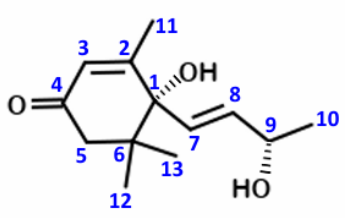
$C_{10}H_{15}NO$	165,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 539-15-1
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	129,4	-
2/6	129,8	7,0
3/5	115,5	6,7
4	156,0	-
7	30,8	2,3
8	60,7	2,7
9/10	44,4	2,4

9. Procyanidine B2



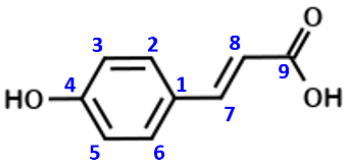
$C_{30}H_{26}O_{12}$	578,5 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 29106-49-8
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	157,7	-
2	94,5	5,6
3	155,8	-
4	96,3	5,7
5	156,4	-
6	106,5	-
7	37,6	4,4
8	71,7	4,3
9	82,6	4,2
10	130,7	-
11	115,6	6,9
12	145,2	-
13	144,1	-
14	115,2	6,7
15	119,8	6,7
1’	154,9	-
2’	108,7	-
3’	153,8	-
4’	96,1	5,9
5’	154,2	-
6’	98,1	-
7’	29,4	2,7 ;2,5
8’	65,5	4,1
9’	78,5	4,7
10’	131,2	-
11’	115,1	7,0
12’	144,6	-
13’	144,7	-
14’	115,2	6,7
15’	118,4	6,8

10. Vomifoliol



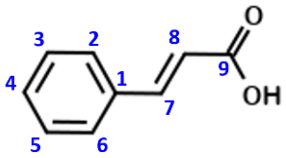
$C_{13}H_{20}O_3$	224,3 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 23526-45-6
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	78,2	-
2	164,8	-
3	125,8	5,8
4	197,8	-
5	49,7	2,4 ;2,1
6	41,3	-
7	128,3	5,7
8	136,2	5,7
9	66,4	4,2
10	24,4	1,1
11	19,3	1,8
12	23,4	1,0
13	24,3	0,9

11. Acide coumarique



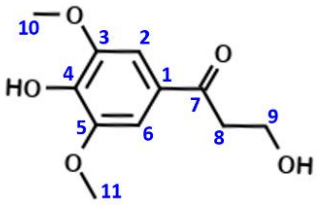
$C_9H_8O_3$	164,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 7400-08-0
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	125,6	-
2/6	130,4	7,5
3/5	116,0	6,8
4	159,9	-
7	144,5	7,5
8	115,6	6,3
9	168,2	-

12. Acide cinnamique



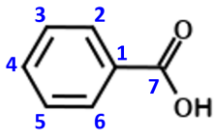
$C_9H_8O_2$	148,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 621-82-9
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	134,5	-
2/6	128,5	7,7
3/5	129,2	7,4
4	130,5	7,4
7	144,2	7,6
8	119,5	6,5
9	167,9	-

13. β-Hydroxypropiosyringone



$C_{11}H_{14}O_5$	226,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 136196-47-9
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	127,8	-
2/6	106,4	7,3
3/5	147,7	-
4	141,1	-
7	197,7	-
8	41,3	3,1
9	57,6	3,8
10/11	56,5	3,8

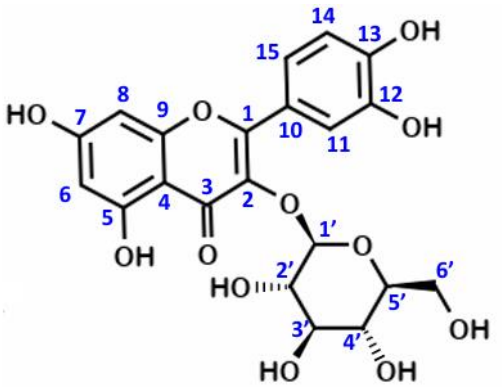
14. Acide benzoique



$C_7H_6O_2$	122,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 65-85-0
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	131,1	-
2/6	129,6	8,0
3/5	128,9	7,5
4	133,2	7,6
7	167,5	-

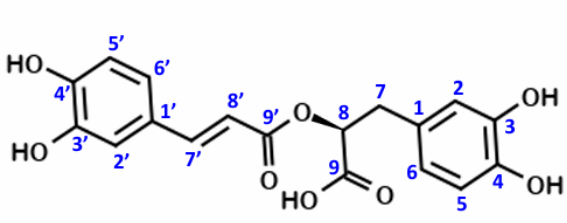
Annexe 10 : Déplacements chimiques des composés identifiés en RMN avec la méthode CaraMel chez *C. subcordata*

1. Quercétine 3-*O*-glucoside



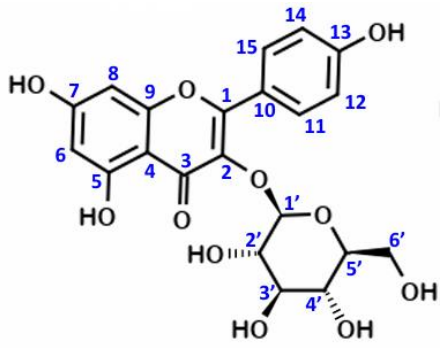
$C_{21}H_{20}O_{12}$	464,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 482-35-9
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	156,2	-
2	133,3	-
3	177,5	-
4	104,0	-
5	161,3	-
6	98,7	6,2
7	164,3	-
8	93,6	6,4
9	156,4	-
10	121,2	-
11	115,3	6,9
12	144,9	-
13	148,5	-
14	116,2	7,6
15	121,6	7,6
1’	100,9	5,5
2’	74,1	3,3
3’	76,5	3,2
4’	70,0	3,1
5’	77,6	3,1
6’	61,0	3,6 ;3,3

2. Acide rosmarinique



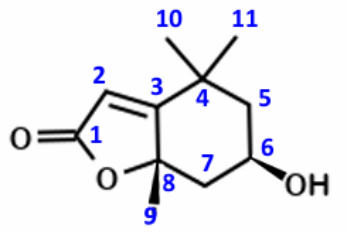
$C_{18}H_{16}O_8$	360,3 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 20283-92-5
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	127,9	-
2	115,4	6,6
3	145,0	-
4	143,9	-
5	116,7	6,7
6	120,0	6,5
7	36,4	3,0 ;2,9
8	73,5	5,0
9	172,4	-
1’	125,4	-
2’	114,9	7,1
3’	145,7	-
4’	148,6	-
5’	115,9	6,8
6’	121,5	7,0
7’	145,6	7,4
8’	113,7	6,2
9’	166,0	-

3. Kaempferol 3-O-glucoside



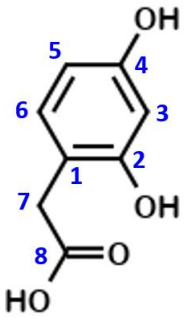
$C_{21}H_{20}O_{11}$	448,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 480-10-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	156,2	-
2	133,2	-
3	177,4	-
4	103,8	-
5	161,2	-
6	98,9	6,2
7	164,8	-
8	93,8	6,4
9	156,5	-
10	121,0	-
11/15	130,9	8,0
12/14	115,2	6,9
13	160,0	-
1’	101,0	5,5
2’	74,3	3,2
3’	76,5	3,2
4’	69,9	3,1
5’	77,5	3,1
6’	60,9	3,6 ;3,3

4. Loliolide



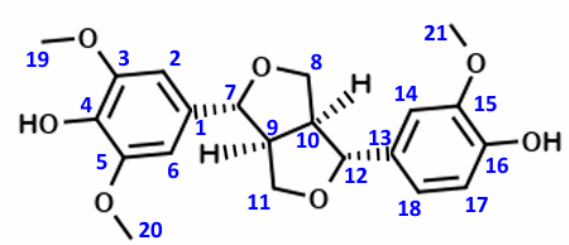
$C_{11}H_{16}O_3$	196,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 5989-02-6
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	171,1	-
2	112,1	5,8
3	183,1	-
4	35,7	-
5	45,3	2,3 ;1,6
6	64,9	4,1
7	46,6	1,9 ;1,4
8	86,5	-
9	30,4	1,2
10	26,9	1,7
11	26,2	1,4

5. Acide 2,4-dihydroxyphénylacétique



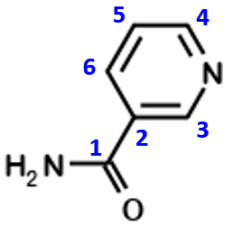
$C_8H_8O_4$	168,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 614-82-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	113,2	-
2	156,3	-
3	102,8	6,3
4	157,1	-
5	106,2	6,2
6	131,0	6,8
7	36,9	3,2
8	174,1	-

6. Medioresinol



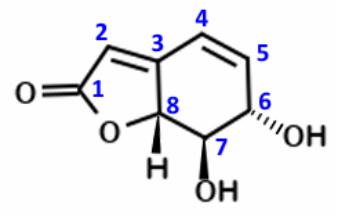
$C_{21}H_{24}O_7$	388,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 40957-99-1
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	133,7	-
2	104,2	6,7
3/5	152,7	-
4	134,9	-
6	103,2	6,7
7	85,1	4,7
8	71,0	4,1 ;3,7
9	53,6	3,1
10	53,7	3,0
11	71,2	4,23,8
12	85,2	4,6
13	133,3	-
14	110,4	6,9
15	147,0	-
16	145,9	-
17	114,7	6,7
18	118,7	6,8
19/20	56,4	3,8
21	55,6	3,7

7. Niacinamide



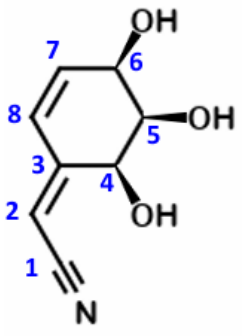
$C_6H_6N_2O$	122,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 98-92-0
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	166,5	-
2	129,7	-
3	148,7	9,0
4	151,9	8,7
5	123,4	7,5
6	135,2	8,2

8. Griffonilide



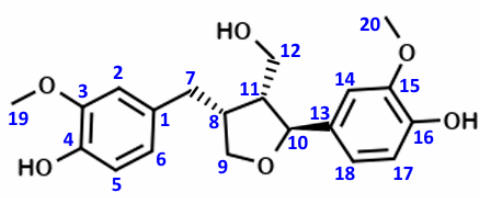
$C_8H_8O_4$	168,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 61371-55-9
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	173,3	-
2	111,8	6,0
3	162,9	-
4	121,4	6,6
5	139,6	6,4
6	66,8	4,2
7	72,6	3,5
8	81,6	5,1

9. (4,5,6-Trihydroxy-2-cyclohexen-1-ylidene)acétonitrile



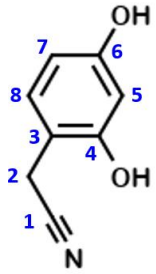
$C_8H_9NO_3$	167,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 2170978-14-8
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	117,5	-
2	91,7	5,5
3	160,2	-
4	70,8	4,3
5	73,9	3,9
6	68,7	4,3
7	140,3	6,0
8	122,6	6,4

10. Lariciresinol



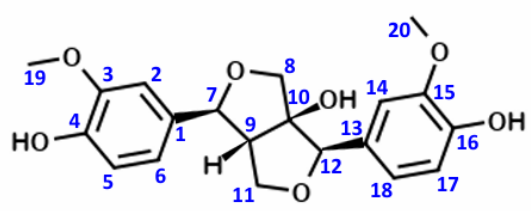
$C_{20}H_{24}O_6$	360,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 27003-73-2
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	131,8	-
2	112,7	6,7
3	147,5	-
4	144,6	-
5	115,8	6,7
6	120,6	6,6
7	32,2	2,8 ;2,4
8	42,0	2,6
9	71,8	3,9 ;3,5
10	81,8	4,6
11	52,5	2,2
12	58,6	3,7 ;3,5
13	135,4	-
14	110,0	6,8
15	147,4	-
16	145,6	-
17	115,1	6,8
18	118,2	6,7
19	55,6	3,7
20	55,5	3,7

11. (2,4-dihydroxyphényl)acétonitrile



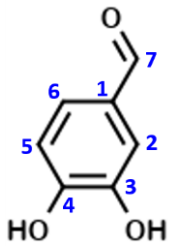
$C_8H_7NO_2$	149,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 57576-34-8
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	119,5	-
2	17,2	3,6
3	107,8	-
4	155,9	-
5	102,5	6,3
6	158,2	-
7	106,5	6,2
8	130,0	7,0

12. 8-hydroxypinoresinol



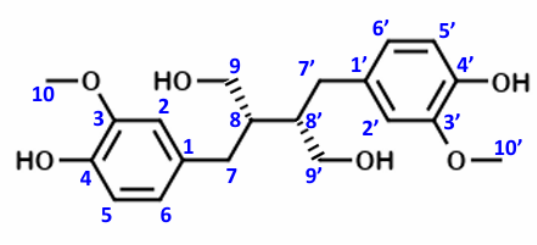
$C_{20}H_{22}O_7$	374,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 81426-17-7
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	132,4	-
2	110,7	7,0
3	147,5	-
4	146,0	-
5	115,2	6,7
6	118,9	6,8
7	85,4	4,7
8	74,7	3,9 ;3,7
9	60,8	2,9
10	91,1	-
11	70,3	4,3 ;3,6
12	87,2	4,5
13	127,9	-
14	112,3	7,0
15	148,1	-
16	146,9	-
17	114,6	6,7
18	120,2	6,8
19	55,6	3,8
20	56,1	3,8

13. Protocatéchualdehyde



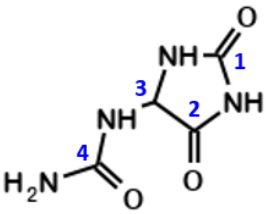
$C_7H_6O_3$	138,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 139-85-5
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	128,8	-
2	114,3	7,2
3	145,9	-
4	152,3	-
5	115,5	6,9
6	124,5	7,3
7	191,1	-

14. Secoisolariciresinol



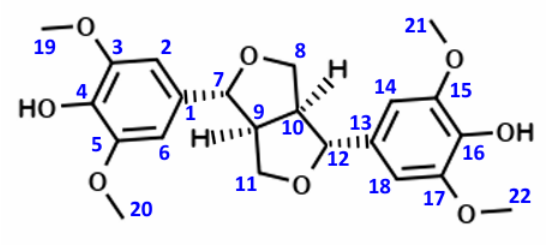
$C_{20}H_{26}O_6$	362,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 29388-59-8
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1/1'	132,2	-
2/2'	112,9	6,6
3/3'	147,3	-
4/4'	144,3	-
5/5'	115,1	6,6
6/6'	121,1	6,5
7/7'	34,0	2,5 ;2,5
8/8'	42,5	1,8
9/9'	60,3	3,4
10/10'	55,5	3,7

15. Allantoine



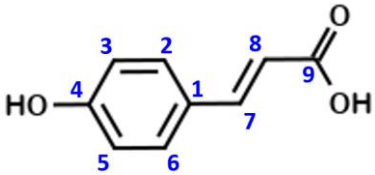
$C_4H_6N_4O_3$	158,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 97-59-6
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	156,8	-
2	173,6	-
3	62,4	5,2
4	157,5	-
4-NH_2	-	5,8
4-NH	-	7,0
1-NH	-	8,1

16. Syringaresinol



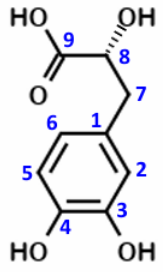
$C_{22}H_{26}O_8$	418,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 21453-71-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1/13	131,5	-
2/6/14/18	103,6	6,6
3/5/17/15	147,9	-
4/16	134,8	-
7/12	85,4	4,6
8/11	71,1	4,2 ;3,8
9/10	53,7	3,1
19/10/21/22	56,0	3,8

17. Acide coumarique



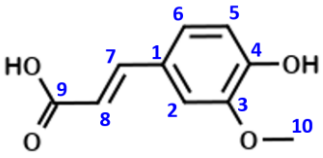
$C_9H_8O_3$	164,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 501-98-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	125,3	-
2/6	130,2	7,1
3/5	115,4	6,7
4	156,0	-
7	115,4	6,3
8	144,1	7,5
9	168,0	-

19. Danshensu



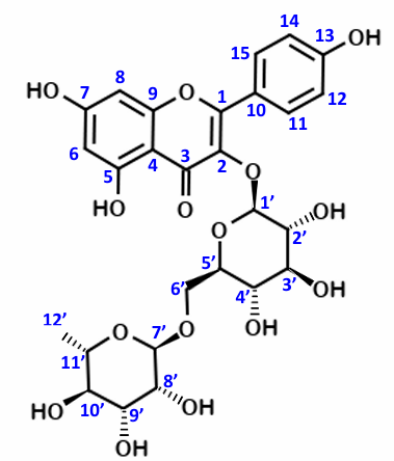
$C_9H_{10}O_5$	198,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 23028-17-3
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	127,2	-
2	116,7	6,7
3	145,0	-
4	144,1	-
5	115,4	6,6
6	120,1	6,5
7	36,1	2,9
8	73,0	5,1
9	170,7	-

20. Acide férulique



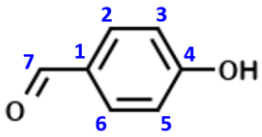
$C_{10}H_{10}O_4$	194,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 537-98-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	125,8	-
2	114,6	7,0
3	148,1	-
4	145,6	-
5	115,8	6,8
6	121,2	6,9
7	144,4	7,4
8	115,3	6,2
9	168,1	-
10	56,0	3,8

21. Kaempferol 3-*O*-rutinoside



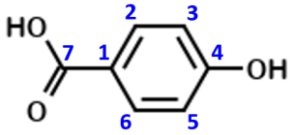
$C_{27}H_{30}O_{15}$	594,5 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 17650-84-9
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	156,9	-
2	133,2	-
3	177,4	-
4	104,0	-
5	161,2	-
6	98,8	6,2
7	164,3	-
8	93,8	6,4
9	156,5	-
10	120,9	-
11/15	130,9	8,0
12/14	115,1	6,9
13	159,9	-
1’	101,4	5,3
2’	74,2	3,2
3’	76,8	3,1
4’	69,9	3,0
5’	75,8	3,2
6’	66,9	3,7 ;3,3
7’	100,7	4,4
8’	70,6	3,3
9’	70,4	3,3
10’	71,8	3,1
11’	68,3	3,3
12’	17,7	1,0

22. 4-hydroxybenzaldehyde



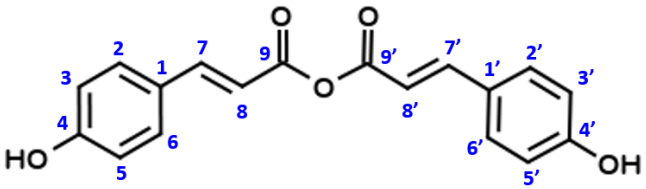
$C_7H_6O_2$	122,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 123-08-0
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	128,4	-
2/6	132,1	7,8
3/5	115,9	6,9
4	163,5	-
7	191,0	-

23. Acide 4-hydroxybenzoique



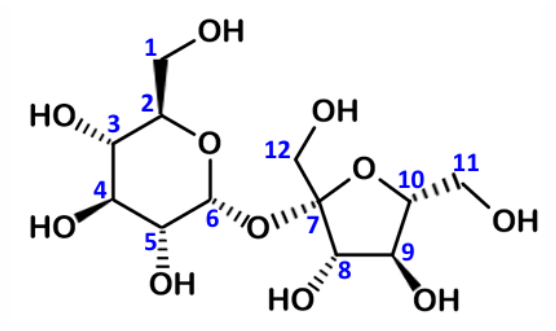
$C_7H_6O_3$	138,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 99-96-7
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	121,7	-
2/6	131,5	7,8
3/5	115,1	6,8
4	161,5	-
7	167,5	-

25. Acide coumarique anhydride



$C_{18}H_{14}O_5$	310,3 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 171781-66-1
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	125,0	-
2/6	130,4	7,5
3/5	115,8	6,8
4	160,0	-
7	113,9	6,4
8	145,1	7,5
9	166,1	-
1’	125,4	-
2’/6’	130,1	7,5
3’/5’	115,8	6,8
4’	159,6	-
7’	113,7	6,2
8’	145,5	7,4
9’	166,0	-

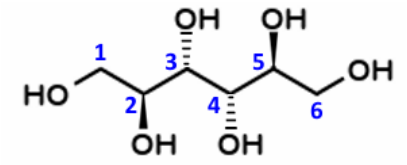
26. Saccharose



$C_{12}H_{22}O_{11}$	342,3g/mol	DMSO-d6 / CAS : 57-50-1
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	60,5	3,5
2	72,9	3,5
3	69,9	3,1
4	72,9	3,6
5	71,7	3,2
6	91,8	5,2
7	104,1	-
8	77,1	3,9
9	74,3	3,8
10	82,6	3,6
11	62,3	3,5
12	62,2	3,4

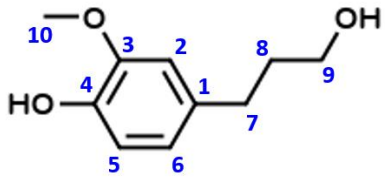
Annexe 11 : Déplacements chimiques des composés identifiés en RMN avec la méthode CaraMel chez *G. taitensis*

1. Mannitol



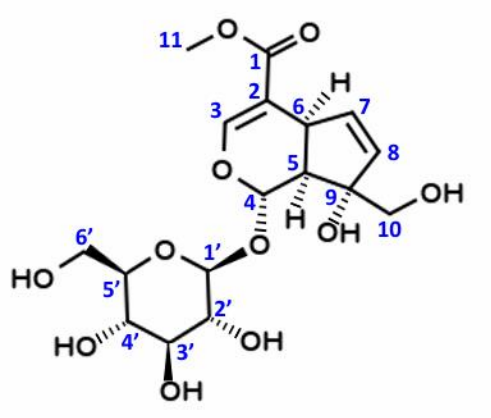
$C_6H_{14}O_6$	182,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 69-65-8
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1/6	64,2	3,6,3,4
2/5	71,6	3,5
3/4	70,0	3,5

2. Dihydroconiféryl alcool



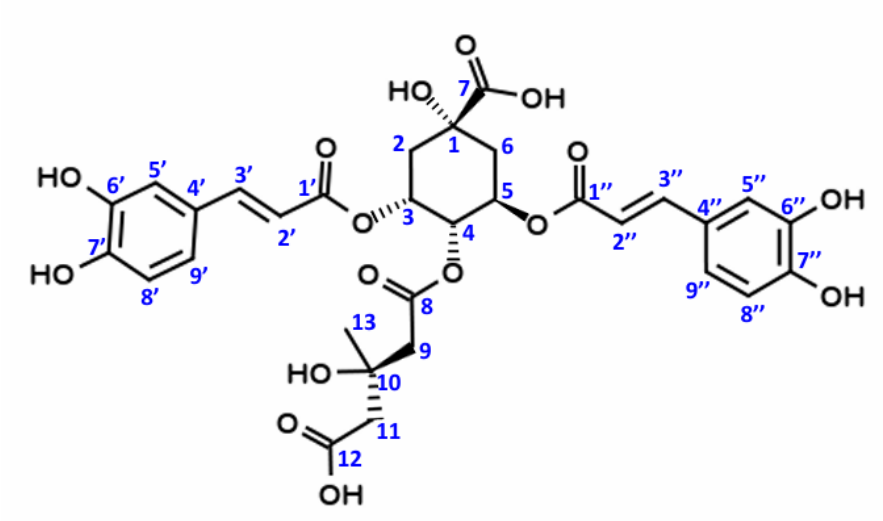
$C_{10}H_{14}O_3$	182,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 2305-13-7
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	133,2	-
2	112,8	6,7
3	147,7	-
4	144,7	-
5	115,6	6,7
6	120,6	6,6
7	31,6	2,5
8	34,9	1,7
9	60,5	3,4
10	55,8	3,7

3. Gardénoside



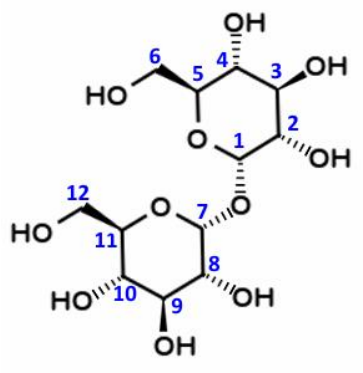
$C_{17}H_{24}O_{11}$	404,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 24512-62-7
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	166,9	-
2	109,9	-
3	150,4	7,3
4	92,3	5,7
5	50,9	2,5
6	37,0	3,5
7	132,7	6,0
8	136,9	5,7
9	84,8	-
10	65,9	3,4 ;3,3
11	51,3	3,6
1’	98,3	4,5
2’	73,4	3,0
3’	77,0	3,2
4’	74,6	3,8
5’	77,4	3,9
6’	62,4	3,4

4. Acide 3,5-di-*O*-caféoyl-4-*O*-(3-hydroxy-3-méthyl)glutaroylquinique



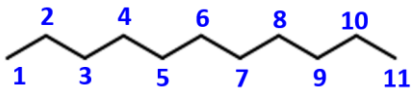
$C_{31}H_{32}O_{16}$	660,6 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 114637-82-0
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	73,8	-
2	40,7	2,0 ;1,9
3	68,8	5,5
4	73,1	5,1
5	70,4	5,4
6	36,9	2,2 ;1,8
7	177,8	-
8	170,5	-
9	46,8	2,4 ;2,3
10	69,3	-
11	47,0	2,3 ;2,1
12	175,8	-
13	27,7	1,1
1’	166,4	-
2’	114,3	6,2
3’	145,9	7,4
4’	125,8	-
5’	115,6	7,1
6’	146,4	-
7’	149,2	-
8’	116,3	6,7
9’	121,4	6,9
1’’	166,7	-
2’’	114,8	6,2
3’’	145,7	7,5
4’’	126,0	-
5’’	115,5	7,1
6’’	146,2	-
7’’	149,0	-
8’’	116,4	6,8
9’’	121,7	7,0

5. Tréhalose



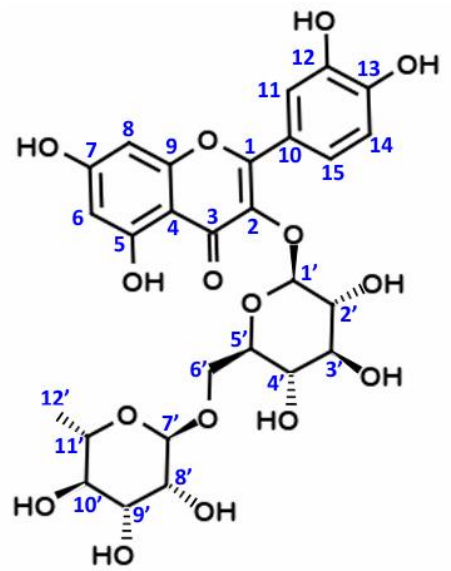
$C_{12}H_{22}O_{11}$	342,3 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 99-20-7
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1/7	97,2	4,3
2/8	75,2	2,9
3/9	77,1	3,1
4/10	70,6	3,0
5/11	77,1	3,1
6/12	61,5	3,7 ;3,4

6. Undecane



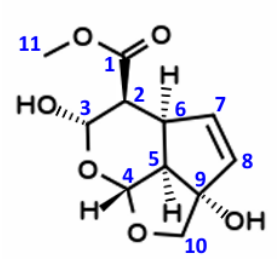
$C_{11}H_{24}$	156,3 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 1120-21-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1/11	14,2	0,9
2/10	22,4	1,3
3/9	31,6	1,2
4/8	29,0	1,2
5/6/7	29,3	1,2

7. Quercétine 3-*O*-rutinoside



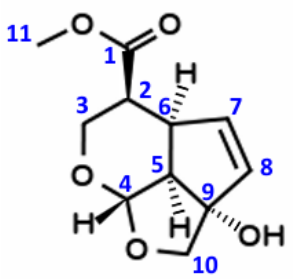
$C_{27}H_{30}O_{16}$	610,5 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 153-18-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	156,4	-
2	133,7	-
3	177,3	-
4	103,5	-
5	161,4	-
6	99,6	6,1
7	166,3	-
8	94,2	6,3
9	156,9	-
10	121,1	-
11	116,2	7,5
12	145,3	-
13	149,2	-
14	115,5	6,8
15	122,1	7,6
1’	102,6	5,3
2’	74,4	3,2
3’	76,1	3,2
4’	68,4	3,6
5’	73,8	3,5
6’	65,5	3,6 ;3,2
7’	100,3	4,4
8’	70,7	3,4
9’	70,9	3,3
10’	72,2	3,1
11’	68,6	3,4
12’	18,2	1,1

8. β-Gardiol



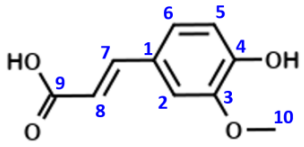
$C_{11}H_{14}O_6$	242,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 88198-29-2
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	172,6	-
2	47,5	2,6
3	89,1	5,0
4	100,3	5,4
5	50,0	2,5
6	43,0	3,4
7	137,1	5,7
8	133,3	5,6
9	91,9	-
10	75,1	3,8 ;3,6
11	52,0	3,7

9. Dunnisinine



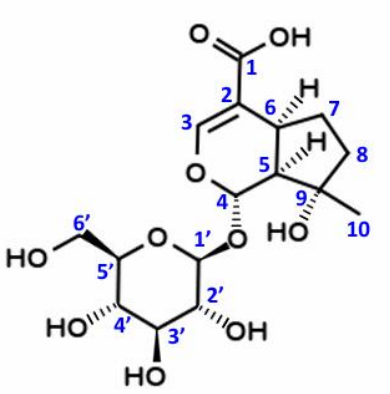
$C_{11}H_{14}O_5$	226,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 287718-86-9
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	174,1	-
2	47,3	2,8
3	62,2	3,9 ;3,7
4	100,3	4,4
5	50,1	3,0
6	44,1	3,4
7	136,9	5,8
8	134,0	5,8
9	86,8	-
10	74,2	4,2 ;4,1
11	51,6	3,6

10. Acide férulique



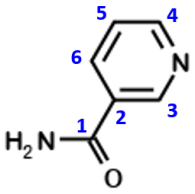
$C_{10}H_{10}O_4$	194,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 537-98-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	125,7	-
2	111,3	7,3
3	148,3	-
4	149,9	-
5	115,8	6,8
6	123,6	7,1
7	145,5	7,5
8	114,5	6,5
9	166,9	-
10	56,0	3,8

11. Acide mussaenosidique



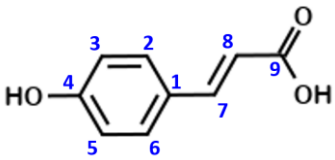
$C_{16}H_{24}O_{10}$	376,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 82451-22-7
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	168,9	-
2	113,3	-
3	149,3	7,3
4	94,2	5,1
5	50,8	2,0
6	31,6	3,0
7	29,9	2,1 ;1,2
8	39,3	1,5
9	78,8	-
10	24,9	1,2
1’	98,6	4,6
2’	73,4	3,0
3’	76,8	3,2
4’	70,4	3,2
5’	74,1	3,5
6’	65,5	3,6 ;3,2

12. Niacinamide



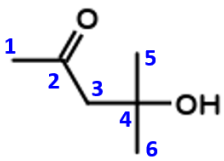
$C_6H_6N_2O$	122,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 98-92-0
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	166,5	-
2	130,0	-
3	149,0	9,0
4	152,2	8,7
5	123,7	7,5
6	135,5	8,2

13. Acide coumarique



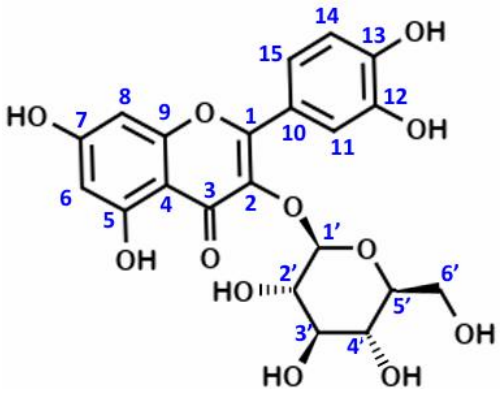
$C_9H_8O_3$	164,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 7400-08-0
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	125,3	-
2/6	130,4	7,5
3/5	116,2	6,8
4	160,4	-
7	144,6	7,6
8	115,1	6,4
9	166,0	-

14. Diacétone alcool



$C_6H_{12}O_2$	116,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 123-42-2
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	31,6	2,1
2	208,7	-
3	56,1	2,5
4	68,8	-
5/6	29,9	1,1

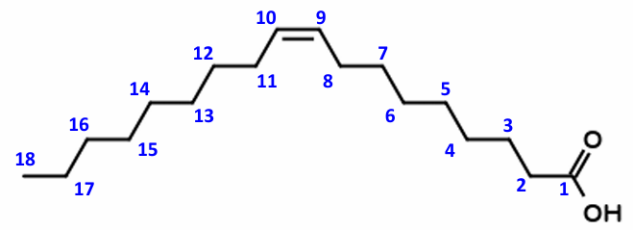
15. Quercétine 3-*O*-glucoside



$C_{21}H_{20}O_{12}$	464,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 482-35-9
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	156,3	-
2	133,5	-
3	177,5	-
4	103,7	-
5	161,4	-
6	99,4	6,2
7	166,0	-
8	94,0	6,4
9	156,7	-
10	121,2	-
11	115,6	6,8
12	145,3	-
13	149,1	-
14	116,5	7,6
15	121,9	7,6
1’	101,3	5,5
2’	74,4	3,2
3’	76,8	3,2
4’	70,2	3,1
5’	77,8	3,1
6’	61,2	3,6 ;3,3

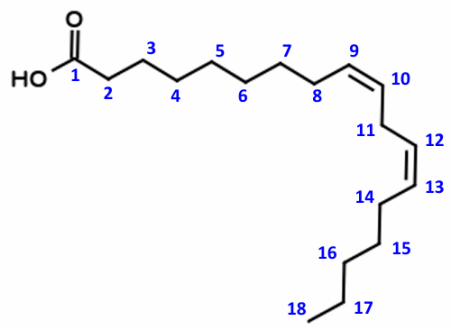
Annexe 12 : Déplacements chimiques des composés identifiés en RMN avec la méthode CaraMel chez *C. inophyllum*

1. Acide oléique



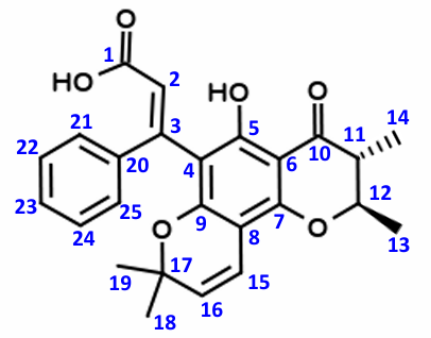
$C_{18}H_{34}O_2$	282,5 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 112-80-1
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	174,7	-
2	34,0	2,2
3	24,8	1,5
4/5/6/7	28,8-29, 6	1,2-1,3
8	26,9	2,0
9	129,9	5,3
10	130,0	5,4
11	26,9	2,0
12/13/14/15	28,8-29, 6	1,2-1,3
16	31,2	1,3
17	22,4	1,3
18	14,2	0,9

2. Acide linoléique



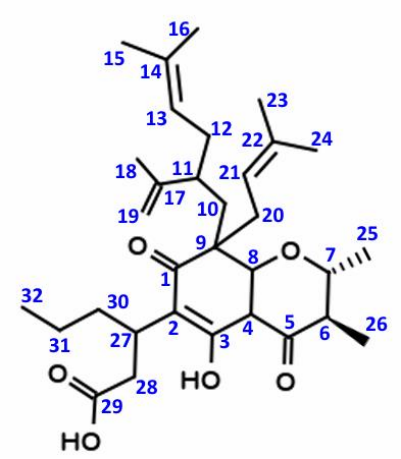
$C_{18}H_{32}O_2$	280,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 60-33-3
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	174,7	-
2	34,0	2,2
3	24,8	1,5
4	28,9	1,3
5/6/7	28,8-29, 6	1,2-1,3
8	26,9	2,0
9	129,9	5,3
10	128,0	5,3
11	25,5	2,7
12	128,1	5,3
13	130,0	5,3
14	26,9	2,0
15	29,5	1,3
16	31,6	1,2
17	22,3	1,3
18	14,2	0,9

3. Acide calophyllique



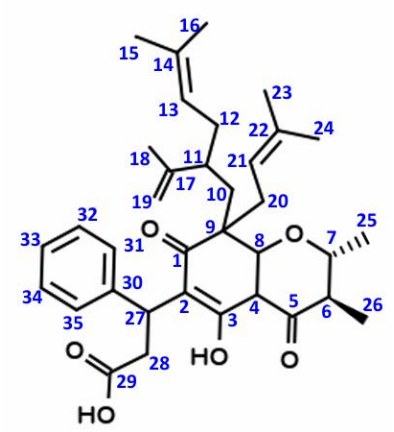
$C_{25}H_{24}O_6$	420,5 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 36626-19-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	166,5	-
2	121,7	6,4
3	146,0	-
4	108,2	-
5	159,9	-
6	101,4	-
7	156,1	-
8	101,1	-
9	158,2	-
10	199,6	-
11	45,2	2,8
12	78,9	4,4
13	19,6	1,5
14	9,8	1,1
15	115,4	6,5
16	127,0	5,6
17	78,1	-
18	27,8	1,0
19	28,1	1,2
20	140,5	-
21/25	126,9	7,3
22/24	128,7	7,3
23	129,2	7,3

4. Inocalophyllin B



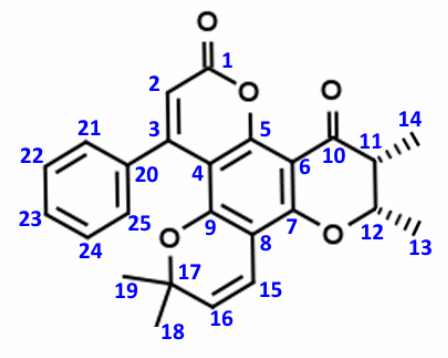
$C_{32}H_{46}O_6$	526,7 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 142382-37-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	194,5	-
2	111,8	-
3	167,0	-
4	105,0	-
5	197,9	-
6	43,5	2,6
7	81,3	4,4
8	185,3	-
9	56,6	-
10	41,4	1,9
11	44,4	1,9
12	33,7	1,8
13	122,5	4,8
14	131,7	-
15	25,9	1,6
16	17,9	1,5
17	146,9	-
18	18,4	1,6
19	112,5	4,6 ;4,5
20	41,3	2,4 ;2,4
21	117,7	4,7
22	134,6	-
23	25,8	1,5
24	17,8	1,5
25	19,0	1,5
26	9,3	1,1
27	30,0	3,3
28	38,0	2,5 ;2,5
29	174,3	-
30	34,5	1,7 ;1,3
31	20,7	1,1
32	14,5	0,8

5. Inocalophyllin A



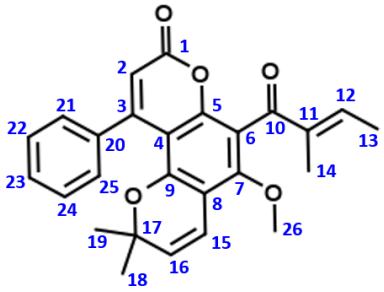
$C_{35}H_{44}O_6$	560,7 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 38290-04-9
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	194,6	-
2	113,2	-
3	167,1	-
4	104,9	-
5	197,5	-
6	42,2	2,6
7	78,8	4,7
8	185,2	-
9	56,6	-
10	42,0	2,0 ;1,9
11	44,8	1,9
12	34,9	1,7
13	122,6	4,9
14	131,6	-
15	25,9	1,6
16	17,9	1,5
17	146,9	-
18	22,4	1,6
19	110,3	4,6 ;4,6
20	41,7	2,4 ;2,4
21	117,2	4,8
22	134,6	-
23	25,7	1,4
24	18,1	1,5
25	15,7	1,3
26	9,2	1,0
27	34,7	4,7
28	36,3	3,1 ;3,0
29	173,9	-
30	144,0	-
31/35	127,5	7,3
32/34	127,9	7,2
33	128,1	7,4

6. Inophyllum E



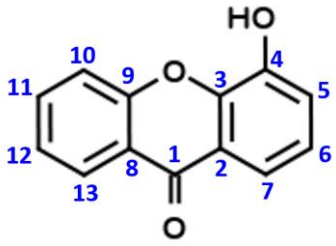
$C_{25}H_{22}O_5$	402,4 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 17312-31-1
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	160,0	-
2	121,7	6,4
3	158,1	-
4	108,2	-
5	154,7	-
6	103,2	-
7	155,7	-
8	105,3	-
9	155,1	-
10	189,9	-
11	46,7	2,7
12	79,4	4,4
13	19,4	1,5
14	10,4	1,1
15	114,9	6,5
16	128,3	5,6
17	78,8	-
18	27,0	0,9
19	27,2	0,9
20	140,4	-
21/25	126,9	7,3
22/24	126,9	7,3
23	127,0	7,3

7. Calophyllolide



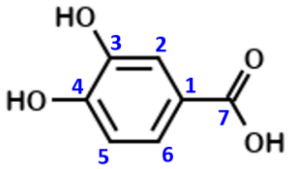
$C_{26}H_{24}O_5$	416,5 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 548-27-6
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	158,8	-
2	113,9	6,0
3	155,0	-
4	105,4	-
5	151,3	-
6	114,8	-
7	155,7	-
8	110,6	-
9	151,8	-
10	193,7	-
11	139,1	-
12	145,1	6,6
13	15,3	1,9
14	10,8	1,9
15	115,7	6,4
16	129,9	5,7
17	77,6	-
18/19	26,8	0,9
20	139,5	-
21/25	127,5	7,3
22/24	127,8	7,4
23	128,0	7,4
26	63,0	3,7

8. 4-hydroxyxanthone



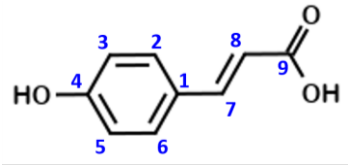
$C_{13}H_6O_3$	212,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 14686-63-6
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	176,5	-
2	122,6	-
3	145,5	-
4	146,9	-
5	120,5	7,3
6	124,4	7,3
7	115,5	7,6
8	121,2	-
9	155,7	-
10	118,7	7,7
11	135,9	7,9
12	124,7	7,5
13	126,3	8,2

9. Acide protocatéchique



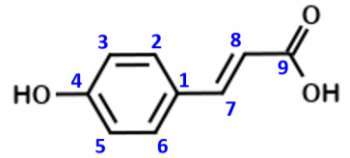
$C_7H_6O_4$	154,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 99-50-3
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	121,9	-
2	116,8	7,3
3	145,2	
4	150,3	
5	115,4	6,8
6	122,2	7,3
7	167,6	-

11. Acide coumarique (trans)



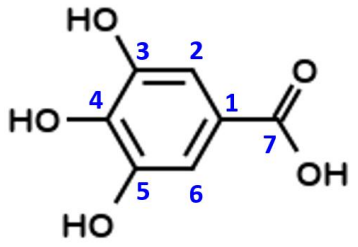
$C_9H_8O_3$	164,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 7400-08-0
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	125,6	-
2/6	130,4	7,5
3/5	116,1	6,8
4	159,9	-
7	144,5	7,5
8	115,6	6,3
9	168,3	-

11. Acide coumarique (cis)



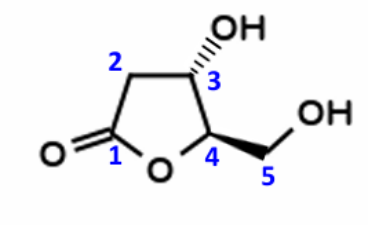
$C_9H_8O_3$	164,2 g/mol	DMSO-d6
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	126,1	-
2/6	132,6	7,6
3/5	115,2	6,7
4	158,8	-
7	141,9	6,8
8	117,2	5,7
9	167,6	-

12. Acide gallique



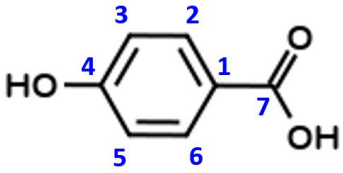
$C_7H_6O_5$	170,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 31387-49-2
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	120,7	-
2/6	109,0	6,9
3/5	145,7	-
4	138,3	-
7	167,8	-

13. 2-déoxyribonolactone



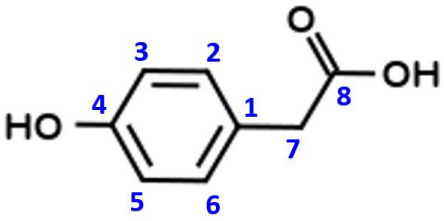
$C_5H_8O_4$	132,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 38996-14-4
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	176,5	-
2	38,3	2,8 ;2,2
3	68,1	4,3
4	88,6	4,3
5	61,1	3,6

14. Acide 4-hydroxybenzoique



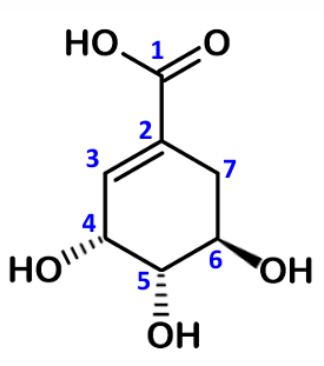
$C_7H_6O_3$	138,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 99-96-7
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	121,7	-
2/6	131,8	7,8
3/5	115,3	6,8
4	161,9	-
7	167,5	-

15. Acide 4-hydroxyphénylacétique



$C_8H_8O_3$	152,1 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 156-38-7
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	125,4	-
2/6	130,6	7,0
3/5	115,3	6,7
4	156,3	-
7	40,2	3,4
8	173,5	-

Annexe 13 : Déplacements chimiques de l'acide shikimique identifiés en RMN dans l'extrait brut de feuilles de *C. inophyllum*



$C_7H_{10}O_5$	174,2 g/mol	DMSO-d6 / CAS : 138-59-0
Numérotation	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)
1	171,7	-
2	132,8	-
3	136,8	6,7
4	67,5	4,4
5	73,2	3,6
6	68,4	4,0
7	32,5	2,7 ;2,2

Application de stratégies déréplicatives par LC-MS² et RMN et évaluation des propriétés biologiques d'extraits de 5 plantes polynésiennes à visées dermocosmétique et pharmaceutique: *Calophyllum inophyllum*, *Cordia subcordata, Ficus prolixa, Gardenia taitensis et Curcuma longa*

La peau est un organe vital qui peut être affecté par des pathologies liées à l'inflammation, au stress oxydatif, mais aussi par des défauts de cicatrisation ainsi que par des cancers. En s'inspirant de la pharmacopée et de la cosmétopée polynésienne, cette thèse propose de répondre à ces problématiques cutanées à travers l'étude de cinq plantes polynésiennes : *Calophyllum inophyllum*, *Cordia subcordata*, *Ficus prolixa*, *Gardenia taitensis*, *Curcuma longa*. Ces plantes, qui font partie des plus utilisées en médecine traditionnelle, ont été extraites en utilisant un procédé d'éco-extraction assisté aux ultrasons. La chromatographie de partage centrifuge (CPC) a ensuite permis de simplifier les extraits pour faciliter la caractérisation chimique grâce à une approche métabolomique et à des méthodes de déréplications. Pour cela, les analyses LC-MS² ont permis de construire et d'annoter des réseaux moléculaires. Les analyses RMN des fractions de CPC, suivant la procédure CaraMel, ont permis d'identifier des composés étudiés en mélange grâce à la clusterisation de leurs déplacements chimiques sur des cartes de chaleur. Ces procédés ont ainsi permis une large description de la composition chimique des plantes étudiées avec l'identification de composés naturels nouvellement décrits. La phytochimie de *C. subcordata* et *F. prolixa* sont décrites pour la première fois. Les extraits ont révélé différentes propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, cicatrisantes et anti-mélanome qui ont ensuite été corrélées à la composition chimique pour identifier les composés bioactifs. Cette étude révèle le potentiel des ressources naturelles polynésiennes pour une valorisation en produit de soins cutanés dans les domaines pharmaceutiques et cosmétiques.

Mots-clés : extraction assistée aux ultrasons, chromatographie de partage centrifuge, antioxydant, anti-inflammatoire, cicatrisant, mélanome cutané, réseaux moléculaires, procédure CaraMel

Dereplication strategies using LC-MS² and NMR and biological properties of extracts from five Polynesian plants for dermocosmetics and pharmaceuticals valorisation: *Calophyllum inophyllum*, *Cordia subcordata, Ficus prolixa, Gardenia taitensis et Curcuma longa*

The skin is a vital organ that can be affected by inflammation, oxidative stress, wound-healing defects and cancer. Inspired by the Polynesian pharmacopoeia and cosmetopoeia, this thesis proposes to address these skin issues through the study of five Polynesian plants: *Calophyllum inophyllum*, *Cordia subcordata*, *Ficus prolixa*, *Gardenia taitensis*, and *Curcuma longa*. These plants, which are among the most widely used in traditional medicine, were extracted using an ultrasound-assisted eco-extraction process. Centrifugal partition chromatography (CPC) was then used to simplify the extracts for chemical characterisation using a metabolomic approach and dereplication methods. LC-MS² analyses were used to construct and annotate molecular networks. By using CaraMel process, NMR analyses of CPC fractions allowed the identification of compounds in studied mixtures by clustering their chemical shifts on heat maps. These processes enabled a broad description of the chemical composition of the studied plants, including the identification of newly described natural compounds. The phytochemistry of *C. subcordata* and *F. prolixa* is described for the first time. The extracts revealed various antioxidant, anti-inflammatory, healing and anti-melanoma properties, which were then correlated with chemical composition to identify the corresponding bioactive compounds. This study shows the potential of Polynesian natural resources for the development of skin care products in the pharmaceutical and cosmetic industries.

Mots-clés : ultrasound assisted extraction, centrifugal partition chromatography, antioxidant, anti-inflammatory, wound-healing, melanoma, molecular networking, CaraMel workflow