

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

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

UNITE DE RECHERCHE DE FORMATION
DOCTORALE EN CHIMIE ET APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE,
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

DOCTORAL RESEARCH UNIT IN
CHEMISTRY AND APPLICATIONS

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

LABORATOIRE D'ETUDE CHIMIQUE DES ENDOPHYTES ET DES PLANTES

MEDECINALES

CHEMICAL STUDY OF MEDECINAL PLANTS AND ENDOPHYTIC FUNGI

LABORATORY

**CONTRIBUTION A L'ETUDE CHIMIQUE DE LA
FRACTION HEXANIQUE DES FEUILLES DE
CLERODENDRUM UMBELLATUM
(LAMIACEAE)**

Mémoire présenté et soutenu publiquement en accomplissement partiel en vue de
l'obtention du diplôme de **Master en Chimie Organique**

Par :

YAMDJEU TCHANTCHEU Giovannie Francesca

Matricule : 19K2880

Licenciée en Chimie



Sous la codirection de :

ACHE Roland NDIFOR

Chargé de Cours

UBa

AMBASSA Pantaléon

Maître de Conférences

UYI/ FS

Année académique 2023-2024

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

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

UNITE DE RECHERCHE DE FORMATION
DOCTORALE EN CHIMIE ET APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE,
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

DOCTORAL RESEARCH UNIT IN
CHEMISTRY AND APPLICATIONS

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

LABORATOIRE D'ETUDE CHIMIQUE DES ENDOPHYTES ET DES PLANTES

MEDECINALES

CHEMICAL STUDY OF MEDECINAL PLANTS AND ENDOPHYTIC FUNGI

LABORATORY

**CONTRIBUTION A L'ETUDE CHIMIQUE DE LA
FRACTION HEXANIQUE DES FEUILLES DE
CLERODENDRUM UMBELLATUM
(LAMIACEAE)**

Mémoire présenté et soutenu publiquement en accomplissement partiel en vue de
l'obtention du diplôme de **Master en Chimie Organique**

Par :

YAMDJEU TCHANTCHEU Giovannie Francesca

Matricule : 19K2880

Licenciée en Chimie

Sous la codirection de :

ACHE Roland NDIFOR

Chargé de Cours

UBa

AMBASSA Pantaléon

Maître de Conférences

UYI/FS

Année académique 2023-2024

DEDICACE

À mes parents

TCHANTCHEU Prosper Leman

et

KOUEMOU Elvine

REMERCIEMENTS

La réalisation de cette œuvre n'aurait pas été possible sans la contribution de nombreuses personnes. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude :

- ★ Au **Pr PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel**, Chef de Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, pour tous les efforts mis en jeux pour le bon fonctionnement de ce Département ;
- ★ Au **Pr FOTSO Ghislain**, responsable du Laboratoire d'Etude Chimique des Endophytes et des Plantes Médicinales pour m'avoir accueilli au sein de l'équipe de recherche dont il a la charge, en mettant à ma disposition tout le matériel nécessaire pour mes travaux ;
- ★ Au **Pr AMBASSA Pantaléon**, mon encadreur, pour m'avoir proposé ce sujet de recherche et pour m'avoir suivi de bout en bout malgré ses multiples occupations ;
- ★ Au **Dr ACHE Roland Ndifor**, mon Co-encadreur, pour sa disponibilité, son encadrement, ses encouragements, et pour avoir suscité en moi un intérêt nouveau pour les recherches en chimie organique ;
- ★ Au **Dr NGNINTEDO Dominique**, pour son accueil chaleureux au sein du laboratoire, pour sa disponibilité et sa promptitude à répondre aux diverses préoccupations et pour ses multiples conseils ;
- ★ A tous les enseignants du Département de Chimie Organique de l'université de Yaoundé I, pour leur contribution à ma formation universitaire ;
- ★ A mon aînée de laboratoire **KOUDJOU Liza** pour sa sympathie, ses conseils, ses encouragements et son soutien moral ;
- ★ A tous mes aînés du Laboratoire notamment **TCHOFFO Idriss**, **FOMENE Raphaëlle**, **KACHE Sorelle**, **NOOH Jacques** pour les multiples encouragements ;
- ★ A mes camarades de promotion du Laboratoire **AMBOGUI Yves**, **KENGNE Eli**, **SENI Gael**, **BASSECK Yann**, **KEPDEM Winnie**, **NANA Samie** et **KUETE Romarique** pour leur familiarité et leur gentillesse ;

- ★ A tous mes autres camarades de promotion pour leur sympathie et les moments agréables inoubliables passés ensemble ;
- ★ A mes parents **TCHANTCHEU Prosper** et **KOUEMOU Elvine** pour leur soutien financier, moral, surtout spirituel, pour les conseils qu'ils ne cessent de me prodiguer et pour tout l'amour qu'ils ne cessent de me montrer ;
- ★ A mes frères et sœurs **KEMENI Joelle**, **TCHOUAKE Michel**, **ADZABA Elisée**, **NGOUNOU Princesse** et **ASSIMBA-NTI Samuel** pour leurs encouragements par le désir de me voir réussir ;
- ★ A toute ma famille pour les encouragements ;
- ★ A toutes les personnes qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à l'aboutissement de ce travail.

TABLE DES MATIERES

DEDICACE	i
REMERCIEMENTS	ii
TABLE DES MATIERES	iv
LISTE DES ABREVIATIONS, DES ACRONYMES ET DES SYMBOLES	vii
LISTE DES TABLEAUX	ix
LISTE DES FIGURES	x
RESUME	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	4
I) ASPECT BOTANIQUE	5
I-1) Généralités sur la famille des <i>Lamiaceae</i>	5
I-1-1) Aspect botanique et répartition géographique	5
I-1-2) Quelques usages des <i>Lamiaceae</i>	6
I-2) Généralité sur le genre <i>Clerodendrum</i>	6
I-2-1) Aspect botanique et répartition géographique.....	6
I-2-2) Quelques usages des plantes du genre <i>Clerodendrum</i>	7
I-3) Généralités sur l'espèce <i>Clerodendrum umbellatum</i>	8
I-3-1) Aperçu botanique et répartition géographique	8
I-3-2) Quelques usages de <i>Clerodendrum umbellatum</i>	9
II) TRAVAUX PHARMACOLOGIQUES ET CHIMIQUES ANTERIEURS.....	9
II-1) Travaux pharmacologiques sur les plantes du genre <i>Clerodendrum</i>	9
II-1-1) Activité anti-inflammatoire	9
II-1-2) Activité anti-diarrhéitique	10

II-1-3) Activité hépatoprotective	10
II-2) Travaux chimiques antérieurs sur le genre <i>Clerodendrum</i>	10
II-2-1) Les triterpénoïdes	11
II-2-1-1) Définition	11
II-2-1-2) Biosynthèse des triterpénoïdes	11
II-2-1-3) Quelques activités biologiques des triterpénoïdes	17
II-2-2) Les stéroïdes	17
II-2-2-1) Définition	17
II-2-2-2) Biosynthèse des stéroïdes.....	18
II-2-2-3) Quelques activités biologiques des stéroïdes	21
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	22
I) EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES.....	23
II) IDENTIFICATION DES COMPOSES	25
II-1) Identification de CU5	25
II-2) Identification de CU6	34
II-3) Identification de CU7	44
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	54
CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE.....	56
I) APPAREILLAGE ET MATERIEL VEGETAL	57
I-1) Matériel végétal	57
I-2- Appareillage et verrerie	57
II) EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES	57
II-1) Extraction	57
II-2) Séparation chromatographique.....	58
II-2-1) Isolement et purification du composé CU1	60
II-2-2- Isolement et purification du composé CU2.....	60
II-2-3) Isolement et purification du composé CU3.....	61
II-2-4) Isolement et purification du composé CU4.....	61
II-2-5) Isolement et purification du composé CU5.....	61

II-2-6) Isolement et purification du composé CU6.....	61
II-2-7) Isolement et purification du composé CU7.....	61
III) CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSES ISOLEES.....	61
IV) TESTS CARACTERISTIQUES DES COMPOSES ISOLEES.....	63
IV-1) Test de Liebermann-Burchard	63
IV-2) Test de Salkowski.....	63
IV-3) Réaction avec le réactif de vanilline-acide sulfurique	64
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	65

LISTE DES ABREVIATIONS, DES ACRONYMES ET DES SYMBOLES

<i>C.u.</i>	:	<i>Clerodendrum umbellatum</i>
<i>C.</i>	:	<i>Clerodendrum</i>
HNC	:	Herbier National du Cameroun
ATP	:	Adenosine TriPhosphate
MVA	:	Acide mévalonique
IPP	:	Isopentényle Pyrophosphate
DMAPP	:	Diméthylallyle Pyrophosphate
CoA	:	Coenzyme A
SiO ₂	:	Silice
Hex	:	Hexane
AE	:	Acetate d'Ethyle
CH ₂ Cl ₂	:	Dichlorométhane
MeOH	:	Méthanol
UV	:	Ultraviolet
CC	:	Chromatographie sur Colonne
CCM	:	Chromatographie sur Couche Mince
1D	:	Unidimensionnelle
2D	:	Bidimensionnelle

δ	:	Echelle de déplacement chimique en <i>ppm</i>
^1H	:	Proton
^{13}C	:	Carbone 13
CDCl_3	:	Chloroforme deutéré
DMSO	:	Dimethyl Sulfoxide
RMN ^1H	:	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN ^{13}C	:	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
COSY	:	<i>Correlation Spectroscopy</i>
HMBC	:	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HSQC	:	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
s	:	Singulet
d	:	Doublet
dd	:	Doublet de doublets
ddd	:	Doublet de doublets dédouble
t	:	Triplet
m	:	Multiplet
J	:	Constante De Couplage
m/z	:	Rapport masse/ charge atomique
Hz	:	Hertz
ppm	:	Partie par million
MHz	:	Méga Hertz

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Répartition géographique de <i>Clerodendrum umbellatum</i>	9
Tableau 2: Quelques triterpénoïdes isolés les plantes du genre <i>Clerodendrum</i>	15
Tableau 3: Quelques stéroïdes isolés les plantes du genre <i>Clerodendrum</i>	20
Tableau 4: Données spectrales de RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) et RMN ^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) de CU5 et du β -sitostérol.	33
Tableau 5: Données spectrales de RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) et RMN ^{13}C (CDCl_3 , 151MHz) de CU6 et de l'acide oléanolique.	43
Tableau 6: Données spectrales de RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) et RMN ^{13}C (CDCl_3 , 151MHz) de CU7 et du 3-O- β -D-glucopyranoside de β -sitosterol.	52
Tableau 7: Chromatogramme de la fraction à l'hexane de <i>Clerodendrum umbellatum</i>	58
Tableau 8: Chromatogramme de la fraction à l'hexane de <i>Clerodendrum umbellatum</i> (suite)....	59
Tableau 9: Chromatogramme de la fraction à l'hexane de <i>Clerodendrum umbellatum</i> (fin).....	60

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Parties aériennes de <i>Clerodendrum umbellatum</i> récoltées le 13 Février 2023 à Bamenda (Nord-Ouest Cameroun) (ACHE, 2023).....	8
Figure 2: Synthèse de l'IPP et du DMAPP par voie du mévalonate (Hung-wen et Lewis, 2010) 13	
Figure 3: Vue d'ensemble de la biosynthèse des terpénoïdes, proposée par Moser S. et Pichler H. (Moser et Pichler, 2019)	14
Figure 4: Formation des différents squelettes triterpéniques.....	15
Figure 5: Cyclisation de l'oxydosqualène en précurseurs des stérols.....	19
Figure 6: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i>	24
Figure 7 : Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 151MHz) de CU5.....	26
Figure 8: Spectre DEPT-135 de CU5	27
Figure 9: Spectre de RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) de CU5	28
Figure 10: Spectre HSQC (CDCl_3 ; 600 /151 MHz) de CU5	29
Figure 11: Spectre COSY élargi (CDCl_3 , 600 MHz) de CU5	30
Figure 12:Corrélations observée sur le spectre COSY de CU5	30
Figure 13: Spectre HMBC du composé CU5	31
Figure 14: Corrélations observée sur le spectre HMBC de CU5.....	32
Figure 15: Spectre élargi RMN ^{13}C (151 MHz, CDCl_3) DE CU6.....	36
Figure 16: Spectre DEPT-135 DE CU6.....	37
Figure 17: Spectre RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) DU COMPOSE CU6.....	38
Figure 18: Quelques corrélations observées sur le spectre HSQC du composé CU6.....	39
Figure 19 : Spectre ^1H - ^1H COSY du composé CU6.....	40
Figure 20: Quelques corrélations COSY observées pour le composé CU6.....	40
Figure 21: Spectre HMBC du composé CU6	41
Figure 22: Quelques corrélations HMBC observées pour le composé CU6	42
Figure 23 : Spectre RMN ^{13}C (151 MHz, DMSO) du composé CU7.	45
Figure 24: Spectre DEPT-135 de CU7	46

Figure 25: Spectre élargi RMN ^1H (600 MHz, DMSO)	47
Figure 26: Spectre HSQC de CU7	48
Figure 27: Spectre ^1H - ^1H COSY du composé CU7	49
Figure 28: Corrélations observées sur le spectre COSY	49
Figure 29: Spectre HMBC de CU7	50
Figure 30: Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de CU7	51

RESUME

Notre étude vise à isoler et à caractériser les constituants chimiques de la fraction hexanique des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* (Lamiaceae), plante médicinale camerounaise utilisée en médecine traditionnelle pour traiter divers maux tels que l'épilepsie, l'helminthiase intestinale, l'asthme et les infections bactériennes.

Des méthodes chromatographiques, telles que la chromatographie sur colonne de gel de silice et la chromatographie sur couche mince (CCM), ont été employées. Ces analyses ont permis l'isolement de sept composés désignés comme CU1 à CU7. Parmi eux, trois composés indexés CU5, CU6 et CU7 ont été élucidés à l'aide de la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) 1D et 2D (^1H RMN, ^{13}C RMN, DEPT 135, HSQC et HMBC) et par comparaison des données spectrales obtenues avec celles de la littérature. Les composés ont été identifiés comme suit :

- ✓ Deux stéroïdes (β -sitostérol (CU5) et 3-O- β -D-glucopyranoside de β -sitosterol (CU7)) ;
- ✓ Et un triterpénoïde (acide oléanolique (CU6)).

Il est à noter que le travail de caractérisation structurale des composés CU1 à CU4 est en cours, ce qui pourrait conduire à la découverte de métabolites de classes différentes présentant un intérêt pharmacologique varié.

Mots-clés : *Clerodendrum umbellatum*, Lamiaceae, stéroïdes, triterpénoïdes, chromatographie, spectroscopie RMN.

ABSTRACT

This study aims to isolate and characterise the chemical constituents of the hexane fraction of the leaves of *Clerodendrum umbellatum* (Lamiaceae) a Cameroonian medicinal plant used in folkloric to treat various ailments such as epilepsy, intestinal helminthiasis, asthma and bacterial infections.

Chromatographic separation techniques, such as silica gel column chromatography and thin-layer chromatography (TLC), were employed. These findings led to the isolation of seven compounds designated as CU1 to CU7. Of these, three of the compounds (CU5, CU6, and CU7) were elucidated using 1D and 2D-Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy (^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT 135, HSQC, and HMBC) and by comparison of our spectral data with literature values. The compounds were identified as follows:

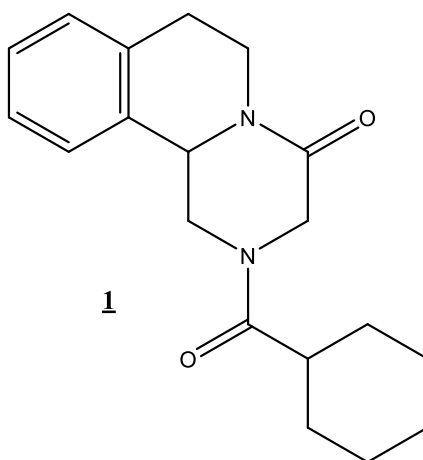
- ✓ Two steroids (β -sitosterol (CU5) and 3-O- β -D-glucopyranoside of β -sitosterol (CU7));
- ✓ And one triterpenoid (oleanolic acid (CU6)).

It is worthy of note that, the structural characterization work of compound CU1 to CU4 is ongoing, which could lead to the discovery of metabolites of different classes of varying pharmacological interest.

Keywords: *Clerodendrum umbellatum*, *Lamiaceae*, steroids, triterpenoids, chromatography, NMR spectroscopy.

INTRODUCTION GENERALE

La Schistosomiase encore appelée Bilharziose constitue la deuxième endémie parasitaire mondiale après le paludisme. C'est une maladie parasitaire chronique provoquée par des vers présents en eaux douce surtout dans les pays en voie de développement (**Pierre et Bernard, 2024**) qui se manifeste de diverses manières en fonction du type d'infection (schistosomiase intestinale et schistosomiase urogénitale). Les statistiques annuelles nous montrent que cette maladie couvre environ 78 pays dans le monde avec valeur estimative 251,4 millions de personnes infectées (**OMS, 2022**). Actuellement, aucun vaccin n'existe contre la schistosomiase, mais le seul traitement trouvé jusqu'ici reste le praziquantel **1** qui possède des propriétés anthelminthiques.



Cependant, ce médicament présente de nombreux effets indésirables sur la santé de l'homme. De plus, certains schistosomes présentent un caractère résistant face à ce traitement. Il devient alors urgent de découvrir de nouveaux médicaments schistosomicides efficaces. Connu comme riche source de molécules bioactives, les plantes ont fourni un certain nombre d'agents cliniques utiles pour le traitement de cette maladie. Des études ethnobotaniques antérieures ont révélé une utilisation courante des matières végétales dans les régions d'Afrique pour le traitement des Schistosomiasis intestinales. Au Cameroun, les feuilles de *Clerodendrum umbellatum* (Lamiaceae) sont parmi les plantes médicinales communément utilisées en médecine traditionnelle (**Jatsa et al., 2015**).

Bien que des recherches des activités biologiques aient été menées sur *Clerodendrum umbellatum*, les connaissances sur la diversité chimique de cette espèce camerounaise sont encore à découvrir. Il est donc nécessaire de mener une étude exploratrice afin de caractériser les

constituants chimiques présents dans cette plante médicinale qui pourrait présenter des propriétés pharmacologiques potentiellement bénéfiques pour la santé humaine.

C'est dans cette optique que nous nous sommes proposés dans le cadre de nos travaux de Master en Chimie Organique d'isoler et de caractériser les métabolites secondaires de la fraction à l'hexane des feuilles de *Clerodendrum umbellatum*. Le choix porté sur cette espèce a été motivé par le fait que les espèces du même genre sont très riches en métabolites secondaires et à notre connaissance aucune étude chimique n'a encore été entreprise ou publiée sur cette espèce. De plus, elle est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter la schistosomiase.

L'objectif général de ce travail est de caractériser la diversité chimique de la plante médicinale *Clerodendrum umbellatum*. Plus spécifiquement, il s'agira d'isoler, de purifier et de caractériser les différents métabolites secondaires présents dans cette espèce.

Pour atteindre nos objectifs, notre travail est organisé en trois chapitres distincts :

- Le premier chapitre, intitulé "Revue de la littérature", abordera les aspects botaniques et ethnobotaniques sur la famille, le genre et l'espèce de la plante étudiée, ainsi que les travaux pharmacologiques et chimiques antérieurs effectués sur cette plante.
- Le deuxième chapitre, "Résultats et Discussion", présentera les résultats des travaux de recherche menés en laboratoire.
- Le troisième chapitre, "Partie Expérimentale", décrira de manière détaillée le matériel et les méthodes employés dans le cadre de cette étude, y compris les techniques d'extraction, d'isolement, de purification et de caractérisation des métabolites secondaires.

Le mémoire s'achèvera par une conclusion suivie d'une synthèse bibliographique, offrant ainsi une vue d'ensemble des connaissances actuelles dans ce domaine.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I) ASPECT BOTANIQUE

I-1) Généralités sur la famille des *Lamiaceae*

I-1-1) Aspect botanique et répartition géographique

La famille des *Lamiaceae* connue également sous le nom de Labiateae ou encore Labiée appartient à l'ordre des lamiales, la classe des astérides, et à l'embranchement spermatophyte. C'est une famille cosmopolite comprenant douze (12) sous familles, seize (16) tribus, neuf (9) sous-tribus, deux-cent trente-six (236) genres et plus de sept mille (7000) espèces (**Khelfallah, 2022**). Du point de vue botanique, ce sont généralement des herbacées ou arbustes, rarement des arbres, ou des lianes très parfumées (**Hemiani et Ben, 2021**). Elles possèdent les caractéristiques suivantes :

- Tige quadrangulaire : présentant 04 angles et 04 faces ;
- Feuilles opposées : Elles sont disposées en paires opposées sur la tige ; chaque paire formant un angle droit avec la précédente ;
- Corolle en forme de tube avec deux lèvres ;
- Etamines insérées sur le tube de la corolle et soudées entre elles à la base au nombre de 2 ou de 4 ;
- Fleurs présentant un plan de symétrie bilatéral ou quasiment radical.

Les *Lamiaceae* sont réparties sur l'ensemble de la surface de la planète, bien qu'elles soient plus présentes en climat tempéré et surtout dans le pourtour méditerranéen, donc principalement en milieu ouvert (**Hemiani et Ben, 2021**). On les recense en régions tempérées d'Europe, d'Asie, du Moyen Orient ; mais quelques espèces tropicales majoritairement arbustives poussent naturellement en Afrique du Sud, à Madagascar, également en Australie et dans les îles Pacifiques.

Cependant, l'Afrique est le continent qui compte le plus grand nombre d'espèces. On peut citer entre-autre les genres *Salvia* (sauge), *Ocimum* (basilique), *Mentha* (menthe), *Thymus* (thym) et *Clerodendrum* (clérodendron) qui fera l'objet de notre étude.

I-1-2) Quelques usages des *Lamiaceae*

Sur le plan nutritionnel, cette famille est l'une des principales sources de légumes et de plantes médicinales du monde entier. Les espèces de *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coleus* et *Ocimum* sont utilisées comme des légumes, des arômes alimentaires et dans l'industrie de bois (*Tecton*). En culture ornementale intérieure, on retrouve quelques espèces du genre *Savory*, *Tubifera*, *Salvia* et *Coleus* (Messaili, 1995 ; Meyer et al., 2004).

En médecine traditionnelle et moderne, plusieurs espèces de cette famille comme *Lavandulla*, *Teucrium*, *Thymus* et *Salvia* sont utilisées. Dans la pharmacopée traditionnelle africaine, les plantes de la famille des *Lamiaceae* sont utilisées comme diurétique, anti syphilitique, anti diarrhéique, cicatrisante, antiseptique, dans le traitement de nombreuses affections telles que les problèmes intestinaux ou encore météorisme (ballonnement du ventre dû à des gaz).

En aromathérapie, de nombreuses herbes sont des sources d'huiles essentielles, d'infusion et d'antibiotiques naturels. D'autres huiles sont utilisées également pour leurs propriétés hydratantes (Guignard et Dupont, 2004).

I-2) Généralité sur le genre *Clerodendrum*

I-2-1) Aspect botanique et répartition géographique

La première description du genre *Clerodendrum* a été donnée par Linnaeus en 1753 par l'identification de *C. infortunatum*. Une décennie plus tard Anderson a changé le nom latin "*Clerodendrum*" en son grec "*Clerodendon*" qui vient de "*cleros*" (chance, destin) et "*dendron*" (arbre), littéralement "arbre de la chance" (Neeta et Tejas, 2007). Autre fois classée dans la famille des Verbenaceae, *Clerodendrum* appartient depuis les classifications scientifiques des angiospermes (APG), à l'ordre des Lamiales et à la famille des *Lamiaceae* (Cantino et al., 1992).

Les Clérodendrons sont généralement des arbustes ou des lianes et quelques arbres à feuillage caduc ou persistant, haute de 1 à 6 mètres pour les arbustes, jusqu'à 30 mètres pour les arbres.

Leur écorce gris brun est lisse lorsqu'elle est jeune, mais se fissure avec l'âge.

Leurs tiges ramifiées, quelquefois nombreuses, portent des feuilles disposées de façon opposée, souvent décussée, de couleur verte, mais peuvent également être panachées ou colorées.

Leurs fleurs sont généralement regroupées en cymes ou en panicules de couleur blanche, rose, rouge ou violette. Elles sont souvent parfumées et attirent les papillons et d'autres insectes.

Leurs fruits sont généralement des baies. Ils sont souvent comestibles, mais certaines espèces produisent des fruits toxiques.

Clerodendrum est un genre très vaste et divers répandus dans les régions tropicales et subtropicales. Jusqu'à nos jours, environ 580 espèces ont été identifiées et largement distribuées en Asie, en Australie, en Amérique et en Afrique (Neeta et Tejas, 2007). En Afrique centrale, on les retrouve au Tchad, au Soudan, au Congo, en Centrafrique, et au Cameroun.

1-2-2) Quelques usages des plantes du genre *Clerodendrum*

Un certain nombre d'espèces de ce genre ont été documentées pour être utilisées en médecine traditionnelle par plusieurs régions des continents d'Asie et d'Afrique. En effet, les extraits des racines et des feuilles de *C. indicum*, *C. phomidis*, *C. serratum*, *C. trichotomum*, *C. chinense* et *C. petasites* ont été utilisées pour le traitement du rhumatisme, de l'asthme et d'autres maladies inflammatoires (Neeta et Tejas, 2007).

En pharmacopée africaine, les feuilles de *C. buchholzii* sont utilisées pour le traitement de la furonculose (infection bactérienne d'un follicule pilosébacé de la peau), de l'ecchymose (tâche cutanée résultante de l'épanchement sanguin sous la peau) et de la gastrine.

Outre leurs usages thérapeutiques, les plantes du genre *Clerodendrum* comme *C. inerme*, *C. thomosonae*, *C. indicum* et *C. speciosum* sont aussi cultivées et utilisées comme plantes ornementales.

I-3) Généralités sur l'espèce *Clerodendrum umbellatum*

I-3-1) Aperçu botanique et répartition géographique

Clerodendrum umbellatum a été décrit en 1804 par Lamarck comme un arbuste grimpant appartenant à la famille des *Lamiaceae*. On le retrouve en Afrique tropicale, Amérique centrale ou Asie tropicale, il pousse principalement dans le biome tropique naturellement sec. Sa distribution est généralement anthropique et il est planté pour ses fleurs magnifiques. Il possède les caractéristiques suivantes (**Lamarck, 1804**) :

- Ses feuilles sont simples et opposées de 3 à 8 cm de long et de 1 à 3 cm de large. Elles sont de forme ovale à elliptique, à bords entiers ou crénelés et pétiolées.
- Ses fleurs sont portées en cymes de 3 à 6 cm de long et de large qui émergent de l'aisselle des feuilles. Ces fleurs parfumées, de couleur rouge ou blanche avec une tige rose ou rouge au milieu, sont tubulaires et comportent 5 lobes
- Son fruit est une drupe de la taille d'un pois, il est noir en maturité. C'est un fruit comestible mais d'un goût amer.



Figure 1: Parties aériennes de *Clerodendrum umbellatum* récoltées le 13 Février 2023 à Bamenda (Nord-Ouest Cameroun) (ACHE, 2023)

➤ **Noms vernaculaires et répartition géographique de *Clerodendrum umbellatum* au Cameroun**

Au Cameroun, *Clerodendrum umbellatum* est connue sous divers noms vernaculaires selon les régions et les langues locales. Par exemple, chez les Bafut dans le Nord-Ouest, elle est appelée "Nganwi" ; chez les Bassas, elle est connue sous le nom de "Binyem" ou "Dion" ; et chez les Ewondo, elle est appelée "Elok dibi". Cette espèce est très répandue dans plusieurs régions du Cameroun, principalement dans la localité du Nord-Ouest à Bamenda, et au Sud à Mekok (Jatsa et al., 2015).

Tableau 1:Répartition géographique de *Clerodendrum umbellatum*.

Régions	Lieux
Nord-Ouest	Bamenda (Nkwen)
Sud	Mekok

I-3-2) Quelques usages de *Clerodendrum umbellatum*

Au Cameroun, les feuilles de *Clerodendrum umbellatum* font partie des plantes médicinales couramment utilisées par les tradipraticiens pour traiter les helminthiases intestinales (maladie intestinale due à l'infestation par les vers. Exemple : ténia (Adjanohoum et al.,1996). En outre, on les utilise aussi dans le traitement de certaines autres maladies telles que le diabète, l'épilepsie, l'hypertension, le cancer, l'obésité (Adjanohoum et al., 1996 ; Wang et al., 2018).

II) TRAVAUX PHARMACOLOGIQUES ET CHIMIQUES ANTERIEURS

II-1) Travaux pharmacologiques sur les plantes du genre *Clerodendrum*

Les travaux pharmacologiques antérieurs sur plantes du genre *Clerodendrum* ont montré qu'elles possèdent des activités anti-inflammatoires, anti-diarrhéitiques, hépatoprotectives, anti-hypertensives, anti-plasmodiales et bien d'autres.

II-1-1) Activité anti-inflammatoire

De nombreuses études ont fourni des données sur les effets anti-inflammatoires des extraits des parties aériennes, des racines, des feuilles et des tiges de *C. phlomidis*, *C. petasites*, *C.*

laevifolium, *C. inerme*, *C. bungei*, et *C. serratum*. Parmi celles-ci, de nombreuses études ont été faites sur l'extrait des parties aériennes, des racines et des tiges de *C. serratum*. L'extrait aqueux des racines a montré une activité anti-inflammatoire significative à dose élevée (180 mg/kg) chez les rats. (Bhangare et Ghongane, 2011 ; Bhangare et al., 2012).

L'activité anti-inflammatoire de *C. serratum* pourrait être causée par la présence des flavonoïdes et des saponines (Wang et al., 2018).

Panthong et collaborateurs ont évalué les activités anti-inflammatoire et anti-pyretique de l'extrait au méthanol de *C. petasites*. Les résultats ont prouvé que cet extrait possède une activité inhibitrice modérée à la phase aiguë de l'inflammation, de manière liée à la dose d'éthyl phénylpropionate sur l'œdème de l'oreille (DE₅₀ ¼ 2.34 mg/oreille) (Panthong et al., 2003).

II-1-2) Activité anti-diarrhéique

La fraction au chloroforme de l'extrait méthanolique de *C. indicum* a été démontée par Pal et collaborateurs comme produisant à une dose de 400 mg/kg, 21,74% et 26,96% d'inhibition de la défécation dans les tests de diarrhée induite par l'huile de ricin. Ces résultats ont été trouvés comparable à ceux du médicament standard la lopéramide (37,39% d'inhibition à 50 mg/kg) (Pal et al., 2012), raison pour laquelle les populations d'Australie et d'Inde utilisent traditionnellement cette plante.

II-1-3) Activité hépatoprotective

L'extrait méthanolique (dosé à 100, 200 et 400 mg/kg) de *C. umbellatum* réduit significativement l'activité ALT et fait accroître le niveau total de protéines (Jatsa et al., 2015).

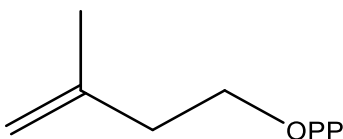
II-2) Travaux chimiques antérieurs sur le genre *Clerodendrum*

Les études chimiques antérieures sur le genre *Clerodendrum* révèlent qu'environ 280 composés chimiques ont été isolés et identifiés à partir de plusieurs espèces de ce genre. On note 27 monoterpénoïdes, et dérivés, 3 sesquiterpénoïdes, 58 diterpénoïdes, 31 triterpénoïdes, 43 flavonoïdes et flavonoïdes glycosides, 40 glycosides phényléthanoides, 43 stéroïdes et stéroïdes glycosides, 13 cyclohexylethanoides, 4 anthraquinones, 2 glycosides cyanogéniques, et 19 autres classes de composés (Wang et al., 2018). Nous parlerons donc par la suite des familles des triterpénoïdes, des stéroïdes et des flavonoïdes.

II-2-1) Les triterpénoïdes

II-2-1-1) Définition

Les triterpénoïdes sont une classe de composés naturels constitués de 30 atomes de carbone, formés par la condensation de six unités isopréniques. Ils représentent une sous-classe importante des terpènes et sont largement répandus dans le règne végétal. Les triterpénoïdes incluent diverses structures telles que les saponines, les acides triterpéniques, les stéroïdes et les triterpènes pentacycliques comme le lupane, l'ursane et l'oléane (**Mahato et Sen, 1997**). Ces composés jouent un rôle crucial dans la défense des plantes contre les pathogènes et les herbivores, et présentent de nombreuses activités biologiques bénéfiques pour la santé humaine. Ce sont des produits naturels, formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unité isoprénique, l'isopentényl pyrophosphate (IPP), ou le 2-méthyl-1,3-diène (C_5H_8) qui est le précurseur de tous les terpènes.



Isopentényl Pyrophosphate

II-2-1-2) Biosynthèse des triterpénoïdes

La biosynthèse des triterpénoïdes débute avec la formation du squalène, un triterpène linéaire constitué de 6 unités isopréniques, résultant de la condensation de deux molécules de farnésyl pyrophosphate (FPP) par une réaction « queue-à-queue ». Le squalène est ensuite oxydé en 2,3-oxydosqualène par la squalène époxydase. Ce dernier subit une cyclisation catalysée par des cyclases spécifiques pour former divers squelettes triterpéniques, tels que le lanostérol (précurseur des stéroïdes), le β -amyrine (précurseur des acides oléanolique et ursolique) et le lupeol (**Xu et al., 2004**).

➤ Synthèse de l'unité isoprénique : Isopentenyl pyrophosphate (IPP)

Elle se fait soit par voie du mévalonate (MEV), soit par la voie du méthylérithritol phosphate (MEP) (**Couillaud, 2021**). La plus courante est celle du mévalonate.

Voie du mévalonate

La biosynthèse des triterpènes par voie du mévalonate commence par une réaction de condensation de Claisen entre deux molécules d'acétyl-CoA catalysée par l'acétoacétylCoA-thiolase **(I)** pour donner de l'acétoacétyl-CoA **2** (**Hung-wen et Lewis, 2010**). Une seconde réaction de condensation aldolique avec une troisième molécule d'acétyl-CoA donne ensuite un composé à six atomes de carbones, le (S)-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A **3** (HMGCoA). Cette réaction de condensation est catalysée par HMG-CoA synthase **(II)** (**Hung-wen et Lewis, 2010 ; Tarek, 2012**). Le HMG-CoA est ensuite réduit en mévalonate **4** par le HMGR **(III)** (HMG-CoA réductase). Le mévalonate est ensuite converti en phosphomévalonate **5** puis en diphosphomévalonate **6** via deux réactions consécutives de phosphorylation impliquant l'hydrolyse de l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) dont la première est catalysée par le mévalonate kinase **(IV)** et la seconde par phosphomévalonate kinase **(V)** (**Hung-wen et Lewis, 2010 ; Tarek, 2012**). Le diphosphomévalonate est ensuite converti en isopentényl diphosphate (IPP) **7** par la diphosphomévalonate décarboxylase **(VI)**. Dans cette étape, le dégagement de CO₂ du diphosphomévalonate se produit conjointement avec l'hydrolyse de l'ATP en adénosine diphosphate (ADP). Enfin, l'IPP est converti en son isomère le diméthylallyl diphosphate (DMAPP) **8** par l'action de l'IPP isomérase **(VII)** (**Hung-wen et Lewis, 2010 ; Tarek, 2012**). La séquence ainsi décrite est illustré par la figure 1 ci-dessous :

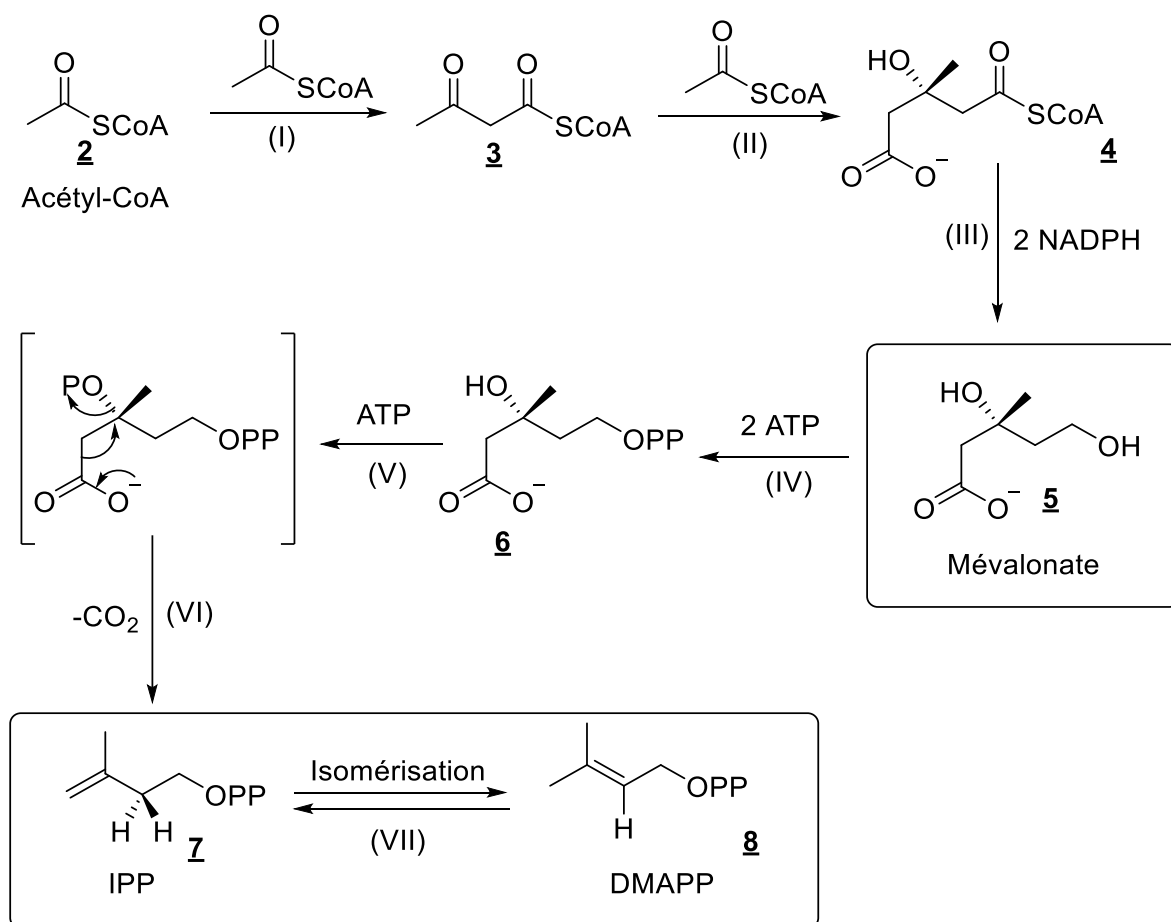


Figure 2: Synthèse de l'IPP et du DMAPP par voie du mévalonate (Hung-wen et Lewis, 2010)

➤ Condensation de l'unité isoprénique

Le diméthyl-allyl pyrophosphate (DMAPP) formé va subir une condensation tête-queue avec une nouvelle molécule d'Isopentényl pyrophosphate (IPP) en donnant le Géranyl pyrophosphate (GPP), précurseur des monoterpènes. Une addition similaire de l'IPP conduit au Farnesyl pyrophosphate (FPP), précurseur des sesquiterpènes, puis s'il y a addition d'une autre molécule, on aura la formation du Géranyl-géranyl pyrophosphate (GGPP) précurseur des diterpènes. Les triterpènes se forment à partir du squalène dont la formation quant à elle passe par une condensation queue-queue de deux molécules de FPP.

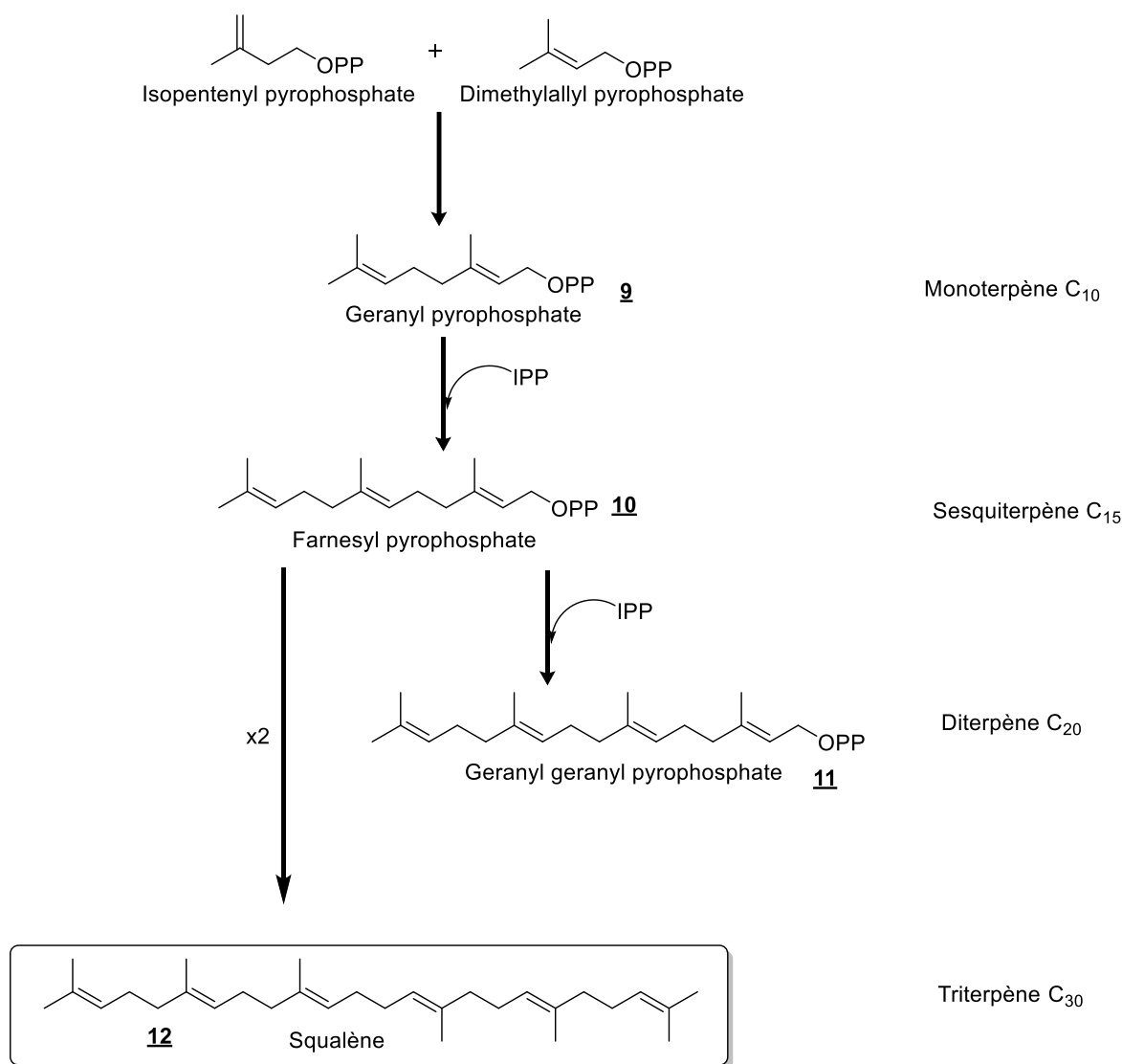


Figure 3: Vue d'ensemble de la biosynthèse des terpénoïdes, proposée par Moser S. et Pichler H. (Moser et Pichler, 2019)

➤ **Formation des différents squelettes triterpénique :**

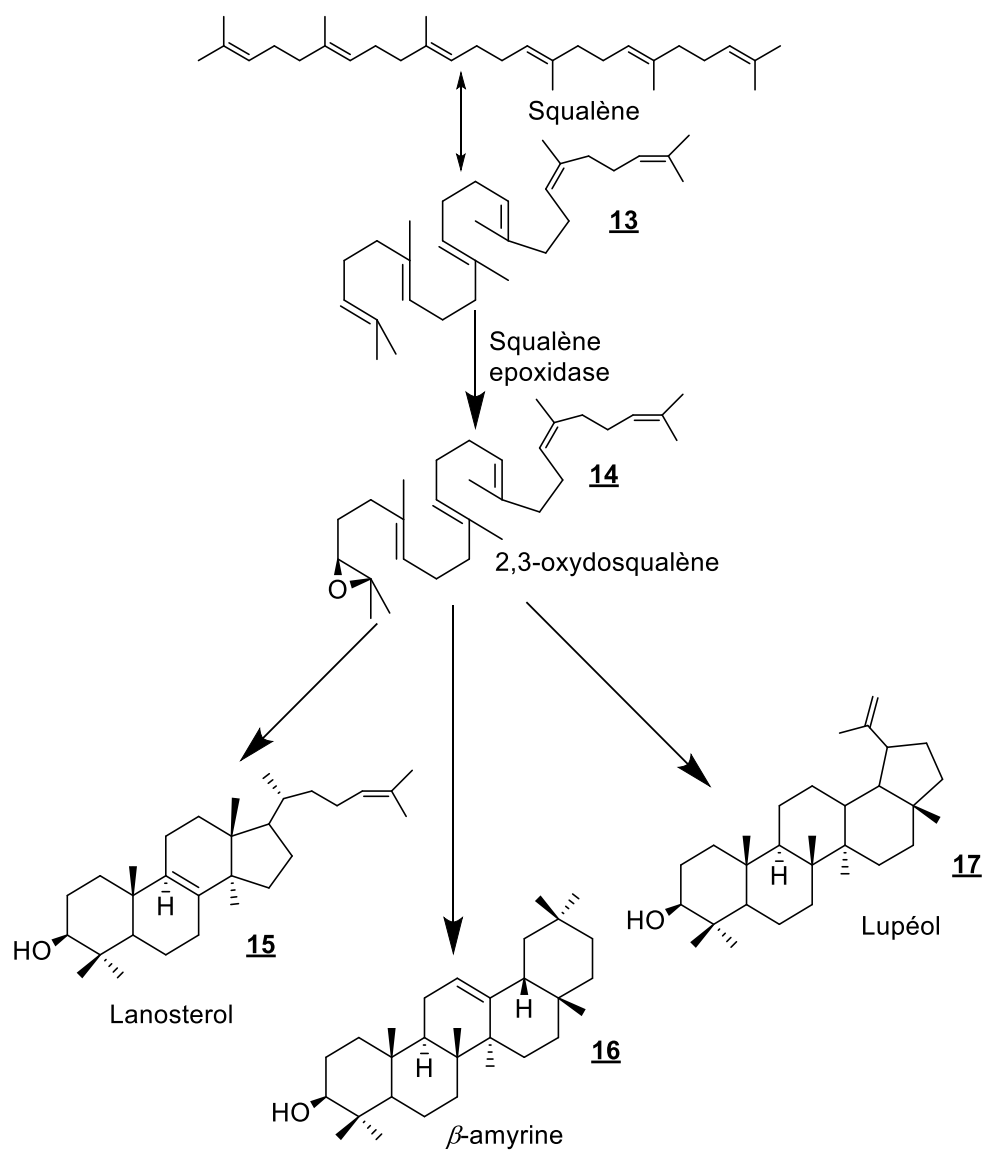
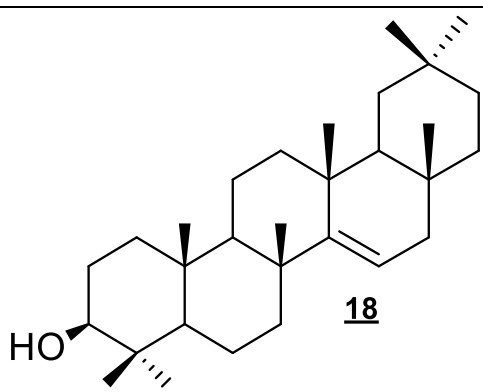
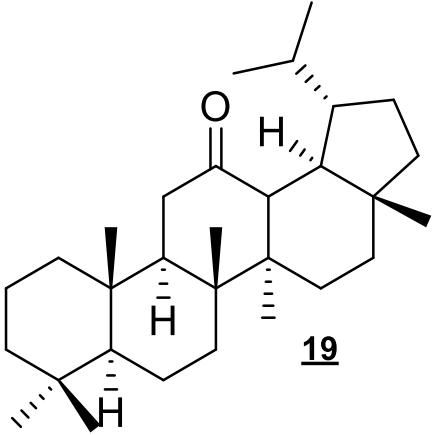
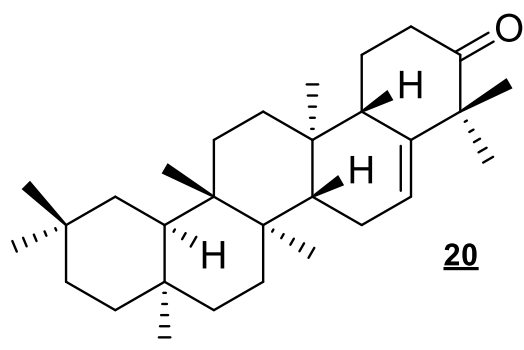
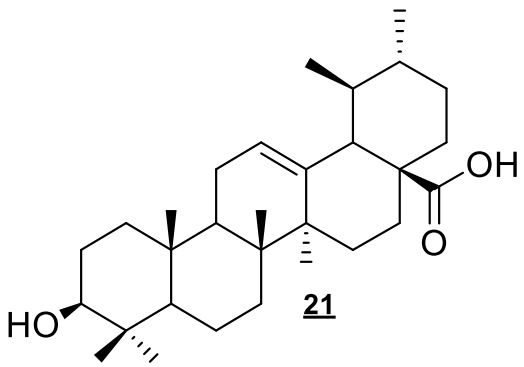


Figure 4: Formation des différents squelettes triterpéniques.

Plusieurs triterpénoïdes et dérivés ont été isolés de quelques plantes du genre *Clerodendrum*.

Tableau 2: Quelques triterpénoïdes isolés les plantes du genre *Clerodendrum*.

Structures	Noms	Sources	Références
 18	Taraxerol	Racine de <i>C. indicum</i>	(Somwong et al., 2015)
 19	Clerodone	Plante entière de <i>C. bungei</i>	(Dong et al, 1999)
 20	Glutinone	Partie aérienne de <i>C. inerme</i>	(Nan et al., 2006)

 21	Acide Ursolique	Feuilles de <i>C. inorme</i>	(Dinda et <i>al.</i>, 2011)
--	--	---	---

II-2-1-3) Quelques activités biologiques des triterpénoïdes

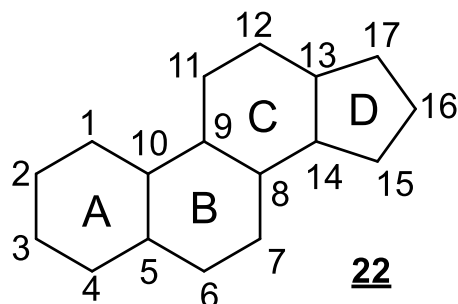
Aussi bien chez l'Homme que chez la plante, les terpénoïdes présentent une large gamme d'activités biologiques :

- **Activité anti-inflammatoire** : L'acide oléanolique et l'acide ursolique inhibent les médiateurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines et les cytokines (**Liu et *al.*, 1995**).
- **Activité antitumorale** : Le lupéol a démontré des effets cytotoxiques contre diverses lignées cellulaires cancéreuses en induisant l'apoptose (**Siddique et Saleem, 2011**).
- **Activité hépatoprotectrice** : L'acide ursolique protège le foie contre les dommages induits par des substances toxiques en améliorant l'activité des enzymes antioxydantes (**Liu et *al.*, 1995**).
- **Activité antimicrobienne** : Le taraxérol possède des propriétés antibactériennes contre plusieurs souches pathogènes (**Rahman et Rashid, 2008**).
- **Activité antidiabétique** : Certains triterpénoïdes améliorent la sensibilité à l'insuline et régulent le métabolisme du glucose (**Yamaguchi et *al.*, 2006**).

II-2-2) Les stéroïdes

II-2-2-1) Définition

Les stéroïdes sont des lipides dérivés du noyau stéroïdien composé de trois cycles cyclohexane (A, B, C) et d'un cycle cyclopentane (D) fusionnés. Ils comprennent les stérols végétaux, les hormones stéroïdiennes, les acides biliaires et les saponines stéroïdiennes. Les stéroïdes jouent des rôles essentiels dans les membranes cellulaires, la signalisation hormonale et divers processus physiologiques (**Goodwin, 1972**).



Noyau stérane (Martin et Ruud, 2012).

II-2-2-2) Biosynthèse des stéroïdes

La biosynthèse des stéroïdes commence avec la cyclisation de l'oxydosqualène pour former le lanostérol chez les animaux ou le cycloarténol chez les plantes. Chez les végétaux, le cycloarténol est le précurseur des stérols végétaux tels que le campestérol, le sitostérol et le stigmasterol. Ces stérols peuvent subir des modifications supplémentaires pour générer une variété de stéroïdes fonctionnels (Benveniste, 2004).

➤ **Cyclisation de l'oxydosqualène :**

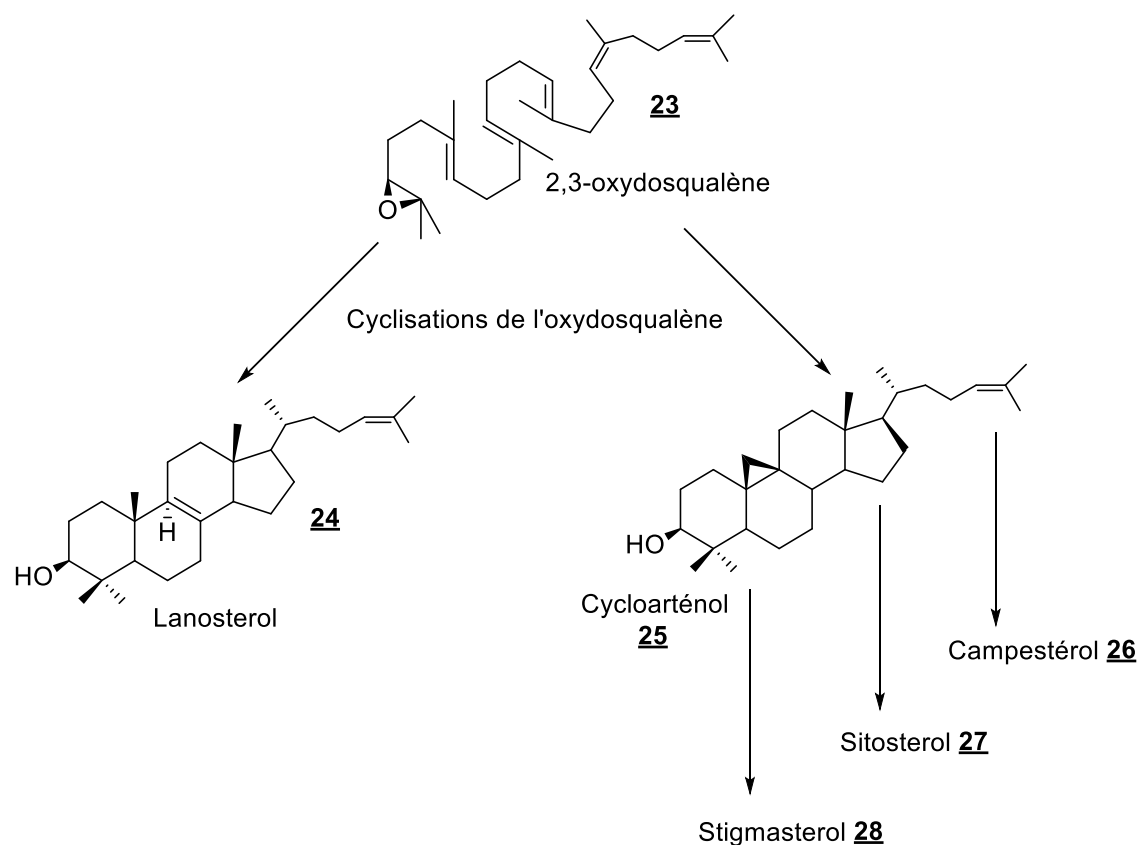
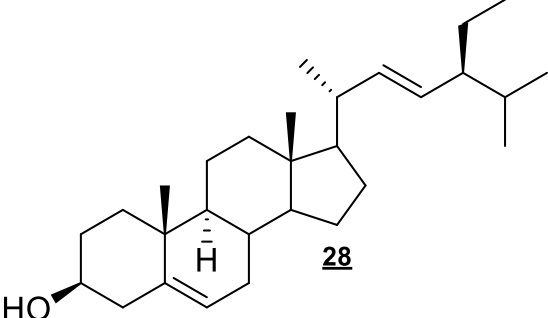
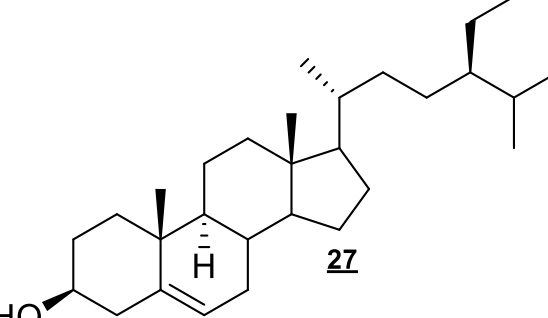
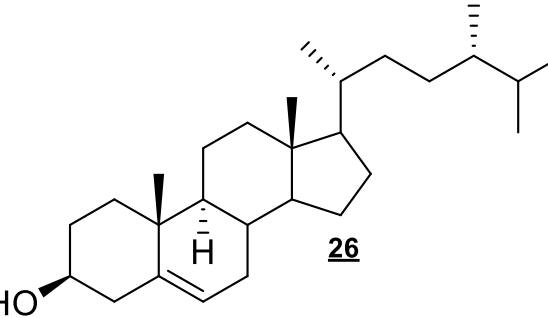
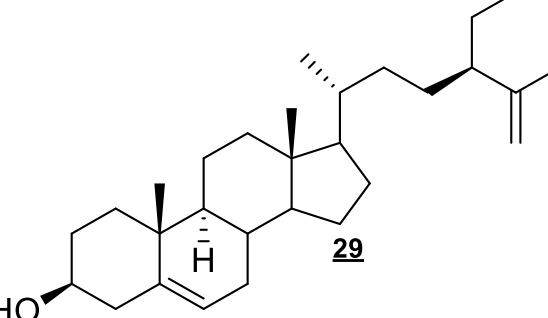


Figure 5: Cyclisation de l'oxydosqualène en précurseurs des stérols

Plusieurs stéroïdes et dérivés ont été isolés de quelques plantes du genre *Clerodendrum* (Wang et *al.*, 2018).

Tableau 3: Quelques stéroïdes isolés les plantes du genre *Clerodendrum*.

Structures	Noms	Sources	Références
 28	β -stigmasterol	Racines de <i>C. serratum</i>	(Singh et al., 2010)
 27	β -sitostérol	Feuilles de <i>C. inerme</i>	(Dinda et al., 2015)
 26	β -campesterol	Feuilles de <i>C. phlomidis</i>	(Mandal et al., 2007)
 29	β -clerosterol	Parties aériennes de <i>C. trichotomum</i>	(Lee et al., 2011)

II-2-2-3) Quelques activités biologiques des stéroïdes

Les stéroïdes issus des plantes présentent diverses activités biologiques :

- **Activité hypocholestérolémiant** : Les stérols végétaux comme le β -sitostérol et le campestérol réduisent l'absorption intestinale du cholestérol, aidant à abaisser les niveaux de cholestérol sanguin (Ling et Jones, 1995).
- **Activité anti-inflammatoire** : Le stigmasterol possède des propriétés anti-inflammatoires en inhibant la production de médiateurs pro-inflammatoires (Gabay et Kushner, 1999).
- **Activité anticancéreuse** : Le β -sitostérol induit l'apoptose dans diverses lignées cellulaires cancéreuses, montrant un potentiel en tant qu'agent chimiopréventif (Awad et al., 2000).
- **Activité immunomodulatrice** : Les stérols végétaux peuvent moduler la réponse immunitaire en influençant la production de cytokines et l'activité des cellules immunitaires (Bouic et al., 2001).

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

I) EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES

Les travaux effectués dans le cadre de la préparation de ce mémoire ont porté sur les feuilles de *Clerodendrum umbellatum*. Ces feuilles ont été récoltées le 13 Février 2023 à Nkwen, une localité située dans la ville de Bamenda, dans la région du Nord-Ouest Cameroun. Elles ont été identifiées par Monsieur NANA Victor Botaniste De l'Herbier National du Cameroun en comparaison avec le spécimen enregistré sous le numéro 35734/HNC. Après découpage, séchage, puis broyage, la poudre obtenue (1 000 g) a été extraite par macération au méthanol pendant 48 heures. L'extrait brut obtenu a subi un partitionnement liquide-liquide successivement à l'hexane, puis à l'acétate d'éthyle. Sur les 89 g de la fraction à l'hexane obtenue, 57 g ont été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice. L'élution de la colonne s'est faite avec le système de solvant hexane/acétate d'éthyle, puis acétate d'éthyle/méthanol de polarité croissante. Ce qui a ainsi abouti à l'isolation de 7 composés indexés de CU1 à CU7. Seuls CU5, CU6 et CU7 ont été identifiés sur la base des données spectrales et par comparaison avec celles décrites dans la littérature. La figure 6 résume le protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de *Clerodendrum umbellatum*.

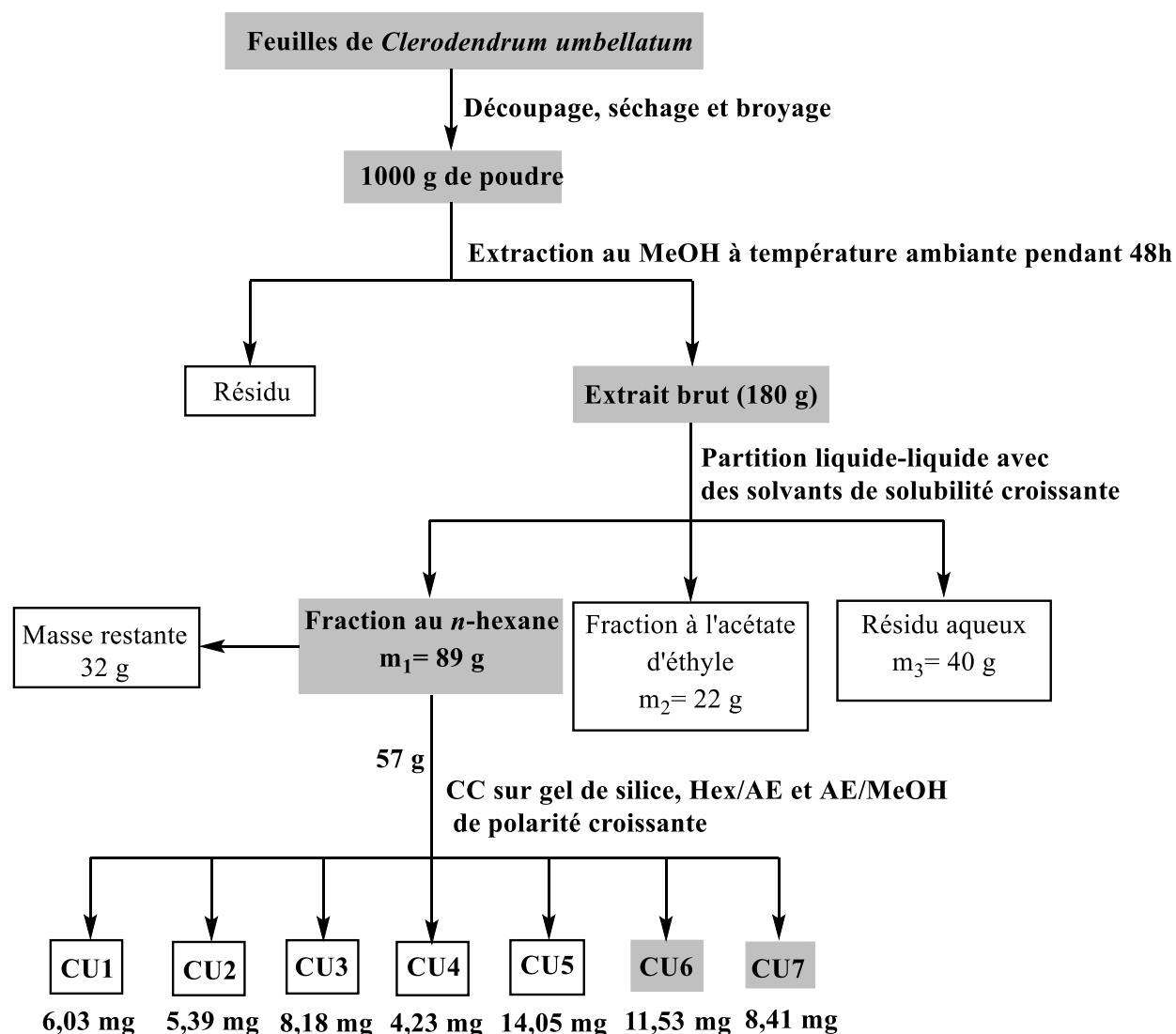


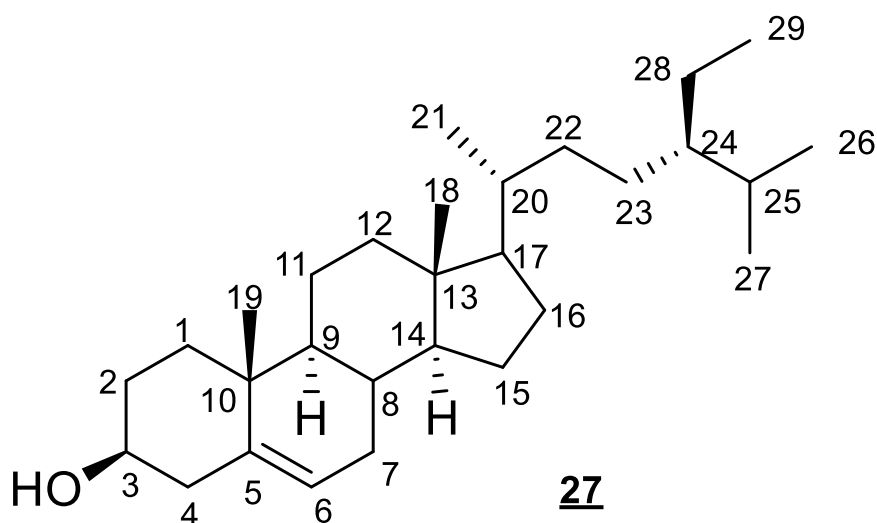
Figure 6: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de
Clerodendrum umbellatum

II) IDENTIFICATION DES COMPOSES

II-1) Identification de CU5

Le composé CU5 se présente sous forme de cristaux blancs dans le système Hex/AE 10%, soluble dans le chloroforme deutéré (d), il répond positivement au test de Liebermann-Burchard en donnant une coloration bleue qui instantanément vire vers le vert suggérant sa nature stéroïdique.

Les analyses des données spectroscopiques RMN 1D (^{13}C et ^1H) et RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC) obtenues, en comparaison avec les données décrites dans la littérature, ont permis d'identifier le composé CU5 au (3 β)-stigmast-5-én-3-ol connu sous le nom de **β -sitostérol**.



En effet, sur son spectre RMN ^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) découplé large bande (figure 7), on observe 29 signaux distincts entre 11,9ppm et 140,8ppm correspondant à ses 29 carbones présents dans la structure. L'expérience DEPT-135 (figure 8) aide à distinguer les carbones CH_3 , CH_2 et CH en fonction de la phase du signal. On note ainsi 06 méthyles, 11 méthylènes, 09 méthines et 03 carbones quaternaires.

- Les signaux à 140,8 ppm et 121,7 ppm sont attribuables respectivement aux carbones oléfiniques C-5 et C-6 contenus dans le cycle stérane ;
- On observe également le signal du carbone C-3 à 71,8 ppm, déblindé à cause de la présence du groupement hydroxyle rattaché à ce carbone.

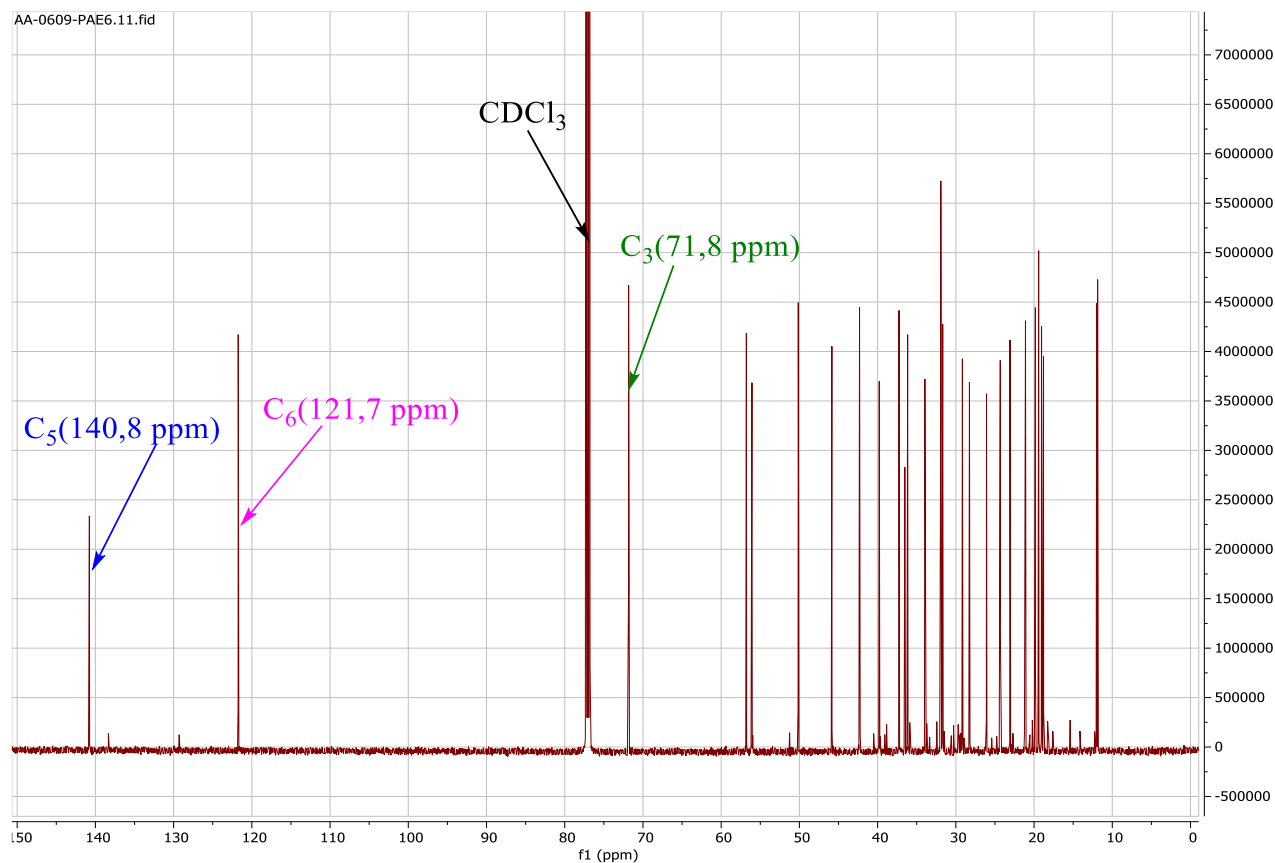


Figure 7 : Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 151MHz) de CU5

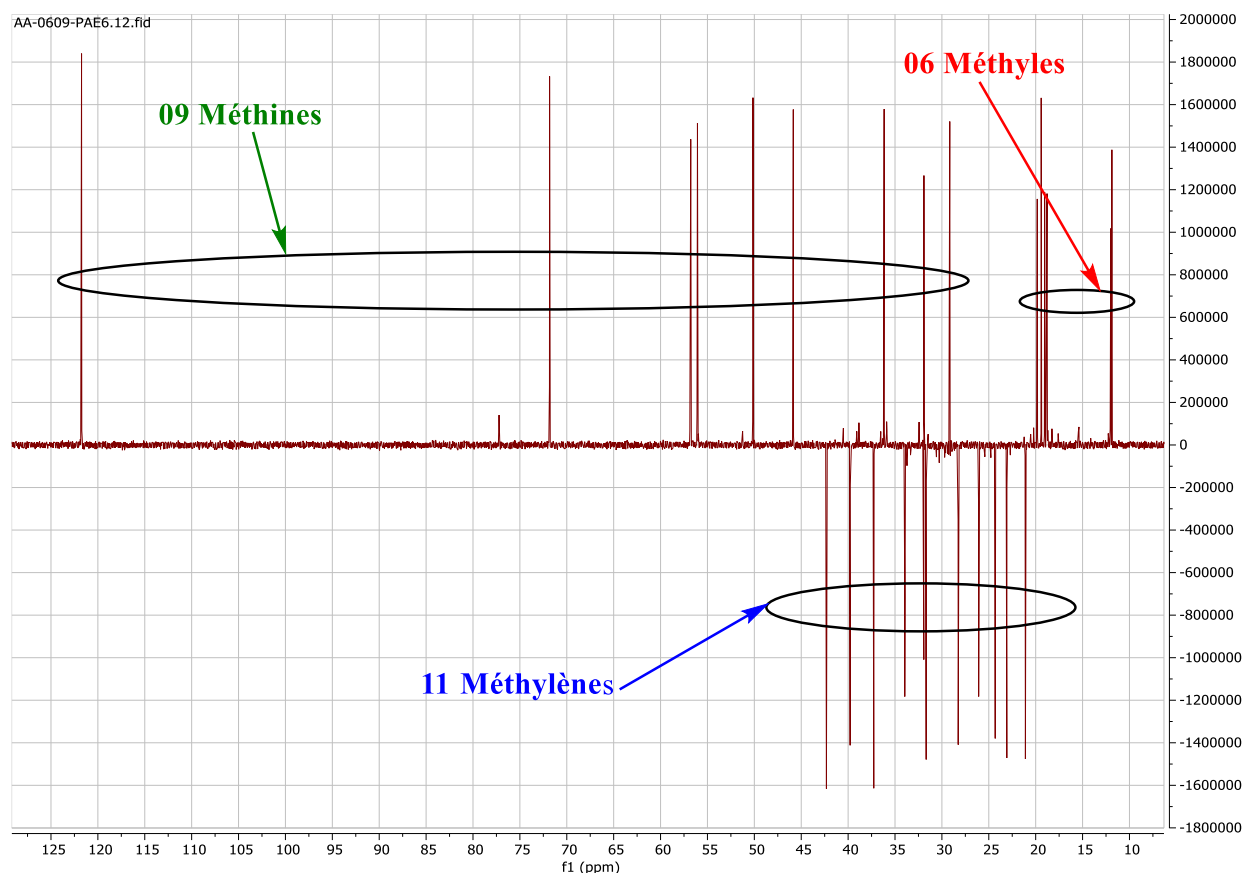


Figure 8: Spectre DEPT-135 de CU5

Le spectre RMN ^1H nous révèle la présence de :

- ✓ Deux signaux singlets de trois protons chacun attribuables aux méthyles angulaires en position 18 et 19 respectivement à δ_{H} 0,61 ppm (s, 3H) et à δ_{H} 0,94 ppm (s, 3H) ;
- ✓ Trois doublets de trois protons chacun à δ_{H} 0,77 ppm (d ; J= 2,90 Hz ; 3H) ; δ_{H} 0,76 ppm (d ; J= 2,17 Hz ; 3H) et δ_{H} 0,85 ppm (d ; J= 6,53 Hz ; 3H) attribuables aux méthyles secondaires respectivement en position 26, 27 et 21 de la chaîne latérale ;
- ✓ Un signal de proton multiplet à δ_{H} 5,28 ppm (m, 1H) porté par le carbone oléfinique C-6 ;
- ✓ On observe également un signal de proton singlet fortement déblindé à δ_{H} 5,23 ppm attribuable au proton du groupement hydroxyle
- ✓ On note un autre signal de proton multiplet apparaissant à δ_{H} 3,46 ppm (m, 1H) correspondant au proton géminé du carbone C-3.

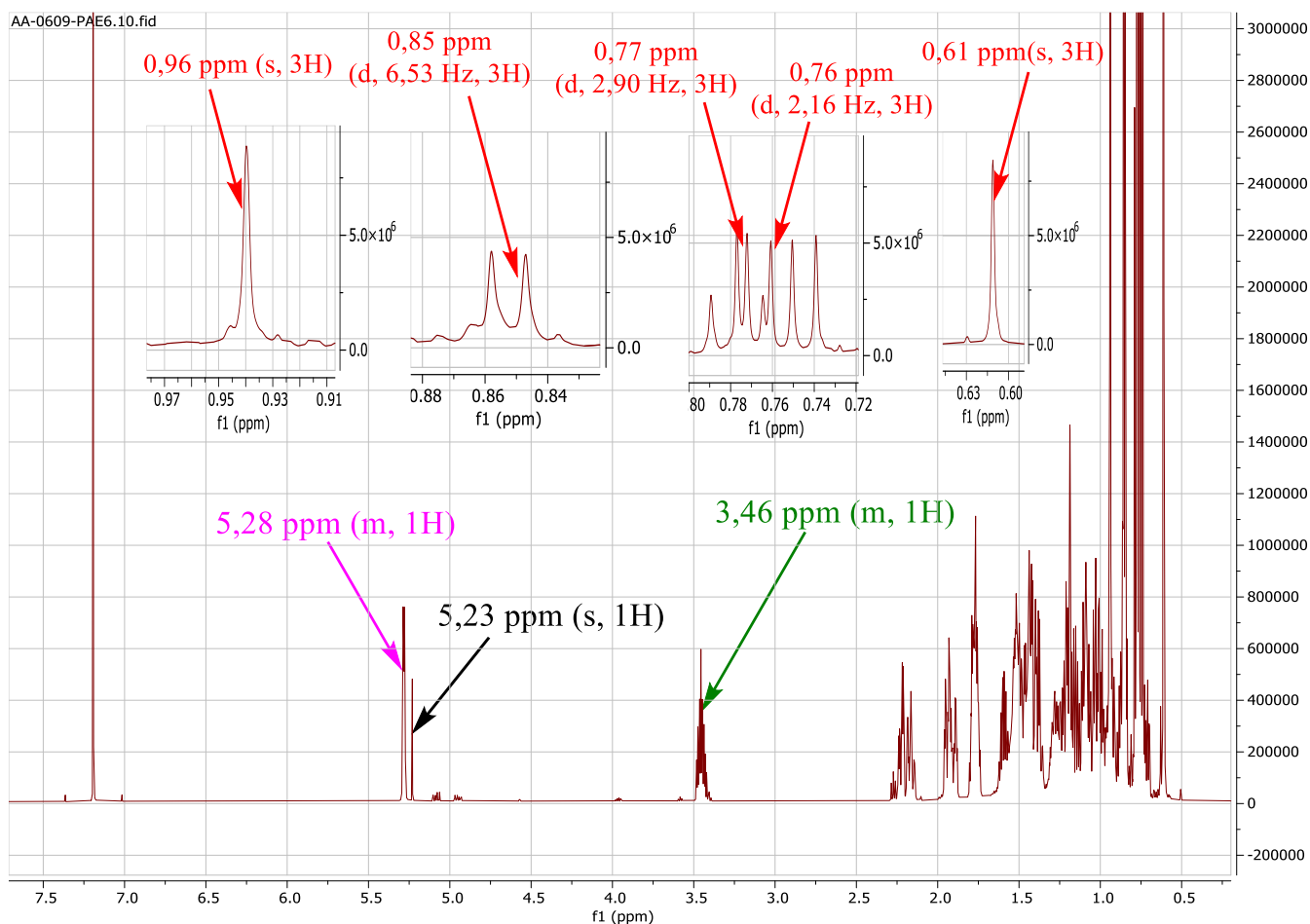


Figure 9: Spectre de RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) de CU5

Ces analyses sont confirmées par le spectre HSQC qui corrèle les différents protons avec les carbones auxquels ils sont directement attachés (figure 10) :

- Le proton à 5,28 ppm est corrélé avec C-6 (121,7 ppm), ce qui confirme l'attribution du proton oléfinique H-6 attaché au carbone oléfinique C-6 ;
- Le proton à 3,46 ppm corrèle avec C-3 (71,8 ppm) et confirme le proton attaché au carbone méthine oxygéné C-3 ;
- Le proton à 0,77 ppm corrèle avec C-29 (12,0 ppm), groupe méthyle terminal de la chaîne latérale ;
- Le proton à 0,61 ppm corrèle avec C-18 (11,9 ppm), groupe méthyle en position 13 ;
- Le proton à 0,96 ppm corrèle avec C-19 (19,4 ppm), groupe méthyle substitué en C-10.

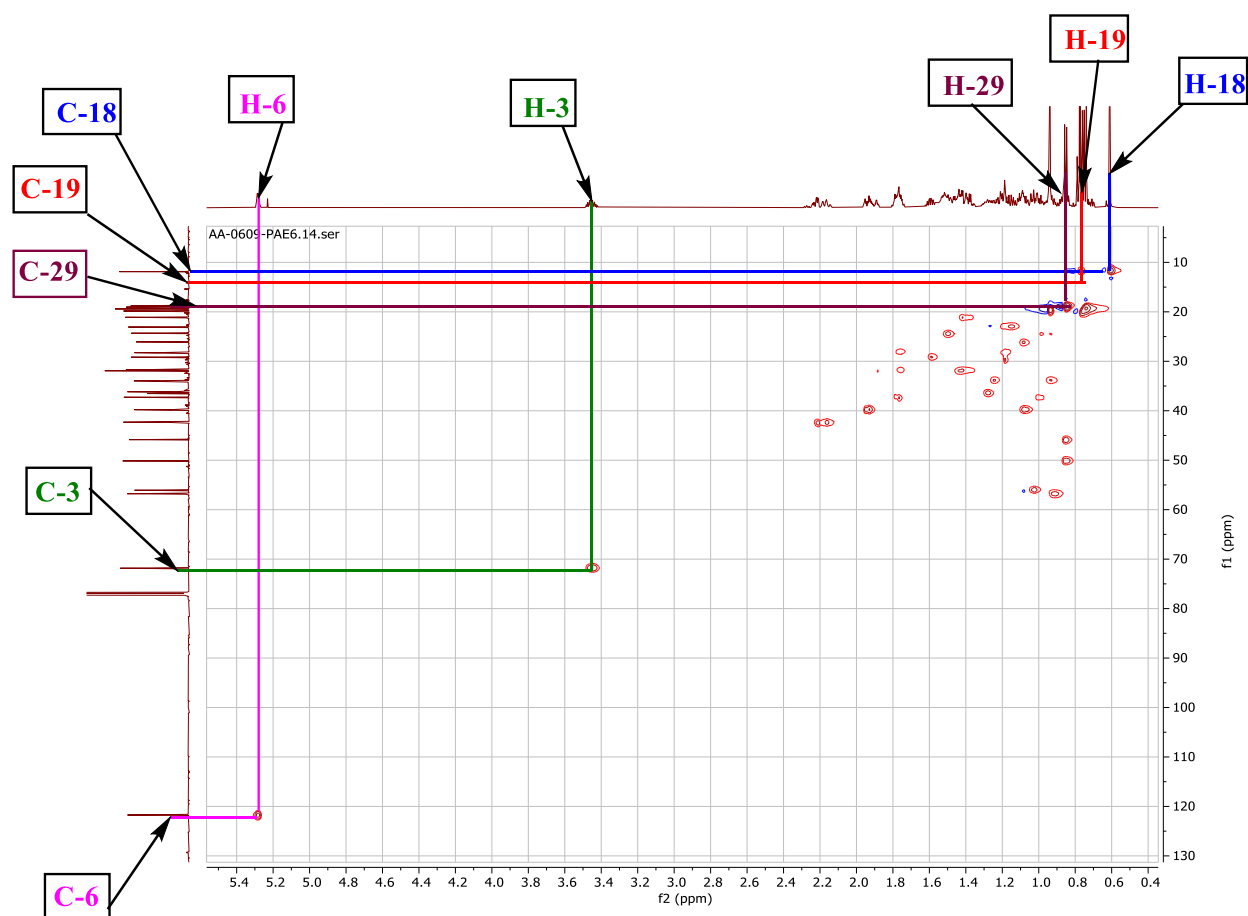


Figure 10: Spectre HSQC (CDCl₃ ; 600 /151 MHz) de CU5

Le spectre COSY fournit des informations sur les protons qui sont couplés scalairement (couplage à travers la liaison), révélant la connectivité au sein du réseau de protons (figure 11).

- Le proton oléfinique à H-6 (δ_H 5,28 ppm) montre un couplage avec les protons méthylènes H-7 à δ_H 1,77 ppm ;
- Le proton méthine H-3 à δ_H 3,45 ppm, porteur du groupement hydroxyle montre un couplage avec les protons méthylène adjacents H-2 à δ_H 1,76 ppm ;

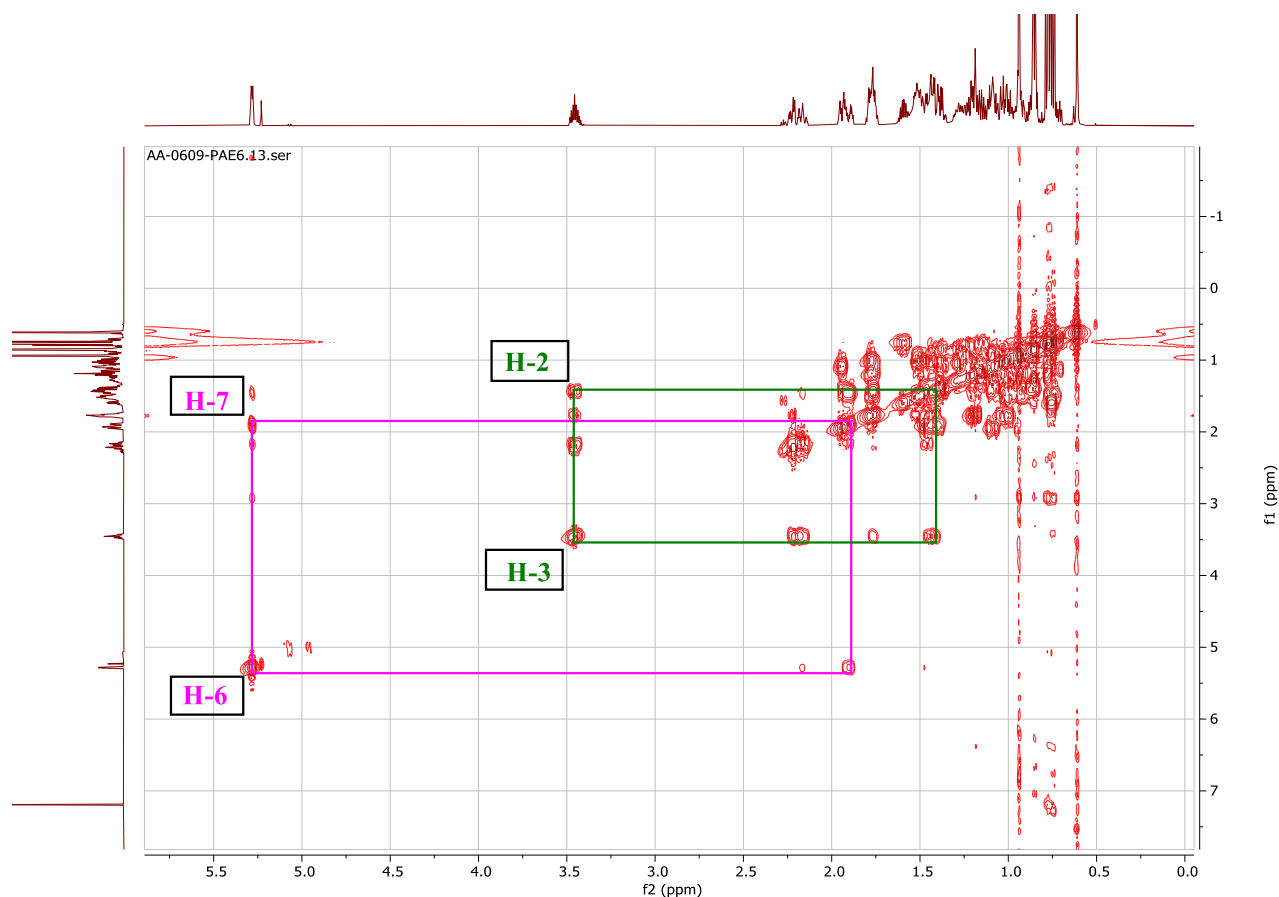


Figure 11: Spectre COSY élargi (CDCl₃, 600 MHz) de CU5

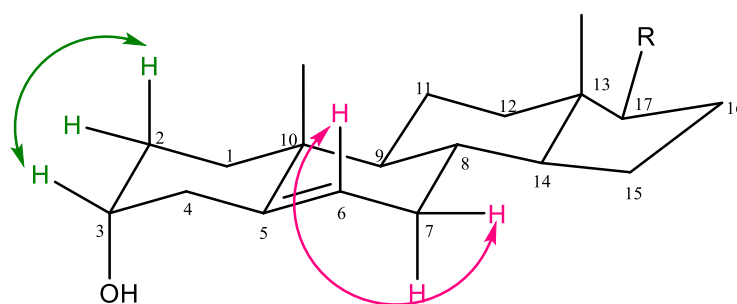


Figure 12: Corrélation observée sur le spectre COSY de CU5

Le spectre HMBC met en évidence les corrélations 2J et 3J (corrélations à deux et trois liaisons) entre les protons et les carbones (figure 13). Il présente ainsi d'importantes taches de corrélation notamment :

- Les protons H-18 du méthyle C-18 (δ_H 0,61 ppm) montrent des corrélations avec : C-13 (δ_C 42,3 ppm) et C-14 (δ_C 56,8 ppm) ;

- Les protons H-27 du méthyle C-27 (δ_H 0,76 ppm) montrent des corrélations avec : C-26 (δ_C 19,8 ppm), C-25 (δ_C 29,2 ppm) et C-24 (δ_C 45,9 ppm) ;
- Les protons H-21 du méthyle C-21 montrent des corrélations avec les carbones C-17 (δ_C 56,1 ppm), C-20 (δ_C 36,7 ppm) et C-22 (δ_C 34,0 ppm).

Ces corrélations confirment la position des protons et des carbones dans le squelette du β -sitostérol.

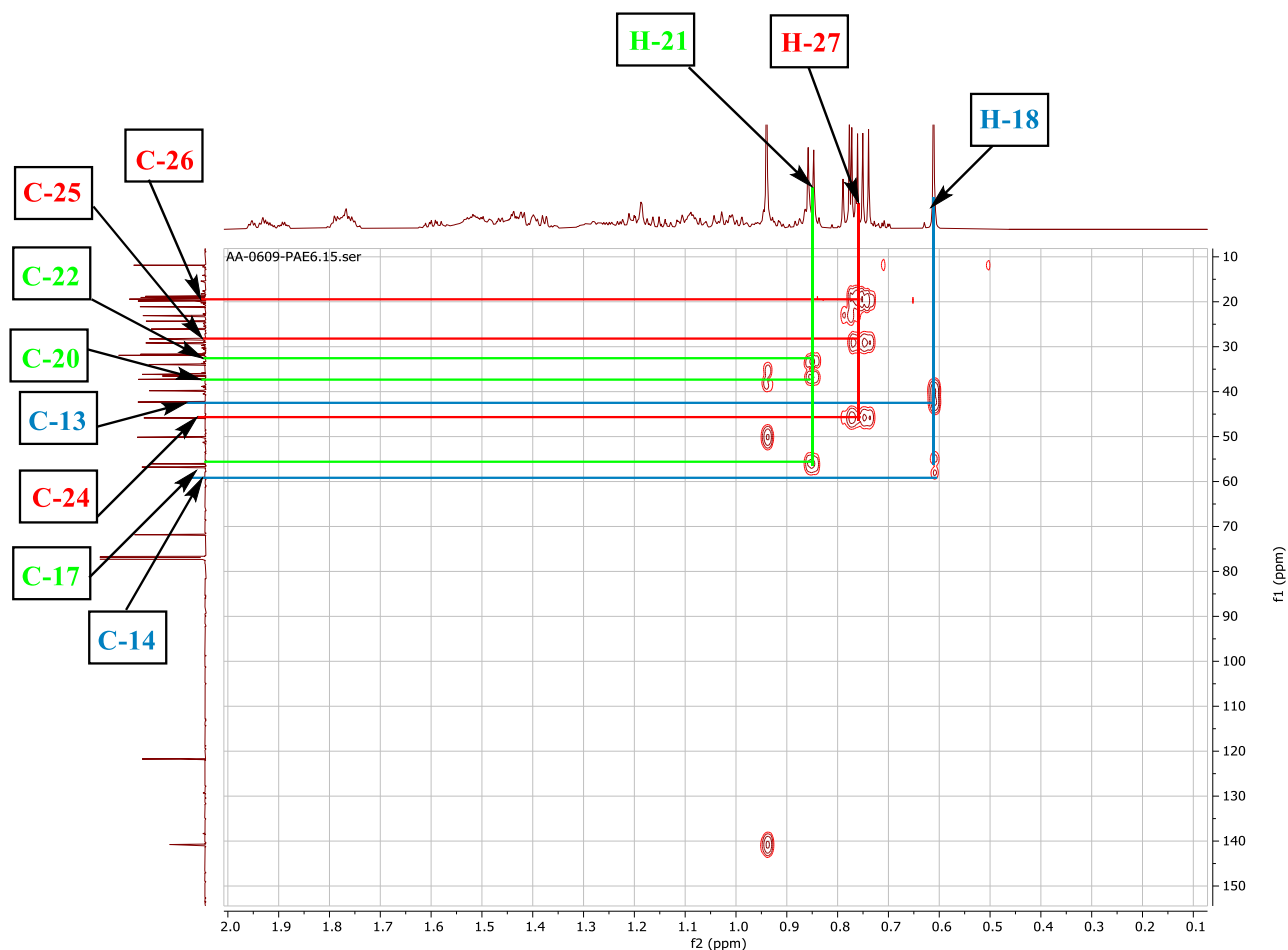


Figure 13: Spectre HMBC du composé CU5

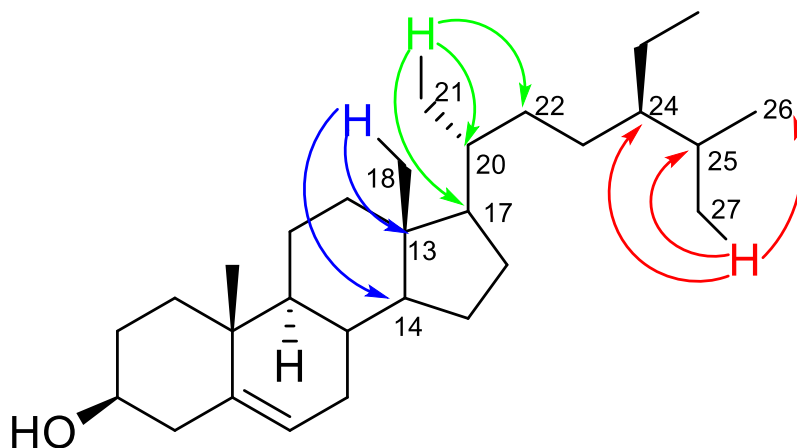


Figure 14: Corrélations observée sur le spectre HMBC de CU5

Les données spectroscopiques obtenues correspondent étroitement aux valeurs rapportées pour le β -sitostérol dans la littérature. Il s'agit entre-autre de :

- La présence d'une double liaison entre C-5 et C-6 : Confirmée par les signaux oléfiniques en ^1H (δ_{H} 5,28 ppm) et ^{13}C (δ_{C} 140,8 et 121,7 ppm).
- Le groupe hydroxyle en position C-3 : Indiqué par le signal oxyméthine en ^1H (δ_{H} 3,46 ppm) et ^{13}C (δ_{C} 71,8 ppm).
- Les méthyles caractéristiques : Les signaux des méthyles angulaires (C-18 et C-19) et ceux de la chaîne latérale (C-21, C-26, C-27, C-29) sont présents et cohérents avec la structure du β -sitostérol.
- La chaîne latérale : Les signaux en ^1H et ^{13}C confirment la présence de la chaîne latérale du β -sitostérol.

Ainsi, nous avons attribué à CU5 la structure **27** qui correspond à celle du β -sitostérol déjà isolé de *Strychnos Innocua* (Loganiaceae) par Ahmed Jibrin et ses collaborateurs en 2022.

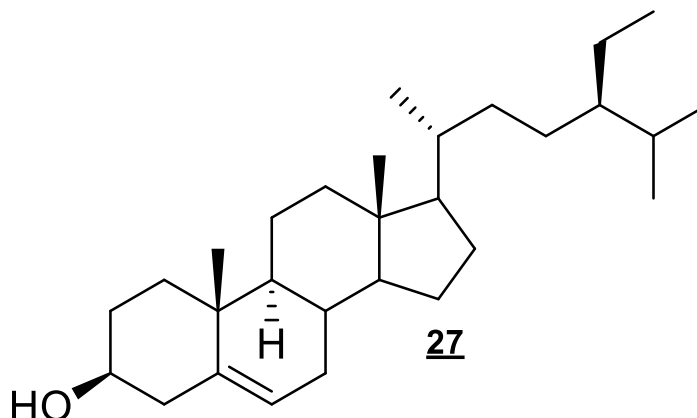


Tableau 4: Données spectrales de RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) et RMN ^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) de CU5 et du β -sitostérol.

Position	CU5			Données de la littérature (Ahmed et al., 2022)		
	δ_{H} (ppm) (m; J(Hz); nH)	δ_{C} (ppm)	DEPT	δ_{H} (ppm) (m; nH)	δ_{C} (ppm)	DEPT
1	1,77 (m, 2H)	37,3	CH_2	1,85 (m, 2H)	37,3	CH_2
2	1,76 (m, 2H)	31,7	CH_2	1,95 (m, 2H)	31,7	CH_2
3	3,46 (m, 1H)	71,8	CH	3,55 (m, 1H)	71,9	CH
4	2,21 (m, 2H)	42,3	CH_2	2,38 (m, 2H)	42,3	CH_2
5	-	140,8	C	-	140,8	C
6	5,28 (m, 1H)	121,7	CH	5,37 (m, 1H)	121,8	CH
7	1,90 (m, 2H)	31,9	CH_2	1,99 (m, 2H)	32,0	CH_2
8	1,77 (m, 2H)	31,9	CH	2,00 (m, 1H)	31,9	CH
9	0,85 (m, 1H)	50,1	CH	0,94 (m, 1H)	50,2	CH
10	-	36,5	C	-	36,6	C
11	1,42 (m, 2H)	21,1	CH_2	1,02 (m, 2H)	21,2	CH_2
12	1,08 (m, 2H)	39,8	CH_2	1,16 (m, 2H)	39,9	CH_2
13	-	42,3	C	-	42,4	C
14	0,92 (m, 1H)	56,8	CH	1,00 (m, 1H)	56,9	CH
15	1,50 (m, 2H)	24,3	CH_2	1,58 (m, 2H)	28,3	CH_2

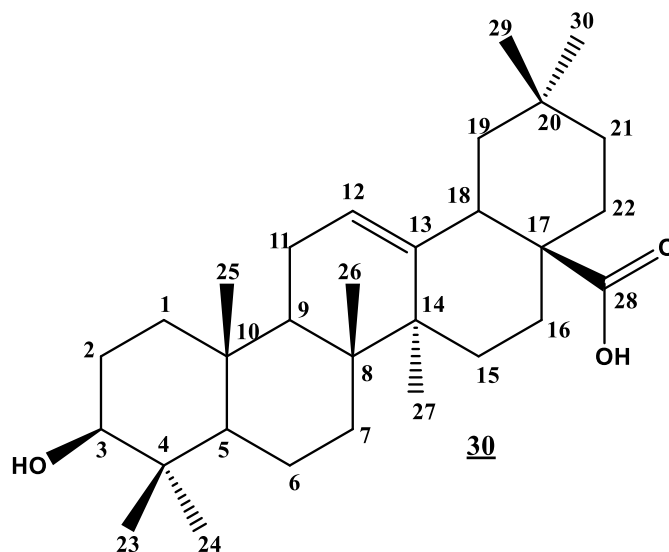
**CONTRIBUTION A L'ETUDE CHIMIQUE DE LA FRACTION HEXANIQUE DES FEUILLES DE
CLERODENDRUM UMBELLATUM (LAMIACEAE)**

16	1,18 (m, 2H)	28,3	CH ₂	1,09 (m, 2H)	28,3	CH ₂
17	1,03 (m, 1H)	56,1	CH	1,12 (m, 1H)	56,1	CH
18	0,61 (s, 3H)	11,9	CH ₃	0,85 (s, 3H)	12,1	CH ₃
19	0,94 (s, 3H)	19,4	CH ₃	0,82 (s, 3H)	19,4	CH ₃
20	1,29 (m, 1H)	36,2	CH	1,35 (m, 1H)	36,2	CH
21	0,85 (d ; 6,53 Hz, 3H)	18,8	CH ₃	0,95 (d, 3H)	18,9	CH ₃
22	1,25 (m, 2H)	34,0	CH ₂	1,33 (m, 2H)	34,0	CH ₂
23	1,08 (m, 2H)	26,1	CH ₂	1,16 (m, 2H)	26,1	CH ₂
24	0,85 (m, 1H)	45,9	CH	0,94 (m, 1H)	45,9	CH
25	1,60 (m, 1H)	29,2	CH	1,66 (m, 1H)	28,9	CH
26	0,77 (d ; 2,90 Hz ; 3H)	19,8	CH ₃	0,83 (d, 3H)	21,3	CH ₃
27	0,76 (d ; 2,16 Hz ; 3H)	19,0	CH ₃	0,84 (d, 3H)	19,1	CH ₃
28	1,18 (m, 2H)	23,1	CH ₂	1,25 (m, 2H)	23,2	CH ₂
29	0,77 (m, 3H)	12,0	CH ₃	0,85 (m, 3H)	12,1	CH ₃
OH	5,23 (s, 1H)					

II-2) Identification de CU6

Le composé CU6 a été isolé sous forme de poudre blanche dans le système Hex/AE 50%, il est soluble dans le chloroforme-d et réagit positivement au test de Liebermann-Burchard en produisant une coloration violacée caractéristique des triterpènes.

L'analyse des différentes données spectrales obtenues a permis d'identifier CU6 à l'**acide oléanolique** précédemment isolé par Gohari et ses collaborateurs de la plante *Satureja mutica*, appartenant à la famille des *Lamiaceae* (Gohari et al., 2009).



L'acide oléanolique est un triterpène largement présent dans le règne végétal, notamment dans les feuilles, les fruits et les écorces de nombreuses plantes médicinales. Structuré comme un triterpénoïde pentacyclique, il possède une fonction carboxyle en position C-28, ce qui le classe parmi les acides ursoliques. L'acide oléanolique est reconnu pour ses nombreuses propriétés pharmacologiques, y compris des effets anti-inflammatoires, antioxydants, hépatoprotecteurs et anticancéreux.

Cette analyse vise à déterminer et confirmer la structure de l'acide oléanolique en utilisant les données spectroscopiques fournies (RMN ^1H , RMN ^{13}C , DEPT-135, HSQC, HMBC et COSY).

Sur le spectre RMN ^{13}C (151 MHz, CDCl_3) (figure15) couplé au spectre DEPT 135 (figure 16), les principaux signaux observés se situent entre 15,3 ppm et 181,7 ppm, couvrant une gamme de carbones méthyle, méthine, méthylène et quaternaires. On note ainsi la présence de 30 signaux de carbones comme indiqué par la formule brute, soit 7 CH_3 , 10 CH_2 , 5 CH et 8 C quaternaires. Parmi ces signaux, on distingue :

- Deux signaux à δ_c 143,6 ppm et à δ_c 122,7 ppm attribuables respectivement aux carbones oléfiniques C-13 et C-12 carbones caractéristique de la série des oléananes ;
- Le signal de carbone apparaissant à δ_c 79,0 ppm (C-3), caractéristique de l'hydroxyméthine en position C-3 des triterpènes ;
- Un signal à δ_c 181,7 ppm (C-28) : Ce signal est caractéristique d'un carbone d'une fonction acide ($\text{C}=\text{O}$) dans notre structure ;

- Sept signaux à δ_c 15,4 ; 15,6 ; 17,1 ; 23,6 ; 25,9 ; 28,1 et 33,1 attribuables aux groupements méthyles apparaissant respectivement à C-25, C-24, C-26, C-30, C-27, C-23 et C-29 ;
- Les 19 autres signaux sont attribuables aux méthylènes, méthynes et carbones quaternaires tous hybridés sp^3 et résonnant entre 18,3 ppm et 55,2 ppm.

Toutes ces données indiquent que le composé CU6 est un triterpène pentacyclique renfermant dans sa structure une double liaison, un groupement acide carboxylique et un hydroxyméthyle.

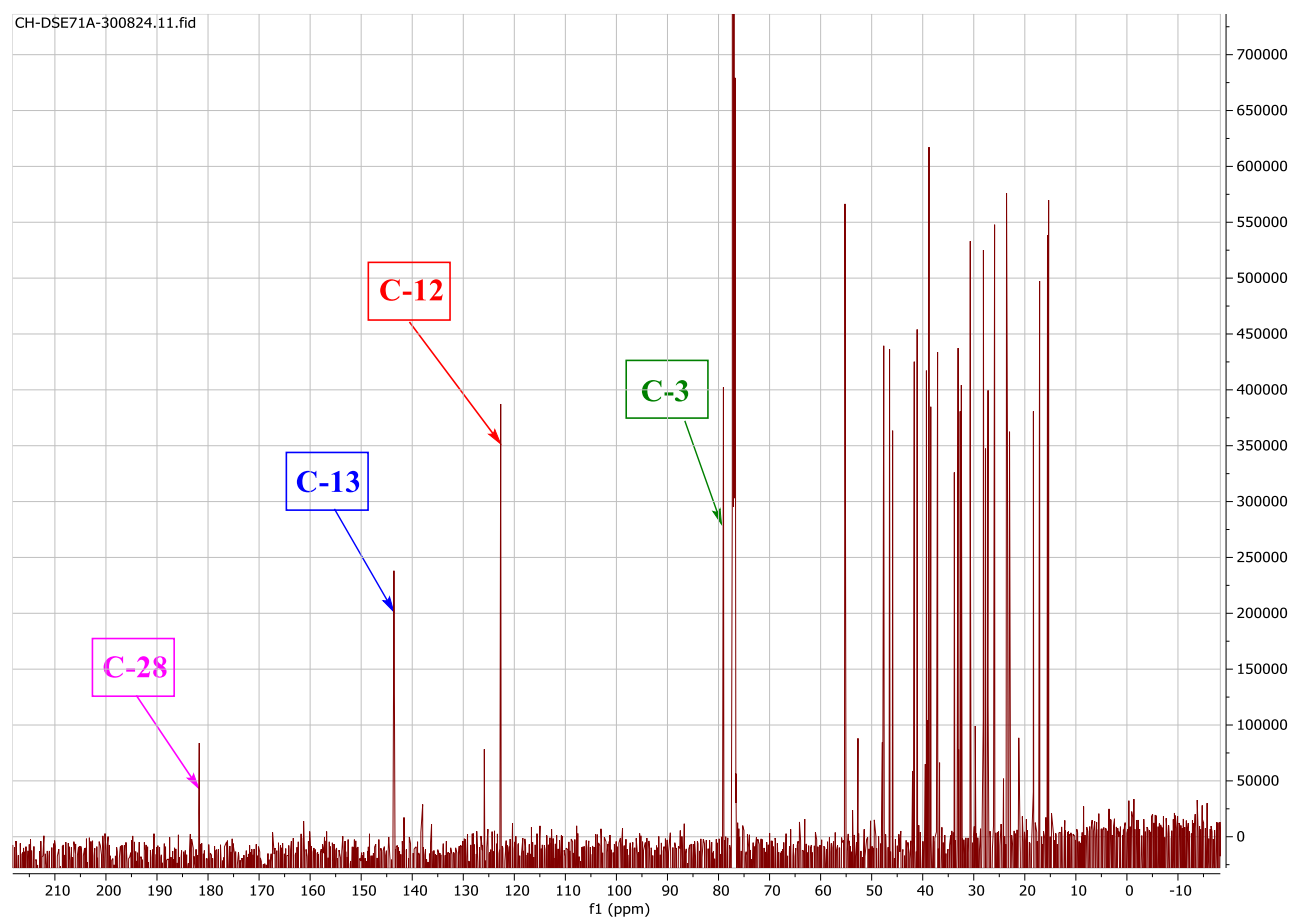


Figure 15: Spectre élargi RMN ^{13}C (151 MHz, $CDCl_3$) DE CU6

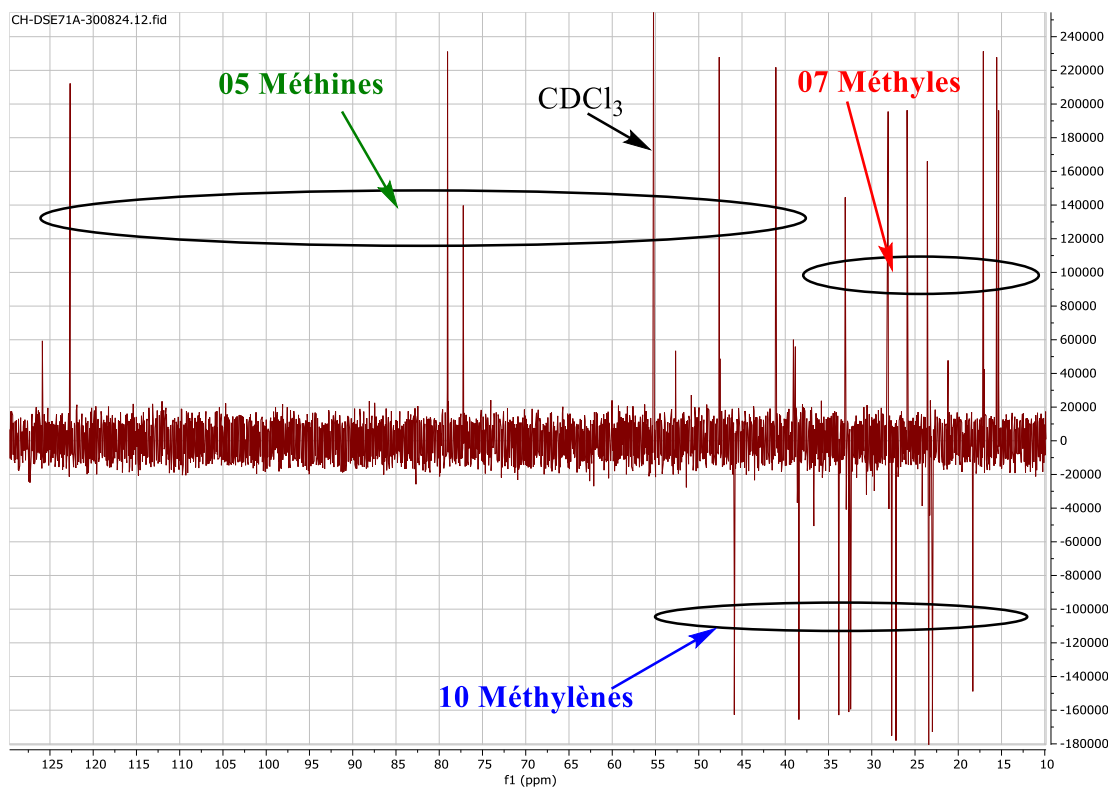


Figure 16: Spectre DEPT-135 DE CU6

La figure 17 présente les signaux du spectre RMN ^1H du composé CU6. Les principaux signaux observés se situent entre 0,78 ppm et 5,28 ppm, indiquant une prédominance de protons aliphatiques et quelques protons vinyliques :

- δ_{H} 5,28 ppm : ce signal apparait sous forme de triplet (t , 7,32 Hz, 1H) et est attribuable au proton vinylique H-12 adjacent à la double liaison ;
- δ_{H} 3,23 ppm (dd , 4,38 ; 4,38 Hz, 1H): correspond à un proton lié à un carbone porteur d'un groupe hydroxyle C-3 ;
- δ_{H} 3,52 ppm, proton singulet fortement déblindé attribuable au proton du groupement hydroxyle en position 3 ;
- δ_{H} 7,45 ppm : correspond au proton singulet de la fonction acide en C-28.

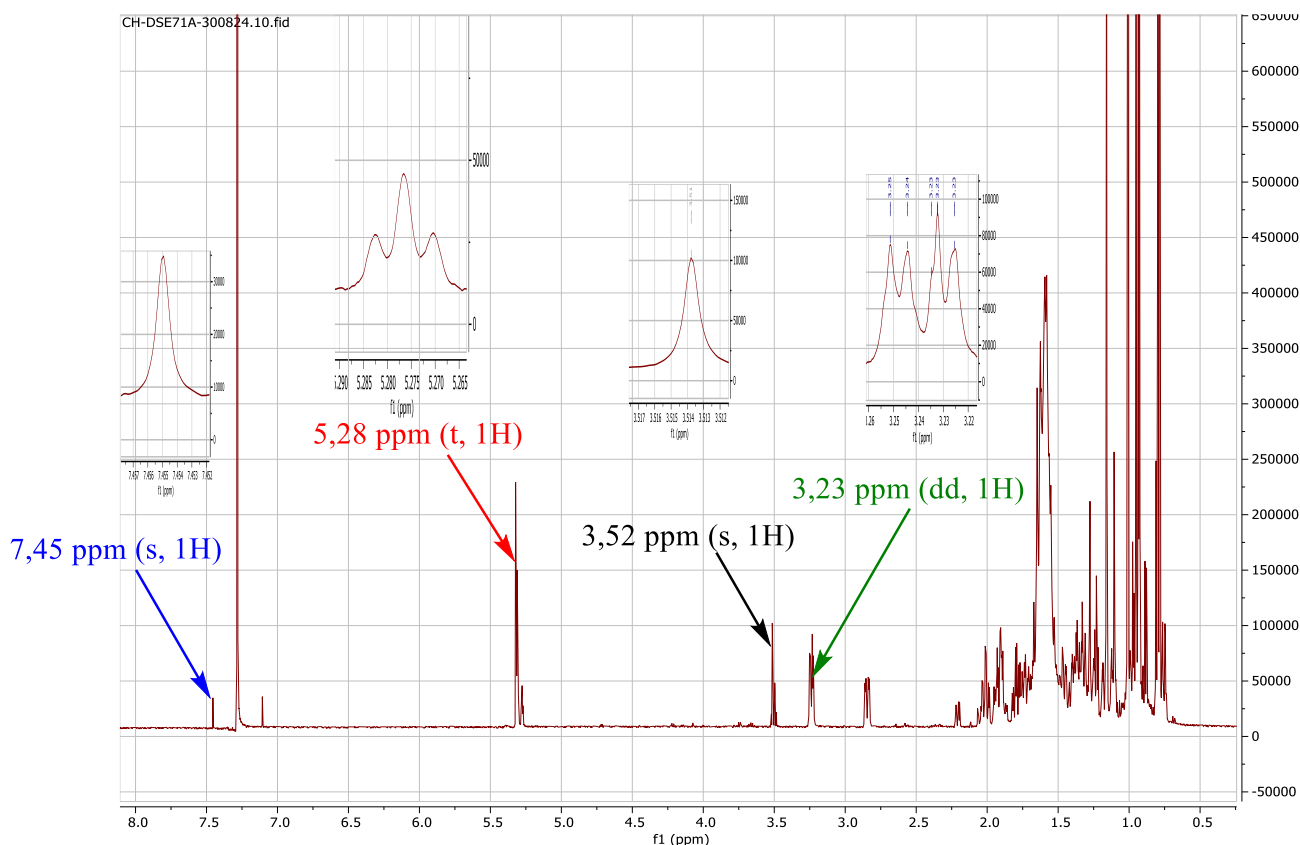


Figure 17: Spectre RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) DU COMPOSE CU6

L'attribution de ces protons a été confirmée par les corrélations observées sur les spectres HSQC et COSY de ce composé.

En effet, sur son spectre HSQC (figure 18), on observe les taches de corrélations hétéronucléaires suivantes :

- δ_{H} 5,28 ppm $\leftrightarrow$ δ_{C} 122,7 ppm (C-12) : confirmant la présence du proton vinylique H-12 lié au carbone C-12 ;
- δ_{H} 3,23 ppm $\leftrightarrow$ δ_{C} 79,0 ppm (C-3) : confirme le proton oxyméthine H-3 lié au carbone C-3.



Figure 18: Quelques corrélations observées sur le spectre HSQC du composé CU6

Son spectre COSY (*Correlation Spectroscopy*) quant à lui (figure 19) présente les corrélations entre les protons adjacents (^1H - ^1H). On note ainsi :

- Le proton H-12 (δ_{H} 5,28 ppm) qui corrèle avec le proton H-11 (δ_{H} 1,63 ppm) ;
- Le proton H-3 (δ_{H} 3,23 ppm) corrélant avec le proton H-2 (δ_{H} 1,63 ppm), ceci confirme la connectivité autour du groupe hydroxyle en C-3 ;
- Le proton à δ_{H} 2,85 ppm (H-18) qui corrèle avec celui à δ_{H} 1,65 ppm (H-19), confirmant ainsi leur connectivité dans la structure.

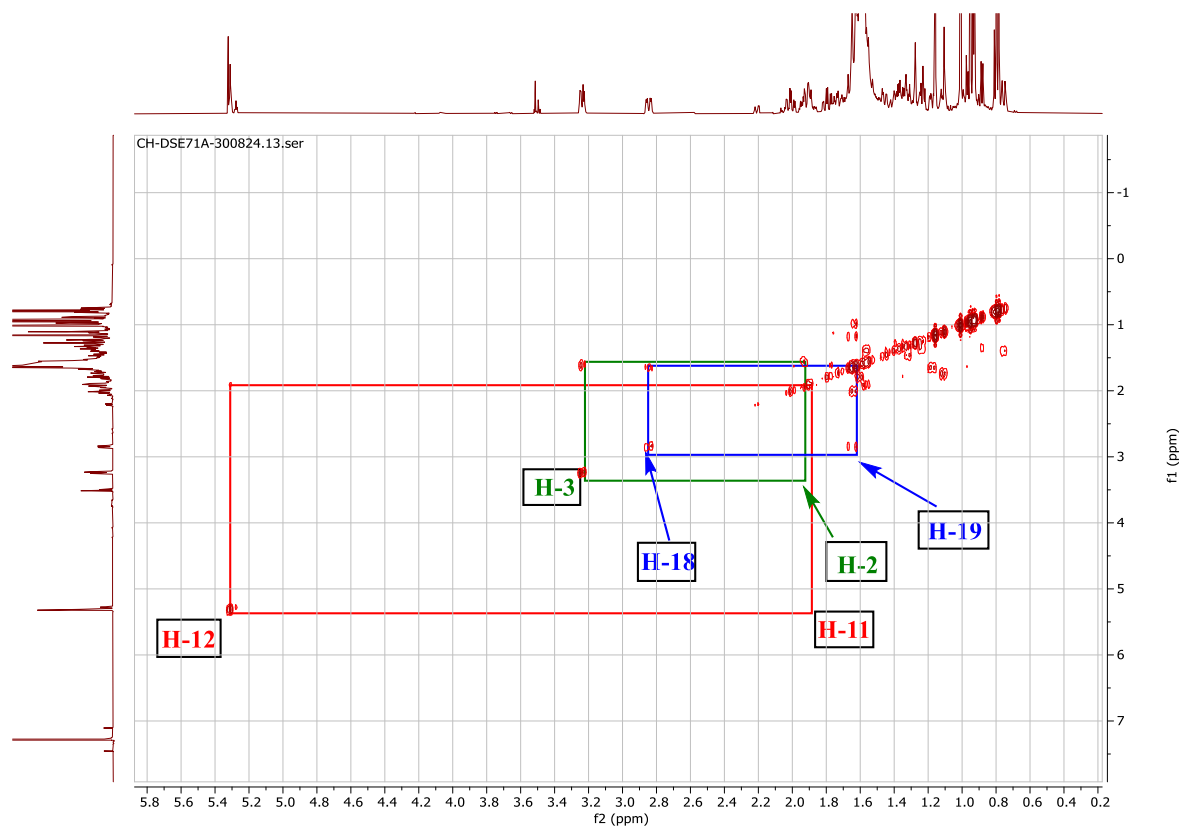


Figure 19 : Spectre ^1H - ^1H COSY du composé CU6

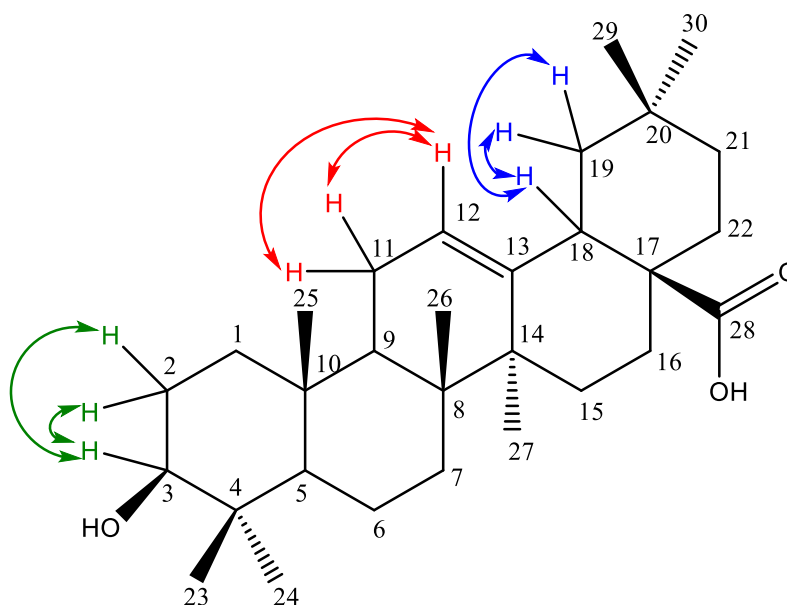


Figure 20: Quelques corrélations COSY observées pour le composé CU6

La structure du composé CU6 a été confirmée grâce aux corrélations J^2 et J^3 observées sur le spectre HMBC (figure 21) de ce composé. En effet, on observe sur ce spectre les corrélations suivantes :

- Entre le proton H-27 (δ_H 1,16 ppm) et les carbones C-13 (δ_C 143,6 ppm), C-14 (δ_C 41,7 ppm) et C-15, (δ_C 27,7 ppm) ;
- Entre le proton H-23 (δ_H 1,01 ppm) et les carbones C-3, C-4, C-5, et C-24 de déplacement chimique respectifs δ_C 79,0 ppm, δ_C 38,8 ppm, δ_C 55,2 ppm et δ_C 15,6 ppm.
- Entre le proton H-16 et le carbone à 181,73, suggérant ainsi que le méthyle en position 28 du squelette Oléane ait été oxydé en acide carboxylique

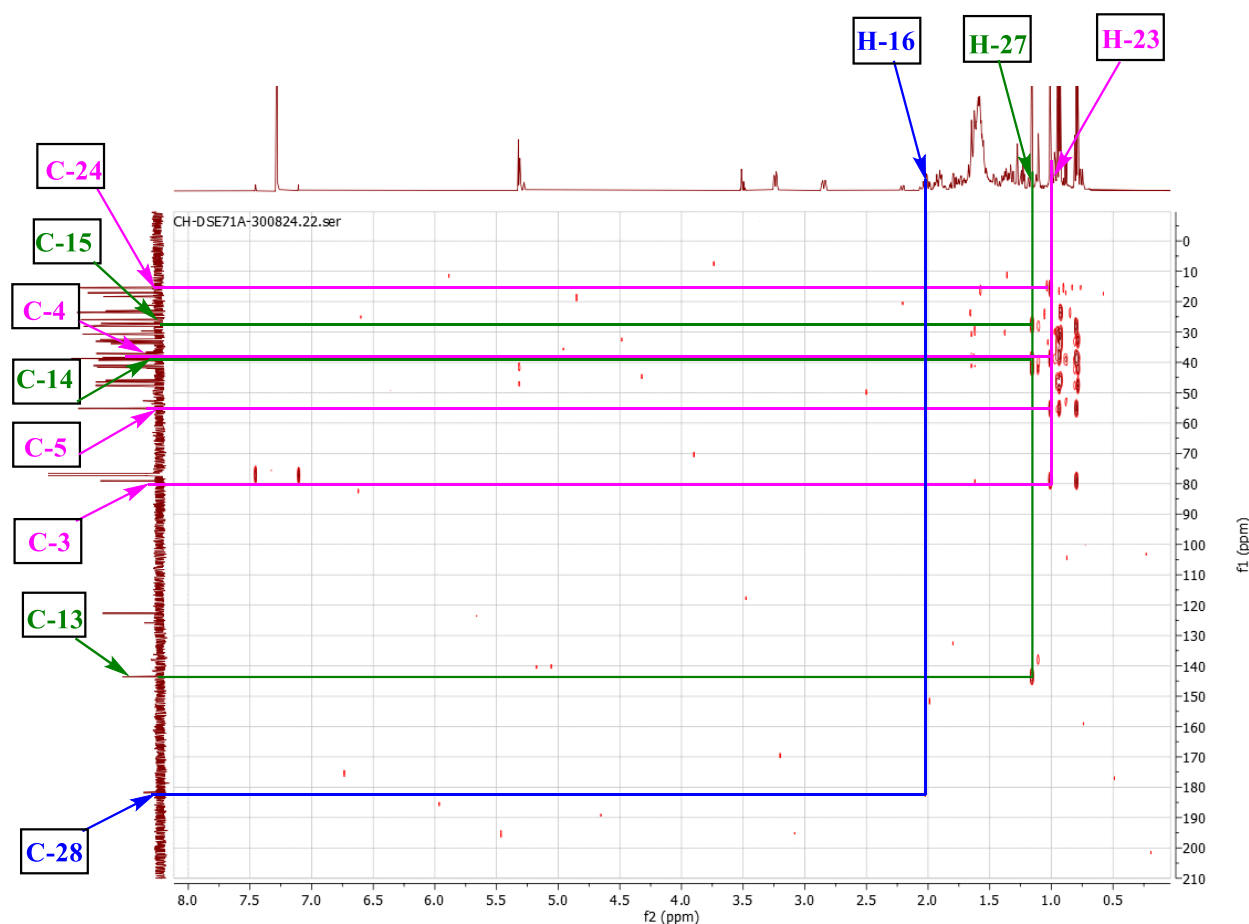


Figure 21: Spectre HMBC du composé CU6

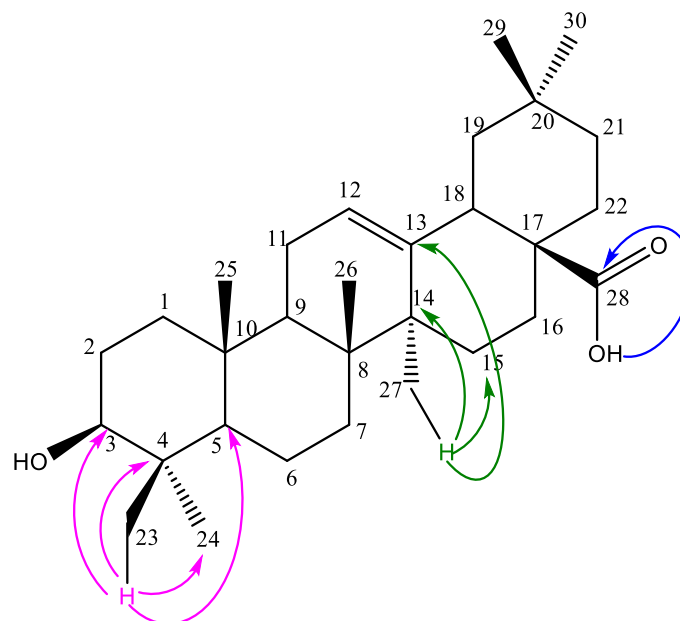


Figure 22: Quelques corrélations HMBC observées pour le composé CU6

L'analyse détaillée des données spectroscopiques fournies (RMN ^1H , RMN ^{13}C , DEPT-135, HSQC, HMBC et COSY) a permis d'assigner tous les signaux observés aux protons et carbones correspondants de l'acide oléanolique. Les corrélations observées sont cohérentes avec la structure attendue, et les valeurs de déplacements chimiques sont en accord avec celles rapportées dans la littérature (tableau 5). Ainsi, le composé étudié est confirmé être l'**acide oléanolique 30**.

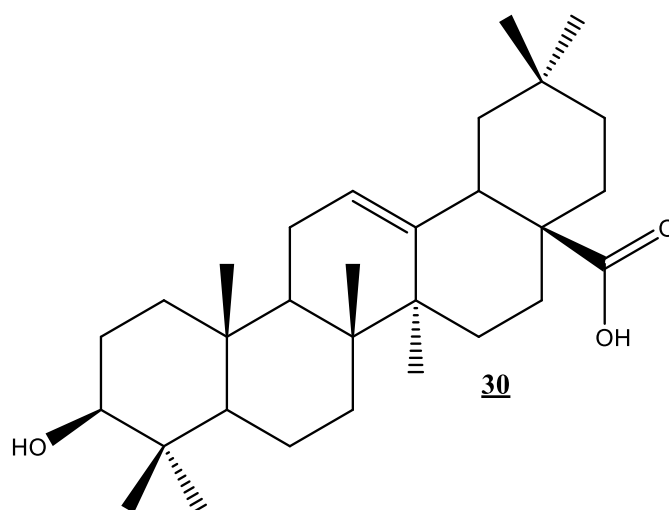


Tableau 5: Données spectrales de RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz) et RMN ¹³C (CDCl₃, 151MHz) de CU6 et de l'acide oléanolique.

Position	CU6			Données de la littérature (Gohari et al., 2009)		
	δ_H (ppm) (m; J(Hz); nH)	δ_C (ppm)	DEPT	δ_H (ppm) (m; J(Hz); nH)	δ_C (ppm)	DEPT
1	1,64 (m, 2H)	38,4	CH ₂		39,0	CH ₂
2	1,63 (m, 2H)	27,2	CH ₂		28,2	CH ₂
3	3,23 (dd, 4,38 ; 4,38 Hz, 1H)	79,0	CH	3,23 (dd, 11,2 ; 4,4 Hz, 1H)	78,1	CH
4	-	38,8	C	-	39,4	C
5		55,2	CH		55,8	CH
6	1,56 (m, 1H) 1,40 (m, 1H)	18,3	CH ₂		18,8	CH ₂
7	1,77 (m, 2H)	32,7	CH ₂		33,3	CH ₂
8	-	39,3	C	-	39,8	C
9	1,56 (m, 1H)	47,6	CH		48,2	CH
10	-	37,1	C	-	37,4	C
11	1,63 (m, 2H)	23,0	CH ₂		23,7	CH ₂
12	5,28 (t, 7,32 Hz, 1H)	122,7	CH	5,27 (t, 3,5 Hz, 1H)	122,6	CH ₂
13	-	143,6	C	-	143,8	C
14	-	41,7	C	-	41,2	C
15	1,10 (m, 2H)	27,7	CH ₂		28,4	CH ₂
16	1,90 (m, 2H)	23,4	CH ₂		23,8	CH ₂
17	-	46,5	C	-	46,7	C
18	2,85 (dd, 4,08 ; 4,26 Hz, 1H)	41,2	CH	2,82 (dd, 3,16 ; 13,2 Hz, 1H)	42,0	CH

19	1,18 (m, 1H) 1,65 (m, 1H)	45,9	CH ₂		46,5	CH ₂
20	-	30,7	C	-	31,0	C
21	1,24 (m, 1H) 1,37 (m, 1H)	33,8	CH ₂		34,3	CH ₂
22	1,80 (m, 1H) 1,61 (m, 1H)	32,4	CH ₂		33,2	CH ₂
23	1,01 (s, 3H)	28,1	CH ₃		28,8	CH ₃
24	0,80 (s, 3H)	15,6	CH ₃		16,6	CH ₃
25	0,93 (s, 3H)	15,3	CH ₃		15,6	CH ₃
26	0,78 (s, 3H)	17,1	CH ₃		17,5	CH ₃
27	1,16 (s, 3H)	25,9	CH ₃	1,13 (s, 3H)	26,2	CH ₃
28	-	181,7	C	-	180,2	C
29	0,92 (s, 3H)	33,1	CH ₃		33,3	CH ₃
30	0,95(s, 3H)	23,6	CH ₃		23,8	CH ₃
OH	3,52 (s, 1H)	-	-		-	-
OH (acide)	7,45 (s, 1H)	-	-		-	-

II-3) Identification de CU7

Le composé CU7 a été obtenu sous forme de poudre blanche dans l'acétate d'éthyle 100%, Il est soluble dans le DMSO-d₆, il donne une réaction positive au test de Liebermann-Burchard (coloration verte), caractéristique des stéroïdes.

L'analyse de son spectre de RMN ¹³C (151 MHz ; DMSO) (Figure 23) nous permet de dénombrer 35 signaux attribuables aux 35 atomes de carbones de la molécule dont 29 pour le squelette stéroïdien et 6 pour le sucre. L'analyse de ce spectre, couplé au spectre DEPT-135 nous permet de distinguer les principaux signaux se situant entre 11,8 ppm et 140,9ppm, couvrant une gamme de 6 carbones méthyles, 12 méthylènes, 14 méthines et 3 carbones quaternaires (Figure 24). On observe :

- Deux déplacements chimiques à δ_c 140,9 ppm et δ_c 121,7 ppm correspondant respectivement aux carbone olefiniques C-5 et C-6 du squelette steroidien ;
- Un signal du carbone à δ_c 77,4 ppm, attribuable au carbone oxyméthine C-3, caractéristique des stérols ;
- Les signaux à δ_c 11,8 ppm, δ_c 19,4 ppm et δ_c 19,10 ppm attribués aux groupement méthyle angulaire C-18 et C-19 ;
- Les déplacements chimiques dans la zone osidique, notamment à δ_c 101,3 ppm (C-1'), δ_c 73,9 ppm (C-2'), δ_c 77,3 ppm (C-3'), δ_c 70,6 ppm (C-4'), δ_c 77,2 ppm (C-5') et δ_c 61,7 ppm (C-6') ;
- Le signal du carbone anomérique C-1 raisonnant à 101,3 ppm nous permet de suggérer qu'il s'agit du glucose.

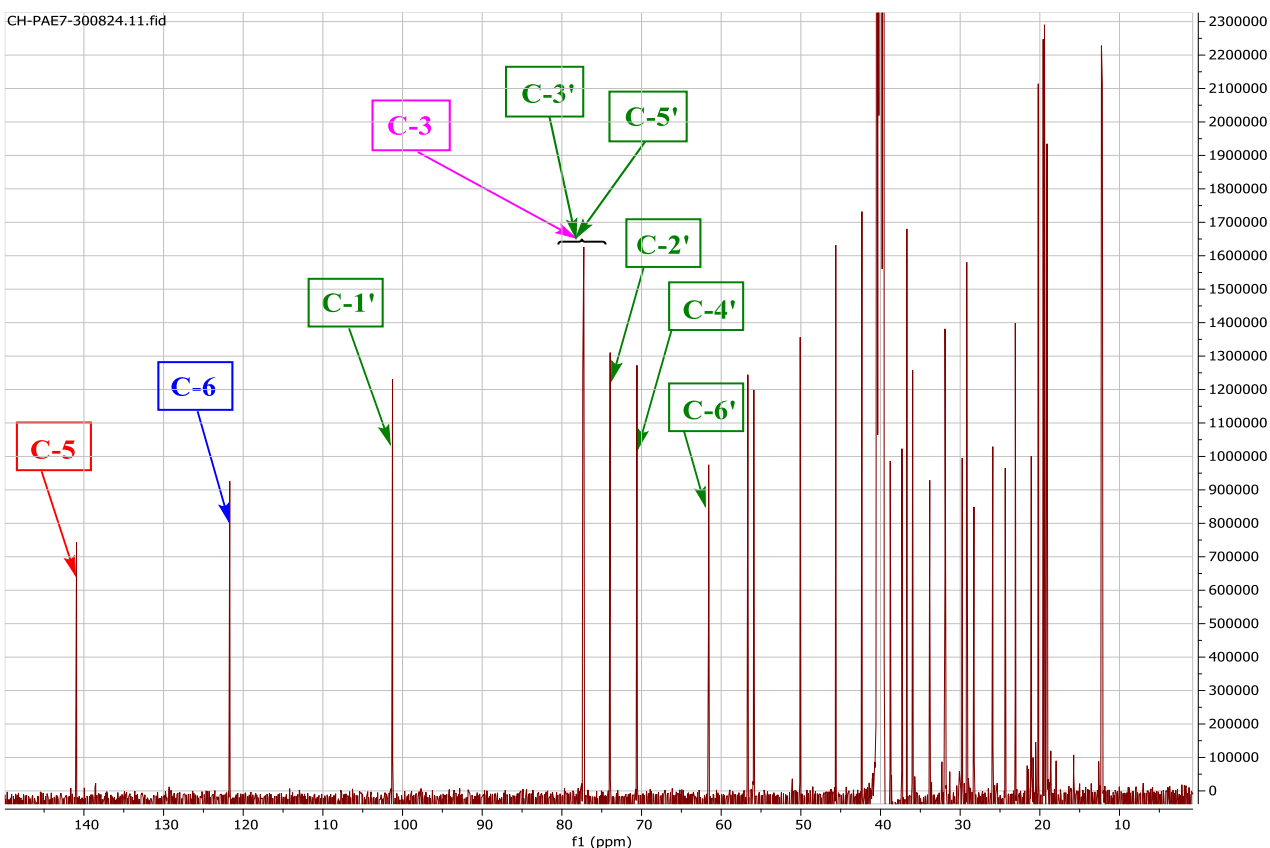


Figure 23 : Spectre RMN ^{13}C (151 MHz, DMSO) du composé CU7.

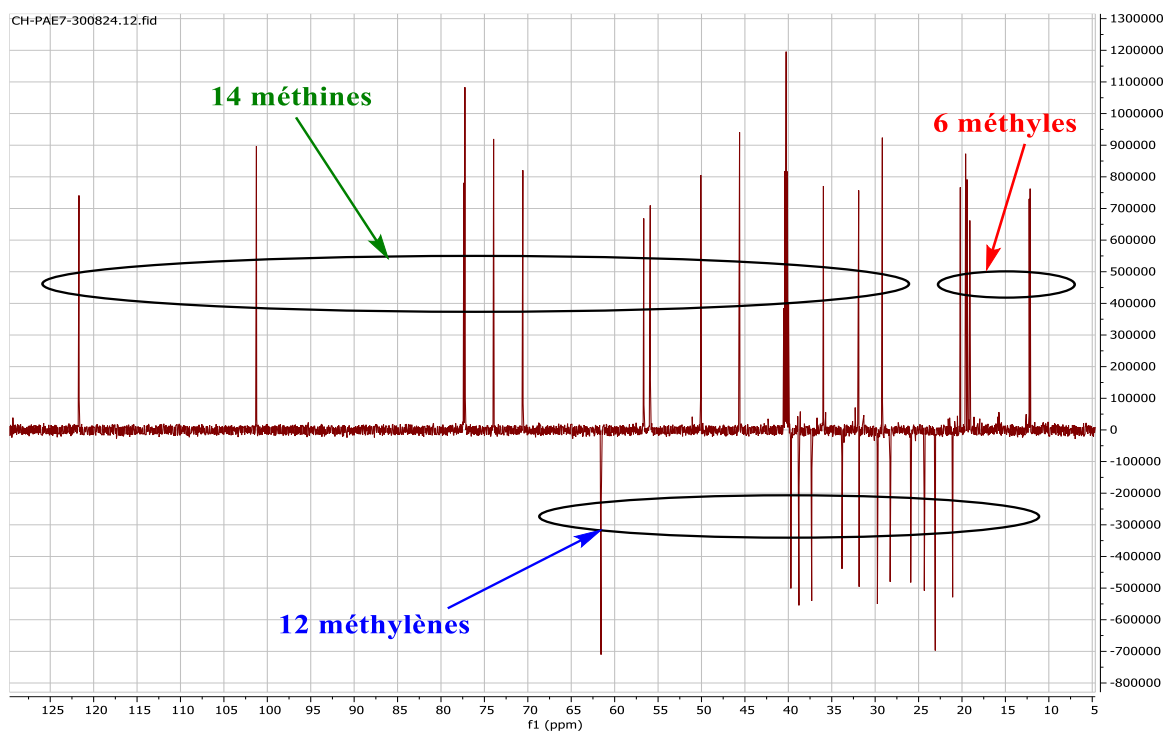


Figure 24: Spectre DEPT-135 de CU7

L'interprétation du spectre de RMN ^1H (600 MHz, DMSO) de CU7 (Figure 25) nous permet de faire ressortir :

- Un triplet mal résolu apparaissant sous forme de singlet observé à δ_{H} 5,33 ppm (t, 5,34 Hz ; 1H) correspondant au proton attaché à la liaison oléfinique en position 6 ;
- Un signal d'un proton multiplet à δ_{H} 3,47 ppm, attribuable au proton H-3 de l'oxyméthine ;
- Un signal d'un proton à δ_{H} 4,22 ppm (d, 7,8 Hz ; 1H) correspondant au proton anomérique porté par le carbone C-1' ;

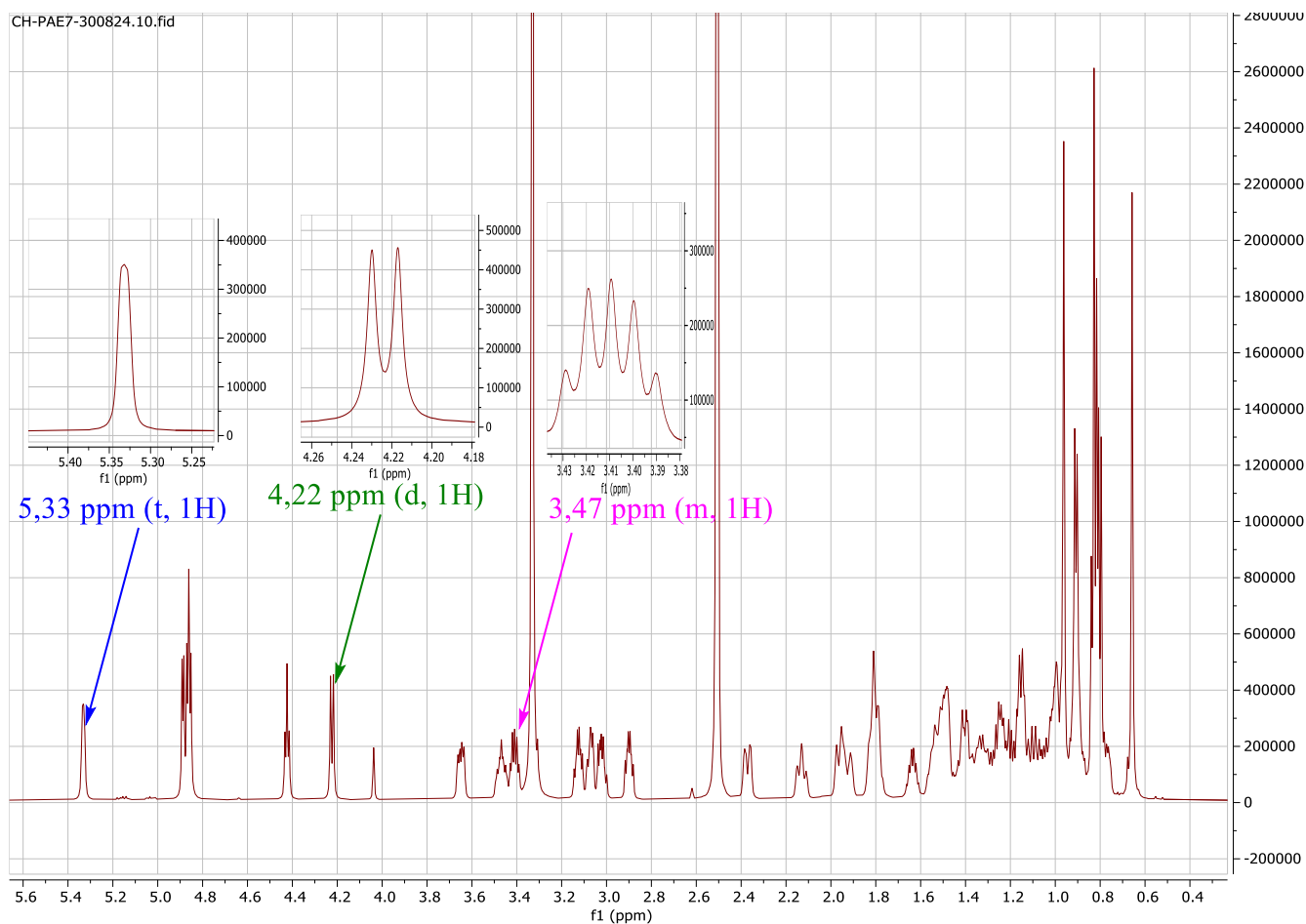


Figure 25: Spectre élargi RMN ^1H (600 MHz, DMSO)

Ces analyses sont confirmées par le spectre HSQC qui corrèle les différents protons avec les carbones auxquels ils sont directement attachés (figure 26) :

- δ_{H} 5,33 ppm $\leftrightarrow$ δ_{C} 121,7 ppm (C-6) ceci correspond au proton H-6 lié au carbone vinylique C-6 ;
- δ_{H} 4,22 ppm $\leftrightarrow$ δ_{C} 101,3 ppm (C-1') correspondant au carbone anomérique du sucre ;
- δ_{H} 3,47 ppm $\leftrightarrow$ δ_{C} 77,4 ppm (C-3) ceci confirme le proton de l'oxymethine situé en C-3 ;

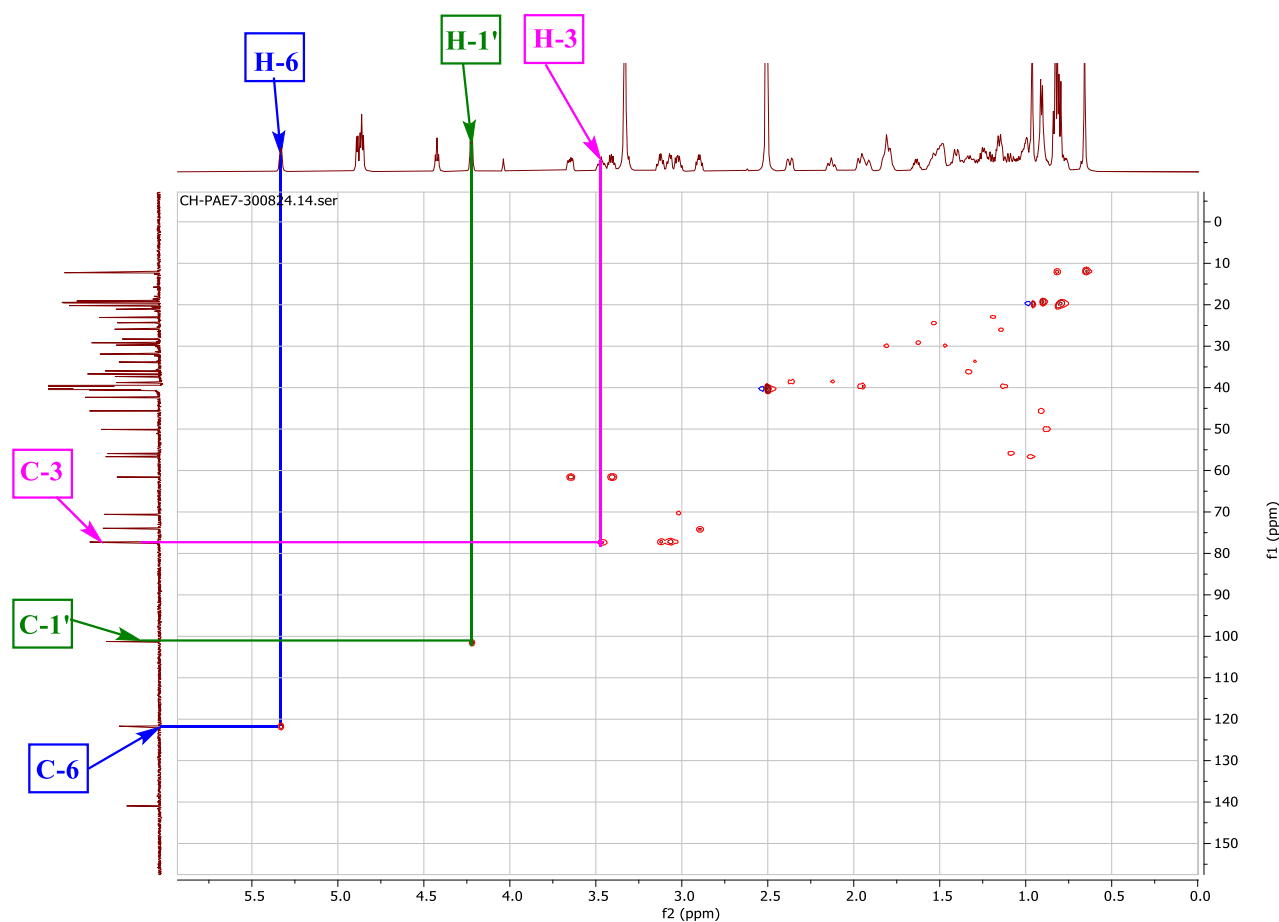


Figure 26: Spectre HSQC de CU7

Son spectre COSY (figure 27) présente les corrélations entre les protons adjacents (^1H - ^1H). On note ainsi une corrélation entre les protons H-1' (δ_{H} 4,22 ppm) et H-2' (δ_{H} 2,90 ppm), ce qui justifie leur proximité dans la structure du composé CU7



Figure 27: Spectre ^1H - ^1H COSY du composé CU7

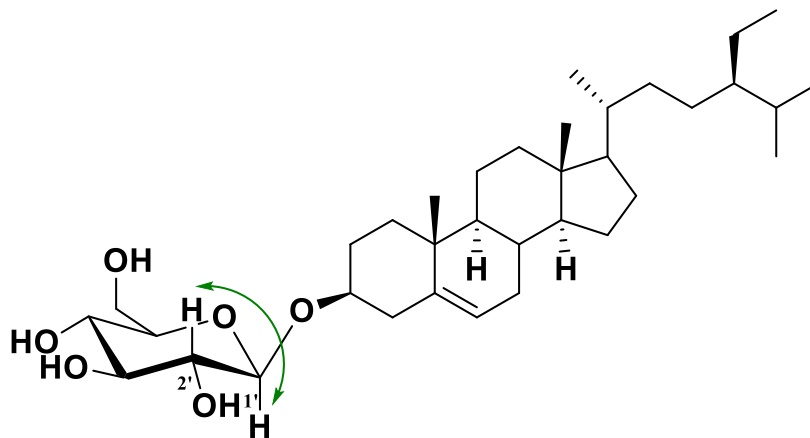


Figure 28: Corrélations observées sur le spectre COSY

Le spectre HMBC viendra ainsi confirmer la structure de notre composé, en marquant la présence de multiples corrélations :

- Entre le proton H-19 (δ_H 0,96 ppm) et les carbones C-5 (δ_C 140,9 ppm, C-9 (δ_C 50,1 ppm), et C-10 (δ_C 36,7 ppm) ;
- Entre le proton anomérique H-1' (δ_H 4,22 ppm) et le carbone C-3 (δ_C 77,4 ppm).

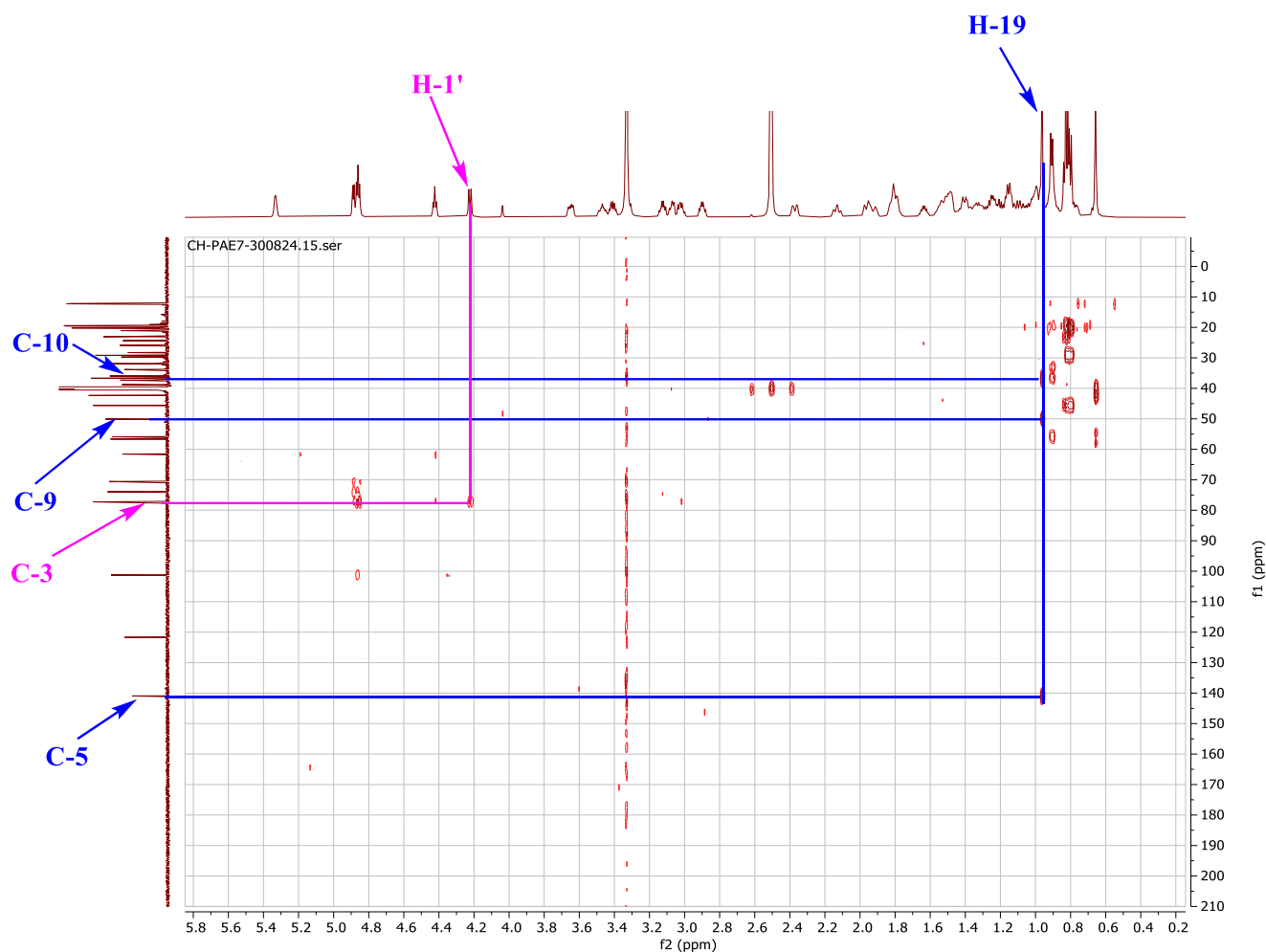


Figure 29: Spectre HMBC de CU7

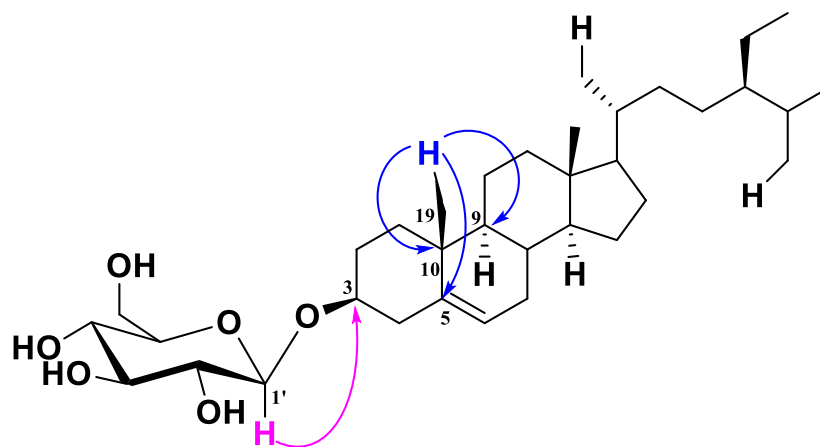


Figure 30: Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de CU7

Sur la base de toutes ces données spectrales et par comparaison avec celle de la littérature (Peshin et *al.*, 2017) (Tableau 6), nous avons attribué à CU7 le squelette **31** qui est celui du **3-O-β-D-glucopyranoside de β-sitosterol** encore appelé sitoglucoside, isolés antérieurement des fleurs de *Viola odorata* par Peshin et Kar en 2017 en Inde.

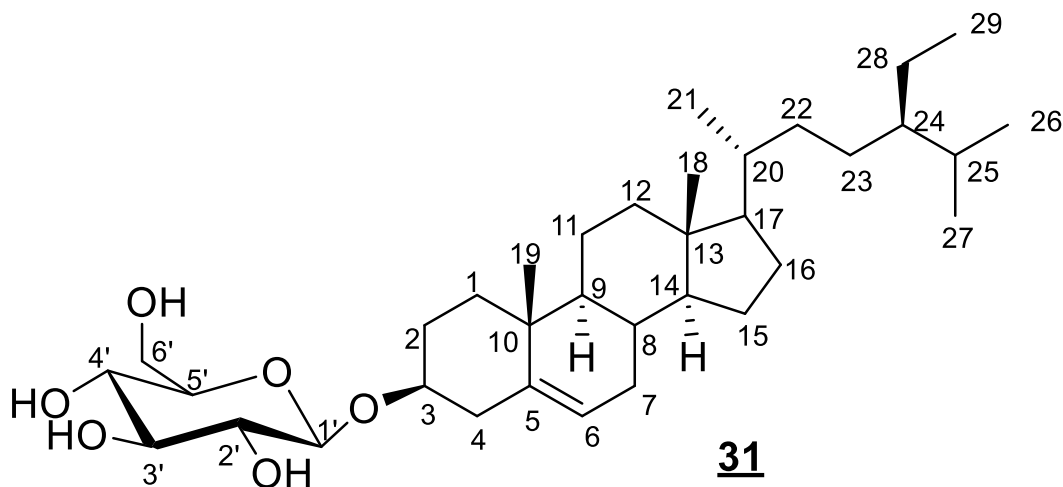


Tableau 6: Données spectrales de RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz) et RMN ¹³C (CDCl₃, 151MHz) de CU7 et du 3-O-β-D-glucopyranoside de β-sitosterol.

Position	δ _H (ppm) (m; J(Hz); nH)	δ _C (ppm)	DEPT	δ _H (ppm) (m; J(Hz); nH)	δ _C (ppm)	DEPT
	CU7			Données de la littérature (Peshin et <i>al.</i> , 2017)		
1	1,78 (m, 2H)	37,3	CH ₂	1,0 (m, 1H) 1,40 (m, 1H)	36,8	CH ₂
2	1,81 (m, 1H) 1,47 (m, 1H)	29,7	CH ₂	1,58 (m, 1H) 1,26 (m, 1H)	29,2	CH ₂
3	3,47 (m, 1H)	77,4	CH	2,98 (m, 1H)	76,0	CH
4	2,36 (dd, 4,56 ; 4,8, 1H) 2,12 (t, 23,4 ; 1H)	38,9	CH ₂	2,26 (dt 4,69 ; 8,10, 1H) 1,98 (ddd, 1,98; 12,94, 12,94; 1H)	39,3	CH ₂
5	-	140,9	C	-	140,4	C
6	5,33 (t, 5,34 ; 1H)	121,7	CH	5,35 (t, 3,6 ; 1H)	121,2	CH
7	1,91 (m, 1H) 1,47 (m, 1H)	31,9	CH ₂	1,73 (ddd, 2,5; 7; 16; 1H) 1,95 (ddd, 16 ; 2,5 ; 7 ; 1H)	31,4	CH ₂
8	1,81 (m, 1H)	31,9	CH	1,36 (m, 1H)	31,3	CH
9	0,89 (m, 1H)	50,1	CH	0,85 (m, 1H)	49,6	CH
10	-	36,7	C	-	36,2	C
11	1,48 (m, 1H) 1,39 (dd, 5,1 ; 5,1 ; 1H)	21,1	CH ₂	1,42 (m, 2H)	20,6	CH ₂
12	1,95 (t, 36,4 ; 1H) 1,13 (m, 1H)	39,7	CH ₂	1,52 (dd, 4,3 ; 12,37 ; 1H) 1,20 (m, 1H)	38,3	CH ₂

**CONTRIBUTION A L'ETUDE CHIMIQUE DE LA FRACTION HEXANIQUE DES FEUILLES DE
CLERODENDRUM UMBELLATUM (LAMIACEAE)**

13	-	42,3	C	-	41,8	C
14	0,97 (s, 1H)	56,7	CH	0,95 (m, 1H)	56,1	CH
15		23,7	CH ₂	1,05 (m, 1H) 1,57 (m, 1H)	23,8	CH ₂
16	1,23 (m, 2H)	28,3	CH ₂	1,25 (m, 1H) 1,85 (m, 1H)	27,8	CH ₂
17	1,09 (s, 1H)	55,9	CH	1,20 (m, 1H)	55,4	CH
18	0,65 (s, 3H)	11,8	CH ₃	0,70 (s, 3H)	11,6	CH ₃
19	0,96 (s, 3H)	19,4	CH ₃	0,94 (s, 3H)	19,1	CH ₃
20	1,33 (m, 1H)	36,0	CH	1,40 (m, 1H)	35,4	CH
21	0,90 (d, 6,54 ; 3H)	19,1	CH ₃	0,95 (d, 6,5 ; 3H)	18,6	CH ₃
22	1,30 (m, 1H) 0,99 (m, 1H)	33,8	CH ₂	1,20 (m, 2H)	33,3	CH ₂
23	1,14 (m, 2H)	25,9	CH ₂	1,25 (m, 2H)	25,4	CH ₂
24		45,6	CH	0,94 (m, 1H)	45,1	CH
25	1,62 (m, 1H)	29,2	CH	1,68 (m, 1H)	28,6	CH
26		20,2	CH ₃	0,87 (d, 7 ; 3H)	19,7	CH ₃
27	0,80 (m, 3H)	19,6	CH ₃	0,88 (d, 7 ; 3H)	18,9	CH ₃
28		23,1	CH ₂	1,30 (m, 2H)	22,1	CH ₂
29	0,82 (m, 3H)	12,2	CH ₃	0,97 (t, 7,5 ; 3H)	11,8	CH ₃
(1')	4,22 (d, 7,8 ; 1H)	101,3	CH	4,20 (d, 7,9, 1H)	100,7	CH
(2')	2,90 (m, 1H)	73,9	CH	2,89 (dt, 4,5, 8 ; 1H)	73,4	CH
(3')	3,12 (m, 1H)	77,3	CH	3,27 (dt, 4,5, 8 ; 1H)	76,9	CH
(4')	3,02 (m, 1H)	70,6	CH	3,00 (dt, 4,5, 8 ; 1H)	70,0	CH
(5')	3,06 (m, 1H)	77,2	CH	3,06 (dt, 4,5, 8 ; 1H)	76,7	CH
(6')	3,41 (m, 1H)	61,7	CH	4,55 (dd, 2,5, 11,77, 1H)	62,8	CH
OH (2')	4,43 (t, 11,7 ; 1H)	-	-	3,56 (d, 4,5 ; 1H)	-	-
OH (3')	4,87 (dt, 4,8, 11,34 ; 1H)	-	-	3,56 (d, 4,5 ; 1H)	-	-
OH (4')	4,04 (s, 1H)	-	-	3,40 (d, 4,5 ; 1H)	-	-
OH (6')	3,65 (dd, 1H)	-	-	3,60 (t, 4,5 ; 1H)	-	-

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail portait sur l'étude chimique de la fraction à l'hexane des feuilles de *Clerodendrum umbellatum*, plante de la famille des Lamiaceae. Grâce aux méthodes chromatographiques usuelles telles que la Chromatographie sur Couche Mince (CCM) et la Chromatographie sur Colonne (CC) sept composés indexés CU1 à CU7 ont été isolés. À partir de leurs caractéristiques physiques et de l'analyse de leurs spectres RMN à une dimension (RMN ^1H et RMN ^{13}C) et à deux dimensions (COSY, HSQC, HMBC), et par comparaison avec les données décrites dans la littérature, les composés CU5, CU6 et CU7 ont été identifiés respectivement au **β -sitostérol**, à l'**acide oléanolique** et au **3-O- β -D-glucopyranoside de β -sitosterol** qui est le glucoside du β -sitostérol. La revue de la littérature faite sur chacun de ces composés a permis de mettre en exergue plusieurs activités biologiques parmi lesquelles l'activité anticancéreuse pour le β -sitostérol, l'activité anti-inflammatoire de l'acide oléanolique et l'activité hépatoprotectrice du sitoglucoside.

Ces composés sont tous pour la première fois, isolés de l'espèce *umbellatum* du genre *Clerodendrum*, car jusqu'ici aucune plante de cette espèce n'a fait l'objet d'une étude chimique. Notre travail apporte ainsi une contribution à l'étude chimique et la taxonomie des plantes du genre *Clerodendrum*. L'étude des fractions restantes pourrait d'avantage contribuer à la connaissance de la composition chimique de cette espèce. Au vu des résultats encourageants obtenus, nous envisageons dans la suite de nos travaux de recherche :

- ✓ Déterminer les structures des composés CU1, CU2, CU3 et CU4 ;
- ✓ Etudier les fractions restantes ;
- ✓ Soumettre les composés et les extraits aux tests anti schistosomiase ;
- ✓ D'étendre nos investigations sur les autres parties de la plante (fruit, tronc et racines).

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

I) APPAREILLAGE ET MATERIEL VEGETAL

I-1) Matériel végétal

Les feuilles de *Clerodendrum umbellatum* ont été récoltés le 13 Février 2023 à Nkwen, une localité située dans la ville de Bamenda, dans la région du Nord-Ouest Cameroun. Elles ont été identifiées par monsieur NANA Victor botaniste de l'Herbier National du Cameroun (HNC) en comparaison avec le spécimen enregistré sous le numéro 35734/HNC.

I-2- Appareillage et verrerie

Pour mener à bien nos travaux de recherche, nous avons utilisé le matériel suivant :

- Des balances de marques COBOS, modèle D-600-SX et SARTORUIS modèle 1200g/1g de précision 1/1000 ;
- Des évaporateurs rotatifs de marque « Heidolph » nous ont été utiles lors des concentrations des fractions ;
- Une Colonne chromatographique de 6cm de diamètre et 58cm de hauteur a été utilisé en chromatographie sur colonne pour la séparation de notre fraction ;
- Pour les Chromatographies sur Couche Mince (CCM), nous avons utilisés des feuilles d'aluminium de dimension 20x20 cm, recouvertes d'environ 0,2mL de silice ;
- Les plaques CCM ont été éluées dans des cuves contenant dans des proportions variées les systèmes Hexane/Acétate d'éthyle ou Chlorure de Méthylène/Méthanol ;
- La révélation de ces plaques s'est faite soit par utilisation d'une lampe UV de type Nu-4KL de longueur d'onde comprise entre 254 nm et 365 nm, soit par l'iode, soit par pulvérisation à l'aide d'une solution d'acide sulfurique diluée à 20% suivie du chauffage de la plaque à l'aide d'une plaque chauffante.

II) EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES

II-1) Extraction

Les feuilles de *Clerodendrum umbellatum* ont été découpées, séchées, puis broyées. La poudre obtenue (1000g) a été extraite par macération au méthanol pendant 48 heures. La solution résultante après filtration, a été concentrée sur un évaporateur rotatif pour donner un extrait brut de masse 180g. Ces 180g d'extrait brut obtenu ont été dissout dans 250mL d'eau ensuite partitionné avec 400mL d'hexane, puis 400mL d'acétate d'éthyle. Cette extraction liquide-liquide,

nous a permis d'obtenir 89g de fraction à l'hexane, 22g de fraction à l'acétate d'éthyle et 40g de résidu aqueux.

II-2) Séparation chromatographique

L'obtention des composés s'est faite grâce aux techniques chromatographiques à savoir : la chromatographie sur colonne et la chromatographie sur couche mince (CCM).

Une masse de 57g de fraction à l'hexane a été fixée sur une quantité équivalente de gel de silice et chromatographiée dans une colonne de 6 cm de diamètre et 58 cm de hauteur. L'élution de notre colonne, s'est faite grâce au système de solvant Hexane/Acétate d'éthyle de polarité croissante. Ceci nous a permis d'obtenir 1228 sous fractions regroupées sur la base de la CCM comme indiqué sur le tableau ci-dessous :

Tableau 7: Chromatogramme de la fraction à l'hexane de *Clerodendrum umbellatum*

Système d'élution	Fractions	Système de CCM	Observations	Séries
Hex 100%	1-3	Hex 100%	Flacons vides	A
Hex 100%	4-6	Hex 100%	Cristaux blancs montrant une seule tache sur la plaque CCM à l'UV, à l'iode, ainsi qu'à l'acide. Ce composé est indexé CU1	B
Hex 100%	7- 52	Hex 100%	Mélange huileux	C
Hex 100%	53-54	Hex/AE 2,5%	Mélange huileux	D
Hex 100%	55-96	Hex/AE 2,5%	Poudre blanche montrant sur la plaque CCM une seule tâche qui se révèle fortement à l'acide et faiblement à l'iode. Ce composé est indexé CU2	E
Hex/AE 2,5%	97-101	Hex/AE 5%	Cristaux blancs lavées au à l'acétone, contenant un mélange de deux composés	F
Hex/AE 2,5%	102-109	Hex/AE 5%	Mélange huileux	G
Hex/AE 2,5%	110-120	Hex/AE 7,5%	Cristaux blancs lavées au MeOH, contenant un mélange de deux composés	H

Tableau 8: Chromatogramme de la fraction à l'hexane de *Clerodendrum umbellatum* (suite)

Hex/AE 2,5%	121-159	Hex/AE 7,5%	Mélange huileux	I
Hex/AE 2,5%	160-183	Hex/AE 10%	Cristaux blancs lavées avec l'acétone. Sa CCM montre à l'acide la présence d'un seul composé indexé CU3	J
Hex/AE 2,5%	184-194	Hex/AE 10%	Mélange huileux	K
Hex/AE 5%	195-220	Hex/AE 10%	Mélange huileux	L
Hex/AE 5%	221-233	Hex/AE 10%	Aiguille blanche lavée au MeOH montant sur la plaque CCM une seule tache à l'iode et à l'acide. Ce composé est indexé CU4	M
Hex/AE 5%	234-281	Hex/AE 10%	Mélange huileux	N
Hex/AE 7,5%	282-424	Hex/AE 10% Hex/AE 12,5%	Mélange huileux	O
Hex/AE 10%	425-430	Hex/AE 15%	Cristaux blancs qui se révèle faiblement à l'iode et fortement à l'acide en montrant une seule tache sur la plaque CCM. Ce composé est indexé CU5	P
Hex/AE 12,5% - 50%	431-977	Hex/AE 17,5% Hex/AE 25% Hex/AE 30% Hex/AE 35% Hex/AE 40% Hex/AE 50% Hex/AE 60%	Trainées	Q
Hex/AE 50%	978-1005	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 20%	Cristaux blancs lavés au MeOH qui montrent une seule tache à l'UV, à l'iode et à l'acide sur la plaque CCM. Ce composé est indexé CU6	R

Tableau 9: Chromatogramme de la fraction à l'hexane de *Clerodendrum umbellatum* (fin)

Hex/AE 55% - 70%	1006-1118	Hex/AE 65% Hex/AE 60% CH ₂ Cl ₂ /MeOH 20%	Trainées	S
Hex/AE 70%	1119-1126	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 20%	Cristaux blancs lavés à l'acétone qui montrent deux taches sur la place CCM avec les différents révélateurs	T
Hex/AE 75%	1127-1138	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 25%	Mélange huileux	U
Hex/AE 75%	1139-1160	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 25%	Mélange huileux	V
AE 100%	1161-1166	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 30%	Cristaux blancs lavés au MeOH qui montrent une seule tache à l'UV, à l'iode et à l'acide sur la plaque CCM. Ce composé est indexé CU7	W
AE/MeOH 5% - 20%	1167-1221	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 30%	Mélange huileux	X
MeOH 100%	1222-1228	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 30%	Mélange huileux	Y

II-2-1) Isolement et purification du composé CU1

Les sous fractions 4-6 ont été obtenues à l'hexane 100% et ont été regroupées sur la base de la CCM constituant ainsi la série B. Après évaporation d'une partie du solvant, il s'est formé des cristaux blancs. La CCM de ces cristaux montre qu'ils sont constitués d'un seul composé que nous avons indexé CU1 soluble dans la pyridine.

II-2-2- Isolement et purification du composé CU2

La série D regroupant les sous fractions 53-54 obtenues à l'hexane 100% a formé une poudre beige après évaporation du solvant, lavage et filtration. La CCM de cette poudre révèle une seule tache, ce qui nous confirme la pureté de ce composé que nous avons indexé **CU2**. Celui-ci est soluble dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH à chaud.

II-2-3) Isolement et purification du composé CU3

Les sous-fractions 160-183 obtenues au mélange Hex/AE 2,5% ont été regroupées sur la base de leur CCM. Obtenu sous forme cristaux blancs après lavage à l'acétone, ils nous révèlent sur la CCM avec l'acide comme révélateur, la présence d'un seul composé indexé **CU3**. Ce composé se montre soluble dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH à chaud.

II-2-4) Isolement et purification du composé CU4

Les sous-fractions 221-233 regroupées selon les résultats obtenus par la CCM se présente sous forme d'aiguilles blanches après lavage au MeOH. Cette série a montré sur la plaque CCM une seule tache visible à l'iode et à l'acide, ce qui nous a permis de confirmer la pureté de ce composé indexé **CU4**, soluble dans la pyridine.

II-2-5) Isolement et purification du composé CU5

La série P regroupant les sous-fractions 425-430 a formé des cristaux blanchâtres qui se révèlent faiblement à l'iode et fortement à l'acide en montrant une seule tâche sur la plaque CCM. Ce composé est indexé **CU5** et est soluble dans le chloroforme-d.

II-2-6) Isolement et purification du composé CU6

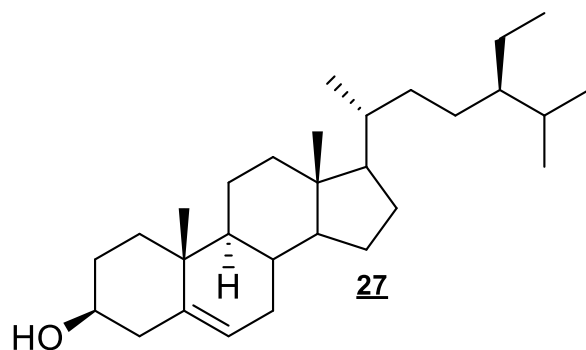
Le composé indexé **CU6** a été obtenu sous forme de cristaux blancs soluble dans le chloroforme-d, lavés à l'aide du MeOH. Il a été obtenu à partir des sous-fractions 978-1005 qui ont montré une seule tache à l'UV, à l'iode et à l'acide sur la plaque CCM.

II-2-7) Isolement et purification du composé CU7

Les sous fractions 1161-1166 se présente sous forme de cristaux blancs lavés au MeOH après évaporation du solvant. Cette série nous a montré une seule tache à l'UV, à l'iode et à l'acide sur la plaque CCM. Ce a permis de justifier la pureté de ce composé indexé **CU7** et soluble dans la DMSO-d₆.

III) CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSES ISOLES

❖ Composé CU5 : β -sitosérol

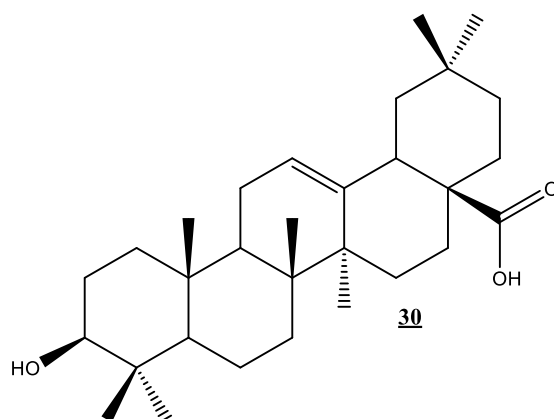


Aspect physique : cristaux blanchâtres

Formule brute : C₂₉H₅₀O

Solvant de solubilité : CDCl₃

❖ **Composé CU6 :** acide oléanolique

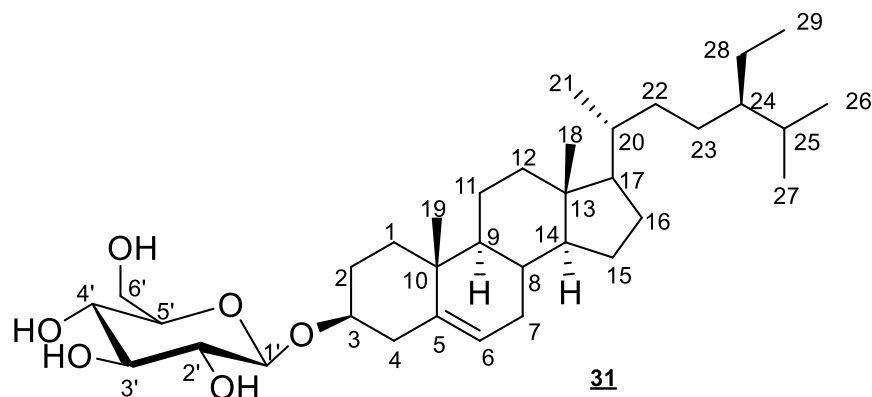


Aspect physique : cristaux blancs

Formule brute : C₃₀H₄₈O₃

Solvant de solubilité : CDCl₃

❖ **Composé CU7 :** β-sitosterol-3-O-D-glucoside



Aspect physique : cristaux blancs

Formule brute : $C_{35}H_{60}O_6$

Solvant de solubilité : DMSO

IV) TESTS CARACTERISTIQUES DES COMPOSES ISOLEES

En raison de leur diversité structurelle et de leurs fonctions biologiques variées, les triterpénoïdes et les stéroïdes peuvent être détectés et caractérisés à l'aide de tests chimiques spécifiques. Voici les principaux tests utilisés pour la détection de ces familles de composé :

IV-1) Test de Liebermann-Burchard

- ✓ **Principe** : Ce test repose sur la réaction des triterpénoïdes avec l'anhydride acétique et l'acide sulfurique concentré, entraînant la formation de complexes colorés spécifiques.
- ✓ **Procédure** : Dans un tube à essai, dissoudre une petite quantité de l'extrait (environ 2 mg) dans 2mL de chloroforme. Ajouter 2mL d'anhydride acétique. Ajouter lentement 1mL d'acide sulfurique concentré le long des parois du tube.
- ✓ **Résultat positif** : La formation d'une coloration bleu-vert ou verte indique la présence de stérols ou de triterpènes. Une coloration rouge ou violette peut indiquer la présence de certains stéroïdes. (Harborne, 1998).

IV-2) Test de Salkowski

- ✓ **Principe** : Ce test détecte les stéroïdes insaturés en exploitant leur réaction avec l'acide sulfurique concentré, qui entraîne la formation de colorations spécifiques.

- ✓ **Procédure** : Mélanger 2mL de l'extrait avec 2mL de chloroforme dans un tube à essai. Ajouter soigneusement 2mL d'acide sulfurique concentré en inclinant le tube pour former une couche inférieure distincte. Ne pas agiter le mélange et observer la couleur à l'interface.
- ✓ **Résultat positif** : Une coloration rouge ou brunâtre à l'interface indique la présence de stéroïdes. (Sofowora, 1993)

IV-3) Réaction avec le réactif de vanilline-acide sulfurique

- ✓ **Principe** : Les triterpénoïdes réagissent avec le réactif de vanilline-acide sulfurique pour donner des colorations spécifiques, facilitant leur détection sur chromatogramme.
- ✓ **Procédure** : Après chromatographie sur couche mince (CCM) de l'extrait, sécher la plaque. Pulvériser la plaque avec une solution de vanilline à 1% dans l'éthanol. Pulvériser ensuite avec de l'acide sulfurique concentré. Chauffer doucement la plaque à 105°C pendant 5 à 10 minutes.
- ✓ **Résultat positif** : Apparition de taches colorées (rouge, violet, bleu) à l'emplacement des triterpénoïdes sur la plaque CCM. (Wagne et Bladt, 1996)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- **Adjanooum J. E., Aboubakar N., Dramane K., Ebot M. E., Ekpere J. A., Enow-Orock E. G., (1996),** “Traditional medicine and pharmacopeia: contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon”, CNPMS, CSTR/OUA, Porto Novo, Benin.
- 2- **Ahmed J. U., Muhammad S. S., Hamisu I., Ogunkemi R. A. I., (2023),** “Isolation, characterization, and docking studies of campesterol and β -sitosterol from *Strychnos innocua* (Delile) root bark”, *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 18(3): pp. 566-578.
- 3- **Awad, A.B., Downie, A.C., Fink C. S., (2000),** “Inhibition of growth and stimulation of apoptosis by β -sitosterol treatment of MDA-MB-231 human breast cancer cells in culture”, *Nutrition and Cancer*, 36(1): pp. 74-78.
- 4- **Bhangare N. K., Ghongane B. B., (2011),** “Screening for anti-inflammatory and antiallergic activity of Bharangi (*Clerodendrum serratum* Moon.)”, *Indian Journal Pharmacology*, 43: p. 197.
- 5- **Bhangare N. K., Pansare T. A., Ghongane B. B., Nesari T. M., (2012),** “Screening for antiinflammatory and antiallergic activity of Bharangi (*Clerodendrum serratum* Moon) in animals”, *International Journal Pharmacology Biology Science*, 3: pp. 245-254.
- 6- **Benveniste P., (2004),** “Biosynthesis and accumulation of sterols”, *Annual Review of Plant Biology*, 55: pp. 429-457.
- 7- **Bouic P. J. D., (2001),** “The role of phytosterols and phytosterolins in immune modulation: a review of the past 10 years”, *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 4(6): pp. 471-475.
- 8- **Cantino P. D., Harley R. M., Wagstaff S. J., (1992),** “Genera of Labiatae status and classification”, *Advances in Labiatae Science*, pp. 511–522

- 9- **Couillaud J., (2021)**, “ « The terpene mini-path » Nouvel accès aux terpènes et exploration de l'espace chimique par une cascade enzymatique originale”, Thèse de doctorat, Aix-Marseille Université, p. 13.
- 10- **Dinda B., Debnath S., Harigaya Y., (2011)**, “Naturally occurring triterpenoid saponins”. *Chemistry and Biodiversity*, 7(9): pp. 2327-2580.
- 11- **Dinda B., Kyriakopoulos A. M., Dinda S., Zoumpourlis V., (2015)**, “Antimicrobial and anti-inflammatory triterpenoids and sterols from plants and marine organisms”, *Anticancer Agents in Medicinal Chemistry*, 15(5): pp. 614-631.
- 12- **Dong X. P., Qiao R. X., Guo L., Xie J., Liu B., (1999)**, “Study on the chemical constituents of *Clerodendrum bungei* Steud”, *Natural Product Research and Development*, 11: pp. 8-10.
- 13- **Gabay C., Kushner I., (1999)**, “Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation”, *The New England Journal of Medicine*, 340(6): pp. 448-454.
- 14- **Gohari A. R., Saeidnia S., Hadjiakhoondi A., Abdoullahi M., Nezafati M., (2009)**, “Isolation and Quantificative Analysis of Oleanolic Acid from *Satureja mutica* Fisch. & C. A. Mey”, *Journal of Medicinal Plants*, 8(5): pp. 65-69.
- 15- **Goodwin T.W., (1972)**, “Biosynthesis of steroids in plants”, *Biochemical Journal*, 127(3): pp. 13-14.
- 16- **Guignard J. L., Dupont F., (2004)**, “Botanique systématiques moléculaires”, *MASSON (ed)*, Belgique, 13^e édition, pp. 234-237.
- 17- **Havsteen B. H., (2002)**, “The biochemistry and medicinal significance of the flavonoids”, *Pharmacology Therapeutics*, 96: pp. 67-202.
- 18- **Hemiani B., Ben D. F., (2021)**, “Caractérisation chimique des huiles essentielles de quelques plantes de la famille des Lamiacées : une revue bibliographique”, Université Ziane Achour-Djelfa, p. 4.
- 19- **Hung-wen W., Lewis W., (2010)**, “Comprehensive natural product II”, *Chemistry and Biology*, p. 7388.
- 20- **Jatsa H.B., Kadji F. J. B., Kenfack M. C., Feussom N. G., Poumeni K. M., Simo N. D., Nkondo E. T., Dongmo A. B., Tchuem T. L. A., (2018)**, “Acute and sub-chronic oral toxicity studies of the leaves aqueous extract of *Clerodendrum umbellatum* Poir on mice”, *American Journal Of Physiology, Biochemistry And Pharmacology*, 7(2): pp. 75–85.

- 21- **Jatsa H. B., Kenfack C. M., Simo D. N., Feussom N. G., Nkondo E. T., Tchuem T. L. A., Dongmo T. C., Dongo E. et Kamtchouing P., (2015)**, “Schistosomicidal, hepatoprotective and antioxidant activities of the methanolic fraction from *Clerodendrum umbellatum* Poir leaves aqueous extract in *Schistosoma mansoni* infection in mice”, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15: pp. 1-9.
- 22- **Jatsa H.B., Ngo Sockb E.T., Tchuem L.A., Kamtchouing P., (2009)**, “Evaluation of the in vivo activity of different concentrations of *Clerodendrum umbellatum* poir against schistosoma mansoni infection in mice”. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 6 (3) : pp. 216-221.
- 23- **Khelfallah A., (2022)**, “Contribution à l’étude de la bio-activité de quelques plantes médicinales de la flore d’Algérie: cas de la famille des Lamiacées”, Thèse de doctorat/PhD en Biochimie, Université de Mohammed Seddik Benyahia-de Jijel, p. 4.
- 24- **Lamarck, (1804)**, “*Clerodendrum umbellatum* in flora of Pakistan”. www.efloras.org. Retrieved 2023-12-26.
- 25- **Lee S. H., Choi S. Y., Kim H., Hwang J. S., Lee B. G., Gao J. J., Kim S. Y., (2011)**, “Anti-elastase and anti-hyaluronidase activities of phenolic substances from *Clerodendrum trichotomum* leaves”, *Archives of Pharmacal Research*, 24(4): pp. 360-366.
- 26- **Ling W. H., Jones P. J. H., (1995)**, “Dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects”, *Life Sciences*, 57(3): pp. 195-206.
- 27- **Liu J., (1995)**, “Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid”, *Journal of Ethnopharmacology*, 49(2): pp. 57-68.
- 28- **Mahato S. B., Kundu A. P., (1994)**, “¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids a compilation and some salient features”, *Phytochemistry*, 37(6): pp. 1517-1575.
- 29- **Mahato S. B., Sen S., (1997)**, “Advances in triterpenoid research, 1990-1994”, *Phytochemistry*, 44(7): pp. 1185-1236.
- 30- **Mandal S. C., Kumar C. K. A., Majumder R., Saha B. P., Pal M., (2007)**, “Antitussive effect of *Clerodendrum phlomidis* Linn. bark extract”, *Fitoterapia*, 78(6): pp. 409-411.
- 31- **Marinova D., Ribarova F., Atanassova M., (2005)**, “Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables”, *Journal of the University of Chemicals Technology and Metallurgy*, 40(3): pp. 255-260.

- 32- **Martin J., et Ruud A., (2012)**, “Steroids and NMR”, *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, 77: pp. 118-119.
- 33- **Messaili B., (1995)**, “Botanique, systématique des spermaphytes”, *OPU (Ed)*, Alger, p. 91.
- 34- **Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R., (2004)**, “Botanique Biologie et Physiologie Végétales”, *Edition Maloine*.
- 35- **Moser S., Pichler H., (2019)**, “Identifying and Engineering the Ideal Microbial Terpenoid Production Host”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103: pp. 5501-5516.
- 36- **Nan H. H., Wu J., Yin H., Zhang S., (2006)**, “Terpenoid compounds from *Clerodendrum inerme*”, *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 37: pp. 508-509.
- 37- **Nan H. H., Wu J., Zhang S., (2005)**, “A new phenylethanoid glycoside from *Clerodendrum inerme*”, *Pharmazie*, 60: pp. 798-799.
- 38- **Neeta S., Tejas P., (2007)**, “*Clerodendrum* and Healthcare: An Overview”, *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 1(1): pp. 142-150.
- 39- **Pal A., Mahmud Z. A., Akter N., Islam S., Bachar S. C., (2012)**, “Evaluation of antinociceptive, antidiarrheal and antimicrobial activities of leaf extracts of *Clerodendrum indicum*”, *Pharmacognosie Journal*, 4: pp. 41-46.
- 40- **Panthong A., Kanjanapothi D., Taesotikul T., Wongcome T., Reutrakul V., (2003)**, “Antiinflammatory and antipyretic properties of *Clerodendrum petasites* S. Moore”, *Journal of Ethnopharmacology*. 85: pp. 151-156.
- 41- **Peshin T. and Kar H. K., (2017)**, “Isolation and Characterization of β -Sitosterol-3-O- β -D-glucoside from the Extract of the Flowers of *Viola odorata*”, *British Journal of Pharmaceutical Research*, 16(4): pp. 1-8.
- 42- **Pierre A., Bernard A. G., (2024)**, “Schistosomoses ou bilharzioses Actualités 2023”, Texte mis à jour le 9/01/2024, www.medecinetropicale.com.
- 43- **Rahman M. A., Rashid M. A., (2008)**, “Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Eclipta prostrata*”, *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 8(1): pp. 47-52.
- 44- **Siddique H. R., Saleem M., (2011)**, “Beneficial health effects of lupeol triterpene: a review of preclinical studies”, *Life Sciences*, 88(8): pp. 285-293.

- 45- Singh B., Bani S., Gupta D. K., Chandan B. K., Kaul A., Kumari S., Koul J. L., (2010), "Anti-inflammatory activity of Campesterol from *Chrysanthemum indicum* Linn", *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53(1): pp. 137-142.
- 46- Sofowora A., (1993), "Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa. Spectrum Books Ltd", Nigeria, 2^e édition.
- 47- Somwong P., Moriyasu M., Suttisri R., (2015), "Chemical constituents from the roots of *Clerodendrum indicum* and *Clerodendrum villous*", *Biochemical Systematics and Ecology*. 63: pp. 153-156.
- 48- Tarek B., (2012), "Biodiversité, bioactivités et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique", (Thèse de doctorat/PhD l'ENS de Koubaalger, Algérie), Algérie.
- 49- Tasleem F., Mahmood S. B. Z., Azhar I., Gulzar R., Ahmed F., Mah mood Z. A., (2017), "Effect of *Adenanthera pavonina* leaves extracts and β -sitosterol glucoside in CCl₄ induced hepatocellular injury in Wistar rats", *Advanced Medicinal Plant Reseach*, 5(4): pp. 51-62.
- 50- Trease G. E., Evans W. C., (2009), "Pharmacognosy", *Elsevier*, 16^e édition.
- 51- Wagner H., Bladt S., (1996), "Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas", *Springer*.
- 52- Wang J. H., Luan F., Xiang-Dong H., Yong W., Mao-Xing L., (2018), "Traditional uses and pharmacological properties of *Clerodendrum* phytochemicals", *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 8: pp. 24-38.
- 53- Wang W. X., Xiong J., Tang Y., (2013), "Rearranged abietane diterpenoids from the roots of *Clerodendrum trichotomum* and their cytotoxicities against human tumor cells", *Phytochemistry*, 89: pp. 89-95.
- 54- Wei G., Bartholomew R. A., (2005), "Oleanolic Acid: Chemistry, Biological Activities, and Pharmacokinetics", *Journal of Natural Products*, 68(4): pp. 711-720.
- 55- Xu R., Fazio G. C., Matsuda S. P. T., (2004), "On the origins of triterpenoid skeletal diversity", *Phytochemistry*, 65(3): pp. 261-291.

- 56- Yamaguchi Y., Miyahara E., Nakai K., Miyamoto K., (2006), ‘‘Lupane-type triterpenes from *Zizyphus* fruits reduce serum glucose in KK-Ay mice’’, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(9): pp. 1990-1992.