

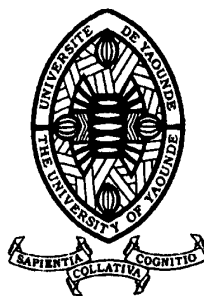
REPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix – Travail – Patrie*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
ECOLE NORMALE SUPERIEURE  
DEPARTEMENT DE CHIMIE

\*\*\*\*\*



REPUBLIC OF CAMEROUN

*Peace – Work – Fatherland*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

\*\*\*\*\*

# **ISOLEMENT ET CARACTÉRISATION DES MÉTABOLITES SECONDAIRES DES EXTRAITS MÉTHANOLIQUES DES FEUILLES DE OCIMUM GRATISSIMUM (LAMIACEAE)**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Professeur  
de l'Enseignement Secondaire 2ème  
Grade (DIPES II)

Par :

**KEUBENG Sidonie**  
**Licenciée ès sciences**

Sous la direction  
**Pascal WAFO**  
Maître de  
Conférences

Année Académique  
2015-2016





## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire de Yaoundé I. Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [biblio.centrale.uyi@gmail.com](mailto:biblio.centrale.uyi@gmail.com)

## WARNING

This document is the fruit of an intense hard work defended and accepted before a jury and made available to the entire University of Yaounde I community. All intellectual property rights are reserved to the author. This implies proper citation and referencing when using this document.

On the other hand, any unlawful act, plagiarism, unauthorized duplication will lead to Penal pursuits.

Contact: [biblio.centrale.uyi@gmail.com](mailto:biblio.centrale.uyi@gmail.com)

RÉPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix– Travail – Patrie

\*\*\*\*\*

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR

\*\*\*\*\*

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

\*\*\*\*\*

ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE

\*\*\*\*\*

REPUBLIC OF CAMEROON

Peace– Work – Fatherland

\*\*\*\*\*

MINISTRY OF HIGHER EDUCATION

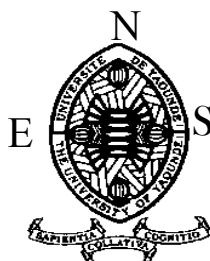
\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDÉ I

\*\*\*\*\*

HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE

\*\*\*\*\*



DÉPARTEMENT DE CHIMIE

\*\*\*\*\*

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

\*\*\*\*\*

**CERTIFICATION**

Je soussigné, WAFO Pascal, Maître de conférences, certifie que les travaux effectués par KEUBENG Sidonie, Matricule 02Y602, portant sur le thème « **Isolement et caractérisation des extraits méthanoliques des feuilles de *ocimum gratissimum* (*lamiaceae*)** », sont ses propres travaux et qu'ils ont été réalisés sous ma direction au Laboratoire de Chimie organique de l'École Normale Supérieure de l'Université de Yaoundé I.

Fait à Yaoundé, le .....

**Le Directeur de Mémoire,**

Pr WAFO Pascal

## DÉDICACES

*À mon époux et mes enfants, mes compagnons au quotidien :*

- ❖ TADAA PEFOUHO Honoré ;
- ❖ MAGUELONG TADAA Elvira Lesline ;
- ❖ NOGHEU TADAA Heindrich Marilyn.

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout particulièrement mon directeur de mémoire, le Professeur Pascal WAFO, pour l'attention qu'il a portée à mon travail. Sans ses encouragements, rien n'aurait été possible.

Je voudrais exprimer ma gratitude au Professeur Decaux W. F. G. KAPCHE, pour ses conseils avisés et son soutien tout au long de ces deux années.

Je remercie aussi Timoléon MAFFO, notre « aîné de laboratoire », pour l'acuité de ses remarques qui m'ont permis, chaque fois, de surmonter bien des impasses.

Je tiens aussi à remercier, que ce soit pour leur aide, leur conversation stimulante, leurs pistes, leur regard sur mes travaux ou leurs encouragements, Radius MELONG et Joel ATEBA.

Je souhaite également remercier mon mari, Honoré TADAA PEFOUHO, qui a été mon plus grand soutien et mon plus fidèle relecteur. Sans sa patience, ses encouragements et son amour, ce mémoire ne serait pas ce qu'il est. Quelles que soient les épreuves, je sais qu'il sera là, à mes côtés.

Mon affection et ma gratitude vont à mes frères et sœurs : Adolphe KUETE, Régine TAMAPEU, Justine FONING, Françoise LACLONG, Jeanne TCHINDA et Georgette TSAYEM.

Je remercie chaleureusement ma belle-famille pour l'aide précieuse qu'elle m'a apportée et son soutien sans faille : Jean PEFOUKO, Marie NOGHEU, Séverine NGOUEGNI, Véronique NGOUEPEGUE, Simplicite et Flore DZIKANG, Isidor et Hortence MOGOU, et tous ceux que je n'ai pas pu citer.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui m'ont accompagné et soutenu durant ce travail, parfois même sans le savoir : Liliane TCHEUZE, Cathérine TEGASNE, Cécile Aimée BOOCK, Roméo SAHADIO, Sidoine MADOPSI et la liste est loin d'être exhaustive.

## SOMMAIRE

CERTIFICATION.....	i
DÉDICACES .....	ii
REMERCIEMENTS.....	iii
SOMMAIRE .....	iv
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	vi
LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES SCHÉMAS.....	viii
LISTE DES TABLEAUX .....	ix
RÉSUMÉ.....	x
ABSTRACT .....	xi
INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	1
Chapitre 1 : REVUE DE LA LITTÉRATURE .....	3
1.1 APERÇU BOTANIQUE .....	4
1.1.1 Famille des « <i>Lamiaceae</i> » .....	4
1.1.2 .Genre <i>Ocimum</i> .....	4
1.1.3 L'espèce <i>Ocimum gratissimum</i> .....	4
1.2 QUELQUES USAGES DES PLANTES DU GENRE <i>OCIMUM</i> .....	6
1.2.1 Sur le plan alimentaire (Kamtchueng, 2003).....	6
1.2.2 En pharmacopée naturelle (Berhaut J, 1975).....	6
1.3 TRAVAUX CHIMIQUES ANTÉRIEURS SUR LE GENRE <i>OCIMUM</i> .....	7
1.3.1 Les composés phénoliques .....	7
1.3.2 Les flavonoïdes.....	8
1.3.3 Les stérols.....	10
1.3.4 Les acides gras .....	12
1.3.5 Les monoterpènes .....	13
1.3.6 Les sesquiterpènes .....	14
1.3.7 Les triterpènes .....	16

<b>Chapitre 2 : RÉSULTATS ET DISCUSSION</b> .....	20
<b>2.1 INTRODUCTION</b> .....	21
<b>2.2 IDENTIFICATION STRUCTURALE DES COMPOSÉS ISOLÉS</b>	23
<b>2.2.1 Identification de Ogf<sub>1</sub></b> .....	23
<b>2.2.2 Identification du composé Ogf<sub>2</sub></b> .....	27
<b>2.3 INTÉRÊT PÉDAGOGIQUE</b> .....	31
<b>2.4 CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....	32
<b>Chapitre 3 : PARTIE EXPÉRIMENTALE</b> .....	33
<b>3.1 APPAREILLAGE ET MATÉRIEL VÉGÉTAL</b> .....	34
<b>3.1.1 Appareillage</b> .....	34
<b>3.1.2 Matériel végétal</b> .....	34
<b>3.2 EXTRACTION ET ISOLEMENT DES PRODUITS</b> .....	35
<b>3.2.1 Extraction</b> .....	35
<b>3.2.2 Isolement des produits</b> .....	37
<b>3.2.3 Traitement des fractions</b> .....	38
<b>3.3 CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSÉS ISOLÉS</b> .....	38
<b>3.3.1 Ogf<sub>1</sub> : Acide 3β- acétyloléanolique</b> .....	38
<b>3.3.2 Ogf<sub>2</sub>: 3β- hydroxyoléan-9, 12-diène</b> .....	39
<b>3.4 TEST CARACTÉRISTIQUE DES TRITERPENES: TEST DE LIEBERMANN-BURCHARD</b> .....	39
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	40

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

<b><math>^{13}\text{C}</math></b>	: Carbone 13
<b><math>^1\text{H}</math></b>	: Proton
<b>AE</b>	: Acétate d'éthyle
<b>al.</b>	: Allié
<b>CC</b>	: Chromatographie sur Colonne
<b>CCM</b>	: Chromatographie sur Couche Mince
<b><math>\text{CDCl}_3</math></b>	: Chloroforme - deutéré
<b>COSY</b>	: Correlation Spectroscopy
<b>d</b>	: Doublet
<b>dd</b>	: Doublet dédoublé
<b>DEPT</b>	: Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
<b>Fig</b>	: Figure
<b>HMBC</b>	: Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
<b>HMQC</b>	: Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
<b>Hz</b>	: Hertz
<b>J (Hz)</b>	: Constante de couplage en hertz
<b>m</b>	: Multiplet
<b>m/z</b>	: Rapport masse/ charge électrique
<b>Me</b>	: Méthyle
<b>MeOH</b>	: Méthanol
<b>MHz</b>	: Mégahertz
<b>mm</b>	: Millimètre
<b>nm</b>	: Nanomètre
<b>Ppm</b>	: Partie par Million
<b>Ref</b>	: Reference
<b>RMN</b>	: Résonance magnétique nucléaire
<b>S</b>	: Singulet
<b>TMS</b>	: Tétra méthyle silane
<b>UV</b>	: Ultraviolet



## LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : TIGES ET FEUILLES D' <i>OCIMUM GRATISSIMUM</i> FILMÉES À MANDJO (KEUBENG, 2015)	5
FIGURE 2 : SPECTRE RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCL <sub>3</sub> ) DE OGF <sub>1</sub> .....	24
FIGURE 3 : SPECTRE RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCL <sub>3</sub> ) DE OGF <sub>1</sub> .....	25
FIGURE 4 : SPECTRE HMBC (500MHz, CDCL <sub>3</sub> ) DE OGF <sub>1</sub> .....	25
FIGURE 5: SPECTRE DE MASSE IE DE OGF <sub>2</sub> .....	28
FIGURE 6: SPECTRE RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCL <sub>3</sub> ) DE OGF <sub>2</sub> .....	29
FIGURE 7: SPECTRE HMBC DE OGF <sub>2</sub> .....	29

## LISTE DES SCHÉMAS

SCHÉMA 1: CYCLISATION DU SQUALÈNE EN TRITERPÈNES PENTACYCLIQUES.....	18
SCHÉMA 2: PROTOCOLE D'EXTRACTION ET D'ISOLEMENT DES COMPOSÉS DES FEUILLES D' <i>OCIMUM GRATISSIMUM</i> .....	22

## LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : QUELQUES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES ISOLÉS DES PLANTES DU GENRE <i>OCIMUM</i> .....	8
TABLEAU 2 : QUELQUES FLAVONES ISOLÉES DES PLANTES DU GENRE <i>OCIMUM</i> .....	10
TABLEAU 3 : QUELQUES STÉROLS ISOLÉS DES PLANTES DU GENRE <i>OCIMUM</i> .....	11
TABLEAU 4 : QUELQUES ACIDES GRAS ISOLÉS DES PLANTES DU GENRE <i>OCIMUM</i> .....	12
TABLEAU 5: QUELQUES MONOTERPÈNES ISOLÉS DES PLANTES DU GENRE <i>OCIMUM</i> .....	13
TABLEAU 6: QUELQUES SESQUITERPÈNES ISOLÉS DES PLANTES DU GENRE <i>OCIMUM</i> .....	15
TABLEAU 7: QUELQUES TRITERPÈNES PENTACYCLIQUES ISOLÉS DES PLANTES DU GENRE <i>OCIMUM</i> .....	16
TABLEAU 8: DONNÉES SPECTRALES COMPARATIVES DE RMN <sup>13</sup> C (125MHZ, CDCL <sub>3</sub> ) DE OGF <sub>1</sub> ET DE CELLES DE LA LITTÉRATURE (MC LEAN ET AL, 1987).....	26
TABLEAU 9: DONNÉES SPECTRALES DE RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) DE OGF <sub>2</sub> .....	30
TABLEAU 10: CHROMATOGRAMME D'ISOLEMENT ET DE PURIFICATION DES MÉTABOLITES SECONDAIRES DES FEUILLES D' <i>OCIMUM GRATISSIMUM</i> .....	37

## RÉSUMÉ

Le présent travail porte sur l'extraction, l'isolement et la caractérisation de quelques métabolites secondaires des feuilles d'*Ocimum gratissimum*, une plante médicinale du Cameroun appartenant à la famille des Lamiaceae.

L'extrait au méthanol des feuilles de cette plante nous a permis d'isoler, grâce aux différentes techniques chromatographiques, trois composés indexés Ogf1, Ogf2 et Ogf3.

Deux de ces composés ont été identifiés sur la base de leurs données spectroscopiques (RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, DEPT 135, HMBC, HMQC et COSY). Il s'agit de l'**acide acetyloléanolique**, et du **3β-Hydroxyolean-9, 12-diène**.

## ABSTRACT

This work is based on extraction, isolation and characterization of organic compounds present in the leaves of *Ocimum gratissimum*, a Cameroonian plant of the *Lamiaceae* family.

From the methanol extract of the leaves, we have isolated after different chromatographic separations three compounds labelled Ogf<sub>1</sub>, Ogf<sub>2</sub> and Ogf<sub>3</sub>.

Two of these compounds (Ogf<sub>1</sub> and Ogf<sub>2</sub>) are elucidated and identified, based on its spectroscopic data (<sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, DEPT 135, HMBC, HMQC and COSY) to **acetyloeanolic acid** and **3β-Hydroxyolean-9, 12-dien**.

# INTRODUCTION GÉNÉRALE

Dans les pays en voie de développement, la pharmacopée naturelle occupe une place très importante dans la vie sociale des populations. Les plantes constituent pour l'homme une source directe et véritable de traitements de nombreuses maladies. Cependant, cette médecine naturelle fait face aux problèmes liés à la toxicité, à l'efficacité et même au mode d'administration du médicament, contrairement à la médecine moderne qui fait face aux problèmes de coût, des effets secondaires des médicaments ainsi qu'à la résistance des germes pathogènes. (Ango, 2006).

Dans l'optique de remédier à ces problèmes, les recherches portant sur l'isolement et la caractérisation des principes actifs responsables des propriétés pharmacologiques attribuées aux plantes médicinales sont faites dans les laboratoires de Chimie Organique.

Dans le but d'apporter notre contribution à la recherche de ces principes actifs, nous avons entrepris dans le cadre de l'initiation à la recherche et pour le compte du mémoire du Diplôme de Professeur d'Enseignement Secondaire Deuxième Grade (DI.P.E.S.II), l'étude chimique de *Ocimum gratissimum*, une plante médicinale du Cameroun de la famille des «*Lamiaceae*».

Le présent travail comporte une revue de la littérature portant sur l'espèce *Ocimum gratissimum* ainsi que sur le genre et la famille auxquels elle appartient, la discussion des résultats obtenus et enfin sur la présentation du matériel et des méthodes expérimentales utilisés.

# Chapitre 1 : REVUE DE LA LITTÉRATURE



## 1.1 APERÇU BOTANIQUE

### 1.1.1 Famille des «*Lamiaceae*»

Encore appelés «*Labiatae*», les «*Lamiaceae*» constituent une famille comprenant plus de deux cent dix (210) genres et six mille (6000) espèces. Les plantes de cette famille possèdent souvent les poils glanduleux et des glandes à huiles essentielles les rendant très odorantes. (Hutchinson et *al.*, 1974)

Les «*Lamiaceae*» sont des plantes herbacées, des arbustes et des buissons (Kamtchueng, 2003). Cette famille de plantes est caractérisée par sa tige à section carrée, les feuilles sont simples, opposées, à limbes entiers ou découpés, généralement dentés. (Hutchinson et *al.*, 1974)

Elles ont des fleurs irrégulières, bisexuées ou unisexuées, souvent fortement entassées ; leurs calices sont constituées de cinq (5) pétales soudées et très souvent à deux (2) lèvres. Les fruits ont généralement quatre (4) méricarpes d'une seule graine. (Troupin et *al.*, 1982)

Parmi les genres rencontrés dans cette famille, nous pouvons citer: *Mentha*; *Thymus*; *Lamium* et *Ocimum*. Ce dernier genre fera l'objet de notre étude. (Hutchinson et *al.*, 1974)

### 1.1.2 .Genre *Ocimum*

Connu sous le nom de basilic, (du grec basilikos), les plantes du genre *Ocimum* sont des arbustes annuels ou vivaces. De nos jours, ce genre compte près de cent cinquante (150) espèces. (Kamtchueng, 2003)

Ces plantes se reconnaissent par leurs tiges quadrangulaires ligneuses, leurs feuilles pétiolées et opposées sont utilisées comme condiments ou arômes, les fleurs possèdent quatre étamines en deux paires de longueur inégale. (Kamtchueng, 2003; Hutchinson et *al.*, 1963)

Au Cameroun, on rencontre généralement trois espèces, à savoir: *O. suave*; *O. basilicum* et *O. gratissimum* qui est l'objet de la présente étude. (Hutchinson et *al.*, 1974)

### 1.1.3 L'espèce *Ocimum gratissimum*

#### 1.1.3.1 Description botanique

Encore appelé «*messep*» dans les régions du Centre et du Sud Cameroun, *O. gratissimum* est un arbuste de un à deux mètres de haut. Ses tiges à section carrée sont très ramifiées et ligneuses à leurs bases, et présentent une inflorescence terminale compacte à leurs sommets.

Ses feuilles laineuses à odeur très piquante, pétiolées et opposées ont un limbe foliaire largement ovale, arrondi à la base. (Hutchinson et al., 1974)



**Figure 1 : Tiges et feuilles d'*Ocimum gratissimum* filmées à Mandjo (Keubeng, 2015)**

### **1.1.3.2 Répartition géographique de la plante**

Les plantes du genre *O. gratissimum* se retrouvent principalement dans des régions telles que : Amérique tropicale, Afrique tropicale, Inde, Asie du Sud-est et dans presque toutes les régions du Cameroun.

## **1.2 QUELQUES USAGES DES PLANTES DU GENRE *OCIMUM***

Les plantes du genre *Ocimum* sont une importante source d'huiles essentielles pour l'aromathérapie, la parfumerie. Certaines espèces sont utilisées en cosmétique ou cultivées comme plantes condimentaires. (Naitn, 2007)

Leurs principaux centres d'intérêt sont alimentaires et médicinales.

### **1.2.1 Sur le plan alimentaire (Kamtchueng, 2003)**

Les feuilles d'*Ocimum* sont très consommées dans les sauces comme condiment à cause de leur arôme; parfois comme épices.

En générale, les plantes du genre *Ocimum* renfermant les huiles essentielles sont utilisées dans l'agro-industrie.

### **1.2.2 En pharmacopée naturelle (Berhaut J, 1975)**

Les feuilles, les tiges, les racines ainsi que les graines des espèces du genre *Ocimum* sont utilisées comme médicaments à travers le monde:

- La pulpe de la plante sert à frictionner des personnes atteintes de rhumatisme ;
- Les feuilles crues, mélangées avec du sel, du piment et de l'eau, donnent une potion à effet violent utilisée pour résoudre les problèmes d'hernies étranglées;
- Les feuilles, infusées dans de l'eau, sont utilisées comme calmant des coliques ;
- La décoction des feuilles est utilisée en injections vaginales pour traiter les vaginites d'origine diverses, et, en boisson, contre les urétrites gonococciques;
- On brûle les feuilles séchées pour chasser les moustiques;
- Contre les céphalées, on applique sur le front des feuilles fraîches froissées;
- Le suc des feuilles fraîches, en instillations oculaires, guérirait la conjonctivite. En instillations nasales, il est employé contre le rhume et les maux de tête ;
- Les graines, en décoction, sont employées contre la blennorragie ;
- Les feuilles sont utilisées contre les infections cutanées causées par les champignons chez les enfants ;
- La décoction des racines est utilisée comme sédatif pour enfants.

Au vue des différents usages de cette plante, les chimistes ont effectué des recherches approfondies pour isoler les composés responsables de ces activités.



## 1.3 TRAVAUX CHIMIQUES ANTÉRIEURS SUR LE GENRE *OCIMUM*

Les études faites jusqu'ici sur les plantes du genre *Ocimum* ont conduit à l'isolement et la caractérisation des huiles essentielles et d'autres métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les stérols, les acides gras, les monoterpènes, les sesquiterpènes et les triterpènes.

### 1.3.1 Les composés phénoliques

#### 1.3.1.1 Définition et activités biologiques

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction: éther, ester, hétéroside (Bruneton, 1993).

L'Eugémol est doté d'activités antimicrobiennes, antiseptiques et anesthésiantes. Il protège les graines conservées contre la contamination par le *sitophilus granarius*. Il est utile dans le traitement de la tuberculose et pour les préparations dentaires (pâtes dentifrices). (Kamtchueng, 2003)

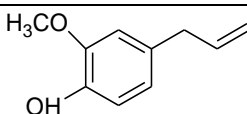
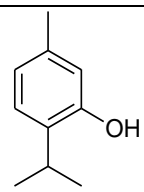
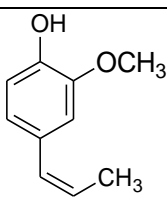
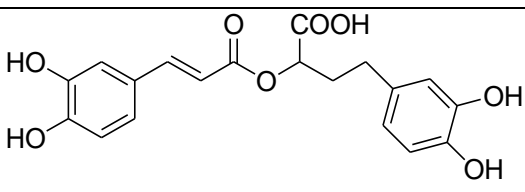
Le Thymol a une activité anti-oxydante et réduit la contamination des grains de maïs par *Aspergillus flavus*. (Kamtchueng, 2003)

L'acide rosmarinique, est doté d'une activité anti-oxydante et antimicrobienne. (Kamtchueng, 2003)

#### 1.3.1.2 Quelques composés phénoliques isolés des plantes du genre *Ocimum*

Les composés phénoliques sus-cités et contenus dans le tableau ci-dessous (**tableau 1**) ont été isolés des plantes du genre *Ocimum*.

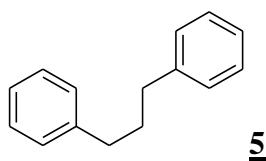
**Tableau 1 : Quelques composés phénoliques isolés des plantes du genre *Ocimum***

Structures et noms	Origines	Références
 Eugémol <span style="float: right;"><u>1</u></span>	<i>O. gratissimum</i> <i>O. suave</i>	Kamtchueng, 2003 ; Khosla et al., 1989
 Thymol <span style="float: right;"><u>2</u></span>	<i>O. gratissimum</i> <i>O. viride</i>	
 Isoeugémol <span style="float: right;"><u>3</u></span>	<i>O. gratissimum</i>	Khosla et al., 1989
 Acide rosmarinique <span style="float: right;"><u>4</u></span>	<i>O. basilicum</i>	(Kamtchueng, 2003)

### 1.3.2 Les flavonoïdes

#### 1.3.2.1 Définition et activités biologiques

Les flavonoïdes sont des composés dont le squelette de base à 15 atomes de carbones. Ils ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même précurseur de base caractérisé par un enchainement C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> correspondant à un diphenylpropane. (Kamdem, 2000; Kapche, 2000)



**5 : Squelette des flavonoïdes**

Ce sont des pigments présents dans la quasi-totalité des végétaux et constituent donc une grande classe de composés phénoliques très répandue dans le règne végétal. (Bruneton, 1999)

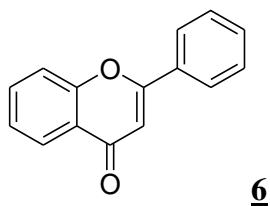
Les composés de cette classe présentent plusieurs activités biologiques. Nous pouvons citer entre autres les activités antimicrobiennes, antioxydantes, et cytotoxiques (Akroum, 2011); les propriétés vasculoprotectrices, anti-hématotoxiques, anti-inflammatoires et même anti-tumorales. (Ghedira, 2005)

### 1.3.2.2 Quelques flavonoïdes isolés des plantes du genre *Ocimum*

Les flavonoïdes sont constitués de plusieurs classes de composés parmi lesquels les flavones, les flavonones et les flavanes. (Kamdem et al., 2000)

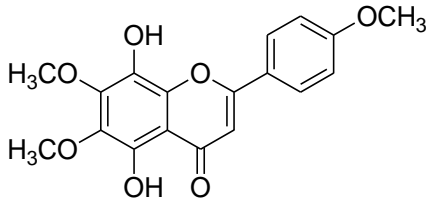
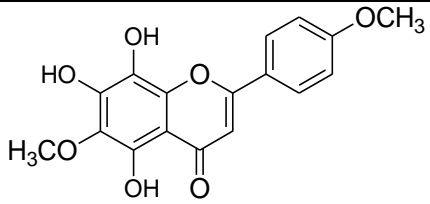
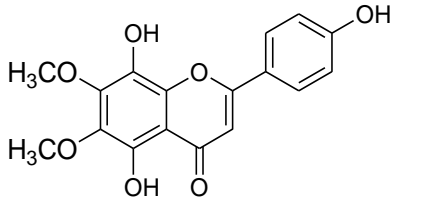
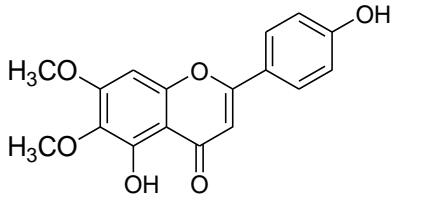
Seul les flavones ont jusqu'ici été isolés des plantes du genre *Ocimum*.

Le squelette des flavones est le suivant:



**6 : Squelette des flavones**

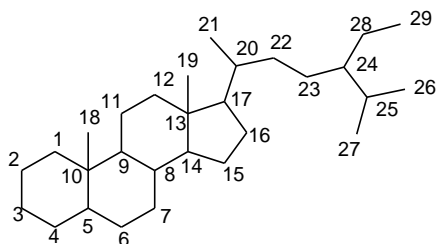
**Tableau 2 : Quelques flavones isolés des plantes du genre *Ocimum***

Structures et noms	Origines	Références
 <p>Pedunculine <u>7</u></p>	<i>O.américanum</i>	Grayer et al., 2001
 <p>Pilosine <u>8</u></p>	<i>O. pilosum</i>	Kamtchueng, 2003
 <p>Isothymusine <u>9</u></p>	<i>O. gratissimum</i>	Grayer et al., 2001
 <p>Salvigenine <u>10</u></p>	<i>O.américanum</i>	Viera et al., 2003

### 1.3.3 Les stérols

#### 1.3.3.1 Définition et activités biologiques

Un stérol est un lipide possédant un noyau de stérane dont le carbone 3 est porteur d'un groupe hydroxyle. La structure de base comprend trois cycles condensés à 6 atomes de carbones et un cyclopentane avec une chaîne latérale rattachée au carbone 17 du noyau perhydrocyclopentanophénanthrène; Le plus répandu est le cholestérol.

**11****11: Squelette de base des stérols**

Les stérols jouent des rôles très importants. Nous avons entre autres:

- Dans les voies digestives, les phytostérols inhibent l'absorption du cholestérol en se fixant sur ses transporteurs intestinaux, ce qui permet de réduire son absorption. (Verges, 2009) et (Law, 2000)
- Certains dérivés mono ou dihydroxylés du cholestérol ont présenté des activités anti-tumorales sélectives à des concentrations micromolaires sur des cellules cultivées *in vitro*. (Beek et al., 1988)

**1.3.3.2 Quelques stérols isolés des plantes du genre *Ocimum***

Les stérols isolés des plantes du genre *Ocimum* sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 3 : Quelques stérols isolés des plantes du genre *Ocimum***

Structures et noms	Origine	Références
<p><math>\beta</math>-sitostérol <b>12</b></p>	<i>O. suave</i>	Kamtchueng, 2003
<p>Stigmastérol <b>13</b></p>		Chogo, 1981; Kamtchueng, 2003



### 1.3.4 Les acides gras

#### 1.3.4.1 Définition et activités biologiques

Les acides gras sont des acides carboxyliques à longues chaînes carbonées possédant deux têtes: une tête hydrophyle et une tête hydrophobe.

Les acides gras révèlent un effet protecteur contre les troubles mentaux chez les rats. (Kamtchueng, 2003)

#### 1.3.4.2 Quelques acides gras isolés des plantes du genre *Ocimum*

Les acides gras contenus dans le tableau suivant ont été isolés des plantes du genre *Ocimum*

**Tableau 4 : Quelques acides gras isolés des plantes du genre *Ocimum***

Structures et noms	Origines	Références
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ Acide oléique <b><u>14</u></b>	<i>O. sanctum</i>	Sigh et al., 1996
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$ Acide stéarique <b><u>15</u></b>		
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$ Acide linoléique <b><u>16</u></b>	<i>O. suave</i> <i>O. sanctum</i>	Kamtchueng, 2003 Sigh et al., 1996
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ $\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ Acide linoléique <b><u>17</u></b>		
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ Acide palmitique <b><u>18</u></b>		

### 1.3.5 Les monoterpènes

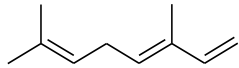
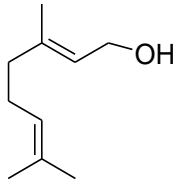
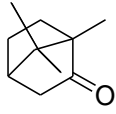
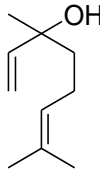
#### 1.3.5.1 Définition et activités biologiques

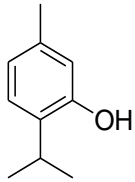
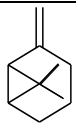
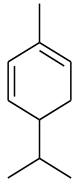
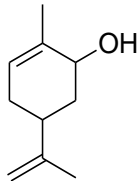
Ce sont des composés volatils, souvent d'odeur agréable et qui se retrouvent dans la majorité des huiles essentielles. (Bruneton, 1993)

Les monoterpènes sont des stimulants et par conséquent agissent sur le système vasculaire et sur les glandes exocrines. Ce sont des stimulants de la glande endocrine; ils sont antalgiques (par voie transcutanée) et antiseptiques (par voie anale). (Lamarti et al., 1994)

#### 1.3.5.2 Quelques monoterpènes isolés des plantes du genre *Ocimum*

Tableau 5: Quelques monoterpènes isolés des plantes du genre *ocimum*

Structure et noms	Sources	Références
 Ocimène <u>19</u>	<i>O. basilicum</i>	Lamarti et al., 1994
 Géraniol <u>20</u>		
 Camphre <u>21</u>	<i>O. basilicum</i> <i>O. gratissimum</i>	Bruneton, 1993 ; Paupin et al., 1980
 Linalol <u>22</u>	<i>O. basilicum</i> <i>O. suave</i> <i>O. gratissimum</i>	Lamarti et al., 1994 ; Manns, 1995

 Thymol <span style="float: right;"><u>23</u></span>	<i>O. gratissimum</i>  <i>O. suave</i>  <i>O. viride</i>	Kamtchueng, 2003 ;  Bruneton, 1993
 β – pinène <span style="float: right;"><u>24</u></span>		
 Phéllanodrène <span style="float: right;"><u>25</u></span>	<i>O. gratissimum</i>  <i>O. suave</i>  <i>O. viride</i>	Kamtchueng, 2003 ;  Khosla et al., 1989
 Carvéol <span style="float: right;"><u>26</u></span>		

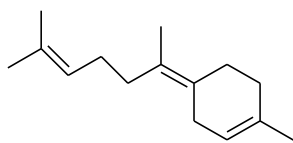
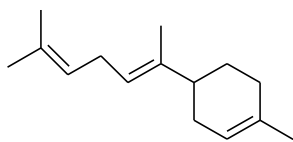
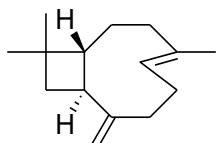
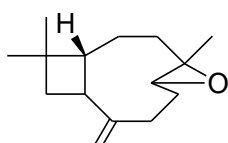
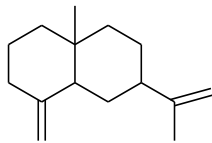
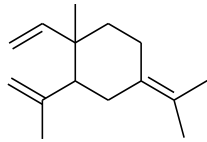
### 1.3.6 Les sesquiterpènes

#### 1.3.6.1 Définition et activités biologiques (Lamarti et al., 1994)

Ce sont des composés à trois unités isopréniques formant un enchainement acyclique simple et condensé.

Les sesquiterpènes sont des anti-inflammatoires et sont recommandés lors des crises d'asthme; ces molécules sont irritantes pour la peau et néphrotoxiques (effet toxique sur les reins).

1.3.6.2 Quelques sesquiterpènes isolés des plantes du genre *Ocimum*Tableau 6: Quelques sesquiterpènes isolés des plantes du genre *Ocimum*

Structures et noms	Origines	Références
 <p><math>\gamma</math>-bisabolène <u>27</u></p>	<i>O. basilicum</i>	Verscheur et al., 2002
 <p><math>\alpha</math>-bisabolène <u>28</u></p>		
 <p>Caryophyllène <u>29</u></p>	<i>O. basilicum</i> <i>O. gratissimum</i> <i>O. suave</i> <i>O. viride</i>	Kamtchueng, 2003 ; Khosla et al., 1989 ; Verscheur et al., 2002
 <p>Oxyde Caryophyllène <u>30</u></p>	<i>O. gratissimum</i> <i>O. suave</i> <i>O. viride</i>	
 <p><math>\beta</math>-sélinène <u>31</u></p>	<i>O. suave</i>	Kamtchueng, 2003  Khosla et al., 1989
 <p><math>\beta</math>-élemène <u>32</u></p>		

### 1.3.7 Les triterpènes

#### 1.3.7.1 Définition et activités biologiques

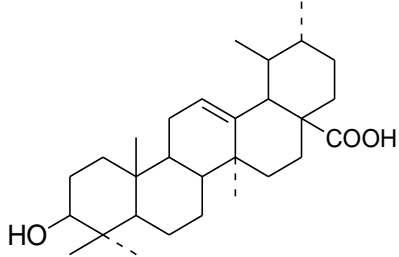
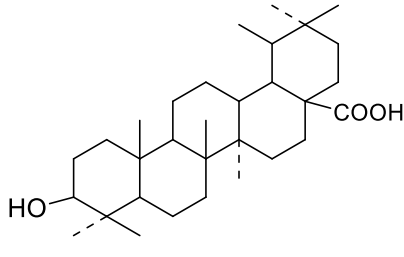
Les triterpènes constituent une classe de métabolites secondaires renfermant dans leurs squelettes de base une trentaine d'atomes de carbone. La formule de base des triterpènes est  $C_{30}H_{48}$ ; selon le nombre de cycles, ces métabolites sont regroupés en triterpènes monocycliques, bicycliques, tricycliques, tétracycliques et pentacycliques ; cette dernière catégorie est isolée des plantes du genre *Ocimum* (Souad, 2009).

Sur le plan biologique, les triterpènes pentacycliques favorisent la germination, la croissance, le développement et la défense des plantes contre certaines agressions extérieures. (Wansi, 2000).

Ils présentent également les potentialités hormonales et immunomodulantes (Rios, 2010); des propriétés anticancéreuses (Laszczyk, 2009); des activités anti-inflammatoires, antifongiques, antitumorales; des propriétés antibactériennes et antivirales (Bok et al., 1999).

#### 1.3.7.2 Quelques triterpènes pentacycliques isolés des plantes du genre *Ocimum*

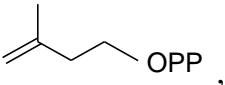
**Tableau 7: Quelques triterpènes pentacycliques isolés des plantes du genre *Ocimum***

Structures et noms	Origines	Références
 <p>Acide ursolique <span style="float: right;"><u>33</u></span></p>	<i>O. sanctum</i>	Kamtchueng, 2003
 <p>Acide oléanolique <span style="float: right;"><u>34</u></span></p>	<i>O. gratissimum</i> <i>O. suave</i>	

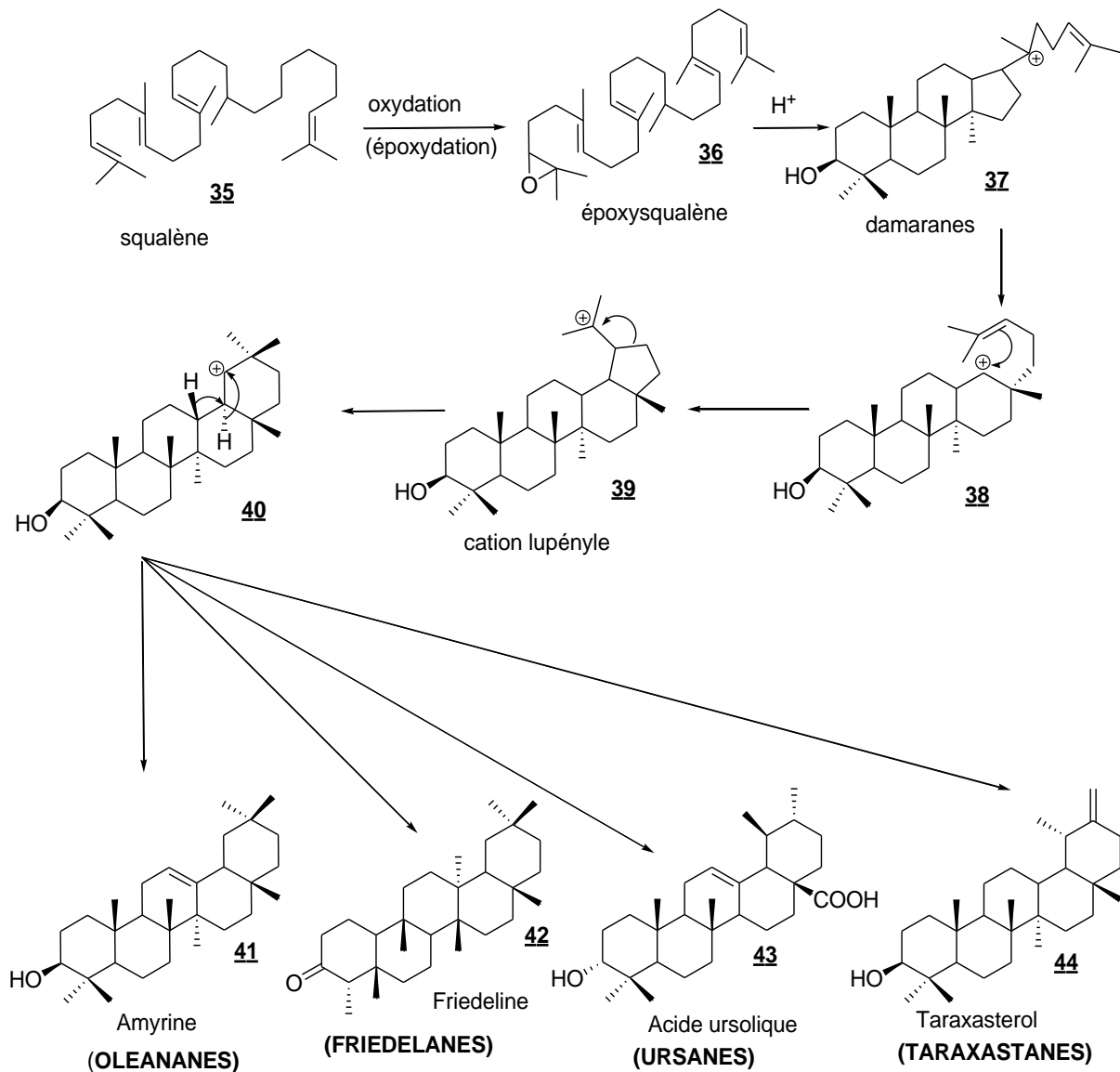
### 1.3.7.3 Biosynthèse des triterpènes

En général la biosynthèse des triterpènes se fait en trois étapes: la synthèse de l'isopentenylpyrophosphate (IPP), la condensation des unités isopréniques et la cyclisation du squalène suivie des modifications secondaires comme dernière phase (Bruneton, 1993)

- **Synthèse de l'IPP** : Elle est faite par la voie de l'acide mévanolique suite à la condensation successive de trois molécules d'acétyl-coenzyme A, et aboutit à la

formation de l'IPP de formule ,

- **Condensation des unités isopréniques** : Elle conduit à la formation des différents types de triterpènes dont le triterpène linéaire (squalène);
- **Cyclisation du squalène**: Elle permet d'obtenir, à partir des différentes conformations que peut adopter le substrat acyclique d'une part, et les différentes interactions enzyme/substrat dans le site actif d'autre part (Brown, 1998)



**Schéma 1: Cyclisation du squalène en triterpènes pentacycliques**

➤ **Les modifications secondaires :** Elles peuvent porter sur le squalène (35) ou sur les dérivés cyclisés, et sont en général des oxydations, des éliminations ou l'addition d'autres classes de composés (sucres et autres) ou groupements fonctionnels.

#### 1.3.7.4 Caractéristiques spectroscopiques des triterpènes

L'élucidation de la structure des triterpènes se fait essentiellement au moyen des techniques usuelles telles que la spectrométrie de masse, RMN  $^1H$ , RMN  $^{13}C$  soutenue par leurs variantes à deux dimensions (COSY, HMBC, NOESY, etc).

#### 1.3.7.4.1 La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse permet de proposer à partir de quelques pics caractéristiques observés sur le spectre, le squelette des triterpènes, la position de la double liaison ainsi que la nature des substituants (Mahato, 1994).

#### 1.3.7.4.2 La résonance magnétique nucléaire du proton

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  des triterpènes pentacycliques sont très caractéristiques. Ils permettent facilement de distinguer les dérivés de l'oléanane, de l'ursane et du lupane (Cheung et al., 1969)

En effet, les dérivés de l'oléanène et de l'ursène présentent généralement en RMN  $^1\text{H}$ , un large triplet entre 5,1 et 5,5 ppm, avec une constante de couplage de l'ordre de 3 Hz caractéristique du proton vinylique H-12. Dans le cas des lupènes, on a généralement un singulet de deux protons entre 4,2 et 5 ppm caractéristiques de deux protons vinyliques portés par le carbone 29 (Cheung et al., 1969)

Les signaux des méthyles souvent groupés entre 0,5 et 2,0 ppm permettent de différencier les types de squelette des triterpènes pentacycliques par exemple, les triterpènes non oxydés des séries oléan-12-ène et lup-20(29)-ène présentent respectivement 8 et 7 singulets attribuables à 8 et 7 méthyles tertiaires, alors que ceux de la série urs-12-ène présentent 6 singulets et 6 doublets attribuables respectivement à 6 méthyles tertiaires et 2 méthyles secondaires (Doddred et al., 1974)

#### 1.3.7.4.3 La résonance magnétique du carbone-13

L'utilisation des données de la RMN  $^{13}\text{C}$  permet de distinguer les séries urs-12 ène et oléan-12-ène. En effet, ces séries peuvent être différenciées de deux manières : par le nombre d'atomes de carbone et par les déplacements chimiques des carbones vinyliques ; les carbones 12 et 13 des dérivés de l'urs-12-ène résonnent à 122,5 et 139,5 ppm et ceux d'oléan-12-ène résonnent à 122,5ppm (d) et 144,5 ppm (s) (Doddred et al., 1974)

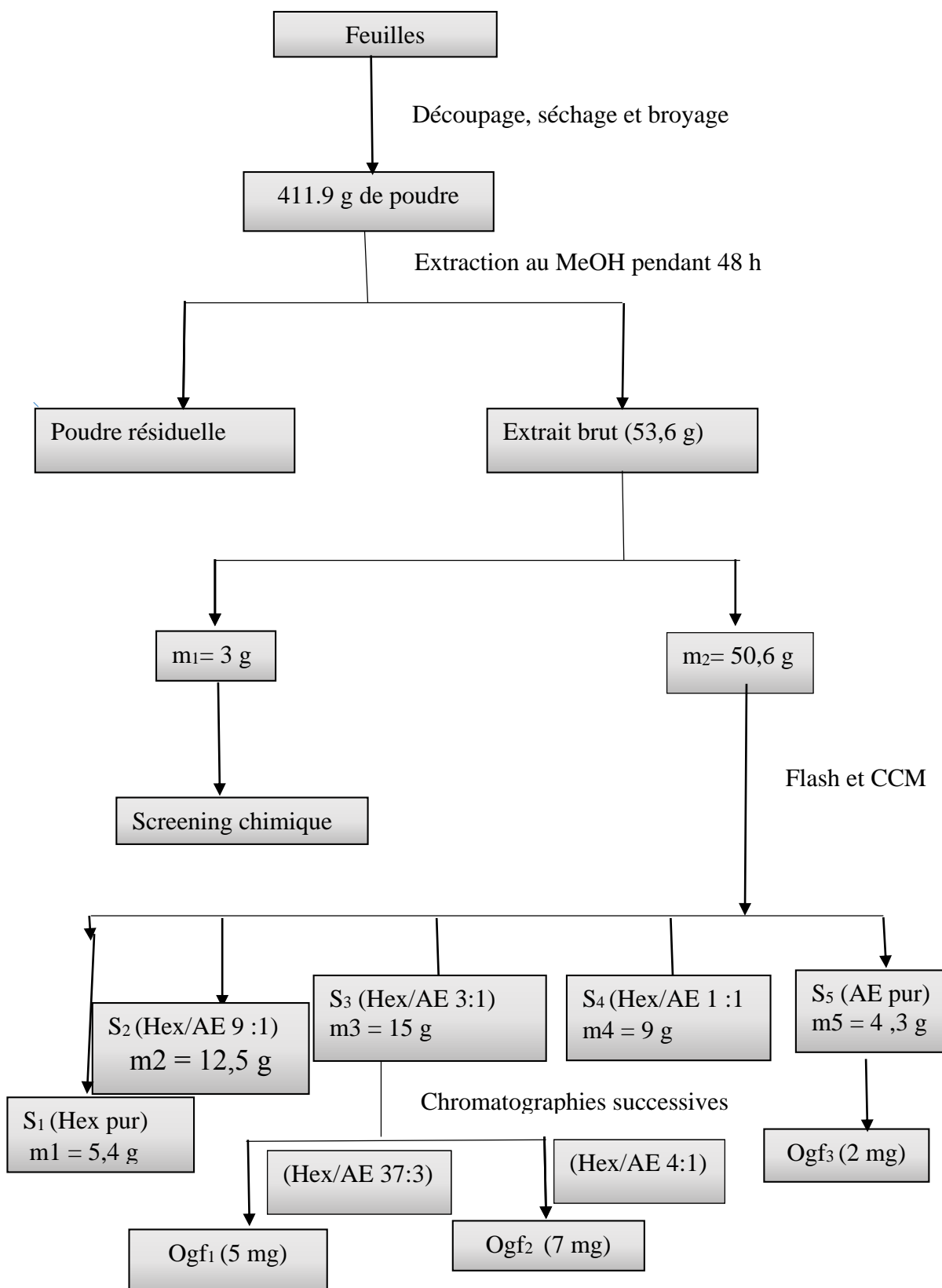


## **Chapitre 2 : RÉSULTATS ET DISCUSSION**

## 2.1 INTRODUCTION

Les feuilles d'*Ocimum gratissimum* ont été récoltées le 10 Mars 2015 dans le Département du Mounjo, Région du Littoral-Cameroun, et plus précisément dans l'Arrondissement de Manjo.

La poudre obtenue (411,9 g) a été macérée à température ambiante au méthanol pendant 48 heures. L'extrait obtenu, **53,6 g**, a été divisé en deux parties dont 3 g utilisés pour les tests biologiques et 50,6 g ont subi une chromatographie flash au système d'élution Hex/AE de polarité croissante. Sur la base de la CC à gel de silice et de la CCM, nous avons pu isoler trois composés indexés Ogf<sub>1</sub>, Ogf<sub>2</sub>, Ogf<sub>3</sub>, selon le protocole d'extraction, d'isolement et purification suivant :



**Schéma 2: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles d'*Ocimum gratissimum*.**

Deux de ces composés ont été caractérisés en utilisant les données de la littérature et spectrales (RMN <sup>13</sup>C et RMN <sup>1</sup>H, DEPT et spectrométrie de masse); il s'agit de Ogf1 et Ogf2.

## 2.2 IDENTIFICATION STRUCTURALE DES COMPOSÉS ISOLÉS

### 2.2.1 Identification de Ogf<sub>1</sub>

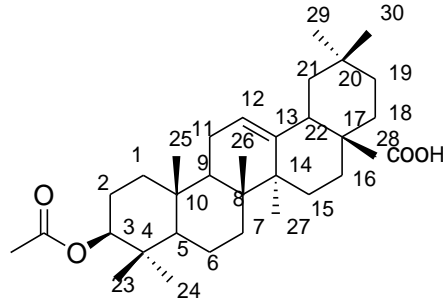
Le composé Ogf<sub>1</sub> précipite dans le mélange Hex/AE 9:1 sous forme de poudre blanche. Il est soluble dans le chloroforme; il réagit positivement au test de Libermann-Burchard en donnant une coloration rouge violacée caractéristique des triterpènes. L'analyse couplée de ses spectres RMN <sup>1</sup>H; RMN <sup>13</sup>C et DEPT a permis d'attribuer à Ogf<sub>1</sub> la formule brute C<sub>32</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub> renfermant huit insaturations.

Sur son spectre RMN <sup>1</sup>H (**figure 2**), on observe sept signaux de méthyle à 0,74; 0,79; 0,92; 0,93; 0,94; 1,0 et 1,12 ppm, un doublet dédoublé d'un proton chacun à 2,81 ppm (dd, J= 12,1; 3,0 Hz). On observe également un triplet mal résolu d'un proton à 5,30 ppm attribuable à un proton vinylique ; un singulet de trois protons à 2,04 ppm (3H, S) attribuable à un méthyle lié au carbonyle d'ester.

Sur son spectre RMN <sup>13</sup>C (150MHz, CDCl<sub>3</sub>) (**figure 3**) complètement découplé, on note la présence de 32 signaux de carbones. La comparaison de ce spectre avec celui du DEPT 135 permet de mettre en évidence huit méthyles à 15,3; 16,6; 17,1; 21,3; 23,5; 25,6; 28,0; et 33,0 ppm ; 10 méthylènes à 18,1; 23,4; 23,5; 27,6; 28,1; 32,8; 38,0, 32,4; 33,8; et 45,8; 5 méthynes à 41,5; 47,5; 55,3; 80,9; 122,5 ppm et 9 carbones quaternaires à 183,8; 171,0; 143,6; 46,5; 41,5; 38,0; 39,3; 30,6; et 37,0 ppm. Le signal à 80,9 ppm est attribuable à un oxyméthine. Les signaux à 122,5 et 143,6 ppm sont caractéristiques des carbones sp<sup>2</sup> d'un triterpène pentacyclique de la série des oléananes et ursanes (Mahato et Kundu, 1994)

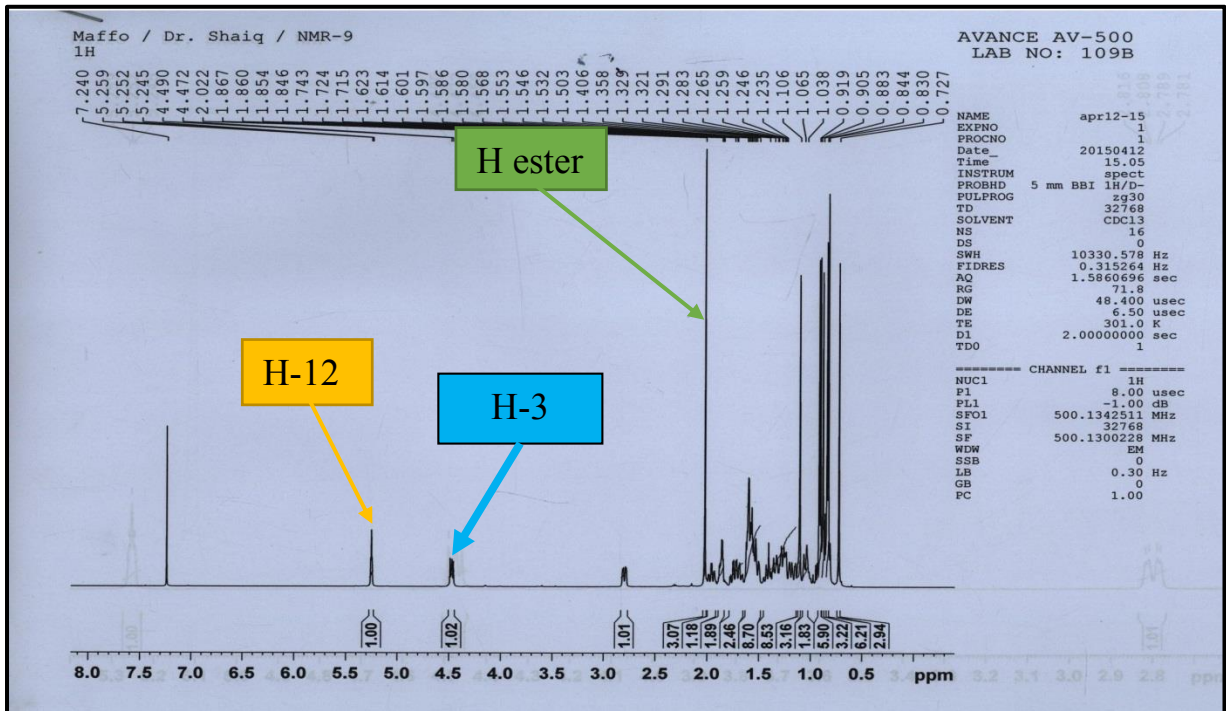
Sur son spectre HMBC (**figure 4**), on observe des taches de corrélation entre les protons à 2,81 ppm attribuable au proton oléfinique et les carbones à 183,8; 143,6; 122,5 et 46,5 ppm; le proton à 4,50 ppm attribuable au proton de l'oxyméthine et les carbones à 171,1; 38,0; 28,0 et 16,6 ppm. Ces informations nous renseignent sur le voisinage de ces protons.

L'ensemble de ces données spectrales, comparées à celles décrites dans la littérature nous permettent d'attribuer à Ogf<sub>1</sub> la structure **45** qui est celle de l'**acide 3β- accétoxy-oléan-12-èn-28-oïque** ou **acide 3β- acétyloléanolique**.



**45**

**45 : Acide 3β- acétyléanolique**



**Figure 2 : Spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Ogf<sub>1</sub>**

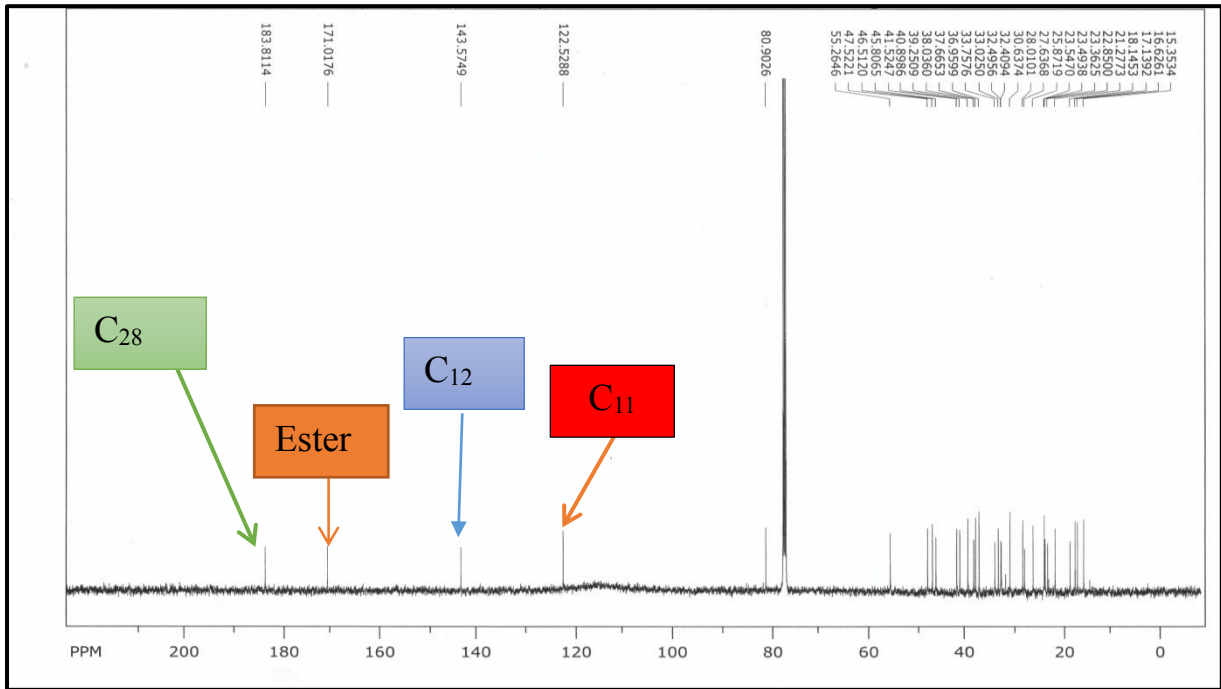


Figure 3 : Spectre RMN <sup>13</sup>C (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Ogf<sub>1</sub>

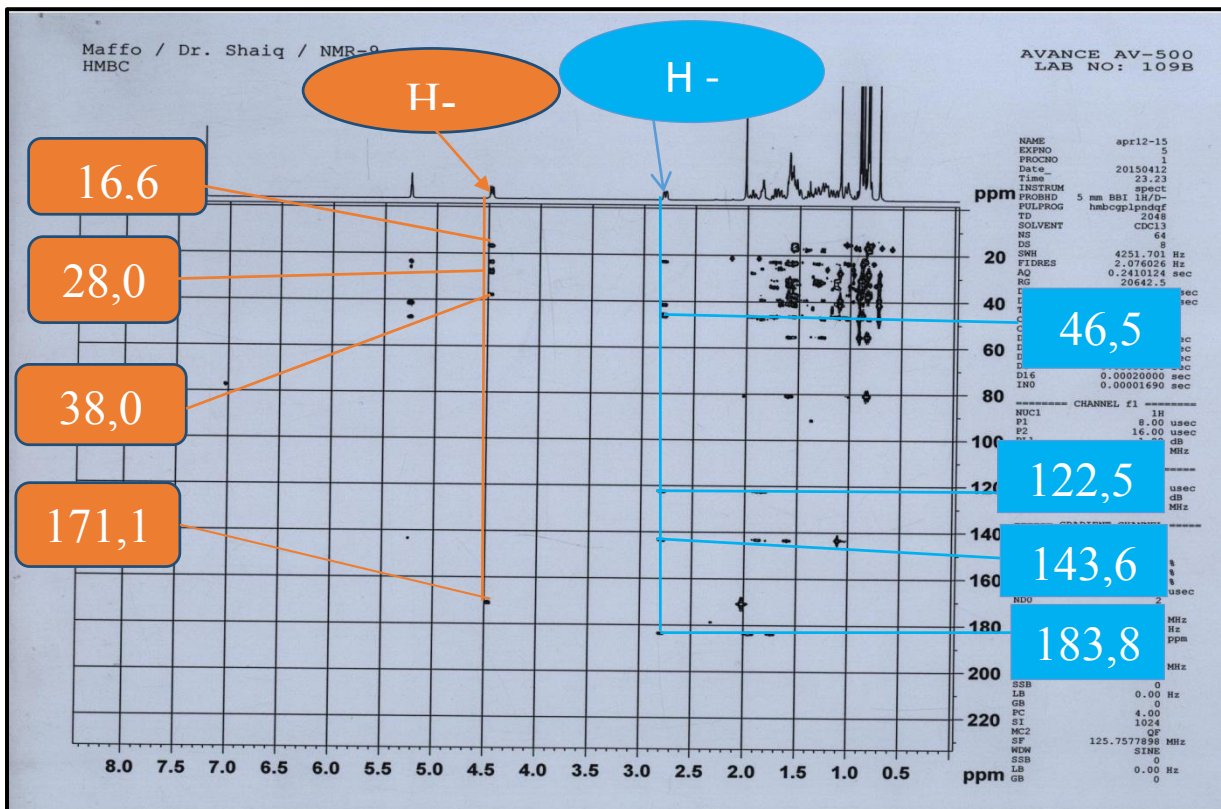


Figure 4 : Spectre HMBC (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Ogf<sub>1</sub>

**Tableau 8: Données spectrales comparatives de RMN <sup>13</sup>C (125MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Ogf<sub>1</sub> et de celles de la littérature (Mc Lean et al., 1987)**

Position	Ogf <sub>1</sub> (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	Acétate de 3β-amyrine
1	38,0	38,5
2	27,6	27,4
3	80,9	81,1
4	38,0	38,7
5	55,3	55,2
6	18,1	18,3
7	33,0	32,6
8	39,3	39,3
9	47,5	47,6
10	37,0	37,0
11	23,4	23,1
12	122,5	122,1
13	143,6	143,4
14	41,5	41,6
15	27,6	27,7
16	23,5	23,4
17	46,5	46,6
18	41,5	41,3
19	45,8	45,8
20	30,6	30,6
21	33,8	33,8
22	32,4	32,3
23	28,0	28,1
24	16,6	15,6
25	15,3	15,3
26	17,1	16,8
27	25,9	26,0
28	183,3	28,4
29	33,0	33,1
30	23,5	23,6
CH <sub>3</sub> COO	171,0 ; 21,3	171,0 ; 21,3

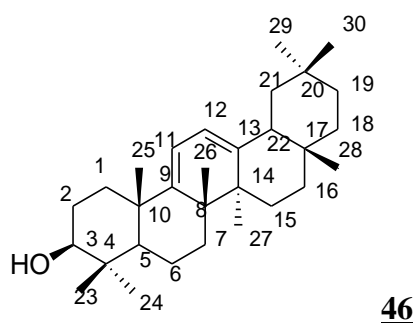
## 2.2.2 Identification du composé Ogf<sub>2</sub>

Le composé Ogf<sub>2</sub> se présente sous forme de poudre blanche dans le mélange hexane acétate d'éthyle 4:1. Il est soluble dans le chloroforme et donne une coloration rouge violacée en présence du réactif de Liebermann- Burchard Caractéristique des triterpènes. Le spectre de masse en Impact Électronique (**Figure 5**) présente le pic de l'ion moléculaire à  $m/z = 424,2$ . Cette donnée couplée à l'analyse des spectres RMN permettent d'attribuer à Ogf<sub>2</sub> la formule brute C<sub>30</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub> renfermant 9 degrés d'insaturations.

Sur son spectre de RMN<sup>1</sup>H (**Figure 6**), on note la présence d'un doublet dédoublé à 3,22 ppm (1H, dd, J = 4,4; 11,2 Hz) attribuable au signal d'un oxyméthine en position 3 des triterpènes, les signaux de 2 protons oléfiniques à 5,57 (1H, d, J = 6,0 Hz) et 5,43 ppm (1H,d, J = 6,0 Hz); la présence de huit signaux de méthyles à 0,78 (3H, d, J = 2,0Hz); 0,79; 0,84; 0,87; 0,91; 1,01; 1,15 et 1,19 ppm;

Sur son spectre HMBC (**Figure 7**), couplé au spectre HSQC, on note la présence des taches de corrélations importantes entre le proton à 5,43/122,5 et les carbones à 154,2; 115,1; 57,3; 40,2 et 17,4 ppm; le proton à 5,57/115,1 et les carbones à 140,9; 154,2; 122,5; 38,8 et 42,9 ppm; le proton de l'oxyméthine à 3,24/78,6 et les carbones à 15,2; 27,9 et 38,8 ppm; le proton du méthyle à 0,84/21,2 et les carbones à 140,9; 39,2 et le méthyle à 1,15/22,0 et le carbone à 154,2 ppm; le méthyle à 1,19/25,4 et le carbone à 154,2 ppm. Il ressort de ce corrélation que les protons H 11 et H 12 sont portés par les carbones vicinaux c'est à dire les carbones directement liés.

Toutes ces données spectrales comparées à celles de la littérature ont permis d'attribuer à Ogf<sub>2</sub> la structure **46** qui est celle de la **3β- hydroxyoléan-9, 12-diène** isolé pour la première fois de *Phyllanthus flexuosus* en 1988 par Tanaka et al.



**46** : 3β- hydroxyoléan-9, 12-diène



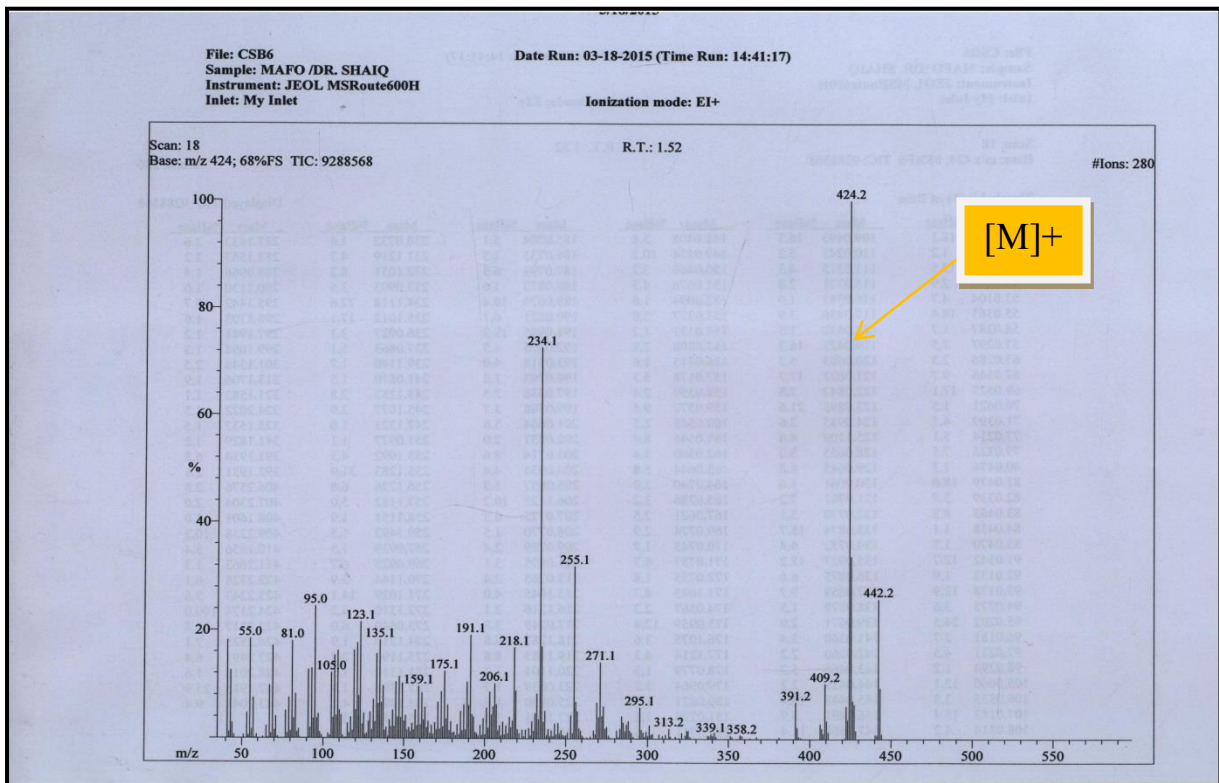


Figure 5: Spectre de masse IE de Ogf<sub>2</sub>

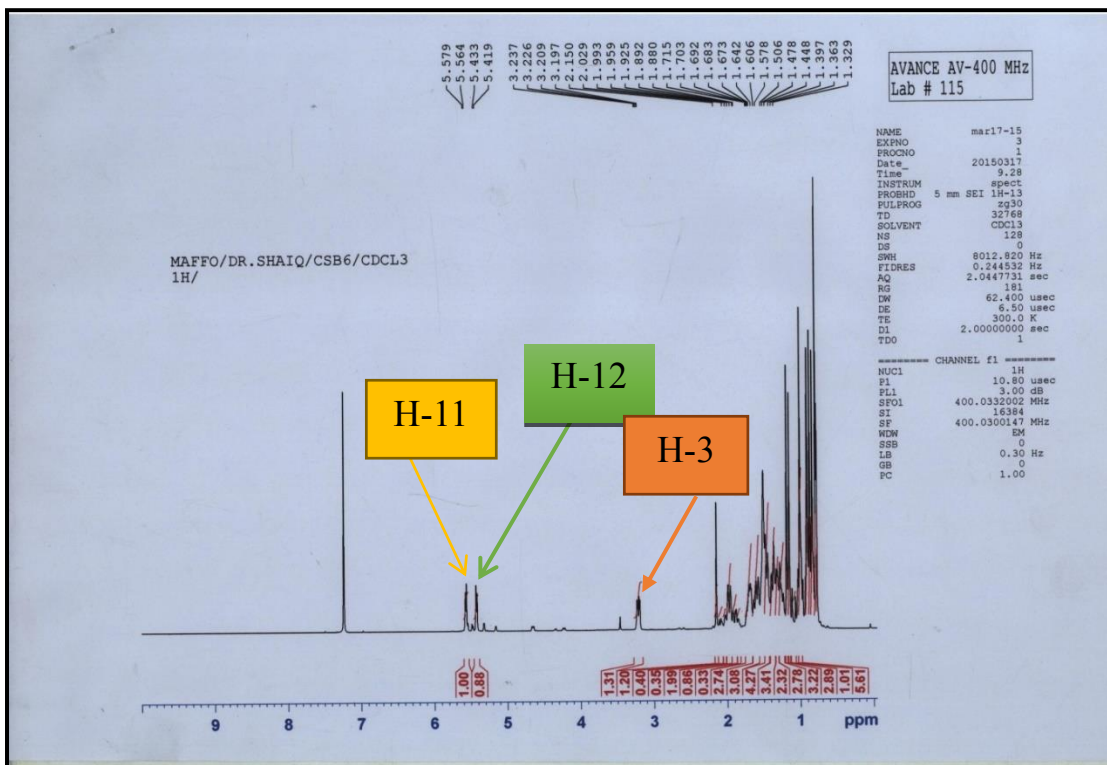


Figure 6: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Ogf<sub>2</sub>

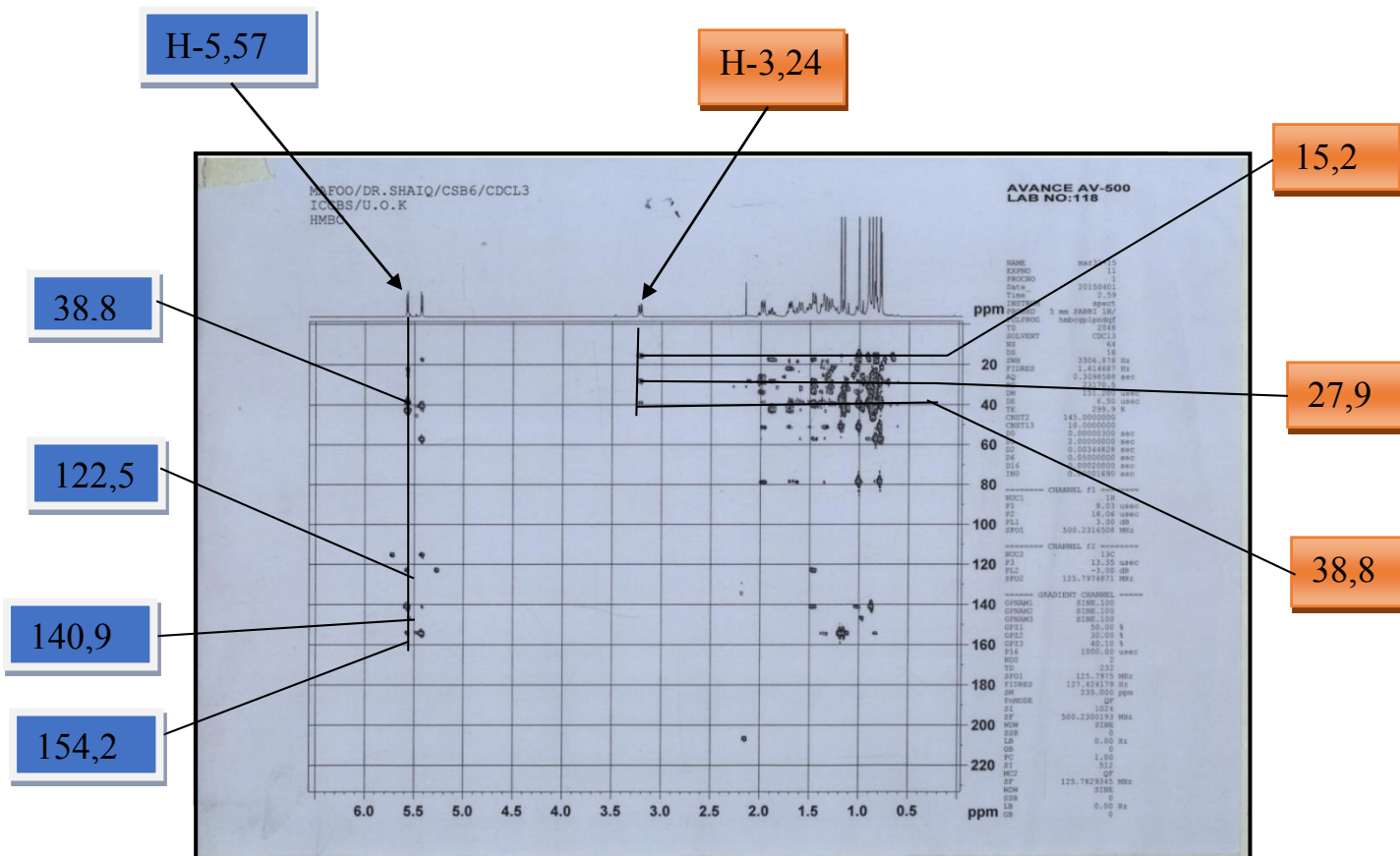


Figure 7: Spectre HMBC (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Ogf<sub>2</sub>

**Tableau 9: Données spectrales de RMN <sup>13</sup>C (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Ogf<sub>2</sub>**

Position	Ogf <sub>2</sub> (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> )
1	15,2
2	27,9
3	78,6
4	38,8
5	57,3
6	17,4
7	33,0
8	39,3
9	121
10	37,0
11	140,9
12	122,5
13	154,2
14	41,5
15	27,6
16	23,5
17	46,5
18	41,5
19	45,8
20	30,6
21	33,8
22	32,4
23	28,0
24	16,6
25	15,3
26	17,1
27	25,4
28	24,5
29	33,0
30	22,0

## 2.3 INTÉRÊT PÉDAGOGIQUE

Dans cette partie, nous essayons d'établir un lien entre le présent mémoire et son apport dans notre future carrière d'enseignant.

L'élaboration du présent mémoire est un exercice fastidieux comportant plusieurs étapes : poser le problème, trouver l'hypothèse de recherche, rechercher la documentation en fonction du problème à résoudre, planifier les procédures appropriées en vue d'une expérimentation et enfin rédiger le document qui comportera quatre parties à savoir la revue de la littérature, les résultats et discussions, la partie expérimentale, la conclusion et perspectives.

Chacune de ces parties contribue favorablement à l'amélioration de la didactique auprès du futur enseignant notamment ;

- **Dans la revue de la littérature** qui trouve son impact sur la préparation d'une leçon pour un enseignant moderne, et où il est impératif de maîtriser l'essentiel des techniques de recherche bibliographique ; de développer une grande capacité de synthèse et de regroupement des informations acquises lors de la rédaction de cette partie.
- **Dans les résultats et discussions** qui renforcent les connaissances théoriques de l'enseignant, car ils constituent un exercice de comparaison entre la littérature et les résultats obtenus. Ils éliminent en particulier chez l'enseignant, certaines ambiguïtés rencontrées sur les propriétés physiques (couleur, nature, forme, etc.) de certains produits.
- **La partie expérimentale**, a son apport sur la mise en œuvre d'une leçon de travaux pratiques. cette partie permet au futur enseignant de s'imprégner des techniques de laboratoire (extraction, distillation, chromatographie etc.).
- **La conclusion et perspectives**, montre à l'enseignant l'importance de l'évaluation et surtout de vérifier à la fin d'une leçon si les objectifs ont été atteints. Dans cette partie, on doit rappeler les objectifs généraux et dire s'ils sont atteints.

## 2.4 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'étude au méthanol des feuilles de *Ocimum gratissimum* a conduit à l'isolement et la caractérisation de trois composés indexés Ogf<sub>1</sub>, Ogf<sub>2</sub> et Ogf<sub>3</sub> au moyen des méthodes chromatographiques usuelles (chromatographie flash, CC, CCM, etc.).

Les techniques spectroscopiques (RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, RMN 2D) nous ont permis d'identifier les composés Ogf<sub>1</sub> à l'**acide acetyloléanolique** et Ogf<sub>2</sub> au **3β- hydroxyoléan-9, 12-diène** ; leurs structures ont été confirmées en comparant leurs données physiques et spectrales à celles décrites dans la littérature.

Ogf<sub>3</sub> est en cours d'analyse.

Malgré les difficultés rencontrées, nous pouvons dire que notre objectif qui était celle de contribuer à une meilleure chimiotaxonomie de l'espèce *Ocimum gratissimum*, a été partiellement atteint. Les composés que nous avons isolés ont des propriétés thérapeutiques très variées, à l'instar de l'**acide acetyloléanolique** et de **3β- hydroxyoléan-9, 12-diène** qui sont très utilisés pour leurs propriétés antibactériennes, cytotoxiques, antitumorales, anti-inflammatoires et hépatoprotectrices (Liu, 1995; Taponjou et *al.*, 2002).

Nous souhaitons dans la suite de nos travaux de recherche, parachever l'élucidation de la structure du dernier composé (Ogf<sub>3</sub>), et soumettre l'ensemble des composés isolés aux tests biologiques, dans le but de vérifier leur degré de toxicité. Il faudra ensuite étudier les fractions restantes, dans le but de confirmer ou d'infirmer les propriétés médicinales attribuées à cette plante, afin de recommander ou proscrire son usage à la population locale.

## **Chapitre 3 : PARTIE EXPÉRIMENTALE**

## 3.1 APPAREILLAGE ET MATÉRIEL VÉGÉTAL

### 3.1.1 Appareillage

Les masses des composés ont été mesurées à l'aide d'une balance électronique (COBOS-D-6000-SX) de précision 1/10.

La chromatographie sur colonne a été réalisée en utilisant un gel de silice de fabrication MERCK F<sub>254</sub> de type 60, de granulométrie 0.063-0.200 nm.

Les fractions ont été concentrées sur un évaporateur rotatif de type HEIDOLPH VV2000.

Les CCM ont été réalisées sur des feuilles d'aluminium recouvertes de gel de silice 60 (plaques préfabriquées de type MERCK, de dimensions 20x20 cm et d'épaisseur 0.2 mm).

Les spots en CCM ont été réalisés à l'UV sur l'appareil BENDA Ultraviolet strahler D-69168 Wiesloch opérant aux longueurs d'onde 254 et 366 nm, puis pulvérisés à la vapeur d'iode ou à l'acide sulfurique concentré suivi d'une calcination effectuée dans le dessiccateur de marque ADVANTAGE-LAB S /N : 09-04542.

Les spectres RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C ont été enregistrés sur un appareil de type BRUKER AVANCE opérant aux fréquences 500 MHZ et 150 MHZ, et les échantillons solubilisés dans le CDCl<sub>3</sub>. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au TMS comme référence interne, et les constantes de couplage sont exprimées en Hz.

### 3.1.2 Matériel végétal

Les feuilles d'*Ocimum gratissimum* ont été récoltées le 10 Mars 2015 dans la Région du Littoral-Cameroun, dans le Département du Mounjo et plus précisément dans l'Arrondissement de Manjo.

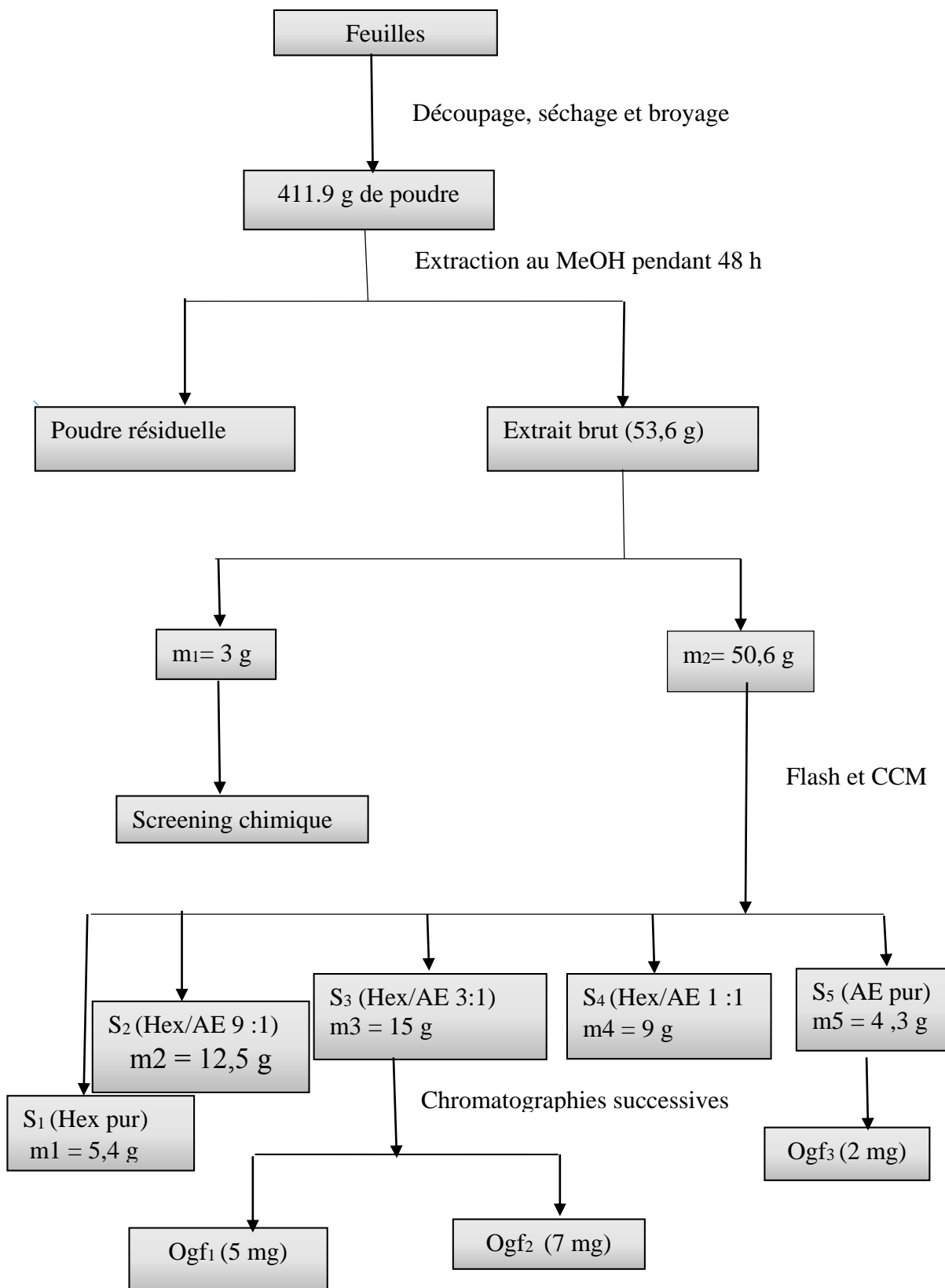
## 3.2 EXTRACTION ET ISOLEMENT DES PRODUITS

### 3.2.1 Extraction

Les feuilles d'*Ocimum gratissimum* récoltées, découpées, séchées et broyées ont donné une masse de 411,9 g de poudre. L'extraction effectuée par macération dans le méthanol pendant 48 heures et le filtrat obtenu concentré au rota-vapeur, séché sous une hotte, a donné une masse de 53,6 g d'extrait brute dont 3 g ont été prélevés pour effectuer les différents tests biologiques et 50,6 g soumis à une chromatographie flash et à la CCM.

L'élution nous a permis de regrouper cinq fractions indexées S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>. Après une CC sur gel de silice et une CCM, nous avons pu isoler les composés indexés Ogf<sub>1</sub> et Ogf<sub>2</sub> dans la fraction S<sub>3</sub> et Ogf<sub>3</sub> dans la fraction S<sub>5</sub>.





**Schéma 2 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles d'*Ocimum gratissimum*.**

### 3.2.2 Isolement des produits

L'extrait brut a été dissout dans le méthanol puis fixé sur 100 g de silice de diamètre 0,5 mm. Le mélange obtenu est soumis à une chromatographie flash sur gel de silice au système d'élution Hex/AE de polarité croissante, ce qui a permis d'obtenir cinq fractions comme l'indique le tableau ci-après :

**Tableau 10: Chromatogramme d'isolement et de purification des métabolites secondaires des feuilles d'*Ocimum gratissimum***

Système d'élution	Fractions	CCM + Observations	Série
Hexane pur	1-7	Présence d'au moins trois composés	S <sub>1</sub> m <sub>1</sub> = 5,4 g
Hex/AE (9:1)	9 - 12	Mélange de plusieurs composés ayant les R <sub>f</sub> proches	S <sub>2</sub> m <sub>2</sub> = 12,5 g
Hex/AE (3:1)	13 - 26	On observe deux composés ayant le même R <sub>f</sub> dont <b>Ogf<sub>1</sub></b> et <b>Ogf<sub>2</sub></b>	S <sub>3</sub> m <sub>3</sub> = 15 g
Hex/AE (1:1)	27 - 42	On obtient plusieurs composés	S <sub>4</sub> m <sub>4</sub> = 9 g
Hex/AE (6 :1)	43 - 52	On obtient un mélange de plusieurs composés	
Acétate d'éthyle pur	53 - 60	D'après la CCM, on a un minimum de quatre composés. dont <b>Ogf<sub>3</sub></b>	S <sub>5</sub> m <sub>5</sub> = 4,3 g

### 3.2.3 Traitement des fractions

- **Traitement de la série S<sub>3</sub>**

Les flacons 13-18 ont été exposés à température ambiante pendant 36 h ; la poudre blanche formée a été lavée à l'hexane puis filtrée et séchée. Soluble dans le chlorure de méthylène, elle présente sur une plaque CCM, une tache représentant le composé pur indexé Ogf<sub>1</sub>.

Les flacons 19-26 dans les mêmes conditions ont donné une poudre blanche soluble dans le chlorure de méthylène présentant sur une plaque CCM, une tache représentant le composé pur indexé Ogf<sub>2</sub>.

- **Traitement de la série S<sub>5</sub>**

Les flacons 53-57 ont donné à température ambiante, un composé soluble dans le chloroforme. Lavée et séchée dans l'hexane, il a l'aspect d'une poudre blanche. Ce composé présente une tache sur une plaque CCM, il est indexé Ogf<sub>3</sub>.

Le contenu des flacons 58-60 montre sur une plaque CCM, un mélange de trois composés.

## 3.3 CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSES ISOLÉS

### 3.3.1 Ogf<sub>1</sub> : Acide 3β-acétyloléanolique

État physique : poudre blanche

Formule brute : C<sub>32</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub>

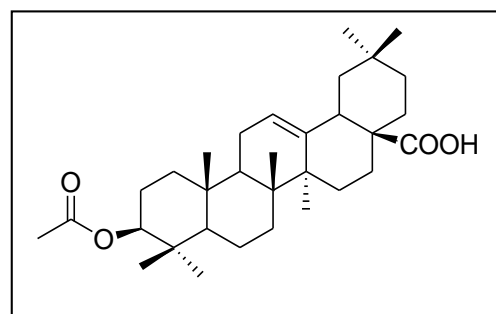
Nombre d'insaturation : 8

Masse molaire : 498 g/mol

Spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : voire fig.2

Spectre RMN <sup>13</sup>C (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : voire fig.3

Spectre HMBC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : voire fig.4



### 3.3.2 Ogf2: 3 $\beta$ - hydroxyoléan-9, 12-diène

État physique : poudre blanche

Formule brute : C<sub>30</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub>

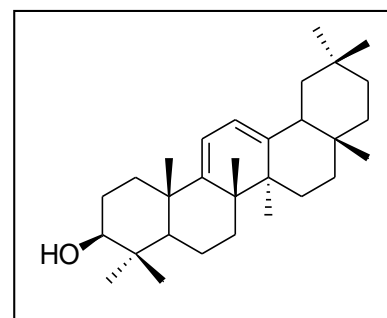
Nombre d'insaturation : 9

Masse molaire : 424,2 g/mol

Spectre de masse en IE : voire fig.5

Spectre de RMN H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : voire fig.6

Spectre HMBC (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : voire fig.7



### 3.4 TEST CARACTÉRISTIQUE DES TRITERPENES: TEST DE LIEBERMANN-BURCHARD

Dans un tube à essai contenant une petite quantité de l'extrait, on ajoute la même quantité de chloroforme et d'anhydride acétique, ensuite quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. L'apparition de la couleur rouge violacée montre la présence des triterpènes.

# BIBLIOGRAPHIE

**Akroum, 2011**, «Étude analytique et biologique des flavonoïdes naturels». Thèse de Doctorat; Université Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 55-57.

**Ango, 2006**, «Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale du Cameroun: *Gnetum africanum* (*Gnetaceae*)», Mémoire de DEA. Chimie Organique, Université de Yaoundé I, 1-17.

**Aromathérapie**, <https://www.phytonews.ch/fr/produkte.html>, pages consultées le 16 décembre 2015

**Beek; Crastes, 1988**, « Activités biologiques des oxystérols », Paris: Éditions INSERM, 11, 23-40

**Berhaut, 1975** « Flore illustrée du Sénégal » Gouvernement du Sénégal. Ministère du Développement Rural et de l'Hydraulique. Département des Eaux et Forêts Dakar. 4, 131-135

**Bok; Lermer; Chilton; Klingeman; Towers 1999**, "Antitumour sterols from the mycelia of *cordiceps sinensis*". *Phytochemistry*. 2, 891-898

**Brown, 1998**, "The biosynthesis of stéroïd and triterpenoids". Natural product report, 7; 653-678

**Bruneton, 1993**, «pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales», 2<sup>ème</sup> édition, Technique et documentation de Lavoisier 24, 398-433

**Cheung R., Liang J.-Y., Lu H.-Y., Yang Y., Liu R. 2007** "Study on Chemical Constituents of the Leaves of *Canarium album* (Lour.) Raeusch"; Chemistry and Industry of Forest Products

**Chogo; Grank, 1981**, "Chemical composition and biological activity of the Tanzanian plant *Ocimum suave*". Journal of Natural Products 43, 308-311

**Effrain K.; Jack T.; Sodipo O. 2003**, "Histopathological studies on the toxicity of *Ocimum gratissimum* leaves extract some organs of rabbit". *African Journal of Biomedical research*, 6., 23-25

**Essential oil in *ocimum basilicum***, <http://www.unigraz.at/katzer/engl/ocimbas.html> pages consultées le 12 novembre 2015

**Ghedira K., 2005**, «Les flavonoïdes: Structures, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique ». *Phytotherapia*, 4, 162-169,

**Grayer R.; Veitch N.; Kite G.; Price A.; Kokubum T. 2001**, “Distribution of 8-oxygenated leaf-surface flavones in the genus *Ocimum*”, *Phytochemistry*, **56**, 559-567.

**Guedem, N. 2004**, «Contribution à l'étude phytochimique des brindilles de *Thecaroris batesii* (Euphorbiaceae)», Mémoire de DEA. Chimie organique, Université de Yaoundé I, 12.

**Hutchinson J., Dalziel J. 1963**, “Flora of west Tropical Africa”, F. N.HEPPER, B.Sc., F.L.S.Senior Scientific Officer, Royal Botanic Gardens, Kew. **2**, 300-304.

**Hutchinson J.; Dalziel J. 1974**, «Flore du Rwanda », F. N.HEPPER, B.Sc., F.L.S.Senior Scientific Officer, Royal Botanic Gardens, Kew. **3**, 322-326

**Kamdem W., 2000** «Contribution à l'étude chimique d'une *papilionaceae*: *Erythrina indica* et quelques hémisynthèses», Thèse de doctorat de troisième cycle en chimie organique, Université de Yaoundé I, 45-60

**Kamtchueng, 2003** « Etude phytochimique des feuilles de *Ocimum suave* Lamiaceae», Mémoire DEA. Chimie Organique, Université de Yaoundé I, 17-19.

**Kapche, 2000** «Contribution à l'étude phytochimique de deux plantes médicinales du Cameroun :*Dorstenia poinsettifolia* et *Dorstenia psilurus* (*Moraceae*) et hémisynthèse de quelques flavonones», Thèse de doctorat de troisième cycle en chimie organique, Université de Yaoundé I, 97-108

**Lamarti A.; Badoc A.; Deffieux G.; Cadre J. 1994** «Biogenèse des monoterpènes: la chaîne isoprénique», Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux, **133**, 79-99.

Lamiaceae, « <https://fr.m.wikipedia.org> », pages consultées le 11 avril 2016

**Laszczyk, 2009** Pentacyclic triterpènes of the lupine, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy. *Planta medicament* **75**, 125-132

**Law M., 1988** Plant stérol and stanol margarines and health. *British Medical Journal*, **320**, 861-864

**Mahato, 1994** 13C RMN spectra of pentacyclique triterpenoids. *Phytochemistry*. **37**, 1517-1575

**Manns, 1995** <<Linalool and cineol type glucosides from *cunilla spicata*>>. *phytochemistry*, **39**, 1115-1118.

**Matasyoh L. ; Josphat C. ; Francis N. ; Myriam G. ; Anne W. ; Titùs K. . 2007** “Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn.” *Growing in Eastern Kenya*. African Journal of Biotechnology. **6**, 760-765

**Nait N., 2007** «Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes: *pituranthos chloranthus* et *Marrubium vulgare*», Mémoire Master option chimie organique, Université El-Hadj Lakhdar-batna, 27-29

***Ocimum***, «[https://fr.wikipedia.org/wiki](https://fr.wikipedia.org/wiki/Ocimum)», pages consultées le 26 mars 2016

**Paupin R.; Trotter J. 1980** «Crystal structure of camphor-1,4-homeonol-p-bromobenzoate » Canadian Journal of Chemistry **58**, 2805-2807.

**Prajapati N. ; Purohit S.; Sharma A.; Kumar T. 2003** Agro’s dictionary of medicinal plants, 1st edition Agrobios.India 79-81

**Rios J. 2010** «Effects of triterpènes on the immune système». Ethnopharmacology. **2**, 1-14.

**Sigh S.; Majumdar D.; Yadav R. 1996** “Chemical and pharmacological studies on fixed oil of *Ocimum sanctum*”. Indian Journal of Experimental Biology, **34**, 1212-1215.

**Souad, H. 2009** «Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d’*Anacyclus pyrethrum*».Thèse présentée à l’Université Mentouri Constantine, Département de Chimie 121-145

**Tanaka R., Tabuse M., and Matsunaga S. 1988** “Triterpenes from the stem bark of *Phyllanthus flexuosus*”; *Phytochemistry* **27**, 3563-3567.

**Tapondjou A. L., Lontsi D., Sondengam L. B., Choudhary I. M., Park H. J., Choi J., Lee K. T. 2002**, Structure-activity relationship of triterpenoids isolated from *Mitragyna stipulosa* on cytotoxicity. Archives of Pharmacal Research **25**, 270-274.

**The open complementary medicine journal, 2009:** <<*Ocimum gratissimum*: A review of chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties>>, 36

**Troupin G.; Bridson D. 1982** « Flore des plantes ligneuses du Rwanda». Institut de recherche scientifique de Butare; 350

**Verges B.** Les phytostérols: quels bénéfiques? Quels risques? Médecine des maladies métaboliques, **3**, 589-593



**Verscheur G.; Lognay G.; Marlier M. 2002**, «Revue bibliographique: les méthodes chimiques d'identification et classification des champignons», *Biotechnology. Agronomy Society and Environnement* **6**, 131-142.

**Viera R.; Grayer R.; Platon A. 2003**, « Chemical profiling of *Ocimum americanum* using external flavonoids”., *Phytochemistry*, **63**, 555-567.