

1
0
0
7
8

N° d'ordre : **788**

THÈSE

Présentée pour obtenir le

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ NANGUI ABROGOUA

Mention : **Chimie**

Spécialité : **Chimie Organique - Chimie des Substances Naturelles**
Par

KOUASSI Kouamé Séraphin

Sujet :

**COMPOSITION CHIMIQUE, ACTIVITÉS ANTIOXYDANTE ET
ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTIELLES DE CINQ
PLANTES AROMATIQUES ET MÉDICINALES DE CÔTE D'IVOIRE :
ÉTUDE COMPARATIVE DANS LE CAS DE L'HYDRODISTILLATION
ET DE L'ENTRAÎNEMENT À LA VAPEUR D'EAU**

Soutenue le 26 Août 2022 devant le jury composé de :

M. ZIAO Nahossé, Professeur Titulaire (UNA)	Président
M. KASSI Kondo Fulgence, Maître de Conférences (UFHB)	Rapporteur
M. FANTE Bamba, Maître de Conférences (UFHB)	Rapporteur
M. KABLAN Ahmont Landry Claude, Maître de Conférences (UPGC)	Examineur
M. BOUA Boua Benson, Maître de Conférences (UNA)	Examineur
M. KOUAME Bosson Antoine, Maître de Conférences (UNA)	Directeur de Thèse

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	ii
AVANT- PROPOS	viii
RÉMERCIEMENTS	x
DÉDICACE	xii
ABREVIATIONS - SIGLES – SYMBOLES ET FORMULES CHIMIQUES	xiii
LISTE DES FIGURES	xv
LISTE DES TABLEAUX	xix
LISTE DES ANNEXES	xxii
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	5
CHAPITRE 1 : GÉNÉRALITÉS SUR LES HUILES ESSENTIELLES	6
1.1- HISTORIQUE	6
1.2- DÉFINITIONS DES HUILES ESSENTIELLES	7
1.3- MÉTHODES D’EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES	8
1.3.1- Méthodes traditionnelles d’extraction des huiles essentielles.....	8
1.3.1.1- Méthode d’hydrodistillation.....	9
1.3.1.2- Hydrodistillation sous pression	9
1.3.1.3- Entraînement à la vapeur d’eau	10
1.3.1.4- Hydrodiffusion	11
1.3.1.5- Expression à froid	11
1.3.1.6- Extraction des constituants aromatiques par les solvants organiques	11
1.3.2- Méthodes innovantes d’extraction des huiles essentielles	11
1.3.2.1- Hydrodistillation assistée par ultra-sons	11
1.3.2.2- Extraction assistée par micro-ondes	12
1.3.2.3- Extraction par fluide supercritique	12
1.3.2.4- Extraction par eau subcritique.....	12
1.3.2.5- Extraction par solvant accéléré (ASE)	13

1.4- TECHNIQUES D'ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES	13
1.4.1- Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	13
1.4.2- Spectrométrie de masse (SM)	15
1.4.3- Couplage CPG-SM	15
1.4.4- Résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN ¹³ C)	17
1.5- COMPOSITION CHIMIQUE ET BIOSYNTHESE DE QUELQUES CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES	17
1.5.1- Composition chimique des huiles essentielles	17
1.5.2- Biosynthèse de quelques constituants des huiles essentielles	20
1.5.2.1- Condensation des motifs isopréniques	22
1.5.2.2- Biosynthèse de quelques monoterpènes acycliques	24
1.5.2.3- Biosynthèse de quelques monoterpènes cycliques.....	25
1.5.2.4- Biosynthèse des sesquiterpènes.....	26
1.5.2.5- Biosynthèse des dérivés du phénylpropane.....	28
1.5.3- Composés aromatiques	29
1.6- ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES	30
1.6.1- Activités antimicrobiennes des huiles essentielles.....	30
1.6.2- Corrélation composition chimique-activité antimicrobienne.....	31
1.6.3- Activité antioxydante des huiles essentielles	34
1.6.3.1- Méthodes d'évaluation <i>in vitro</i> des propriétés antioxydantes par la méthode de DPPH	34
1.6.3.2- Méthodes d'évaluation <i>in vitro</i> des propriétés antioxydantes par la méthode de FRAP	35
1.6.4- Toxicité des huiles essentielles	36
1.6.5- Conservation des huiles essentielles	37
CHAPITRE 2- GÉNÉRALITÉS SUR LES PLANTES ÉTUDIÉES	38
2.1- <i>Emilia praetermissa</i> Milne-Redh (Asteraceae)	38
2.1.1- Genre <i>Emilia</i>	38
2.1.2-Description et position systématique de <i>E. praetermissa</i>	38

2.1.3-Utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle de la plante	40
2.1.4- Études antérieures sur <i>Emilia praetermissa</i>	40
2.2- <i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass. (Asteraceae)	41
2.2.1- Genre <i>porophyllum</i>	41
2.2.2-Description et position systématique de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass.....	41
2.2.3-Utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle de <i>P. ruderale</i>	43
2.2.4- Études antérieures sur <i>P. ruderale</i>	44
2.3- <i>Premna quadrifolia</i> Schumach. & Thonn. (Lamiaceae)	44
2.3.1- Genre <i>Premna</i>	44
2.3.2-Description et position systématique de <i>P. quadrifolia</i> Schumach. & Thonn	45
2.3.3-Utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle de <i>P. quadrifolia</i>	47
2.3.4- Etudes antérieures sur <i>P. quadrifolia</i>	47
2.4- <i>Premna angolensis</i> Gürke (Lamiaceae).....	48
2.4.1- Description et position systématique de <i>P. angolensis</i> Gürke	48
2.4.2-Utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle de <i>P. angolensis</i>	50
2.4.3- Études antérieures sur <i>P. angolensis</i>	50
2.5- <i>Clerodendrum polycephalum</i> Baker (Lamiaceae)	51
2.5.1- Genre <i>Clerodendrum</i>	51
2.5.2- Description et position systématique de <i>C. polycephalum</i> Baker	51
2.5.3- Utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle.....	53
2.5.4- Études antérieures sur <i>Clerodendrum polycephalum</i>	53
PARTIE II : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE	56
PARTIE II : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE	56
CHAPITRE 1 : MATÉRIEL ET MÉTHODES	57
1.1-MATÉRIEL	58
1.1.1- Matériel biologique.....	58
1.1.1.1- Matériel végétal	58
1.1.1.2- Matériel microorganique et milieu de culture.....	58
1.1.2- Solvants et réactifs	59

1.1.3- Matériel technique	59
1.2- METHODES	59
1.2.1- Choix des espèces de l'étude	59
1.2.2- Méthode de récolte	59
1.2.3- Traitement des drogues après récolte	60
1.2.4-Méthodes d'extraction	60
1.2.4.1- Extraction par hydrodistillation	60
1.2.4.2- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	61
1.2.5- Etudes des caractères organoleptiques	62
1.2.6- Calcul des rendements	62
1.2.7- Analyse de la composition chimique des HE	62
1.2.7.1- Composition chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse des huiles essentielles (CPG/SM)	62
1.2.7.2- Composition chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à l'indice de rétention (CPG(Ir))	63
1.2.8- Méthode d'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne	64
1.2.8.1- Méthode d'évaluation par spectrophotométrie de l'activité antioxydante des HE	64
1.2.8.2- Évaluation de l'activité antimicrobienne des HE	64
CHAPITRE 2 : RÉSULTATS ET DISCUSSION	68
2.1- CARACTÈRES ORGANOLEPTIQUES	69
2.2- RENDEMENT DES EXTRACTIONS	69
2.3- COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HE	73
2.3.1- Attribution des composés : cas du 1-undécène et le β -caryophyllène	73
2.3.2- <i>Emilia praetermissa</i> (<i>E. praetermissa</i>)	76
2.3.2.1- Composition de l'huile essentielle obtenue des tiges feuillées et fleurs de <i>E. praetermissa</i>	76
2.3.2.2- Comparaison de la composition chimique des HE-EV et HE-HD des tiges feuillées et fleurs de <i>E. praetermissa</i>	82
2.3.2.3- Activités antioxydantes des huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de <i>E. praetermissa</i>	87

2.3.2.4- Activité antibactérienne des huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de <i>E. praetermissa</i>	88
2.3.2.5- Activité antifongiques de l'HE-HD de <i>E. praetermissa</i>	89
2.3.2.6- Conclusion sur l'étude des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des tiges feuillées et fleurs de <i>E. praetermissa</i>	90
2.3.3- <i>Porophyllum ruderale</i> (<i>P. ruderale</i>)	90
2.3.3.1- Composition chimique des huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de <i>P. ruderale</i>	90
2.3.3.2- Comparaison de la composition chimique des huiles essentielles des tiges feuillées de <i>P. ruderale</i>	94
2.3.3.3- Activité antioxydante des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des tiges feuillées et fleurs de <i>P. ruderale</i>	97
2.3.3.4- Activité antibactérienne des huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de <i>P. ruderale</i>	99
2.3.3.5- Activité antifongique de l'HE-HD des tiges feuillées et fleurs de <i>P. ruderale</i>	100
2.3.3.6- Conclusion sur l'étude des huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de <i>P. ruderale</i>	100
2.3.4- <i>Premna quadrifolia</i> (<i>P. quadrifolia</i>)	101
2.3.4.1- Composition chimique des huiles essentielles des tiges feuillées de <i>Premna quadrifolia</i>	101
2.3.4.2- Comparaison de la composition chimique des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles de <i>Premna quadrifolia</i>	106
2.3.4.3- Activité antioxydante des huiles essentielles des feuilles de <i>Premna quadrifolia</i>	110
2.3.4.4- Activité antibactérienne des huiles essentielles des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	111
2.3.4.5- Activité antifongique de l'HE-HD des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	112
2.3.4.6- Conclusion sur l'étude des huiles essentielles des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	112
2.3.5- <i>Premna angolensis</i> (<i>P. angolensis</i>)	113
2.3.5.1- Composition chimique des huiles essentielles des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	113
2.3.5.2- Comparaison de la composition chimique des HE obtenues des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	117
2.3.5.3- Activité antioxydante de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des feuilles de <i>P. angolensis</i>	121
2.3.5.4- Activité antibactérienne de l'huile essentielle des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	121
2.3.5.5- Activité antifongique de l'HE des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	122
2.3.5.6- Conclusion sur l'huile essentielle des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	123

2.3.6- <i>Clerodendrum polycephalum</i> (<i>C. polycephalum</i>)	123
2.3.6.1- Composition des huiles essentielles des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	123
2.3.6.2- Comparaison de la composition chimique des huiles obtenues et par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	129
2.3.6.3- Activité antioxydante de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	133
2.3.6.4- Activité antibactérienne de l'HE-HD des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	133
2.3.6.5-Activité antifongique de l'HE des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	134
2.3.6.6- Conclusion sur l'étude des l'huile essentielle des tiges feuillées de <i>C. Polycephalum</i>	134
2.4- RÉCAPITULATIF	135
2.4.1- Étude chimique	135
2.4.2- Évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne	140
CONCLUSION GÉNÉRALE	146
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	151
ANNEXES	169

AVANT- PROPOS

Le présent travail, effectué pour l'obtention du diplôme de Doctorat en chimie des substances naturelles, a été conduit par Monsieur KOUAME Bosson Antoine, Maître de Conférences à l'Université NANGUI ABROGOUA.

Les identifications des plantes ont été faites au Centre National de Floristique (CNF) d'Abidjan.

Les extractions ont été faites au sein du laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN) de l'Université NANGUI ABROGOUA.

Les tests antioxydants ont été réalisés au laboratoire central de l'Université NANGUI ABROGOUA.

Les tests antimicrobiens ont été faits au laboratoire du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire.

Les analyses chromatographiques et spectrales ont été réalisées au laboratoire de Chimie des Matériaux de l'Université du Québec à Montréal (Canada).

Des résultats issus des travaux de la thèse ont fait l'objet de publications de trois articles dans des revues scientifiques à audience internationale et d'une communication (en ligne) aux journées scientifiques du CAMES à Dakar au Sénégal (5^e édition).

Article 1 : Kouassi KS, Kouamé BA, Mamyrbékova-Békro JA., Békro Y-A. (2020). Composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil from *Enantia polycarpa* and *Clerodendrum polycephalum*. *International Journal of Current Research*, 12(2), pp.9987-9991.

Article 2 : Kouassi KS, Kouamé BA, Mamyrbékova-Békro JA., Békro Y-A. (2020). Composition chimique par CPG/SM et activités antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. récoltée en Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, ISSN: 1857 - 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.

Article 3 : Kouassi KS., Kouamé BA, Mamyrbékova-Békro JA, Békro Y-A., Fofié NBY, (2020). Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils from the leaves of *Premna angolensis* and *Premna quadrifolia*, two Lamiaceae from Côte d'Ivoire. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, 5(8), pp.681-686

Communication : Kouassi KS, Kouamé BA, Mamyrbékova-Békro JA, Békro Y-A. (2021).
Comparative study of essential oil obtained by hydrodistillation and steam distillation for optimal use: case of *Emilia praetermissa* milne-redh. (Asteraceae) harvested in Côte d'Ivoire.
Journées Scientifiques du CAMES à Dakar (Sénégal); 5è edition.

REMERCIEMENTS

– Je remercie l'Éternel, Dieu de toutes connaissances.

Je tiens à exprimer ma gratitude à **Monsieur TANO Yao**, Professeur Titulaire et Président de l'Université NANGUI ABROGOUA, pour avoir accepté mon inscription en thèse afin que ce travail puisse se réaliser.

Je dis également merci à **Monsieur KRE N'guessan Raymond**, Professeur Titulaire et Doyen de l'UFR Sciences Fondamentales et Appliquées (SFA) de l'Université NANGUI ABROGOUA.

J'adresse ma profonde et sincère gratitude à **Monsieur KOUAME Bosson Antoine**, Maître de Conférences, pour avoir accepté de m'encadrer dans ce projet. Vous m'avez encouragé et tenu par la main. Durant ce projet, j'ai bénéficié de votre soutien moral, matériel et financier. Votre disponibilité, vos conseils avisés et surtout votre franc-parler tout au long du projet, ont été pour moi un catalyseur. Plus qu'un encadrant, vous avez été pour moi un guide. Merci Maître.

Je remercie **Monsieur BEKRO Yves-Alain**, Professeur Titulaire, Directeur du Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN) de l'Université NANGUI ABROGOUA (UNA). Professeur, c'est une chance d'avoir appris à vos côtés, votre rigueur scientifique a facilité toutes mes publications au cours de ce projet. Merci Maître.

Je remercie **Madame MAMYRBEKOVA Janat Akhanovna épouse BEKRO**, Professeur Titulaire, Co-Directrice du Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN) de l'Université NANGUI-ABROGOUA (UNA), Directrice du pôle de recherche de la Pharmacopée Africaine et des Substances Naturelles de l'Université NANGUI ABROGOUA. Madame, c'est avec vous qu'est née ma passion pour la chimie organique depuis le Tronc Commun des Sciences de la Matière (TCSM). Vos conseils et soutiens maternels ont permis cet aboutissement. Merci Maître.

Je formule toute ma reconnaissance et mes remerciements aux membres du jury, **M. ZIAO Nahossé, Professeur Titulaire, UNA**, (Président), **M. KASSI Kondo Fulgence, Maître de Conférences, UFHB**, (Rapporteur), **M. FANTE Bamba, Maître de Conférences, UFHB**, (Rapporteur), **M. KABLAN Ahmont Landry Claude, Maître de Conférences, UPGC**, (Examineur), **M. BOUA Boua Benson, Maître de Conférences, UNA**, (Examineur) et **M.**

KOUAME Bosson Antoine, Maître de Conférences, UNA, (Directeur de Thèse) qui ont accepté de juger ce travail malgré leurs nombreuses charges.

Je dis merci à **Madame N'GUESSAN Bra Yvette FOFIE**, Maître de Conférences à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université FÉLIX HOUPHOUËT-BOIGNY, Laboratoire de Pharmacognosie et Cryptogamie. Dans ma quête de laboratoires d'analyses, vous avez été d'un soutien infaillible, veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je dis merci à **M. BENIE Anoubilé** Professeur Titulaire, **M. BOUA Boua Benson**, **M. KONAN Koffi Marcel**, **M. OUATTARA Zana**, **Mme N'GAMAN Kohué Christelle épouse KOUASSI**, **M. KADJA Amani Brice**, **M. KABRAN Guy Roger**, Maîtres de Conférences, **M. KOUASSI Kouadio Christian**, **Mme BAGUIA Fatou Diane épouse BROUNE** et **Mme ATSAIN Rosine épouse ALLANGBA**, Maîtres Assistants, au Laboratoire de Chimie Bio-Organique et Substances Naturelles. Je vous remercie pour les cours, les conseils et vos encouragements.

J'exprime ma reconnaissance au Dr **KOUAO Toffé Alexis** et aux étudiants du LCBOSN pour leur collaboration et leur appui.

J'exprime toute ma reconnaissance également à **Monsieur GWAENAEL Chamoulaud** et à **Madame GALYNA Shul** au département de chimie à l'Université du Québec à Montréal (Canada) pour les analyses chromatographiques.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit de **Monsieur TERE Henry** technicien botaniste pour sa contribution à l'identification des plantes et de **Monsieur TOURE Sadikou**, Technicien de Laboratoire au Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire pour son aide précieuse lors de l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique.

Que tous ceux qui d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réalisation de cette thèse, trouvent ici, l'expression de ma sincère reconnaissance.

DEDICACE

À Dieu, mon Père,

À la mémoire de papa, **Feu KOMENAN Kouassi,**

Papa, merci pour ta confiance à toute épreuve en moi.

À maman, **KRA Adjoua Marie,**

Merci Maman pour tes prières.

À tous mes frères et sœurs,

À mon grand-frère KOUASSI Kouassi Aimé et à mon cousin KOFFI Yao Charles,

À KOUASSI Adjoua Charlotte, mon épouse, mon aide,

À mon oncle KONAN Koffi Pascal et à toute la grande famille,

À tous mes amis.

Que Dieu vous bénisse

ABREVIATIONS - SIGLES – SYMBOLES ET FORMULES CHIMIQUES

%	: pourcentage
ACP	: analyse en composantes principales
ADP	: adénosine diphosphate
AFNOR	: association française de normalisation
Av J.-C.	: avant Jésus-Christ
CCM	: chromatographie sur couche mince
CMI	: concentration minimale inhibitrice
CMB	: concentration minimale bactéricide
CLHP-SM	: chromatographie liquide de haute performance couplée avec la spectrométrie de masse
CPG	: chromatographie en phase gazeuse
CPG(Ir)	: chromatographie en phase gazeuse associée aux indices de rétention
CPG-IRTF	: chromatographie en phase gazeuse couplée avec l’infra-rouge par transformée de Fourier
CPG/SM	: chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse
CR	: concentration de réduction
DMAPP	: diméthylallyl pyrophosphate
DPPH	: 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle
<i>et al.</i>	: <i>et alii, et alia, et alia</i> (et autres auteurs)
eV	: électron-volt
FPP	: farnésylpyrophosphate
H₂SO₄	: acide sulfurique
HE	: huile essentielle
HE-HD	: huile essentielle obtenue par hydrodistillation
HE-EV	: huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur
CR₅₀	: concentration réductrice de 50 %
Ir	: indice de rétention
LCBOSN	: laboratoire de chimie bio-organique et de substances naturelles
<i>m/z</i>	: masse sur charge
N°	: numéro
Na₂SO₄	: sulfate de sodium
NIST	: national institute of standards and technology

O.M.S	: organisation mondiale de la santé
PAM	: plante aromatique et médicinale
RMN	: résonance magnétique nucléaire
RMN ¹³C	: résonance magnétique nucléaire du carbone 13
SM	: spectrométrie de masse
Tr	: temps de rétention

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma du dispositif conçu pour l'entraînement à la vapeur (photo : Kouassi, 2020)	10
Figure 2 : Quelques monoterpènes et sesquiterpènes.....	18
Figure 3 : Quelques phénylpropanoïdes	19
Figure 4 : Structure moléculaire de l'isoprène	20
Figure 5 : Quelques sesquiterpènes susceptibles de présenter des activités antibactériennes (Kalemba, 2003).....	32
Figure 6 : <i>E. praetermissa</i> (photo : Kouassi, 2020)	39
Figure 7 : Partie aérienne de <i>P. ruderale</i> (photo : Kouassi, 2020).....	42
Figure 8 : Feuillages et fruits de <i>P. quadrifolia</i> (photo : Kouassi, 2020).....	46
Figure 9 : Composés majoritaires de l'huile essentielle des feuilles de <i>P. quadrifolia</i> (Adjalian et al., 2015)	48
Figure 10 : Feuillages et fleurs de <i>P. angolensis</i> (photo : Kouassi, 2020).....	49
Figure 11 : Composés majoritaires de l'huile essentielle de <i>Premna angolensis</i> (Adjalian et al. 2015).....	51
Figure 12 : Feuillage de <i>C. polycephalum</i> (photo : Kouassi 2020).....	52
Figure 13 : Composés majoritaires de l'huile essentielle des feuilles de <i>C. polycephallum</i> (Akintayo et al., 2016).....	54
Figure 14 : Dispositif d'hydrodistillation de type clévenger (photo : Kouassi 2020)	61
Figure 15 : Aperçu des compartiments du dispositif à l'entraînement à la vapeur (photo Kouassi, 2020).....	62
Figure 16 : Diamètres des zones d'inhibition de quelques huiles essentielles (Photo : Koné, 2020).....	66
Figure 17 : Histogrammes comparés des rendements des huiles essentielles obtenues par les deux méthodes des tiges feuillées et fleurs de <i>E.praetermissa</i> et <i>P.ruderale</i> , et tiges feuillées de <i>P.quadrifolia</i> , <i>P.angolensis</i> et <i>C.polycephallum</i>	72
Figure 18 : Spectre de masse du 1-undécène	74
Figure 19 : Spectre de masse du β -caryophyllène	75
Figure 20 : Diagramme comparatif des teneurs des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées et fleurs de <i>E. paretermissa</i>	78

Figure 21 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées et fleurs de <i>E. praetermissa</i>	79
Figure 22 : Diagramme comparatif des teneurs des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur.	80
Figure 23 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées et fleurs de <i>E. praetermissa</i>	81
Figure 24 : Histogrammes comparatifs de présence des composés des HE-EV et HE-HD des tiges feuillées et fleurs de <i>Emilia praetermissa</i>	83
Figure 25 : Histogrammes comparatifs des % des composés identiques des huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur et par hydrodistillation.....	84
Figure 26 : Histogrammes des pourcentages de réduction en fonction des concentrations	87
Figure 27 : Diagramme comparatif des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne de <i>Porophyllum ruderale</i>	90
Figure 28 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>P. ruderale</i>	92
Figure 29 : Diagramme comparatif des teneurs des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées et fleurs de <i>P.ruderale</i> ...	93
Figure 30 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de <i>P. ruderale</i>	94
Figure 31 : Histogrammes comparatifs de présence des composés des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de <i>P. ruderale</i>	95
Figure 32 : Diagrammes comparatifs des teneurs des composés identiques des huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur et par hydrodistillation des tiges feuillées et fleurs de <i>P.ruderale</i>	96
Figure 33 : Histogrammes comparatifs pourcentages de réduction des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation, par entraînement à la vapeur et de la vitamine C	98
Figure 34 : Diagramme des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	103
Figure 35 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	103
Figure 36 : Diagramme comparatif des teneurs des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	105

Figure 37 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	106
Figure 38 : Histogrammes comparatifs de présence des composés des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des feuilles de <i>Premna quadrifolia</i>	107
Figure 39 : Histogrammes comparatifs des teneurs des composés identiques des huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur et par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	108
Figure 40 : histogrammes comparatifs des pourcentages d'inhibition des huiles essentielles des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i> et de la vitamine C	110
Figure 41 : Diagramme des teneurs des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	113
Figure 42 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	114
Figure 43 : Diagramme des différentes teneurs des familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	116
Figure 44 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	117
Figure 45 : Histogrammes comparatifs des teneurs des composés identiques de les HE obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	119
Figure 46 : Diagrammes comparatifs des pourcentages d'inhibition de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation destiges feuillées de <i>P. angolensis</i> et de la vitamine C.....	121
Figure 47 : Diagramme comparatif des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de <i>C. polycephalum</i>	126
Figure 48 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	126
Figure 49 : Diagramme des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	128
Figure 50 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	129
Figure 51 : Histogrammes comparatifs des teneurs des composés identiques des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et entraînement à la vapeur des feuilles de <i>Clerodendrum polycephalum</i>	130

Figure 52 : Histogrammes comparatifs de présence des composés des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	130
Figure 53 : Diagrammes comparatifs des pourcentages de réduction de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i> et de la vitamine C	133
Figure 54 : Histogrammes des teneurs des familles chimiques présentes des HE extraites par les deux méthodes.....	136
Figure 55 : Histogrammes comparés des nombres de composés obtenus selon la méthode d'extraction.....	137
Figure 56 : Diagramme des pourcentages de réduction des HE et de la vitamine C	141

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Masse des échantillons distillés au clévenger	60
Tableau 2 : Masses des échantillons distillés à l'aide du dispositif d'entraînement à la vapeur	62
Tableau 3 : Couleur des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau	69
Tableau 4 : Rendements en HE des plantes	70
Tableau 5 : Indices de rétention du 1-undécène et du β -caryophyllène	73
Tableau 6 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées et fleurs de <i>E. praetermissa</i>	77
Tableau 7 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées et fleurs de <i>E. praetermissa</i>	80
Tableau 8 : Structures des composés issus de l'analyse des huiles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur.....	86
Tableau 9 : Résultats des tests antimicrobiens de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation	88
Tableau 10 : Zones d'inhibition des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur contre les bactéries <i>S. épidermidis</i> et <i>K. pneumoneae</i>	89
Tableau 11 : Diamètres d'inhibition et concentrations minimales obtenues avec l'HE-HD des tiges feuillées et fleurs de <i>E. praetermissa</i>	89
Tableau 12 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne de <i>Porophyllum ruderale</i>	91
Tableau 13 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de <i>P. ruderale</i>	93
Tableau 14 : Structures des constituants des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau.....	97
Tableau 15 : Concentrations minimales inhibitrice et bactéricide des huiles essentielles de <i>P. ruderale</i>	99
Tableau 16 : Zones d'inhibition des huiles essentielles deS tiges feuillées et fleurs de <i>P. ruderale</i> contre <i>S. épidermidis</i> et <i>K. pneumoneae</i>	100
Tableau 17 : diamètres des zones d'inhibition et les concentrations minimalesde l'HE-HD100	

Tableau 18 : Composition chimique de l'HE obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	101
Tableau 19 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	104
Tableau 20 : Structures des constituants des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	109
Tableau 21 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	111
Tableau 22 : Zones d'inhibition des HE sur <i>S. épidermidis</i> et <i>K. blse</i>	112
Tableau 23 : diamètre des zones d'inhibition de l'HE-HD des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	112
Tableau 24 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	114
Tableau 25 : Composition de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	116
Tableau 26 : Structures des composés issus des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	120
Tableau 27 : Zone d'inhibition de l'huile essentielle des tiges feuillées de <i>P. angolensis</i>	122
Tableau 28 : Concentration minimale inhibitrice et bactéricide de l'HE obtenue par hydrodistillation des feuilles de <i>Premna angolensis</i>	122
Tableau 29 : diamètre des zones d'inhibition de l'HE-HD des tiges feuillées de <i>P. quadrifolia</i>	123
Tableau 30 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	124
Tableau 31 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles de <i>C. Polycephalum</i>	127
Tableau 32 : Structures des composés issus des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	132
Tableau 33 : Zone d'inhibition de l'HE obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de <i>C. polycephalum</i>	134
Tableau 34 : Diamètre des zones d'inhibition de l'HE-HD contre les champignons	134
Tableau 35 : Récapitulatif des grandes familles chimiques dans les HE	135
Tableau 36 : Récapitulatif des composés majoritaires des HE	138

Tableau 37 : CR ₅₀ des échantillons d'HE et de la Vitamine C	141
Tableau 38 : Diamètres des zones d'inhibition des échantillons des HE.....	143
Tableau 39 : Diamètre d'inhibition des HE-HD et HE-EV sur <i>S.epidermidis</i> et <i>K.pneumoneae</i>	143
Tableau 40 : CMI et CMB des échantillons des HE et de la gentamycine (référence).....	144
Tableau 41 : Diamètre des zones d'inhibition des HE sur les champignons	144
Tableau 42 : CMI et CMF des HE sur les champignons.....	145

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Piluliers contenant des huiles essentielles extraites des différentes méthodes....	170
Annexe 2 : Systèmes de récupération des huiles essentielles	170
Annexe 3 : Pesée d'un échantillon de l'HE à l'aide d'une balance électronique de type XY6002C	171
Annexe 4 : Appareil d'analyse CPG/SM Agilent Technologie, 7890A	171
Annexe 5 : Spectrophotomètre AQUA LYTIC AL800	172
Annexe 6 : Pourcentage de réduction en fonction de la concentration des huiles essentielles de <i>Emilia praetermissa</i> et de la vitamine C	172
Annexe 7 : Pourcentage de réduction en fonction de la concentration des huiles essentielles de <i>Porophyllum ruderale</i> et de la vitamine C	173
Annexe 8 : Pourcentage de réduction en fonction de la concentration des HE de <i>Premna quadrifolia</i> et de la vitamine C.....	173
Annexe 9 : Pourcentages de réduction de l'HE des feuilles de <i>Premna angolensis</i> et de la vitamine C en fonction de la concentration.....	173
Annexe 10 : Pourcentage de réduction des huiles essentielles de <i>Clerodendrum polycephalum</i> et de la vitamine C en fonction de la concentration	174
Annexe 11 : Quelques cupules présentant les zones d'inhibition des huiles essentielles contre les souches bactériennes et fongiques	174
Annexe 12 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne de <i>Emilia praetermissa</i>	175
Annexe 13 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur de la partie aérienne de <i>Emilia praetermissa</i>	175
Annexe 14 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des parties aériennes de <i>Porophyllum ruderale</i>	176
Annexe 15 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur de la partie aérienne de <i>Porophyllum ruderale</i>	176
Annexe 16 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des feuilles de <i>Premna quadrifolia</i>	177
Annexe 17 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des feuilles de <i>Premna quadrifolia</i>	177
Annexe 18 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de <i>Premna angolensis</i>	178

Annexe 19: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des feuilles de <i>Premna angolensis</i>	178
Annexe 20: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des feuilles de <i>Clerodendrum polycephalum</i>	179
Annexe 21: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des feuilles de <i>Clerodendrum polycephalum</i>	179
Annexe 22: Chromatogramme des n-alcane standards	180

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'être humain fait partie intégrante de la nature et son existence dépend en partie de la nature. C'est elle qui nous protège et nous fournit tout ce dont nous avons besoin pour notre subsistance, nos croyances et pour notre santé.

Ainsi depuis toujours, les hommes ont recours aux plantes pour leurs soins. L'usage des plantes pour les soins fait partie de la médecine traditionnelle. L'OMS définit cette médecine traditionnelle comme, la somme de toutes les connaissances, compétences et pratiques pour soigner reposant sur les théories, les croyances et les expériences propres à différentes cultures. Qu'elles soient explicables ou non, et utilisées dans la préservation de la santé (OMS, 2013).

L'utilisation de la médecine traditionnelle dans le traitement de certaines maladies chez les hommes date de très longtemps et s'est toujours faite de façon empirique (Svoboda, 2000). De nos jours, la majorité de la population mondiale, surtout celle des pays en développement, se soigne avec des plantes médicinales (UA, 2001). De ce fait, les plantes médicinales restent un patrimoine précieux pour l'humanité (OMS, 2013).

La flore ivoirienne présente une grande biodiversité qui profite à la médecine traditionnelle, utilisée par la grande majorité des populations rurales. Parmi les espèces végétales utilisées en médecine traditionnelle, figurent les plantes aromatiques (PAM) qui sont une source de produits à forte valeur ajoutée tels que les huiles essentielles, les extraits et les résines (Kambiré, 2019 ; Ouattara, 2012).

Les huiles essentielles constituent la matière première de l'aromathérapie, une médecine qui utilise leurs diverses propriétés et activités biologiques à des fins préventives ou curatives (Pénoël, 1999). Elles font également l'objet d'une énorme consommation dans divers secteurs industriels dont l'industrie pharmaceutique, la parfumerie, la cosmétique, l'industrie agro-alimentaire (pâtisserie, confiserie, dérivés culinaires, etc.), ce qui leur confère un caractère économique poussé (Bakkali *et al.*, 2008).

Elles apportent aussi des solutions en agriculture biologique, leur utilisation contrôlée comme insecticide et pesticide réduirait celle des pesticides de synthèse qui ont des effets néfastes sur les êtres vivants et l'environnement (Vidal *et al.*, 2018).

Plusieurs travaux ont été menés sur les plantes aromatiques et médicinales issues de la flore ivoirienne (Zinzendorf, 1989 ; Vangah-Manda *et al.*, 1994 ; Traoré *et al.*, 1999 ; Oussou, 2009 ; Kouamé-Bi, 2012 ; ...). Ces travaux ont porté sur les propriétés biologiques, pharmacologiques et phytochimiques des plantes issues de la médecine traditionnelle ivoirienne (Touré, 2015).

En outre, face aux limites de certains produits de synthèse proposés par la médecine moderne, devant la recrudescence de certaines pathologies (maladies dues aux stress oxydatif par exemple), le recours aux plantes médicinales, dans le but de découvrir de nouvelles molécules pouvant pallier le déficit du système immunitaire de l'homme reste un défi (Konan, 2009). C'est pourquoi, les huiles essentielles produites par les plantes aromatiques apparaissent comme une source potentielle de molécules actives. Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement de certaines maladies infectieuses (Bouhdid *et al.*, 2006).

C'est dans ce cadre que le laboratoire de chimie bio-organique et de substances naturelles (LCBOSN) de l'Université NANGUI ABROGOUA, s'est investi depuis plusieurs années, entre autre, dans la caractérisation chimique des extraits des huiles essentielles des plantes aromatiques de Côte d'Ivoire.

Aussi faut-il noter que les substances naturelles extraites des plantes se présentent généralement sous la forme de mélanges complexes. Une variation quantitative et qualitative de la composition chimique des huiles essentielles en fonction de la méthode d'extraction des huiles essentielles est fréquente (Taha *et al.*, 2017). Pour une utilisation adéquate de ces extraits naturels, la méthode d'extraction et la détermination de leurs compositions chimiques s'avèrent donc primordiales.

L'objectif général de ce travail est de contribuer à la valorisation de cinq plantes aromatiques de la flore ivoirienne qui sont *Emilia praetermissa* Milne-Redh, *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass., *Premna quadrifolia* Schumach. & Thonn., *Premna angolensis* Gürke et *Clerodendrum polycephalum* Baker. D'une part, par la détermination de la composition chimique suivie de l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne de leurs huiles essentielles, d'autre part, faire la comparaison des huiles essentielles selon la méthode d'extraction pour une étude comparative en vue d'un usage plus efficient des HE

Pour y parvenir, nous voulons :

- ✓ extraire l'huile essentielle par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau ;
- ✓ de caractériser la composition chimique des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à l'indice de rétention (CPG(Ir)) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) ;
- ✓ comparer la composition chimique des huiles essentielles extraites par les deux techniques ;
- ✓ évaluer l'activité antioxydante par spectrophotométrie des huiles essentielles ;
- ✓ évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.

Le présent mémoire comporte deux parties constituées de deux chapitres chacune. Les deux parties sont la revue bibliographique et l'étude expérimentale :

La revue bibliographique traite des généralités sur les huiles essentielles des plantes d'étude, l'histoire de leur utilisation, les différentes définitions, les méthodes d'extraction et les techniques d'analyse des huiles essentielles. Ensuite, nous avons exposé la composition chimique, la biosynthèse de quelques constituants et les activités biologiques des huiles essentielles. Enfin, cette première partie s'achève sur la généralité sur les plantes étudiées.

La seconde partie expose l'étude expérimentale. Elle présente le matériel biologique et technique utilisés pour l'étude. Les méthodes d'extraction (hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur) y sont décrites. Les protocoles des analyses sont explicités. Les résultats sur les huiles essentielles de *E. praetermissa*, *P. ruderale*, *P. quadrifolia*, *P. angolensis* et de *C. polycephalum* sont présentés.

PARTIE I :
REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : GÉNÉRALITÉS SUR LES HUILES ESSENTIELLES

1.1- HISTORIQUE

Les plantes ont toujours été très largement utilisées par l'homme, d'abord comme sources alimentaires, mais aussi comme matériaux, objets décoratifs et pour leurs effets (toxiques ou bénéfiques) sur sa santé.

Leur utilisation, pour les substances odorantes qu'elles contiennent, est faite depuis l'antiquité. L'utilisation des arômes pour soigner n'est pas une technique récente. Dans toutes les civilisations de l'antiquité, la mention des arômes est présente, pour des usages religieux, cosmétiques mais aussi thérapeutiques.

L'homme s'est aussi intéressé à « détacher de son support » le principe aromatique d'une plante (**Deschamp, 1990**) ; en cela l'Inde, la Chine et l'Égypte semblent avoir été à l'origine de la recherche.

En Chine, environ trois siècles avant Jésus-Christ, plusieurs plantes médicinales ont été répertoriées. Les parfums de certaines étaient associés à des rites mystiques, artistiques et esthétiques. En effet la Chine, a publié des traités de médecine dans lesquels ont été répertoriées des plantes aromatiques utilisées notamment en infusions et macérations huileuses. L'empereur Chen-Nong (2800 av. J.-C.), médecin érudit, consignait son savoir relatif aux plantes médicinales dans un livre, le Pen Ts'ao, dans lequel figuraient l'anis, la cannelle, le curcuma et le gingembre. Ce livre a fait autorité jusqu'au XVI^e siècle où il a été revu et corrigé par un médecin botaniste et pharmacologue curieux et lettré, Li Che Tchen qui ne recense pas moins de 1000 plantes médicinales utiles (**Roulier, 1990 ; Lardry et Haberkorn, 2007**).

En Europe, le temple Grec d'Épidaure, dédié à Asclépios était, au V^e siècle av. J.-C., un des hauts lieux de la médecine grecque où se mêlent magie, usage de plantes et thermalisme (**Roulier, 1990**). Hippocrate indiquait dans les Aphorismes qui lui sont attribués, l'utilité des bains aromatiques dans le cadre du traitement des maladies de la femme. À Athènes, il lutta contre les épidémies, et tout particulièrement contre la grande peste qui ravagea la ville, en faisant brûler de la lavande, du romarin, de l'hysope et de la sarriette. Plus tard, une utilisation plus systématique des arômes se développa en Grèce, tout particulièrement sous forme de massage. À Sumer (région de la basse Mésopotamie où vivait, au IV^e millénaire av. J.-C., un peuple à l'origine des premières cités-États et d'une des premières formes connues d'écriture), on connaissait déjà l'intérêt des arômes pour lutter contre certaines maladies (**Roulier, 1990 ; Kramer, 1994**).

Les Égyptiens de l'époque pharaonique (3150-1085 av. J.-C.) utilisaient l'embaumement, avec notamment un mélange d'huiles aromatiques composé d'huile de cèdre et de basilic. Cela rendait compte d'une pratique assez sûre des plantes aromatiques (**Franchomme et al., 1990 ; Abrassart, 1997**).

Des « recettes » avec les huiles aromatiques à l'attention des embaumeurs, mais aussi des médecins de cette époque, ont été retrouvées. Le célèbre Imhotep (vers 2778 av. J.-C.), architecte constructeur de la pyramide de Saqqarah, médecin du pharaon Djoser (III^e dynastie vers 2880 av. J.-C.), pratiquait la médecine en utilisant largement les plantes aromatiques. Parmi elles, figuraient l'ail, l'anis, la cannelle, la cardamome, le cumin, l'encens, le laurier, la menthe (**Roulier, 1990**). En outre, des papyrus hiéroglyphes anciens montrent l'utilisation des huiles extraites des plantes, les parfums et les essences de plusieurs plantes aromatiques, auxquels ils recouraient pour la pharmacologie et l'embaumement (**Jean-Pierre, 2002**).

Dans les ruines de Nippur (une des plus grandes cités de cette époque), une tablette d'argile écrite en caractères cunéiformes par un médecin sumérien qui vivait vers la fin du III^e millénaire av. J.-C a été trouvée. Sur cette tablette, il a rassemblé ses prescriptions les plus précieuses. Ce document, considéré comme le plus vieux manuel de médecine au monde, montre que pour composer ses médicaments, le médecin utilisait des substances animales (lait, peau de serpent,...), minérales, mais aussi végétales (myrte, thym) (**Kramer, 1994**).

En Inde, c'est dans le millénaire à cheval sur le début de notre ère que se sont constitués les grands traités (samhitâ) de la médecine ayurvédique. Massages et bains font intervenir différents arômes. Un célèbre médecin ayurvédique, Susruta, connaissait déjà l'art de l'anesthésie pratiquée à l'aide de plantes (chanvre indien) et enseignait comme règles de santé, l'hygiène et la diététique. Il conseillait couramment les plantes médicinales et aromatiques (**Roulier, 1990**). À cette époque, la cannelle, la coriandre, le gingembre, la myrrhe et le santal étaient déjà utilisés (**Abrassart, 1997**).

Des plantes entières servaient pour apporter soulagement et bien-être sous forme de cataplasmes, infusions, macérations, décoctions (**Lardry et Haberkorn, 2003**). Quant aux huiles essentielles, elles ont toujours, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'homme qui les utilisait autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. (**Bruneton, 2016**).

1.2- DÉFINITIONS DES HUILES ESSENTIELLES

Plusieurs approches définitionnelles du terme « huile essentielle » plus ou moins proches sont admises. Selon sa profession, chacun répondra à la question d'une manière différente.

Une huile essentielle peut être un ensemble de molécules pour un chimiste, un arôme pour un parfumeur ou encore la quintessence ou l'esprit d'un végétal pour un alchimiste (**Moro, 2008**).

Pour la norme française AFNOR NF T 75-006 de 1998, les huiles essentielles sont des produits obtenus à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par expression mise en œuvre à partir de l'épicarpe des citrus. Elles sont ensuite séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques (**Bruneton, 1999**).

Une huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (**Pharmacopée Européenne, 2011 ; Bruneton, 2016**).

Néanmoins, les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels, entraînaibles à la vapeur d'eau, très peu solubles dans l'eau (**AFSSAPS, 2008**).

Aussi est-il important de ne pas confondre essence et huile essentielle. Une essence est une sécrétion naturelle élaborée par un organisme végétale tandis qu'une huile essentielle est un extrait naturel de plantes ou d'arbres aromatiques obtenu par distillation. Par conséquent, l'huile essentielle est une essence extraite et modifiée selon les procédés d'obtention mis en œuvre. Elle répond aux critères de la norme AFNOR NF 75 -006 de février 1998 (**Clarke S., 2008**).

Pour être de qualité optimale, une huile essentielle doit être 100% naturelle (c'est -à-dire non dénaturée par des molécules de synthèse chimique), 100% pure (c'est -à-dire non mélangée avec d'autres huiles essentielles ayant des caractéristiques proches) et 100% intégrale (c'est -à-dire que le distillateur aura recueilli la totalité des molécules contenues dans la matière végétale distillée). La détermination du chémotype permet de la garantir (**Chassaing, 2006**). Enfin les huiles essentielles sont considérées comme des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages.

1.3- MÉTHODES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

1.3.1- Méthodes traditionnelles d'extraction des huiles essentielles

1.3.1.1- Méthode d'hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger le matériel végétal dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est-à-dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du composant pur. La pression totale au-dessus du mélange est égale à la somme des pressions partielles des constituants (**Hernandez, 2005**).

$$P_t = P_{H_2O} + P_1 + P_2 + P_3 + \dots$$

P_t : pression totale au-dessus du mélange

P_{H_2O} : pression partielle de l'eau

P_1, P_2, P_3 : pressions partielles des différents constituants du mélange.

A la pression atmosphérique, le point d'ébullition sera inférieur à 100°C. Le pourcentage d'un constituant de masse molaire M_c entraîné par la vapeur d'eau est donné par la formule suivante :

$$\%C = \frac{T_c}{373} \times \frac{M_c}{18} = \frac{m_c}{m_e}$$

T_c : température d'ébullition du constituant entraîné

M_c : masse moléculaire du constituant entraîné

m_e : masse d'eau évaporée

m_c : masse du composé entraîné.

Aussi, la vitesse de vaporisation des composés volatiles des plantes aromatiques par hydrodistillation est-elle fonction de la résistance à la diffusion de l'huile essentielle dans les tissus cellulaires et la solubilité des molécules volatiles dans l'eau.

L'hydrodistillation est une méthode simple dans son principe et qui ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant, en dépit de sa simplicité, elle peut apporter de nombreux artefacts. En effet, l'eau, l'acidité et la température du milieu peuvent induire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, de racémisation, d'oxydation, d'isomérisation, etc. (**Hernandez, 2005**).

1.3.1.2- Hydrodistillation sous pression

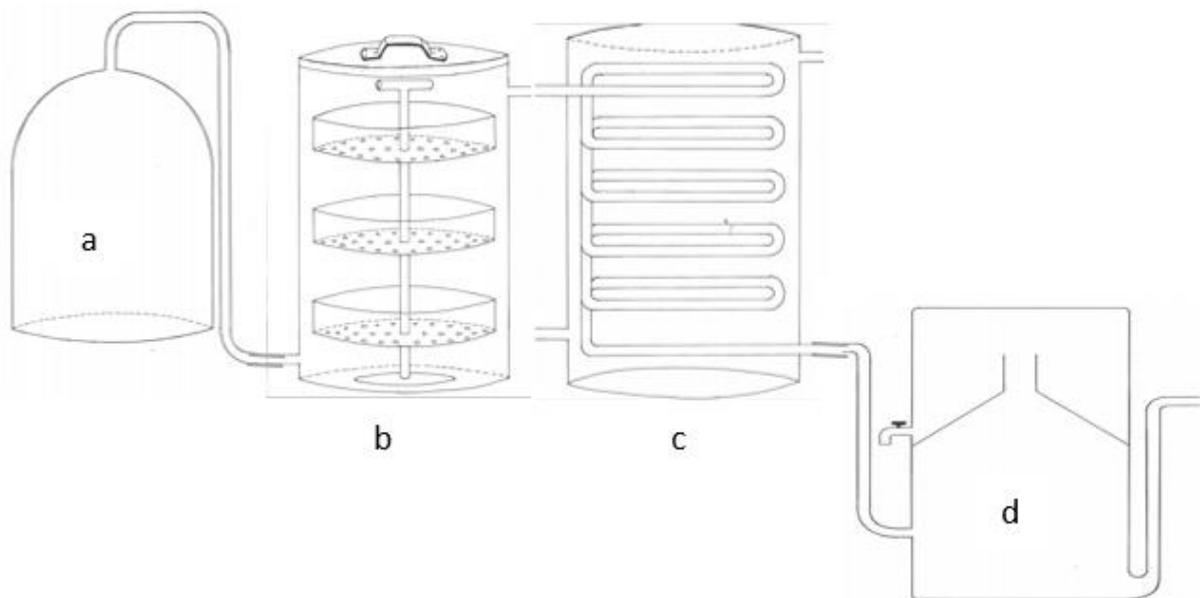
Cette technique a les mêmes principes que l'hydrodistillation conventionnelle décrite ci-dessus. La différence réside dans le déroulement de l'opération sous pression relativement élevée afin d'obtenir les

huiles essentielles difficilement entraînable à la vapeur d'eau. La pression permet d'économiser de la vapeur d'eau et elle augmente la production pour un même volume d'appareillage (**Bocchio, 1985**).

1.3.1.3- Entraînement à la vapeur d'eau

C'est la méthode la plus utilisée pour l'extraction des composés volatils des plantes aromatiques. Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, mais la vapeur d'eau produite dans une enceinte est conduite à travers la matière végétale de bas en haut, éclate les cellules et entraîne les molécules volatiles (**Figure 1**). La vapeur d'eau saturée en composés volatils se condense en un mélange hétérogène constitué de l'huile essentielle et d'hydrolat (**Bruneton, 1999 ; Marrouf et Tremblin, 2009**). La phase aqueuse recueillie, appelée eau florale, contient des traces de composés aromatiques.

L'huile essentielle étant hydrophobe et souvent moins dense que l'eau, surnage dans la majorité des cas à sa surface et est recueillie après décantation, grâce à un vase florentin ou essencier (**Huie, 2002**). La distillation de chaque espèce végétale est mystérieuse et de nombreux paramètres nuancent la qualité de l'huile essentielle et de l'eau florale obtenue, les caractéristiques de la plante interviennent bien sûr grandement, mais la beauté d'un végétal aromatique ne pourra s'exprimer sans la maîtrise de l'extraction. Le distillateur, par le choix de son matériel et des paramètres de distillation peut révéler pour une même plante de grands crus ou au contraire des qualités bien inférieures (**Romdhane, 1993**).



a- chaudière ; b- cuve principale contenant des tamis ; c- réfrigérant ; d- essencier

Figure 1 : Schéma du dispositif conçu pour l'entraînement à la vapeur (photo : Kouassi, 2020)

1.3.1.4- Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans ce cas, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange dispersé dans la matière végétale (Meyer, 1984).

Ces techniques d'extraction ci-dessus reposent toutes sur le même principe, basé sur l'entraînement des composés volatils de la plante par la vapeur d'eau. Le degré de contact entre la plante et l'eau est le seul paramètre qui diffère (Neija, 2013).

1.3.1.5- Expression à froid

L'expression à froid, généralement appliquée aux agrumes, utilise la pression à froid pour extraire les huiles essentielles en utilisant des rouleaux ou des éponges. Cela ne nécessite aucune source de chaleur laissant ainsi à l'huile une odeur très proche de l'originale. Le principe de cette méthode consiste à faire éclater par différents procédés mécaniques (compression, perforation) les poches qui sont situées à la superficie de l'écorce de ces fruits renfermant l'huile essentielle. L'huile libérée est ensuite recueillie par un courant d'eau. Une nouvelle technologie fondée sur un principe proche mise au point en 1952 permet l'expression à froid de l'huile essentielle des hespéridés en s'affranchissant de l'usage d'eau afin d'éviter les hydrolyses ou les solubilisations de certaines classes de composés aromatiques. A l'inverse de l'expression traditionnelle, cette méthode fait appel à la dépression (Meyer, 1984).

1.3.1.6- Extraction des constituants aromatiques par les solvants organiques

L'extraction par les solvants organiques à chaud est tout aussi largement utilisée actuellement. Les organes sont trempés dans un solvant organique volatil à chaud. Cette méthode est utilisée pour obtenir des produits que l'on ne peut extraire par un autre procédé et ce en vue de rendement plus élevé (Meyer, 1984).

Le soxhlet est le dispositif adapté à ce type de procédé. Le choix du solvant est influencé par des facteurs techniques et économiques : sélectivité, stabilité, inertie chimique et température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale (Bruneton, 1999).

1.3.2- Méthodes innovantes d'extraction des huiles essentielles

1.3.2.1- Hydrodistillation assistée par ultra-sons

Le principe de cette technique consiste à désorganiser les parois des plantes et les tissus des cellules, par l'action des ultrasons, produisant des micros cavitations. Ces changements favorisent la diffusion de

l'eau dans les tissus cellulaires, ce qui peut également accélérer l'extraction des huiles essentielles. Le rendement et la vitesse d'extraction sont les principaux avantages de cette méthode (**Lucchesi, 2005**).

1.3.2.2- Extraction assistée par micro-ondes

C'est une technique récente développée dans le but d'extraire les produits naturels comparables aux huiles essentielles et aux extraits aromatiques. Dans cette méthode, la plante est chauffée par un rayonnement micro-onde dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle : Les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azéotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (**Meyer, 1984**). Ce chauffage, en vaporisant l'eau contenue dans les glandes oléifères, crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et libère ainsi le contenu en huile. Les avantages de ce procédé sont le temps d'extraction (dix à trente fois plus rapide), l'économie de l'énergie et une dégradation thermique réduite (**Romdhane, 1993**).

1.3.2.3- Extraction par fluide supercritique

La technologie utilisant les fluides supercritiques suscite actuellement beaucoup d'intérêt dans divers domaines scientifiques et industriels. Les fluides supercritiques les plus utilisés sont le CO₂ et l'eau. L'extraction par CO₂ supercritique est un exemple de technique simple, rapide, efficace et pratiquement sans solvant ni prétraitement (**Huie, 2002 ; Reverchon et De Marco, 2006 ; Gomes et al, 2007 ; Jessop, 1998 ; Mukhopadhyay, 2000**). Généralement le CO₂ supercritique permet de solubiliser des composés apolaires et de faibles masses moléculaires. Sa relative inertie et son inoxydabilité, sa faible viscosité et sa miscibilité en toute proportion avec les gaz à une certaine température critique, donne un avantage important pour la mise en œuvre de procédés chimiques et d'extraction dans les différents domaines (**Poux et al., 2010**).

Toutefois, le CO₂ supercritique possède une très faible polarité comme inconvénient. On est donc souvent amené à travailler sous des pressions très élevées ou alors accroître le pouvoir solvant par l'ajout d'un co-solvant polaire tel que l'éthanol. L'extraction par fluide supercritique permet d'extraire certains composés organiques non facilement extractibles par hydrodistillation, notamment les n-alcanes C₂₇, C₂₉, C₃₁ et C₃₃, (**Hawthorne et al, 1993**).

1.3.2.4- Extraction par eau subcritique

Malgré son usage fréquent comme solvant dans le domaine de la synthèse organique, un grand intérêt pour l'eau en tant que solvant a été généré par le nouveau concept de chimie verte. L'intérêt principal de

l'utilisation de l'eau subcritique réside dans les variations importantes de ses propriétés physicochimiques (Chemat, 2011 ; Mancini, 2006).

1.3.2.5- Extraction par solvant accéléré (ASE)

L'extraction par solvant accéléré est une contribution récente et innovante aux techniques d'extraction. Connue sous le nom d'ASE (Accelerated Solvent Extraction), cette technique permet l'extraction solide-liquide avec des solvants à des températures et à des pressions élevées de façon à accroître l'efficacité de l'extraction, (Hawthorne *et al*, 1993). Ce qui rend le processus d'extraction plus efficace et plus rapide. Les composés non susceptibles d'être hydrolysés, dans ces conditions se prêtent mieux à cette méthode (Golmakani et Rezaei, 2008 ; Milojevic *et al.*, 2008).

À l'heure actuelle, seules trois (3) méthodes d'obtention des huiles essentielles à usage thérapeutique sont autorisées par la pharmacopée européenne : l'entraînement à la vapeur d'eau, la distillation sèche et l'expression à froid pour les huiles essentielles des péricarpes des plantes du genre citrus (Velé, 2015).

1.4- TECHNIQUES D'ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses variables. Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est fondamental, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle (Couic-Marinier et Lobstein, 2013). Pour ce faire, plusieurs techniques sont utilisées. Parmi lesquelles nous avons la chromatographie en phase gazeuse (CPG), la spectroscopie de masse (SM), la résonance magnétique nucléaire (RMN), voire le couplage de ces méthodes.

1.4.1- Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse et de séparation qui s'applique aux composés volatils ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition.

Cette technique usuelle dans l'analyse des huiles essentielles permet d'opérer la séparation de composés volatils de mélange très complexe et une analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit. C'est un outil puissant et polyvalent pour séparer les espèces chimiques. L'échantillon y est injecté et vaporisé au sommet de la colonne. L'élution est assurée par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile.

Contrairement à la plupart des autres types de chromatographie, il n'y a pas d'interaction entre les molécules et la phase mobile ; sa seule fonction est de transporter l'analyte dans la colonne (Arpino *et al*

1995). C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme.

Cette méthode permet de réaliser le profil chromatographique de l'huile essentielle en laboratoire et ainsi d'établir une véritable « carte d'identité » propre à chaque huile essentielle. La CPG sépare les différents constituants de l'huile essentielle. La comparaison des temps de rétention et de certaines propriétés de ces molécules à ceux de témoins connus permet de proposer une composition pour l'huile essentielle. Le pourcentage de chaque molécule est alors indiqué. C'est la méthode de référence (Velé, 2015).

Les progrès technologiques réalisés dans le domaine des colonnes capillaires, des phases stationnaires et des détecteurs (FID) ont contribué à rendre la CPG incontournable pour l'analyse des huiles essentielles. Chaque constituant est caractérisé par des indices calculés à partir d'une gamme d'alcanes ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (indice de Kováts) (Kováts, 1965) ou en programmation de température (indices de rétention) (Van et Kratz, 1963).

Les temps de rétention, bien que spécifiques d'un composé, ont tendance à varier d'une analyse à l'autre, notamment du fait des paramètres ou du vieillissement des colonnes. Les indices de rétention polaire sont comparés à ceux d'échantillons authentiques contenus dans des bibliothèques de référence élaborées au laboratoire, dans des bibliothèques commerciales ou répertoriés dans la littérature (Joulain et König 1998 ; König *et al.* 2001 ; Jennings et Shibamoto, 1980 ; Adams, 1995).

Cependant, une reproductibilité parfaite des indices de rétention est difficile à obtenir et ne peut être observée que sur des chromatogrammes réalisés sur une période courte avec des conditions expérimentales rigoureusement identiques. Les variations les plus importantes sont observées lorsqu'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire avec ceux de la littérature, particulièrement pour ce qui concerne la colonne polaire (Grundschober, 1991).

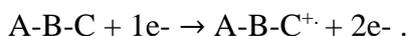
Dans le domaine des huiles essentielles, il a été montré que 230 sesquiterpènes de même masse moléculaire présentent des indices de rétention très proche (Joulain, 1994). Il s'ensuit une grande incertitude dans l'identification des constituants. De plus, les nombreux cas de coélution montrent que la comparaison des indices de rétention et même la méthode des surcharges ne suffisent pas à identifier formellement un composé.

Le couplage de techniques pour surmonter certaines difficultés s'avère nécessaire. On a ainsi la CPG multidimensionnelle (CPG/CPG), mettant en ligne deux colonnes capillaires, permet la séparation, l'identification et la quantification de composés minoritaires pouvant coéluer avec des composés plus abondants. Aussi les techniques de couplage de la CPG avec des techniques spectroscopiques (SM, IRTF) ont permis une approche beaucoup plus précise de l'identification.

1.4.2- Spectrométrie de masse (SM)

La spectrométrie de masse est une technique analytique très puissante permettant de déterminer la masse molaire, la structure d'un composé ou d'expliquer des mécanismes de ruptures de liaisons. C'est une technique très sensible car des limites de détection inférieures au nanogramme et même au picogramme sont souvent atteintes. La spectrométrie de masse, classiquement limitée à l'étude des molécules organiques de masse molaire inférieures à 2000, permet actuellement d'étudier des macromolécules (masse molaire > 100000), dont il est possible de déterminer la masse molaire à une unité près.

L'analyse par spectrométrie de masse permet l'étude des molécules à partir de l'analyse de fragments moléculaires obtenus par ionisation. Ainsi, une molécule A-B-C après ionisation va donner une entité chargée ayant perdu un électron, appelée ion radical :



Une partie des ions radicaux ainsi formés se fragmente donnant lieu à des ions, à des radicaux ou à des molécules neutres. Les fragments chargés sont ensuite triés selon leur rapport masse/charge, noté m/z, et mesurés selon leur abondance relative (**Longevialle, 1981**).

1.4.3- Couplage CPG-SM

Les premiers appareils de routine CPG-SM à colonnes capillaires datent de 1975. Depuis lors, cette méthode de couplage n'a cessé d'évoluer et a trouvé de nombreuses applications dans les domaines de l'agroalimentaire (aliments, eau), des produits pétroliers (carburants, matières synthétiques), des produits naturels (parfumerie, cosmétique, médecine), etc. (**Mc Lafferty et Michnowicz, 1992**).

Il permet d'effectuer la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe. D'un point de vue analytique, d'importants progrès ont été réalisés en couplant la CPG avec des appareils tels que le spectromètre de masse (SM). Ainsi les systèmes actuels de CPG-SM sont très performants pour la séparation, la détection et l'identification des molécules (**NIST, 1999 ; Mc Lafferty et Stauffer, 1994 ; Mc Lafferty et Stauffer, 1989**).

Ce couplage a l'avantage, dans la majorité des cas, d'obtenir des informations concernant la masse molaire d'un composé d'une part ; d'autre part d'identifier un composé en comparant les spectres de masse ainsi obtenus avec ceux des produits de références contenus dans les bibliothèques commerciales disponibles (**Joulain et König, 1998 ; König *et al.* 2001 ; Jennings et Shibamoto, 1980**).

Dans le secteur particulier des huiles essentielles, le couplage CPG-SM est aujourd'hui la technique de référence (**Longevialle, 1981 ; Constantin, 1996**). Il existe plusieurs analyseurs de masse mais les plus fréquents pour l'analyse des huiles essentielles sont le « quadripôle » et le piège à ions ou « ion trap ». Tous deux utilisent la stabilité des trajectoires pour séparer les ions selon le rapport masse sur charge m/z (**De Hoffmann *et al.*, 1999; McLafferty et Tureček, 1993**).

Les détecteurs les plus courants sont les channeltrons (multiplicateurs d'électrons) et les photomultiplicateurs ; ils convertissent les impacts ioniques en signaux. L'ordinateur enregistre les signaux visualisés sous forme de pics d'intensités variables, rangés sur une échelle de masses. Le multiplicateur de photons permet la détection des ions positifs et dans certains cas des ions négatifs.

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (CPG-SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe. Néanmoins, en mode impact électronique (IE), il existe des difficultés qui sont dues :

- à la similitude des spectres de masse. C'est le cas de molécules proches d'un point de vue structural comme les quatre isomères du menthol ou du farnésol (**Masada, 1976 ; Coleman *et al.*, 1989**) ou les acétates d'isobornyle et de bornyle qui ne diffèrent que par la configuration du carbone asymétrique portant le groupement fonctionnel (**Kubeczka *et al.*, 1988**). Cette similitude des spectres de masse est également observée pour certaines molécules possédant des squelettes différents telles les (Z, Z) et (E, Z) - α -farnésène (sesquiterpènes linéaires avec 4 insaturations),
- à la faible intensité voire l'absence du pic moléculaire sur le spectre de masse,
- à la co-élution des composés ou à la mauvaise résolution de certains pics chromatographiques.

Les techniques d'analyse à la disposition de l'expérimentateur d'aujourd'hui permettent, dans la grande majorité des cas, de réaliser ce travail en routine. Cependant, l'identification de certains constituants est parfois délicate et l'utilisation de plusieurs méthodes d'analyse complémentaires s'avère non seulement utile mais nécessaire.

1.4.4- Résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN ¹³C)

L'utilisation de la RMN ¹³C en tant qu'outil analytique des mélanges naturels a été d'abord faite par Formáček et Kubeczka pour leurs travaux (1988), puis développée par Casanova *et al.* (1995) par la suite.

L'originalité de la méthode développée réside dans l'informatisation des analyses faisant appel à cette technique. Le principe consiste à attribuer les raies de résonance de chacun des carbones de chaque composé à partir du spectre unique du mélange et de les comparer à des produits de référence répertoriés dans des bibliothèques. Contrairement aux techniques chromatographiques, les constituants ne font pas l'objet d'une individualisation en RMN (**Kubeczka *et al.*, 1988 ; Formáček et Kubeczka, 1982 ; Formáček et Kubeczka ,2002 ; Liu et Tomi, 2008 ; Tomi *et al.*, 1995 ; Bradesi *et al.*, 1996**).

L'apport de la RMN du carbone-13 à l'analyse d'un mélange complexe est intéressant. Car elle permet, dès lors que leur teneur est supérieure à 0,5% et qu'ils sont présents dans les bibliothèques de référence, d'identifier rapidement et sans ambiguïté, certains composés dont l'analyse par les techniques conventionnelles est problématique. D'une manière générale :

- tous les carbones sont observés à l'exception des carbones quaternaires de ceux des composés minoritaires ;
- les variations des déplacements chimiques sont inférieures ou égales à 0,05 ppm pour la grande majorité des carbones ;
- le nombre de superpositions est limité et n'empêche aucunement l'identification d'un composé par l'observation d'au moins 50% des carbones qui lui appartiennent en propre.

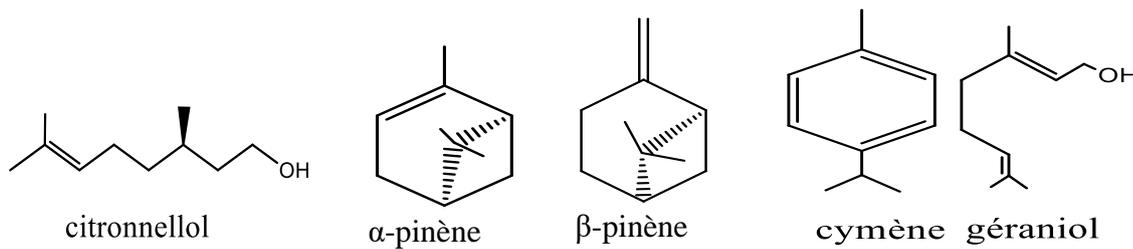
Elle est efficace particulièrement pour la différenciation et l'identification de molécules structurellement très proches, qui co-éluent en CPG, ou les molécules thermosensibles (**Bradesi *et al.*, 1994 ; Thanh *et al.*, 1997**).

1.5- COMPOSITION CHIMIQUE ET BIOSYNTHÈSE DE QUELQUES CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES

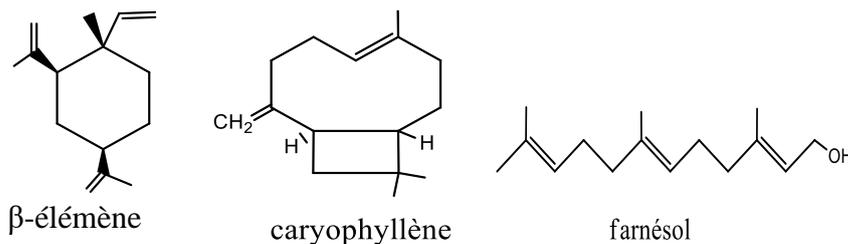
1.5.1- Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants en concentration variable. Les compositions chimiques de nombreuses huiles essentielles ont été décrites. Ces constituants peuvent être répartis principalement en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (**Buchanan *et al.*, 2000**).

La classe des terpénoïdes est la plus variée au niveau structural. Les terpénoïdes, dont 25 000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq carbones, l'isopenténylpyrophosphate. Les plus petits terpénoïdes sont les hémiterpénoïdes (C₅), qui sont formés d'une seule unité isoprénique. Les autres molécules, appartenant à cette classe, résultent de la condensation de plusieurs isoprènes. En fonction du nombre n (entier) d'unités, on peut distinguer : les monoterpènes (n=2, C₁₀), les sesquiterpènes (n=3, C₁₅), les diterpènes (n=4, C₂₀), les sesterpènes (n= 5, C₂₅), les triterpènes (n = 6, C₃₀), les tétraterpènes (n = 8, C₄₀) et les polyterpènes. Les mono et les sesquiterpénoïdes sont les plus représentés dans les huiles essentielles (**Figure 2**).



2-a- Quelques monoterpènes



2-b- Quelques sesquiterpènes

Figure 2 : Quelques monoterpènes et sesquiterpènes

Les phénylpropanoïdes sont biosynthétisés à partir des acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Et les composés phénoliques sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle. Les acides organiques, les cétones de faibles masses moléculaires et les coumarines volatiles, entrent également en faible proportion dans la constitution des huiles essentielles (**Buchanan *et al.*, 2000**). (**Figure 3**).

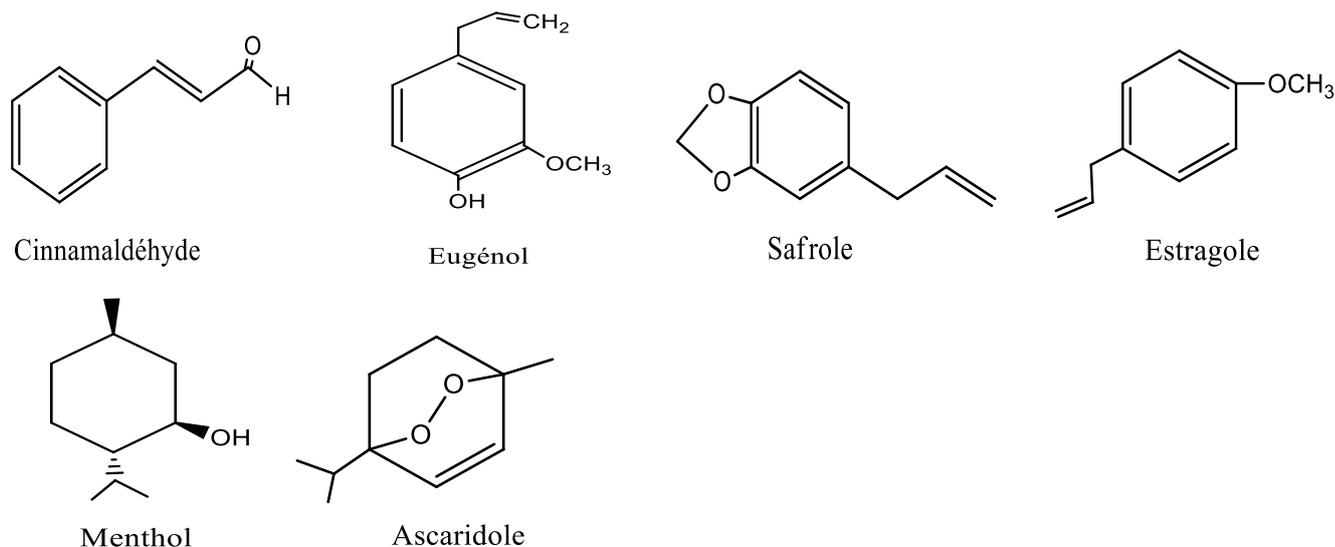


Figure 3 : Quelques constituants des huiles essentielles

La composition des huiles essentielles varie en fonction de différents facteurs, parmi lesquels, la technique d'extraction, le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (Delaquis *et al.*, 2002 ; Gonny *et al.*, 2004 ; Burt, 2004 ; Boti *et al.*, 2006 ; Oussou *et al.*, 2009 ; Koné *et al.*, 2019).

Au sein d'une même espèce la composition chimique de l'huile essentielle peut être différente : on parle alors de races chimiques ou de chémotypes. Il s'agit d'un polymorphisme chimique.

C'est le cas de *Chromoleana odorata* qui présente divers chémotypes, on peut citer ceux de la Côte d'Ivoire, l' α -pinène, le géijérène et le prégeijérène (Bédi *et al.*, 2001), du Benin l' α -pinène, le prégeijérène, le géijérène, le β -pinène et le germacrène-D (Avlessi *et al.*, 2012), de la Chine le β -caryophyllène, le δ -cadinène, l' α -copaène et l'oxyde de β -caryophyllène et du Cameroun l' α -Pinène et le p-cymène.

Kouamé en 2012 a démontré que le rendement en huile essentielle de *Chromoleana odorata* diffère avec la période et la zone de récolte. Il a également observé un seul et même chémotype sur l'ensemble des 5 sites. Ce chémotype est dominé par les sesquiterpènes le germacrène D (15,3-20,0%), le géijérène (14,1-16,9%), le prégeijérène (10,7%) et le β -caryophyllène (7,5-9,7%) et le monoterpène l' α -pinène (7,6-10,3%) et identique à celui décrit par Bédi (Bédi, 2001).

Les huiles essentielles peuvent subir un traitement ultérieur approprié. Elles peuvent être commercialement dénommées comme étant déterpénée, désesquiterpénée, rectifiée ou privée de « x ».

- Une huile essentielle déterpénée est une huile essentielle privée, partiellement ou totalement, des hydrocarbures monoterpéniques.

- Une huile essentielle déterpénée et désesquiterpénée est une huile essentielle privée, partiellement ou totalement, des hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques.
- Une huile essentielle rectifiée est une huile essentielle qui a subi une distillation fractionnée dans le but de supprimer certains constituants ou d'en modifier la teneur.
- Une huile essentielle privée de « x » est une huile essentielle qui a subi une séparation partielle ou complète d'un ou plusieurs constituants (**AFSSAPS, 2008**).

De cette complexité de la composition chimique des huiles essentielles, se dégagent quelques remarques :

- parmi les nombreux constituants d'une huile, l'un domine généralement : il est appelé composé majoritaire ;
- à l'intérieur d'une même espèce végétale, des variations chimiques (qualitative et quantitative) importante sont observées, ce qui conduit à admettre l'existence de 29 chémotypes chimiques (ou races chimiques) (exemple : Thymus à thymol, à géraniol, à carvacrol, à linalool, etc.);
- la composition chimique des huiles essentielles varie avec le milieu et la période de végétation. Elle peut aussi se modifier au cours de l'extraction et durant la conservation (**Lee et al., 1971**).

1.5.2- Biosynthèse de quelques constituants des huiles essentielles

Les terpènes sont très répandus dans la nature, principalement dans les plantes en tant que constituants des huiles essentielles. Ils ont pour formule de base $(C_5H_8)_n$, des multiples de l'isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène) C_5H_8 (**Figure 4**).

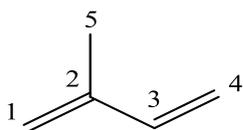


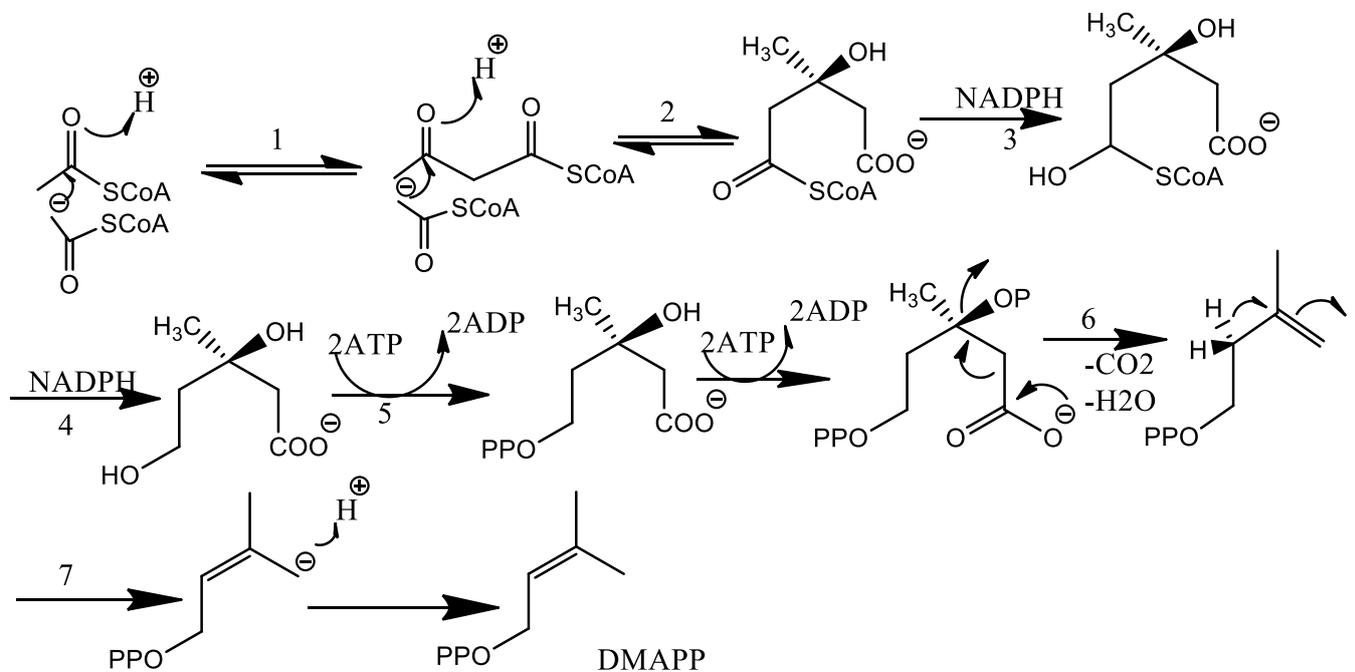
Figure 4: Structure moléculaire de l'isoprène

Les terpènes ne sont cependant pas formés à partir de l'isoprène, celui-ci est obtenu très facilement par leur décomposition.

Les terpènes sont formés à partir d'isopentényl-pyrophosphate (IPP) qui réagit avec soit le diméthylallyl-pyrophosphate (DMAPP), soit le géranyl-pyrophosphate (GPP), soit le géranyl-géranyl-pyrophosphate (GGPP). Tout commence avec l'IPP qui peut être obtenu par la voie de l'acide mévalonique (**Schema 1**) et la voie du méthylérythitol phosphate ou du désoxyxylulose (**Schema 2**).

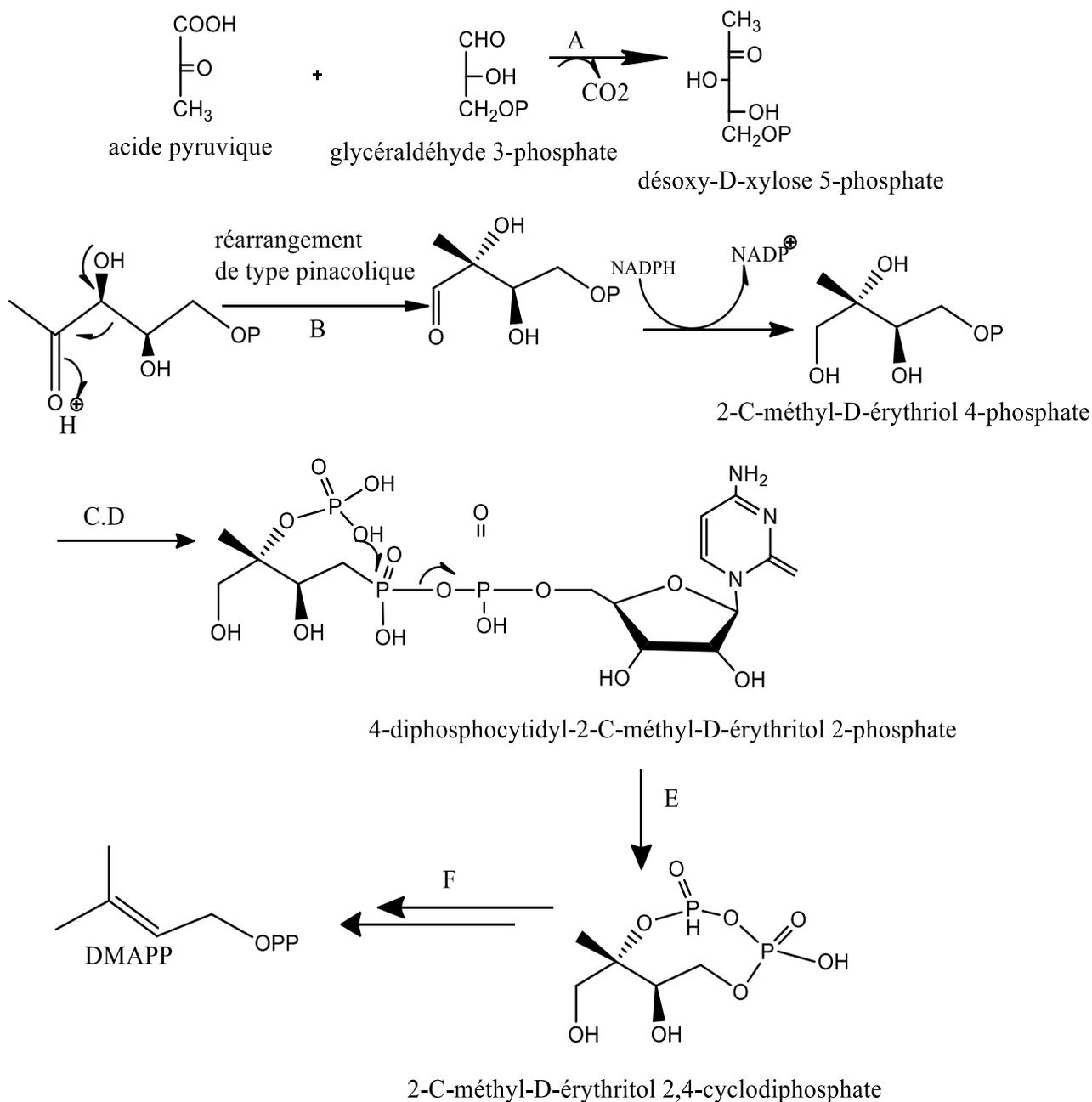
Des travaux expérimentaux, tels que le marquage isotopique ont montré que le squelette carboné des terpènes provenait de l'acétate et que l'acide mévalonique en était le précurseur universel (MAnn, 1987). L'acide mévalonique est formé par condensation successive de trois molécules d'acétylcoenzyme A, sous l'action d'enzymes spécifiques, suivie de réduction.

Sa conversion en structures hémiterpéniques débute par une double phosphorylation : l'acide mévalonique-5-pyrophosphate formé subira ensuite une décarboxylation et une déshydratation pour former l'isopenténylpyrophosphate (IPP). L'acide-3-phosphomévalonique-5-pyrophosphate est très certainement l'intermédiaire réactionnel dans ce processus, puisqu'une mole d'ATP est consommée, induisant un meilleur groupe partant en position 3, dont l'élimination assistera la décarboxylation. Le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) est l'unité isoprénique de base qui, par isomérisation donne le pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP) (Schéma 1-2).



- 1; acétoacétyl-coenzyme A; 2: hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A synthétase
 3: hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A réductase; 4: mévalonate kinase
 5: phosphomévalonate kinase; 6: mévalonate-5-diphosphate décarboxylase
 7: isopentényl diphosphate-isomérase

Schéma 1: Mécanisme de biosynthèse de l'isoprénoïde : voie de mévalonate



A: désoxyxylulose 5-phosphate synthase; B: 1-désoxyxylulose 5-phosphate isoméroréductase;
 C: 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate cytidyltransférèse; D: 4-diphosphocytidyl 2-C-méthyl-D-érythritol kinase; E: 2-C-méthyl-D-érythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase;
 F: (E) D: 4-hydroxyl-2-méthylbut-2-ényldiphosphate synthase

Schéma 2: Mécanisme de biosynthèse de l'isoprène : voie du méthylérythritol phosphate ou du désoxyxylulose

1.5.2.1- Condensation des motifs isopréniques

Les précurseurs des principales classes de terpènes, sont des esters pyrophosphoriques d'alcools en (C₅)_n. Ils sont formés par condensation entre une unité en C₅, le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et un pyrophosphate de prénylallylique, le premier terme de la série étant le Pyrophosphate de diméthylallyle

(DMAPP). La réaction de substitution entre la DMAPP et l'IPP conduit au pyrophosphate de géranyle (GPP), précurseur des monoterpènes ; elle est catalysée par un pyrophosphate de géranyle synthétase.

La réaction implique une substitution nucléophile sur le C₁ du DMAPP (favorisée par la formation d'un cation allylique) et concertée avec élimination d'un groupement pyrophosphate, qui est un bon groupe partant. La stéréochimie du processus bien connue, s'accompagne de l'élimination d'un proton 2-pro-(R) de l'IPP, conduisant à la formation d'une double liaison trans, dans la biosynthèse du GPP.

L'élimination du proton 2-pro-(S) conduirait à la formation de l'isomère cis ; c'est ce que l'on rencontre plus rarement dans la biosynthèse de certaines gommes naturelles.

La stéréochimie de ces réactions dépend très certainement de la conformation de l'IPP au niveau du site actif de(s) enzyme(s) correspondante(s) qui sont des prényltransférase(s). Cette réaction de prénylation peut se poursuivre à travers une réaction de substitution entre l'IPP et le GPP pour conduire au pyrophosphate de farnésyle (FPP), précurseur des sesquiterpènes ; une condensation ultérieure de l'IPP sur le FPP conduira au pyrophosphate de géranylgéranyle (GGPP), précurseur des diterpènes (**Schéma 3**), (**Samaté, 2002 ; Figueredo, 2007**).

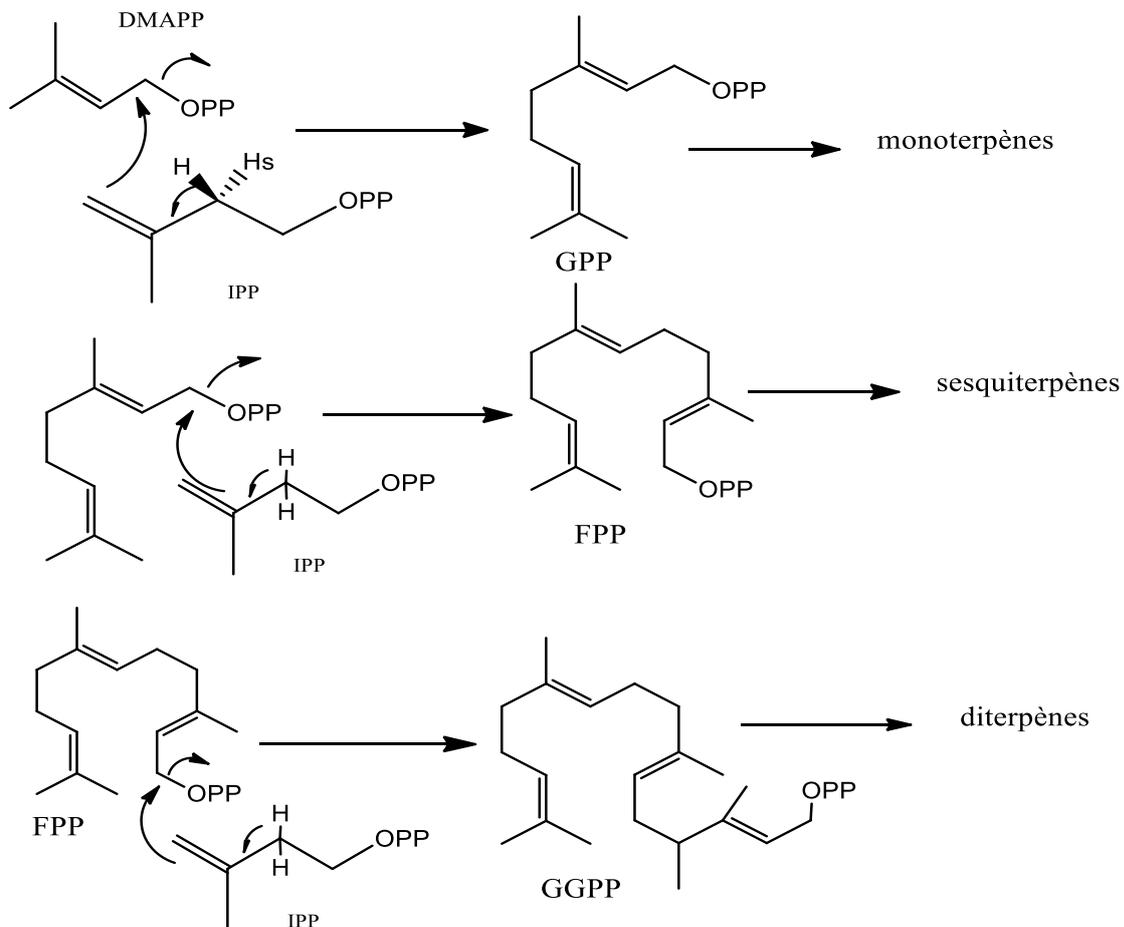


Schéma 3: Processus de formation des précurseurs des terpènes

Les transformations secondaires peuvent être interprétées comme une suite de réactions très classiques : formation de carbocations par solvolysse de pyrophosphates allyliques, ouverture d'époxydes, protonation de doubles liaisons, cyclisation électrophile, réarrangements de type Wagner Meerwein, etc.

1.5.2.2- Biosynthèse de quelques monoterpènes acycliques

Selon leurs caractéristiques géométriques, les différents types de monoterpènes acycliques rencontrés sont susceptibles de dériver "directement" du géranylpyrophosphate ou de son isomère géométrique le nérylpyrophosphate (NPP). L'interconversion GPP-NPP pourrait se faire directement par un processus d'oxydo-réduction, avec un intermédiaire de type aldéhyde, une autre voie biosynthétique probable passant par la formation du linalylpyrophosphate (LPP). La biosynthèse de quelques monoterpènes acycliques hydrocarbonés et oxygénés est décrite ci-dessous (**Schéma 4**).

À chacune de ces espèces chimiques correspond une forme cationique très probablement stabilisée, in vivo, sous forme d'une paire d'ions avec l'anion pyrophosphate susceptible de conduire aux divers types de structures fréquemment rencontrées dans les huiles essentielles (**Figure 2- 3**).

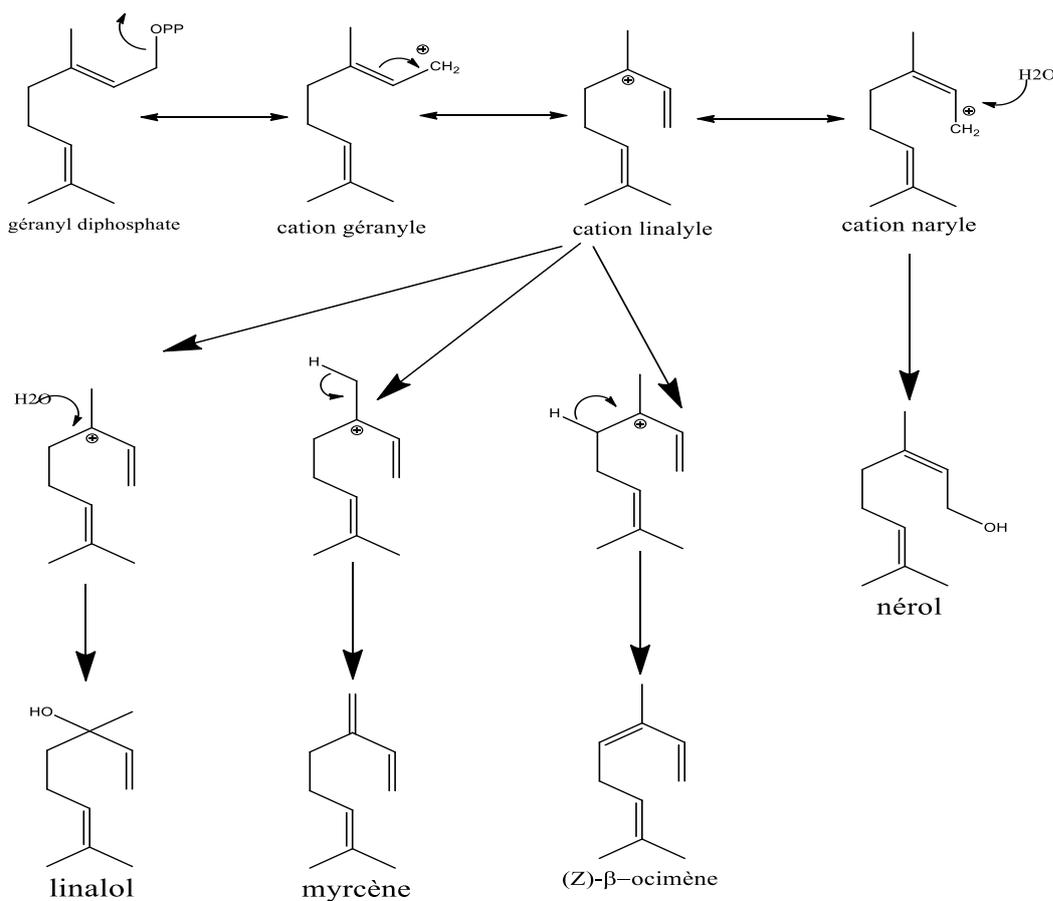


Schéma 4: Voies biosynthétiques de quelques monoterpènes acycliques majeurs

1.5.2.3- Biosynthèse de quelques monoterpènes cycliques

Le pyrophosphate de linalyle (LPP) est le principal précurseur des monoterpènes cycliques. Il a été montré que les cyclases responsables de ces transformations jouent également le rôle d'isomérase, catalysant donc la transformation GPP-LPP avant d'induire les différents processus de cyclisations (Samaté, 2002 ; Figueredo, 2007).

La plupart des squelettes cycliques rencontrés sont susceptibles d'être dérivés d'un précurseur commun, le cation terpinyle, par différents types de réarrangements, sachant que certaines cyclisations interviennent très probablement in vivo directement à partir du LPP, sans passer par l'intermédiaire terpinyle (Schéma 5) (Samaté, 2002 ; Figueredo, 2007).

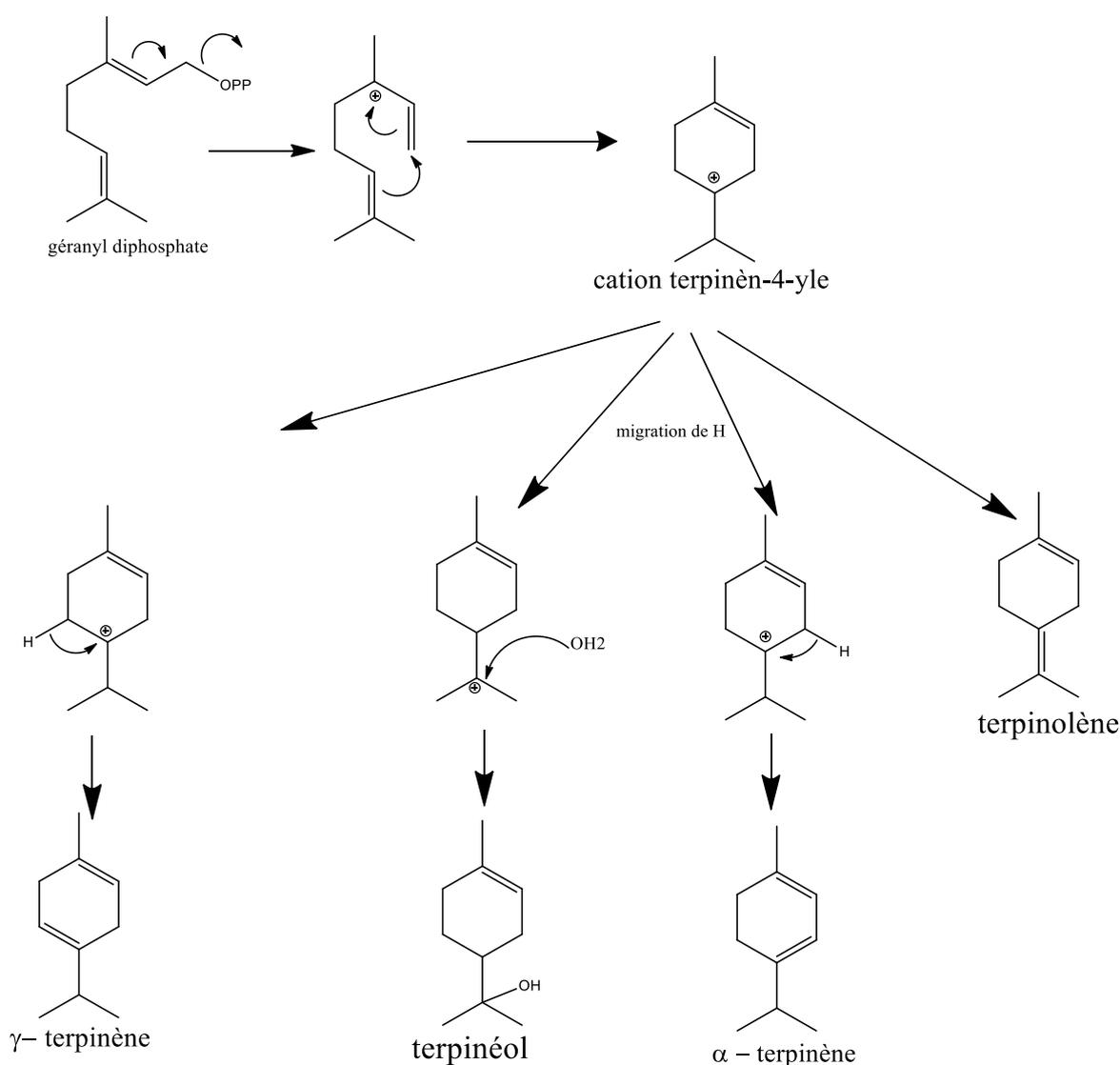


Schéma 5: Voies de formation de quelques monoterpènes cycliques

1.5.2.4- Biosynthèse des sesquiterpènes

Le pyrophosphate de farnésyle, sous deux configurations (2Z, 6E) et (2E, 6E), est à l'origine de la quasi-totalité des composés sesquiterpéniques. On retrouve les réactions d'isomérisation analogues à celles décrites dans l'interconversion GPP, NPP, LPP (Schema 4). Les sesquiterpènes tant acycliques que cycliques sont le résultat de la biotransformation du farnésyldiphosphate (FPP), (**Schémas 6 et Schéma 7**).

Les sesquiterpènes cycliques sont supposés être formés par cyclisation des carbocations issus des deux isomères géométriques du FPP. Les voies biosynthétiques proposées sont inspirées du schéma proposé par Mann (**Mann, 1987**), qui tient compte de la stéréochimie des précurseurs potentiels (2Z, 6E-FPP et 2E,6E-FPP) des différentes structures cycliques rencontrées.

On remarquera en particulier le classement "particulier" du germacrène D avec les noyaux cadinène (et épimères), du fait des affiliations communes à partir du carbocation de la voie 3, ce classement étant confirmé par les réarrangements observés (germacrène D, muurolènes, copaènes, amorphènes, cadinènes) en milieu acide (**Teisseire, 1991**).

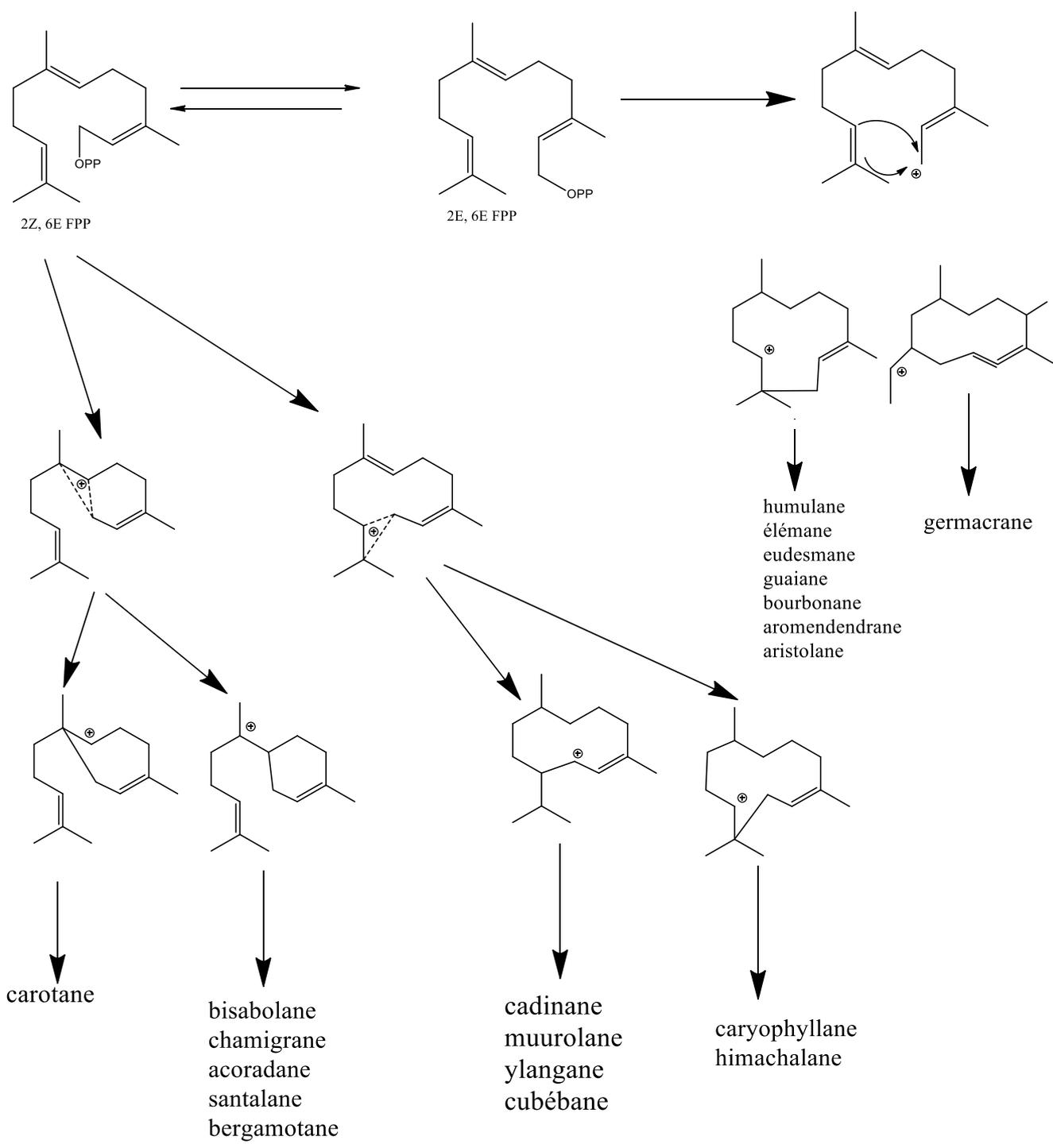


Schéma 6: Biosynthèse des sesquiterpènes cycliques

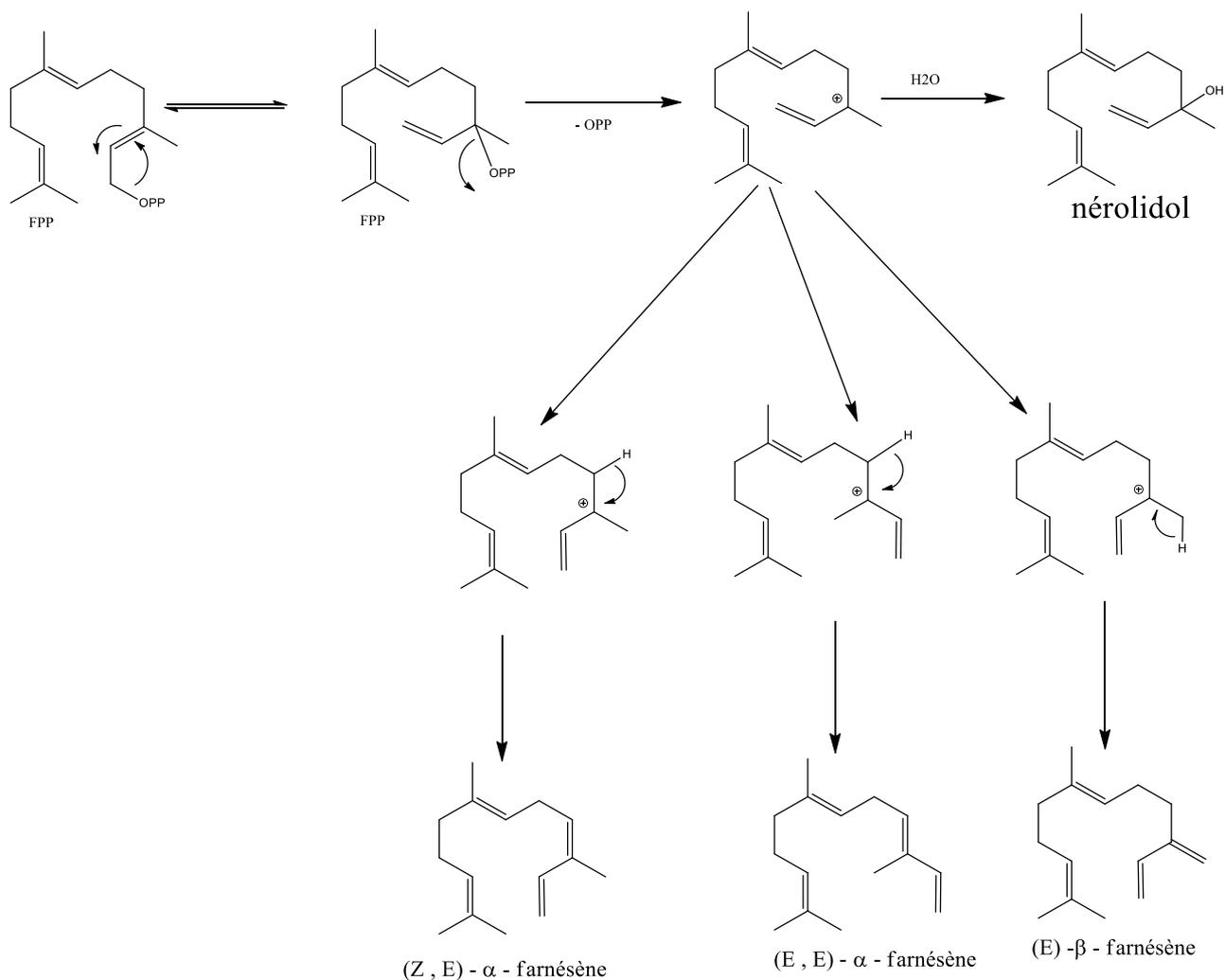


Schéma 7: Voies biosynthétiques de quelques sesquiterpènes acycliques

1.5.2.5- Biosynthèse des dérivés du phénylpropane

Les composés aromatiques sont biologiquement issus d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique. Cet intermédiaire se forme par une série de conversions biologiques dont la première étape est une condensation aldolique stéréospécifique entre le phosphoénolpyruvate (P.E.P.) et l'érythrose-4-phosphate suivie de la cyclisation qui conduit à l'acide déhydroquinique, qui se déshydrate pour donner l'acide déhydroshikimique qui à son tour conduit à l'acide shikimique par une réaction de réduction (**Schéma 8**).

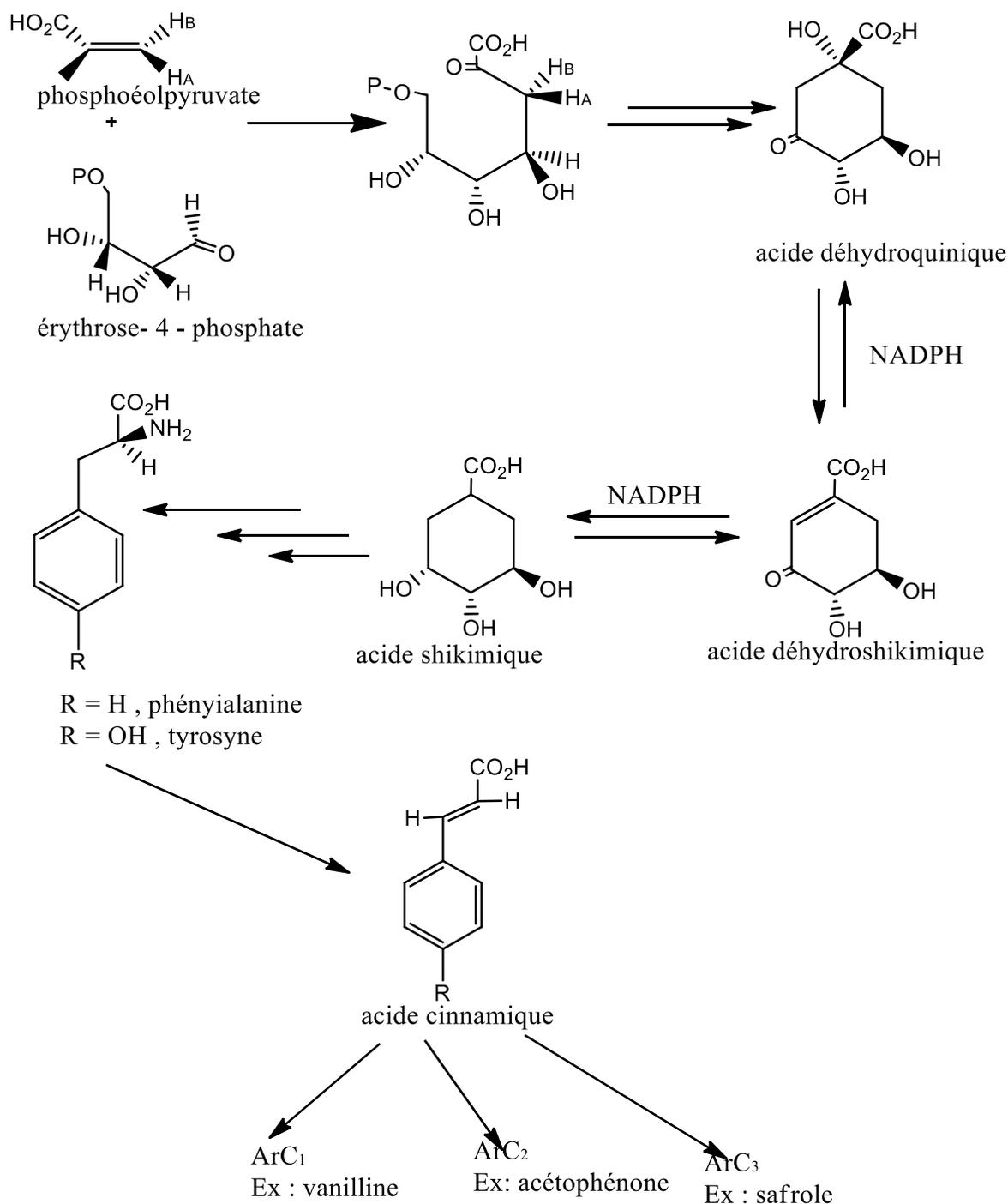


Schéma 8: Biosynthèse des dérivés du phénylpropane

1.5.3- Composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane ont une biogénèse différente de celle des terpènes. On peut citer l'acide et l'aldéhyde cinnamique (huile essentielle de cannelle), l'eugénol (huile essentielle de girofle), le carvacrol (huile essentielle d'origan), qui sont les principaux membres de cette famille. La voie de l'acide shikimique est le précurseur des composés aromatiques (**Schéma 9**), (**Figueredo, 2007**).

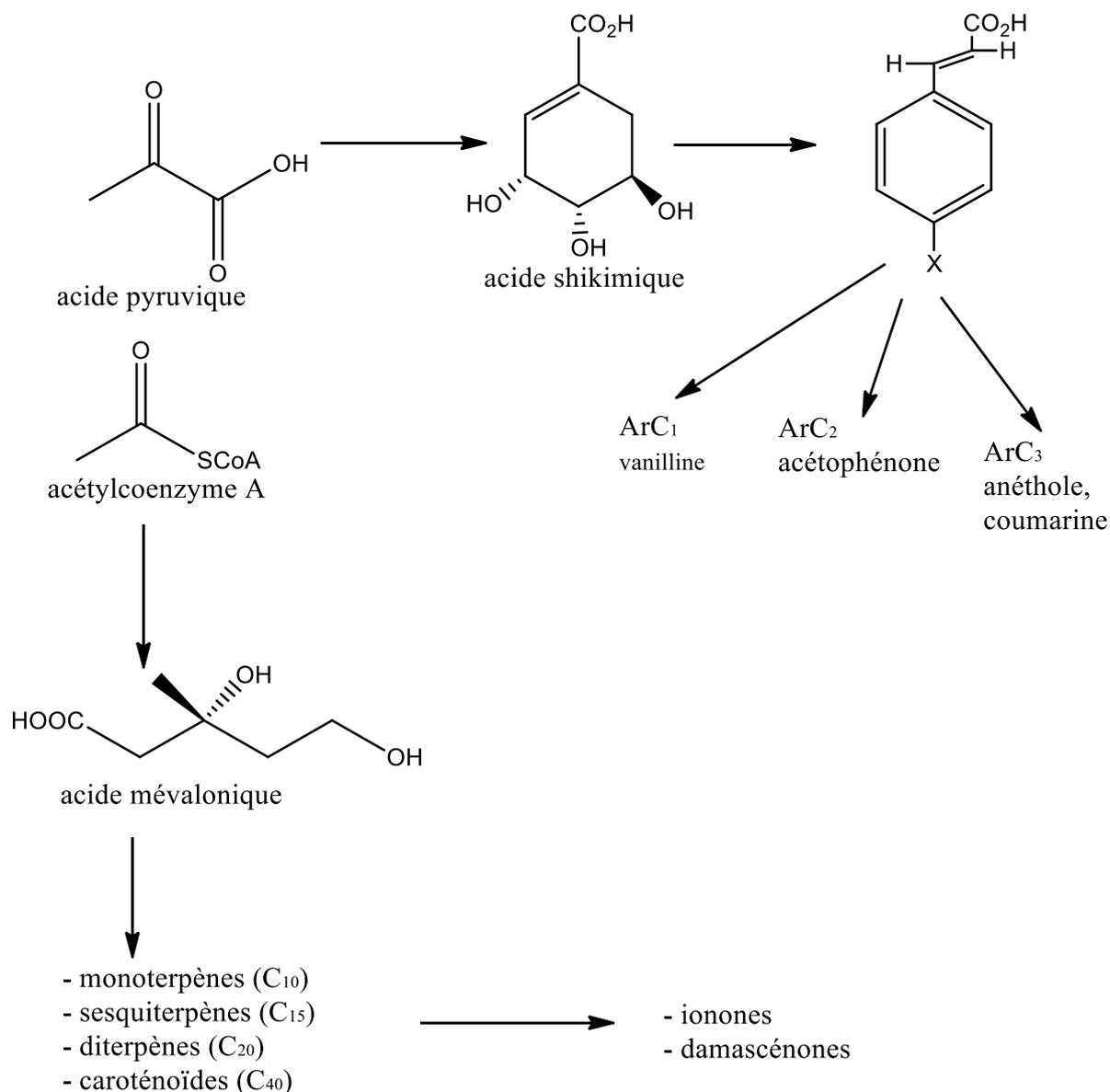


Schéma 9: Principales voies de biosynthèses des composés volatils naturels

1.6- ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES

Les huiles essentielles ont une ou plusieurs vertus particulières et ont des utilisations très diverses (en pharmacie, parfumerie, cosmétique), comme produits phytosanitaires, comme source d'arôme ou en alimentation humaine et animale (**Brenes et Roura, 2010**).

1.6.1- Activités antimicrobiennes des huiles essentielles

De nombreux auteurs se sont attachés à l'étude des huiles essentielles, tant sur le plan chimique qu'au point de vue de leurs activités biologiques. Les huiles essentielles ont une polyvalence d'action du fait de leur extrême complexité chimique et de l'action synergique de leurs composants.

Le pouvoir antiseptique des huiles essentielles est manifeste par voie externe, par la peau, par les voies respiratoires supérieures, les bronches, les poumons (**Jouhannau, 1991**). Il s'exerce à l'encontre de bactéries pathogènes, des champignons responsables de mycoses et sur des levures. Ce pouvoir semble moins établi par voie interne digestive pour atteindre une infection sanguine ou organique.

L'huile essentielle de *Melissa officinalis* est antibactérienne et antifongique. Elle est également responsable des propriétés spasmolytiques (**Bruneton, 1993**).

On connaît aussi huiles essentielles des propriétés antivirales, hypolipémiantes, antiseptiques, le potentiel biostatique (propriétés fongistatiques, bactériostatiques et antioxydantes) , anti-rétroviral, anti-inflammatoire, analgésique, antimicrobien, antiparasitaire, d'inhibition d'odeur et insecticides (**Bruneton1999; Giannenas et al., 2003; Soto et al., 2006; Pandey et al., 2000; Konjufca et al., 1997; Smith et al., 2009**).

1.6.2- Corrélation composition chimique-activité antimicrobienne

Une huile essentielle contient plusieurs molécules différentes. Ces composés travaillent en synergie pour donner à l'huile essentielle ses propriétés. Sa composition chimique n'est par ailleurs jamais rigoureusement identique (**Chassaing, 2006 ; Lahlou, 2004**). Il est impossible de reproduire en laboratoire cette complexité présente à l'état naturel. C'est ce qui explique notamment la grande efficacité des huiles essentielles dans le cadre de la lutte contre les bactéries, les champignons ou les virus.

Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés antibactériennes (**Figure 5**). L'activité de ces molécules dépend à la fois du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées (**Kalemba et Kunicka, 2003**).

Une liste visant à classer les constituants des huiles essentielles en fonction de l'intensité de leur activité, a d'ailleurs été établie. Les composés phénoliques, comme le thymol, le carvacrol et l'eugénol (Figures 5a, 5b et 5c), sont du fait du caractère acide de leur substituant hydroxyle, les plus actifs. Aussi, il n'est pas étonnant de constater que, les huiles essentielles riches en phénols comme les huiles de thym, de *Corydothymus capitatus* et de *Syzygium aromaticum* démontrent les plus hautes activités antibactériennes (**Kalemba et Kunicka, 2003**).

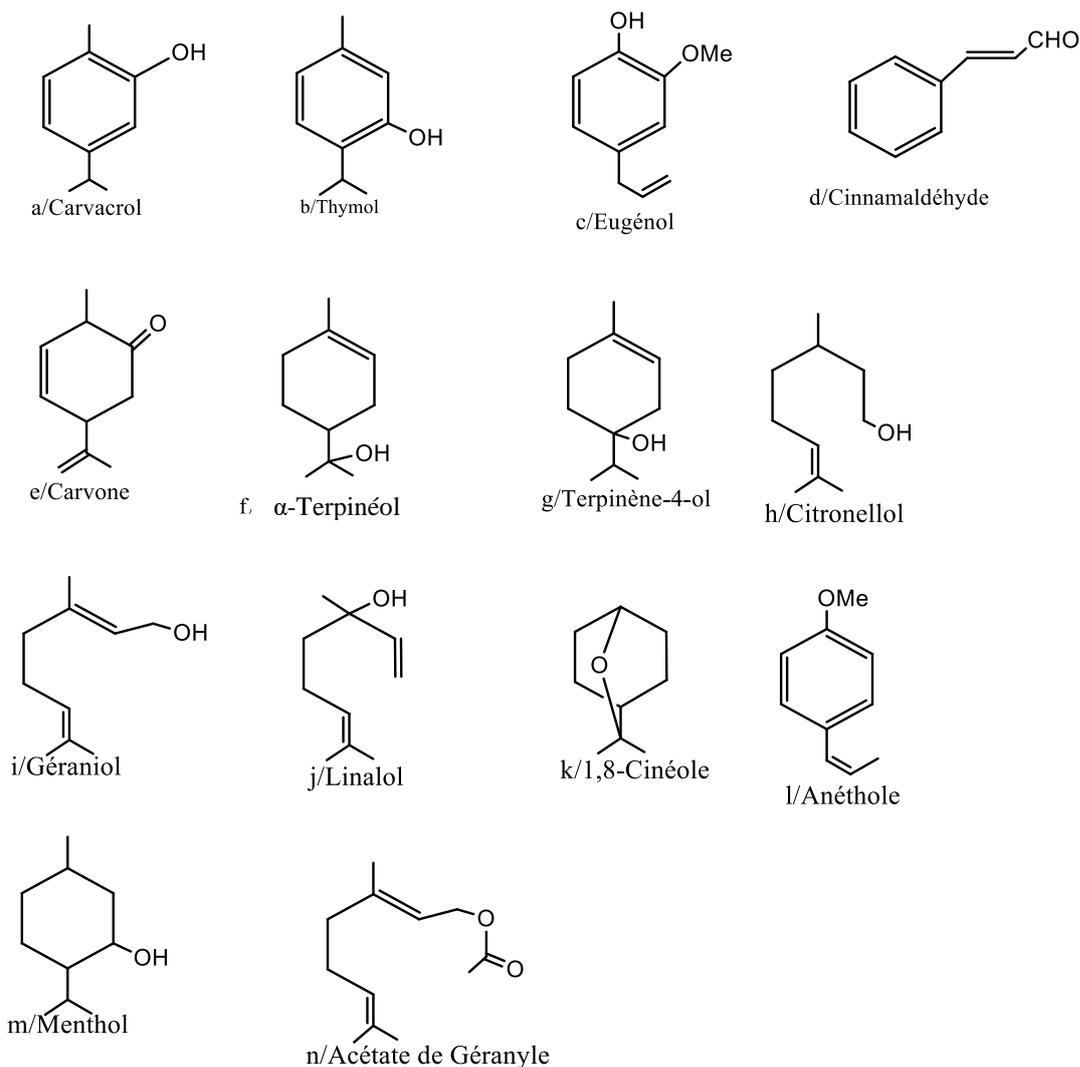


Figure 5: Quelques sesquiterpènes susceptibles de présenter des activités antibactériennes (Kalemba, 2003)

Les composés carbonylés, appartenant aux familles chimiques des aldéhydes et des cétones sont également décrits comme très actifs. Le cinnamaldéhyde (**Figure 5d**), principal constituant de l'huile essentielle et la caravone (**Figure 5e**) qui entrent dans la composition de l'huile de menthe poivrée, font partie de ce groupe.

De nombreuses huiles essentielles présentent une forte teneur en alcools. L'huile de *Melaleuca alternifolia* est riche en α -terpinéol et en terpinène-4-ol (**Figure 5f et 5g**), celle de *Pelargonium asperum* est constituée essentiellement de citronellole et de géraniol (**Figure 5h et 5i**) et celle de *Lavandula angustifolia* est dominée par le linalol (**Figure 5j**). Les alcools sont légèrement moins actifs que les composés phénoliques et carbonylés. Leur activité antibactérienne est toutefois plus élevée que celle générée par les éthers, comme le 1,8 cinéole ou l'anéthole (**Figure 5k et 5l**), et les molécules hydrocarbonées.

La structure chimique des constituants des huiles essentielles influence directement leur activité. Une étude menée par Ultee *et al.* en 2002, a mis en évidence l'importance du noyau benzénique, en démontrant le manque d'activité du menthol (**Figure 5m**) comparée à celle du carvacrol. Le rôle fondamental du groupement hydroxyle dans l'action des phénols a également été confirmé (**Dorman et Deans, 2000 ; Ultee *et al.*, 2002**) et sa position relative sur le noyau benzénique influence peu le degré d'activité.

Ainsi, le thymol et le carvacrol qui ne diffèrent que par la position ortho/méta du substituant hydroxyle, présentent une activité comparable sur des souches de *B. cereus*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* (**Lambert *et al.*, 2001 ; Ultee *et al.*, 2002**).

D'autres groupements fonctionnels, comme les acétates, contribuent à accroître l'activité des molécules antibactériennes. L'acétate de géranyle (**Figure 5n**) est plus actif que le géraniol, contre grand nombre de bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

La nature des groupements alkyles influence sur l'activité des composés. Ainsi, le limonène qui est substitué par un groupement isopropylène en position 4, présente une meilleure activité que son homologue le p-cymène, substitué par un groupement isopropyle (**Dorman, 2000**).

Les interactions entre les constituants des huiles essentielles peuvent également affecter leur activité. Par exemple, l'efficacité des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* contre *S. aureus* et *P. aeruginosa* est due à la synergie entre les principaux constituants : le carvacrol et le thymol (**Lambert *et al.*, 2001**). Une autre interaction synergique a été mise en évidence entre le carvacrol et son précurseur le p-cymène sur *B. cereus*. Le p-cymène semblerait faciliter la pénétration intracellulaire du carvacrol en potentialisant ainsi son action (**Ultee *et al.*, 2002**).

Des effets antagonistes conduisant à une réduction de l'activité antibactérienne ont également été signalés. Ils se produisent généralement entre molécules actives et les composés non oxygénés qui réduisent leur solubilité et donc leur efficacité. Par exemple, la solubilité du terpinène-4-ol est réduite par le γ -terpinène (**Cox *et al.*, 2001**).

Plusieurs facteurs influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation antimicrobienne, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganisme ciblés et leurs éventuelles adaptations aux huiles essentielles.

1.6.3- Activité antioxydante des huiles essentielles

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substances biologiques (**Boyd *et al.*, 2003**). Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (**Vansant, 2004**).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires.

Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ils sont produits en permanence et en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense (**Huang *et al.*, 2005**).

Mais un déséquilibre profond de la balance entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes de l'organisme peut conduire à des dommages cellulaires irréversibles (**Grait et Amamra, 2014**).

Le stress oxydant est aussi un des facteurs favorisant l'apparition de maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

Les antioxydants naturels sont utiles pour neutraliser les radicaux libres (**Vinson, 2006**). Ainsi ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles, parmi lesquelles l'on peut citer les huiles essentielles (**Sanchez-Moreno, 2002 ; Marc *et al.* 2004 ; Huang *et al.*, 2005**).

La bibliographie fait apparaître de nombreuses méthodes spectrométriques de détermination de l'activité antioxydante. Celles couramment citées sont la méthode au DPPH (DiphénylPicrylhydrazyle) et la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

1.6.3.1- Méthodes d'évaluation *in vitro* des propriétés antioxydantes par la méthode de DPPH

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle est un radical libre, stable au cours du temps et largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé quelconque. Le radical DPPH en solution est coloré en violet. En présence d'antioxydant (donneurs de proton), le radical DPPH est réduit en formant une liaison moléculaire stable (**Schéma 10**). Le produit réduit présente une coloration qui tire vers le jaune. On mesure

à l'aide d'un spectromètre UV à 517 nm, la diminution de coloration de la solution qui est proportionnelle à la quantité d'antioxydant. L'activité antioxydante de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition (**Blois, 1958**).

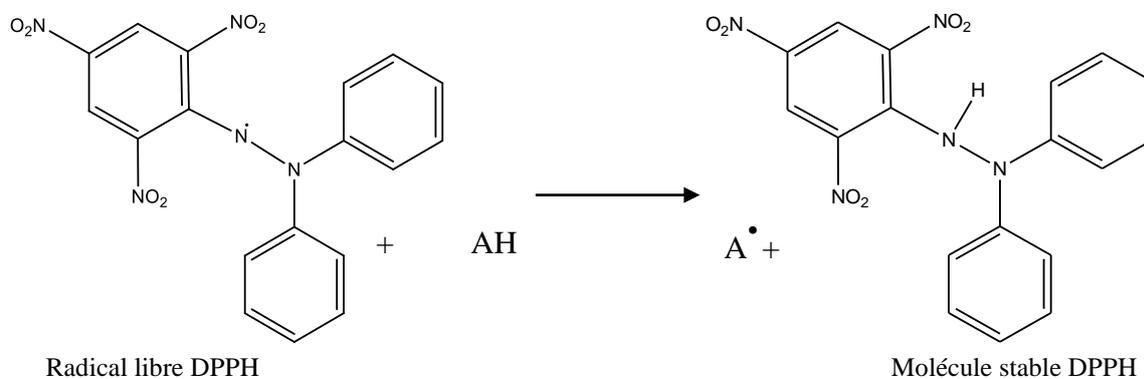


Schéma 10: Réaction d'oxydoréduction de piégeage du DPPH traduisant l'activité antioxydant du composé AH

1.6.3.2- Méthodes d'évaluation *in vitro* des propriétés antioxydantes par la méthode de FRAP

Les métaux sont en général les meilleurs initiateurs de réactions en chaîne susceptibles de déséquilibrer la balance du stress oxydatif en faveur de prooxydants. Parmi ces métaux, le cation ferrique Fe^{3+} est le plus actif et on le retrouve souvent dans les aliments d'origine végétale ou animale.

Le pouvoir réducteur d'un extrait vis-à-vis du cation ferrique peut être considéré comme un indicateur de son activité antioxydante. L'activité antioxydante, non enzymatique, d'inhibition de radicaux libres et de la peroxydation lipidique, est généralement contrôlée par des réactions d'oxydo-réduction. La méthode FRAP peut être une bonne méthode pour investiguer le pouvoir antioxydant d'un extrait en évaluant son pouvoir de réduction du cation ferrique. La capacité totale en antioxydant de chaque extrait de plante est déterminée par la méthode Hinneburg adaptée par **Lamien-Meda *et al.* (2008)**.

Le dosage consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)] de couleur jaune en complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ)] de couleur bleu sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (**Schéma 11**). La variation de la coloration est mesurée à 700 nm.

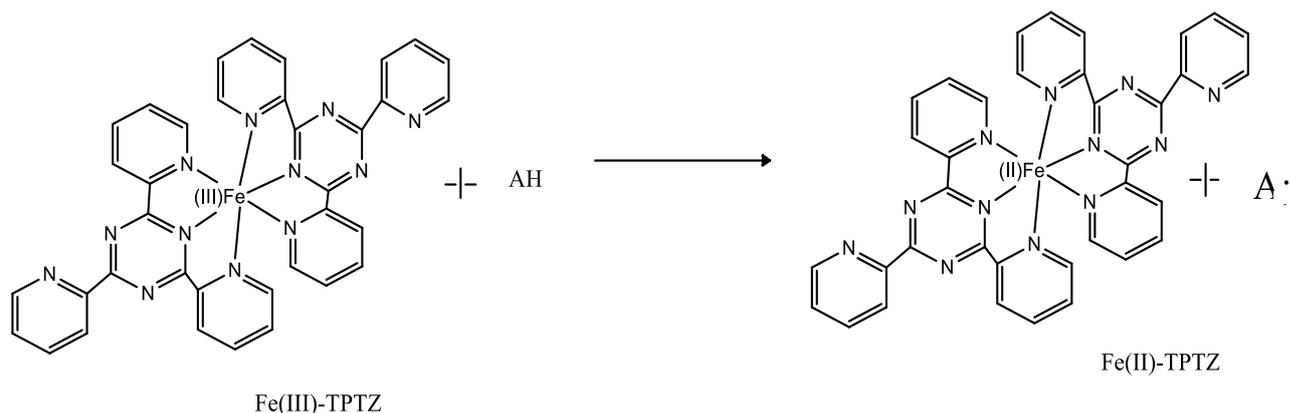


Schéma 11: Schéma réactionnel du test FRAP

1.6.4- Toxicité des huiles essentielles

En dépit de leurs nombreux avantages, les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels elles ne sont pas sans danger. En effet, bien que naturelles, il est capital d'intégrer la notion de la dualité « efficacité-toxicité » car toute substance thérapeutiquement active est potentiellement toxique. La toxicité des HE est directement liée à leur composition chimique, les composés polyinsaturés étant plus toxiques que les autres (cétones, lactones, phénols...).

À propos des propriétés toxicologiques des huiles essentielles, le risque de toxicité immédiat lié à une ingestion massive est mieux connu, en particulier, la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone (thuya, sauge officinale, tanaïsie, absinthe, etc.) ou à pinocamphore (hysope) (**Steinmetzm *et al.*, 1980**). La toxicité chronique est assez mal connue, on manque de données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes, tératogènes ou cancérigènes.

Les huiles essentielles riches en phénols, aldéhydes aromatiques et terpéniques sont irritantes pour la peau et les muqueuses. Il faudra toujours les diluer avec une huile végétale (20% d'huile essentielle maximum dans 80% d'huile végétale) et les appliquer sur des surfaces corporelles bien localisées. L'essence de térébenthine est révulsive pour la peau, elle provoque entre autres une sensation de chaleur et une légère action anesthésique (**Jouhanneau, 1991**).

Les lactones sesquiterpéniques, l'aldéhyde cinnamique, les phénylpropanoïdes et les hydroperoxydes sont les principales molécules responsables de phénomènes allergiques dont le risque varie évidemment avec le patient. Même les huiles essentielles qui sont censées combattre les réactions prurigineuses allergiques peuvent, après un usage sur de longues périodes, provoquer des réactions allergisantes chez le patient hypersensible comme *Mentha piperita* (Menthe poivrée), *Salvia officinalis* (Sauge officinale),

Lavandula sp. (Toutes les espèces de lavandes et de lavandins), *Melissa officinalis* (Mélisse). Les huiles essentielles d’Absinthe, l’Armoise, le Cèdre, l’Hysope, la Sauge officinale, le Thuya, la Menthe poivrée sont contre-indiquées en cas d’antécédents d’épilepsie, chez les personnes âgées avec troubles nerveux et chez les enfants de moins de sept ans (**Bruneton, 2009; Roux, 2011; Velé, 2015; Marinier, 2009; Baudoux, 2000; Franchomme et al., 2007; Pacchioni I., 2014; Pierron, 2014**).

La neurotoxicité s’explique par la forte affinité des cétones pour les lipides, il y aurait passage de la barrière hémato-encéphalique, destruction des gaines de myéline et perturbations électriques des neurones avec excitation puis dépression. Les HE à cétones ont également un effet abortif dû à l’activité utéro-tonique et seront par conséquent totalement contre-indiquées en cas de grossesse.

L’absorption orale prolongée des HE riches en monoterpènes (pinène, camphène) est susceptible d’enflammer et d’abîmer les néphrons. Ces HE, surtout celles des *Pinus sp* (toutes les espèces de Pin), des *Abies sp* (toutes les espèces de Sapin), des *Juniperus sp* (toutes les espèces de Genévrier), de même pour le *Santalum album* (Santal blanc de Mysore) seront donc à éviter en cas d’insuffisance rénale, ou de façon générale chez les personnes âgées. (**Bruneton, 2009; Roux, 2011; Velé, 2015; Marinier, 2009; Baudoux, 2000; Franchomme et al., 2007; Pacchioni I., 2014; Pierron, 2014**).

1.6.5- Conservation des huiles essentielles

La plupart des molécules constitutives des huiles essentielles sont insaturées, ce qui les rend instables et sensibles à l’altération. Selon les conditions de conservation les essences naturelles peuvent être sujettes à des réactions secondaires telles que : le réarrangement moléculaire, la polymérisation, l’oxydation, la fermentation, l’hydrolyse, etc. Il est possible de limiter ces dégradations en prenant certaines précautions (**Franchomme, 1990**) :

- l’utilisation des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche ;
- le stockage à basse température ;
- la conservation sous atmosphère d’azote ;
- l’adjonction d’antioxydants, etc.

CHAPITRE 2- GÉNÉRALITÉS SUR LES PLANTES ETUDIÉES

2.1- *Emilia praetermissa* Milne-Redh (Asteraceae)

2.1.1- Genre *Emilia*

Le genre *Emilia* compte en Afrique tropicale une cinquantaine d'espèces, la plupart réparties en Afrique centrale et orientale. En Afrique occidentale (du Sénégal au Caméroun), ce genre est représenté seulement par six espèces (Lisowski, 1997).

Une enquête ethnobotanique menée auprès de 110 herboristes des marchés du district autonome d'Abidjan (Côte d'Ivoire) a permis de répertorier 27 espèces végétales appartenant à la famille des Asteraceae parmi lesquelles deux espèces de *Emilia*, *Emilia praetermissa* Milne-Readhead , *Emilia sonchifolia* (L.) DC. (Yapi et al., 2015). Une troisième espèce, *Emilia coccinea* (Sims) G. Don, est citée dans les travaux de Aké en 2002, (Aké, 2002)

2.1.2-Description et position systématique de *E. praetermissa*

➤ Description

Emilia praetermissa (Figure 6) est une herbe annuelle, atteignant 140 cm de haut. Tiges dressées ou ascendant, simple ou ramifié à partir de la base, glabre à entre-nœuds pileux, basaux de 0,6–2 cm de long, entre-nœuds supérieurs à 9 cm de long. Limbe des feuilles le plus bas largement ovale, subcordé, à pétioles atténués. Les marges sont fortement dentées, 4 cm de long, 4,5 cm de large. Les pétioles sont longs de 1,5 à 2,5 cm, modérément pileux, sans ailes et non auriculés. Les bords des feuilles sont larges et dentés, 6 cm de long et 6 cm de large. Les pétioles sont de 2–3 cm long, ailés, non auriculés, modérément pileux ; mais fortement auriculés. Les oreillettes sont largement dentées et les feuilles les plus hautes sont sessiles, auriculées-cordées. La nervure médiane de la surface inférieure est modérément pileuse. Le nombre de chromosomes est de $2n = 20$. (Chung et al., 2009).

E. praetermissa se comporte comme une mauvaise herbe à la fois dans les sites naturels perturbés et sur les terres agricoles. C'est une plante herbacée à croissance rapide qui peut coloniser rapidement les bords de routes, les terrains vagues, les jardins, les lisières des forêts (Anonyme 1).



Figure 6: *E. praetermissa* (photo : Kouassi, 2020)

➤ **Position systématique**

Domaine : Biota Endl.(D.Don)

Règne : Plantae Haeckel, 1866

Sous-règne : viridaplantae

Infra-règne : Streptophyta John, Williamson & Guiry, 2011

Classe : Equisetopsida C.Agardh, 1825

Clade : Tracheophyta Synnott ex cavalier-Smith, 1998

Clade : Spermatophyta

Sous-classe : Magnoliadae Novàk ex Takht, 1967

Super-ordre : Asteranae Takht, 1967

Ordre : Asterales link, 1829

Famille : Asteraceae Bercht & J Presi., 1820

Sous-Famille : Asteroideae Lindl., 1829

Tribu : Senecioneae Cass., 1819

Sous-Tribu : Senecioneae Dumort., 1827

Genre : *Emilia* Cass., 1817

Espèces : *Emilia praetermissa* Milne-Readh., 1951 (**Anonyme 3**)

➤ **Synonymes :**

Emilia praetermissa est parfois appelée *Emilia sagittata* (**Anonyme 2**).

➤ Noms vernaculaires

Elle est appelée òdúndún-odò au Nigéria par les Yoruba (**Anonyme 2**). En Côte d'Ivoire les Kru l'appelle kluapo (**Burkill, 1985**) et les Akyé, Tchocoli-baté (**Yapi et al. 2015**).

2.1.3-Utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle de la plante

La décoction de la plante est utilisée pour laver les nouveau-nés. Les racines sont également utilisées pour traiter les coliques chez les bébés et également comme médicament pour la poitrine. La plante est étroitement apparentée à *Emilia coccinea* et, jusqu'en 1950, n'en était pas différenciée. Les utilisations médicinales de *E. Coccinea* s'appliquent presque certainement avec *E.praetermissa* (**Burkil, 1985**).

Les feuilles vertes sont écrasées et utilisées pour traiter les plaies, la sinusite et comme cataplasme pour les blessures. Les feuilles sont mélangées à celles d'*Ipomoea eriocarpa*, puis trempées dans de l'eau froide et l'infusion résultante utilisée comme collyre. Les racines sont bouillies et la décoction utilisée pour traiter la maladie vénérienne (**Christopher et al., 2002**). En Côte d'Ivoire une enquête ethnobotanique a révélé que *E. praetermissa* est utilisée contre les maux de ventre, le paludisme, les maladies infantiles et pour la grossesse (**Yapi et al. 2015**).

2.1.4- Études antérieures sur *Emilia praetermissa*

➤ Études chimiques

A notre connaissance, aucune étude chimique sur *E. praetermissa*. Néanmoins, Shen *et al.* En 2012 ont isolé et identifié d'une autre espèce, *Emilia sonchifolia*, quinze composés de la fraction d'acétate d'éthyle de l'extrait éthanolique. Il s'agit de l'isorhamnetine; la quercétine; la lutéoline; la tricine-7-*O*-bêta-*D*-glucopyranoside; le 8-(2-pyrrolidinone-5-yl)-quercétine; le 5,2,6-trihydroxy-7,8-diméthoxyflavone-2-*O*-beta-*D*-glucopyranoside, l'acide succinique, l'acide fumarique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide 4-hydroxy isophthalique, l'acide 3,4-dihydroxycinnamique, l'esculétine, isowedelolactone et l'uracile (**Shen et al., 2012**).

➤ Études pharmacologiques

Afolayan *et al* ont évalué l'activité antimicrobienne des extraits au méthanol, à l'eau chaude et à l'eau froide de la feuille de *E. pratermissa*. Leur étude a porté sur des organismes isolés de patients atteints d'otite moyenne. L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion en puits de gélose. L'activité antimicrobienne des trois extraits a inhibé la croissance des organismes testés autant que celle des antibiotiques commerciaux (**Afolayan et al., 2017**).

Anaka *et al.* ont évalué l'effet de l'extrait aqueux des feuilles de *E. praetermissa* contre l'hyperlipidémie. Ils ont montré que l'administration orale d'extrait aqueux de feuille de *Emilia praetermissa* réduit l'hyperlipidémie. L'hyperlipidémie est un excès de corps gras appelés lipides, principalement du cholestérol et des triglycérides, dans le sang (Anaka *et al.*, 2013).

Ndji *et al.* ont mené une étude de toxicité aiguë de l'extrait éthanolique de *E. praetermissa*. L'étude a révélé que sa dose létale de 50% (DL₅₀) est supérieure à 2,0 g / kg chez le rat. Ainsi des doses élevées d'extrait prises pendant de longues périodes peuvent avoir des effets toxiques sur le foie, les poumons et les reins (Ndji *et al.*, 2017).

2.2- *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. (Asteraceae)

2.2.1- Genre *porophyllum*

Les plantes du genre *Porophyllum* (famille des Asteraceae) sont originaires de l'hémisphère occidental et poussent dans les régions tropicales et subtropicales d'Amérique du Nord et du Sud. Il se compose de 92 espèces, dont 17 se trouvent au Mexique. Ce sont des plantes annuelles ou vivaces qui possèdent des feuilles vertes développées avec des glandes aromatiques et une forte saveur. Certaines de ces espèces sont cultivées dans des jardins familiaux. Leurs feuilles possèdent de grandes glandes qui dégagent des huiles aromatiques. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en cuisine comme assaisonnement.

Les infusions de certaines espèces de *Porophyllum* sont utilisées en médecine traditionnelle en raison d'activités contre les crampes et les maladies vénériennes, ainsi que leurs propriétés antispasmodique, antibactérienne, anti-inflammatoire, antifongique, et propriété insecticide, notamment *Porophyllum gracile* Courbé, *Porophyllum linaria*, *Porophyllum obscurum* (Spreng.) CC, *Porophyllum ruderale*, *Porophyllum tagetoides*, *Porophyllum scoparia* A. Gris, et *Porophyllum riedelli* Baker (Vázquez-Atanacio, 2021).

2.2.2-Description et position systématique de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.

➤ Description

Porophyllum ruderale (Figure 7), est une plante annuelle érigée, généralement plutôt peu ramifiée, atteignant 20 à 100 cm de haut. Elle est plus connue sous le nom de la "coriandre bolivienne" ou de "arnica-brésilienne" et est une plante originaire d'Amérique tropicale (Fonseca *et al.*, 2006).

Cette plante annuelle, herbacée, à tige ramifiée, se propage principalement par les graines. De la famille des *Asteraceae*, *P. ruderale* produit beaucoup de semences avec un taux de germination élevé. Le fruit

nommé akène, est un fruit sec indéhiscent, très léger, présentant une touffe de poils à l'extrémité (**Frangiote-Pallone et De Souza, 2012**). Ces organes annexes, comme ceux de *Tridax procumbens* (Asteraceae), et de *Chromolaena odorata* (Asteraceae), facilitent la dispersion sur de longues distances, se collant facilement aux pelages des animaux et aux vêtements des hommes ou transportés par le vent (**Johnson, 1997**). Cette espèce s'adapte à différents types de sols, même pauvres ou sableux (**Kissmam et Groth, 1999**).

En Côte d'Ivoire, on observe une soudaine apparition et prolifération de cet adventice sur les parcelles agricoles. L'adventice se rencontre aux bords des routes et pistes, dans les jachères, les décombres, mais surtout dans les espaces ouverts naturellement ou perturbés par l'homme notamment les champs cultivés (**Frangiote-Pallone et De Souza, 2014, Kpla et al., 2018**). Aucune autre espèce n'est répertoriée dans le pays, selon la littérature consultée.



Figure 7: Partie aérienne de *P. ruderalis* (photo : Kouassi, 2020)

➤ **Position systématique**

Domaine : Biota Endl.(D.Don)

Règne : Plantae Haeckel, 1866

Sous-règne : viridaeplantae

Infra-règne : Streptophyta John, Williamson & Guiry, 2011

Classe : Equisetopsida C.Agardh, 1825

Clade : Tracheophyta Synnott ex cavalier-Smith, 1998

Clade : Spermatophyta

Sous-classe : Magnoliadae Novàk ex Takht, 1967

Super-ordre : Asteranae Takht, 1967

Ordre : Asterales link, 1829

Famille : Asteraceae Bercht & J Presi., 1820

Sous-Famille : Asteroideae Lindl., 1829

Tribu : Tageteae Cass., 1819

Genre : *Porophyllum* Guett., 1754

Espèces : *porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass., 1826 (**Anonyme 3**)

➤ **Synonymes**

Porophyllum ruderale var. *angustifolia* Hassl ;

Porophyllum ruderale var. *ellipticum* (Cass.) A. Gray ex B.L. Rob. ;

Porophyllum ruderale var. *glandulosum* Chodat ;

Porophyllum ruderale subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson ;

Porophyllum ruderale var. *macrocephalum* (DC.) Cronquist ;

Porophyllum ruderale var. *macrolepidium* (Malme) Chodat ;

Porophyllum ruderale (Jacq.) Cass. Subsp. *Ruderale* ;

Porophyllum ruderale (Jacq.) Cass. Var. *runderale* ;

Porophyllum ruderale fo. *Suffruticosum* Chodat, (Anonyme 3).

➤ **Noms vernaculaires**

Elle est plus connue sous le nom de la "coriandre bolivienne" ou de "arnica-brésilienne" et est une plante originaire d'Amérique tropicale (**Fonseca et al., 2006**).

2.2.3-Utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle de *P. ruderale*

P. ruderale est une herbe utilisée en médecine populaire pour la cicatrisation, comme anti-inflammatoire, fongicide, antibactérien, anti-stress, pour lutter contre l'hypertension artérielle, la

leishmaniose, le traumatisme, l'antidote contre le poison de serpent, le soulagement de la douleur et les rhumatismes (**Fonseca et al., 2006**).

2.2.4- Études antérieures sur *P. ruderale*

Plusieurs études chimiques et biologiques ont été menées sur *P. ruderale*, principalement sur la partie supérieure (tiges, feuilles et fleurs).

➤ Études chimiques

Les composés phénoliques totaux et l'activité antioxydante ont été évalués sur des extraits au solvant des feuilles de *P. ruderale*. L'étude a révélé que les feuilles fraîches de *P. ruderale* contenaient une grande quantité de phénols totaux (**Conde-Hernández et al., 2014**).

Plusieurs études ont montré que la composition chimique de l'huile de *P. ruderale* présente des variations selon l'origine géographique des plantes. Les huiles de feuilles de plantes de Bolivie ont le monoterpène sabinène (64%) comme constituant majeur. Les huiles de feuilles de plantes trouvées au Mexique contiennent du limonène (71,4%) comme constituant majeur. De même, l'huile essentielle de *P. ruderale* du Ceará-Brésil est également riche en limonène (74,6%) (**Loayza et al., 2000 ; Raggi et al., 2014**). Tandis que les résultats d'une étude au Brésil suggèrent que l'huile essentielle analysée constitue un nouveau chémotype de *P. ruderale*, riche en β -phellandrène et sans limonène (**Fonsecca et al., 2006**).

➤ Études pharmacologiques

Des analyses sur l'extrait aqueux de *P. ruderale* ont attesté ses effets analgésique et les actions anti-inflammatoires, en comparaison avec des substances qui sont considérées comme des normes pour ces activités (**Gabrielle et al., 2011**).

Takashi et al. (2011) ont montré que l'extrait au dichlorométhane des feuilles de *P. ruderale* a des activités antileishmaniales et cytotoxiques. Et que les dérivés de thiophène isolés de *P. ruderale* présentent une forte activité contre les formes promastigotes et amastigotes axéniques de *Leishmania amazonensis* (**Takashi et al., 2011**).

2.3- *Premna quadrifolia* Schumach. & Thonn. (Lamiaceae)

2.3.1- Genre *Premna*

Le genre *Premna* comprend environ 225 espèces, réparties principalement dans les zones tropicales et subtropicales. Il a déjà été classé au sein de la famille *Verbenaceae* (**Munir, 1984**), mais a été transféré dans la famille *Lamiaceae* (**Harley et al. 2004 ; APG, 2009 ; Olmstead, 2010 ; 2012**).

Morphologiquement, la plupart des espèces du genre *Premna* sont de petits arbres ou arbustes et rarement trouvées comme lianes (*P. trichostoma* Miq.) et pyroherbes (*P. herbacea* Roxb.). Certaines espèces ont de jeunes brindilles avec une série de petites écailles triangulaires décussées à la base qui tombera une fois que la branche est plus ancienne. Les feuilles sont généralement décussées et poilues.

Une crête est souvent présente entre les pétioles. Il existe deux formes de types de calyx. Le premier a quatre lobes isomorphes, la forme restant largement intacte lorsque la fleur se développe et quand les fruits sont formés. Le deuxième type a des lobes et est généralement hétéromorphes. Il y a aussi deux types de fruits : un fruit globose drupe composé de quatre méricarps charnus avec une graine chacun, et un clavoïde, presque uni-semé, drupe et composé d'un méricarpe charnu (**De Kok, 2013**).

En Côte d'Ivoire certaines espèces sont citées : *Premna angolensis* Gürke, *Premna grandifolia* A. Meeuse, *Premna hispida* Benth., *Premna lucens* A. Chev., *Premna quadrifolia* Schum et Thonn. (**Bouquet A. et Debray M., 1974 ; Aké, 2002**).

2.3.2-Description et position systématique de *P. quadrifolia* Schumach. & Thonn

➤ Description

Premna quadrifolia est un arbuste qui grandit jusqu'à 3,5 mètres de haut. Arbre de bords de galerie à feuilles duvetueuses. Les jeunes pousses froissées exhalent une très mauvaise odeur. Floraison, panicules étalées de petites fleurs blanches (**Figure 8**). Les fruits sont noirs violacés à maturité, pulpeux, contenant une graine (**Vergiat, 1970**).



Figure 8 : Feuillages et fruits de *P. quadrifolia* (photo : Kouassi, 2020)

Position systématique

Domaine : Biota Endl. (D.Don)

Règne : Plantae Haeckel, 1866

Sous-règne : viridaeplantae

Infra-règne : Streptophyta John, Williamson & Guiry, 2011

Classe : Equisetopsida C.Agardh, 1825

Clade : Tracheophyta Synnott ex cavalier-Smith, 1998

Clade : Spermatophyta

Sous-classe : Magnoliadae Novàk ex Takht, 1967

Super-ordre : Asteranae Takht, 1967

Ordre : Lamiales Bromhead, 1838

Famille : Lamiaceae Martinov, 1820

Sous-Famille : Premnoideae Bo Li, Olmstead & P.D. Cantino, 2016

Genre : *premna* L., 1771

Espèces : *Premna quadrifolia* Schumach. &Thonn., 1827

(Anonyme 3)

➤ **Synonymes :**

Premna quadrifolia est nommé de plusieurs manières dans la littérature parmi ces noms, il y a :

Gumira quadrifolia (Schumach. & Thonn.) Kountze. (**Anonyme 4**)

Holochilma resinsum ; *Holochiloma resinsum* ; *Premna holstii* ; *Premna resinosa* ; (**Anonyme 5**).

Premna quadrifolia var. *subglabra* Moldenke ; *Premna quadrifolia* var. *warnecheana* Moldenke ;

Premna quadrifolia var. *warneckeana* Moldenke ; *Premna quadrifolia* Hutch. & Dalziel, (**Anonyme 6**).

➤ **Noms vernaculaires**

La plante est appelée localement Fanigonva (B&D) en Manding-Maninka en Côte d'Ivoire puis Atantaba et Gyengya aforowa (BD&H ; FRI) en Akan-santé au Ghana (**Burkill, 1985**)

2.3.3-Utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle de *P. quadrifolia*

La diversité des espèces de *Premna* a donné lieu à diverses utilisations traditionnelles par les populations locales. De ce fait plusieurs usages sont à signaler, notamment pour traiter le paludisme, la diarrhée, les troubles de l'estomac, les maux de tête, la toux, la tuberculose, les maladies infectieuses telles que la leuchorrea, les maladies génitales, les plaies cancéreuses, la mauvaise haleine et la langue blanche (**Girardi et al. 2015 ; Perry et Metzger, 1980 ; Quattrocchi, 2012**), l'eczéma, les teignes, les furoncles, la gale, les éruptions cutanées et les démangeaisons (**Sharma et al. 2014**).

2.3.4- Études antérieures sur *P. quadrifolia*

➤ **Études chimiques**

Des études de différentes espèces de *Premna* ont permis l'identification et l'isolement de bons nombres de composés, d'hydrocarbures, d'acides gras, de céramides, de glycéoglycolipides, de phényléthanoïdes, d'aldéhydes, d'alcaloïdes, de lignanes, de stérols et de triterpènes (**Wei et al. 1991 ; Hang et al. 2008 ; Hymavathi et al., 2009, Dai et al. 2010 ; Lirio et al. 2014 ; Zhan & Yue 2003 ; Kolter & Sandhoff 1999**).

Le 1-octen-3-ol, le limonène, le copaène, l'élémente, le caryophyllène et le cadinène ont été trouvés parmi les composés bien distribués chez les espèces étudiées dans des concentrations variées. certains d'entre eux présentant des activités antibactériennes significatives (**Sudo et al., 2000**).

Le genre *Premna* n'est pas largement connu pour être riche en teneur en huile essentielle. Néanmoins, des études antérieures ont rapporté le contenu des huiles essentielles dans une fourchette de 0,056 à 0,102 % chez certaines espèces de *Premna*, *Premna angolensis*, (0,056 %) ; *Premna barbata* ex Schauer, (0,08

à 0,1%) ; *Premna coriacea* (0,08%) ; *Premna quadrifolia* (0,102%) ; *Premna integrifolia* ; *Premna tomentosa* (0,073%) (Narayan et Muthana, 1953 ; Chanotiya *et al.* 2009 ; Rahman *et al.* 2011 ; Sadashiva *et al.* 2013 ; Adjalian *et al.* 2015).

Adjalian *et al.* ont fait l'analyse par CPG-SM de l'huile essentielle des feuilles de *P. quadrifolia*. Ils ont mis en évidence quarante-deux composés dont les plus prédominants sont les sesquiterpènes (65,5%). Les composés majoritaires étaient le β -élémane (21%) et le β -caryophyllène (13,1%) (Figure 9) (Adjalian *et al.*, 2015).

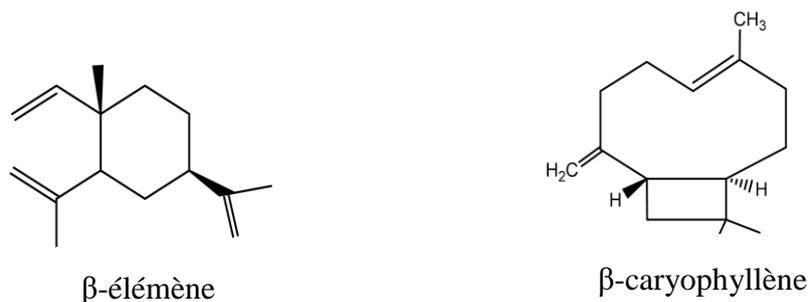


Figure 9 : Composés majoritaires de l'huile essentielle des feuilles de *P. quadrifolia* (Adjalian *et al.*, 2015)

➤ Études pharmacologiques

Les tests de laboratoire ont montré que l'huile essentielle des feuilles de *P. quadrifolia* a des effets insecticides et répulsifs sur *Sitotroga. cerealella* (Adjalian *et al.*, 2015).

Aussi l'activité antiparasitaire de plantes médicinales Nouvelles-Calédoniennes, y compris *Premna serratifolia* L. a été évaluée. Il a été observé que *P. serratifolia* était actif contre *Leishmania donovani* (Desrivot *et al.*, 2007).

Des études ont rapporté que les céramides et les glycoylcerolipides ont une activité immunomodulatoire ainsi que des propriétés antitumorales, anticancéreuses et anti-inflammatoire (Van Veldhoven *et al.* 1992 ; Cateni *et al.* 2004 ; Ramos *et al.* 2006 ; Mbosso *et al.* 2012).

2.4- *Premna angolensis* Gürke (Lamiaceae)

2.4.1- Description et position systématique de *P. angolensis* Gürke

➤ Description

Premna angolensis (Figure 10), est largement réparti en Afrique tropicale, depuis le Sénégal jusqu'à l'Éthiopie, le Kenya, la Tanzanie et en Angola. Arbre de taille petite à moyenne jusqu'à 21m voire 33 m de haut, moins souvent arbustif ; fût jusqu'à 120 cm de diamètre, souvent courbe, parfois cannelé, généralement creux ; écorce externe gris pâle ou gris roussâtre, finement cannelée ; cime étalée à branches

plus ou moins horizontales ; jeunes rameaux couverts d'une pubescence et de glandes éparses, devenant ensuite glabres. Feuilles le plus souvent verticillées de 4, moins souvent opposées, simples et entières. Les pétioles de 3 à 10 cm de long. Les limbes sont ovales ou elliptiques, de base cunéiforme ou arrondie à légèrement cordée (Chase et Reveal, 2009 ; Haston *et al.*, 2009).



Figure 10 : Feuillages et fleurs de *P. angolensis* (photo : Kouassi, 2020)

➤ **Position systématique**

Domaine : Biota Endl. (D.Don)

Règne : Plantae Haeckel, 1866

Sous-règne : viridiaeplantae

Infra-règne : Streptophyta John, Williamson & Guiry, 2011

Classe : Equisetopsida C.Agardh, 1825

Clade : Tracheophyta Synnott ex cavalier-Smith, 1998

Clade : Spermatophyta

Sous-classe : Magnoliadae Novàk ex Takht, 1967

Super-ordre : Asteranae Takht, 1967

Ordre : Lamiales Bromhead, 1838

Famille : Lamiaceae Martinov, 1820

Sous-Famille : Premnoideae Bo Li, Olmstead & P.D. Cantino, 2016

Genre : *premna* L., 1771

Espèces : *Premna angolensis* Gürke, 1893 (**Anonyme 3**)

➤ **Synonymes** :

Premna angolensis var. *cuneata* De Wild

Premna claessensii De Wild. ;

Premna elskensii De Wild. ;

Premna quadrifolia subglabra Moldenke ;

Premna zenkeri Gürke ; (**Anonyme 8**)

➤ **Noms vernaculaires** :

Elle est appelée tandakale en Koranko en Sierra Léone, (**Anonyme 7, Burkill, 1985**).

2.4.2-Utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle de *P. angolensis*

En Côte d'Ivoire, l'écorce de *P. angolensis* est employée en lavement et en bain pour traiter la fièvre chez les enfants. À São Tomé-et-Principe, l'écorce est employée comme remède contre le paludisme et la fièvre. Au Gabon, l'écorce est employée en lavement et en fumigation contre la démence. *P. angolensis* est tabou pour certaines personnes, et son emploi dans la cuisine est interdit. La mauvaise odeur des feuilles et des rameaux jetés sur un feu est censée éloigner les mauvais esprits. En République Démocratique du Congo, on instille dans les narines du jus extrait de l'écorce pilée par pression pour traiter l'épilepsie. En Tanzanie, on boit une préparation d'écorce pour traiter les maux d'estomac, et on boit le jus exsudé de l'écorce contre la dysenterie (**Burkill, 2000 ; Bolza et Keating, 1972 ; Fernandes, 2005 ; Lovett et al., 2006 ; Verdcourt, 1992**).

2.4.3- Études antérieures sur *P. angolensis*

Adjalian *et al.* (2015) ont analysé par CPG-SM, l'huile essentielle des feuilles de *Premna angolensis*. Ils ont identifié vingt-neuf composés dont les plus prédominants sont les sesquiterpènes hydrocarbonés (26,6%) et de sesquiterpènes oxygénés (20%). Les composés majoritaires étaient l'octen-3-ol (28%) et le (E)- β -caryophyllène (13,5%) (**Figure 12**). Les tests de laboratoire ont montré que l'huile essentielle a des effets insecticides et répulsifs sur *S. cerealella*

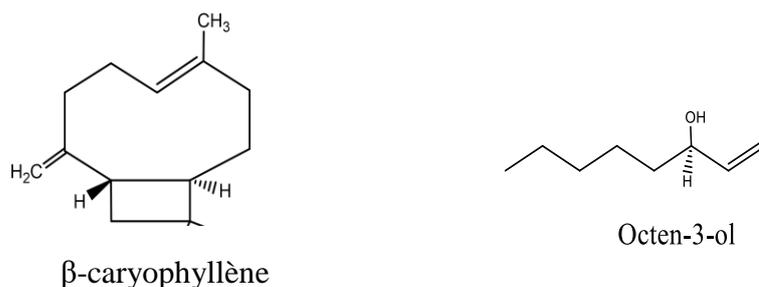


Figure 11 : Composés majoritaires de l'huile essentielle de *Premna angolensis* (Adjalian *et al.* 2015)

2.5- *Clerodendrum polycephalum* Baker (Lamiaceae)

2.5.1- Genre *Clerodendrum*

Le genre *Clerodendrum* (*Clérodendron*) appartient à l'ordre des Lamiales et à la famille des Lamiacées (*sous-famille des Ajugoïdées*) depuis les classifications phylogénétiques APG. Il se trouvait auparavant dans celle des Verbénacées.

Il est encore difficile à ce jour de dire précisément combien d'espèces végétales le composent, beaucoup de ses anciennes espèces ayant été versées dans d'autres genres comme *Rothea* ou *Volkameria*. De 400/450 autrefois, il compterait aujourd'hui de 150 à 300 espèces originaires d'Afrique et d'Asie.

Les *Clérodendrons* sont principalement des arbustes ou des lianes, et quelques arbres à feuillage persistant ou caduc, hautes de 1 à 6 mètres pour les arbustes, jusqu'à 30 mètres pour les arbres. (Anonyme 9).

Aké Assi a énuméré dix huit espèces en Côte d'Ivoire : *Clerodendrum aculeatum* (Linn.) Griseb., *Clerodendrum alatum* Gürke, *Clerodendrum buchholzii* Gürke, *Clerodendrum capitatum* (Willd.) Schum. & Thonn. var. *capitalum*, *Clerodendrum cephalatum* var. *cephalanthum* (Oliv.) H. Huber, *Clerodendrum formicarum* Gürke, *Clerodendrum inerme* (Linn.) Gaertn., *Clerodendrum paniculatum* Linn., *Clerodendrum schweinfurthii* Gürke, *Clerodendrum silvanum* Henriq. Var. *buchholzii* (Gürke) Verdc. , *Clerodendrum sinuatum* Hook., *Clerodendrum splendens* G. Don, *Clerodendrum thomsonae* bak. f., *Clerodendrum thyrsoides* Gürke, *Clerodendrum umbellatum* Poir., *Clerodendrum violaceum* Gürke, *Clerodendrum volubile* P. Beauv., *Clerodendrum carnosulum* Bak., et *Clerodendrum polycephalum* Baker. (Aké Assi, 2002).

2.5.2- Description et position systématique de *C. polycephalum* Baker

➤ Description

Clerodendrum polycephalum Baker (**Figure13**) est une espèce de plante à fleurs initialement classée dans la famille Verbenaceae. Il s'agit d'un arbuste érigé ou grimpant, d'environ 4 m de haut, trouvé dans

la savane et la jungle proche. Les feuilles sont décussées, les lobes inégaux (**Briquet, 1895**). Il est originaire de régions tropicales et tempérées chaudes du monde. La plupart des espèces se trouvent en Afrique tropicale, de la Guinée au sud du Nigeria et à l'Est du Cameroun, en Asie du Sud, quelques-unes au nord et dans la zone tempérée en Asie de l'Est (**Steane et al., 1999 ; Burkill, 2000 ; Mabberley, 2008**).

Malgré que la classification classique place le genre *Clerodendrum* dans la famille des verbenaceae, les recherches phylogénétiques récentes ont conduit à le positionner dans la famille des Lamiaceae (**APG,2009; Chase et Reveal, 2009; Haston et al., 2009**).



Figure 12 : Feuillage de *C. polycephalum* (photo : Kouassi 2020)

➤ **Position systématique : Classification phylogénétique APG III**

Règne : Archéplastides

Clade : Angiospermes

Clade : Dicotylédones vraies

Clade : Astéridées

Clade : Lamiidées

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Sous-famille : Ajugoïdées

Genre : *Clerodendrum*

Espèce : *Clerodendrum polycephalum* (**Anonyme 9**)

➤ **Synonymes**

Clerodendron polycephalum baker.

Clerodendrum polycephalum Bak. (LABIATAE)

Clerodendrum polycephalum Baker (verbenaceae) (**Anonyme 10**)

➤ **Noms vernaculaires**

C. polycephalum est aussi connue sous le nom de Ewe Agbossa et aporó en yorouba au Nigéria et de taasen-dua en Akan-Asanté au Ghana. Elle est appelée kpuandi (Dawe) en Kono en Sierra Léone et faganigrofara ou lakondiè en Manding-Maninka en Côte d'Ivoire (**Anonyme 10 ; Burkill, H.M. 1985 ; Deji-Agboola et al., 2009**).

2.5.3- Utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle

C. polycephalum est utilisée dans de nombreux pays comme un antidote contre les piqûres ou morsures venimeuses, comme analgésiques et médicaments pour traiter la paralysie, épilepsie, convulsion et les spasmes. Surtout la sève des feuilles est connue pour guérir la paralysie, l'épilepsie et aussi dans le traitement des convulsions et spasmes.

L'extrait aqueux de feuille est traditionnellement utilisé par les populations du nord-est de l'Inde pour soulager les symptômes du diabète, de l'obésité et de l'hypertension artérielle. Dans le sud du Nigéria ainsi que dans l'Est du Cameroun, la sève des feuilles est utilisée pour laver le visage des personnes sujettes à des évanouissements, des vertiges et les crises d'épilepsie. La sève des feuilles est employée en Côte d'Ivoire pour traiter le vertige et l'épilepsie. Aussi est-elle employée en traitement traditionnel comme antidouleur, antidote et contre la paralysie (**Deji-Agboola et al., 2009 ; Adegoke et al., 1968 ; Global Plants, 2020**).

2.5.4- Études antérieures sur *Clerodendrum polycephalum*

➤ **Études chimiques**

Des analyses phytochimique ont été effectuées sur des extraits de feuilles de *Clerodendrum polycephalum*. Ces analyses ont montré que les feuilles de *Clerodendrum polycephalum* sont riches en

métabolites secondaires notamment les glucides, sucres réducteurs, tanins, saponines, flavonoïdes et alcaloïdes (Henry *et al.*, 2015).

Deji-Agboola *et al.* (2009) ont mis en évidence la présence de saponines, de flavonoïdes, d'antraquinones et de tanins dans les extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *polycephalum*.

L'huile essentielle obtenue à partir de l'hydrodistillation de la feuille de *Clerodendrum polycephalum* collectée à Badagary au Nigeria a été analysée par GC-FID et GC-MS. Quarante composés, représentant 97,2% de la teneur totale en huile, auraient été identifiés dans l'huile essentielle. Les hydrocarbures sesquiterpéniques (74,1%) et les sesquiterpènes oxygénés (11,9%) sont les principales classes de composés présents dans l'huile. Des composés monoterpéniques représentant 10,6% de la teneur en huile ont également été identifiés dans l'huile. Les principaux constituants de l'huile sont le β -caryophyllène (28,9%), l' α -muurolène (9,0%) et le β -pinène (8,6%) (Figure 14) (Akintayo *et al.*, 2016).

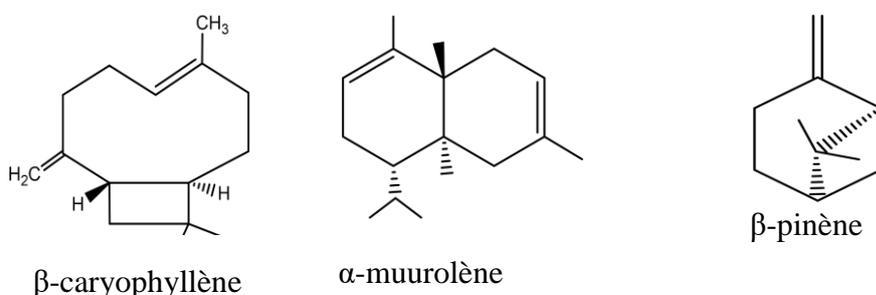


Figure 13: Composés majoritaires de l'huile essentielle des feuilles de *C. polycephallum* (Akintayo *et al.*, 2016).

➤ Études pharmacologiques

Deji-Agboola *et al.* (2009) ont étudié l'activité antimicrobienne d'extraits aqueux et éthanolique de *Clerodendrum polycephalum* et analysé les composants phytochimiques présents. L'activité antimicrobienne de la plante a été étudiée sur des isolats bactériens cliniques en utilisant la méthode de diffusion sur gélose, la CMI et la CMB ont été déterminées sur *Staphylococcus aureus* en utilisant une double dilution de l'extrait de plante et les composants phytochimiques ont été déterminés en utilisant des méthodes standard. Les extraits de plantes présenteraient des activités antimicrobiennes à large spectre. Cette activité était plus marquée avec l'extrait à l'éthanol qu'avec l'extrait aqueux. Les extraits de plantes ont inhibé le *Staphylococcus aureus*, l'*Enterococcus faecalis*, le *Pseudomonas aeruginosa*, le *Proteus mirabilis*, le *Klebsiella pneumoniae* et certains *Escherichia coli* qui étaient résistants à plus de quatre antibiotiques, dont la péfloxacine. La meilleure activité d'inhibition était contre *S. aureus* (di : 26 mm) à une concentration de 50 mg/mL. L'extrait est bactériostatique à 1,57 mg/mL et bactéricide à 3,13 mg/mL.

Selon **Mojisola et al., (2018)**, l'administration d'extraits méthanoliques de feuilles de *Clerodendrum polycephalum* aux patients atteints d'hémoglobine SS soulage les douleurs. Cette étude a montré que l'extrait agit en prévenant et en inversant la faucille. Les constituants impliqués seraient des composés polaires.

Amole et al., (2018) ont montré que l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *C. polycephalum* possède des activités anti-nociceptives et anti-inflammatoires chez les animaux.

Pour toutes ces plantes, aucune étude des huiles essentielles n'a encore été effectuée en Côte d'Ivoire, selon la littérature consultée. L'intérêt de ces plantes réside dans le fait qu'elles sont largement utilisées par les populations pour le traitement de nombreuses maladies infectieuses. La partie suivante est consacrée à l'étude expérimentale. Elle présente d'abord le matériel et les différentes méthodes mises en œuvre pour l'extraction et l'analyse des huiles essentielles, ensuite les résultats et la discussion.

PARTIE II: ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE 1 : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1-MATÉRIEL

1.1.1- Matériel biologique

1.1.1.1- Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des :

- Tiges feuillées et fleurs de *Emilia praetermissa* et *Porophyllum ruderale* ;
- Tiges feuillées de *Premna quadrifolia*, *Premna angolensis* et *Clerodendrum polycephalum*.

1.1.1.2- Matériel microorganique et milieu de culture

➤ Microorganismes

Les souches microbiennes sont constituées des bactéries et champignons de référence du Centre Suisse de Recherches Scientifiques (CSRS, Adiopodoumé -Côte d'Ivoire) ce sont :

– Bactéries à GRAM (-) :

- *Eschérichia coli* ATCC 25922;
- *Pseudomonas aëruginosa* ATCC 27853;
- *Salmonella typhimurium* SO 66;
- *Klébsiella BLSE* ;
- *Klebsiella pneumoneae* ;
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

– Bactéries à GRAM (+) :

- *Staphylococcus épidermidis* CIP. 53124 ;
- *Staphylococcus aureus* CIP 4.83.

– Champignons :

- *Candida albicans* ATCC 10231 ;
- *Candida tropicalis* ATCC 13803 ;
- *Candida glabrata* ATCC 66032.

- milieu de culture :

- gélose Mueller-Hinton ;
- bouillon Mueller-Hinton ;
- bouillon SABOURAUD.

1.1.2- Solvants et réactifs

Les solvants et réactifs utilisés sont :

- sulfate de magnésium anhydre ;
- dichlorométhane ;
- gaz hélium ;
- acétone ;
- alcool à 70°.

1.1.3- Matériel technique

Le matériel technique est constitué des dispositifs pour la distillation, la conservation des huiles essentielles, les analyses chimique et biologique des extraits :

- distillateur de type clevenger ;
- cocotte minute ;
- plaque chauffante ;
- source de chaleur ;
- dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau ;
- un congélateur pour une température d'environ 4°C ;
- un chromatographe GC couplé à un spectromètre de masse MS ;
- spectrophotomètre ;
- microplaques de titration à 96 puits (fond en U avec 12 colonnes) ;
- un râteau ou un écouvillon ;
- micropipettes réglables ;
- multi pipette avec embout adaptables.

1.2- MÉTHODES

1.2.1- Choix des espèces de l'étude

Le choix des espèces s'est effectué d'abord par des visites de terrain (à Abidjan, à Azaguié et à Pri kro) avec M. TERE Henry technicien botaniste au Centre Suisse de Recherches Scientifiques (CSRS, Adiopodoumé -Côte d'Ivoire). Ensuite une revue bibliographique a été faite en vue de sélectionner les PAM dont l'HE n'a pas fait l'objet d'étude en Côte d'Ivoire. Les plantes ont été identifiées au Centre National de Floristique (CNF) d'Abidjan et par M. TERE Henry.

1.2.2- Méthode de récolte

Les récoltes ont été effectuées dans la matinée entre 07h-10h.

Les tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* et de *P. ruderale* ont été récoltées en Juillet 2020 dans la commune de Cocody dans le District Autonome d'Abidjan (5°22'1.157"N 3°57'49.838"W; Abidjan-Côte d'Ivoire). Les plantes ont été identifiées respectivement sous les numéros UCJ018336 pour *E. praetermissa* et UCJ003601 pour *P. ruderale*.

Les feuilles des plantes *P. quadrifolia*, de *P. angolensis* et *C. polycephalum* ont été récoltées dans le mois de Décembre 2019 à Prikro (7° 10' 59.999" N 4° 55' 0.001" W), située dans la région de Daoukro dans le centre-est de la Côte d'Ivoire. Les plantes ont été identifiées conformément aux herbiers du CNF de l'Université Félix Houphouët-Boigny aux numéros suivants : UCJ017401 pour *P. quadrifolia*, UCJ017453 pour *P. angolensis* et UCJ017472 pour *C. polycephalum*.

1.2.3-Traitement des drogues après récolte

Les drogues ont été débarrassées de tous les éléments étrangers, placées dans des sacs tissés et transportées au laboratoire dans les 24 heures qui ont suivi la récolte. Elles ont été séchées à température ambiante au laboratoire.

1.2.4-Méthodes d'extraction

Les huiles essentielles ont été extraites selon deux méthodes, l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau. Ces deux méthodes sont les plus proches des pratiques des populations. Traditionnellement les bains de vapeur se font après avoir faire bouillir la plante dans l'eau ou en mettant une pierre chauffée sur les plantes dans un récipient.

1.2.4.1- Extraction par hydrodistillation

Elle a été réalisée à partir d'un distillateur de type clevenger associé à une cocotte-minute de capacité 10L (**Figure 14**). La matière végétale est déposée dans la cocote minute, contenant de l'eau. Les quantités de matières végétales sont mentionnées dans le tableau ci-dessous (**Tableau 1**). L'ensemble est porté à ébullition à l'aide d'une plaque chauffante. La vapeur chargée de matières odorantes volatiles, passe à l'intérieur du cylindre en verre placé au-dessus de la cocotte-minute et se condense au niveau du réfrigérant. L'huile essentielle obtenue est séparée par gravité à la surface de l'eau après une durée de 4h d'extraction (**Annexe 2**). Elle est séchée sur le sulfate de magnésium anhydre (MgSO₄) puis conservée dans des piluliers au réfrigérateur à environ 4°C.

Tableau 1 : masse des échantillons distillés au clévenger

Plantes	<i>E. praetermissa</i>	<i>P. ruderale</i>	<i>P. quadrifolia</i>	<i>P. angolensis</i>	<i>C. polycephalum</i>
Masses (g)	672,49	464,00	889,60	766,42	716,00



Figure 14: Dispositif d'hydrodistillation de type clévenger (photo : Kouassi 2020)

1.2.4.2- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement des HE à la vapeur d'eau a été réalisé à l'aide d'un dispositif à quatre compartiments en inox (**Figure 15**).

Les quatre compartiments en inox sont :

- 1- La chaudière qui contient de l'eau est en contact avec la source de chaleur. Elle peut contenir environ soixante litres (60 L) d'eau ;
- 2- La cuve principale (la grande cuve) contient un ensemble de quatre grilles solidaires à une tige amovible. Cette cuve peut contenir jusqu'à 30 kg de plantes fraîches ;
- 3- La cuve de réfrigération qui est remplie d'eau froide dans laquelle serpente la vapeur chargée d'huile essentielle ;
- 4- Le système de récupération constituée d'une ampoule à décanter maintenue par une potence.

La chaudière et la cuve principale sont reliées par un tuyau en inox. La vapeur d'eau part de la chaudière pour atteindre les feuilles dans la cuve principale. La vapeur d'eau se charge de composés volatils traverse, à l'aide d'un autre tuyau, la cuve de réfrigération dans laquelle les vapeurs se condensent. Le mélange est récupéré dans l'ampoule à décanter. Par décantation, l'huile essentielle surnage l'eau florale. Les différents

compartiments du dispositif sont présentés ci-dessous (**Figure 15**). Les différentes masses des échantillons distillés par le dispositif sont contenues dans le tableau suivant (**Tableau 2**).



- a- vue d'ensemble du dispositif
- b- grilles contenant des feuilles
- c- système de récupération de l'HE

Figure 15: Aperçu des compartiments du dispositif à l'entraînement à la vapeur (photo Kouassi, 2020)

Tableau 2 : masses des échantillons distillés à l'aide du dispositif d'entraînement à la vapeur

Plantes	<i>E. praetermissa</i>	<i>P. ruderale</i>	<i>P. quadrifolia</i>	<i>P. angolensis</i>	<i>C. polycephalum</i>
Masses (g)	1480,00	5500,00	625,21	2402,36	1200,00

1.2.5- Etudes des caractères organoleptiques

Quelques caractères organoleptiques des HE sont relevés.

1.2.6- Calcul des rendements

Les différents rendements (r) sont calculés par le quotient de la masse des huiles essentielles extraites à la masse de la matière végétale distillée (m/m).

$$r (\%) = \frac{\text{masse HE}}{\text{masse du matériel végétal}} \times 100$$

1.2.7- Analyse de la composition chimique des HE

1.2.7.1- Composition chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse des huiles essentielles (CPG/SM)

Les analyses CPG/SM ont été réalisées au laboratoire de Nanoqam du département de chimie à l'Université du Québec à Montréal (Canada).

L'analyse des huiles essentielles diluées dans le dichlorométhane (1/100) a été réalisée sur un chromatographe GC (7890A, Agilent Technologies) couplé à un spectromètre de masse (5975C, Agilent Technologies).

Un échantillon de l'huile essentielle (1 µL) a été injecté dans une colonne capillaire HP-5MS à 250°C. La température du four a été programmée d'abord à 40°C pendant 5 min, ensuite à 2° C/min pendant 15 min jusqu'à 250° C, et enfin à 10° C/min jusqu'à 300° C.

Le gaz hélium a été utilisé comme gaz porteur avec un débit de 1mL/min. Le détecteur MS avait une température de 280° C et une tension de 1,4 kv. Étaient détectables les ions dont le rapport masse/charge est compris entre 40 à 500.

➤ L'identification des composés a été effectuée par comparaison des spectres de masse obtenues avec celles de la base de données de l'Institut National des Normes et de la Technologie (NIST) ou avec celles la base de données de chimie de l'Institut National de Santé (PubChem- en ligne). Les correspondances des spectres à partir de 70% sont acceptées.

1.2.7.2- Composition chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à l'indice de rétention (CPG(Ir))

Les indices de rétention (Ir) sont calculés à partir des temps de rétentions donnés par la chromatographie en phase gazeuse (CPG) (**KOVATS, 1958 ; IUPAC, 1997**). Les temps de rétention des alcanes linéaires sont donnés par analyse dans les mêmes conditions que les échantillons des huiles essentielles.

$$\text{Ir} = 100 \left[n + \frac{t_r(C_i) - t_r(C_n)}{t_r(C_{n+1}) - t_r(C_n)} \right]$$

Ir : Indice de rétention du composé inconnu

n : nombre de carbone de l'alcane linéaire précédant le composé inconnu

$t_r(C_i)$: temps de rétention du composé inconnu

$t_r(C_n)$: temps de rétention de l'alcane linéaire précédant le composé inconnu

$t_r(C_{n+1})$: temps de rétention de l'alcane linéaire suivant le composé inconnu

L'identification des composés est effectuée par comparaison des indices de rétention calculés avec ceux de la base de données de chimie de l'Institut National de Santé (**PubChem- en ligne**), de la base des

indices de rétention de l'équipe chimie-vignola-Ajacio de l'Université de Corse et de la littérature (Paolini, 2005 ; Daouda, 2015).

1.2.8- Méthode d'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne

1.2.8.1- Méthode d'évaluation par spectrophotométrie de l'activité antioxydante des HE

Une évaluation de l'activité antioxydante des HE obtenues par la méthode ayant le plus grand rendement est faite. Puis trois des HE sont sélectionnées pour faire l'étude comparative de l'activité antioxydante selon les deux méthodes. La sélection est faite en tenant compte de l'absence d'étude sur l'HE et/ou le rendement.

Ainsi le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Cat. : D913-2, Lot : STBB0555), est solubilisé dans le méthanol absolu, pour obtenir une solution de concentration 0,03 mg/mL. Une quantité de 20 mg d'huile essentielle est diluée dans 5 mL du même solvant.

Différentes gammes de concentrations comprises entre 0,0625 à 4 mg/mL de chaque échantillon des huiles essentielles sont préparées par dilution successive dans le méthanol absolu. Dans des tubes secs et stériles, sont introduits 2,5 mL d'échantillon de l'huile essentielle à analyser et 1 mL de solution méthanolique de DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'abri de la lumière pendant 30 min.

L'absorbance de la masse réactionnelle est ensuite mesurée à 517 nm contre un blanc composé de 2,5 mL de méthanol pur et 1 mL de solution alcoolique de DPPH. Le témoin positif de référence est la vitamine C (Blois, 1958).

Les pourcentages de réduction (%R) des échantillons des huiles essentielles sont calculés à partir des absorbances mesurées. Ils sont ensuite représentés graphiquement.

$$\%R = \left(1 - \frac{\text{Absorbance extrait}}{\text{Absorbance DPPH}} \right) \times 100$$

La concentration qui réduit de 50% l'activité du radical DPPH (CR₅₀) (Tanoh *et al.*, 2019 ; Kouadio, 2021) a été déterminée graphiquement.

1.2.8.2- Évaluation de l'activité antimicrobienne des HE

✓ Choix des germes

Les souches utilisées pour les études préliminaires de sensibilité vis-à-vis des différentes huiles essentielles sont des souches de références du laboratoire du Centre Suisse de Recherche Scientifique en Côte d'Ivoire. Ce sont des sources dites résistantes (Annexe 11).

✓ Démarche d'analyse

Un screening antimicrobien est fait avec les HE obtenues par la méthode ayant le plus grand rendement.

Puis les HE de trois plantes obtenues selon les deux méthodes d'extraction sont utilisées pour faire l'étude comparative des zones d'inhibition sur les souches les plus sensibles (plus grand rayon d'inhibition). L'activité est considérée nulle pour un diamètre d'inhibition (d.i.) inférieur ou égale à 8 mm ; faible pour d.i. compris entre 8 et 14 mm, moyenne pour d.i. compris entre 14 et 20 mm ; forte pour d.i. supérieur ou égal à 20 mm (**Berghe et Vlietinck, 1991 ; Ponce *et al.*, 2003**).

➤ Préparation des précultures

Ces différentes souches bactériennes ont été repiquées dans des tubes de gélose de conservation (en piqûre centrale) puis incubées à 37 °C. Après 24 h d'incubation, ces tubes sont conservés à la température de réfrigération (2 ± 1 °C). Dans le but de garder toujours la disponibilité en souches, chaque 15 jours, des opérations de repiquage sont réalisées à partir des souches réfrigérées. Avant la réalisation des tests antibactériens, deux repiquages consécutifs ont été effectués pour chaque souche.

En premier lieu, elles ont été inoculées dans du bouillon Mueller Hinton et incubées pendant 24 h à 37 ± 1 °C. Le deuxième repiquage a été effectué sur milieu solide (gélose nutritive) la veille de la réalisation du test antibactérien. L'ensemble a été incubé à 37 ± 1 °C pendant 18 h pour avoir des cellules bactériennes à leur phase exponentielle de croissance.

À partir de cette culture bactérienne fraîche, on prélève quelques colonies que l'on mélange avec de l'eau distillée stérile. Pour la standardisation de la charge de l'inoculum de départ, la méthode de comparaison de la densité bactérienne à celle d'un tube de référence (0,5) Mc Farland dont la charge est supposée être 10^5 ufc/mL a été employée.

➤ Technique de diffusion en puits

L'activité antibactérienne des différentes huiles à différentes concentrations a été déterminée pour chaque souche bactérienne par la méthode de **Berghe et Vlietinck (1991)**.

À partir d'une culture de 18 à 20 h (10^5 - 10^6 UFC/mL), l'ensemencement de l'inoculum de 1 mL est réalisé en surface du milieu Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après 15 mn, des puits ont été découpés à l'aide de pipettes Pasteur. Le fond des puits est obturé par une goutte de gélose Mueller Hinton pour limiter la diffusion des huiles sous la gélose. Ensuite, 50 µL de l'huile à différentes

dilutions et une référence (gentamycine) sont distribués dans chaque puits. Après diffusion, les cultures sont incubées dans des étuves à la température de 37 °C pendant 24 h. Les auréoles d'inhibition ont été mesurées par un pied à coulisse. La sensibilité de l'espèce bactérienne aux huiles essentielles a été déterminée en mesurant le diamètre des zones inhibitrices à la surface de la gélose autour des puits contenant les extraits (**Figure 16**).

- diamètre d'inhibition inférieur ou égale à 8 mm : la souche est résistante ;
- diamètre d'inhibition compris entre 9 et 14 mm : la souche est sensible ;
- diamètre d'inhibition compris entre 15 et 19 mm : la souche est très sensible ;
- diamètre d'inhibition supérieur à 20 mm : la souche est extrêmement sensible.

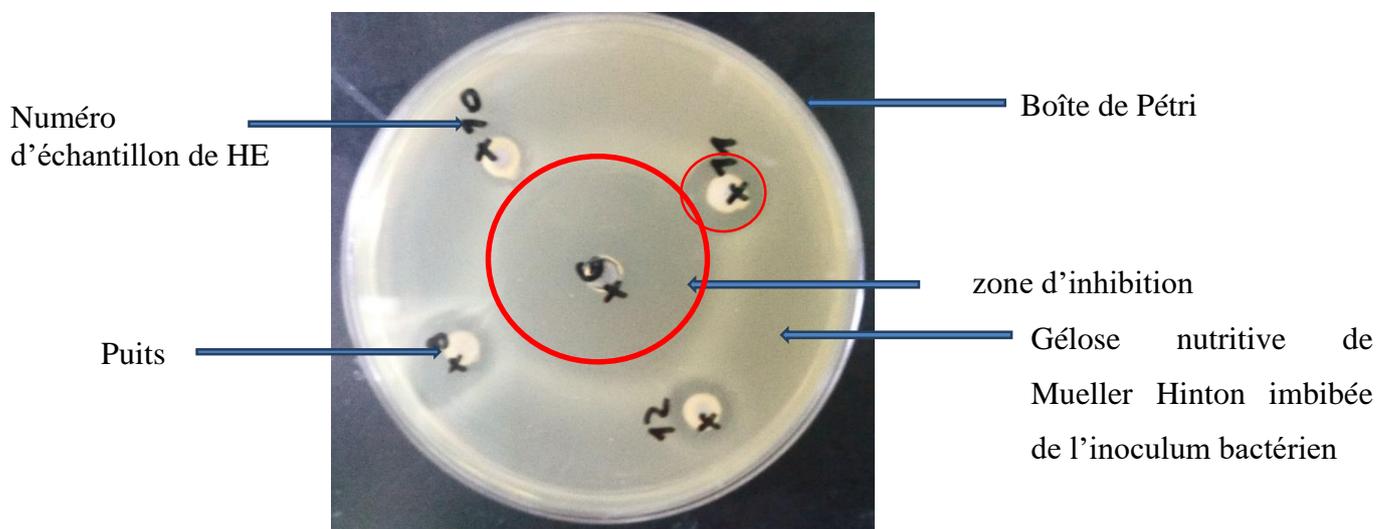


Figure 16: Diamètres des zones d'inhibition de quelques huiles essentielles (Photo : Koné, 2020)

➤ Réalisation de la suspension

De l'eau physiologique stérile est mise dans un tube à hémolyse, puis des colonies pures sont prélevées et mises en suspension jusqu'à obtenir la même opacité que l'étalon Mac Farland 0,5 ; Si la suspension est trop trouble, l'opacité est ajustée en ajoutant de l'eau physiologique.

➤ Préparation de la gélose

La gélose Mueller-Hinton épaisseur 18 mm est prise pour les bactéries et la gélose sabouraud pour les levures. Elles sont séchées sous une hotte à flux laminaire tout en vérifiant l'absence d'eau à la surface. Les puits de gélose sont disposés sur le fond de la boîte à un centimètre du bord puis ensemencés par 1mL de suspension.

Le volume est étalé avec le râteau du centre vers les bords. L'excès d'inoculum est enlevé par un écouvillon trempé dans la suspension par pression sur les bords du tube. La gélose est écouvillonnée

régulièrement en tournant la plaque de 60 ° jusqu'à ensemencement de la totalité de la surface ; après 3 à 5 min de séchage, le surplus est éliminé à l'aide d'une pipette pasteur.

➤ **Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La concentration minimale inhibitrice a été déterminée par la méthode de **Mims *et al.*, (1993)**. Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne après 18 à 24 h de contact.

Les bouillons de 18 h sont repiqués dans 10 mL de bouillon MH, 0,1 mL pour *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* et *Candida glabrata* puis 0,3 mL pour *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus*. Ensuite une incubation à 37 °C pendant 3 à 5 h jusqu'à l'apparition d'une légère opalescence (environ $5 \cdot 10^7$ bactéries /mL). 1 mL de ce bouillon est ajouté à 10 mL de bouillon MH préalablement chauffé à 37°C (inoculum).

Une quantité de 100 µL de la solution d'extrait des HE est mise dans le puits n°12 de la microplaque, 50 µL de bouillon MH sont mis dans les puits à partir du n° 11 jusqu'à la colonne n°2 et 100 µL de bouillon MH dans la colonne n°1. Une dilution est faite à partir de la colonne n°12 jusqu'à la colonne n°3 en prélevant 50 µL à chaque fois puis 50µL de l'inoculum sont distribués dans chaque puits, du n°12 au n° 2.

Après une nouvelle incubation à 37°C pendant 18 h, la lecture est faite à l'œil nu et la concentration de la dernière cupule où il n'y a pas de turbidité est notée.

➤ **Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) en milieu solide**

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en extrait capable de tuer plus de 99,9 % de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0,01 % de survivants). Elle définit l'effet bactéricide d'un extrait. La même gamme de concentration, réalisée par la technique de macro dilution en milieu liquide (CMI), est utilisée pour déterminer la CMB de l'extrait à tester.

Des prélèvements sont effectués dans les cupules témoins et dans chacun des cupules dépourvus de culot bactérien puis déposés « en strie » sur gélose MHA. Les boîtes ensemencées sont incubées 24 h à 37°C.

CHAPITRE 2 : RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.1- CARACTÈRES ORGANOLEPTIQUES

Les HE obtenues ont une odeur aromatique. L'odeur est due au fait que l'HE est constituée de principes volatils de la plante.

L'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau ont donné des huiles essentielles pour lesquelles une nette variation au niveau de la couleur est perceptible (**Tableau 3**), (**Annexe 1**).

Tableau 3: couleur des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau

Plantes	Couleurs	
	Hydrodistillation	Entraînement à la vapeur d'eau
<i>E. praetermissa</i> (tiges feuillées et fleurs)	Jaune-pâle	jaune
<i>P. ruderale</i> (tiges feuillées et fleurs)	Jaune-claire	jaune
<i>P. quadrifolia</i> (tiges feuillées et fleurs)	Jaune-orangé	jaune
<i>P. angolensis</i> (tiges feuillées et fleurs)	Jaune-orangé	Jaune-pâle
<i>C. polycephalum</i> (tiges feuillées et fleurs)	Jaune-claire	Jaune-claire

La couleur des HE depend des composés qui la constituent. Donc ces couleurs et les différentes variations de couleur selon la méthode d'extraction pourraient être dues aux teneurs des composés.

Conclusion partielle 1 : La couleur des huiles essentielles dépend des composés qui la constituent. Les HE obtenues par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation donnent des couleurs très proches (jaune). Cependant de légères variations sont constatées, jaune-pâle, jaune-claire, jaune ou jaune-orangé. La technique d'extraction influence aussi la couleur des huiles essentielles

2.2- RENDEMENT DES EXTRACTIONS

Les rendements calculés sont consignés dans le tableau (**Tableau 4**). Les rendements obtenus varient de 0,04 % à 0,23 %. Ces rendements sont bons, au regard de plusieurs rendements publiés sur des plantes récoltées en Côte d'Ivoire tels que ceux de l'écorce de tronc de *Cleitopholis patens* (0,18-0,23%), (**Ouattara, 2012**) et des feuilles de *Melanthera scandens* (0,012), (**Konan, 2015**).

Tableau 4 : rendements en HE des plantes

Méthodes	Hydrodistillation	Entraînement à la vapeur d'eau
	Rendement (%)	Rendement (%)
<i>E. praetermissa</i>	0,06 ± 0,02	0,04 ± 0,02
<i>P. ruderale</i>	0,23 ± 0,02	0,10 ± 0,02
<i>P. quadrifolia</i>	0,16 ± 0,02	0,10 ± 0,02
<i>P. angolensis</i>	0,10 ± 0,02	0,07 ± 0,02
<i>C. polycephalum</i>	0,13 ± 0,02	0,08 ± 0,02

Les tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* ont donné par hydrodistillation une HE de rendement 0,06 %. Un rendement de 0,04 % a été obtenu lors de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau.

Le rendement obtenu par hydrodistillation est plus élevé que celui obtenu par entraînement à la vapeur d'eau. Les échantillons distillés sont des portions d'une même récolte. Les quantités distillées et le mode d'extraction varient.

Les rendements des HE-EV chutent par rapport à ceux obtenus par hydrodistillation. Cette chute peut être liée soit à la quantité des organes distillés, soit au système de récupération de l'HE du dispositif de l'entraînement à la vapeur.

En effet, 672,49 g de tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* a été distillé par hydrodistillation contre 1480 g distillés par entraînement à la vapeur d'eau. L'eau pénètre donc plus facilement au cœur de la matrice végétale lors de l'hydrodistillation, du fait de la plus petite quantité, afin d'en extraire les HE. Parallèlement la grande quantité de plante empêche la vapeur d'eau de pénétrer au cœur de la matrice végétale dans le cas de l'entraînement à la vapeur d'eau (**Deschepper, 2017**).

Aussi au niveau du dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau, la récupération des HE-EV a été faite à l'aide d'une ampoule à décanter (**Annexe 2**). La surface de contact étant plus large au niveau de l'ampoule à décanter ce qui favoriserait la dispersion de l'huile essentielle donc plus difficile à récupérer, au niveau du dispositif à l'entraînement à la vapeur d'eau, ce qui pourrait influencer le rendement.

Les tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* ont donné par hydrodistillation de type clévenger une HE de rendement 0,23 %. Un rendement de 0,10 % a été obtenu lors de la distillation par entraînement à la vapeur. Les rendements de *P. ruderale* sont les plus élevés des plantes distillées.

Le rendement obtenu par hydrodistillation est d'ailleurs supérieur à celui de **Raggi et al. (2014)** qui ont eu un rendement compris entre 0,06 % et 0,1 % du poids frais au Brésil. Les facteurs tels que la période, la zone de récolte ou l'âge des plantes peuvent expliquer les différences de rendement en Côte d'Ivoire et au Brésil.

Le rendement obtenu par hydrodistillation de type clévenger est aussi plus élevé que celui obtenu par entraînement à la vapeur d'eau. Une masse de 464 g de tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* a été distillée par hydrodistillation contre 5500 g distillés par entraînement à la vapeur. La masse distillée et le dispositif de récupération ont pu influencer également les rendements.

Les tiges feuillées de *P. quadrifolia* ont donné par hydrodistillation de type clévenger un rendement de 0,16 % contre un rendement plus faible de 0,10 % par entraînement à la vapeur d'eau. Le rendement obtenu par hydrodistillation est meilleur que celui de **Adjalien et al. (2015)** qui ont eu un rendement en HE par hydrodistillation des feuilles de *P. quadrifolia* de (0,102 % ± 0,005) au Bénin. Les différences de régions, de climat ou même l'âge des plantes peuvent expliquer les différences de rendement avec ces auteurs.

Les masses de tiges feuillées de *P. quadrifolia* par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur sont respectivement de 625,21g et 889,6 g. Les masses distillées sont rangées dans l'ordre contraire que les rendements (0,16% - 0,10%).

Quant aux tiges feuillées de *P. angolensis*, elles ont donné par hydrodistillation de type clévenger un rendement de 0,10 % contre un rendement plus faible de 0,07 % par entraînement à la vapeur d'eau. Ces rendements sont supérieurs à celui de **Adjalien et al. (2015)** obtenu au Bénin. Ils ont extrait de l'HE par hydrodistillation des feuilles de *P. angolensis* (0,056 % ± 0,004).

Les masses de tiges feuillées de *P. angolensis* utilisées pour l'hydrodistillation et pour l'entraînement à la vapeur sont respectivement de 766,42 g et 2402,36 g.

P. quadrifolia et *P. angolensis* sont deux plantes du même genre *Premna*. Mais l'espèce *P. quadrifolia* serait plus riche en huile essentielle que l'espèce *P. angolensis*. Cela pourrait être dû aux appareils sécréteurs des essences qui sont spécifiques pour chaque plante. Ils peuvent être constitués de cellules isolées ou groupées, d'origine épidermique, ainsi que de poils, de canaux ou de poches (**Bouchet et Mestre, 2021.**). Ces spécificités peuvent influencer le rendement des plantes en sécrétion, cela pourrait expliquer la différence de rendement entre *P. quadrifolia* (0,16 ± 0,02 % - 0,10 ± 0,02 %) et *P. angolensis* (0,10 ± 0,02 % - 0,07 ± 0,02 %). *P. quadrifolia* contiendrait dans ses appareils sécréteurs, soit plus d'huile essentielle soit de l'huile essentielle facile à extraire que ceux de *P. angolensis*. Ces travaux vont dans le même sens que l'étude menée par **Adjalien et**

al. (2015), qui a révélé que le rendement en HE par hydrodistillation des feuilles de *P. quadrifolia* (0,102 % ± 0,005) était meilleur que celui de *P. angolensis* (0,056 % ± 0,004).

Les tiges feuillées *C. polycephalum* ont donné par hydrodistillation un rendement de 0,13 % pour 716 g de matrice végétale et un rendement de 0,08 % par entraînement à la vapeur pour une quantité de 1200 g. La littérature consultée n'a pas révélé de rendement pour *C. polycephalum*. Cependant d'autres espèces du genre *Clerodendrum* sont riches en huile essentielle. Les feuilles de *Clerodendrum phlomidis* L'ont donné un rendement en HE de 0,2% par hydrodistillation avec un appareil de type clévenger (Katekhaye *et al.*, 2012). Cette espèce pourrait être plus riche en huile essentielle que *C. polycephalum*.

L'étude comparée montre que les rendements obtenus avec l'hydrodistillation sont supérieurs à ceux obtenus par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau utilisée (Figure 17).

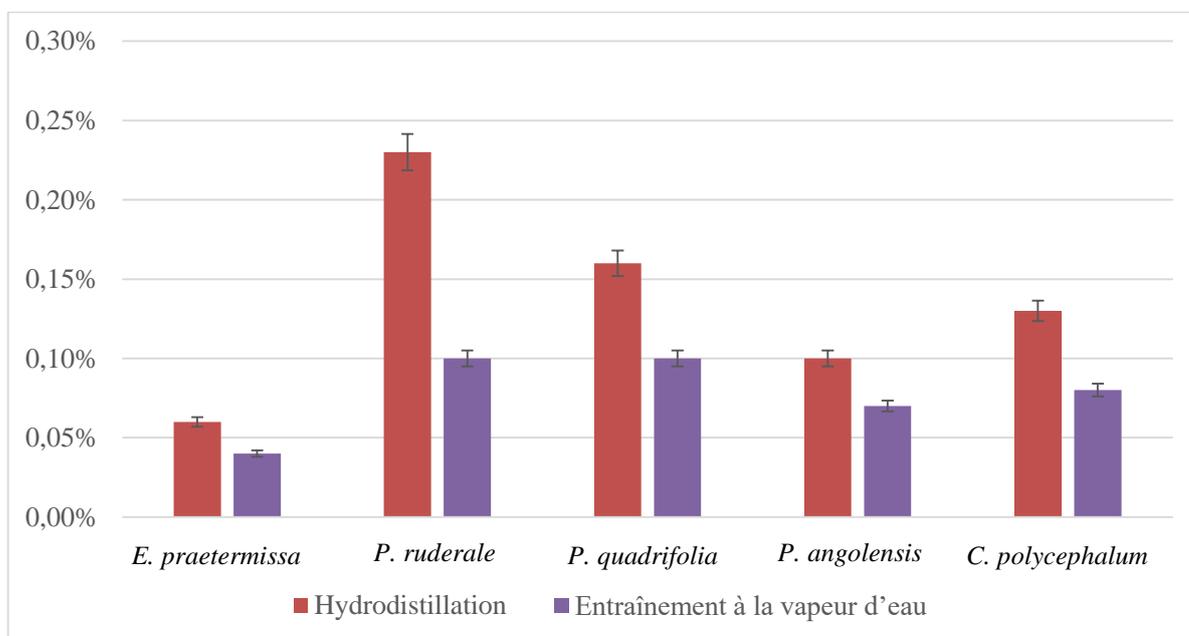


Figure 17: Histogrammes comparés des rendements des huiles essentielles obtenues par les deux méthodes des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* et *P. ruderale*, et tiges feuillées de *P. quadrifolia*, *P. angolensis* et *C. polycephallum*

Conclusion partielle 2 : les rendements des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation de type clévenger et par entraînement à la vapeur d'eau sont différents. Les meilleurs rendements sont obtenus par hydrodistillation de type clévenger.

Recommandations :

- ✓ Utiliser pour l'entraînement à la vapeur un dispositif qui minimise les pertes. Et ce, en tenant compte de la volatilité des composés et de la surface des systèmes de récupération. Les surfaces de l'ampoule pour la récupération doivent être les plus petites possibles.
- ✓ Utiliser des quantités de plante qui permettent une meilleure pénétration de la vapeur d'eau dans la plante.

Suite à l'extraction les constituants des huiles essentielles obtenues ont été identifiés par CPG/SM (**Annexe 4**) et CPG(Ir) afin de les comparer selon la méthode d'extraction. Ensuite pour chaque plante une évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne a été faite.

2.3- COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES HE

2.3.1- Attribution des composés : cas du 1-undécène et le β -caryophyllène

L'attribution des composés aux différents spectres de masses est faite d'abord par la comparaison des indices de rétention avec ceux des bibliothèques de composés puis par la cohérence entre une fragmentation possible du composé proposé et les différents pics du spectre observé.

Le tableau ci-dessous donne les indices de rétention (Ir) du 1-undécène et du β -caryophyllène calculés et théoriques (pubchem) (**Tableau 5**).

➤ **Indices de rétention**

Tableau 5 : indices de rétention du 1-undécène et du β -caryophyllène

composés	t_r (min)	Ir calculé	Ir théoriques
1-undécène	24,020	1090	1086-1100
β-caryophyllène	45,434	1409	1398-1426

➤ **Fragmentation du 1-undécène et du β -caryophyllène**

Ci-dessous présentées des possibilités de fragmentation du 1-undécène et du β -caryophyllène, deux composés présents majoritairement dans les huiles.

✓ **-1-undécène**

1-undécène est un alcène qui joue un rôle de métabolite végétal. Il est moins dense que l'eau et se présente sous la forme d'un liquide incolore avec une légère odeur (USCG, 1999 ; USCG, 1978).

Il est présent parmi les composés majoritaires des huiles essentielles de la partie aérienne de *Emilia praetermissa* ((HE-HD ; 25,58% ; HE-EV, 23,66%) et de *Porophyllum ruderale* (HE-HD, 13,64% ; HE-EV, 9,24%). Le spectre (quality :95 ; NIST) (**Figure 18**) obtenu se prête aux interprétations probables suivantes :

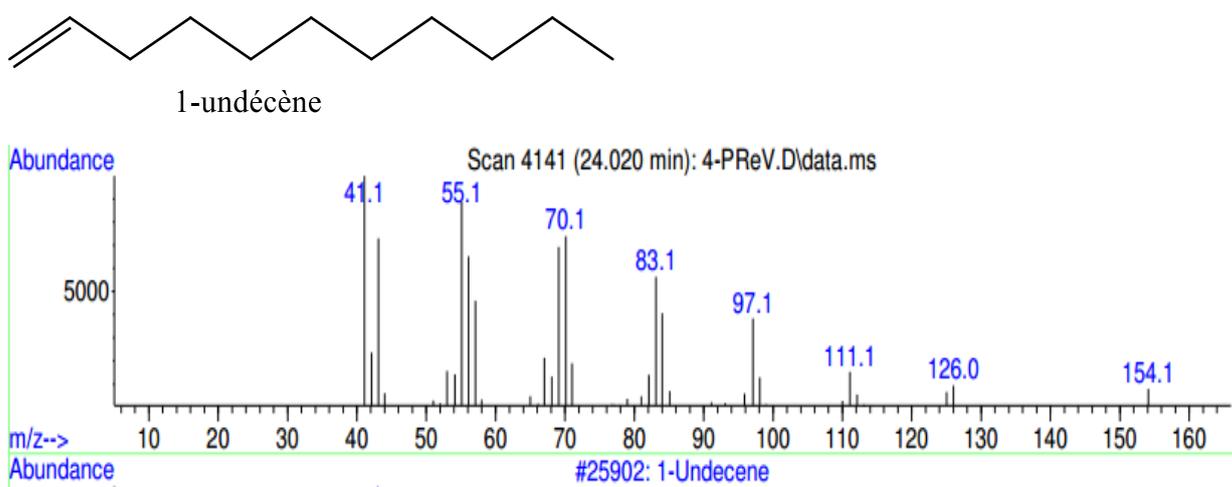
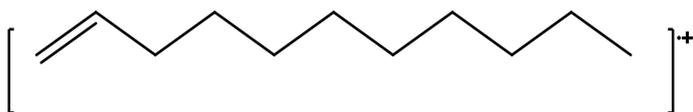
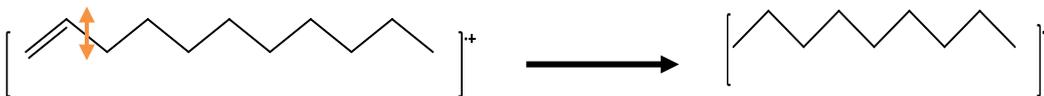


Figure 18 : spectre de masse du 1-undécène

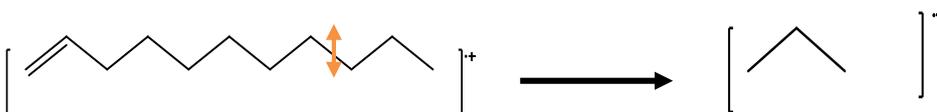
- ✓ Le pic de $m/z = 154$ représente le pic moléculaire donnant la masse $M = 154$;



- ✓ Le pic de $m/z = 126$ de faible intensité correspondrait $[M - 28]$, après la libération $C_2H_4^+$;



- ✓ Les pics de $m/z = 111$; 97 ; 83 ; 70 ; 55, correspondraient à la libération successive d'un CH_3^+ de quatre radicaux CH_2^+ de masse 14 ;



- ✓ Les pics de $m/z = 41$, de plus grande intensité correspondrait $[M - 113]$, la libération $C_8H_{17}^+$. Il représenterait donc le fragment $C_3H_5^+$. Ce fragment est stabilisé par effet mésomère grâce à la double liaison qui est conjuguée avec la charge.



✓ **β-caryophyllène**

Le caryophyllène est largement représenté dans les compositions chimiques des huiles essentielles, qu'elles soient à l'hydrodistillation ou à l'entraînement à la vapeur d'eau ;

De sa structure moléculaire et en tenant compte du spectre (quality : 93 ; NIST) (**Figure 19**) obtenu, les fragmentations importantes suivantes se dégagent :

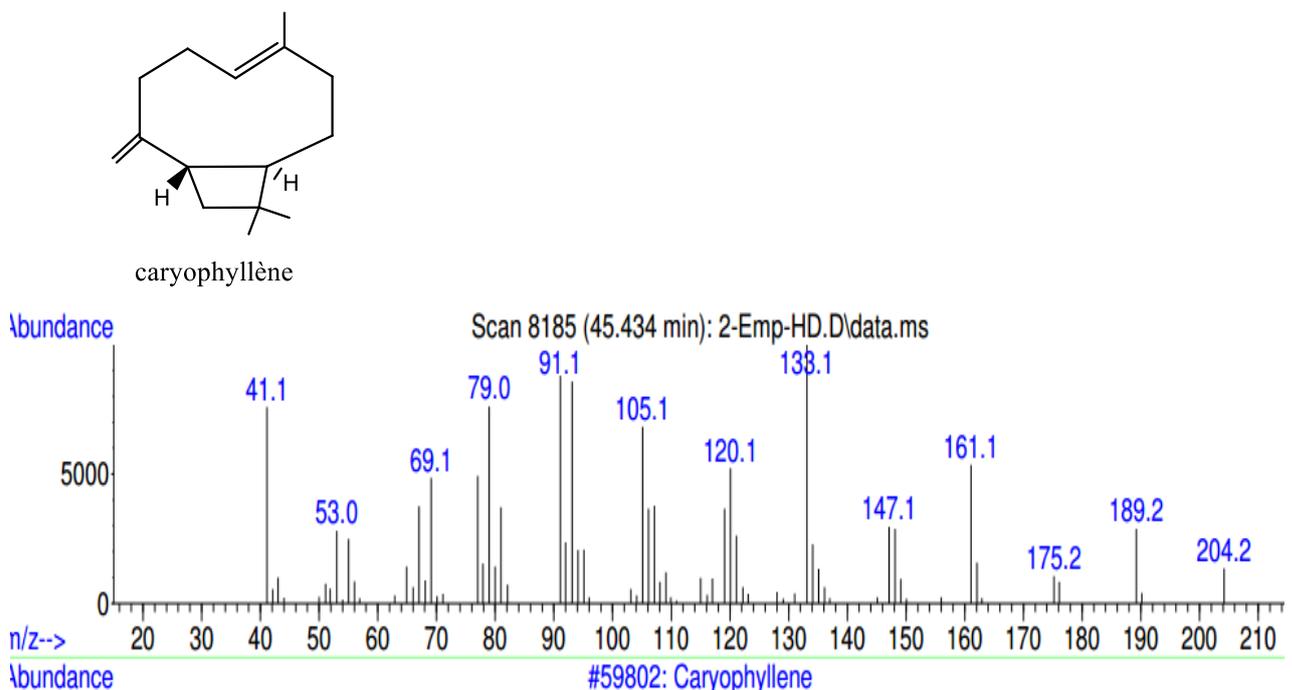
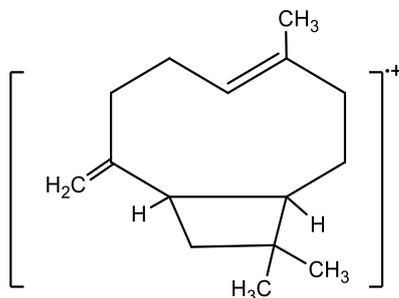
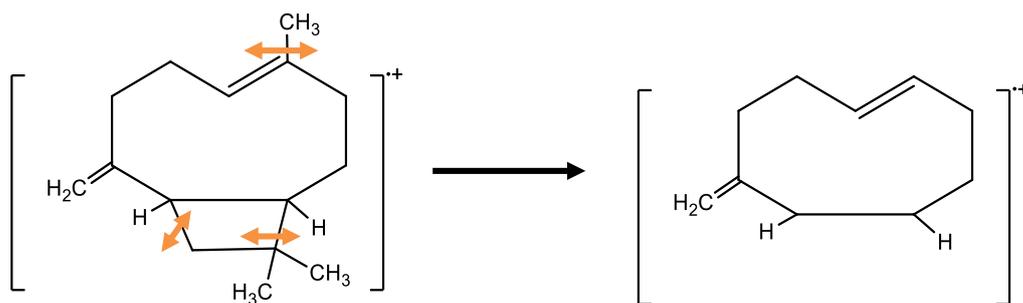


Figure 19 : spectre de masse du β-caryophyllène

- Le pic de masse 204 représente le pic de l'ion parent $C_{15}H_{24}^+$;

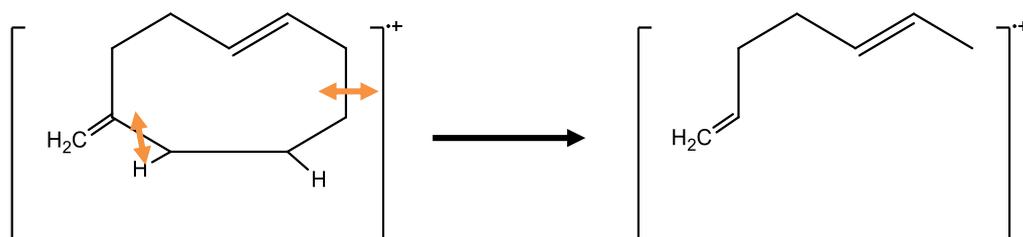


- Le pic de base ($m/z= 133,1$) correspond à $[M - 71]$ qui est le résultat de la perte des ions CH_3^+ et $C_4H_8^+$;

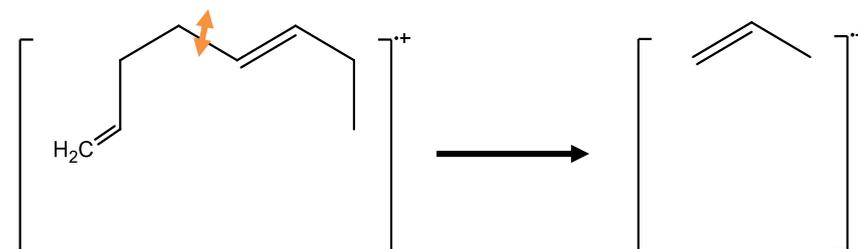


La conjugaison des doubles liaisons qui en résulte, stabilise l'ion d'où son abondance.

- Les pics de masse 91 et 93 correspondant à $[M - 71 - 42]$ et $[M - 71 - 40]$ traduiraient l'élimination des fragments $C_3H_6^+$ et $C_3H_4^+$ avec ouverture du cycle ;



- Le pic de masse 41 correspondant à $[M - 71 - 40 - 52]$ traduit l'élimination probable du fragment $C_4H_5^+$



2.3.2- *Emilia praetermissa* (*E. praetermissa*)

2.3.2.1- Composition de l'huile essentielle obtenue des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*

➤ Hydrodistillation

L'analyse de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *E. praetermissa* a donné trente-deux composés (**Tableau 6**), soient 93,41% de la composition totale de l'huile essentielle.

Tableau 6 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*

N°	composés	Tr (min.)	Ir	m/z	m/z des principaux pics	% Total
1	α -pinène	12,63	925	136	93 ; 77	3,35
2	camphène	13,52	938	136	121 ; 93 ; 79	0,13
3	β -pinène	15,36	967	136	93 ; 41 ; 69 ; 79	2,74
4	β-myrcène	16,74	989	136	93 ; 41 ; 69	5,16
5	D-limonène	19,10	1023	136	93 ; 68 ; 79 ; 41	2,82
6	1-undécène	23,90	1090	154	41 ; 55 ; 70 ; 83	25,58
7	(Z)-3-undécène	24,48	1098	154	93 ; 71 ; 41 ; 55	0,29
8	acétate de bornyle	37,11	1280	196	93 ; 121 ; 41 ; 136	0,95
9	cyclosativène	42,16	1358	204	105 ; 161 ; 204 ; 91 ; 119	3,16
10	longipinène	42,52	1363	204	69 ; 93 ; 119 ; 41 ; 105	0,37
11	copaène	43,55	1379	204	121 ; 69 ; 91 ; 41	0,20
12	β -bourbonène	43,94	1385	204	93 ; 41 ; 81 ; 107 ; 67 ; 147	1,28
13	β -élémiène	44,72	1397	204	91 ; 81 ; 41 ; 133 ; 105 ; 119	0,18
14	caryophyllène	45,43	1409	204	138 ; 91 ; 41 ; 79 ; 105 ; 161	8,34
15	α -muurolène	47,50	1443	204	93 ; 121 ; 80 ; 41 ; 147	0,93
16	α -humulène	48,18	1454	204	41 ; 69 ; 93 ; 133	0,16
17	germacrène D	49,44	1475	204	161 ; 105 ; 91 ; 204	1,93
18	α -guaïène	50,33	1490	204	41 ; 55 ; 97 ; 83 ; 69	2,13
19	valencène	51,29	1506	204	91 ; 161 ; 41 ; 69 ; 107	0,31
20	cadina-1,4-diène	51,91	1516	204	126 ; 108 ; 43 ; 161 ; 67 ; 55 ; 81	0,55
21	eudesma-3,7(11)-diène	52,95	1534	204	157 ; 142 ; 44 ; 200	0,10
22	cadina-3,9-diène	53,39	1542	204	106 ; 41 ; 79 ; 93	1,60
23	germacrène B	54,44	1560	204	93 ; 69 ; 41 ; 161	0,15
24	oxyde de caryophyllène	55,11	1572	220	79 ; 41 ; 91 ; 109	24,02
25	6-épi-cubénol	56,60	1600	222	109 ; 96 ; 67 ; 43 ; 138	3,31
26	1,10-di-épi-cubénol	57,28	1610	222	41 ; 91 ; 81 ; 135 ; 107	0,16
27	épi- α -Cadinol	59,26	1646	222	81 ; 55 ; 107	1,92
28	guaï-1(10)-én-11-ol	59,96	1659	222	67 ; 79 ; 41 ; 55 ; 93 ; 107	0,57
29	α -cadinol	60,19	1663	222	91 ; 41 ; 79 ; 107 ; 55	0,86
30	oxyde de α -bisabolène	61,08	1680	238	41 ; 109 ; 55 ; 69 ; 93 ; 119	0,40
31	époxyde de longipinène	63,90	1733	220	41 ; 67 ; 81 ; 55 ; 95 ; 107 ; 150	0,30
32	phytol	82,11	2110	128	71 ; 41 ; 123 ; 55 ; 95	0,62
Alcènes						25,87
Monoterpènes hydrocarbonés						14,2
Sesquiterpènes hydrocarbonés						20,23
Composés oxygénés						33,11
Total						93,41

Tr : temps de rétention, Ir : indice de rétention, m/z : rapport masse-charge, % ; pourcentage

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* est composée majoritairement de composés oxygénés (33,11%) suivis des alcènes (25,87%), ensuite les sesquiterpènes (20,23%) puis les monoterpènes (14,2%) (**Figure 20**).

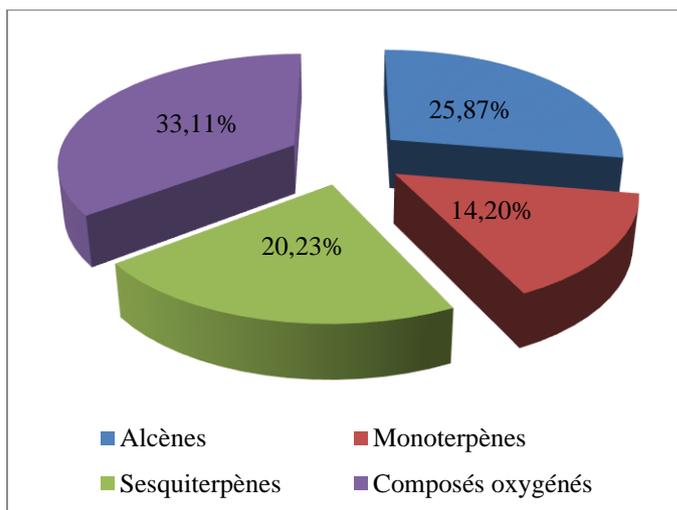


Figure 20 : Diagramme comparatif des teneurs des différentes familles chimiques dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées et fleurs de *E. paretmissa*

Les composés majoritaires sont, le sesquiterpène oxygéné, oxyde de caryophyllène (24,02%), l'hydrocarbure oléfinique 1-undécène (25,58%) et le sesquiterpène bicyclique β -caryophyllène (8,34%) (**Figure 21**).

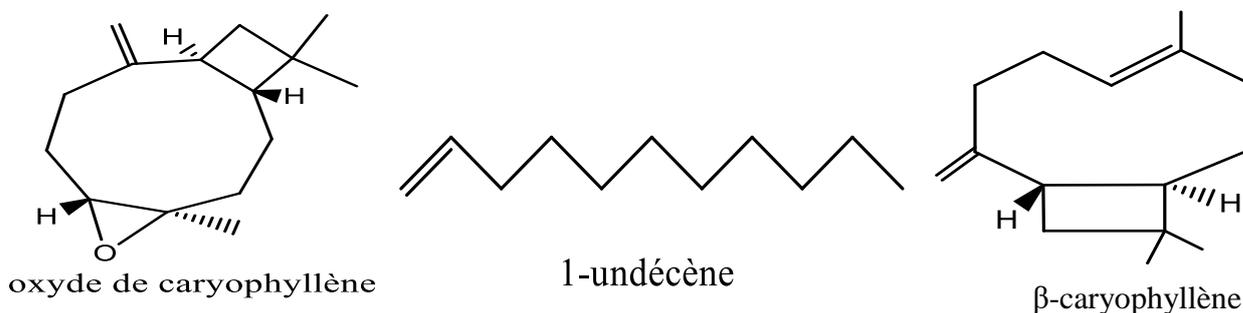


Figure 21 : composés majoritaires de l'HE-HD de *E. paretmissa*

Il faut noter aussi la présence en faible teneur mais significative du monoterpène bicyclique α -pinène (3,35%), du monoterpène acyclique β -myrcène (5,16%), du sesquiterpène cyclosativène (3,16%) et du sesquiterpène oxygéné 6-épi-cubénol (3,31%) (**Figure 22**).

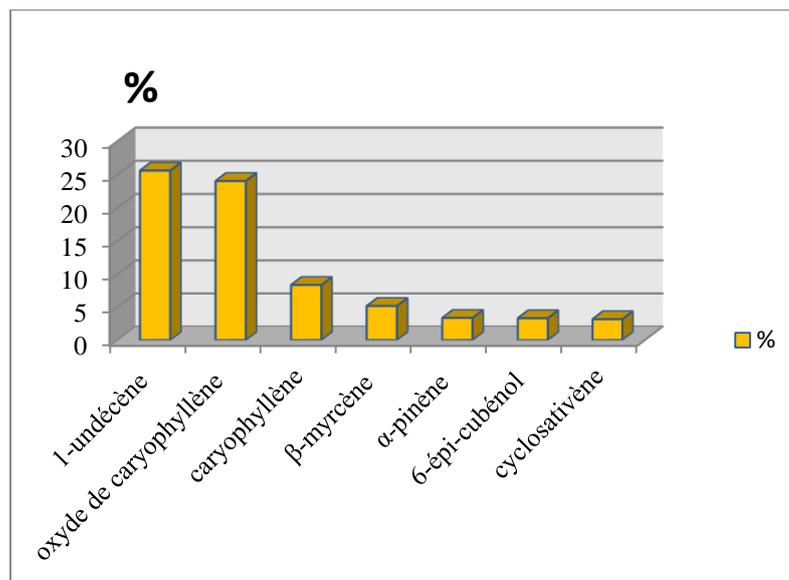


Figure 22 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*

Cette étude sur l'huile essentielle des tiges feuillées et fleurs de *Emilia praetermissa* est réalisé pour la première fois. Cependant, des données sur l'huile essentielle des espèces du même genre existent, notamment celle de *Emilia sonchifolia* (**Rajesh, 2018**).

Il ressort une légère différence car la composition de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* obtenue est plutôt riche en composés oxygénés et les alcènes. Ce qui pourrait suggérer une variabilité de la composition des huiles essentielles extraites de différentes espèces du genre *Emilia*.

➤ **Entraînement à la vapeur d'eau**

Quant à l'analyse chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*, elle a révélé dix-huit composés (**Tableau 7**), soient 98,26% de la composition totale de l'huile essentielle.

Tableau 7: Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*

N°	composés	Tr	Ir	m/z	m/z des principaux ions fils	% Total
1	α -pinène	12,61	924	136	93 ; 77 ; 41	1,30
2	β -pinène	15,38	967	136	93 ; 69 ; 79 ; 121 ; 41	0,64
3	D-limonène	19,10	1023	136	93 ; 68, 79 ; 121 ; 53	1,4
4	1-undécène	23,87	1089	154	41 ; 55 ; 70 ; 83 ; 97	23,66
5	(+)-cycloisosativène	42,16	1358	204	105 ; 91 ; 161 ; 119 ; 77 ; 41	4,72
6	β -élémyène	43,95	1386	204	93 ; 41 ; 133 ; 81 ; 161 ; 147 ; 68	0,58
7	caryophyllène	45,43	1409	204	91 ; 132 ; 41 ; 79 ; 161 ; 105 ; 69	9,06
8	humulène	47,51	1443	204	93 ; 121 ; 44 ; 80 ; 147 ; 107	1,31
9	germacrène D	49,59	1477	204	119 ; 132 ; 44 ; 105 ; 91 ; 202	1,11
10	valencène	50,34	1490	204	41 ; 55 ; 83 ; 97 ; 69	3,53
11	cadina-1,4-diène	51,87	1516	204	161 ; 119 ; 95 ; 189 ; 41	0,30
12	cadina-3,9-diène	53,39	1542	204	91 ; 41 ; 121 ; 67 ; 79 ; 106	1,02
13	oxyde de caryophyllène	55,09	1572	222	79 ; 91 ; 41 ; 109 ; 55 ; 67 ; 121	27,74
14	3,4,4-triméthyl-2-cyclohexène-1-one	56,60	1598	138	67 ; 109 ; 96 ; 138 ; 43 ; 55 ; 81	2,33
15	épi- α -Cadinol	59,26	1646	222	138 ; 91 ; 44 ; 119 ; 105	0,70
16	germacra-4(15), 5,10(14)-triène-1 α -ol	61,08	1679	220	119 ; 109 ; 93 ; 41 ; 69 ; 79	0,63
17	6, 10,14-triméthylpentadécane-2-one	69,38	1839	268		7,63
18	phytol	82,06	2108	138	71 ; 43 ; 123 ; 93	10,82
Alcènes non terpéniques						23,66
Monoterpènes hydrocarbonés						3,34
Sesquiterpènes hydrocarbonés						21,63
Composés oxygénés						49,63
Total						98,26

Tr : temps de rétention, Ir : indice de rétention, m/z : rapport masse-charge, % : pourcentage

L'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau est constituée de composés oxygénés (49,63%), d'alcènes (23,66%), de sesquiterpènes (21,63%) et de monoterpènes (3,34%) (**Figure 23**).

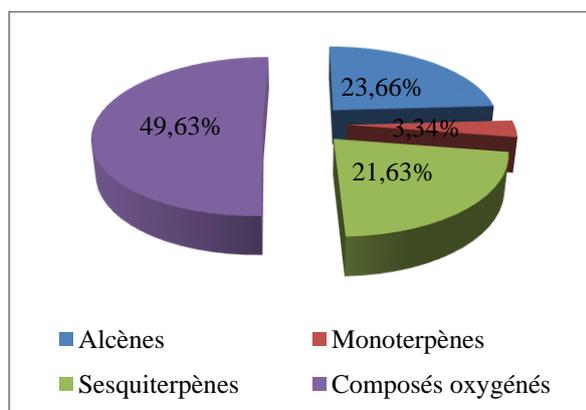


Figure 23: Diagramme comparatif des teneurs des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau.

Les composés majoritaires sont, le sesquiterpène oxygéné oxyde de caryophyllène (27,74%), l'hydrocarbure oléfinique 1-undécène (23,66%), le diterpène acyclique oxygéné phytol (10,82%) et le sesquiterpène bicyclique caryophyllène (9,06%). (**Figure 24**).

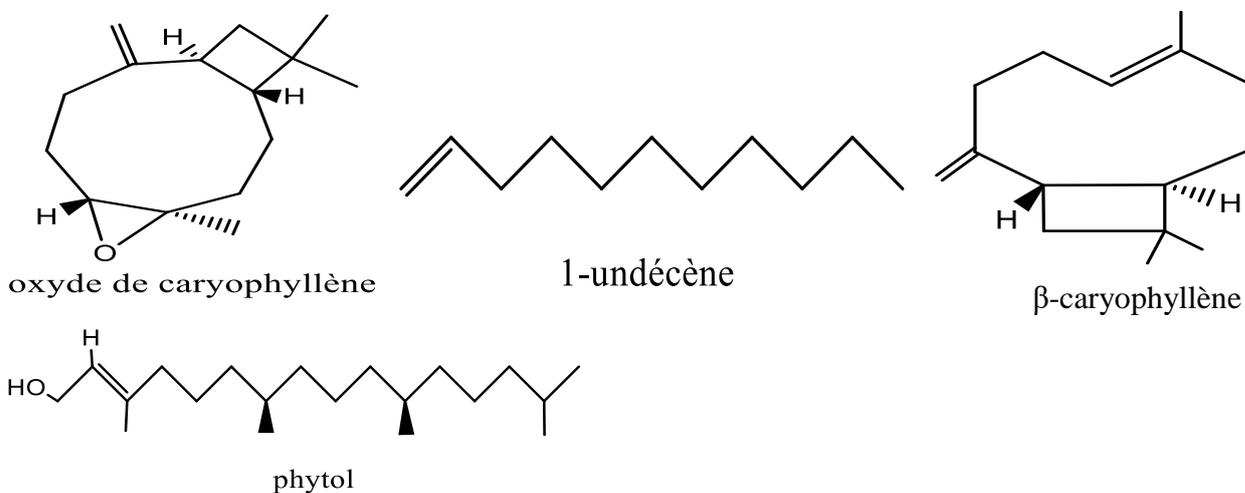


Figure 24 : composés majoritaires de l'HE-EV de *E. praetermissa*

Plusieurs composés significatifs mais mineurs sont à signaler, à savoir, les hydrocarbures sesquiterpéniques le (+)-cycloisosativène (4,72%), le valencène (3,53%) et la cétone 6, 10,14-triméthylpentadécan-2-one (7,63%) (**Figure 25**).

Le valencène qui est un sesquiterpène présent dans les agrumes a une teneur plus élevée dans l'HE-EV, ce qui a pu influencer la couleur jaune de cette huile.

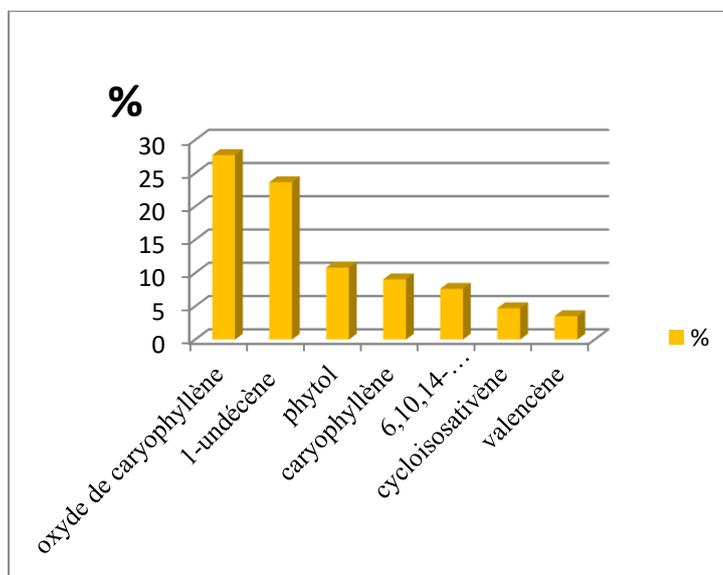


Figure 25 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*

2.3.2.2- Comparaison de la composition chimique des HE-EV et HE-HD des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*

Les HE obtenues par les deux méthodes sont constituées des mêmes grandes familles chimiques à des teneurs différentes. Les HE des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* sont constituées d'alcènes non terpéniques (25,87 % dans l'HE-HD et 23,66 % dans l'HE-EV), de monoterpènes (14,2 % dans l'HE-HD et 3,34 % dans l'HE-EV), de sesquiterpènes (20,23 % dans l'HE-HD et 21,63 % dans l'HE-EV) et de composés oxygénés (33,11 % dans l'HE-HD et 49,63 % dans l'HE-EV). Les sesquiterpènes et les composés oxygénés sont les plus abondants.

Le système de récupération (piégeage des composés) pourrait expliquer cela. Le cleverger a permis d'avoir plusieurs composés plus volatils dans l'HE-HD des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*. Ces composés, bien que légers ont pu être piégés jusqu'à la récupération. Ce que le système de récupération du dispositif à l'entraînement n'aurait pas pu permettre. Par contre les sesquiterpènes et les composés oxygénés sont restés en grande quantité dans l'HE obtenue par entraînement à la vapeur.

Les composés identiques représentent 77,28% de la composition chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et une teneur de 87,89% de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur (**Figure 26**).

Ces composés présents dans les huiles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau sont : le α -pinène (3,35 % - 1,30 %), le β -pinène (2,74 % - 0,64 %), le D-limonène (2,82 % - 1,40 %), le 1-undécène (25,58 % - 23,66 %), le cyclosativène (3,16 % - 4,72 %), le β -élémyène (0,18 % - 0,58 %), le caryophyllène (8,34 % - 9,06 %), le α -humulène (0,16 % - 1,31 %), le germacrène D (1,93 % - 1,11 %), le valencène (0,31 % - 3,53 %), le cadina-1,4-diène (0,55 % - 0,30 %), le cadina,3,9-diène (1,60 % - 1,02 %), l'oxyde de caryophyllène (24,02 % - 27,74 %), le 6-épi-cubénool (3,31 % - 2,33 %), l'épi- α -cadinol (1,92 % - 0,70 %) et le phytol (0,62 % - 10,82 %).

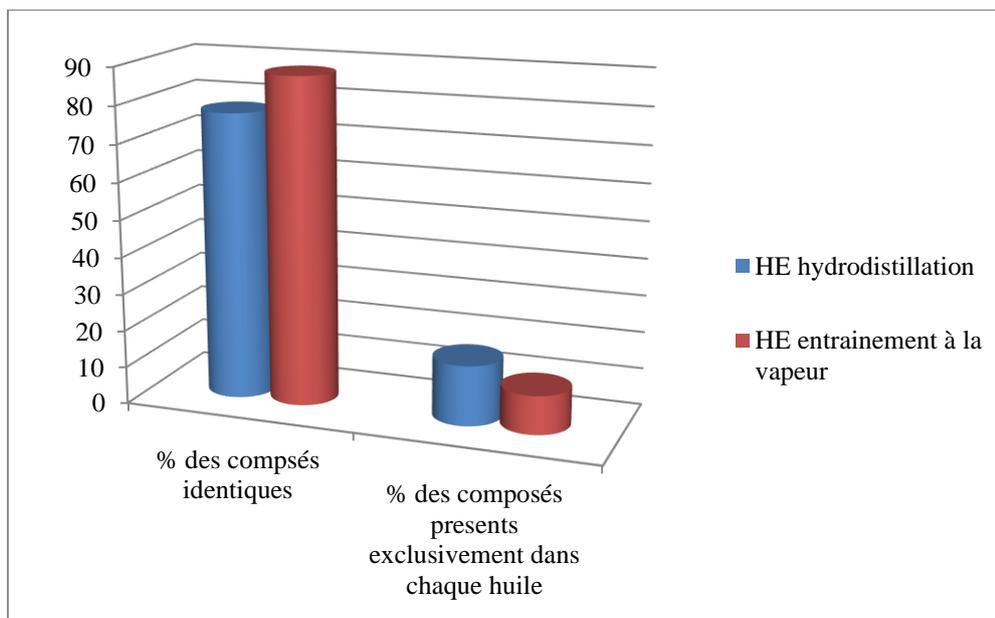


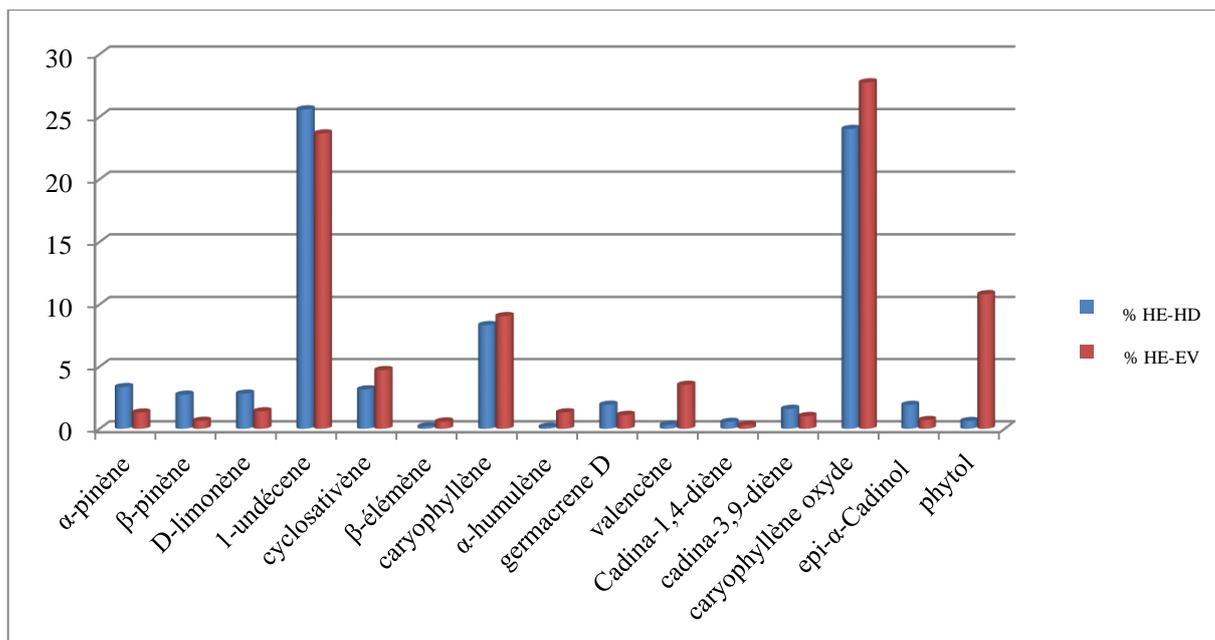
Figure 26 : Histogrammes comparatifs de présence des composés des HE-EV et HE-HD des tiges feuillées et fleurs de *Emilia praetermissa*

Les mêmes composés majoritaires, se répètent avec des teneurs différentes dans les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur, l'oxyde de caryophyllène (24,02 % - 27,74 %), le 1-undécène (23,66 % - 25,58 %) et le caryophyllène (8,34 % - 9,06 %) (**Figure 27**). L'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau ne change donc pas les composés majoritaires.

Selon les résultats, les composés à petite masse molaire ont généralement une teneur plus élevée dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation que dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau. Ce sont l' α -pinène (3,35 % dans HE-HD et 1,30 % dans HE-EV), le β -pinène (2,74 % dans HE-HD et 0,64 % dans HE-EV), le D-limonène (2,82 % dans HE-HD et 1,40 % dans HE-EV), le 1-undécène (25,58 % - 23,66 %).

Parallèlement les sesquiterpènes et leurs homologues oxygénés, le cyclosativène (3,16 % - 4,72 %), le β -élémente (0,18 % - 0,58 %), le caryophyllène (8,34 % - 9,06 %), le α -humulène (0,16 % - 1,31 %), le valencène (0,31 % - 3,53 %), l'oxyde de caryophyllène (24,02 % - 27,74 %) et le phytol (0,62 % - 10,82 %) sont plus représentés dans l'HE-EV (**Figure 25**).

La proximité avec l'eau des composés extraits par hydrodistillation favorise leur solubilisation, diminuant leur teneur, le cas du diterpène oxygéné phytol. Le milieu acide de l'eau offre un environnement propice à plusieurs réactions aux composés insaturés qui composent les huiles essentielles. Il pourrait donc avoir des réactions d'interconversion et d'oxydation favorisant l'apparition de composés de petites masses ou augmentant leur teneur (**Deschepper, 2017**).



- HE-HD : Huile essentielle obtenue par hydrodistillation
- HE-EV : huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur

Figure 27: Histogrammes comparatifs des % des composés identiques dans les huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur et par hydrodistillation.

Plusieurs composés sont également présents exclusivement dans l'huile essentielle issue de l'hydrodistillation. Ce sont les composés tels que le camphène (0,13 %), le β-myrcène (5,16 %), le (Z)-3-undécène (0,29 %), l'acétate de bornyle (0,95 %), le longipinène (0,37 %), le copaène (0,20 %), le β-bourbonène (1,28 %), le α-guaiène (2,13 %), l'eudesma-3,7(11)-diène (0,10 %), le germacrene B (0,15 %), le 6-épi-cubénol (3,31 %), le 1,10-di-épi-cubénol (0,16 %), le guai-1(10)-en-11-ol (0,57 %), le α-cadinol (0,86 %), l'oxyde de α-bisabolène (0,40 %) et l'époxyde de longipinène (0,30 %).

Par ailleurs, l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau contient des composés qui sont absents dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, ce sont le 3,4,4-triméthyl-2-cyclohexène-1-one (2,33 %), le germacrene-4 (15), 5,10(14) – trién - 1α -ol (0,63 %) et le 6, 10,14-triméthylpentadécane-2-one (7,63 %).

Huit composés oxygénés ont été identifiés spécifiquement dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, l'acétate de bornyle (0,95 %), le 6-épi-cubénol (3,31 %), le 1,10-di-épi-cubénol (0,16 %), le guai-1(10)-en-11-ol (0,57 %), l'α-cadinol (0,86 %), l'oxyde de α-bisabolène (0,40 %), et l'époxyde de longipinène (0,30 %). Ces composés ont pour la plupart de faible teneur.

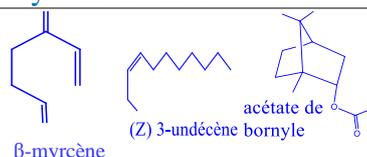
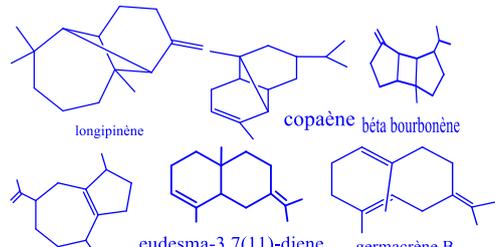
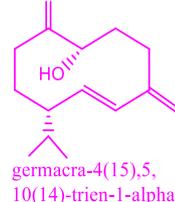
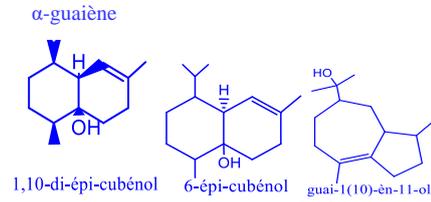
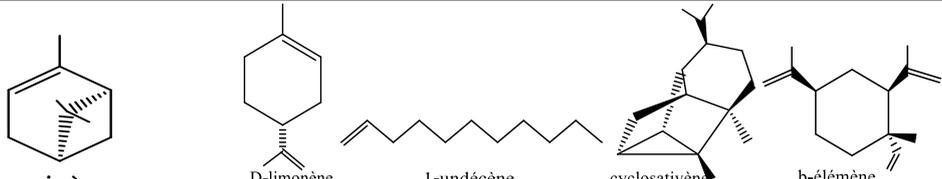
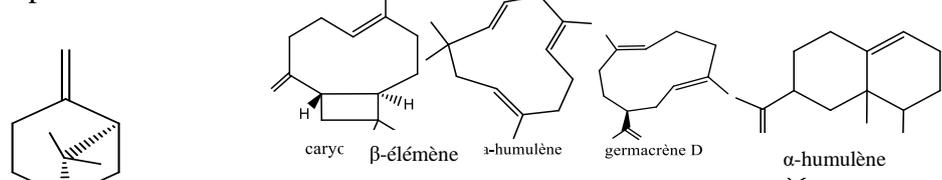
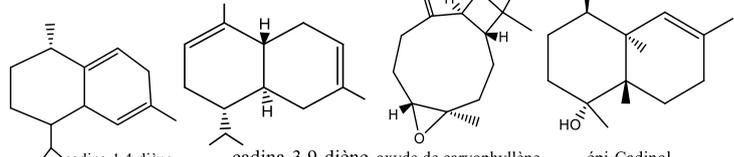
Cependant seuls trois composés oxygénés ont été présents exclusivement dans l'huile essentielle obtenue des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*, ce sont le 3,4,4-triméthyl-2-cyclohexène-1-one (2,33 %), le germacrene-4(15), 5,10(14)-triène-1 α -ol (0,63 %) et le 6, 10,14-triméthylpentadécane-2-one (7,63 %). La présence de ces composés oxygénés en grand nombre (huit) dans l'HE-HD contre deux dans l'HE-EV pourrait suggérer que l'hydrodistillation serait favorable aux réactions d'oxydation (Deschepper, 2017).

Ces différences constatées sur le plan chimique, pourraient influencer les différentes activités des HE obtenues par ces deux méthodes d'extraction. Ci-dessous représentées les structures des composés présents dans les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur (Tableau 8).

Aussi la coloration jaune pâle et jaune de l'HE issue des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*, pourrait-être due au β -caryophyllène et à l'oxyde de caryophyllène de couleur jaune pâle (Anonyme 11 et Anonyme 12). Ces deux composés représentent une part importante (32,36% - 36,8%) de ces HE.

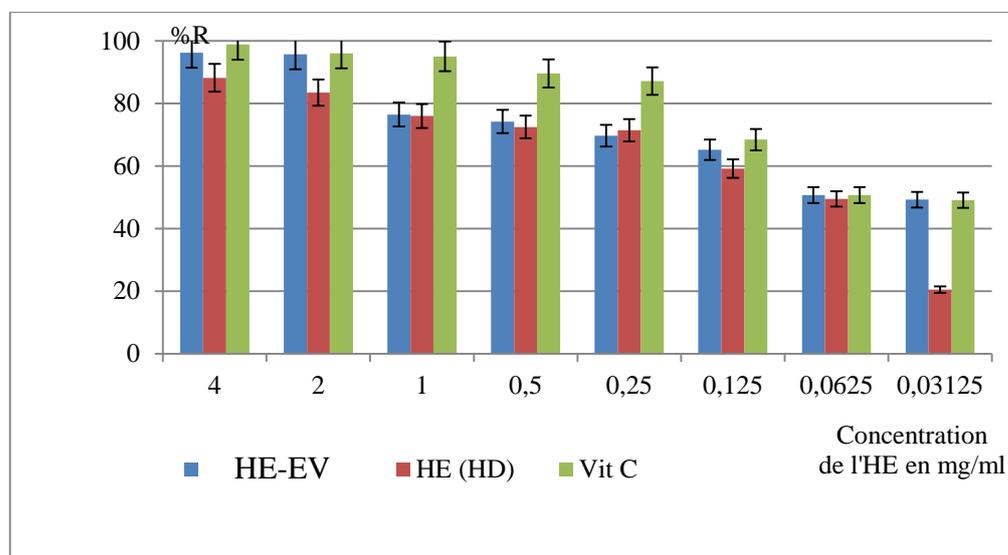
Les couleurs des deux HE sont légèrement différentes. Cette différence pourrait être expliquée par la présence, en faible proportion de composés comme le valencène. Le valencène est un sesquiterpène bicyclique de couleur jaune. Il est présent dans l'HE obtenue par entraînement à la vapeur avec une teneur de 3,53%, dix fois plus élevée que dans l'HE obtenue par hydrodistillation où sa teneur est de 0,31%. Donc La présence du valencène avec une teneur dix fois plus élevée dans l'HE-EV a contribué à jaunir davantage cette HE.

Tableau 8 : structures des composés issus de l'analyse des huiles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur

Méthodes	Hydrodistillation	Entraînement à la vapeur
Structures des composés présents exclusivement dans chaque HE	 <p>β-myrcène</p> <p>(Z) 3-undécène bornyle</p> <p>acétate de bornyle</p>	 <p>3,4,4-triméthyl-2-cyclohexèn-1-one</p>
	 <p>longipinène</p> <p>copaène</p> <p>bêta bourbonène</p> <p>eudesma-3,7(11)-diène</p> <p>germacrène B</p>	 <p>germacra-4(15),5,10(14)-trien-1-alpha-ol</p>
	 <p>α-guaiène</p> <p>1,10-di-épi-cubénol</p> <p>6-épi-cubénol</p> <p>guai-1(10)-én-11-ol</p>	 <p>6,10,14-triméthyl-pentadécane-2-one</p>
	 <p>α-cadinol</p> <p>oxyde de γ-bisabolène</p> <p>époxyde de longipinène</p>	
Structures des composés identiques des HE obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur	 <p>α-pinène</p> <p>D-limonène</p> <p>1-undécène</p> <p>cyclosativène</p> <p>b-élémentène</p>	
	 <p>β-pinène</p> <p>caryc</p> <p>β-élémentène</p> <p>α-humulène</p> <p>germacrène D</p> <p>α-humulène</p>	
	 <p>cadina-1,4-diène</p> <p>cadina-3,9-diène</p> <p>oxyde de caryophyllène</p> <p>épi-Cadinol</p>	
	 <p>phytol</p>	

2.3.2.3- Activité antioxydante des huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*

La mesure des absorbances des huiles essentielles par spectrophotométrie, révèle que les huiles essentielles ont une très bonne capacité réductrice donc une bonne activité (**Figure 28**).



- HE-EV : huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur
- HE-HD : huile essentielle obtenue par hydrodistillation
- Vit. C : vitamine C

Figure 28 : histogrammes des pourcentages de réduction en fonction des concentrations

La CR_{50} de l'HE-HD ($0,026 \pm 0,01$ mg/mL) est supérieure à celle de de la vitamine C ($0,021 \pm 0,01$ mg/mL, référence) et à celle de l'HE-EV ($0,014 \pm 0,01$ mg/mL). L'HE-EV aurait un potentiel antioxydant plus élevé que la vitamine C et l'HE-HD.

Cette bonne activité antioxydante des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entrainement à la vapeur de la partie aérienne de *E. praetermissa* pourrait être due aux teneurs élevées de composés oxygénés (33,11 % - 49,63 %). En général, les huiles essentielles riches en composés oxygénés présentent une activité antioxydante plus marquée que celles riches en terpènes hydrocarbonés (**Benov, 1994**).

Les études sur la composition chimique des huiles essentielles des plantes aromatiques en relation avec le screening de leurs activités biologiques sont abondantes. Il est établi dans de nombreux travaux que l'activité d'une huile essentielle est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre les constituants (**Oussou et al., 2009 ; Oussou et al., 2010 ; Saint, 2003 ; Kalemba et Kunicka, 2003**).

La composition chimique des HE des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* en composés majoritaires est le 1-undécène 25,58 %, l'oxyde de caryophyllène 24,02 %, le caryophyllène 8,34 %, et le β -myrcène 5,16 % pour HE-HD et le 1-undécène 23,66, l'oxyde de caryophyllène 27,74 %, le caryophyllène 9,06 %, le phytol 10,82 %, et le 6, 10,14-triméthylpentadécane-2-one 7,63 % pour HE-EV. Les composés 1-undécène et oxyde de caryophyllène les plus abondants pour les deux méthodes ne peuvent expliquer l'activité antioxydante des deux HE. La présence du phytol dans HE-EV, à plus de 17 fois dans HE-HD (0,62 %), pourrait expliquer la forte activité de l'HE-EV. Le phytol étant connu comme possédant une forte activité antioxydante (Santos *et al.*, 2013).

En somme, la comparaison des activités antioxydantes selon les deux méthodes d'extraction montre que l'huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur a une plus grande activité que celle obtenue par hydrodistillation.

2.3.2.4- Activité antibactérienne des huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*

Les résultats des tests ont montré que l'huile essentielle des tiges feuillées et fleurs de *Emilia praetermissa* a une activité sur quatre des sept souches bactériennes utilisées (Tableau 9).

Tableau 9: Résultats des tests antibactériens de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation

Souches	HE <i>E. praetermissa</i>				Gentamycine (référence)			
	di (mm)	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB/CMI	di (mm)	CMI	CMB	CMB /CMI
<i>S. aureus</i>	12	3,75	30	8	30	0,005	0.01	2
<i>S. epidermidis</i>	14	3,75	30	8	30	0,0025	0,005	2
<i>S. typhimurium</i>	0	-	-	-	28	-	-	-
<i>E. coli</i>	0	-	-	-	28	-	-	-
<i>K. pneumoneae</i>	15	3,75	30	8	35	0,005	0.01	2
<i>P. aeruginosa</i>	0	-	-	-	30	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	9	-	-	-	34	0,0025	0,005	2

di: diamètre d'inhibition ; CMI: Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB: Concentration Minimale bactéricide ; - :sans effet

Au regard des diamètres des zones d'inhibition obtenus par le screening, l'HE-HD de *E. praetermissa* est efficace contre *S. aureus* (12 mm, CMI = 3,75 mg/mL et CMB = 30 mg/mL), *S. epidermidis* (14 mm, CMI = 3,75 mg/mL et CMB = 30 mg/mL), *K. pneumoneae* (.15 mm, CMI = 3,75 mg/mL et CMB = 30 mg/mL). La littérature consultée ne mentionne pas d'activité antibactérienne pour le composé majoritaire le 1-undécène (25,58%). Cette activité pourrait être donc justifiée par la présence de composés très significatifs tels que l'oxyde de caryophyllène (24,02%), le β -caryophyllène (8,34 %), et le β -myrcène (5,16 %) dont les activités antibactériennes sont mentionnées (Inoue *et al.*, 2004 ; Matasyoh *et al.*, 2007 ; Dahaham *et al.*, 2015).

Du fait de la plus grande sensibilité lors du test avec l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, *S. epidermidis* et *K. pneumoneae* ont été choisies pour le test comparatif. Appliquées aux mêmes souches, les huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur et par hydrodistillation ont donné des zones d'inhibition sensiblement différentes (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Zones d'inhibition des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur contre les bactéries *S. epidermidis* et *K. pneumoneae*

Souches	HE-EV di(mm)	HE-HD di(mm)	OXYTETRACYCLINE (référence) di(mm)
<i>K. pneumoneae</i>	13	15	30
<i>S. epidermidis</i>	14	15	30

- HE-EV : huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur
- HE-HD : huile essentielle obtenue par hydrodistillation

Les diamètres d'inhibition se situent dans le même intervalle d'efficacité (**Berghe Vlietinck, 1991**). Les zones d'inhibition sont assez proches pour *K. pneumoneae* (13 mm-15 mm) et *S. epidermidis* (14 mm – 15 mm) donc les HE extraites par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau ont la même efficacité.

Les différences constatées au niveau des diamètres d'inhibition pourraient s'expliquer par la teneur des composés responsables des activités contre *S. epidermidis* et *K. pneumoneae*, parmi ces composés, il y a l' α -pinène (3,35 % dans l'HE-HD contre 1,30 % dans l'HE-EV) et le β -pinène (2,74 % dans l'HE-HD contre 0,64 % dans l'HE-EV) (**Leite et al., 2007**).

2.3.2.5- Activité antifongiques de l'HE-HD de *E.praetermissa*

L'HE des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* a montré une activité antifongique contre *C. albicans* (12 mm, CMI = 3,75 mg/mL et CMB = 30 mg/mL), *C. tropicalis* (12 mm, CMI = 3,75 mg/mL et CMB = 30 mg/mL) et *C. glabrata* (11 mm, CMI = 3,75 mg/mL et CMB = 30 mg/mL) (**Tableau 11**).

Tableau 11 : diamètres d'inhibition et concentrations minimales obtenues avec l'HE-HD des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*.

<i>champignons</i>	di HE-HD (mm)	CMI	CMF	CMF/CMI	Amphotéricine B (référence)			
					di	CMI	CMB	CMB/CMI
<i>C. albicans</i>	12	3,75	30	8	35	0,05	0,1	2
<i>C. tropicalis</i>	12	3,75	30	8	30	0,05	0,1	2
<i>C.glabrata</i>	11	3,75	30	8	35	0,05	0,1	2

di: diamètre d'inhibition ; CMI: Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB: Concentration Minimale fongicide

Les monoterpènes (14,20%) et leurs isomères sont connus pour leurs activités antifongiques (**Iraji et al., 2020**). Les composés tels que l' α -pinène (3,35 %), le β -pinène (2,74 %) contenus dans l'huile

essentielle des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* manifestent de très bonnes activités antifongiques (Nobrega *et al.*, 2021 ; Andrade *et al.*, 2018)

2.3.2.6-Conclusion sur l'étude des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*

Cette étude montre que l'huile essentielle des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*, riche en composés oxygénés, possède une bonne activité antioxydante. Cette huile essentielle est efficace contre les bactéries *S. aureus*, *S. epidermidis*, *K. pneumoneae*, puis contre *C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. glabrata*. Ce qui pourrait expliquer l'abondante utilisation de cette plante en médecine traditionnelle. Néanmoins, dans le cas des huiles essentielles, selon que l'on distille par hydrodistillation ou par entraînement à la vapeur, il y a des variations aux niveaux des couleurs des huiles, des rendements, des compositions chimiques et des activités biologiques. Selon l'étude, il existerait au moins 10 à 20% de différences dans la composition chimique ce qui impliquerait la différence des activités, antioxydante et antimicrobienne.

2.3.3- *Porophyllum ruderale* (*P. ruderale*)

2.3.3.1- Composition chimique des huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale*

➤ Hydrodistillation

L'analyse de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale*, a révélé la présence de quinze composés (Tableau 11). Elle est majoritairement constituée d'hydrocarbures monoterpéniques (72,83%), d'alcènes (14,38%), d'hydrocarbures sesquiterpéniques (4,34%) puis minoritairement de composés oxygénés (0,66%) (Figure 27).

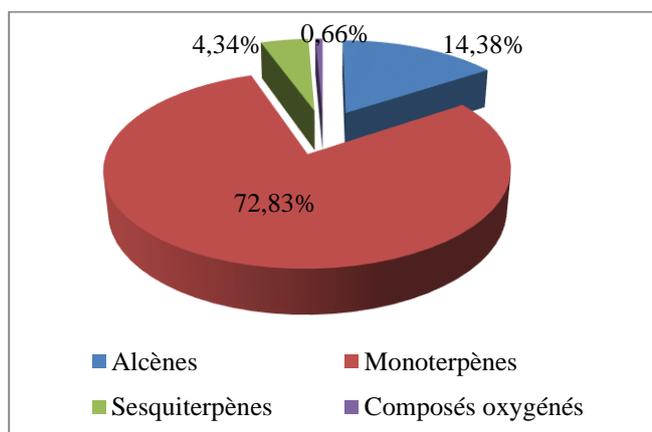


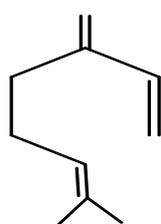
Figure 29: Diagramme comparatif des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne de *Porophyllum ruderale*

Tableau 12 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne de *Porophyllum ruderale*

N°	composés	Tr (min.)	Ir	m/z	m/z des principaux pics	% Total
1	α -pinène	12,63	925	136	93 ; 77 ; 121 ; 105 ; 41	1,24
2	β-pinène	15,36	967	136	93 ; 41 ; 69 ; 77 ; 121	12,96
3	β-myrcène	16,77	989	136	93 ; 69 ; 41 ; 77 ; 53	49,58
4	limonène	19,10	995	136	93 ; 68 ; 79 ; 107 ; 121 ; 41 ; 53	6,45
5	γ -terpinène	20,78	1046	136	93 ; 79 ; 41 ; 105 ; 121 ; 53	2,60
6	1-undécène	23,89	1090	154	41 ; 55 ; 70 ; 83 ; 97	13,64
7	(Z)-3-undécène	24,49	1098	154	150 ; 69 ; 81 ; 41 ; 53 ; 135	0,74
8	α -copaène	43,34	1376	204	162 ; 147 ; 119 ; 189 ; 105	2,39
9	β -élémente	44,46	1393	204	108 ; 189 ; 91 ; 79 ; 147 ; 133 ; 41	1,00
10	caryophyllène	45,42	1409	204	91 ; 80 ; 41 ; 133 ; 107 ; 69 ; 119	0,27
11	α -muurolène	47,51	1443	204	93 ; 41 ; 100 ; 69 ; 55 ; 147 ; 79	0,25
12	valencène	51,26	1505	204	41 ; 69 ; 81 ; 95 ; 107	0,43
13	oxyde de caryophyllène	55,09	1572	220	41 ; 91 ; 69 ; 105 ; 121 ; 55 ; 149	0,31
14	phytol	81,02	2085	128	69 ; 41 ; 83 ; 55 ; 93	0,18
15	acétoacétate d'éthyl-pipéronylidène	90,31	2302	262	229 ; 44	0,17
Alcènes non terpéniques						14,38
Monoterpènes hydrocarbonés						72,83
Sesquiterpènes hydrocarbonés						4,34
Composés oxygénés						0,66
Total						92,21

Tr : temps de rétention, Ir : indice de rétention, m/z : rapport masse-charge, % ; pourcentage

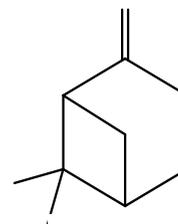
Les composés majoritaires sont représentés par un monoterpène acyclique majoritaire (β -myrcène, 49,58%), un hydrocarbure oléfinique (1-undécène, 13,64%) et le monoterpène bicyclique (β -pinène, 12,96%) (**Figure 30**).



β -myrcène



1-undécène



β -pinène

Figure 30 : composés majoritaires de l'HE-HD de *P. ruderale*

Aussi des composés mineurs tels que le sesquiterpène bicyclique copaène (2,39%) et le monoterpène γ -terpinène (2,60%) (**Figure 31**).

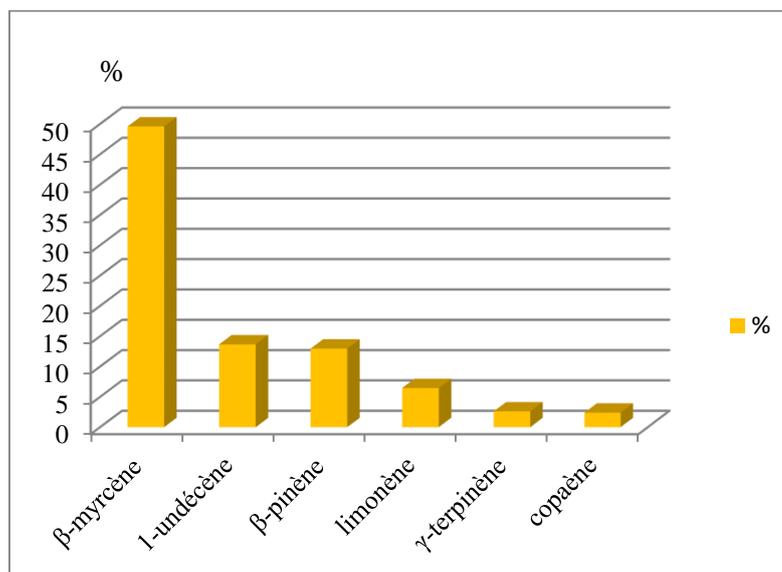


Figure 31 : Histogrammes des composés majoritaires dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. ruderale*

Des travaux ont été menés sur l'huile essentielle de *P. ruderale*, dans d'autres pays. En Bolivie, **Loayza et al. (2000)** ont identifié le sabinène (64%) comme carbure monoterpénique majoritaire. Au Brésil, **Fonseca et al. (2006)** ont montré la présence de β -phéllandrène majoritaire dans les huiles essentielles des feuilles et des fleurs de la même plante. Et **Raggi et al. (2014)** ont comparé la composition chimique des huiles essentielles des deux sous-espèces *P. ruderale* cultivées dans deux régions géographiquement différentes. Les résultats ont montré que la composition chimique des huiles essentielles des deux sous-espèces est différente selon la région de croissance. De plus, de grandes variations existent entre les stades végétatif et reproducteur en ce qui concerne la composition chimique des huiles de *Porophyllum ruderale* var. *macrocephalum*.

Au Venezuela, **Rondón et al. (2008)** ont montré la coexistence dominante du binôme limonène- β -phéllandrène (50,3%) et du sabinène (20,2%).

Ainsi, il existerait une variabilité bien établie au niveau de la composition chimique de l'huile essentielle obtenue de la partie aérienne par hydrodistillation de *P. ruderale* selon la zone et la période de récolte.

➤ **Entraînement à la vapeur d'eau**

Quant à l'analyse chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale*, elle a révélé onze composés (**Tableau 13**), soit 99,38% de la composition totale de l'huile essentielle.

Tableau 13 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *P. ruderale*

N°	composés	Tr(min)	Ir	m/z	m/z des principaux pics	% Total
1	apopinène	12,61	925	122	93 ; 77	0,32
2	β-pinène	15,36	967	136	93 ; 41 ; 69 ; 77 ; 121	7,42
3	β-myrcène	16,76	989	136	93 ; 41 ; 69 ; 79	62,01
4	limonène	19,10	1023	136	93 ; 67 ; 79 ; 121 ; 107 ; 41	5,02
5	β-ocimène	20,08	1036	136	93 ; 77 ; 105	0,13
6	γ-terpinène	20,78	1046	136	93 ; 79 ; 41 ; 105 ; 121	10,99
7	1-undécène	23,88	1090	154	41 ; 55 ; 70 ; 83 ; 97	9,24
8	α-copaène	43,34	1376	204	162 ; 147 ; 119 ; 105 ; 189	1,25
9	β-élémyène	44,45	1393	204	91 ; 108 ; 189 ; 121 ; 79 ; 133	0,33
10	10-épi-γ-eudesmol	57,91	1622	222	161 ; 189 ; 105 ; 133 ; 77 ; 59	0,58
11	cadinol	58,98	1641	222	149 ; 59 ; 161 ; 189 ; 105 ; 93	2,09
Alcènes non terpéniques						9,24
Monoterpènes hydrocarbonés						85,89
Sesquiterpènes hydrocarbonés						1,58
Composés oxygénés						2,67
Total						99,38

TR : temps de rétention, IR : indice de rétention, m/z : rapport masse-charge, % ; pourcentage

L'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* est largement dominée par les hydrocarbures monoterpéniques (85,89%) et les alcènes (9,24%) puis minoritairement de composés oxygénés (2,67%) et d'hydrocarbures sesquiterpéniques (1,58%) (**Figure 32**).

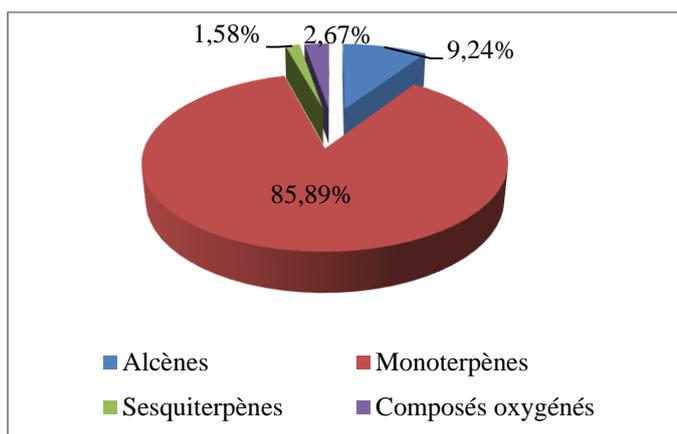


Figure 32 : Diagramme comparatif des teneurs des différentes familles chimiques dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale*

Les composés majoritaires sont représentés par un monoterpène acyclique majoritaire le β-myrcène (62,01%), un monoterpène cyclique isomérique, le γ-terpinène (10,99%), un

hydrocarbure oléfinique, le 1-undécène (9,24%), un monoterpène bicyclique, le β -pinène, (7,42%) et un hydrocarbure terpénique cyclique, le limonène (5,02%). Les spectres des deux composés à plus fortes teneurs issus de l'analyse ont été représentés.

Aussi en plus petite teneur l'hydrocarbure sesquiterpénique bicyclique α -copaène (1,25%) et le sesquiterpène oxygéné cadinol (2,09%) (**Figure 33**).

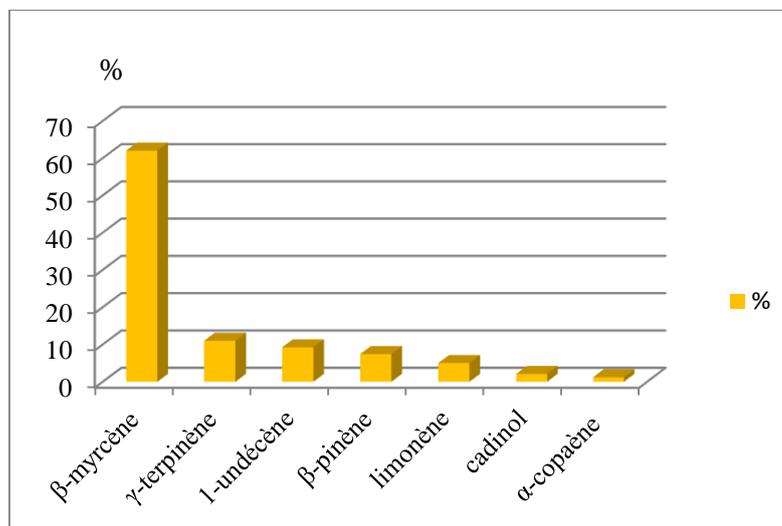


Figure 33 : Histogrammes des composés majoritaires dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de *P. ruderalis*

2.3.3.2- Comparaison de la composition chimique des huiles essentielles des tiges feuillées de *P. ruderalis*

Plusieurs composés se retrouvent dans les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur. Ces composés similaires représentent 96,26% de la composition de l'huile obtenue par entraînement à la vapeur et ont une teneur de 88,62% de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation (**Figure 34**). Cependant la comparaison des compositions chimiques des huiles essentielles fait transparaître une petite différence au niveau des teneurs totales pour les huiles essentielles obtenues.

Les tiges feuillées et fleurs de *P. ruderalis* sont composées d'alcènes non terpéniques (14,38 % dans l'HE-HD et 9,24 % dans l'HE-EV), de monoterpènes (72,83% dans l'HE-HD et 85,89 % dans l'HE-EV), de sesquiterpènes (4,34 % dans l'HE-HD et 1,58% dans l'HE-EV) et de composés oxygénés (0,66 % dans l'HE-HD et 2,67 % dans l'HE-EV). L'HE des tiges feuillées et fleurs est constituée en grande proportion de monoterpènes. La teneur élevée en monoterpène de l'HE-EV par rapport à l'HE-HD ne peut être expliquée par les systèmes de récupération. Cependant du fait des réactions favorisées par l'hydrodistillation, leur teneur est inférieure à celle de l'entraînement à la

vapeur. La formation du cation terpényle par exemple pourrait conduire soit à des monoterpènes cycliques comme le pinène (α et β), le limonène, le sabinène ou le γ -terpinène soit à des monoterpènes acycliques tels que le myrcène ou le (*E*)- β -ocimène (Ramak *et al.*, 2014). Le myrcène (49,58%) qui est le composé majoritaire est un 1,3-diène, donc favorable à une réaction de type Diels-Alder pour donner un cycle plus grand d'où une teneur légèrement élevée de sesquiterpènes (4,34% dans l'HE-HD contre 1,58% dans l'HE-EV)

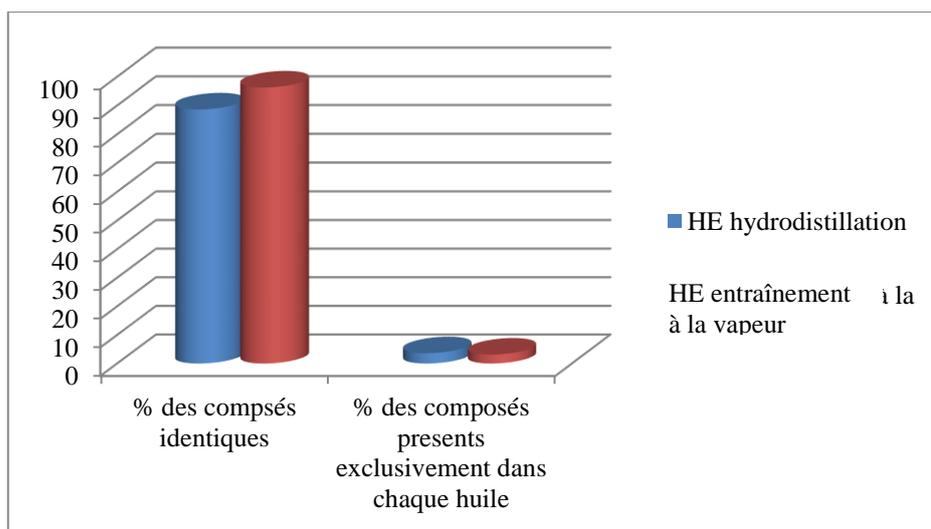


Figure 34 : Histogrammes comparatifs de présence des composés dans les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *P. ruderale*

Les composés majoritaires sont les mêmes avec des teneurs différentes dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et celle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau, ce sont le β -myrcène (49,58-62,01%), le 1-undécène (13,64-9,24%), le β -pinène (12,96-7,42%), le γ -terpinène (2,60-10,99%) et le limonène (6,45-5,02%). Le composé majoritaire β -myrcène, a une teneur plus élevée dans l'huile essentielle obtenue à l'entraînement à la vapeur (Figure 35). L'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur se fondent en grande partie sur le même principe, celui d'entraîner les composés volatils par la vapeur d'eau. Le contact de la plante avec l'eau est la principale différence. Cependant la grande sensibilité des composés insaturés qui composent les huiles essentielles, entraîne des modifications certaines d'un environnement expérimental à un autre d'où l'apparition d'artéfacts dans l'HE-HD. Ces artéfacts diminuent la teneur des composés dont ils sont issus.

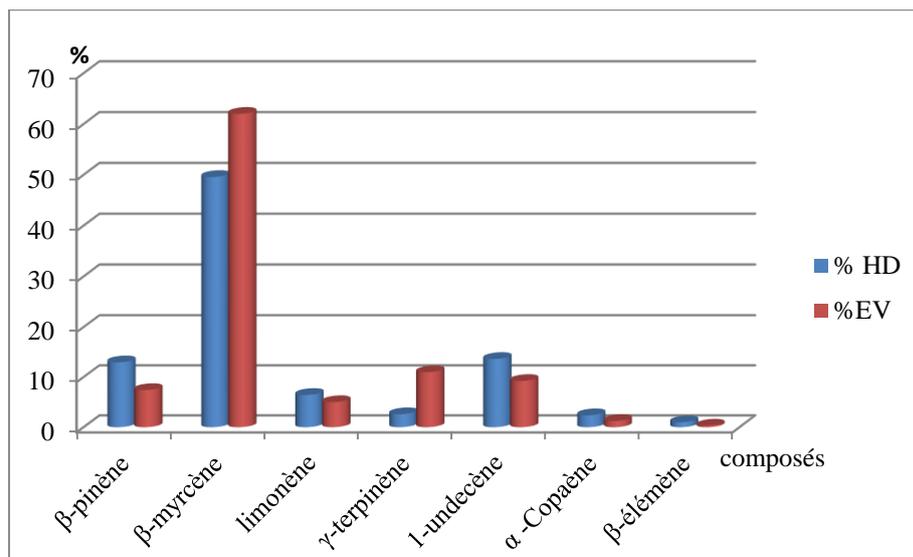


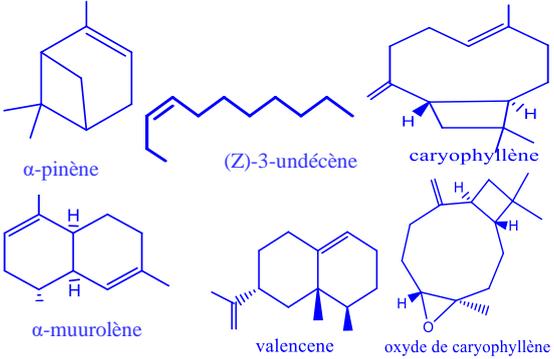
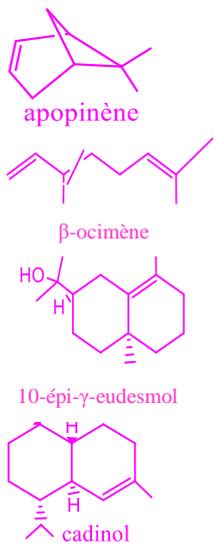
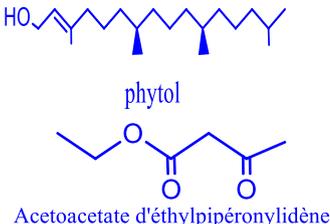
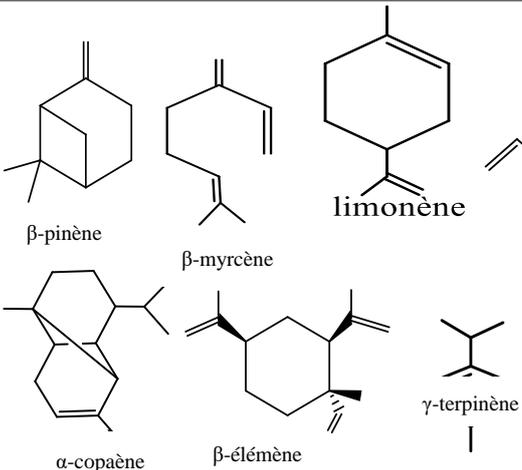
Figure 35 : Diagrammes comparatifs des teneurs des composés identiques dans les huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation des tiges feuillées et fleurs de *P.ruderales*

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation contient exclusivement des composés qui sont absents dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur, ce sont le α -pinène (1,24 %), le (Z)-3-undécène (0,74 %), le caryophyllène (0,27 %), le α -muurolène (0,25 %), le valencène (0,43 %), l'oxyde de caryophyllène (0,31 %), le phytol (0,18 %), l'acetoacetate d'éthylpipéronylidène (0,17 %). Ces composés qui représentent environ 3,59% de la composition de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation pourraient être des artéfacts. Des composés qui seraient issus de réactions de conversion, c'est le cas de l' α -pinène (1,24 %) qui pourrait être la conversion de l'apopinène et du β -ocimène qui eux sont présents dans l'HE-EV.

Également l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau contient quelques composés minoritaires qui sont absents dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, à savoir l'apopinène (0,32%), le β -ocimène (0,13 %), le 10-épi- α -eudesmol (0,58 %) et le cadinol (2,09 %) (**Tableau 14**).

En plus de la zone et la période de récolte, la méthode d'extraction influencerait également la composition chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne de *P. ruderales*.

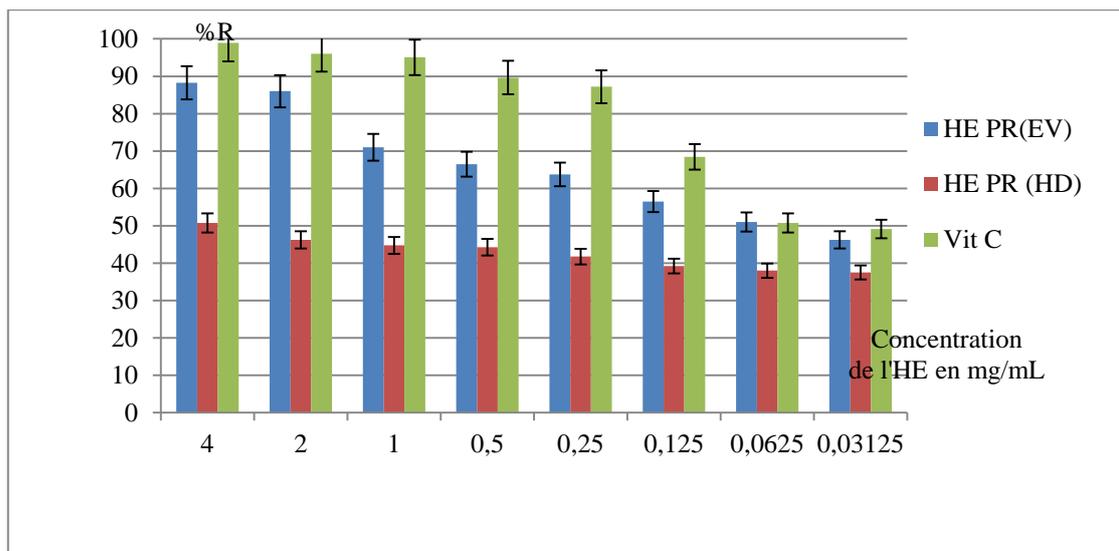
Tableau 14 : Structures des constituants des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau

Méthodes	Hydrodistillation	Entraînement à la vapeur
Structures des composés présents exclusivement dans chaque HE	 <p> <chem>CC1=C(C)CC2=C(C1)C=C(C)C2</chem> α-pinène <chem>CC=CCCCCCCCC</chem> (Z)-3-undécène <chem>C1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> caryophyllène <chem>CC1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> α-muuroloène <chem>CC1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> valencene <chem>C1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> oxyde de caryophyllène </p>	 <p> <chem>CC1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> apopinène <chem>CC=CC=CC=C</chem> β-ocimène <chem>CC1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> 10-épi-γ-eudesmol <chem>CC1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> cadinol </p>
	 <p> <chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(O)C</chem> phytol <chem>CCOC(=O)CC(=O)C</chem> Acetoacetate d'éthylpipéronylidène </p>	
Structures des composés identiques des HE obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur	 <p> <chem>CC1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> β-pinène <chem>CC=CC=CC=C</chem> β-myrcène <chem>CC1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> limonène <chem>CCCCCCCCCCCC</chem> 1-undécène <chem>CC1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> α-copaène <chem>CC1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> β-éllène <chem>CC1=CC2=C(C1)C=CC3=C2C=C(C)C3</chem> γ-terpinène </p>	

En outre les HE des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale*, le β -myrcène qui est le composé majoritaire se présente sous la forme d'un liquide jaunâtre avec une forte odeur aromatique ce qui pourrait expliquer la couleur jaune de ces HE (**Anonyme 12**). En plus, il est plus abondant (62,01%) dans l'HE-EV des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* d'où la forte intensité du jaune de cette HE.

2.3.3.3- Activité antioxydante des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale*

La mesure de l'activité des huiles essentielles par spectrophotométrie, révèle que les huiles essentielles ont une bonne activité antioxydante (**Figure 36**).



- HE-EV : huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau de *Porophyllum ruderale* ; HE-HD : huile essentielle obtenue par hydrodistillation de *Porophyllum ruderale* ; Vit C : vitamine C

Figure 36 : histogrammes comparatifs des pourcentages de réduction des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation, par entraînement à la vapeur et de la vitamine C

L'HE-EV a une $CR_{50} = 0,019 \pm 0,01 \text{ mg/mL}$ tandis que celle de l'HE-HD a une $CR_{50} = 0,084 \pm 0,01 \text{ mg/mL}$. L'HE-EV a une CR_{50} plus basse que celle de la vitamine C ($CR_{50} = 0,021 \pm 0,01 \text{ mg/mL}$). Elle aurait donc une activité plus grande que la vitamine C et l'HE-HD.

Plusieurs composés présents dans l'huile essentielle de *P. ruderale* possèdent individuellement une activité antioxydante. La différence d'activité antioxydante des HE obtenues des deux méthodes pourrait être due probablement aux teneurs des composés.

C'est le cas par exemple du γ terpinène et le myrcène. En effet, le γ -terpinène est présent à 10% dans l'HE-EV et à 2,60 % dans l'HE-HD de *P. ruderale*. Le myrcène également a une teneur de 62,01 % dans l'HE-EV contre 49,68 % dans l'HE-HD. Or, ces deux composés sont connus pour leurs fortes activités antioxydantes (**Ruberto et Barrata, 2000 ; Foti et Ingold, 2003 ; Li et Liu, 2009 ; Ciftci et al., 2011**).

De même, le valencène est dix fois plus abondant dans l'huile essentielle obtenue par l'entraînement à la vapeur d'eau (3,53%) que dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation (0,31%). Le valencène est reconnu disposé de propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, insecticides et anti-allergiques (**yang et al., 2016 ; Gallity et al., 2018 ; Ho Jin et al., 2011**). Ces composés ont donc pu augmenter le potentiel antioxydant de l'HE-EV.

L'activité de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur est largement au-dessus de celle de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation.

2.3.3.4- Activité antibactérienne des huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de *P. rudérale*

Les résultats des tests antibactériens (**Tableau 15**) ont montré que l'huile essentielle de *P. rudérale* est dépourvue d'activité contre *S. typhimirium* (00 mm), *E. coli* (00 mm) et *P. aeruginosa* (00 mm), mais sont moyennement efficaces contre *K. pneumoneae* (20 mm), *B. subtilus* (18 mm), *S. aureus* (15 mm) et *S. epidermidis* (24 mm). Elle présente par ailleurs, un effet bactériostatique avec une plus grande sensibilité contre *S. epidermidis* et *K. pneumoneae*. Les monoterpènes tels que l' α -pinène (1,24 %), le β -pinène (12,96 %), le β -myrcène (49,58 %), le limonène (6,45 %) et le γ -terpinène (2,60 %) possèdent des activités antibactériennes ((**Inoue et al., 2004 ; Matasyoh et al., 2007 ; Dahaham et al., 2015**).

La littérature évoque cette bonne activité antibactérienne des huiles essentielles de *P. rudérale* (**Rondón et al., 2008 ; Takashi et al. 2011 ; Gabrielle et al., 2011 ; Ulzias et al., 2012**).

Tableau 15: Concentrations minimales inhibitrice et bactéricide des huiles essentielles de *P. rudérale*.

Souches	HE <i>P. rudérale</i>				Gentamycine (référence)			
	di	CM I	CM B	CMB/C MI	di	CMI	CMB	CMB /CMI
<i>S. aureus</i>	15	3,75	30	8	30	0,005	0,01	2
<i>S. epidermidis</i>	24	3,75	15	4	30	0,0025	0,005	2
<i>S. typhimirium</i>	0	-	-	-	28	-	-	-
<i>E. coli</i>	0	-	-	-	28	-	-	-
<i>K. pneumoneae</i>	20	3,75	15	4	35	0,005	0,01	2
<i>P. aeruginosa</i>	0	-	-	-	30	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	18	3,75	30	8	34	0,0025	0,005	2

Les souches *S. epidermidis* et *K. pneumoneae* ont été choisies pour le test comparatif du fait de leur plus grande sensibilité. Appliquées contre les mêmes souches, les huiles essentielles obtenues à l'entraînement à la vapeur et par hydrodistillation ont donné des zones d'inhibition différentes (**Tableau 16**).

Tableau 16: Zones d'inhibition des huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* contre *S. epidermidis* et *K. pneumoneae*

Souches	HE-EV di (mm)	HE- HD di (mm)	Oxytétracycline (référence) di (mm)
<i>K. pneumoneae</i>	15	18	30
<i>S. epidermidis</i>	20	15	30

La zone d'inhibition des échantillons dépend de la souche bactérienne. Néanmoins le diamètre des zones d'inhibition indique que les huiles essentielles ont le même ordre d'activité. Elles ont une activité moyenne sur les bactéries. Ces variations au niveau des activités pourraient être dues à la présence de certains composés minoritaires présents de part et d'autre.

2.3.3.5- Activité antifongique de l'HE-HD des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale*

L'HE-HD des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* a un effet fongistatique sur les champignons testés. Les diamètres des zones d'inhibition et les concentrations minimales sont consignés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 17**).

Tableau 17 : diamètres des zones d'inhibition et les concentrations minimales de l'HE-HD

Champignons	Di HE- HD (mm)	C MI	CMF	CMF /CMI	Amphotéricine B (référence)			
					di	CMI	CMF	CMI/ CMF
<i>C. albicans</i>	14	3,75	30	8	35	0,05	0,1	2
<i>C. tropicalis</i>	12	3,75	30	8	30	0,05	0,1	2
<i>C. glabrata</i>	13	3,75	30	8	35	0,05	0,1	2

di : diamètre d'inhibition ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMF : Concentration Minimale Fongicide

L'HE-HD des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* est riche en monoterpènes (72,83 %) qui sont connus pour leurs activités antifongiques (**Iraji et al., 2020**). Les composés tels que l' α -pinène (1,24 %), le β -pinène (12,96%), le β -myrcène (49,58 %) et le limonène (6,45 %) contenus dans l'huile essentielle des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* manifestent de très bonnes activités antifongiques (**Nobrega et al., 2021 ; Muñoz et al., 2020, Andrade et al., 2018, Wilson et al., 2007**)

2.3.3.6- Conclusion sur l'étude des huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale*

Les huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* sont majoritairement dominées par les hydrocarbures monoterpéniques. Cette étude montre que le mode d'extraction influence l'huile essentielle des parties aériennes de *P. ruderale*.

L'entraînement à la vapeur d'eau donne une huile essentielle dont la composition est plus proche de la réalité car ses constituants ont une teneur plus élevée que leurs homologues obtenus par hydrodistillation. L'hydrodistillation étant favorable à plusieurs réactions produit des artéfacts augmentant ainsi le nombre de composés. De ce fait les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur diffèrent au niveau des couleurs des huiles, des rendements, des compositions chimiques et des activités antioxydante et antimicrobienne.

Les huiles essentielles ont révélé de très bonnes activités anti-oxydante et antimicrobienne.

2.3.4- *Premna quadrifolia* (*P. quadrifolia*)

2.3.4.1- Composition chimique des huiles essentielles des tiges feuillées de *Premna quadrifolia*

L'analyse de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. quadrifolia* a révélé vingt-huit composés qui font environ 91,92% de la composition totale de l'HE (**Tableau 18**).

Tableau 18 : Composition chimique de l'HE obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

N°	composés	Tr (min)	Ir	m/z	m/z des principaux pics	% Total
1	β -pinène	15,35	967	136	93 ; 77 ; 41	0,12
2	1-octèn-3-ol	16,06	978	128	57 ; 43 ; 72 ; 85 ; 99	0,52
3	β -myrcène	16,74	989	136	93 ; 41 ; 69 79 ; 53	4,69
4	D- limonène	19,10	1023	136	93 ; 68 ; 79 ; 41 ; 121	0,13
5	carvacrol	37,98	1293	150	135 ; 91 ; 115 ; 107 ; 43	0,27
6	α -cubébène	41,22	1343	204	161 ; 119 ; 105 ; 81 ; 91 ; 44	0,19
7	copaène	42,80	1368	204	161 ; 105 ; 119 ; 91 ; 41 ; 81	5,56
8	β-élémyène	43,92	1385	204	93 ; 81 ; 67 ; 41 ; 161 ; 189 ; 107, 147 ; 53 ; 133	5,97
9	caryophyllène	45,44	1409	204	133 ; 93 ; 79 ; 41 ; 105 ; 69 ; 120 ; 161 ; 189	16,24
10	humulène	47,52	1443	204	93 ; 121 ; 80 ; 147 ; 41	12,46
11	nérylacétone	47,95	1450	194	43 ; 69 ; 151 ; 107 ; 93 ; 136	0,93
12	β -farnésène	48,15	1454	204	41 ; 69 ; 93 ; 161 ; 133 ; 120	0,57
13	γ-muurolène	49,24	1472	204	161 ; 105 ; 91 ; 119 ; 41 ; 79	14,75
14	α -sélinène	50,09	1486	204	189 ; 93 ; 197 ; 133 ; 161 ; 41 ;	1,54

15	bicyclogermacrène	50,63	1495	204	79 ; 67 ; 93 ; 105 ; 161 ; 41 ; 119 ; 133 ; 189 ; 53	2,23
16	γ -cadinène	51,25	1505	204	161 ; 41 ; 93 ; 79 ; 105 ; 69 ; 119	1,82
17	cadina-1(10),4-diène	51,90	1516	204	161 ; 119 ; 134 ; 105 ; 91 ; 189	4,68
18	eudesma-3,7(11)-diène	53,18	1538	204	93 ; 41 ; 67 ; 121 ; 77 ; 105	0,40
19	cadina-3,9-diène	53,36	1542	204	93 ; 79 ; 43 ; 107 ; 59 ; 69 ; 121	0,21
20	germacrène B	53,60	1546	204	93 ; 119 ; 105 ; 41 ; 81 ; 133 ; 67 ; 161	0,38
21	palustrol	54,44	1560	222	69 ; 92 ; 107 ; 41 ; 161 ; 55	0,82
22	oxyde de caryophyllène	55,08	1571	220	79 ; 41 ; 91 ; 105 ; 69 ; 55 ; 121	2,70
23	3, 4,4-triméthyl-2- cyclohexèn-1-one	56,59	1598	138	109 ; 96 ; 67 ; 138 ; 43 ; 79 ; 55 ; 123	1,55
24	cubénol	58,52	1633	222	161 ; 43 ; 91 ; 77 ; 121 ; 134	0,71
25	α -cadinol	59,19	1645	222	204 ; 43 ; 121 ; 161 ; 95 ; 81 ; 109 ; 69 ; 189 ; 135	1,57
26	α-bisabolol	61,08	1680	222	119 ; 109 ; 69 ; 43 ; 204 ; 93 ; 55 ; 161 ; 79	5,20
27	6, 10,14- triméthylpentadecan-2- one	69,50	1842	268	43 ; 58 ; 71 ; 109 ; 85 ; 124 ; 250	4,54
28	phytol	82,08	2109	128	71 ; 43 ; 123 ; 56 ; 83 ; 95	1,17
Monoterpènes hydrocarbonés						4,94
Sesquiterpènes hydrocarbonés						67,52
Composés oxygénés						19,46
Total						91,92

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. quadrifolia* est constituée de sesquiterpènes (67,52%), de composés oxygénés (19,46%) et de monoterpènes (4,94%) (**Figure 37**).

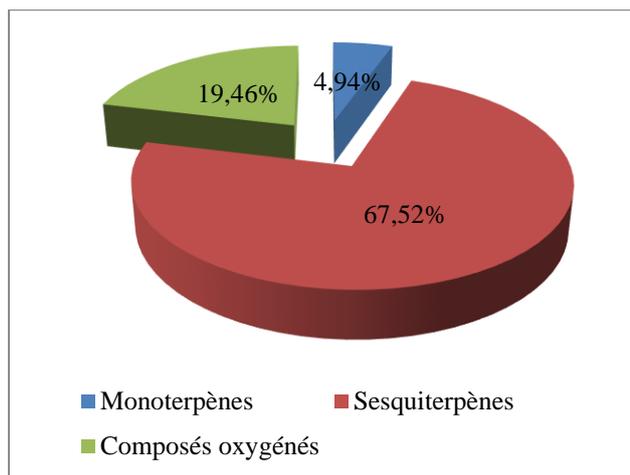
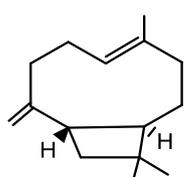
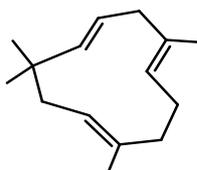


Figure 37: Diagramme des différentes familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

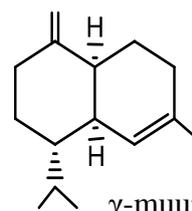
Les composés majoritaires sont, le caryophyllène (16,24%), l'humulène (12,46%), puis le γ -muurolène (14,75%) (**Figure 38**).



β -caryophyllène



α -humulène



γ -muurolène

Figure 38 : composés majoritaires de l'HE-HD de *P. quadrifolia*

En outre , des composés mineurs significatifs tels que le monoterpène acyclique le β -myrcène (4,69%), les sesquiterpènes le copaène (5,56 %), le β -élémente (5,97%), le bicyclogermacrène (2,23%), puis les sesquiterpènes oxygénés, l'oxyde de caryophyllène (2,70%) et l' α -bisabolol (5,20%) et enfin la cétone le 6,10,14-triméthylpentadecan-2-one (4,54%) sont présents (**Figure 39**).

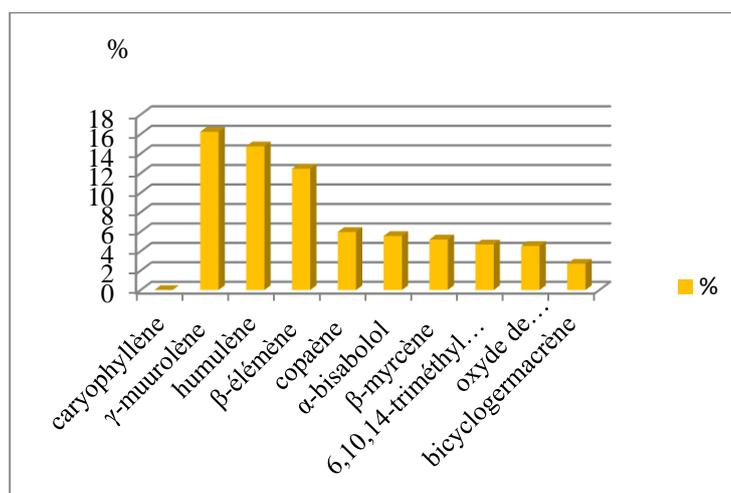


Figure 39 : Histogrammes des composés majoritaires dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

Adjalian et al. (2015) au Bénin ont aussi obtenu une HE de cette plante dominée par les sesquiterpènes avec comme composés majoritaires le β -élémente (21%) et le β -caryophyllène (13,1%) (**Adjalian et al., 2015**). Les deux études présentent quasiment les mêmes composés avec des teneurs différentes. Cette similarité pourrait s'expliquer par des conditions pédoclimatiques quasi identiques en Afrique de l'ouest.

➤ Entraînement à la vapeur d'eau

L'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *P. quadrifolia* met en évidence seize composés, soit environ 99,55% (**Tableau 19**).

Tableau 19: Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

Pics	composés	Tr	Ir	m/z	m/z des principaux pics	% Total
1	β -pinène	15,34	967	136	41 ; 65 ; 77 ; 93 ; 136	0,77
2	β-myrcène	16,75	989	136	41 ; 53 ; 69 ; 79 ; 93 ;	5,08
3	D- limonène	19,12	1023	136	41 ; 53 ; 68 ; 79 ; 93 ; 107 ; 121 ; 136	1,03
4	α-cubébène	42,80	1368	204	41 ; 91 ; 105 ; 119 ; 160 ; 204	7,58
5	β-élémente	43,87	1385	204	41 ; 53 ; 67 ; 81 ; 93 ; 107 ; 119 ; 160 ; 189	5,29
6	caryophyllène	45,43	1409	204	41 ; 69 ; 79 ; 91 ; 105 ; 138 ; 147 ; 161 ; 189	35,84
7	α-humulène	47,52	1443	204	41 ; 80 ; 93 ; 121 ; 147 ; 204	14,40
8	γ-muurolène	49,24	1472	204	41 ; 77 ; 91 ; 105 ; 119 ; 160 ; 204	6,94
9	α -sélinène	50,09	1486	204	44 ; 79 ; 91 ; 105 ; 119 ; 133 ; 162 ; 189	0,47
10	bicyclogermacrène	50,64	1495	204	41 ; 53 ; 67 ; 79 ; 93 ; 107 ; 119 ; 133 ; 147 ; 161 ; 189	1,18
11	γ -cadinène	51,22	1504	204	41 ; 69 ; 79 ; 91 ; 105 ; 119 ; 133 ; 160 ; 204	1,40
12	cadina-1(10),4- diène	51,90	1516	204	41 ; 91 ; 105 ; 119 ; 134 ; 161 ; 189 ; 204	3,96
13	oxyde de caryophyllène	55,09	1572	220	41 ; 55 ; 69 ; 79 ; 93 ; 107 ; 121	6,32
14	cubénol	56,60	1598	222	43 ; 67 ; 81 ; 96 ; 123 ; 138	1,12
15	α -bisabolol	61,09	1680	220	43 ; 55 ; 69 ; 79 ; 93 ; 109 ; 119 ; 161 ; 204	2,94
16	6,10,14- trimethylpentadec an-2-one	69,51	1842	268	43 ; 58 ; 71 ; 95 ; 109 ; 123 ; 250	5,24
Monoterpènes hydrocarbonés						6,88
Sesquiterpènes hydrocarbonés						77,05
composés oxygénés						15,62
TOTAL						99,55

Tr : temps de rétention, Ir : indice de rétention, m/z : rapport masse-charge, % : pourcentage

L'huile essentielle est principalement composée de sesquiterpènes hydrocarbonés (77,05%), de composés oxygénés (15,62%) et de monoterpènes (6,88%) (**Figure 40**).

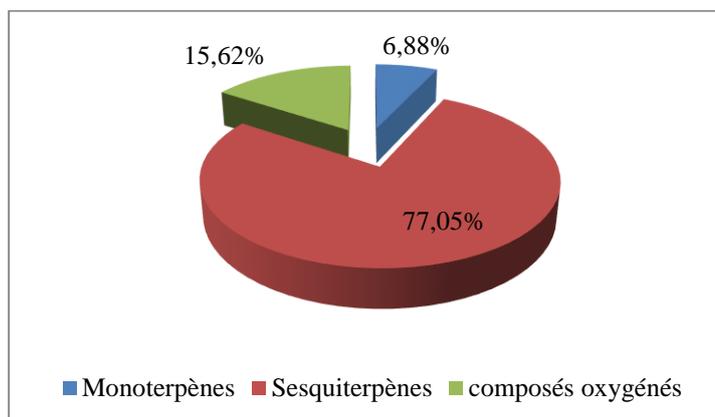


Figure 40: Diagramme comparatif des teneurs des différentes familles chimiques dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

Les principaux composés sont le caryophyllène (35,84%), et l' α -humulène (14,40%) (**Figure 41**).

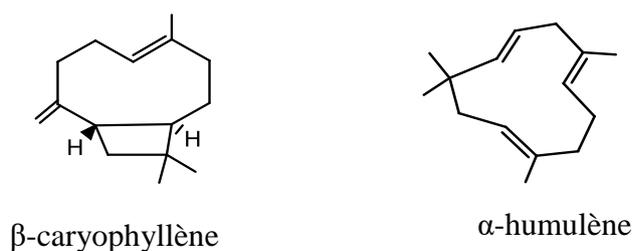


Figure 41 : Composés majoritaires de l'HE-EV de *P. quadrifolia*

A ces composés majoritaires s'ajoutent le monoterpène β -myrcène (5,08%), les sesquiterpènes l' α -cubébène (7,58%), le γ -muurolène (6,94%), le β -élémente (5,29%) et le cadina-1(10),4-diène (3,96%). Il y a aussi la présence remarquable de quelques composés oxygénés tels que, le sesquiterpène oxygénés l'oxyde de caryophyllène (6,32%) et la cétone 6,10,14-triméthylpentadécane-2-one (5,24%) (**Figure 42**).

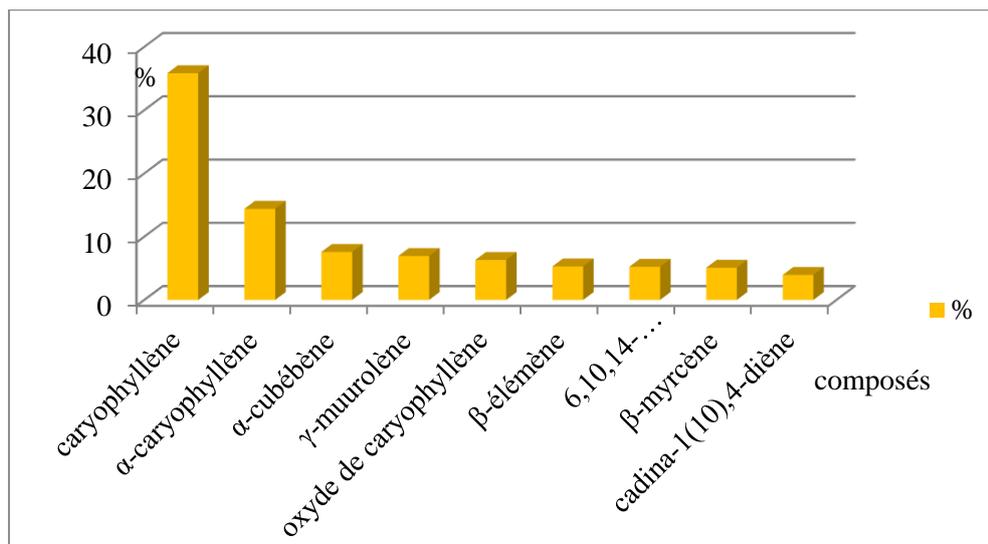


Figure 42 : Histogrammes des composés majoritaires dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

2.3.4.2- Comparaison de la composition chimique des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles de *Premna quadrifolia*

Les huiles essentielles obtenues par les deux méthodes sont liquides à température ambiante. Celle obtenue par hydrodistillation est jaune-orangé et celle obtenue par entraînement à la vapeur est jaune.

Le rendement de l'hydrodistillation de type cleverger est plus élevé que celui obtenu à l'entraînement à la vapeur d'eau. Seize composés sont identiques dans les huiles essentielles. Ces composés représentent 77,97 % de la composition de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et environ 99,55% de la teneur de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur (**Figure 43**).

Les monoterpènes hydrocarbonés (4,94% dans l'HE-HD et 6,88 % dans l'HE-EV) et les sesquiterpènes hydrocarbonés (67,52% dans l'HE-HD et 77,05 % dans l'HE-EV) sont plus abondants dans l'HE-EV. Cependant les composés oxygénés (19,46 % dans l'HE-HD et 15,62% dans l'HE-EV) sont plus représentés dans l'HE-HD. Une oxydation des composés hydrocarbonés a pu se produire dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation du fait de la proximité des plantes avec l'eau dans cette méthode.

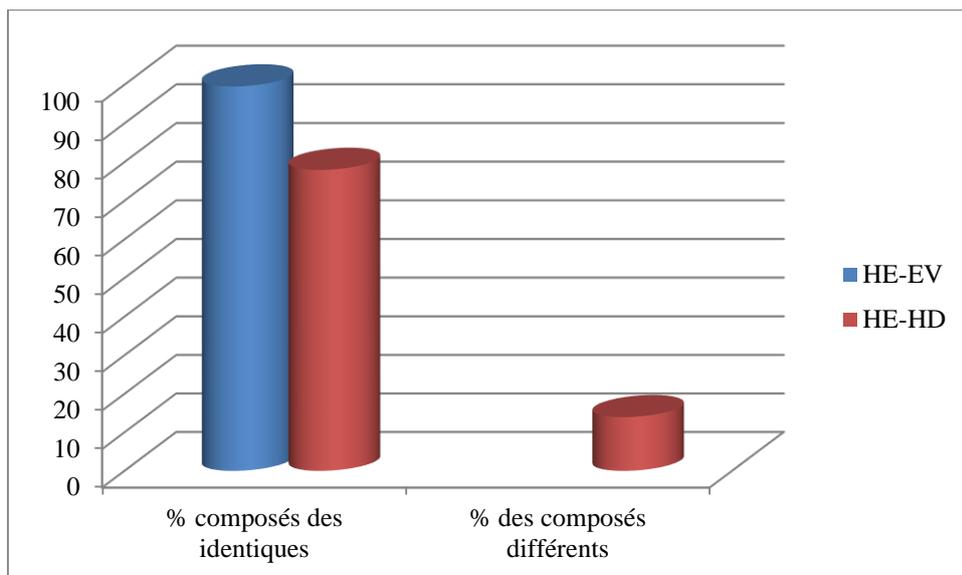
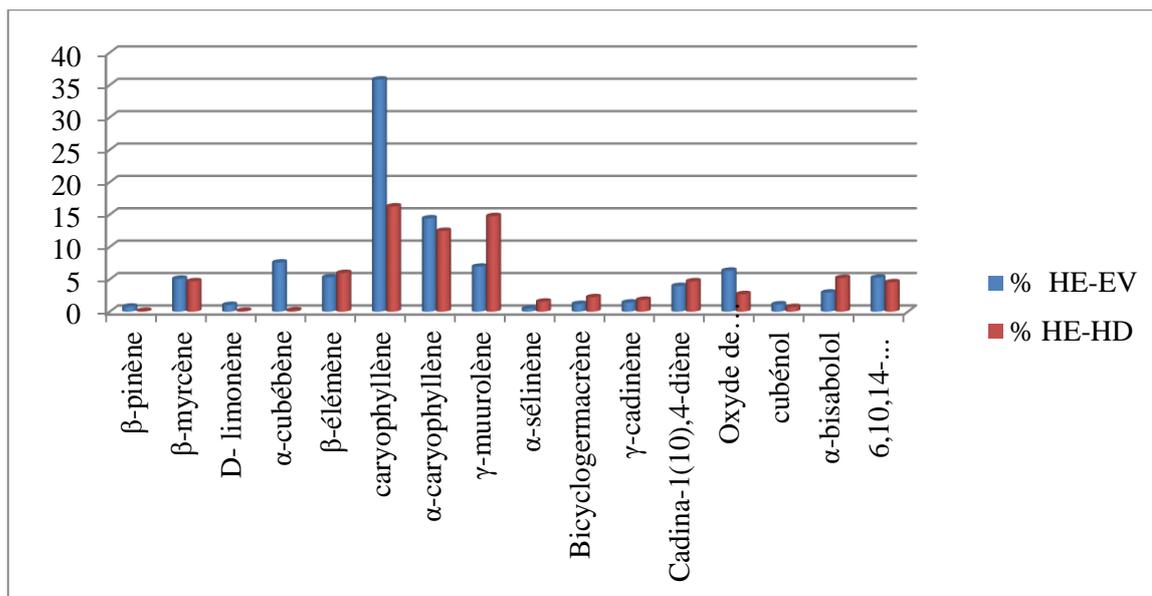


Figure 43: Histogrammes comparatifs de présence des composés dans les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des feuilles de *Premna quadrifolia*

Les composés identiques sont le β -pinène (0,12 % dans l'HE-HD contre 0,77 % dans l'HE-EV), le β -myrcène (4,69% dans l'HE-HD contre 5,08% dans l'HE-EV), le D- limonène (0,13 % dans l'HE-HD contre 1,03 % dans l'HE-EV), l' α -cubébéne (0,19 % dans l'HE-HD contre 7,58 %), le β -élémyène (5,97 % dans l'HE-HD contre 5,29 % dans l'HE-EV), le β -caryophyllène (16,24 % dans l'HE-HD contre 35,84 % dans l'HE-EV), l' α -caryophyllène (12,46 % dans l'HE-HD contre 14,40 % dans l'HE-EV), le γ -muurolène (14,75 % dans l'HE-HD contre 6,94 % dans l'HE-EV), l' α -sélinène (1,54 % dans l'HE-HD contre 0,47 % dans l'HE-EV), le bicyclogermacrène (2,23 % dans l'HE-HD contre 1,18 % dans l'HE-EV), le γ -cadinène (1,82 % dans l'HE-HD contre 1,40 % dans l'HE-EV), le cadina-1(10),4-diène (4,68 % dans l'HE-HD contre 3,96 % dans l'HE-EV), l'oxyde de caryophyllène (2,70 % dans l'HE-HD contre 6,32 % dans l'HE-EV), le cubénol (0,71 % dans l'HE-HD contre 1,12 % dans l'HE-EV), l' α -bisabolol (1,57 % dans l'HE-HD contre 2,94 % dans l'HE-EV) et le 6, 10,14-triméthylpentadecan-2-one (4,54 % dans l'HE-HD contre 5,24 % dans l'HE-EV). La teneur de ces composés est généralement élevée dans les huiles obtenues par entraînement à la vapeur (**Figure 44**).

Le β -caryophyllène a une teneur réduite de moitié dans l'HE-HD (16,24 %) contre 35,84 % dans l'HE-EV. Le D-limonène est dix fois moins abondant dans l'HE-HD (0,13 %) que dans l'HE-EV (1,03 %). Des réactions d'oxydation ou de conversion partielles favorisées par l'eau dans l'hydrodistillation ont pu diminuer la teneur de ces composés (**Deschepper, 2017**).



- HE-EV : huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau; HE-HD : huile essentielle obtenue par hydrodistillation

Figure 44 : Histogrammes comparatifs des teneurs des composés identiques dans les huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

Tous les composés identifiés dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau se retrouvent dans l'huile essentielle issue de l'hydrodistillation. Cependant plusieurs composés sont présents exclusivement dans la composition chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des feuilles de *P. quadrifolia*. Ce sont le 1-octèn-3-ol (0,52%), le carvacrol (0,27%), le copaène (5,56 %), le nérylacétone (0,93 %), le β -farnésène (0,57 %), l'eudesma-3,7(11)-diène (0,40 %), le cadina-3,9-diène (0,21 %), le germacrène B (0,38 %), le palustrol (0,82 %), le 3, 4,4-triméthyl-2-cyclohexèn-1-one (1,55 %), le cubénol (0,71 %) , l' α -cadinol (1,57 %) et le phytol (1,17 %) (**Tableau 20**). Hormis le copaène qui a une teneur significative, tous les autres composés ont des faibles teneurs. Ces composés pourraient donc résulter du brassage de la drogue avec l'eau ou les produits de modifications des composés réellement présents dans la plante. Le 1-octèn-3-ol (0,52%) est par exemple le produit de la dégradation oxydative de plusieurs acides dont l'acide linoléique qui est très présent dans les plantes. Le carvacrol (0,27 %) est un phénol monoterpénoïde qui pourrait être obtenu à partir du limonène.

Tableau 20 : structures des constituants des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

Méthodes	Hydrodistillation	Entraînement à la vapeur d'eau
Structures des composés présents exclusivement dans chaque HE	<p>1-octèn-3-ol, carvacrol, nérylacétone, β-farnésène, eudesma-3,7(11)-diène, 3,4,4-triméthyl-2-cyclohexèn-1-one, phytol, cadinol, palustrol, germacrène B, α-copaène</p>	
Structures des composés identiques des HE obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur	<p>β-pinène, β-myrcène, limonène, γ-muurolène, α-cubébène, γ-cadinène, β-élémente, caryophyllène, α-sélinène, bicyclogermacrène, α-humulène, cadina-1,4-diène, oxyde de caryophyllène, cubénol, α-bisabolol, 6,10,14-triméthylpentadécane-2-one</p>	

Par ailleurs les HE-EV et HE-HD obtenues des tiges feuillées de *P. quadrifolia* sont respectivement jaune et jaune-orangé. La couleur pourrait être attribuée à plusieurs composés présents dans ces HE, parmi lesquels le caryophyllène (jaune), l'humulène (jaune) ; l'oxyde de caryophyllène (jaune) et le β -élémente (jaune) (**Anonyme 11 et Anonyme 12**). L'aspect orangé de l'HE-HD des tiges feuillées

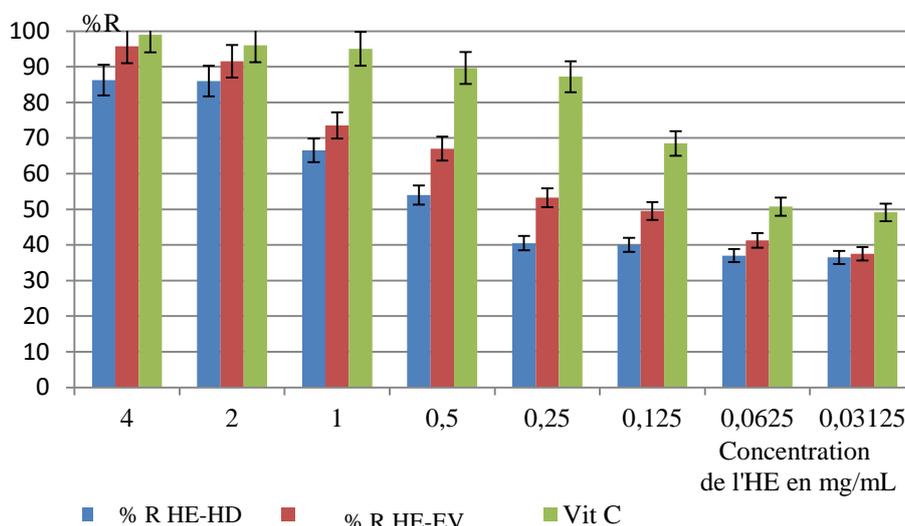
de *P. quadrifolia* pourrait être dû, soit aux différentes proportions des composés, soit à la présence de composés en faible teneur qui n'ont pas été identifiés.

2.3.4.3- Activité antioxydante des huiles essentielles des feuilles de *Premna quadrifolia*

Les profils antioxydants, montrent que les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau possèdent chacune une bonne activité antioxydante. Cette activité élevée pour les grandes concentrations décroît avec les dilutions successives (**Figure 45**).

Toutes deux ayant une activité moindre que la vitamine C prise comme référence.

Les CR₅₀ sont : huile essentielle obtenue par hydrodistillation (CR₅₀= 0,038 ± 0,01 mg/mL), huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur (CR₅₀= 0,029 ± 0,01- mg/mL) et pour la vitamine C (CR₅₀= 0,021 ± 0,01 mg/mL).



- %R-HE-HD : pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation
- %R-HE-EV : pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur
- Vit. C : vitamine C

Figure 45: histogrammes comparatifs des pourcentages d'inhibition des huiles essentielles des tiges feuillées de *P. quadrifolia* et de la vitamine C

Le β – caryophyllène (16,24% - 35,84 %), l'α –caryophyllène (humulène) (12,46 % - 14,40 %) et oxyde de caryophyllène (2,70 % -6,32 %) sont largement présents dans les huiles essentielles des tiges feuillées de *P. quadrifolia*. Ces composés sont aussi mentionnés dans la littérature pour leurs bonnes activités antioxydantes (**Calleja et al., 2013 ; Gunawan et al., 2016**). Cette activité élevée de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur pourrait s'expliquer par la plus grande teneur de ces composés.

Ainsi l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur a une activité antioxydante supérieure à celle de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation.

2.3.4.4- Activité antibactérienne des huiles essentielles des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

Le screening antimicrobien a montré que l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation n'a pas d'effet sur les souches testées. Cependant, une faible zone d'inhibition apparait pour *S. epidermidis* et *K. blse* (**Tableau 21**).

Tableau 21: Zones d'inhibition de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

Souches	di HE-HD (mm)	d.i gentamicine (référence)(mm)
<i>B. subtilis</i>	00	34
<i>S. aureus</i>	00	30
<i>S. epidermidis</i>	08	30
<i>P. aeruginosa</i>	00	30
<i>S. typhimirium</i>	00	28
<i>E. coli</i>	00	28
<i>K. blse</i>	08	35

d.i : diamètre d'inhibition ; HE-HD : huile essentielle obtenue par hydrodistillation ; Gent. : Gentamicine

L'HE-HD des tiges feuillées de *P. quadrifolia* contient plusieurs composés ayant des activités antibactériennes individuellement. Cependant cette huile essentielle ne présente pas d'effet sur les souches testées. Il est donc possible que des effets antagonistes conduisant à une réduction de l'activité antibactérienne soient manifestés. Ils se produisent généralement entre molécules actives et les composés non oxygénés qui réduisent leur solubilité et donc leur efficacité. Par exemple, la solubilité du terpinène-4-ol est réduite par le γ -terpinène (**Cox et al., 2001**).

Plusieurs facteurs influencent aussi la détermination de l'activité antibactérienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation antibactérienne, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganisme ciblés et leurs éventuelles adaptations aux huiles essentielles.

Les effets des HE obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur se sont révélés faibles. Cependant les souches ont été légèrement plus sensibles à l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur (**Tableau 22**). L'oxytétracycline a été utilisée pour un souci de disponibilité la gentamicine.

Tableau 22: Zones d'inhibition des HE contre *S. epidermidis* et *K. blse*

Souches	di HE-EV (mm)	di HE-HD (mm)	oxytetracycline (mm)
<i>K.blse</i>	11	09	30
<i>S.epidermidis</i>	11	08	30

d.i : diamètre d'inhibition ; HE-HD : huile essentielle obtenue par hydrodistillation ; HE-EV : huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur

De ces résultats, il ressort que l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur a un diamètre d'inhibition légèrement supérieur à celui de l'huile essentielle obtenue à l'hydrodistillation. Mais les deux huiles ont une activité antibactérienne très proche.

2.3.4.5- Activité antifongique de l'HE-HD des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

L'HE-HD des tiges feuillées de *P. quadrifolia* n'a eu aucun effet sur les champignons testés (Tableau 23).

Tableau 23 : diamètre des zones d'inhibition de l'HE-HD des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

champignons	di (mm)	Amphotéricine B (référence)
<i>C. albicans</i>	00	35
<i>C. tropicalis</i>	00	30
<i>C. glabrata</i>	00	35

d.i : diamètre d'inhibition ; HE-HD : huile essentielle obtenue par hydrodistillation

Malgré l'effet antifongique de plusieurs des constituants de cette huile essentielle pris individuellement, les potentiels effets antagonistes de certains constituants ont pu rendre nulle l'activité de cette huile.

2.3.4.6- Conclusion sur l'étude des huiles essentielles des tiges feuillées de *P. quadrifolia*

Les huiles essentielles issues des deux méthodes sont liquides à température ambiante. L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation est jaune-orangé et celle obtenue par entraînement à la vapeur a une couleur jaune.

La composition chimique a révélé d'importantes différences. L'huile essentielle obtenue à l'entraînement à la vapeur a pour composés majoritaires les isomères, le β -caryophyllène et l' α -caryophyllène (humulène). Tandis que le β -caryophyllène et le γ -muurolène sont les composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation. Cela a conduit à des activités antioxydante et antimicrobienne différentes. L'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur a montré les meilleures activités antioxydante et antimicrobienne que l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation.

2.3.5- *Premna angolensis* (*P. angolensis*)

2.3.5.1- Composition chimique des huiles essentielles des tiges feuillées de *P. angolensis*

➤ Hydrodistillation

L'analyse de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. angolensis* a révélé trente composés, qui font environ 94,34 % de la composition totale de l'huile essentielle (**Tableau 24**). Elle est composée majoritairement de sesquiterpènes hydrocarbonés (57,65 %), de monoterpènes (14,41%), de composés oxygénés (22,11 %) et d'alcènes en faible proportion (0,36 %) (**Figure 46**).

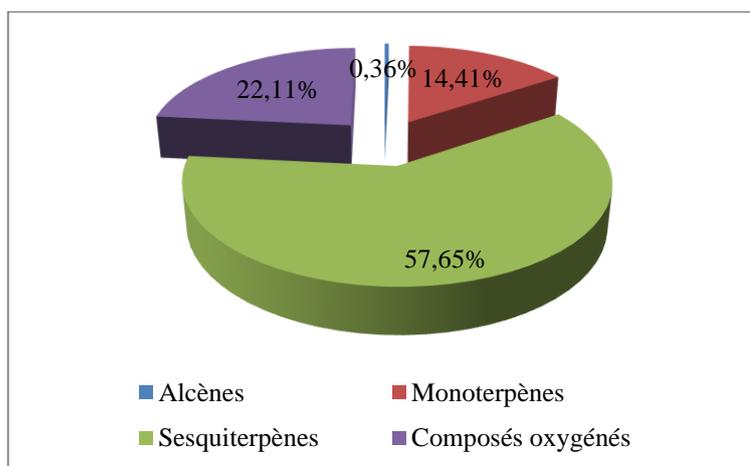


Figure 46: Diagramme des teneurs des différentes familles chimiques dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. angolensis*

Le composé majoritaire est le caryophyllène (16,66%). Plusieurs autres composés significatifs sont à signaler, à savoir le β -myrcène (10,65%) ; le γ -muurolène (9,91%) ; l' α -humulène (9,72), l' α -bisabolol (9,02) et le 6,10,14-triméthylpentadécane-2-one (5,13%)(**Figure 47 et Figure 48**).

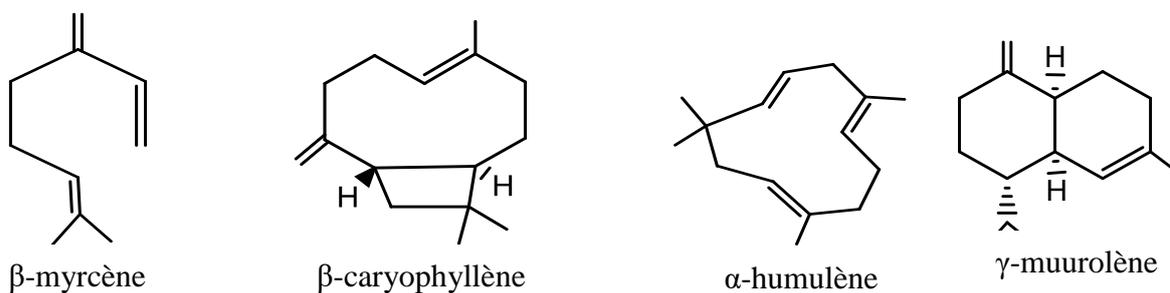


Figure 47 : quelques composés majoritaires de l'HE-HD de *P. angolensis*

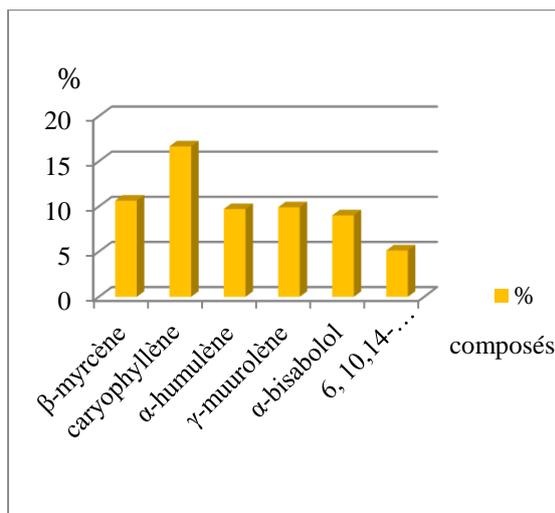


Figure 48 : Histogrammes des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. angolensis*

Tableau 24: Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. angolensis*

N°	composés	Tr	Ir	m/z	m/z des principaux pics	% Total
1	α-pinène	12,66	925	136	93 ; 77 ; 121 ; 105 ; 41	0,14
2	β-pinène	15,29	966	136	41 ; 77 ; 93 ; 121 ; 136	2,90
3	1-octèn-3-ol	16,05	978	128	41 ; 57 ; 72 ; 85 ; 95	0,59
4	β-myrcène	16,74	989	136	41 ; 53 ; 69 ; 77 ; 93 ; 121	10,65
5	D-limonène	19,10	1023	136	41 ; 68 ; 79 ; 93 ; 107 ; 121 ; 136	0,72
6	1-undécène	23,90	1090	154	41 ; 69 ; 84 ; 111	0,13
7	(Z)-3-undécène	24,47	1098	154	41 ; 55 ; 71 ; 81 ; 93 ; 109 ; 121, 150	0,23
8	α-cubébène	42,79	1347	204	41 ; 91 ; 105 ; 119 ; 160 ; 204	4,84
9	copaène	43,53	1379	204	41 ; 69 ; 79 ; 91 ; 105 ; 121 ; 190	0,25
10	β-bourbonène	43,92	1385	204	41 ; 67 ; 81 ; 93 ; 107 ; 161 ; 189	3,61
11	caryophyllène	45,43	1409	204	41 ; 69 ; 79 ; 93 ; 105 ; 138 ; 161 ; 189	16,66
12	calarène	46,7	1430	204	41 ; 69 ; 77 ; 93 ; 108 ; 119	0,11
13	α-humulène	47,52	1443	204	41 ; 80 ; 93 ; 121 ; 147 ; 204	9,72
14	nérylacétone	47,93	1450	194	43 ; 69 ; 107 ; 136 ; 151	0,79
15	β-farnésène	48,14	1454	204	41 ; 69 ; 79 ; 93 ; 120 ; 133 ; 161	0,65

16	γ -muurolène	49,25	1472	204	41 ; 77 ; 91 ; 105 ; 119 ; 160	9,91
17	α -sélinène	50,10	1486	204	41 ; 55 ; 81 ; 91 ; 107 ; 133 ; 160 ; 189 ; 204	1,23
18	bicyclogermacrène	50,63	1495	204	41 ; 68 ; 81 ; 93 ; 107 ; 119 ; 147 ; 161 ; 189	1,28
19	γ -cadinène	51,20	1504	204	41 ; 69 ; 93 ; 105 ; 119 ; 160 ; 204	2,07
20	cadina-1,4-diène	51,90	1516	204	91 ; 105 ; 119 ; 134 ; 160 ; 204	4,12
21	eudesma-3,7(11)-diène	53,17	1538	204	41 ; 79 ; 93 ; 119 ; 204	0,96
22	cadina-3,9-diène	53,60	1546	204	41 ; 53 ; 67 ; 79 ; 93 ; 105 ; 120 ; 133 ; 161 ; 189	0,43
23	germacrène B	54,44	1560	204	41 ; 69 ; 93 ; 107 ; 136 ; 161	1,02
24	oxyde de caryophyllène	55,10	1572	222	41 ; 55 ; 69 ; 79 ; 91 ; 109 ; 119	2,13
25	3, 4,4-triméthyl-2- cyclohexèn-1-one	56,60	1598	138	43 ; 67 ; 79 ; 93 ; 109 ; 123 ; 138	1,02
26	cubénol	58,53	1633	222	43 ; 81 ; 91 ; 105 ; 121 ; 160 ; 204	0,58
27	α -cadinol	59,20	1645	222	43 ; 67 ; 81 ; 95 ; 109 ; 121 ; 147 ; 161 ; 189 ; 204 ; 222	1,11
28	α -bisabolol	61,09	1680	222	43 ; 69 ; 93 ; 109 ; 119 ; 204	9,02
29	6, 10,14- triméthylpentadecan-2- one	69,50	1842	268	43 ; 58 ; 71 ; 85 ; 109 ; 250	5,13
30	phytol	82,06	2109	278	43 ; 71 ; 95 ; 123	2,34
	Alcènes non terpéniques					0,36
	Monoterpènes hydrocarbonés					14,41
	Sesquiterpènes hydrocarbonés					57,65
	Composés oxygénés					22,11
	Total					94,34

Tr : temps de rétention, Ir : indice de rétention, m/z : rapport masse-charge, % ; pourcentage

Ces résultats sont assez similaires à ceux consultés dans la littérature. **Adjalian et al. (2015)** ont analysé par CPG/SM, l'huile essentielle des feuilles de *Premna angolensis*. Ils ont identifié vingt-neuf composés dont les prédominants sont les sesquiterpènes hydrocarbonés (26,6%) et les sesquiterpènes oxygénés (20%). Les principaux composés étaient l'octène-3-ol (28%) et le (E) - β -caryophyllène (13,5%).

➤ Entraînement à la vapeur d'eau

Onze composés ont été identifiés dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des feuilles de *Premna angolensis*, soit environ 98,38% de la composition totale (**Tableau 25**).

Tableau 25: Composition de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *P. angolensis*

N°	composés	Tr	Ir	m/z	m/z des principaux pics	% Total
1	copaène	42,81	1368	204	91 ; 105 ; 119 ; 160	3,44
2	caryophyllène	45,43	1409	204	41 ; 69 ; 79 ; 93 ; 133 ; 147 ; 161 ; 189	13,35
3	α-muurolène	47,53	1444	204	41 ; 80 ; 93 ; 121 ; 147	11,88
4	germacrène D	49,25	1472	204	41 ; 77 ; 91 ; 105 ; 119 ; 160	9,34
5	cadina-1,4-diène	51,90	1516	204	44 ; 91 ; 105 ; 119 ; 134 ; 161 ; 204	3,64
6	oxyde de caryophyllène	55,14	1573	222	41 ; 93 ; 109 ; 121 ; 204	1,44
7	γ-cadinol	57,93	1622	222	44 ; 105 ; 160 ; 189 ; 204	8,37
8	α-cadinol	59,04	1642	222	43 ; 59 ; 149 ; 161 ; 189 ; 204	30,17
9	α -bisabolol	61,15	1681	222	44 ; 69 ; 93 ; 109 ; 119	1,64
10	6, 10,14-triméthylpentadécane-2-one	69,53	1842	268	43 ; 58 ; 71 ; 85 ; 109 ; 123 ; 250	10,97
11	phytol	82,10	2214	128	44 ; 55 ; 71 ; 123	4,14
Sesquiterpènes hydrocarbonés						41,65
Composés oxygénés						56,73
Total						98,38

Tr : temps de rétention, Ir : indice de rétention, m/z : rapport masse-charge, % ; pourcentage

L'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur est composée essentiellement d'hydrocarbures sesquiterpéniques (41,65%) et de composés oxygénés (56,73%) (**Figure 49**).

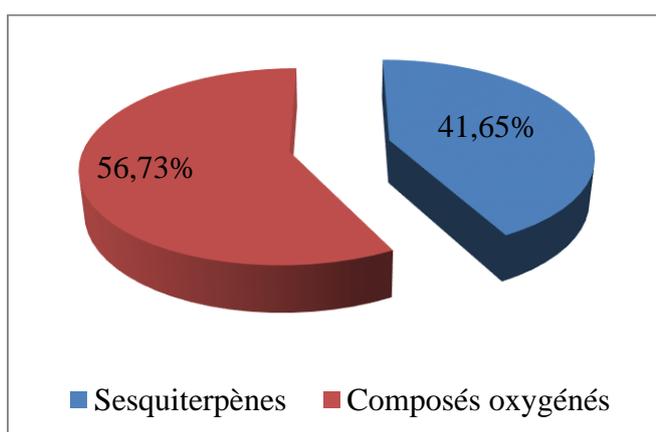


Figure 49: Diagramme des différentes teneurs des familles chimiques de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *P. angolensis*

Les deux composés qui ont les plus grandes teneurs sont l' α -cadinol (30,17%) et le caryophyllène (13,35%) (**Figure 50**).

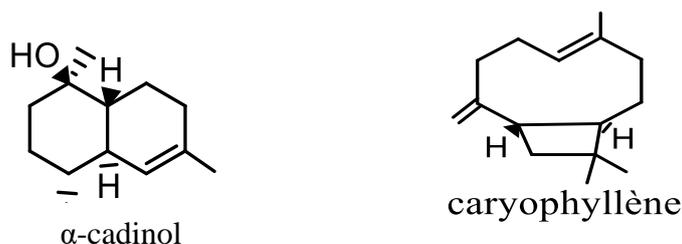


Figure 50 : composés majoritaires de l'HE-EV de *P.angolensis*

Plusieurs autres composés ont une teneur importante. C'est le cas des sesquiterpènes l' α -muurolène (11,88%), le germacrène D (9,34%) et des composés oxygénés le γ -cadinol (8,37%), le 6, 10,14-triméthylpentadécan-2-one (10,97%) et le phytol (4,14%) (**Figure 51**).

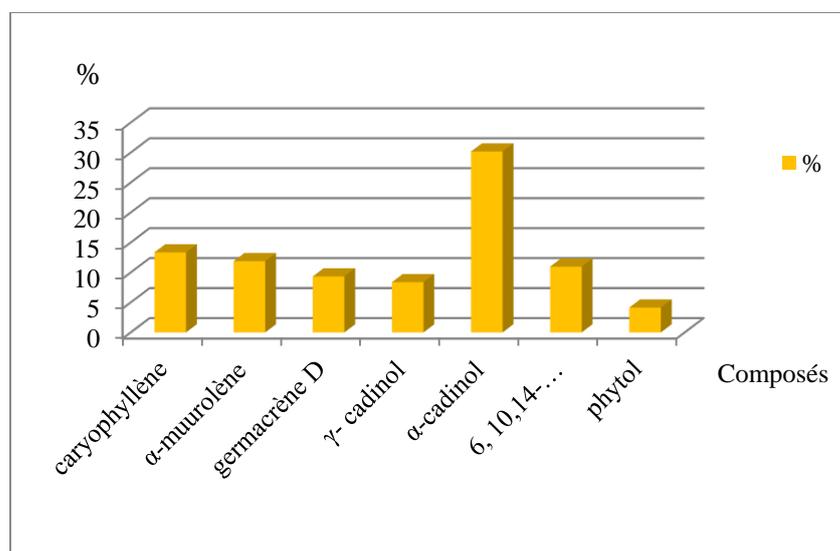


Figure 51 : Histogrammes des composés majoritaires dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de *P. angolensis*

2.3.5.2- Comparaison de la composition chimique des HE obtenues des tiges feuillées de *P. angolensis*

Les HE obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur sont différentes. Au niveau de la composition chimique, nous avons identifié trente composés dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation. En revanche, seulement onze composés ont été identifiés dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur.

À la différence des cas précédents, les HE des tiges feuillées de *P. angolensis* n'ont pas donné le même nombre de famille chimique. L'HE-HD a révélé des alcènes non terpéniques (0,36 %), des monoterpènes (14,41 %), des sesquiterpènes (57,65 %) et des composés oxygénés (22,11 %). Mais les alcènes non terpéniques et les monoterpènes sont absents dans l'HE-EV dans laquelle ont été identifiés deux familles chimiques, des sesquiterpènes (41,62 %) et des composés oxygénés (56,73 %).

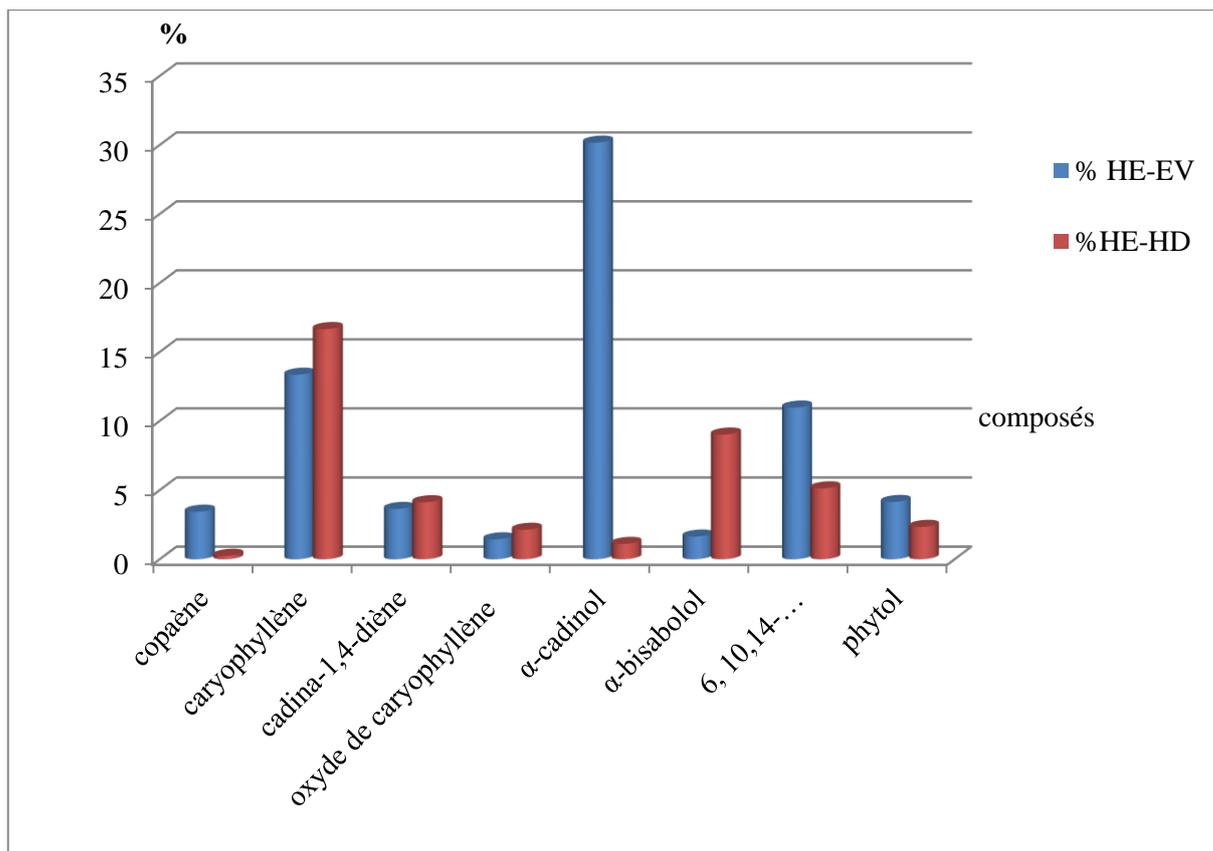
Plusieurs composés sont contenus exclusivement dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation. La majorité de ces composés est en faible teneur. C'est le cas de l' α -pinène (0,14 %), le β -pinène (2,90 %), le 1-octène-3-ol (0,59 %), le D-limonène (0,72 %), le β -myrcène (10,65 %), le 1-undécène (0,13 %), le (Z)-3-undécène (0,23 %), le α -cubébène (4,84 %), le β -bourbonène (3,61 %), le calarène (0,11 %), le nérylacétone (0,79 %), le β -farnésène (0,65 %), le γ -muurolène (9,91 %), le α -sélinène (1,23 %), le bicyclogermacrène (1,28 %), le γ -cadinène (2,07 %), l'eudesma-3,7(11)-diène (0,96 %), le cadina-3,9-diène (0,43 %), le germacrène B (1,02 %), le 3,4,4-triméthyl-2-cyclohexène-1-one (1,02 %) et le cubénoïl (0,58 %). Ils pourraient donc être les produits de modification des composés réellement présents dans l'huile essentielle des tiges feuillées de *P. angolensis*.

Le γ -cadinène (2,07 %), le cadina-3,9-diène (0,43 %), le α -sélinène (1,23 %), le bicyclogermacrène (1,28 %), l'eudesma-3,7(11)-diène (0,96 %) et le germacrène B (1,02 %) pourraient être issus de la conversion du germacrène D qui est présent exclusivement dans l'HE-EV à 9,34 % (**Hornback J.M., 2005 ; Bülow et König, 2000**). Ces conversions étant favorisées par le milieu acide de l'eau et la température d'extraction.

L' α -humulène (9,72 % dans HE-HD) serait une conversion de son isomère le β -caryophyllène (13,35 % dans HE-EV).

Les composés comme l' α -muurolène (11,88 %), le germacrène D (9,34 %), le γ -cadinol (8,37 %) sont présents dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur. La déshydratation en milieu acide du γ -cadinol et de l' α -cadinol ont pu donner le γ -cadinène et ses isomères très présents dans l'HE-HD.

Quelques composés se retrouvent dans les deux huiles essentielles. Ce sont le copaène (0,25 % - 3,34 %), le caryophyllène (16,66 % - 13,35 %), le cadina-1,4-diène (4,12 % - 3,64 %), l'oxyde de caryophyllène (2,13 % - 1,44 %), l' α -cadinol (1,11 % - 30,17 %), le α -bisabolol (9,02 % - 1,64 %), le 6,10,14-triméthylpentadécane-2-one (5,13 % - 10,97 %) et phytol (2,34 % - 4,14 %) (**Figure 52**). Les sesquiterpènes communs, hormis, le copaène, ont une teneur plus élevée dans l'HE-HD contrairement aux composés oxygénés qui sont plus représentés dans l'HE-EV.



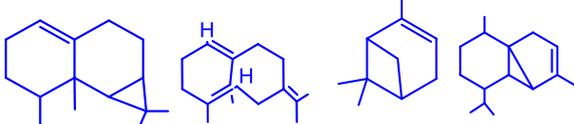
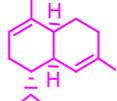
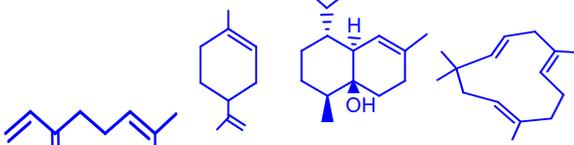
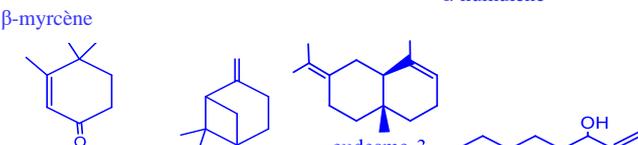
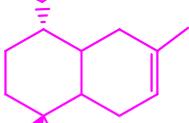
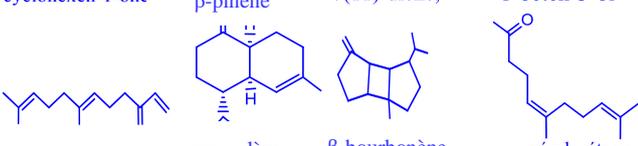
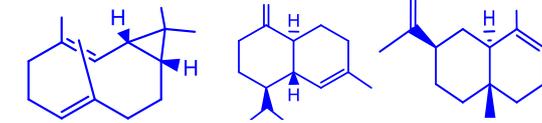
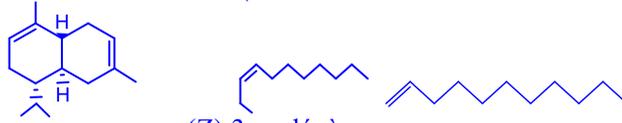
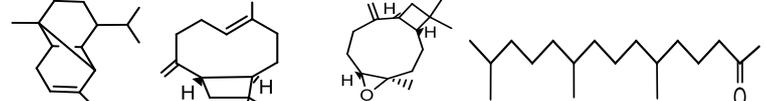
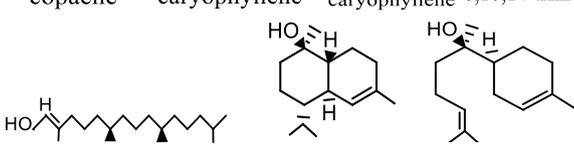
- HE-HD : hydrodistillation ; HE-EV : entraînement à la vapeur

Figure 52: histogrammes comparatifs des teneurs des composés identiques dans les HE obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *P. angolensis*.

Le tableau ci-dessous présentent les structures des composés identifiés dans les huiles essentielles des tiges feuillées de *P. angolensis* (**Tableau 26**).

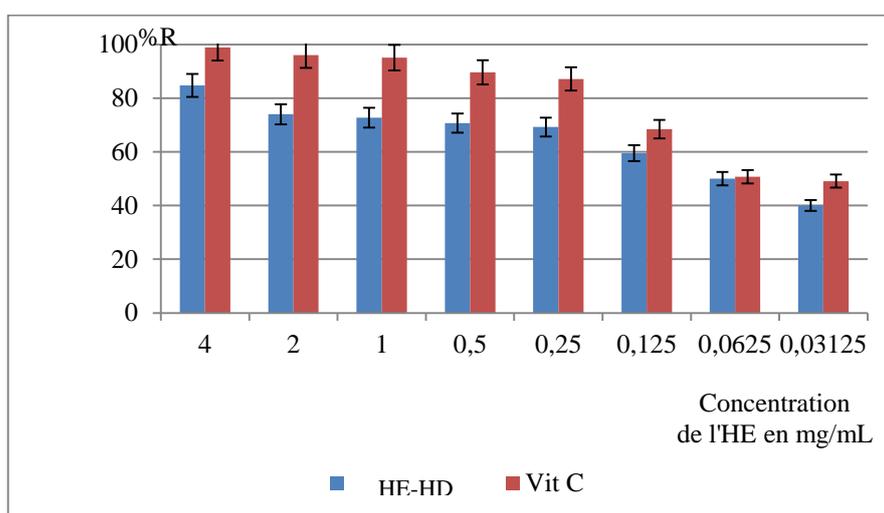
En outre les tiges feuillées de *P. angolensis* ont donné une HE de couleur jaune-orangé par hydrodistillation et jaune-pâle par entraînement à la vapeur d'eau. Plusieurs composés des ces deux huiles sont colorés, le caryophyllène (jaune) ; l'oxyde de caryophyllène (jaune) et l'humulène (jaune) (**Anonyme 12**).

Tableau 26 : structures des composés issus des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *P. angolensis*

Méthodes	Hydrodistillation	Entraînement à la vapeur	
Structures des composés présents exclusivement dans chaque HE	 <p>calarène germacrène B α-pinène α-cubébène</p>	 <p>α-muuroène</p>	
	 <p>β-myrcène limonène cubéniol α-humulène</p>	 <p>germacrène D</p>	
	 <p>3,4,4-triméthyl-2-cyclohexèn-1-one β-pinène eudesma-3,7(11)-diène, 1-octèn-3-ol</p>	 <p>γ-cadinol</p>	
	 <p>β-farnésène γ-muuroène β-bourbonène nérylacétone</p>		
	 <p>bicyclogermacrène γ-cadinène α-sélinène</p>		
	 <p>cadiña-3,9-diène (Z) 3-undécène 1-undécène</p>		
	Structures des composés identiques des HE obtenues par hydro-distillation et par entraînement à la vapeur	 <p>copaène caryophyllène oxyde de caryophyllène 6,10,14-triméthylpentadécane-2-one</p>	
		 <p>phytol α-cadinol α-bisabolol</p>	

2.3.5.3- Activité antioxydante de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des feuilles de *P. angolensis*

L'huile essentielle des feuilles de *Premna angolensis* a une bonne activité anti-oxydante ($CR_{50} = 0,008 \pm 0,001$ mg/mL). Sa CR_{50} est inférieure à celle de la vitamine C ($0,021 \pm 0,01$ mg/mL), ce qui traduirait un plus grand potentiel antioxydant de l'HE-HD. Les profils antioxydants sont ci-dessous représentés (**Figure 53**).



- HE-HD : huile essentielle de *Premna angolensis* obtenue par hydrodistillation
- Vit C : vitamine C

Figure 53 : Diagrammes comparatifs des pourcentages d'inhibition de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *P. angolensis* et de la vitamine C

L'HE des tiges feuillées de *P. angolensis* contient 22,11 % de composés oxygénés qui sont généralement cités pour leurs activités antioxydantes, c'est le cas du phytol (2,34 %), l' α – bisabolol (9,02 %) , l'oxyde de caryophyllène (2,13 %), aussi des sesquiterpènes (57,65 %) tels que le caryophyllène (16,66 %), l' α -humulène (9,72 %) ou encore le monoterpène β -myrcène (10,65 %) (**Benov, 1994 ; Braga et al., 2009 ; Santos et al., 2013 ; Calleja et al., 2013 ; Gunawan et al., 2016**)

2.3.5.4- Activité antibactérienne de l'huile essentielle des tiges feuillées de *P. angolensis*

L'HE des feuilles de *Premna angolensis* n'a pas d'effet contre *B. subtilis* (00 mm), *P. aeruginosa* (00 mm), *S. typhimirium* (00 mm), *E. coli* (00 mm), elle possède une faible activité sur *S. aureus* (10 mm) et une activité moyenne sur *S. epidermidis* (15 mm) et *K. pneumoneae* (15 mm) (**Tableau 27**).

Tableau 27: Zone d'inhibition de l'huile essentielle des tiges feuillées de *P. angolensis*

Souches	di HE-PA (mm)	di Gent. (référence)(mm)
<i>B. subtilis</i>	00	34
<i>S. aureus</i>	10	30
<i>S. epidermidis</i>	15	30
<i>P. aeruginosa</i>	00	30
<i>S. typhimirium</i>	00	28
<i>E. coli</i>	00	28
<i>K. pneumoneae</i>	15	35

d.i : diamètre d'inhibition ; HE-PA : Huile Essentielle de *Premna angolensis* ; Gent. : Gentamicine

Les activités antibactériennes de plusieurs constituants de l'HE-HD des tiges feuillées de *P. angolensis* sont mentionnées dans la littérature. C'est le cas de l'oxyde de caryophyllène (2,13 %), le β -caryophyllène (16,66 %), et le β -myrcène (10,65 %) (**Inoue et al., 2004 ; Matasyoh et al., 2007 ; Dahaham et al., 2015**). Aussi l' α -pinène (0,14 %) et le β -pinène (2,90 %) sont cités comme étant efficace contre *K. pneumoneae* (15 mm) et *S. épidermidis* (15 mm) (**Leite et al., 2007**).

La CMI et la CMB de l'HE des feuilles de *P. angolensis* (**Tableau 28**), ont été déterminées à partir du diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 11 mm.

Des études antérieures ont révélé l'effet répulsif de l'huile essentielle de *P. angolensis* contre les adultes de la teigne de grain d'Angoumois. L'effet insectifuge de l'extrait de *P. angolensis* volatile s'est avéré plus intéressant que celui de *P. quadrifolia* malgré un plus faible rendement d'huile essentielle (**Adjalian et al., 2015**).

Tableau 28: Concentration minimale inhibitrice et bactéricide de l'HE obtenue par hydrodistillation des feuilles de *Premna angolensis*

Souches	CMI mg/mL	CMB mg/mL	CMB/CMI	Effet de l'HE
<i>K. pneumoneae</i>	3,75	30	8	bactériostatique
<i>S. epidermidis</i>	3,75	30	8	bactériostatique

CMI : concentration minimale inhibitrice ; CMB : concentration minimale bactéricide ; HE : Huile Essentielle

L'huile essentielle des feuilles de *Premna angolensis* a un effet bactériostatique contre *K. pneumoneae* et *K. epidermidis*. Elle inhibe donc la progression de ces souches qui présenteraient des résistances aux antibiotiques et des risques réels de santé.

L'huile essentielle de *P. angolensis* serait un axe de recherche important en vue de lutter contre les pathologies liées à ces deux souches.

2.3.5.5- Activité antifongique de l'HE des tiges feuillées de *P. angolensis*

L'HE-HD des tiges feuillées de *P. angolensis* a eu un faible effet sur les champignons testés (**Tableau 29**).

Tableau 29 : diamètre des zones d'inhibition de l'HE-HD des tiges feuillées de *P. angolensis*

souches	di HE-HD (mm)	Amphotéricine B (référence)
<i>C. albicans</i>	09	35
<i>C. tropicalis</i>	08	30
<i>C. glabrata</i>	08	35

d.i : diamètre d'inhibition ; HE-HD : Huile Essentielle obtenue par hydrodistillation

Malgré l'effet antifongique de plusieurs des constituants de cette huile essentielle pris individuellement, les potentiels effets antagonistes de certains constituants ont pu rendre faible l'activité de cette huile essentielle contre les souches testées.

2.3.5.6- Conclusion sur l'huile essentielle des tiges feuillées de *P. angolensis*

Les deux méthodes d'extraction ont donné des huiles essentielles à faible rendement. Ces deux huiles sont différentes au niveau des couleurs et de la composition chimique.

L'évaluation du potentiel antioxydant a révélé une bonne activité antioxydante et les tests antimicrobiens montrent quant à eux que l'HE pourrait aussi être une source potentielle pour la recherche contre *K. pneumoneae* et *S. epidermidis*.

2.3.6- *Clerodendrum polycephalum* (*C. polycephalum*)

2.3.6.1- Composition des huiles essentielles des tiges feuillées de *C. polycephalum*

➤ Hydrodistillation

L'analyse de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *C. polycephalum* a montré quarante-deux composés environ 95,84% de la composition totale de l'huile essentielle (**Tableau 30**).

Tableau 30: Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *C. polycephalum*

N°	Composés	Tr (min)	Ir	m/z	m/z des principaux pics	% Total
1	α -pinène	13,10	932	136	93 ; 77 ; 41 ; 121	0,93
2	oct-1-én-3-ol	16,54	986	128	57 ; 43 ; 72	0,31
3	3-octanol	17,67	1003	130	59 ; 83 ; 101 ; 41 ; 112	0,10
4	limonène	19,64	1030	136	68 ; 93 ; 79 ; 107 ; 121 ; 53 ; 41	0,08
5	β -myrcène	25,03	1106	136	93 ; 71 ; 41 ; 55 ; 121 ; 105	0,17
6	élémente d	41,08	1341	204	121 ; 93 ; 136 ; 161 ; 105 ; 77 ; 41	0,27
7	α -cubébène	41,84	1353	204	161 ; 119 ; 105 ; 91 ; 81 ; 41	0,85
8	α -copaène	43,43	1378	204	161 ; 119 ; 105 ; 93 ; 81 ; 41 ; 55	2,55
9	β -bourbonène	43,96	1386	204	83 ; 123 ; 161 ; 41 ; 105 ; 91	3,04
10	β -cubébène	44,41	1393	204	161 ; 105 ; 91 ; 119	2,90
11	β -élémente	44,57	1395	204	93 ; 81 ; 107 ; 68 ; 147 ; 161 ; 189 ; 41	0,28
12	α -gurjunène	45,54	1411	204	161 ; 189 ; 105 ; 119 ; 91 ; 133 ; 41 ; 147	4,47
13	caryophyllène	46,16	1421	204	138 ; 93 ; 69 ; 79 ; 41 ; 105 ; 161 ; 120 ; 147 ; 189	30,27
14	1-méthyl-6-méthylidène-4-propan- 2-yl-2, 3, 5, 7, 8,8a-hexahydro-1H- naphthalène	46,72	1430	204	161 ; 105 ; 91 ; 119 ; 79 ; 41	0,92
15	γ -élémente	47,15	1437	204	121 ; 93 ; 161 ; 105 ; 67 ; 79 ; 133 ; 41 ; 55 ; 147	0,13
16	α -bergamotène	47,31	1440	204	93 ; 119 ; 41 ; 69 ; 107 ; 79 ; 161	0,18
17	α -muurolène	47,66	1446	204	161 ; 105 ; 91 ; 79 ; 119 ; 41 ; 133	0,19
18	α -humulène	48,18	1454	204	93 ; 121 ; 80 ; 147 ; 41 ; 107	3,98
19	aromadendrène allo(-)	48,61	1461	204	91 ; 161 ; 105 ; 41 ; 133 ; 79 ; 119 ; 147 ; 69 ; 189 ; 55	2,15
20	2-isopropyl-5-méthyl-9-méthylène- bicyclo [4.4.0]dec-1-ène	48,79	1464	204	161 ; 91 ; 105 ; 119 ; 69 ; 41 ; 133 ; 81	0,26
21	γ -cadinène	48,96	1467	204	161 ; 91 ; 105 ; 119 ; 81 ; 41 ; 133	0,23
22	germacrène D	49,95	1483	204	161 ; 105 ; 91 ; 119 ; 81 ; 41 ; 133	23,96
23	α -guaiène	50,30	1489	204	105 ; 161 ; 93 ; 79 ; 119 ; 133 ; 41 ; 189 ; 55 ; 67	1,42
24	bicyclosesquiphellandrène	50,51	1493	204	161 ; 105 ; 91 ; 119 ; 81. 41 ; 133	0,46
25	bicyclogermacrène	50,83	1498	204	121 ; 93 ; 107 ; 161 ; 79 ; 41 ; 67 ; 189 ; 136	2,26

26	α -muurolène	51,16	1503	204	105 ; 161 ; 189 ; 93 ; 119 ; 81 ; 189	0,94
27	valencène	51,30	1506	204	93 ; 67 ; 107 ; 81 ; 161 ; 147 ; 121 ; 133 ; 53	0,20
28	cadina-1(10),4-diène	51,55	1510	204	161 ; 105 ; 119 ; 134 ; 91 ; 189 ; 81 ; 41	0,15
29	cadina-1,4-diène	51,91	1516	204	161 ; 105 ; 91 ; 119 ; 133 ; 41 ; 77	1,29
30	β -cadinène	52,54	1527	204	161 ; 119 ; 134 ; 105 ; 91 ; 189 ; 41	4,06
31	eudesma-3,7(11)-diène	52,98	1535	204	119 ; 105 ; 161 ; 91 ; 41	0,20
32	cadina-3,9-diène	53,29	1540	204	105 ; 161 ; 119 ; 93 ; 81 ; 41 ; 189	0,24
33	α -cadinène	54,04	1553	204	93 ; 81 ; 161 ; 107 ; 59 ; 41 ; 189 ; 147 ; 133	0,31
34	germacrène B	54,28	1558	204	121 ; 93 ; 107 ; 67 ; 161 ; 41 ; 133 ; 189	1,65
35	palustrol	54,90	1568	222	111 ; 122 ; 161 ; 81 ; 95 ; 147 ; 55 ; 41	0,29
36	nérolidol	55,06	1571	222	69 ; 93 ; 41 ; 107 ; 55 ; 79 ; 119 ; 161	1,00
37	oxyde de caryophyllène	56,92	1604	222	107 ; 91 ; 161 ; 122 ; 43 ; 79 ; 204 ; 69 ; 55 ; 147 ; 133 ; 189	0,67
38	cubénol	58,43	1631	222	119 ; 161 ; 105 ; 204 ; 91 ; 41 ; 55 ; 81	0,07
39	α -cadinol	59,19	1645	222	161 ; 204 ; 105 ; 121 ; 43 ; 93 ; 81	0,92
40	guai-1(10)-en-11-ol	59,88	1658	222	162 ; 95 ; 121 ; 105 ; 204 ; 43 ; 81 ; 189	1,17
41	acide 3-trifluorométhylphényl- acétique	61,56	1688	220	159 ; 91 ; 109 ; 79 ; 41 ; 202 ; 131 ; 55 ; 67	0,22
42	2-tridécyloxirane	63,41	1723	226	57 ; 43 ; 82 ; 69 ; 96 ; 109 ; 159	0,10
Monoterpènes hydrocarbonés						1,18
Sesquiterpènes hydrocarbonés						89,81
Composés oxygénés						4,85
Total						95,84

Tr: temps de rétention; Ir : Indice de rétention

Cette analyse a montré que l'huile essentielle extraite des feuilles de *C. polycepalum* est riche en sesquiterpènes (89,81%). Les autres familles de composés y sont de façon minoritaire, notamment les composés oxygénés (4,85%) et les monoterpènes en (1,18%) (**Figure 54**).

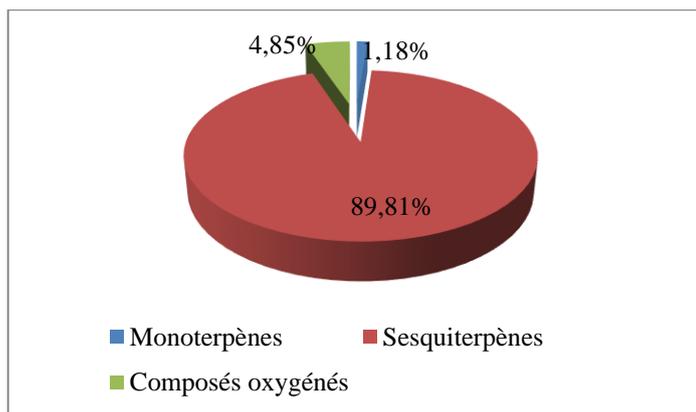


Figure 54: Diagramme comparatif des différentes familles chimiques dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de *C. polycephalum*

Le composé majoritaire est le caryophyllène (30,27%) suivi du germacrène D (23,96%) (**Figure 55**).

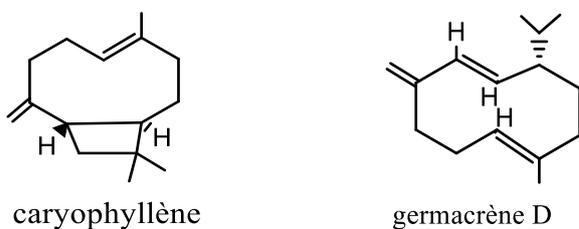


Figure 55 : composés majoritaires de l'HE-HD de *C. polycephalum*

Outre ces deux composés, nous avons dans des proportions moindres, l' α -copaène (2,55%), le β -bourbonène (3,04%), le β -cubébène (2,9), l' α -gurjunène (4,47%), l'aromadendrène allo (2,15%), le bicyclogermacrène (2,26%) et le β -cadinène (4,06%) (**Figure (56)**).

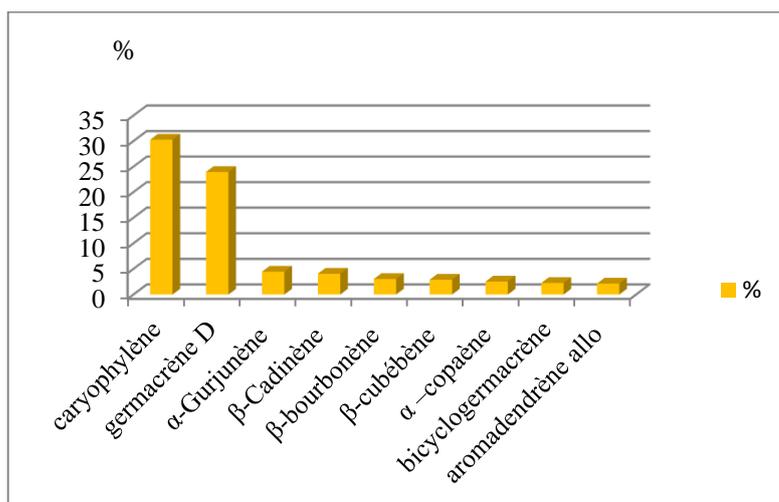


Figure 56 : Histogrammes des composés majoritaires dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *C. polycephalum*

Cette étude présente les mêmes grandes familles que celle d'Akintayo et *al.* (2016) au Nigéria où la première étude de la composition de l'huile essentielle des feuilles de *C. polycephalum* a été menée.

Ils ont identifié quarante composés dont les hydrocarbures sesquiterpéniques (74,1%) et le sesquiterpène oxygéné (11,9%) et des composés monoterpéniques représentant 10,6%. Le composé majoritaire était également le β -caryophyllène (28,9%) (Akintayo et al., 2016).

Cette similarité de la composition chimique de l'HE des tiges feuillées de *C.polycephalum* pourrait s'expliquer par les conditions pédoclimatiques quasi-identiques en Côte d'Ivoire et au Nigéria, deux pays de l'Afrique de l'ouest.

➤ Entraînement à la vapeur d'eau

Quant à l'analyse de la composition chimique de l'huile obtenue par entraînement à la vapeur, elle a révélé vingt-sept composés qui font environ 99,70% de la composition totale de l'huile essentielle (Tableau 31).

Tableau 31 : Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles de *C. Polycephalum*

N°	Composés	Tr (min)	Ir	m/z	m/z principaux pics	% total
1	apopinène	12,73	926	121	93 ; 77 ; 44	0,38
2	β -pinène	15,47	969	136	93 ; 79 ; 41 ; 69 ; 121	0,40
3	β -myrcène	16,87	991	136	93 ; 41 ; 69 ; 79	0,52
4	P-cymène	19,24	1025	134	67 ; 93 ; 79 ; 44 ; 121	0,16
5	α -cubébène	41,37	1346	204	161 ; 105 ; 119 ; 91 ; 44	0,63
6	α -ylangène	42,96	1370	204	161 ; 105 ; 119 ; 91 ; 77 ; 41	4,66
7	β-bourbonène	43,48	1378	204	81 ; 123 ; 161 ; 91 ; 41 ; 105	6,90
8	β-cubébène	43,94	1385	204	161 ; 105 ; 91 ; 119 ; 79 ; 133 ; 41	5,51
9	isocaryophyllène	45,04	1403	204	189 ; 161 ; 189 ; 105 ; 119 ; 91 ; 133 ; 147 ; 41	4,38
10	caryophyllène	45,61	1412	204	138 ; 91 ; 79 ; 41 ; 105 ; 69 ; 161 ; 120 ; 147 ; 189	43,69
11	(+)-calarène	46,22	1422	204	161 ; 105 ; 91 ; 79 ; 119 ; 133 ; 41	0,68
12	α -bermagotène	47,16	1438	204	161 ; 91 ; 105 ; 119 ; 77 ; 44 ; 133	0,27
13	α-humulène	47,68	1446	204	93 ; 121 ; 80 ; 147 ; 41 ; 107 ; 67	5,23
14	β -humulène	48,14	1454	204	161 ; 91 ; 41 ; 133 ; 119 ; 105 ; 79 ; 69	1,46
15	germacrène D	49,41	1474	204	161 ; 105 ; 91 ; 119 ; 41 ; 133 ; 77	11,65
16	α -sélinène	49,79	1481	204	105 ; 161 ; 41 ; 189 ; 79 ; 91 ; 119 ; 147 ; 133	0,55
17	valencène	50,32	1489	204	121 ; 91 ; 105 ; 79 ; 161 ; 133 ; 189 ; 44	1,01
18	trans-muurola-4(14),5-diène	50,71	1496	204	105 ; 161 ; 91 ; 119 ; 79 ; 41 ; 189	0,37
19	γ -cadinène	51,49	1509	204	161 ; 91 ; 79 ; 119 ; 105 ; 133 ; 41 ; 67	1,02
20	β -cadinène	52,06	1519	204	161 ; 119 ; 134 ; 105 ; 91 ; 189 ; 81 ; 41	2,94

21	germacrène B	53,77	1549	204	91 ; 121 ; 105 ; 67 ; 44 ; 161 ; 79 ; 147	0,18
22	palustrol	54,61	1563	222	93 ; 69 ; 41 ; 107 ; 55 ; 79 ; 121 ; 136	1,11
23	germacrène D-4-ol	55,26	1575	222	79 ; 93 ; 41 ; 107 ; 121 ; 55 ; 69 ; 149 ; 133	4,89
24	6-épi-cubéanol	56,77	1601	222	109 ; 93 ; 138 ; 41 ; 67 ; 77 ; 53	0,19
25	1,10-di-épi-cubéanol	57,26	1610	222	161 ; 44 ; 91 ; 119 ; 105 ; 79 ; 179	0,14
26	α -cadinol	58,70	1636	222	161 ; 79 ; 204 ; 136 ; 91 ; 44 ; 121 ; 105	0,62
27	α -eudesmol	59,44	1650	222	95 ; 161 ; 81 ; 121 ; 43 ; 204 ; 109 ; 133 ; 147	0,19
Monoterpènes						1,46
Sesquiterpènes						91,10
Composés oxygénés						7,00
Total						99,56

Tr: temps de rétention ; Ir : Indice de rétention

L'entraînement à la vapeur a donné une huile essentielle riche en sesquiterpènes (91,10%) suivis des composés oxygénés (7,00%) puis les monoterpènes (1,46%) (**Figure 57**).

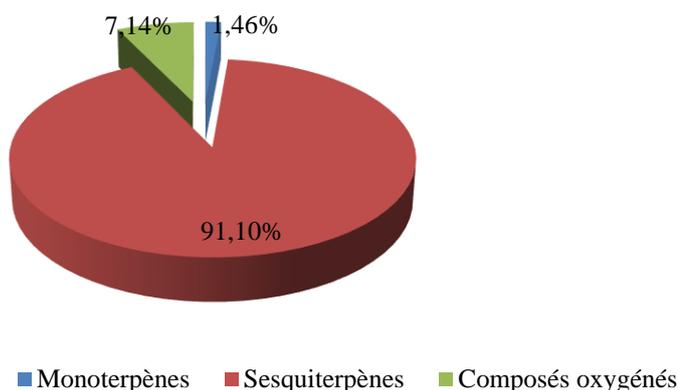


Figure 57: Diagramme des différentes familles chimiques dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de *C. polycephalum*

Les composés majoritaires sont le caryophyllène (43,69%) et le germacrène D (11,65%) (**Figure 58**).

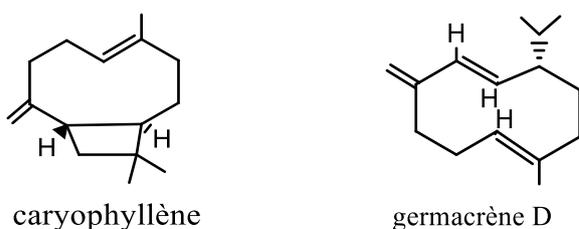


Figure 58 : composés majoritaires de l'HE-EV de *C. polycephalum*

A ces deux composés s'ajoutent d'autres en proportion considérable, ce sont le β -bourbonène (6,90%), l' α -ylangène (4,66%), l'isocaryophyllène (4,38%), l' α -humulène (5,23%) et le germacrène D-4-ol (4,89%) (**Figure 59**).

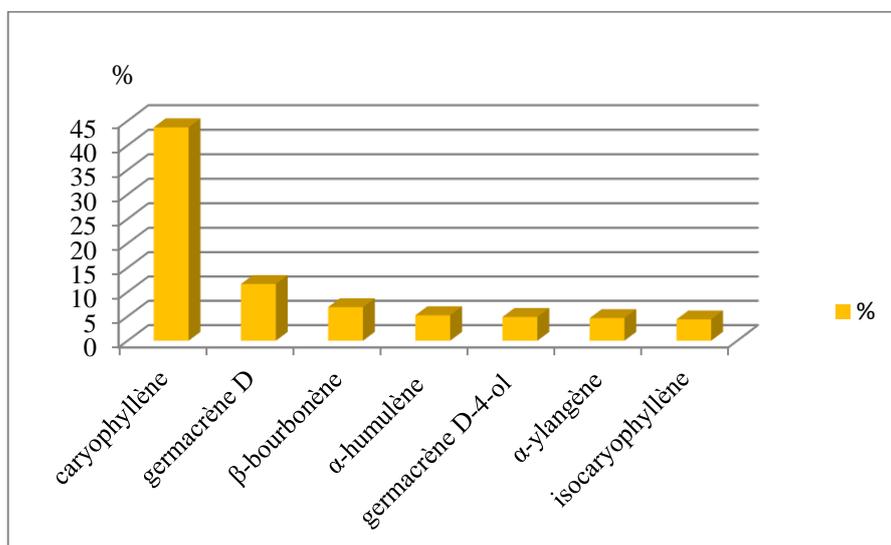


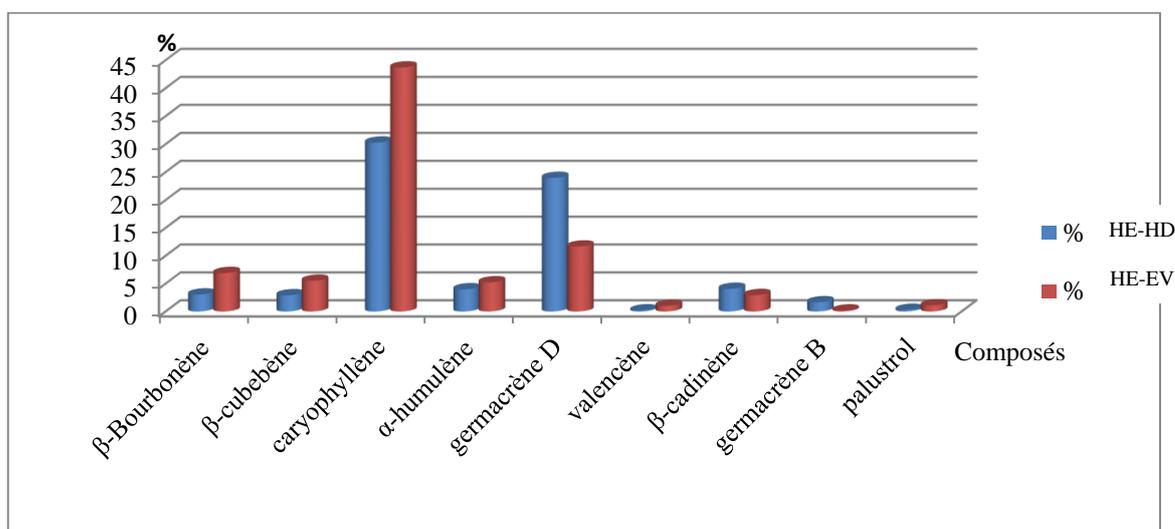
Figure 59 : Histogrammes des composés majoritaires dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *C. polycephalum*

2.3.6.2- Comparaison de la composition chimique des huiles obtenues et par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *C. polycephalum*

L'analyse des HE des tiges feuillées de *C. polycephalum* a mis en évidence des monoterpènes (1,18 % dans l'HE-HD et 1,46 % dans l'HE-EV), de sesquiterpènes (89,81% dans l'HE-HD et 91,10 % dans l'HE-EV) et de composés oxygénés (4,85% dans l'HE-HD et 7,00 % dans l'HE-EV). Les teneurs sont moins élevées dans l'HE-HD.

Plusieurs composés se retrouvent dans les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur. Ce sont le β -bourbonène (3,04 % dans l'HE-HD contre 6,90 % dans l'HE-EV), le β -cubébène (2,90 % dans l'HE-HD contre 5,51 % dans l'HE-EV), le caryophyllène (30,27 % dans l'HE-HD contre 43,69 % dans l'HE-EV), l' α -humulène (3,98 % dans l'HE-HD contre 5,23 % dans l'HE-EV), le germacrène D (23,96 % dans l'HE-HD contre 11,65 % dans l'HE-EV), le valencène (0,20 % dans l'HE-HD contre 1,01 % dans l'HE-EV), le β -cadinène (4,06 % dans l'HE-HD contre 2,94 % dans l'HE-EV), le γ -cadinène (0,23 % dans l'HE-HD contre 1,02 % dans l'HE-EV), le germacrène B (1,65 % dans l'HE-HD contre 0,18 % dans l'HE-EV) et le palustrol (0,29 % dans l'HE-HD contre 1,11 % dans l'HE-EV) (**Figure 60**). La majorité de ces composés ont une teneur plus élevée dans l'HE-EV. La composition de l'HE-EV serait donc plus proche de la réalité. Les réactions induites par l'eau au cours de l'hydrodistillation ont diminué la teneur des composés

présents naturellement dans la plante. Et ces réactions ont parallèlement fait apparaître de nouveaux composés en faible teneurs.



- HE-HD : huile essentielle obtenue par hydrodistillation ; HE-EV : entraînement à la vapeur

Figure 60: Histogrammes comparatifs des teneurs des composés identiques dans les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et entraînement à la vapeur des feuilles de *Clerodendrum polycephalum*

Les composés communs représentent 70,35% de la composition de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation. Et ils constituent 78,22% de la composition de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur (**Figure 61**).

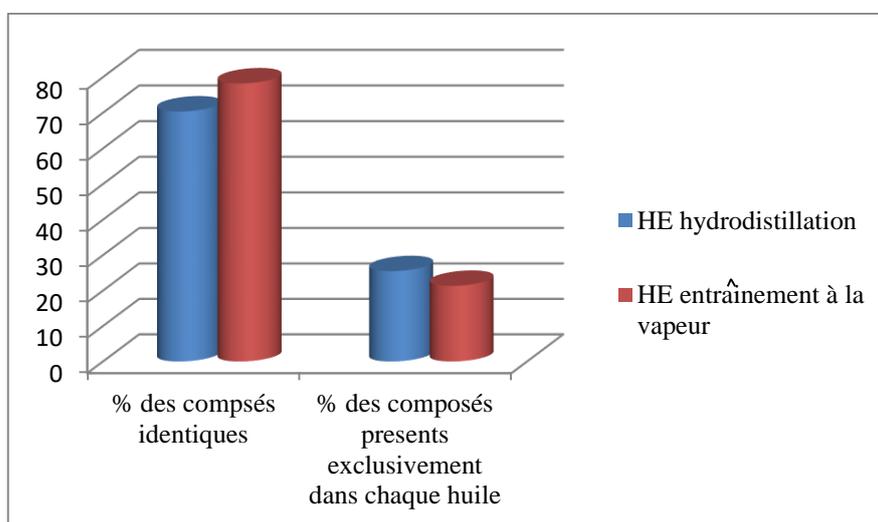


Figure 61 : Histogrammes comparatifs de présence des composés dans les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de *C. polycephalum*

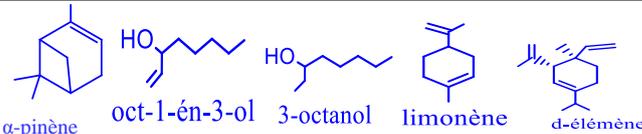
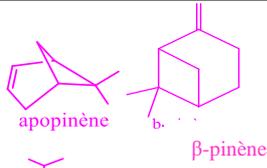
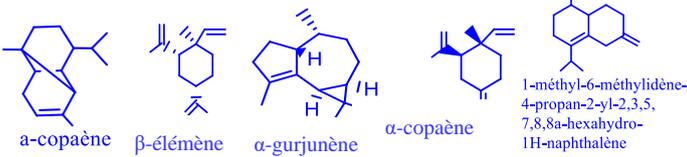
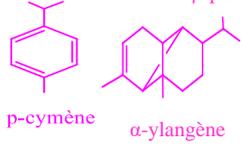
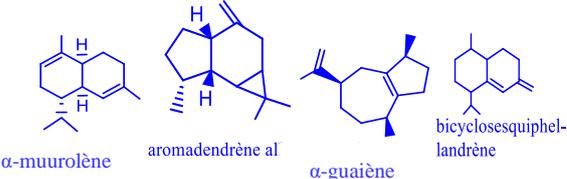
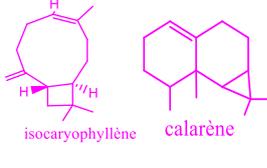
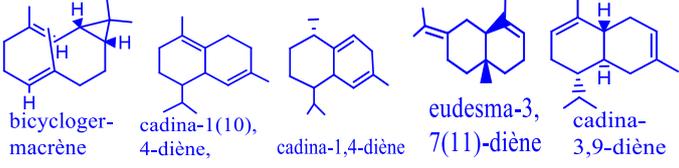
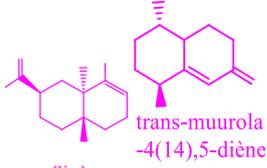
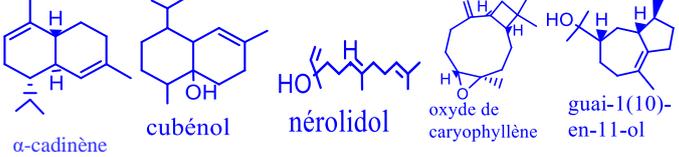
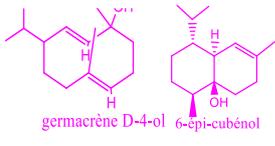
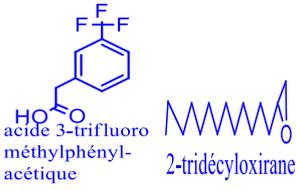
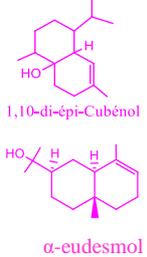
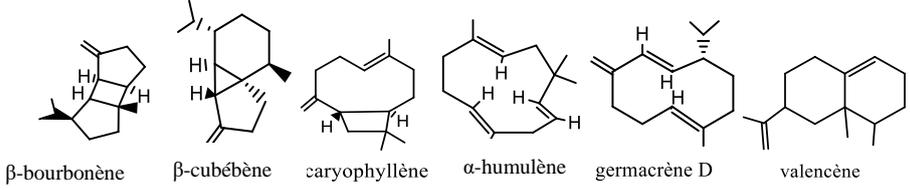
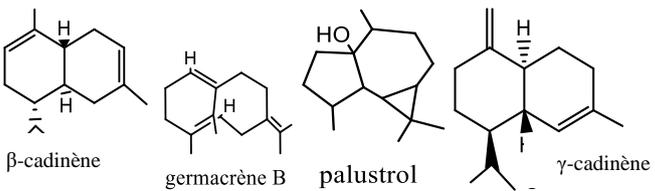
Les composés présents exclusivement dans l'HE obtenue par hydrodistillation sont l' α -pinène (0,93 %), l'oct-1-én-3-ol (0,31 %), le 3-octanol (0,10 %), le limonène (0,08 %), l'élémente d (0,27 %), l' α -copaène (2,55 %), le β -élémente (0,28 %), l' α -gurjunène (4,47 %), le 1-méthyl-6-méthylidène-4-propan-2-yl-2,3,5,7,8,8a-hexahydro-1H-naphthalène (0,92 %), le γ -élémente (0,13 %), l' α -

muurolène (0,19 %), le (-) alloaromadendrène (2,15 %), le 2-isopropyl-5-méthyl-9-méthylène-bicyclo[4.4.0]dec-1-ène (0,26 %), le γ -cadinène (0,23 %), le α -guaiène (1,42 %), le bicyclosesquiphellandrène (0,46 %), le bicyclogermacrène (2,26 %), l' α -muurolène (0,94 %), le cadina-1(10),4-diène (0,15 %), le cadina-1,4-diène (1,29 %), l'eudesma-3,7(11)-diène (0,20 %), le cadina-3,9-diène (0,24 %), l' α -cadinène (0,31 %), le nérolidol (1,00 %), l'oxyde de caryophyllène (0,67 %), le cubénol (0,07 %), le guai-1(10)-en-11-ol (1,17 %), l'acide 3-trifluorométhylphénylacétique (0,22 %) et le 2-tridécylloxirane (0,10 %). Ces composés à faible teneur, pour la plupart, obtenus dans l'HE-HD seraient soit des produits de modifications, soit les produit d'un meilleur brassage de l'eau avec la plante distillée (**Hornback J.M., 2005 ; Bülow et König, 2000 ; Deschepper, 2017**).

L'apopinène (0,38 %), β -pinène (0,40 %) et le P-cymène (0,16 %) présents exclusivement dans l'HE-EV ont pu être convertis respectivement en α -pinène et en limonène dans l'HE-HD. Les sesquiterpènes tels que l' α -ylangène (4,66 %), l'isocaryophyllène (4,38 %), le (+)-calarène (0,68 %), l' α -sélinène (0,55 %), le valencène (1,01 %), le trans-muurola-4(14), 5-diène (0,37 %), le germacrène D-4-ol (4,89 %), le 6-épi-cubénol (0,19 %), le 1,10-di-épi-cubénol (0,14 %) et l' α -eudesmol (0,19 %) sont présents dans l'HE obtenue à l'entraînement à la vapeur et absents à l'hydrodistillation (**Tableau 32**). Les composés hydrocarbonés ont pu être convertis en leurs isomères et les alcools ont été soit déshydratés, soit solubilisés dans l'eau d'où leur absence dans l'HE-HD.

Aussi les HE-EV et HE-HD des tiges feuillées de *C. polycephalum* sont jaune-claires. Il n'y a donc pas de différences notables des couleurs. Les HE obtenues par entraînement à la vapeur et par hydrodistillation sont dominées par les mêmes composés qui sont le β -bourbonène (incolore à jaune), le β -cubébène (incolore à jaune pâle), le caryophyllène (jaune), l' α -humulène (jaune), le valencène (jaune), le β -cadinène (incolore), et le palustrol (incolore) (**Anonyme 12**). Tous ces composés jaunes et leurs combinaisons ont donné la couleur des HE-EV et HE-HD des tiges feuillées de *C. polycephallum*.

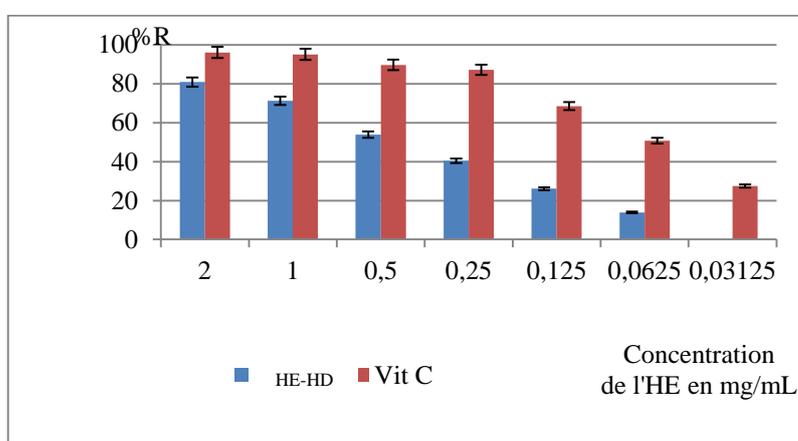
Tableau 32 : Structures des composés issus des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur des tiges feuillées de *C. polycephalum*

Méthodes	Hydrodistillation	Entraînement à la vapeur	
Structures des composés présents exclusivement dans chaque HE	 <p> α-pinène oct-1-én-3-ol 3-octanol limonène d-élémène </p>	 <p> apopinène β-pinène </p>	
	 <p> α-copaène β-élémène α-gurjunène α-copaène 1-méthyl-6-méthylidène-4-propan-2-yl-2,3,5,7,8,8a-hexahydro-1H-naphthalène </p>	 <p> p-cymène α-ylangène </p>	
	 <p> α-muuroène aromadendrène al α-guaiène bicyclosiquiphellandène </p>	 <p> γ-élémène isocaryophyllène calarène </p>	
	 <p> bicyclogermacrène cadina-1(10),4-diène, cadina-1,4-diène eudema-3,7(11)-diène cadina-3,9-diène </p>	 <p> α-sélinène trans-muuro-4(14),5-diène </p>	
	 <p> α-cadinène cubénol nérolidol oxyde de caryophyllène guai-1(10)-en-11-ol </p>	 <p> germacrène D-4-ol 6-épi-cubénol </p>	
	 <p> acide 3-trifluoro méthylphénylacétique 2-tridécylloxirane </p>	 <p> 1,10-di-épi-Cubénol α-eudesmol </p>	
	Structures des composés identiques des HE obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur	 <p> β-bourbonène β-cubébène caryophyllène α-humulène germacrène D valencène </p>	
		 <p> β-cadinène germacrène B palustrol γ-cadinène </p>	

2.3.6.3- Activité antioxydante de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *C. polycephalum*

L'évaluation à la spectrophotométrie révèle que l'huile essentielle des tiges feuillées de *C. polycephalum* possède une bonne activité antioxydante. La présence de composés tels que le β – caryophyllène (30,27 %), l'humulène (3,98 %) et le germacrène D (23,96 %) qui sont les composés majoritaires, sont mentionnés dans la littérature pour leurs bonnes activités antioxydantes (Calleja *et al.*, 2013 ; Gunawan *et al.*, 2016, de la Compagnie des sens et de la Charlie, 2019).

Les concentrations de réduction de l'huile essentielle des feuilles de *C. polycephalum* ($CR_{50} = 0,05 \pm 0,01$ mg/mL) sont assez élevées par rapport à celles de la vitamine C ($CR_{50} = 0,021 \pm 0,01$ mg/mL) (Figure 62). Donc l'HE-HD est moins active que la vitamine C.



- HE-HD (CP) : huile essentielle obtenue par hydrodistillation de *Clerodendrum polycephalum* ; Vit C : vitamine C

Figure 62: Diagrammes comparatifs des pourcentages de réduction de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *C. polycephalum* et de la vitamine C

2.3.6.4- Activité antibactérienne de l'HE-HD des tiges feuillées de *C. polycephalum*

Les tests antimicrobiens ont montré que l'huile essentielle des feuilles de *Clerodendrum polycephalum* n'a pas d'effet notable sur les souches. Toutes les zones d'inhibition sont inférieures à 11mm (Tableau 33). Malgré l'effet antifongique de plusieurs des constituants de cette huile essentielle pris individuellement, les potentiels effets antagonistes de certains constituants ont pu rendre faible l'activité de cette huile essentielle contre les souches testées.

Tableau 33 : Zone d'inhibition de l'HE obtenue par hydrodistillation des tiges feuillées de *C. polycephalum*

Souches	d.i HE CP (mm)	d.i.Oxy-tétracycline (référence)(mm)
<i>B. subtilis</i>	08	35
<i>S. aureus</i>	0	35
<i>S. epidermidis</i>	0	35
<i>P. aeruginosa</i>	0	30
<i>S. typhimirium</i>	08	25
<i>E. coli</i>	0	33
<i>K. blse</i>	09	35
<i>P. mirabilis</i>	0	35

d.i : diamètre d'inhibition ; HE-CP : huile essentielle de *Clerodendrum polycephalum* ; mm : millimètre

2.3.6.5-Activité antifongique de l'HE des tiges feuillées de *C. polycephalum*

Malgré l'effet antifongique de plusieurs des constituants de cette huile essentielle pris individuellement, elle n'a eu qu'un faible effet sur les champignons testés à savoir le *C. albicans* (08 mm), le *C. tropicalis* (08 mm) et le *C. glabrata* (08 mm) (**Tableau 34**).

Tableau 34 : diamètre des zones d'inhibition de l'HE-HD contre les champignons

champignons	di HE-HD (mm)	Amphotéricine (référence)	B
<i>C. albicans</i>	08	20	
<i>C. tropicalis</i>	08	20	
<i>C. glabrata</i>	08	20	

d.i : diamètre d'inhibition ; HE-CP : huile essentielle de *Clerodendrum polycephalum* ; mm : millimètre

2.3.6.6- Conclusion sur l'étude des l'huile essentielle des tiges feuillées de *C. Polycephalum*

Des feuilles de *Clerodendrum polycephalum*, a été extraite de l'huile essentielle par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur avec des rendements respectifs de 0,13% et 0,08%. Les deux méthodes ont donné une HE dominée par les sesquiterpènes avec le même composé majoritaire le caryophyllène. Des différences existent au niveau de la composition chimique. Plusieurs composés en faible teneur sont présents de part et d'autre. L'huile essentielle des feuilles de *C. polycephalum* possède une bonne activité antioxydante. Cependant l'huile essentielle ne posséderait pas d'activité antimicrobienne sur les souches testées.

2.4- RÉCAPITULATIF

2.4.1- Étude chimique

L'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation ont donné des HE dominées par les mêmes grandes familles chimiques pour chaque plante, sauf dans le cas des HE des tiges feuillées de *P. angolensis* (**Tableau 35**).

Tableau 35 : Récapitulatif des grandes familles chimiques dans les HE

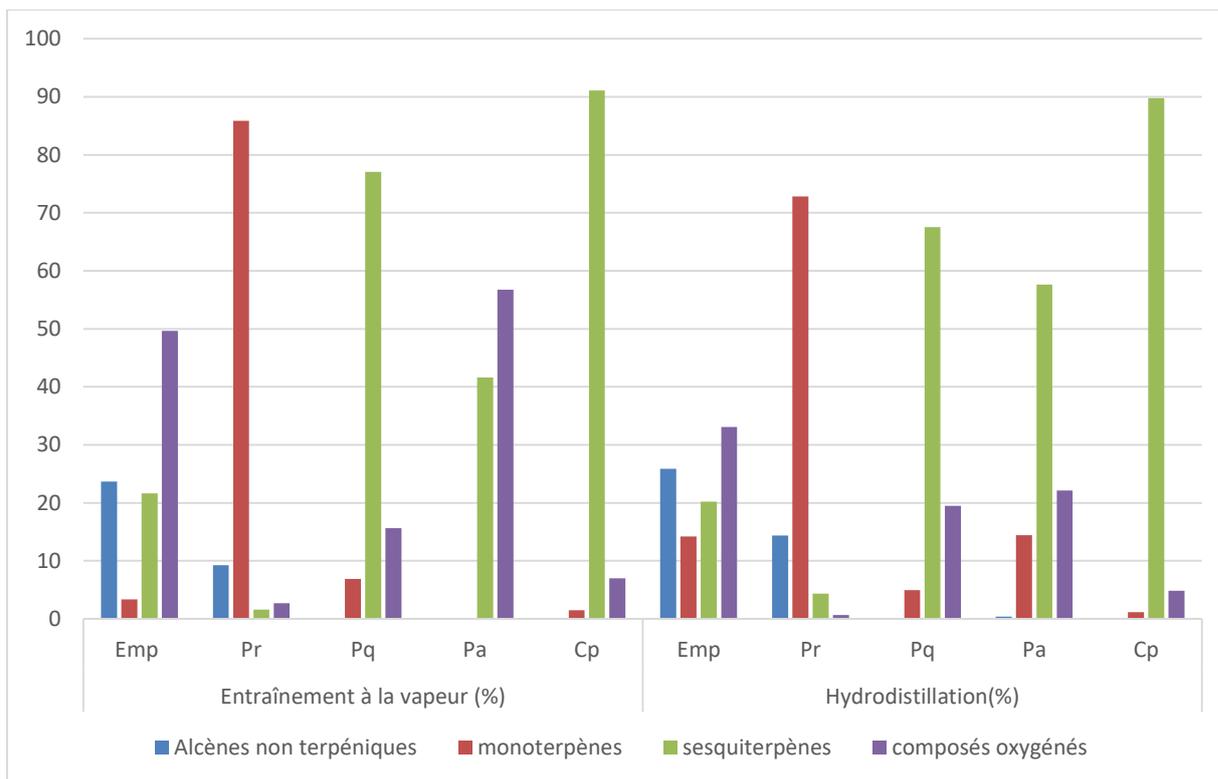
Méthodes	Entraînement à la vapeur (%)					Hydrodistillation (%)				
	Emp	Pr	Pq	Pa	Cp	Emp	Pr	Pq	Pa	Cp
Plantes	18	11	16	11	28	32	15	28	30	42
Nombre de composés										
alcènes non terpéniques	23,66	9,24	-	-	-	25,87	14,38	-	0,36	-
monoterpènes	3,34	85,89	6,88		1,46	14,2	72,83	4,94	14,41	1,18
sesquiterpènes	21,63	1,58	77,05	41,62	91,10	20,23	4,34	67,52	57,65	89,81
composés oxygénés	49,63	2,67	15,62	56,73	7,00	33,11	0,66	19,46	22,11	4,85

Emp=*Emilia praetermissa*, *Pr*=*Porophyllum ruderale*, *Pq*=*Premna quadrifolia*, *Pa*=*Premna angolensis* et *Cp*=*Clerodendrum polycephalum*

Les HE des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* sont constituées d'alcènes non terpéniques (25,87 % dans l'HE-HD et 23,66 % dans l'HE-EV), de monoterpènes (14,2 % dans l'HE-HD et 3,34 % dans l'HE-EV), de sesquiterpènes (20,23 % dans l'HE-HD et 21,63 % dans l'HE-EV) et de composés oxygénés (33,11 % dans l'HE-HD et 49,63 % dans l'HE-EV). Plusieurs raisons pourraient expliquer ces constats parmi lesquels le système de récupération. Le cleverger a permis d'avoir plusieurs composés moins lourds dans l'HE-HD des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*. Ces composés, bien que légers ont pu être piégés jusqu'à la récupération. Ce que le système de récupération du dispositif à l'entraînement n'aurait pas pu permettre. Par contre les composés lourds (sesquiterpènes et composés oxygénés) sont restés en grande quantité dans l'HE-EV

Aussi certains composés oxygénés tels que les alcools ont une certaine solubilité dans l'eau. Ainsi certains alcools pourraient rester dans l'eau dans le cas de l'hydrodistillation, diminuant ainsi leur teneur dans l'HE-HD.

Les différentes familles présentes dans les HE extraites par les deux méthodes sont représentées ci-dessous (**Figure 63**).

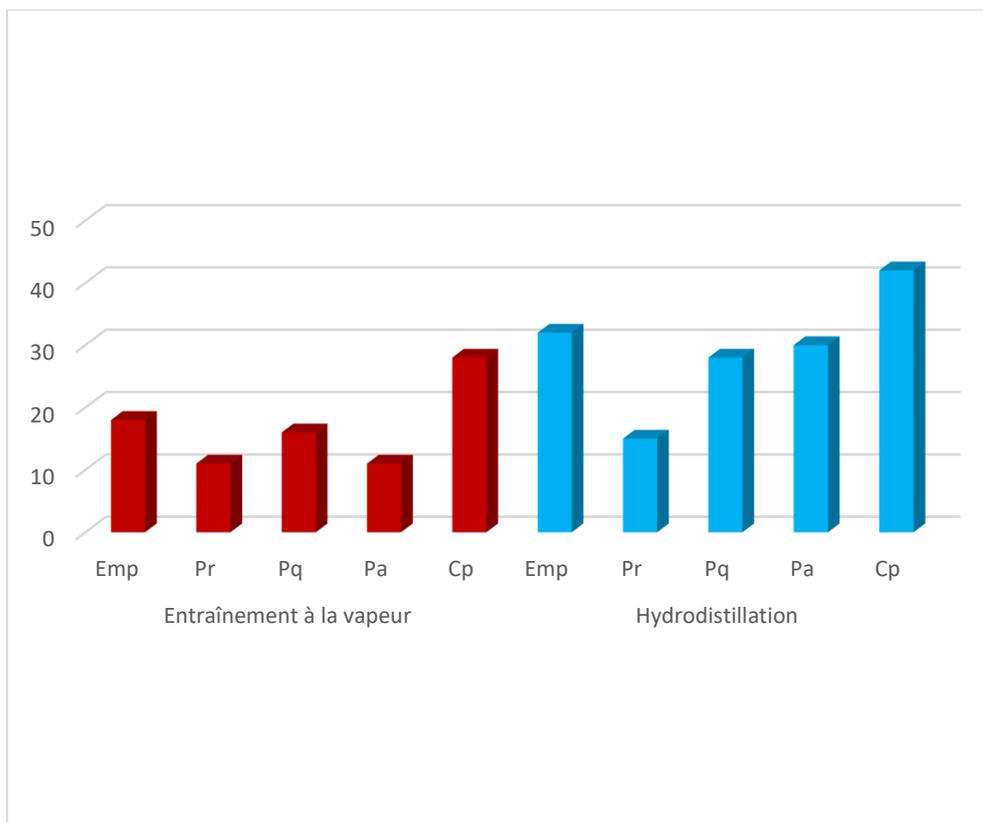


Emp=*Emilia praetermissa*, Pr=*Porophyllum ruderale*, Pq=*Premna quadrifolia*, Pa=*Premna angolensis* et Cp =*Clerodendrum polycephalum*

Figure 63: Histogrammes des teneurs des familles chimiques présentes dans les HE extraites par les deux méthodes

Les HE des tiges feuillées de *P. angolensis* n'ont pas donné le même nombre de famille chimique. L'HE-HD a révélé des alcènes non terpéniques (0,36 %), des monoterpènes (14,41 %), de sesquiterpènes (57,65 %) et des composés oxygénés (22,11 %). L'HE-EV a révélé que des sesquiterpènes (41,62 %) et des composés oxygénés (56,73 %). Des dégradations ont pu avoir lieu au niveau des constituants de l'HE-HD, d'où l'apparition de plusieurs composés en faible teneur. Les alcènes (alcènes non terpéniques et monoterpènes) pourraient être des produits de déshydratation d'alcools, diminuant ainsi la teneur en composés oxygénés (22,11 %).

Le nombre de composés est différent pour toutes les plantes. Le plus grand nombre de composé est obtenu dans l'HE issue de l'hydrodistillation (**Figure 64**).



Emp=*Emilia praetermissa*, *Pr*=*Porophyllum ruderale*, *Pq*=*Premna quadrifolia*, *Pa*=*Premna angolensis*, *Cp*=*Clerodendrum polycephalum*

Figure 64 : Histogrammes comparés des nombres de composés obtenus selon la méthode d'extraction.

Les composés dont la teneur est supérieure à 15% sont identiques dans les HE issues des deux méthodes. Il s'agit de l'alcène non terpénique le 1-undécène (25,58 % - 23,66 %) et le sesquiterpène bicyclique oxygéné, l'oxyde de caryophyllène (24,02 % - 27,74 %) dans les HE des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*, le monoterpène acyclique le β -myrcène (49,58 % - 62,01 %) dans les HE des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale*, le caryophyllène (30,27 % - 43,69 %) dans les HE des tiges feuillées de *C. polycephalum* et encore le caryophyllène (16,24 % - 35,84 %) dans les HE des tiges feuillées de *P. quadrifolia* (**Tableau 36**).

La plupart des composés majoritaires sont communs aux huiles essentielles obtenues selon les méthodes d'extraction avec des teneurs différentes (sauf dans le cas des HE de *P. angolensis*). De ce fait, en considérant les composés majoritaires, la composition chimique des HE issues des ces deux méthodes semblerait identique qualitativement. Ces observations ont été aussi faites par **Taha et al. en 2017**.

En effet L'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau se fondent en grande partie sur le même principe, celui d'entraîner les composés volatiles par la vapeur d'eau. Le contact (ou la proximité) de la plante avec l'eau est la principale différence. Les possibles dégradations des

composés du fait de leur contact avec l'eau pourrait expliquer que pour les composés majoritaires la teneur est moins importante dans l'HE-HD.

Tableau 36 : récapitulatif des composés majoritaires des HE

COMP. MAJ.	ENTRAÎNEMENT A LA VAPEUR (%)					HYDRODISTILLATION (%)				
	Emp	Pr	Pq	Pa	Cp	Emp	Pr	Pq	Pa	Cp
1-undécène	23,66					25,58				
β -myrcène		62,01					49,58			
caryophyllène			35,84		43,69			16,24	16,66	30,27
germacrène D										23,96
oxyde de caryophyllène	27,74					24,02				
α -cadinol				30,17						

Emp=*Emilia praetermissa*, Pr=*Porophyllum ruderale*, Pq=*Premna quadrifolia*, Pa=*Premna angolensis* et Cp=*Clerodendrum polycephalum*

Au-delà de ces composés identiques qui dominent les HE, la comparaison des compositions chimiques des HE fait apparaître une différence au niveau des composés minoritaires.

Ces différences varient d'une plante à l'autre. Elles sont parfois faibles. Par exemple, elles constituent 3,12 % de l'HE-EV de *P. ruderale*.

Mais ces différences sont parfois considérables. C'est le cas de *C. polycephalum* où ces différences entre l'HE-HD et l'HE-EV sont environ 25,49 %.

Ces différences pourraient être expliquées par des variations des paramètres d'expérimentation. En effet une huile essentielle contient très souvent plusieurs molécules différentes. Sa composition chimique n'est par ailleurs jamais rigoureusement identique. Il est impossible de reproduire en laboratoire cette complexité présente à l'état naturel. (Chassaing, 2006 ; Lahlou, 2004). La grande sensibilité des composés insaturés qui composent les huiles essentielles, entraîne des modifications certaines d'un environnement expérimental à un autre. Plus précisément la variation de certains paramètres dans l'environnement de l'huile essentielle (la température, la lumière, le contact ou non avec l'eau,...) est susceptible de modifier sa composition chimique.

Le limonène est présent dans toutes les huiles obtenues par hydrodistillation (*E.praetermissa*, 2,82 % ; *P. ruderale*, 6,45 % ; *P. quadrifolia*, 0,13 % ; *P. angolensis*, 0,72 % ; *C. polycephalum*, 0,08 %). Or il est absent dans certaines huiles obtenues par entraînement à la vapeur (HE de *P. angolensis* et *C. polycephalum*) et lorsqu'elle est présente, sa teneur est généralement moins élevée. C'est le cas dans les HE des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* (1,4 %), de *P. ruderale* (5,02 %). Parallèlement, l'apparition de certains de ses isomères ou l'augmentation de leur teneur sont constatées. Le γ -terpinène est passé de 2,60 % dans l'HE-HD à 10,99 % dans l'HE-EV des tiges

feuillées et fleurs de *P. rudérale* pendant que la teneur de limonène diminuait de moitié (2,82 % à 1,4%) dans l'HE-EV de *E. praetermissa*. De même le P-cymène qui est absent dans l'HE-HD apparaît dans l'HE-EV (0,16 %) des tiges feuillées de *C. polycephallum*. Soit deux fois la teneur de limonène présent dans l'HE-HD (0,08 %) et qui a disparu dans l'HE-EV. **Iwai et al. en 2014** ont montré la conversion du limonène en ses isomères dans des conditions hydrothermales particulières.

Fischer et al ont montré que le sabinène disparaît rapidement lorsqu'il est extrait par hydrodistillation. Parallèlement, les auteurs ont noté l'apparition de plusieurs composés dont le terpinèn-4-ol, l' α -terpinène et le γ -terpinène (**Fischer et al., 1987**).

Les isomères du cadinène apparaissent dans plusieurs huiles essentielles obtenues par hydrodistillation ou par entraînement à la vapeur.

Dans l'HE-HD des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*, il y a le cadina-1,4-diène (0,55 %) et le cadina-3,9-diène (1,60 %) alors que dans l'HE-EV apparaissent le cadina-1,4-diène (0,30 %) et le cadina-3,9-diène (1,02 %).

Dans l'HE-HD des tiges feuillées de *P. quadrifolia*, apparaissent le γ -cadinène (1,82 %), le cadina-1(10),4-diène (4,68 %) et le cadina-3,9-diène (0,21 %). Pendant que dans l'HE-EV n'apparaissent que le γ -cadinène (1,40 %) et le cadina-1(10),4-diène (3,96 %).

Quant à l'HE-HD des tiges feuillées de *P. angolensis*, elle met en évidence le γ -cadinène (2,07 %), le cadina-1,4-diène (4,12 %) et le cadina-3,9-diène (0,43 %) pendant que l'HE-EV ne révèle que le cadina-1,4-diène (3,64 %).

L'HE-HD des tiges feuillées de *C. polycephalum* contiendrait le γ -cadinène (0,23 %), le cadina-1(10),4-diène (0,15 %), cadina-1,4-diène (1,29 %), β -cadinène (4,06 %), cadina-3,9-diène (0,24 %) et l' α -cadinène (0,31 %) tandis que l'HE-EV ne contiendrait que le γ -cadinène (1,02 %) et le β -cadinène (2,94 %).

Pour tous ces cas, il apparaît plus d'isomères dans l'HE-HD que dans l'HE-EV. L'hydrodistillation favoriserait donc les interconversions entre isomères.

Ferhat et al. en 2016 ont constaté également cette différence du nombre de composés selon la méthode d'extraction. Ces auteurs ont obtenu l'huile essentielle du citron par trois méthodes, l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM), l'hydrodistillation (HD) et l'expression à froid (CP). Les nombres de composés identifiés seraient différents d'une méthode à l'autre (**Ferhat et al., 2016**).

❖ Conclusion partielle 3:

- Les HE obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau varient quantitativement et qualitativement. Les HE obtenues par hydrodistillation contiennent beaucoup de composés que celles obtenues par entraînement à la vapeur. Les teneurs des composés obtenus à l'hydrodistillation sont généralement moins importants que lorsqu'ils apparaissent à l'entraînement à la vapeur d'eau. L'hydrodistillation serait donc favorable à plusieurs réactions dont les interconversions augmentant ainsi le nombre de composés tout en diminuant leur teneur.
- Plusieurs composés pourraient être des artefacts survenus lors de l'extraction suite à des variations de température ou de contact avec l'eau.
- L'essentiel des composés majoritaires se retrouvent dans les HE extraites par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau. Cependant la teneur de ces composés majoritaires est plus élevée dans les HE obtenues par entraînement à la vapeur d'eau. L'HE obtenue par entraînement à la vapeur d'eau aurait donc une composition plus proche de celle de la plante.

Recommandations:

- ✓ Favoriser l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau afin d'éviter les détériorations dues à l'eau.
- ✓ Contrôler la température d'extraction pour éviter de perdre les composés thermosensibles.

2.4.2-Évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne

2.4.2.1-Évaluation des activités antioxydantes

La mesure des absorbances des huiles essentielles par spectrophotométrie, révèle que les huiles essentielles ont une très bonne capacité réductrice donc une bonne activité. Les concentrations réductrices de 50% du DPPH évoluant de 0,008 mg/mL à 0,084 mg/mL. Celle de la vitamine C, prise comme référence est d'environ 0,021 mg/mL. Les études sur la composition chimique des huiles essentielles des plantes aromatiques en relation avec le screening de leurs activités biologiques sont abondantes. Il est établi dans de nombreux travaux que l'activité d'une huile essentielle est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre les constituants (Oussou *et al.*, 2009 ; Oussou *et al.*, 2010 ; Saint, 2003 ; Kalemba et Kunicka, 2003). Donc ce potentiel antioxydant manifesté pourrait être dû à la synergie de plusieurs composés ou même à l'activité de certains composés minoritaires. Les concentrations réductrices de 50 % du DPPH sont consignées dans le tableau ci-dessous (**Tableau 36**).

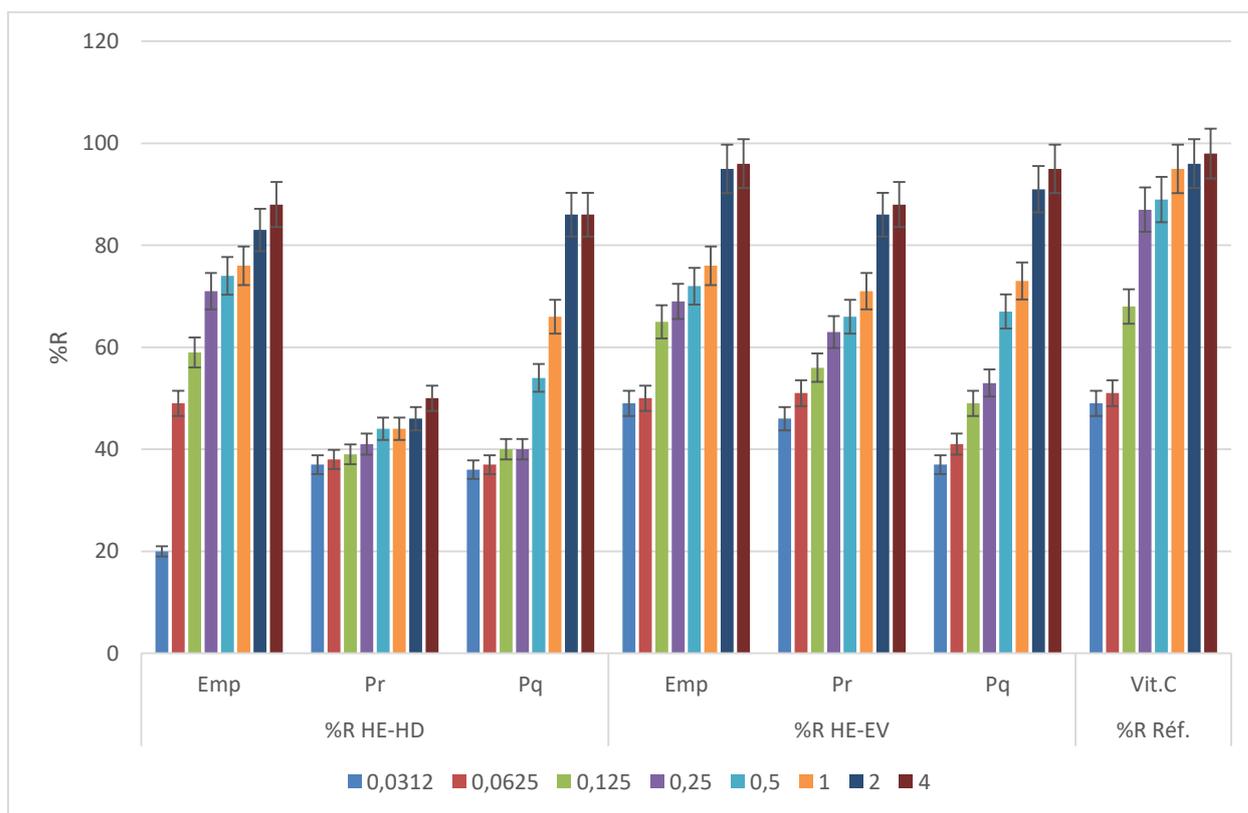
Tableau 37 : CR₅₀ des échantillons d'HE et de la Vitamine C

Plantes	HE-HD					HE-EV			Réf.
	Emp	Pr	Pq	Pa	Cp	Emp	Pr	Pq	Vit.C
CR ₅₀ (mg/mL)	0,026 ±0,01	0,084± 0,01	0,038 ± 0,01	0,008 ± 0,001	0,05± 0,01	0,014 ±0,01	0,019± 0,01	0,029± 0,01-	0,021 ±0,01
Équation	8,3125x + 27,973	1,8214x + 34,616	8,169 6x + 19,08	4,625 x+ 46,06 3 4	10,94 9x - 10,57 8 2	7,0119x+ 40,384	6,1339x + 38,554	8,8661x+ 23,759	9,1937x+3 0,402
R ²	0,856	0,9554	0,885 2	0,941 4	0,945 2	0,9437	0,9692	0,9687	0,9334

- HE-EV : huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur ; HE-HD : huile essentielle obtenue par hydrodistillation ; Vit. C : vitamine C

Les HE obtenues à l'entraînement à la vapeur d'eau ont en général un potentiel antioxydant plus élevé que celles obtenues à l'hydrodistillation.

Les pourcentages de réduction des HE issues des deux méthodes d'extraction sont représentés (Figure 65) pour la comparaison.



Emp=Emilia praetermissa, Pr=Porophyllum ruderale, Pq=Premna quadrifolia, Pa=Premna angolensis et Cp=Clerodendrum polycephalum

Figure 65 : Diagramme des pourcentages de réduction des HE et de la vitamine C

La composition chimique des HE des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* en composés majoritaires est le 1-undécène 25,58 % ; l'oxyde de caryophyllène 24,02 % ; le caryophyllène 8,34 % et le β -myrcène 5,16 % pour HD et le 1-undécène 23,66 ; l'oxyde de caryophyllène 27,74 ; le caryophyllène 9,06 % ; le phytol 10,82 et le 6, 10,14-triméthylpentadécane-2-one 7,63 % pour EV. Le 1-undécène et l'oxyde de caryophyllène les plus abondants pour les deux méthodes ne peuvent expliquer l'activité antioxydante des deux HE. La présence du phytol dans EV, à plus de 17 fois dans HD (0,62 %) pourrait expliquer la forte activité de l'HE obtenue par EV. Le phytol étant comme connu possédant une forte activité antioxydante (**Santos et al., 2013**).

Pour *P. ruderale* la différence pourrait être due probablement à γ terpinène et le myrcène. En effet le γ -terpinène est présent à 10% dans l'HE-EV et à 2,60 % dans l'HE-HD de *P. ruderale*. Le myrcène également a une teneur de 62,01 % dans l'HE-EV contre 49,68 % dans l'HE-HD. Or ces deux composés sont connus pour leurs fortes activités antioxydantes (**Ruberto et Barrata, 2000 ; Foti et Ingold, 2003 ; Li et Liu, 2009 ; Ciftci et al., 2011**). Ces composés ont donc pu augmenter le potentiel antioxydant de l'HE-EV ($CR_{50} \approx 0,019 \pm 0,01 \text{ mg/mL}$) tandis que celle de l'HE-HD a une $CR_{50} \approx 0,084 \pm 0,01 \text{ mg/mL}$.

Pour *Premna quadrifolia* : l'HE-EV a une activité antioxydante plus forte que l'HE-HD. La forte teneur en β -caryophyllène 35,84 % dans l'HE-EV contre 16,24 % dans l'HE-HD pourrait expliquer cette différence. Selon Calleja et al. le β -caryophyllène manifeste une activité antioxydante (**Calleja et al., 2013**).

Conclusion partielle 4 :

L'évaluation du potentiel antioxydant montre que les HE des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*, des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale*, des tiges feuillées de *P. quadrifolia*, des tiges feuillées de *P. angolensis* et des tiges feuillées de *C. polycephalum* ont de très bonnes activités antioxydantes.

La comparaison du potentiel des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation à celui des huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau révèle que l'entraînement à la vapeur d'eau donne des HE avec un plus grand potentiel antioxydant.

Recommandation:

- ✓ Utiliser les huiles essentielles de ces cinq plantes pour l'élaboration de traitement contre le stress oxydatif.

2.4.2.2- Évaluation des activités antibactérienne avec les HE obtenues par hydrodistillation

Les diamètres des zones d'inhibition (**Tableau 38**) des HE lors du screening sont consignés dans le tableau ci-dessous. Les huiles essentielles les plus actives sont celles des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*, des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* et des tiges feuillées de *C. polycephalum*. Elles ont eu les plus grandes zones d'inhibition contre *S. aureus* (12 mm, 15 mm et 10 mm), *S. epidermidis* (14 mm, 24 mm et 15 mm), *K. pneumoneae* (15 mm, 20 mm et 15 mm) et *B. subtilis* (9 mm, 18 mm, 00 mm). La présence de l'oxyde de caryophyllène, du β -myrcène de l' α -cadinol comme composés majoritaires respectifs dans ces huiles essentielles pourrait expliquer ces résultats intéressants.

Tableau 38 : diamètres des zones d'inhibition des échantillons des HE

Bactéries	di (mm) HE-HD				
	Emp	Pr	Pq	Pa	Cp
<i>S. aureus</i>	12± 1	15± 1	0	10± 1	0
<i>S. epidermidis</i>	14± 1	24± 1	8	15	0
<i>S. typhimurium</i>	0	0	0	0	8
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0
<i>K. pneumoneae</i>	15± 1	20± 1		15± 1	-
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i>	9± 1	18± 1	0	0	8± 1
<i>K. blse</i>	-	-	8	-	9± 1

Les tests antimicrobiens ont montré que les huiles essentielles des tiges feuillées de *P. quadrifolia* et de *C. polycephalum* n'ont pas d'effet notable sur les souches. Toutes les zones d'inhibition sont inférieures à 11 mm. Cela pourrait s'expliquer par de potentiels effets antagonistes de leurs constituants.

Le test comparatif des zones d'inhibition de l'HE-HD et l'HE-EV a donné les résultats donnés dans le tableau (**Tableau 39**) suivant :

Tableau 39 : Diamètre d'inhibition des HE-HD et HE-EV sur les souches contre *S. epidermidis* et *K. pneumoneae*

Bactéries	di (mm) HE-HD			di (mm) HE-EV		
	Emp	Pr	Pq	Emp	Pr	Pq
<i>S. epidermidis</i>	15	15	8	14	20	11
<i>K. pneumoneae</i>	15	18		13	15	

Les HE extraites par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau sont voisines et ont des effets moyens contre *S. epidermidis* et *K. pneumoneae*.

Les CMI et CMB des échantillons sont consignés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 40**). Elles sont déterminées pour les échantillons où le diamètre d'inhibition est supérieur ou égal à 11 mm.

Tableau 40 : CMI et CMB des échantillons des HE et de la gentamicine (référence)

Bactéries	Concentrations minimales (mg/mL)							
	Emp		Pr		Pa		Gentamicyne	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>S. aureus</i>	3,75	30	3,75	30	-	-	0,005	0,01
<i>S. epidermidis</i>	3,75	30	3,75	15	3,75	30	0,0025	0,005
<i>K. pneumoneae</i>	3,75	30	3,75	15	3,75	30	0,005	0,01
<i>B. subtilis</i>	-	-	3,75	30	-	-	0,0025	0,005

Conclusion partielle 5

Les tests ont montré que les HE étudiées ont des effets plus ou moins élevés selon la souche. Les huiles essentielles qui ont été plus actives sont celles des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*, des tiges feuillées de *P. ruderale* et des tiges feuillées de *P. angolensis*. Elles ont eu les plus grandes zones d'inhibition contre *S. aureus*, *S. epidermidis*, *K. pneumoneae* et *B. subtilis*. Les huiles essentielles des cinq plantes sont par ailleurs dominées par des composés dont les effets antibactériens sont connus.

Recommandation:

- ✓ Utiliser les huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*, des tiges feuillées de *P. ruderale* et des tiges feuillées de *P. angolensis* pour la recherche de traitement contre les pathologies dues à *S. aureus*, *S. epidermidis*, *K. pneumoneae* et *B. subtilis*.
- ✓ Le β -caryophyllène et le β -myrcène dont les activités antibactériennes sont connues pourraient être isolés respectivement des huiles essentielles des tiges feuillées de *C. polycephallum* et des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale*.

2.1.5.3-Évaluation des activités antifongiques des HE obtenues par hydrodistillation

Les résultats des tests antifongiques sont consignés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 41**). Les huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa*, des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* ont eu des effets notables contre les souches testées. Ces HE sont dominées par des composés oxygénés et des monoterpènes.

Tableau 41 : Diamètre des zones d'inhibition des HE sur les champignons

Champignons	di (mm)					
	Emp	Pr	Pq	Pa	Cp	Amphotéricine B (référence)
<i>C. albicans</i>	12±1	14±1	0	9±1	8±1	35±1
<i>C. tropicalis</i>	12±1	12±1	0	8±1	8±1	30±1
<i>C. glabrata</i>	11±1	13±1	0	8±1	8±1	35±1

Les CMI et CMF (**Tableau 42**) des échantillons d'HE sont consignées dans le tableau ci-dessous. Elles sont déterminées pour les échantillons et champignons où le diamètre d'inhibition est supérieur ou égal à 11 mm.

Tableau 42 : CMI et CMF des HE sur les champignons

	Concentrations minimales (mg/mL)							
	Emp		Pr		Pq	Pa	Amphotéricine B	
Champignons	CMI	CMF	CMI	CMF	CMI	CMF	CMI	CMF
<i>C. albicans</i>	3,75	30	3,75	30	-	-	0,05	0,1
<i>C. tropicalis</i>	3,75	30	3,75	30	-	-	0,05	0,1
<i>C. glabrata</i>	3,75	30	3,75	30	-	-	0,05	0,1

Conclusion partielle 6;

C. albicans, *C. tropicalis*, *C. glabrata* ont été sensibles aux huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* et des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* avec une CMI = 3,75 mg/mL et une CMF = 30 mg/mL.

Recommandation:

✓ Utiliser les huiles essentielles des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* et des tiges feuillées de *P. ruderale* pour la recherche de traitement contre les pathologies dues à ces *Candida*.

CONCLUSION GÉNÉRALE

La présente a porté sur l'étude chimique et biologique de cinq plantes aromatiques de la flore ivoirienne, fréquemment utilisées par les populations ont été sélectionnées : *Emilia praetermissa*, *Porophyllum ruderale*, *Premna quadrifolia*, *Premna angolensis* et *Clerodendrum polycephalum*. Les huiles essentielles ont été extraites par deux méthodes : à savoir l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau. La composition chimique des huiles essentielles extraites a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse suivie de tests antioxydant et antimicrobien.

➤ *E. praetermissa*

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées et fleurs de *E. praetermissa* sont de couleurs jaune à jaune-pâle et ont des rendements respectifs selon les deux méthodes de 0,06% et 0,04%. L'huile essentielle de cette plante n'avait jusqu'à présent fait l'objet d'aucune étude sur ses constituants chimiques. L'analyse a révélé trente-deux composés pour l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et dix-huit composés pour l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau. Les deux huiles essentielles sont dominées par les composés oxygénés (33,11% - 49,63%). Les composés majoritaires sont : pour l'huile obtenue à l'hydrodistillation, le 1-undécène (25,58%), l'oxyde de caryophyllène (24,02%) et le caryophyllène (8,34%) et pour l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau l'oxyde de caryophyllène (27,74%), le 1-undécène (23,66%) et le phytol (10,82%).

Plusieurs composés se retrouvent dans les deux huiles essentielles. La somme des teneurs de ces composés identiques est de 77,28% dans l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et de 87,89% pour l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau. La comparaison de la composition chimique fait apparaître plusieurs composés généralement en faible teneur qui sont spécifiques à chaque méthode. A notre connaissance cette étude de l'huile essentielle de *E. praetermissa* est réalisée pour la première fois.

Les deux huiles essentielles ont une très bonne activité antioxydante. L'activité de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau ($CR_{50}=0,014$ mg/mL) est toutefois supérieure à celle de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation ($CR_{50}=0,026$ mg/mL).

Le screening antimicrobien avec l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des parties aériennes de *E. praetermissa* a révélé que cette huile a une activité sur la plupart des souches bactériennes et les champignons à savoir *S. aureus*, *S. epidermidis*, *K. pneumoneae*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* avec une CMI $\approx 3,75$ mg/mL.

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation aurait une plus grande sensibilité sur *S. épidermidis* (14 mm) et *K. pneumoneae* (15 mm). L'étude comparée des zones d'inhibition des huiles essentielles obtenue par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau sur ces deux souches a donné des valeurs différentes mais proches. Les huiles essentielles obtenues par ces deux méthodes ont des activités antimicrobiennes moyennes et voisines.

P. ruderale

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées et fleurs de *P. ruderale* sont de couleurs jaune et jaune-orangé et ont des rendements respectifs selon les deux méthodes de 0,23% et 0,1%. Leur analyse a révélé quinze composés pour l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et onze composés pour l'huile obtenue par entraînement à la vapeur d'eau. Les deux huiles essentielles sont dominées par les monoterpènes (72,83% - 85,89%). Les composés majoritaires sont le β -myrcène (49,58%), le β -pinène (12,96%) et le limonène (6,45%) pour l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation le β -myrcène (62,01%), le 1-undécène (9,24%), le γ -terpinène (10,99%), le β -pinène (7,42%) et le limonène (5,02%) pour l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur. Les composés identiques dans les deux huiles essentielles sont significatifs. Ils représenteraient 88,62% de la composition de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et 96,26% de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau. Des composés minoritaires sont spécifiques aux HE issues des deux méthodes. L'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur influencent la composition des HE.

L'activité antioxydante de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau ($CR_{50} \approx 0,019 \pm 0,01 \text{ mg/mL}$) est largement au-dessus de celle de l'huile obtenue par hydrodistillation ($CR_{50} = 0,084 \pm 0,01 \text{ mg/mL}$).

Le test antimicrobien a montré que l'huile essentielle de *P. ruderale* est moyennement efficace sur *K. pneumoneae*, *B. subtilis*, *S. auréus*, *S. épidermidis*, *C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. glabrata*. Elle présente par ailleurs, un effet bactériostatique avec une plus grande sensibilité sur *S. épidermidis* (24 mm) et *K. pneumoneae* (18 mm) avec une CMI $\approx 3,75 \text{ mg/mL}$. Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur de *P. ruderale* ont des activités moyennes et voisines.

P. quadrifolia

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau des tiges feuillées de *P. quadrifolia* sont de couleur jaune et ont des rendements respectifs selon les deux méthodes de 0,16% et 0,1%. L'analyse a révélé vingt-huit composés qui représentent 91,92% de l'huile essentielle

obtenue par hydrodistillation. Elle est constituée de sesquiterpènes (67,52%), de composés oxygénés (19,46%) et de monoterpènes (4,94%). Alors que l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau contient seize composés, soit environ 99,55% de l'huile essentielle dont des sesquiterpènes hydrocarbonés (77,05%), de composés oxygénés (15,62%) et de monoterpènes (6,88%).

Plusieurs composés se retrouvent dans les deux huiles essentielles. Les isomères majoritaires le caryophyllène (16,24 % - 35,84 %) et le α -caryophyllène (humulène) (12,46 % - 14,40 %), ainsi que le β -pinène (0,12 % - 0,77 %), le β -myrcène (4,69 % - 5,08 %), le D- limonène (0,13 % - 1,03 %), le α -cubébène (0,19 % - 7,58 %), le β -élémyène (5,97 % - 5,29 %), le γ -muurolène (14,75 % - 6,94 %), le α -sélinène (1,54 % - 0,47 %), le bicyclogermacrène (2,23 % - 1,18 %), le γ -cadinène (1,82 % - 1,40 %), le cadina-1(10),4-diène (4,68 % - 3,96 %), l'oxyde de caryophyllène (2,70 % - 6,32 %), le cubénol (0,71 % - 1,12 %), le α -bisabolol (5,20% - 2,94 %) et le 6, 10,14-triméthylpentadécan-2-one (4,54 % - 5,24 %) se retrouvent dans les deux huiles essentielles.

Les deux huiles essentielles présentent un bon potentiel antioxydant. Les CR_{50} sont : $CR_{50} \approx 0,029 \pm 0,01$ mg/mL pour l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau et $CR_{50} = 0,038 \pm 0,01$ mg/mL pour l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation n'a montré aucun effet sur les souches bactériennes et les champignons sauf sur *S. épidermidis* et avec une activité faible

P. angolensis

Des tiges feuillées de *P. angolensis* ont été extraites des huiles de couleur jaune avec des rendements de 0,10% pour l'hydrodistillation et 0,07% pour l'entraînement à la vapeur d'eau. L'analyse a révélé trente composés pour l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation. Ces composés constituent 94,34% de la composition totale de l'huile essentielle. Il s'y trouve des sesquiterpènes hydrocarbonés (57,65%), des monoterpènes (14,41%), des composés oxygénés (22,11%) et des alcènes en faible proportion (0,36%). Onze composés ont été identifiés dans l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles de *P. angolensis*, soit environ 98,35% de la composition totale de l'HE. Les hydrocarbures sesquiterpéniques (41,62%) et les composés oxygénés (56,73%) sont l'essentiel des composés identifiés. Des différences existent dans la composition chimique des deux HE. Cependant, des composés identiques se retrouvent dans les deux huiles essentielles. Ce sont le copaène (0,25 % - 3,44 %), le caryophyllène (16,66 % - 13,35 %), le cadina-1,4-diène (4,12 % - 3,64 %), l'oxyde de caryophyllène (2,13 % - 1,44 %), le α -cadinol (1,11 % - 30,17 %), le α -bisabolol (9,02 % - 1,64 %), le 6,10,14-triméthylpentadécan-2-one (5,13 % - 10,97 %) et phytol (2,34 % - 4,14 %).

L'HE-HD des tiges feuillées de *P. angolensis* a une bonne activité antioxydante avec la $CR_{50} = 0,008 \pm 0,01$ mg/mL. Le screening antimicrobien avec l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des tiges

feuillées de *P. angolensis* a montré que cette huile essentielle possède une faible activité sur *S. aureus* et *C. albicans* et une activité moyenne sur *S. epidermidis* et *K. pneumoneae*.

C. polycephallum

Les huiles essentielles obtenues par les deux méthodes des tiges feuillées de *C. polycephallum* sont jaune-clair et ont des rendements de 0,13% pour l'hydrodistillation et 0,08% pour l'entraînement à la vapeur d'eau. L'analyse a révélé quarante-deux composés pour l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et vingt-huit composés pour l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau.

Les deux huiles essentielles sont dominées par les sesquiterpènes (89,81% - 91,10%). Les composés majoritaires sont : le caryophyllène (30,27%), le germacrène D (23,96%) pour l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et le caryophyllène (43,69%), le germacrène D (11,65%), le β -bourbonène (6,90%), le α -humulène (5,23%) pour l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau. Neuf composés identiques qui représentent 70,35% de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et 78,22% de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau ont été notés. L'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau ont influencé la composition chimique des HE.

L'HE-HD des tiges feuillées de *C. polycephalum* a une activité antioxydante avec la $CR_{50} \approx 0,05 \pm 0,001$ mg/mL. L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des feuilles de *C. polycephalum* a montré qu'elle ne possède pas d'activité notable sur les souches testées. Toutes les zones d'inhibition sont inférieures à 11 mm.

En somme, l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur qui sont deux techniques proches donneraient des huiles essentielles différentes en générale.

Dans cette étude, un plus grand nombre de composés a été obtenu de l'huile extraite par hydrodistillation. La teneur du composé majoritaire est plus élevée dans le cas de l'entraînement à la vapeur d'eau lorsqu'il est le même dans les deux méthodes.

L'activité antioxydante est toujours plus forte pour les huiles obtenues à l'entraînement à la vapeur d'eau. Quant à l'activité antimicrobienne, elle se situe dans le même intervalle pour les deux méthodes.

PERSPECTIVES

Le présent travail est d'abord une contribution à la constitution de base de données sur les plantes médicinales en vue de compléter la pharmacopée ivoirienne, ensuite il aide au choix de la méthode d'extraction pour un usage optimal des huiles essentielles en fonction de leur efficacité. Cette étude n'est donc pas achevée, elle est à poursuivre et à renforcer.

En perspectives, nous envisageons :

- confirmer si possible la méthode d'extraction adaptée aux usages thérapeutiques des huiles essentielles ;
- vulgariser la méthode la plus adaptée à l'extraction des huiles essentielles pour des usages thérapeutiques ;
- Faire une étude de variabilité des huiles essentielles issues des différentes parties (feuilles, tiges et fleurs) des plantes et étendre l'étude sur d'autres sites géographiques afin de déterminer le chémotype de ces huiles essentielles ;
- étendre cette étude à d'autres plantes aromatiques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abrassart J.L.** (1997). Aromathérapie essentielle : huiles essentielles : parfums pour le corps et l'âme. *Éditions Guy Trédaniel*, paris, 271p.
- Adams R.P.** (1995). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. *All. Pub. Cor.*, Carol Stream, Illinois. Edition:2, 469 p.
- Adegoke E.A., Akinsanya A., Naqui S.H.Z.** (1968). Studies of Nigerian medicinal plants 1. A preliminary survey of plant Alkaloid. *J. West Af. Sci. Ass.* (13), 13-33.
- Adjalian E., Sessou P., Odjo T., Figueredo G., Kossou D., Avlessi F., Menut C., and Sohounhloué D.** (2015). Chemical composition and insecticidal and repellent effect of essential oils of two *Premna* species against *Sitotroga cerealella*. *J. of Ins.* (2015), 1-6.
- Afolayan C.O, Onifade A.K. et Akindele P.O.** (2017). Antimicrobial Activity of *Emilia pratermissa* Leaf Extracts on Organisms Isolated from Patients with Otitis Media Attending Federal Medical Centre Owo and Ondo States Specialist Hospital Akure. *Mic. Res. J. Int.*, 19(1), 1-8.
- Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS)**, (2008). Recommandation relatives aux critères de qualité des huiles essentielles, contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles, *Col. Rec.*, p17.
- Akintayo L.O., Olamidisun A.O., Isiaka A.O., Moses S.O.** (2016). Chemical Composition of Essential Oil from the Leaves of *Clerodendrum polycephalum Baker* growing in Nigeria. *J. ess.oil-be. Plan.*, 19(1), 119-124.
- Amole O.O., Ishola I.O., Akinyede A.A., Adewale M.T.** (2018). Anti-Nociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Hydroethanolic Extract of the Leaf of *Clerodendrum polycephalum* (Lamiaceae). *Int. J. Life. Sci. Scienti. Res.*, 4(4), 1863-1871.
- Anaka O. N., Owolabi O. J. et Emenike C. F.** (2013). Anti-hyperlipidemic effect of aqueous leaf extract of *Emilia praetermissa* milne-redh (Asteraceae) in rats. *Int. J. Bio*, 3(5), 68-77.
- Andrade A.C.M., Rosalen P.L., Freires I.A., Scotti L., Scotti M.T., Aquino S.G., Dias de Castro R.**, (2018). Activité antifongique, mode d'action, prédiction d'amarrage et effets anti-biofilm des énantiomères (+)- β -pinène contre *candida spp.* *Curr Top Med Chem* 18 (29) : 2481 – 2490.
- Angiosperm Phylogeny Group (APG)**. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants, APG III. *Bot. J. Lin Soc.*, 161(2), 105-121.
- Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A. et Witier P.** (1995). Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. *Mass.*, Paris : 700p.

- Avlessi F., Alitonou G.A., Djenontin T S., Tchobo F., Yèhouéno B., Menut C. & Sohounhloué D.** (2012). Chemical composition and Biological activities of the Essential oil extracted from the Fresh leaves of *Chromolaena odorata* (L. Robinson) growing in Benin. *I. J. Bio. Sci.*, 1(3), 7-13.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M.** (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chem. Tox.*, (46), 446-475.
- Baudoux D.** (2000). L'aromathérapie : Se soigner par les huiles essentielles. *1e éd. Biarritz : At.*, 223 p.
- Bedi G., Tonzibo Z.F., Chalchat J.C. & N'Guessan Y.T.**, (2001). Composition chimique des huiles essentielles de *Chromolaena odorata* L. King Robinson (Asteraceae) Abidjan Côte d'Ivoire. *J. Soc. Ou. Af. Chim.*, (11), 29-37.
- Benov L. et Georgeiv N.** (1994). The antioxidant activity of Flavonoids Isolated from *Corylus colurna*. *Phyt. Res.*, 8(2):92-94.
- Berghe V.D.A., Vlietinck A.J.** (1991). Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Methods in plant biochemistry*. Hostettman, K Ed., *Lon.: Aca. press.*
- Blois M.** (1958). Antioxydant determinations by the use of a stable free radical. *Journal Nature*, 181: 1199 -1200.
- Bocchio E.** (1985). Hydrodistillation des huiles essentielles: théories et applications. *Parf., cos., ar.*, 63: 61-62.
- Bolza, E. & Keating, W.G.** (1972). African timbers: the properties, uses and characteristics of 700 species. *Div. Buil. Res.*, 710 p.
- Boti J.B.** (2004). Contribution à la caractérisation de plantes aromatiques de Cote d'ivoire et de corse ; apport de la RMN du carbone-13 à l'analyse d'huiles essentielle et d'un extrait. Thèse de Doctorat, Abidjan, 223 p.
- Boyd B., Ford C., Koepke M. C., Gary K., Horn E., Mcanalley S. et Mcanalley B.** (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyc. and nut.*, 4(6) : 7.
- Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S., et J. Abrini J.** (2006). *Thymus* essential oils: chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities. *Bio., Sub. Nat. et env.*, 324-327.
- Bouquet A. et Debray M.**, (1974). Plantes médicinales de la Côte d'Ivoire. ORSTM, Paris, (32) : 231p.
- Bradesi P., Tomi F. et Casanova J.** (1994). Identification of dihydrocarveol stereoisomers and their acetates using carbon-13 NMR, spectroscopy. *Spec. Let.*, (27): 921-933.
- Bradesi P., Bighelli A., Tomi F., Casanova J.** (1996). L'analyse des mélanges complexes par RMN du carbone-13 –Partie 1. *Can. J. Appl. Spectrosc.*, 41(1), 15-24.

- Bradesi P., Bighelli A., Tomi F., Casanova J.** (1996). L'analyse des mélanges complexes par RMN du carbone-13 –Partie 2. *Can. J. Appl. Spectrosc.*, 41(2), 41-50.
- Braga P.C., Sasso M.D., Font E. and Culici M.**, (2009). Antioxydant activity of bisabolol : inhibitory effects on chemiluminescence of human neutrophil bursts and cell-free systems. *Pharm.*, 83(2) : 110 – 5.
- Brenes A. et Roura E.** (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action, *Anim. Fe. Sci. and Tech.*, (158), 1-14.
- Briquet J.I.** (1895). Clerodendrum. In: Verbenaceae in: *Die Nat. Pf., Ver. Wil. Eng.*, Leipzig, Germany,4(3a), 174-176.
- Bruneton J.** (1993). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. *Tec & Doc. Lavoisier*, Paris, 2^{ème} édition, 915p
- Bruneton J.** (1999). Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales, 3^{ème} édition. *Lavoisier, Techniques et Documentations*, Paris, 1120p.
- Bruneton J.** (2009). Pharmacognosie : Phytochimie. *Plantes médicinales*. 4e éd. Paris,1269p.
- Bruneton J.** (2016) pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale. (5^{ème} éd.) paris éditions médicales internationales, Ed. TEC et DOC Lavoisier
- Bülöw N. and König W.A.**, (2000). The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis : investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. *Phyt.*, 55(2) : 141 – 168.
- Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.L.** (2000). Biochemistry & Molecular Biology of plants. A. S. *pl. Phys.*, Rockville, 1367p.
- Burkil H.M.** (2000). The useful plants of West Tropical Africa. *Roy. Bot. Gard., Kew*, United Kingdom, (5), 686p.
- Burkill H.M.** (1985). The useful plants of West Tropical Africa. *Ed. 2. Roy. Bot. Gard.; Kew*,960p.
- Burkil H. M.** (1985) .The useful plants of West Tropical Africa (5). *Roy. Bot. Gard.; Kew*.
- Burt S.** (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. a review. *Int. J. F Micr.*, (94), 223-253.
- Buronzo A.** (2008). Grand Guide des Huiles Essentielles: Santé, Beauté, Bien être; *Ed : Hachette Pratique*, 254p.
- Calleja M.A., Vieites J.M., Meterdez T.M., Torres M.I., Faus M.J., Gil A.and Suarez A.** (2013).The antioxidant effect of β -caryophyllene protects rat liver from carbon tetrachloride-induced fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation. *Brit. J. Nut.* 109, 394–401.
- Cateni F., Falsone G., Zilic J., Bonivento P., Zacchigna M., Zigon D.** (2004). Glycerolipids from *Euphorbia nicaeensis*, all with anti-inflammatory activity. *Ark.*, 54-65.

- Chanotiya C.S., Yadav A.K., Singh A.K. (2009).** Leaf oil composition of *Premna barbata* Wall. ex Sch. from Kumaon region of Uttarakhand. *J Essent Oil Res.* (21), 76–77.
- Chassaing V. (2006).** L’Aromathérapie: les huiles essentielles au service du cheval; Ed: *Violaine Chassaing*, 4- 8.
- Chase M. W. et Reveal J. L. (2009).** A phylogenetic classification of the land plants to accompany, APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* (161), 122-127.
- Chemat F. (2011).** Eco-extraction du végétal procédés innovants et solvants alternatifs. *Dunod*, Paris: 336p.
- Christopher R. K., Anne B. and Bo T., (2002).** Edible wild plants of Tanzania. *Regional Land Man. U.*; Nairobi. ISBN :9966-896-60-0
- Chung K.F., Ku S.M., Kono Y. et Peng C.I. (2009).** *Emilia praetermissa* Milne-Redh. (Asteraceae) – A Misidentified Alien Species in Northern Taiwan. *Taiw.*, 54(4), 385-390.
- Ciftci O, Ozdemir I, Tanyildizi S, Yildiz S, Oguzturk H., (2011).** Antioxidative effects of curcumin, β -myrcene and 1,8-cineole against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced oxidative stress in rats liver. *Tox. Ind Health.* 27(5):447-53. doi: 10.1177/0748233710388452.
- Clarke S. (2008).** Essential oils; Ed 2: *Chur. Liv., Els.*; 42- 77.
- Coleman II W.M., Gordon B.M., Lawrence B.M. (1989).** Examinations of the matrix isolation fourier transform infrared spectra of organic compounds: part XII. *App. Spect.*, 43(2), 298-304.
- Conde-H. L.A., Guerrero-B. J.A. (2014).** Total phenolics and antioxidant activity of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale*. *Food Chem*, (142), 45-60.
- Constantin E. (1996),** Spectrométrie de masse. *Lavoisier Tec & Doc*, Paris, 1-14.
- Couic-Marinier F., Lobstein A. (2013).** Composition chimique des huiles essentielles. *Act. phar.*, 52(525) : 22-25.
- Cox S.D., Man C.M0, Markham J.L. (2001).** Interaction between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. App. Micr.*, (91), 492-497.
- Dahaham S.S., Tabana Y.M., Iqbal M. A, Ahmed M.B.K, Ezzat M.O, Majid A.S.A, Majid A.M.S.A., (2015).** The anticancer, antioxydant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. *Mol.*, 20(7) : 11808-29
- Dai C., Xu L., Zhang X., Chen G. (2010).** Chemical constituents from the root of *Premna hainanensis*. *Hai. Shi. Dax. Xu., Zir. Kex.*, (23), 66–67.
- Daouda T. (2015).** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire. Chimie organique. Thèse de Doctorat, 154p.
- De Hoffmann E., Charette J., Stroobant V. (1999).** Spectrométrie de Masse. 2^e édition, *Librairie Dunod*, Paris.

- De la Compagnie des sens et De la Charlie T.**, (2019). Se soigner par les huiles essentielles : pourquoi et comment ça marche ? *Rocher*, 526 p.
- Delaquis P.J., Stanich K., Girard B. & Mazza G.** (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. F. Micr.*, (74), 101-109.
- Deschamp S.** (1990). 60 huiles essentielles de plantes. *Éditions Arys. vi Nat., HS 17 nationales*, Paris.
- Deschepper R.**, (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. THESE de Doctorat de l'Université d'Aix-Marseille, Faculté de Pharmacie :172 p.
- Deji-Agboola A.M., Olajubu F.A., Adeboyejo K.A., Onakalu O.O., Effedua H.I., Hassan G.O., Ojo M.O.** (2009). In vitro Antimicrobial Activity of *Clerodendron Polycephalum* against Clinical Bacterial Isolates. *Niger. Med.Pract.*,55(3).
- De Kok R.** (2013). The genus *Premna L.* (Lamiaceae) in the Flora Malesiana area. *Kew Bull.*, (68),1–30.
- Dorman H.J. et Deans S.G.** (2000). Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatils oils. *J. of App. Mic.*, (88), 308-316.
- Fauchère J.L.** (2002). Bactériologie générale et médicale. *Ellipses* ; 365p.
- Favier A.** (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *act. chim.*, 108-115.
- Ferhat M.A., Boukhatem M.N., Hazzit M., Chemat F.**, (2016). Rapid extraction of volatile compound from citrus fruits using a microwave dry distillation. *J. fundam. App. sci.*, 8(3) ; 753-781.
- Fernandes, R.** (2005). Lamiaceae. In: *Pope, G.V. & Martins, E.S., Flora Zambesiaca*, 8(7), 61–153.
- Figueredo G.** (2007). Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'organes (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de Doctorat, Clermont-Ferrand II, 417p.
- Fischer N., Nitz S., Drawert F.** (1987). Original flavour compound and the essential oil composition of marjoram (*Majorana hortensis* moench). *Fla. and frag. J.*,2 (2): p55-61.
- Fonseca M. C. M., Meira R. M. S. A., et Casali, M. D. V.** (2006). Anatomie d'organes végétatifs et histolocalisation des lipides et des composés phénoliques dans *Porophyllum ruderale* (Asteraceae). *Pl. Dan.*, 24(4), 707-13.
- Fonseca M. C.M., Barbosa L. C.A., Nascimento E. A., Casali V. W.D.** (2006). Essential Oils from Leaves and Flowers of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cassini (Asteraceae); *J. of Ess.*, (18).
- Formáček V., Kubeczka K.H.** (1982). ¹³C NMR analysis of essential oils. In: aromatic plants: basic and applied aspects. *Mart. Nij.Pub.*, La Haye, 177-181.

- Formáček V., Kubeczka K.H.** (2002). Juniper berry oil, essential oils analysis by capillary gaz chromatography and ¹³C NMR spectroscopy. *2nd Ed. Wiley*, NewYork, 480p.
- Foti M.C., Ingold K.U.**, (2003). Mechanism of inhibition of lipid peroxidation by gamma-terpinene, an unusual and potentially useful hydrocarbon antioxidant *J Agric Food Chem* ;51(9):2758-65. doi: 10.1021/jf020993f.
- Franchomme P., Pénoël D. et Jollois R.** (1990). L'aromathérapie exactement –Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. *Éd. Jol.*, 445 p.
- Franchomme P., Jollois R., Penoel D.** (2007). L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. *1e éd. Paris : Roger Jollois*, 490 p.
- Frangiote-Pallone, S., et De Souza, L. A.** (2012). Ontogenia del pappus y Cipsela en Asteraceae: las consideracionese estructurales de la Categoría tribale. Departamento de Biología, Universidad e Estadual de Maringá.
- Frangiote-Pallone S. et De Souza L. A.** (2014). Pappus and cypsel aontogeny in Asteraceae: structural considerations of the tribal category. *Rev. Mex. de Bio.*,85(1), 62-77.
- Futura Santé.** (En ligne, visitée le 22/10/2020). *Klebsiella pneumoniae*. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-klebsiella-pneumoniae-15434/>
- Gabrielle M.L., Rangel R.B., Mônica R.S., Sara M.T., Márcio R.V.S., Lucindo J.Q.J., Leonardo R.B. et Adriano A.S.A.** (2011). Assessment of antinociceptive and antiinflammatory activities of *Porophyllum Ruderale* aqueous extract. *Rev. Bra. de Farm.* 21(3), 486-490.
- Gallily R., Yekhtin Z., and O Hanus L.O.** (2018). The Anti-Inflammatory Properties of Terpenoids from Cannabis. *Can. and Can. Res.*. 3 (1)1, DOI: 10.1089/can.2018.0014.
- Giannenas I., Florou-Paneri P., Papazahariadou M., Christaki E., Botsoglou N.A. et Spais A.B.** (2003). Effect of dietary supplementation with 56 oreganos essential oil on performance of broilers after experimental infection with Eimeria Tenella. *Ar. für Tier.*, 57 (2), 99-106.
- Girardi C., Butaud J.F., Ollier C., Ingert N., Weniger B., Raharivelomanana P., Moretti C.** (2015). Herbal medicine in the Marquesas Islands. *J. Ethn.*, (161), 200–213.
- Global Plants.** (En ligne) (consultée le 15/04/2020). *Clerodendrum polycephalum* Bak. [famille LABIATAE]). AdresseURL : https://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.ap.upwta.5_454
- Gomes P.B., Mata V.G. et Rodrigues A.E.** (2007). Production of *rose geranium* oil using supercritical fluid extraction. *J. of Sup. Fluid.*, (41): 50-60.
- Golmakani M.T., Rezaei K.** (2008). Comparison of microwave-assisted HD with the traditional HD method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *F. Chem.*, (109): 925-930.

- Gonny M., Bradesi P. et Casanova J.** (2004). Identification of the components of the essential oil from Corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. *F. and Frag. J.* 19: 424-433.
- Grait S., Amamra S.** (2014). Etude du pouvoir antioxydant d'une plante médicinale (*Urginea maritima* L.). Mémoire Master, Université Ferhat ABBAS Sétif 1, 70p.
- Grundschober F.** (1991). The identification of individual components in flavouring and flavoured foods. *Z. Lebensm. Unters. Forsh.* (192), 530-534.
- Gunawan I.W.G., Putra A.A.B. and Widihati I.A.G.,** (2016). The Response to oxidative stress α -Humulene Compounds Hibiscus manihot L Leaf on the Activity of 8-Hydroxy-2-Deoksiquanosin Levels Pancreatic β -Cells in diabetic Rats. *Bio. & Pharm. Jour.*, 9(2) : 433-441.
- Harley R.M., Atkins S., Budantsev A.L., Cantino P.D., Conn B.J., Grayer R., Harley M.M., de Kok R., Krestovskaja T., Morales R.** (2004). The Families and Genera of Vascular Plants. Flowering plants, Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae) Labiales. *In: Kub. K, Kad. JW*, (7), 167–275.
- Haston E., Richardson J. E. et Stevens P. F.** (2009). The linear angiosperm phylogeny group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. *Bot. J. Linn. Soc.*, (161), 128-131.
- Hawthorne S. B., Rickkola M. L., Screnius K., Holm Y., Hlitunen R. et Hartonen K.** (1993). Comparison of hydrodistillation and supercritical fluid extraction for the determination of essential oils in aromatic plants. *Jour. of Chrom. A*, 634 (2), 297-308.
- Henry O. Egharevba, Jemilat A., Ibrahim, Grace E.** (2015). Phytochemical, Pharmacognostic and Microscopic Analyses of the Leaves of *Clerodendrum Polycephalum* Baker. *J App Pharm Sci*, 5 (07), 60-63.
- Hernandez O. L. R.** (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine «solvant/actif» d'origine végétale. Thèse doctorat, Institut National Polytechnique, Toulouse : 225p.
- Ho Jin J., Lee D-U., Kim Y.S and Kim H.P.**(2011). Anti-allergic activity of sesquiterpenes from the rhizomes of *Cyperus rotundus*. *Arch. Pharm. Res.*, 34 (2) :223-8.
- Hornback J.M.,** (2005). Organic chimistry. *Brooks/Cole*, 2è éd. 1290p.
- Huang D., Ou B., Prior R. L.** (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agri. and F. Chem.*, (53), 1841-1856.
- Huie C.W.** (2002). A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Anal. Bio. Chem.*, (373): 23-30.
- Hymavathi A., Suresh Babu K., Naidu V.G.M., Rama Krishna S., Diwan P.V.** (2009). Bioactivity-guided isolation of cytotoxic constituents from stem-bark of *Premna tomentosa*. *Bioorg Med Chem Lett.*, (19), 5727–5731.

- Iraji A., Yazdanpanah S., Alizadeh F., Mirzamohammadi S., Ghasemi Y., Pakshir K., Yang Y., Zomorodian K.**, (2020). Criblage des activités antifongiques des monoterpènes et de leurs isomères contre les espèces de *Candida*. *J.Appl.Microbiol.* 129(6) : 1541 – 1551.
- Inoue Y., Shiraishi A., Hada T., Hamashima H.**, (2004). The antibacterial effects of myrcene on *staphylococcus aureus* and its role in the essential oil of the tea tree (*Melaleuca alternifolia*).
<https://www.researchgate.net>.
- IUPAC.** (1997). Compendium of Chemical Terminology, 2^e édition (le Livre d'or). *Wil., Black. Sci. Pub.*, Oxford. 108p.
- Iwai H., Matsubara T, Kawamoto Y., Suetsugu T.**, (2014). Conversion of food nutrition into more valuable aroma under hydrothermal conditions. *J. food and nut. Res.*, 2 (10) : 718 – 721.
- Jean-Pierre W.** (2002). Les Huiles essentielles : médecine d'avenir. *Éditions du Dauphin*, Paris, 314 p.
- Jean Y.H.L., Ian R.M., Anders G. da S., Torsten S., Kyra Y.L.C., Angela K., Robert H., Neil W., Mette D.B., Birgit S., Frederic L., Magali D., Ariane D., Robin P., Anders R.L., Tony M. K., Timothy P.S. et Benjamin P.H.** (2018). Global spread of three multidrug-resistant lineages of *Staphylococcus epidermidis*. *Nat Mic.*3(10): 1175-1185
- Jennings W., Shibamoto T.** (1980). Qualitative analysis of flavour and fragrance volatiles by glass-capillary gas chromatography, Ed. Jovanovitch H.B., *Academic Press*, New-York.
- Jessop P.G.** (1998). Homogeneously-catalyzed syntheses in supercritical fluids. *Top. in Cat.*, (5) : 95-103.
- Johnson D. E.** (1997). Les adventices en riziculture en Afrique de l'Ouest. *ADRAO, Imprint Design. United Kingdom*, 312 p.
- Jouhannau D.G.** (1991). La médecine des plantes aromatiques: Phyto-aromathérapie et les huiles essentielles de l'océan indien. *Azalées Editions*, St Denis, 153p.
- Joulain D.** (1994). Modern methodologies applied to the analysis of essential oil and other complex natural mixture: *use and abuse, Perf & Flav.*, (19), 5-17.
- Joulain D., König W.A.** (1998). The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons, *Ed. E.B.-Verlag*, Hambourg.
- Julien P.** (2005). Caractérisation des huiles essentielles par CPG/IR, CPG/SM-(IE et IC) et RMN du carbone-13 de *cistus albidus* et de deux asteraceae endémiques de Corse : *eupatorium cannabinum* subsp. *Corsicum* et *doronicum corsicum*. Thèse de doctorat, 343p.
- Kalemba D. & Kunicka A.** (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.*, (10), 813-829.

- Kambiré D. A.** (2019). Contribution à la caractérisation chimique de deux plantes aromatiques et médicinales de Côte d'Ivoire : *Laggerapterodonta* et *Isolonadewevrei* - Étude des huiles essentielles et d'un extrait à l'hexane. Thèse de doctorat de l'Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan. 269p.
- Katekhaye S.D., Mulik M.B. et Laddha K.S.** (2012). Identification of constituents of the essential oil isolated from leaves of *Clerodendrum phlomidis* linn. by GC-MS. *Int. jour. of phyt. Res.*, 2(1), 27-34.
- Kissmam K. G. et Groth, D.** (1999). Plantas infestantes e nocivas. *Tomo II. 2. ed. São Paulo: Basf*, 420p.
- Klauke A.L., Racz I., Pradier B.** (2014). The cannabinoid CB2 receptor-selective phytocannabinoid beta-caryophyllene exerts analgesic effects in mouse models of inflammatory and neuropathic pain. *Eur. Neuropsych.*, 24(4), 608-620.
- Kolter T., Sandhoff K.** (1999). Sphingolipids - their metabolic pathways and the pathobiochemistry of neurodegenerative disease. *Angew Chem Int Ed.*, (38), 1552–1568.
- König W.A., Hochmuth D.H., Joulain D.** (2001), Terpenoids and related constituents of essential oils. University of Hamburg, Hamburg.
- Konjufca V.H., Pesti G.M. et Bakalli R.I.** (1997). Modulation of cholesterol level in broiler meat by dietary garlic and copper. *Poult. Sci.*, (76), 1264-1271.
- Kramer S.N.** (1994). L'histoire commence à Sumer. *Éditions Flammarion*, Paris, 316 p.
- Konan N. S.** (2009). Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A.Rich (Annonaceae) et de *Zingiber officinalis* Roscoe (Zingiberaceae). Mémoire de DEA, Abidjan (Côte d'Ivoire), 50-51.
- Konan N. S.** (2015). Composition chimique et étude comparative des activités anti-oxydante et antibactérienne des huiles essentielles extraites de 3 plantes de la famille des Asteraceae de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat, 130p.
- Koné Y., BOUA B B., OUATTARA Z., MAMYRBEKOVA-B. J.A., BEKRO Y-A.** (2019) : Influence de la floraison sur la composition chimique et l'activité anti sinusite de l'huile essentielle des feuilles de *Diphasia klaineana* Pierre (Rutaceae) de Côte d'Ivoire. *J. of Appl. Biosci.* (135): 13742 – 13749.
- Kouadio A. T. G.** (2021). Etude phytochimique et antioxydante des alcaloïdes de *Crinum jagus* L. (Amaryllidaceae) de Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat ; Université Nangui Abrogoua-Abidjan, 145p.
- Kouamé-Bi K.F.P.** (2012). Valorisation de quatre plantes médicinales Ivoiriennes : étude phytochimique. Thèse de doctorat, chimie organique, Université de Nantes et de l'Université de Cocody-Abidjan. 180p.

- Kovats E.** (1958). Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil 1: Retentions indices aliphatischer halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone. *Hel. Chim. Act.* 41(7).
- Kováts E.** (1965). Gas Chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Ad. in Chrom.*, 229-247.
- Kubeczka K.H., Schultze W., Formáček V., Herres W.** (1988). New developments in essential oils analysis by Fourier-Transform spectroscopy. *Ed. Els. Sci.*, 931-950.
- Lahlou M.** (2004). Methods of Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential oils; *Phyt. Res.*, (18), 435- 448.
- Lambert R.J., Skandamis P.N., Coote P.J. & Nychas.** (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. of App. Mic.*, (91), 453-462.
- Lamien-Meda A., Lamien C.E., Compaoré M.M.Y., Meda R.N.T. et Kiendrebeogo M.** (2008). Polyphenol content and antioxidant activity of fourteen wild edible fruits from Burkina Faso. *Mol.*, (13), 581-594.
- Leite A.M. ; Lima E.O. ; Leite de Souza E. ;Diniz M.F.F.M. ; Trajano V.N. ; Almeida de Medeiros I. ;** (2007). Inhibitory effect of β -pinene, α -pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. *Braz. Jour. of Pharm. Sci.* , 43(1) : 122-126.
- Lirio S.B., Macabeo A.P.G., Paragas E.M., Knorn M., Kohls P., Franzblau S.G., Wang Y., Aguinaldo M.A.M.** (2014). Antitubercular constituents from *Premna odorata* Blanco. *J Eth.*, (154), 471–474.
- Lardry J.M., Haberkorn V.** (2003). Les formes galéniques destinées à l’usage externe. *Kinésithérapie, Les Annales*, 16, 21-25.
- Lardry J.M., Haberkorn V.** (2007). L’aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev*, 61: 14-17.
- Lee K.H., Huang E.S., Pagana J.S. et Geissman T.A.** (1971). Cytotoxicity of sesquiterpenes lactones. *Cancer Research*, (31), 1649-1654.
- Li G.X., Liu Z.Q.** (2009). Unusual antioxidant behavior of alpha- and gamma-terpinene in protecting methyl linoleate, DNA, and erythrocyte. *J Agric Food Chem.*57(9):3943-8. doi: 10.1021/jf803358g
- Lisowski S.** (1997). Le genre *Emilia* (Cass.) Cass. (*Asteraceae*) dans la Flore de Guinée (Afrique occidentale). *Bull. Jard. Bot. Nat. Belg.* (66): 201-206.
- Liu K., Tomi F.** (2008). La RMN du carbone-13, outil d'analyse. Etude phytochimique de *Clinipodium ascendens*, *Bupleurum fruticosum* et *Santolina corsica*. Thèse doct. Université de Corse, 257p.
- Longevialle P.** (1981). Spectrométrie de masse des substances organiques. *Masson*, Paris : 208p.

- Lovett J.C., Ruffo C.K., Gereau R.E. et Taplin J.R.D.** (2006). [en ligne] . Field guide to the moist forest trees of Tanzania. <http://celp.org.uk/projects/tzforeco/>.
- Loayza L., Walter G., Lorenzo D.; Dellacassa E., Mondello L., Dugo G.** (2000). Composition of the essential oil of *Pororophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. From Bolivia. *Flav. and Frag. J.*,14(6); p393-398.
- Lucchesi M. E.** (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse doctorat, université de la Réunion : 147p.
- Mabberley D.** (2008). Mabberley's plant-book. A portable dictionary of plants, their classifications, and uses. *Camb. Uni. Press.*
- Mancini F.** (2006). Traitement des déchets issus de la biomasse pour la génération d'énergie. Thèse de doctorat, université Bordeaux I, 129p.
- Mann J.** (1987). Secondary metabolism. *Second edition, Clarendonpress, Oxford*,374p.
- Marc F., Davin A., Deglène B. L., Ferrand C. et al.** (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Erudit M/S, médecine sciences*, (20), 458-463.
- Marie P., Arnaud V. H.** PLANTES, Encyclopædia Universalis [en ligne], (consulté le 3 mars 2020). URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/plantes/>
- Marinier F.C.** (2009). Huiles essentielles : l'essentiel (Conseils pratiques en aromathérapie pour toutes la famille au quotidien, autoédition.
- Marrouf A. et Tremblin G.** (2009). Abrégé de biochimie appliquée. *EDP sciences. Collection Grenoble sciences*: 334p
- Masada Y.** (1976). Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry. *Ed. John Wiley & Sons, New-York.*
- Matasyoh J.C ; Joyce J. Kiplimo J.J. ; Karubiu N.M ; Tiffany P. Hailstorks T.P. ;** (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Satureja biflora* (LAMIACEAE). *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*21(2) :249-254.
- Mbosso E.J.T., Nguedia J.C.A., Meyer F., Lenta B.N., Ngouela S., Lallemand B., Mathieu V., Van A. P., Njunda A.L., Adiogo D.**(2012). Ceramide, cerebroside and triterpenoid saponin from the bark of aerial roots of *Ficus elastic* (Moraceae). *Phyt.*, (83), 95-103.
- Mc Lafferty F.W., Stauffer D.B.** (1989). The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data. 1-7. *A Wiley-Int. Pub., J. W.S, New York*
- Mc Lafferty F.W., Michnowicz J.A.** (1992). State-of-the-art GC-MS. *Chemtech.*, 182-189.
- Mc Lafferty F.W., Tureček F.** (1993). Interpretation of mass spectra. *Fourth edition, University Science Books, Sausalito, California.*
- Mc Lafferty F.W., Stauffer D.B.** (1994).Wiley Registry of Mass Spectral Data. *6th ed. Mass spectrometry library search system Bench Top/PBM, version 3.10 d. Palisade Co., Newfield.*

- Meyer-Warnod B.** (1984). Natural essential oils: extraction processes and applications to some major oils, *Perf. & Flav.* (9): 93-103.
- Milojevic S.Z., Stojanovic T.D., Palic R., Lazic M.L. et Veljkovic V.B.** (2008). Kinetics of distillation of essential oil from comminuted *ripe juniper (Juniperus communis L.)* berries. *Bio. En. J.*, (39): 547-553.
- Mims C. A., Playfair J. H. L.** (1993). Medical Microbiology. *Mosby-Year Book*.
- Mojisola C. Cyril-Olutayo, Francis A., Adewoyin and Ayodele O. O.** (2018). Evaluation of the Effects of *Clerodendrum polycephalum Baker* Leaf Extracts on Sickle Red Blood Cells. *Eur. J. of Med. Plant.*, 24(1).
- Mukhopadhyay M.** (2000). Natural extracts using supercritical carbon dioxide. *CRC Press, USA*, 360p.
- Munir A.A.** (1984). A taxonomic revision of the genus *Premna L.* (Verbenaceae) in Australia. *Ad. Bot Gard.*, (7), 1–44.
- Muñoz J.E., Rossi D.C.P., Jabes D.L., Barbosa D.A., Cunha F.F.M., Nunes L.R., Arruda D.C., Tabora C.P.** (2020). In Vitro and In Vivo Inhibitory Activity of Limonene against Different Isolates of *Candida spp.* *J. F.* 6(183) : 12p.
- Narayan V.L et Muthana M.S.** (1953). Essential oil from *Premna tomentosa*. *J Ind. Inst Sci.*, (35), 55–67.
- National Institute of Standards and Technology (NIST).** (1999). PC Version 1.7 of the NIST/EPA/NIH. *Mass Spectral Library*, the Perkin Elmer Corporation.
- Neija H.** (2013). Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂ supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse doctorat, Université de Toulouse, 193p.
- Ndji O. G. L., Amang A. P., Mezui C., Nkwengoua Z. E., Enow-Orock E. G., Tan P. V. et Nyasse B.** (2017). Toxicological Studies of Ethanolic Extract of *Emilia praetermissa* Milne-Redh (Asteraceae) in Rats. *J. Ad. Bio. Bio.*, 11(4), 1-14.
- National Institutes of Health (NIH).** (En ligne). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Nobrega J.R., Silva D.F., Junior F.P.A., Sousa P.M.S., Ramalho de Figueiredo P.T., Cordeiro L.V. et Lima E.O.**, (2021). Action antifongique du α -pinène contre *candida spp.* Isolé chez patients atteints d'omycose et effets de son association avec l'acide borique. *Nat Prod Res.* 35 (24).
- Olmstead R.** (2010). (en ligne). A synoptical classification of the Lamiales.: https://myplant.org/sites/default/files/lamiales_classn.v.2.2_0.pdf.
- Olmstead R.** (2012). (en ligne). A synoptical classification of the Lamiales. <https://depts.washington.edu/phylo/Classification.pdf>.
- OMS.** (2013). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. *Catalogage à la source: Bibliothèque de l'OMS*, 72p.

- Ouattara Z. A. (2012).** Contribution de la RMN¹³C à la Caractérisation des Huiles Essentielles de Cinq Annonacées Acclimatées en Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat, 225p.
- Oussou K.R. (2009).** Etude chimique et activité biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Thèse de Doctorat, Abidjan, 241p.
- Oussou K.R., Youlou S., Kanko C., Tue Bi B., Kanko C., Boti J.B., Ahibo C. & Casanova J. (2010).** Etude Chimique Bio-Guidée de L'huile Essentielle de *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae). *E. J. Sci. Re.*, (1), 50-59.
- Pacchioni I. (2014).** Aromatherapia : Tout sur les huiles essentielles. Paris. **Aroma Thera**, 351 p.
- Pandey R., Kalra A., Tandon S., Mehrotra N., Singh H.N. et Kumar S. (2000).** Essential oil compounds as potent source of nematocidal compounds. *Journ. Phyt.*, (148), 501-502.
- Pénoël D. (1999).** Aromatherapy: for health professionals Ed 2. *Churchill Livingstone, Elsevier*, 8-33.
- Perry LM, Metzger J. (1980).** Medicinal plants of East and Southeast Asia. Attributed properties and uses. *The MIT Press*. Cambridge Massachusetts.
- Pharmacopée Européenne. (2011).** 7^{ème} édition « Direction Européenne de la qualité du médicament et soins de santé ». Supplément 7.3, Conseil de l'Europe: 598p.
- Pibiri P. (2005).** Assainissement microbiologique de l'air et de systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, Suisse, 161p.
- Pierron C. (2014).** Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs. Thèse de doctorat, Lorraine.
- Poux M., Cagnet P. et Gourdon C. (2010).** Génie des procédés durables-Du concept à la concrétisation industrielle, Technique et Ingénierie, *Dunod/L'Usine Nouvelle*, Paris: 492p.
- Quattrocchi U. (2012).** CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants. *Boca Rotan Florida: Tay Fr. Group*, (3).
- Raggi L., CordeiroI., MorenoP.R.H, and Young M.C.M. (2014).** Essential oil composition from *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subspecies, cultivated in two biogeographically different regions, Brazilian Cerrado and Atlantic Rain Forest. *P. Med.*, 80(16).
- RaggiL., Young M.C.M, Cordeiro I and Moreno P.R.H. (2014).** Differentiation of two *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subspecies by the essential oil composition. *J. Es. O. Res.*, 27 (1), 30-33.
- Rahman A., Shanta Z.S., Rashid M.A., Parvin T., Afrin S., Khatun M.K., Sattar M.A. (2011).** In vitro antibacterial properties of essential oil and organic extracts of *Premna integrifolia* Linn. *Arabian J. Chem.* (9), 475–479.
- Ramak P., Osaloo S.K., Sharifi M., Ebrahimzadeh H., (2014).** Biosynthèse, régulation et propriétés des monoterpénoïdes végétaux. *Journal de recherche sur les plantes médicinales* 8(29) : 983-991.

- Ramos F., Takaishi Y., Kawazoe K., Osorio C., Duque C., Fujimoto Y., Sato M., Okamoto M., Oshikawa T.** (2006). Immunosuppressive diacetylenes, ceramides and cerebrosides from *Hydrocotyle leucocephala*. *Phyt.*, (67), 1143–1150.
- Rajesh K. J.** (2018). Volatile Constituents of *Emilia sonchifolia* from India. *Nat. prod. com.*, 13(10).
- Reverchon E. et De Marco I.** (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *J. S. F.*, (38) :146-166.
- Romdhane M.** (1993). Extraction solide liquide sous ultrasons. Thèse de doctorat, INP Toulouse : 114p.
- Roulier G.** (1990). Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes, Éditions Dangles, 446 p.
- Rondón, M.E.; Delgado, J.; Velaco, J.; Rojas, J.; Rojas, L.B.; Morales, A.; Carmona, J.** (2008). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from aerial parts of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. collected in Venezuela. *Ciência*, (16), 5-9.
- Roux D.** (2011). Conseil en aromathérapie. 2e éd., *Pro-Officina*, Pays-Bas, 187.
- Ruberto G. et Barrata M.T.** (2000). Antioxydant activity of select essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem.*, 115:p1524-1528.
- Sadashiva C.T., Sharanappa P., Naidoo Y., Balachandran I.** (2013). Chemical composition of essential oil from the leaves of *Premna coriacea* Clarke. *Afr. J. Biotechnol.* (12), 2914–2916.
- Saint Laumer D.J.Y., Frérot E. et Herrmann A.** (2003). Controlled release of perfumery alcohols by neighboring-group participation. Comparison of the rate constants for the alkaline hydrolysis of 2-acyl-, 2-(hydroxymethyl)-, and 2-carbamoylbenzoates; *Hel. Chim.*, (86), 2871-2899.
- Samaté A.D.** (2002). Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Thèse doctorat, Ouagadougou, 264p.
- Sanchez-Moreno C.** (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci. and Tech. Int.*, 8(57), 121-137.
- Santos C.C.M.P, Salvadori M.S., Mota V.G., Costa L.M., Almeida A.A.C., Oliveira G.A.L, Costa J.P., Sousa D.P., Freitas R.M., and Almeida R.N.** (2013). Antinociceptive and Antioxidant Activities of Phytol *In Vivo* and *In Vitro* Models. *Neur. Jour.* 9p: <https://doi.org/10.1155/2013/949452>
- Sharma J., Gairola S., Sharma Y.P., Gaur R.D.** (2014). Ethnomedicinal plants used to treat skin diseases by Tharu community of district Udham Singh Nagar, Uttarakhand, India. *J Ethn.*, (158), 140–206.
- Shen S.M., Shen L.G., Lei Q.F., Si J.Y., Liu C.M., Lu H.** (2012). Chemical constituents contained in aerial parts of *Emilia sonchifolia*. *Zhon. Z. Y. Z. Z.*, 37(21).

- Soto M. E. A., Moreno R. J. F., Espinosa M.E., Garcia F. J. A. et Obledo V. E.N.** (2006). Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *thymus vulgaris* against *alternaria citri*. *EG.*, (4), 1-7.
- Sudo H., Ide T., Otsuka H., Hirata E., Takushi A., Shinzato T., Takeda Y.** (2000). Megastigmane, benzyl and phenethyl alcohol glycosides, and 4,4'-dimethoxy-beta-truxinic acid catalpol diester from the leaves of *Premna subscandens* MERR. *Chem Pharm Bull.*, (48), 542–546.
- Smith T.J., George D.R., Sparagano O., Seal C., Shiel R.S. et Guy J.H.** (2009). A pilot study into the chemical and sensorial effect of thyme and pennyroyal essential oil on hens eggs. *Int. Journ. Food Sci. and Technol.*, (44), 1836-1842.
- Souza, M.C.; Siani, A.C.; Ramos, M.F.; Menezes-de-Lima, O.J.; Henriques, M.G.** (2003). Evaluation of anti-inflammatory activity of essential oils from two Asteraceae species. *Phar.*, (58), 582–586.
- Steane DA, Scotland RW, Mabberley DJ, Olmstead RG.** (1999). Molecular systematics of *Clerodendrum* (Lamiaceae): its sequences and total evidence. *A. J. Bot.*, (86), 98-107.
- Steinmetz D.; Tognetti P.; Mourgue M. et Jouglard J.** (1980). Sur la toxicité de certaines huiles essentielles du commerce: essence d'hysope et essence de sauge (*Salvia lavandula efolia Vahl.*, *Hyssopus officinalis L.*). *Plan. Méd. Phyt.*, 14(1), 34-45.
- Surk K.I. & Nielsen P.V.** (2003). Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *J. App. Micr.*, (99), 665-674.
- Svoboda K. et Svoboda T.** (2000). Secretory structures of aromatic and medicinal plants. Ed: *microscopix publications*: p. 7-12.
- Taha E. K., Faouzi E., Nouredine E., Houmane M., Rachida C., Abdellatif B.,** (2017). Comparaison Quantitative Et Qualitative Des Huiles Essentielles De Rosmarinus Officinalis Obtenues Par Différentes Méthodes
- Takahashi H.T., Novello C.R., Ueda-Nakamura T. , Filho B.P.D., Palazzo de Mello J. C. and Nakamura C.V.,** (2011). Thiophene Derivatives with Anti-leishmanial Activity Isolated from Aerial Parts of *Porophyllum ruderale* *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. *Mol.*,16(5), 3469-3478.
- Tanoh S.K, N'gaman-Kouassi C.C., Boa D., Mamyrbekova-Békro A.J., Békro Y.A.** (2019). Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et hydroacétoniques des organes de quatre plantes de Cote d'Ivoire médicinales. *Nat. Tech.*, 22: 1-7 p.
- Thanh L., Dũng N.X., Bighelli A., Casanova J. et Leclercq P.A.** (1997). Combination of capillary GC, GC/MS and ¹³C-NMR for the characterization of the rhizome oil of *Piper betle L.* (Piperaceae) from Vietnam. *Spect.*, (13), 131-136.
- Teisseire P.J.** (1991). Chimie des substances odorantes. *Tec. & Doc. Lavoisier*, Paris,180p.

- Traoré A., Datte Y.J., Offoumou A.M., AKA K.J. et Sawadogo L.L. (1999).** Effets antihypertensifs de l'extrait aqueux de *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) sur la pression artérielle de mammifères. *Rev. Méd. Phar. Afr.*, (13), 41-48.
- Tomi F., Bradesi P., Bighelli A. et Casanova J. (1995).** Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. *Journ. Magn. Reson.*, (1), 25-34.
- Touré D. (2015).** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat, p154.
- UA. (2001).** Plan d'action de la decennie de la medecine traditionnelle (2001 – 2010). *Addis Ababa, ETHIOPIA*, 27p.
- Ultee A., Bennik M.H et Moezelaar R. (2002).** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *App. Env. Micr.*, (68), 1561-1568.
- Ulzias R. F-Jr, Cledison S. R., Mairim R. S., Sócrates C. H. C., Péricles B. A., Gabriele M. L., Paulo H. S.A., Leonardo R. B., Lucindo J. Q-Jr et Adriano A.S. A. (2012).** Evaluation of the lethality of *Porophyllum ruderale* essential oil against *Biomphalaria glabrata*, *Aedes aegypti* and *Artemia salina*. *A. J. of Bio.*, 11(13), 3169-3172.
- U.S. Coast Guard (USCG), (1978).** Department of Transportation. CHRIS - Hazardous Chemical Data. Manual Two. *Government Printing Office*, Washington, DC: U.S.
- U.S. Coast Guard (USCG). (1999).** Chemical Hazard Response Information System (CHRIS) - Hazardous Chemical Data. *Government Printing Office*. Washington, D.C.: U.S.
- Vangah-manda M., Dje M., Guede-guina F.K. et de Souza C, (1994).** Evaluation des effets antimicrobien et cytotoxique des extraits aqueux totaux de *Thonningia sanguinea* Vahl. *Rev. Méd. Pha. Afri.* : 8 (2): 153-157.
- Vansant G. (2004).** Radicaux libres et antioxydants : principe de base, symposium «Antioxydants et alimentation». *Institut Danone*: http://www.danoneinstitute.be/files/pdf/symposium/antioxydant/gvansant-resume_fr.pdf: 1-2.
- Van Den Dool H., Kratz P.D. (1963).** A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.*, (11), 463-471.
- Van Veldhoven P.P., Matthews T., Bolognesi D.P., Bell R.M. (1992).** Changes in bioactive lipids, alkylacylglycerol and ceramide, occur in HIV-infected cells. *Biochem Biophys Res Commun.*, (187), 209–216.
- Vázquez-Atanacio, M.J.; Bautista-Ávila, M.; VelázquezGonzález, C.; Castañeda-Ovando, A.; González-Cortazar, M.; SosaGutiérrez, C.G.; Ojeda-Ramírez, D. (2021).** *Porophyllum* Genus Compounds and Pharmacological Activities. *Sci. Pharm.*, 89(7): <https://doi.org/10.3390/scipharm89010007>

- Velé H.** (2015). Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments. Thèse de Doctorat, Angers, 255p.
- Verdcourt B.** (1992). Verbenaceae. In: *Polhill, R.M., Flo. Trop. East Afri.*, 155 p.
- Vergiat A. M.** (1970). Plantes magiques et médicinales des féticheurs de l'Oubangui. *J. agri. Trad. bot. App.*, 295-339.
- Vidal R., Muchembled J., Deweer C., Tournant L., Corroyer N., Flammier S.** (2018). Evaluation de l'intérêt des huiles essentielles dans les stratégies de protection des cultures. *In. agr.* 63, 191-210.
- Vinson J.A.** (2006). Oxidative stress in cataracts. *Path.*, (13), 151-162.
- Hang N.T.B., Ky P.T., Minh C.V., Cuong N.X., Thao N.P, Kiem P.V.** (2008). Study on the chemical constituents of *Premna integrifolia L.* *Nat Prod Comm.*, (3), 1449-1452.
- Wei S., Si S., Xu X., Pu Q.L., Pannell L.K., Hight R.J.** (1991). Studies on the chemical constituents of *Premna fulva.* *Planta Med.*, (57), 93-94.
- Wilson C.L, Solar J.M. EL Gaouth A., Wisniewski M.E.,** (2007). Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for Antifungal Activity against *Botrytis cinera.* *A. Phyt. S.* .
<https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.2.204/>
- Yang I., Lee D. et Shin H.** (2016). Inhibitory Effect of Valencene on the Development of Atopic Dermatitis-Like Skin Lesions in NC/Nga Mice. *Hind. Pub. Corp.*, (2016), 11p.
- Yapi A.D., Kassi N.J., Fofié N.B. Y., Zirihi G.N.**(2015). Etude ethnobotanique des Asteraceae médicinales vendues sur les marchés du district autonome d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9(6): 2633-2647.
- Zhan Z.J., Yue J.M.** (2003). New glyceroglycolipid and ceramide from *Premna microphylla.* *Lip.*, (38), 1299–1303.
- Zinzendorf Y.** (1989). Contribution à l'étude des plantes médicinales utilisées en Odontostomatologie traditionnelle. Mise en évidence des activités bactériostatique et bactéricide, proposition d'une formule galénique. Thèse, Faculté de Pharmacie, Université d'Abidjan, 180 p.

WEBOGRAPHIE

- Anonyme 1:** *Emilia praetermissa* (chardon jaune) (en ligne, visitée le 05/07/2021).
<https://www.cabi.org/isc/datasheet/14350185>
- Anonyme 2 :** Plantes mondiales.(en ligne, visitée le 05/07/2021). *Emilia sagittata*.98.
- Anonyme3 :** Tropicos. (En ligne, visitée le 05/07/2021).
<http://legacy.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=Porophyllum+ruderale>
- Anonymes 4 :** Plantes tropicales utiles. (En ligne, visitée le 05/07/2021). *Premna quadrifolia*.
<http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Premna+quadrifolia>

Anonyme 5 : Plantes mondiales. (En ligne, visitée le 05/07/2021). *Premna resinosa*.
<https://plants.jstor.org/compilation/Premna.resinosa>.

Anonyme 6 : Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. (En ligne, 05 Jul 2021).
<http://www.tropicos.org/Premna+quadrifolia>.

Anonyme 7 : Plantes tropicales utiles. (En ligne, visitée le 05/07/2021). *Premna angolensis*.
<http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Premna+angolensis>.

Anonyme 8 : Plantes mondiales. (En ligne, visitée le 05/07/2021). *Premna angolensis*.
<https://plants.jstor.org/compilation/Premna.angolensis>.

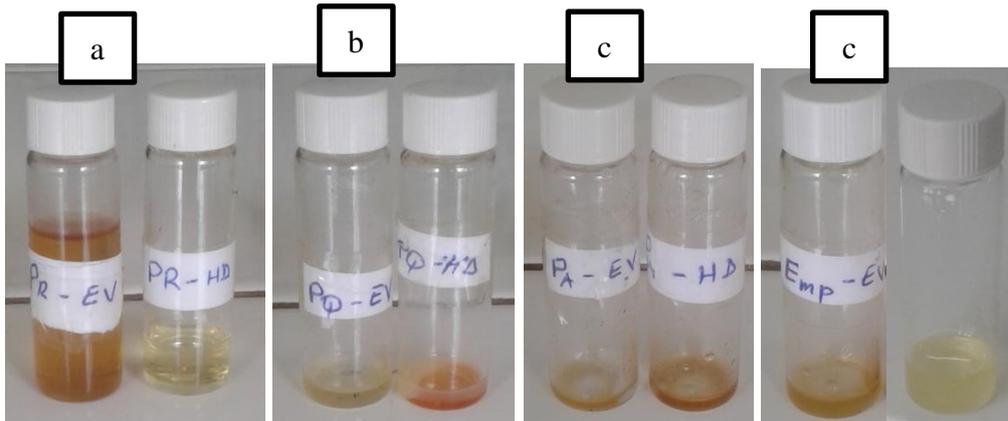
Anonyme 9: <https://quelleestcetteplante.fr/genres.php?genre=Clerodendrum>

Anonyme 10: Plantes mondiales (visitée le 05/07/2021, en ligne). *Clerodendrum polycephalum*.
<https://plants.jstor.org/compilation/clerodendrum.polycephalum>.

Anonyme 11: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1023631.html> (visitée le 05/07/2021, en ligne).

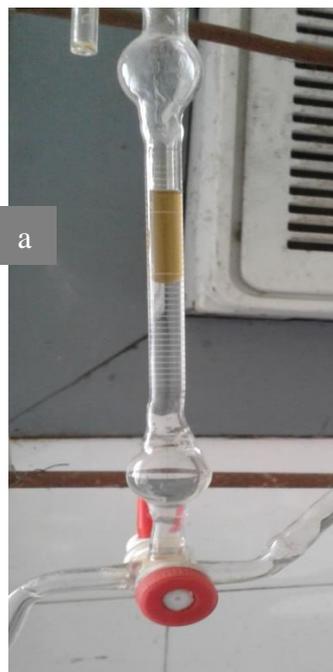
Anonyme 12 : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> (visitée le 05/07/2021, en ligne).

ANNEXES



- a- HE de la partie aérienne de *Porophyllum ruderale*
- b- HE des feuilles de *Premna quadrifolia*
- c- HE des feuilles de *Premna angolensis*
- d- HE de parties aériennes de *Emilia praetermissa*

Annexe 1 : Piluliers contenant des huiles essentielles



- a- Système de récupération de l'hydrodistillation de type clevenger
- b- Système de réperation du dispositif d'entraînement à la vapeur utilisé

Annexe 2: Systèmes de récupération des huiles essentielles



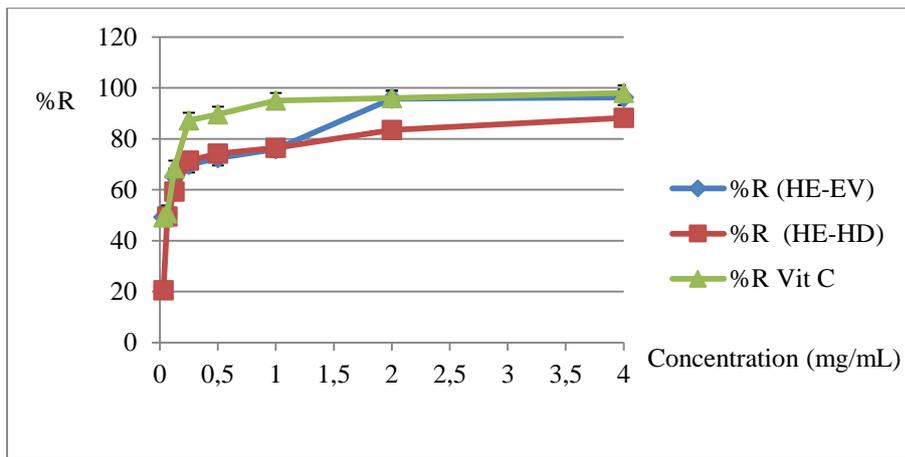
Annexe 3: Pesée d'un échantillon d'HE à l'aide d'une balance électronique de type XY6002C



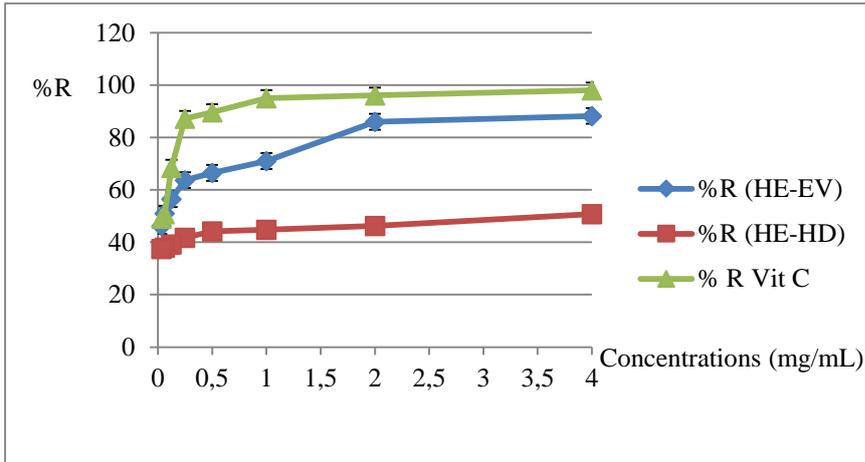
Annexe 4 : Appareil d'analyse CPG/SM Agilent Technologie, 7890A



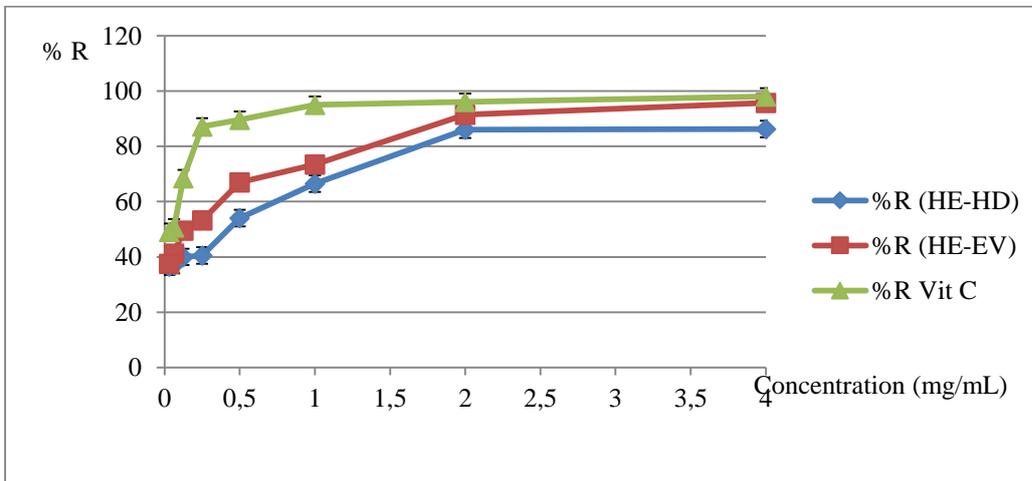
Annexe 5: Spectrophotomètre AQUA LYTIC AL800



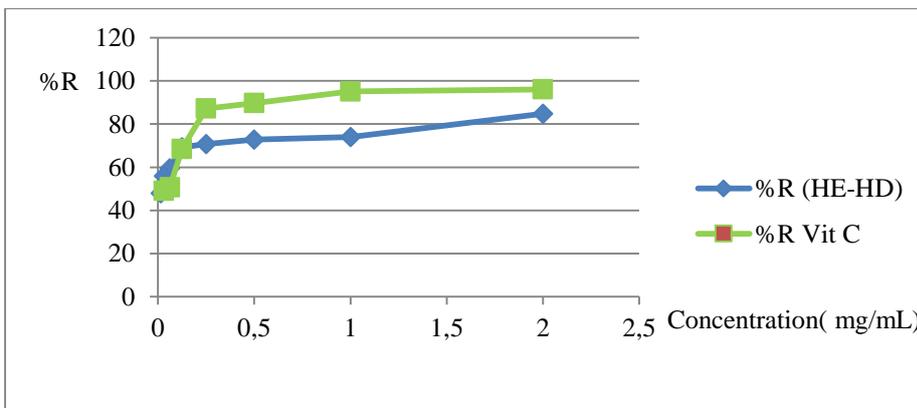
Annexe 6 : Pourcentage de réduction en fonction de la concentration des huiles essentielles de *Emilia praetermissa* et de la vitamine C



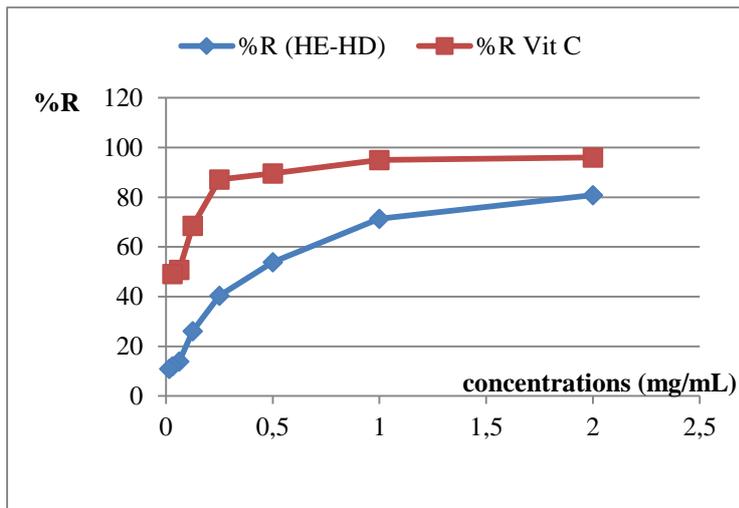
Annexe 7: Pourcentage de réduction en fonction de la concentration des huiles essentielles de *Porophyllum ruderale* et de la vitamine C



Annexe 8: Pourcentage de réduction en fonction de la concentration des HE de *Premna quadrifolia* et de la vitamine C



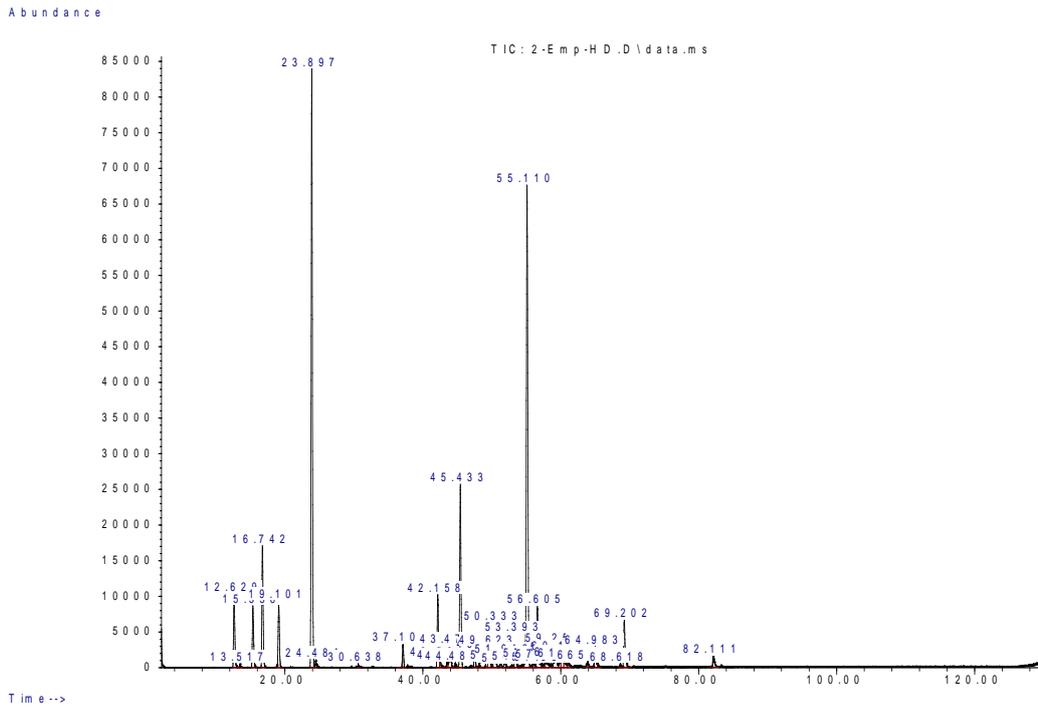
Annexe 9: Pourcentages de réduction de l'HE des feuilles de *Premna angolensis* et de la vitamine C en fonction de la concentration



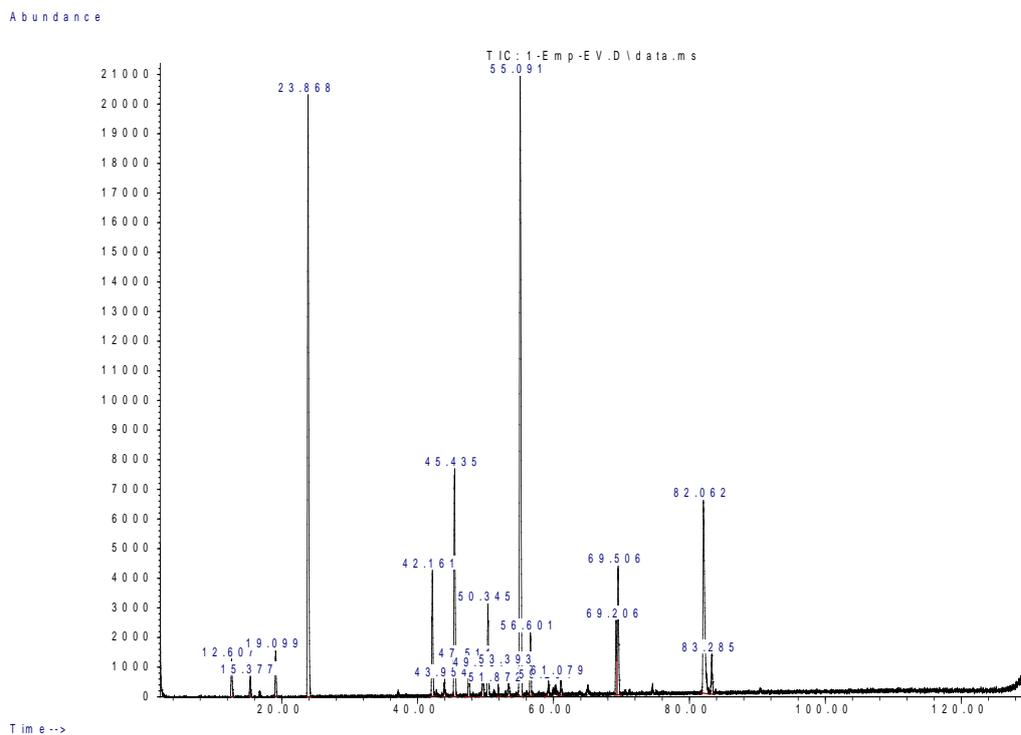
Annexe 10: Pourcentage de réduction des huiles essentielles de *Clerodendrum polycephalum* et de la vitamine C en fonction de la concentration



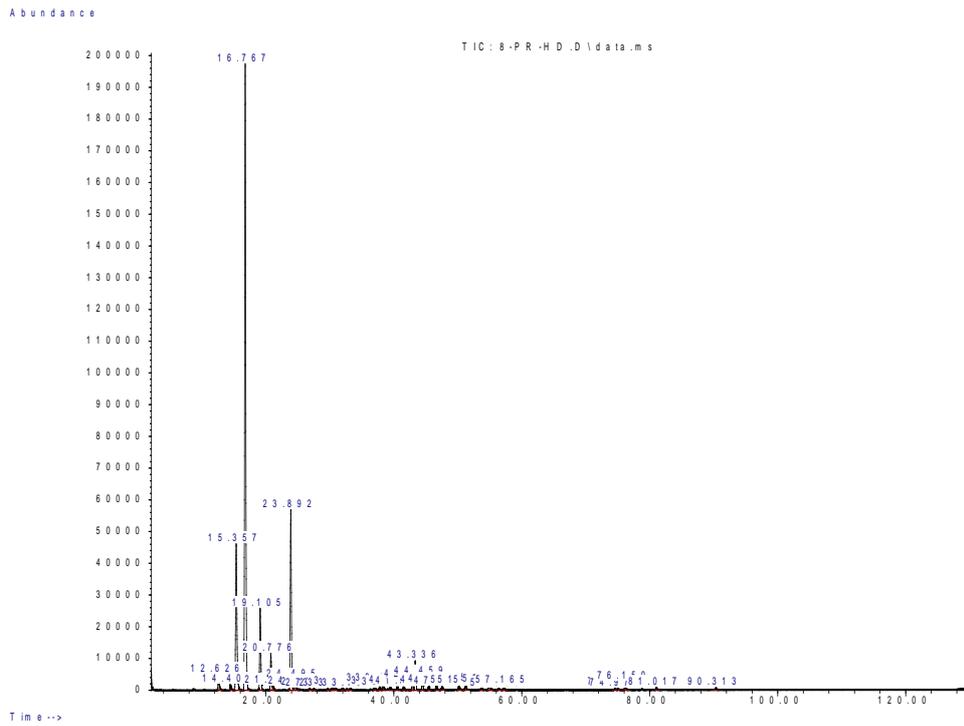
Annexe 11: Quelques cupules présentant les zones d'inhibition des huiles essentielles contre les souches bactériennes et fongiques



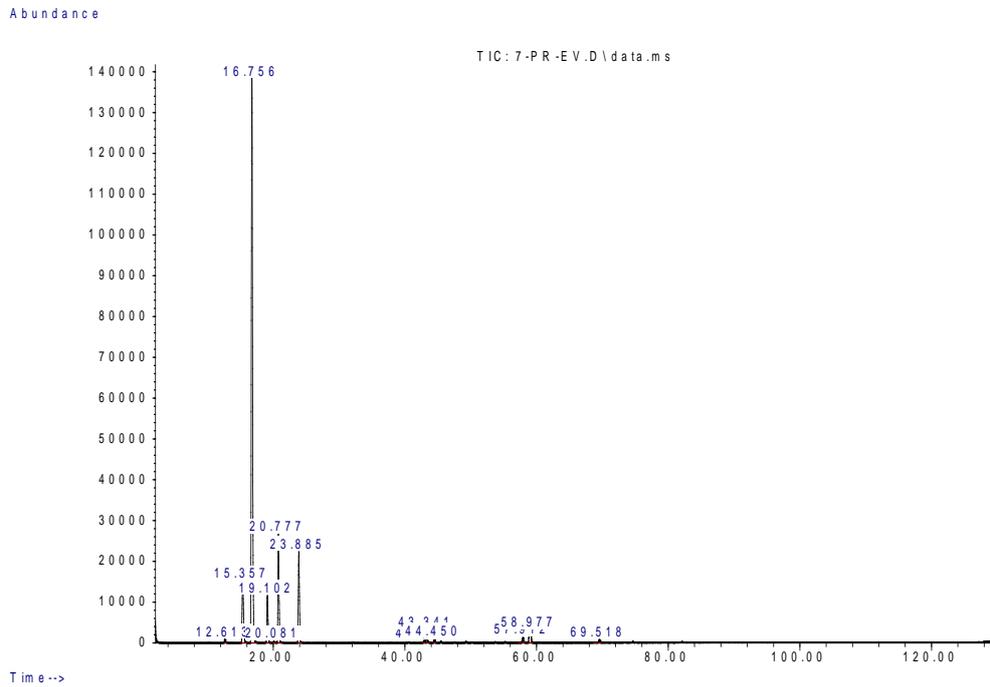
Annexe 12 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne de *Emilia praetermissa*



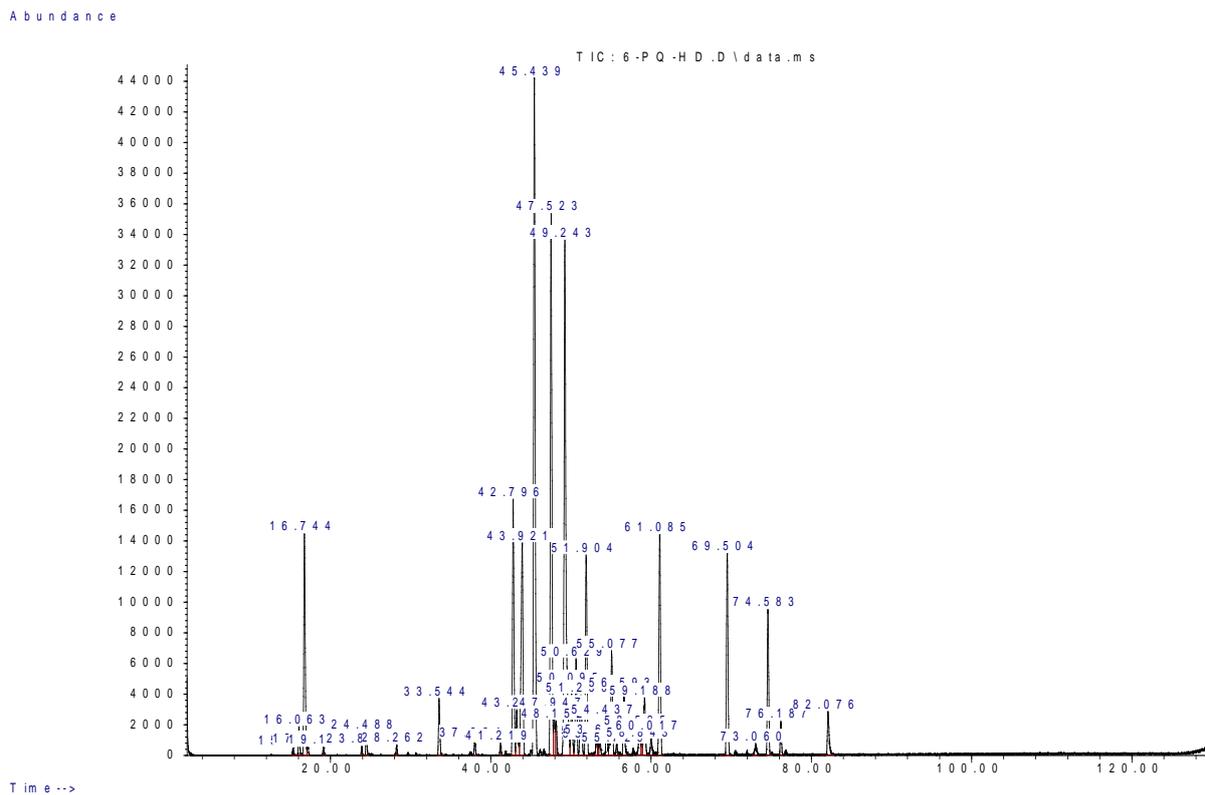
Annexe 13 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur de la partie aérienne de *Emilia praetermissa*



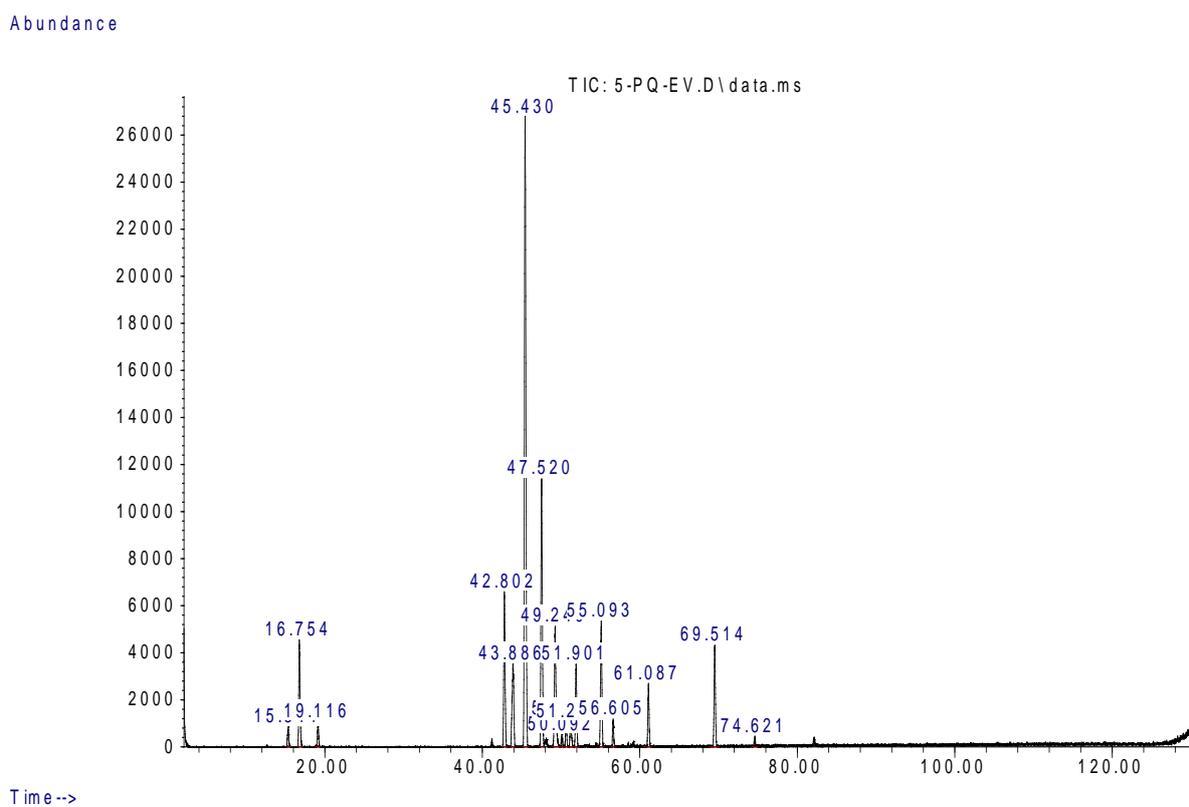
Annexe 14: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des parties aériennes de *Porphyllum ruderale*



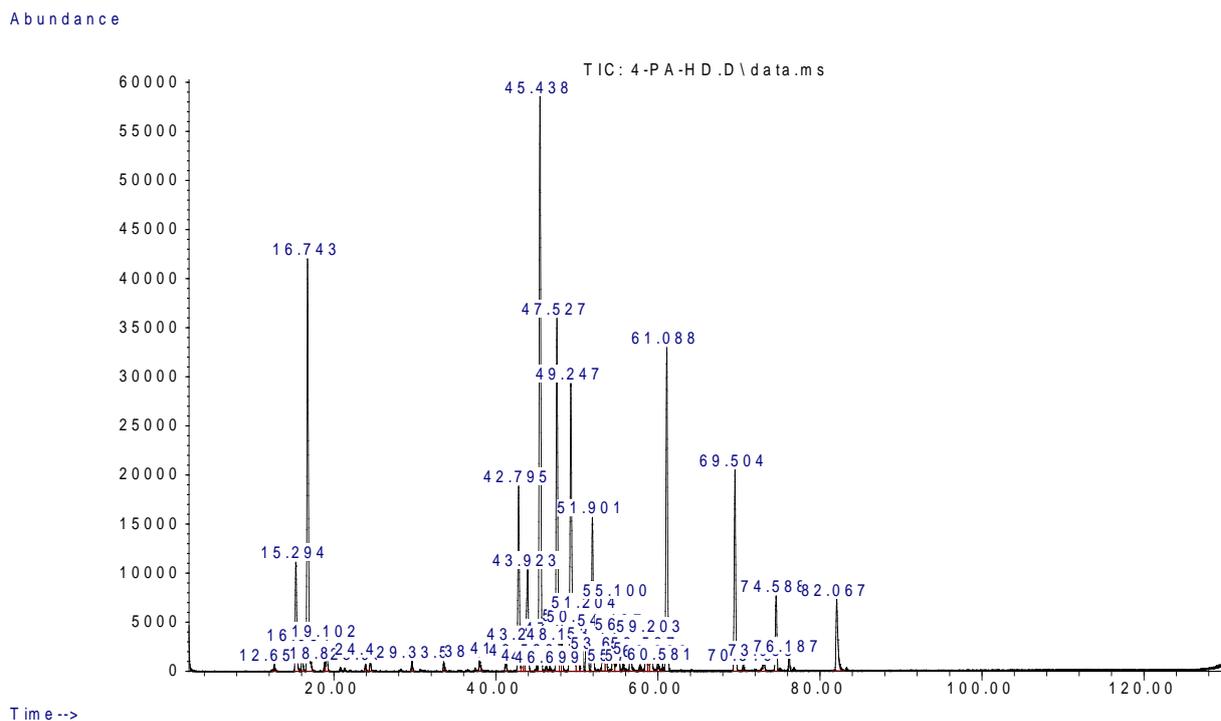
Annexe 15: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur de la partie aérienne de *Porophyllum ruderale*



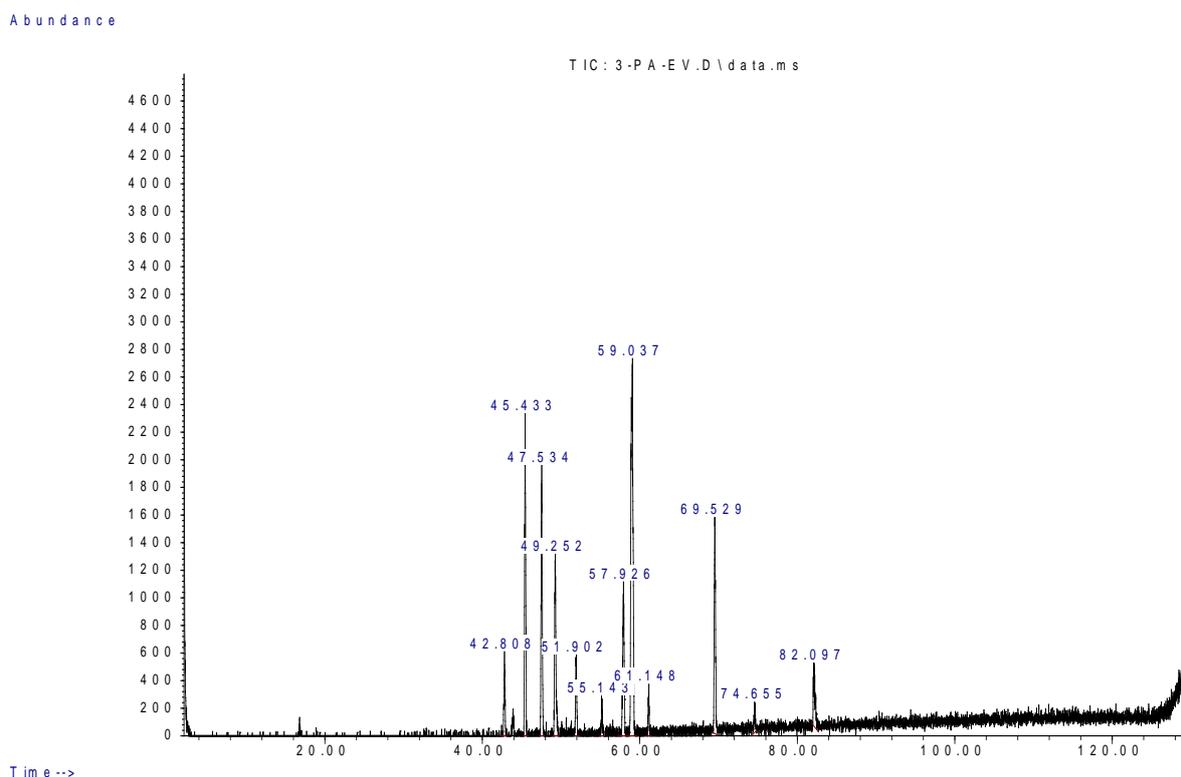
Annexe 16: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des feuilles de *Premna quadrifolia*



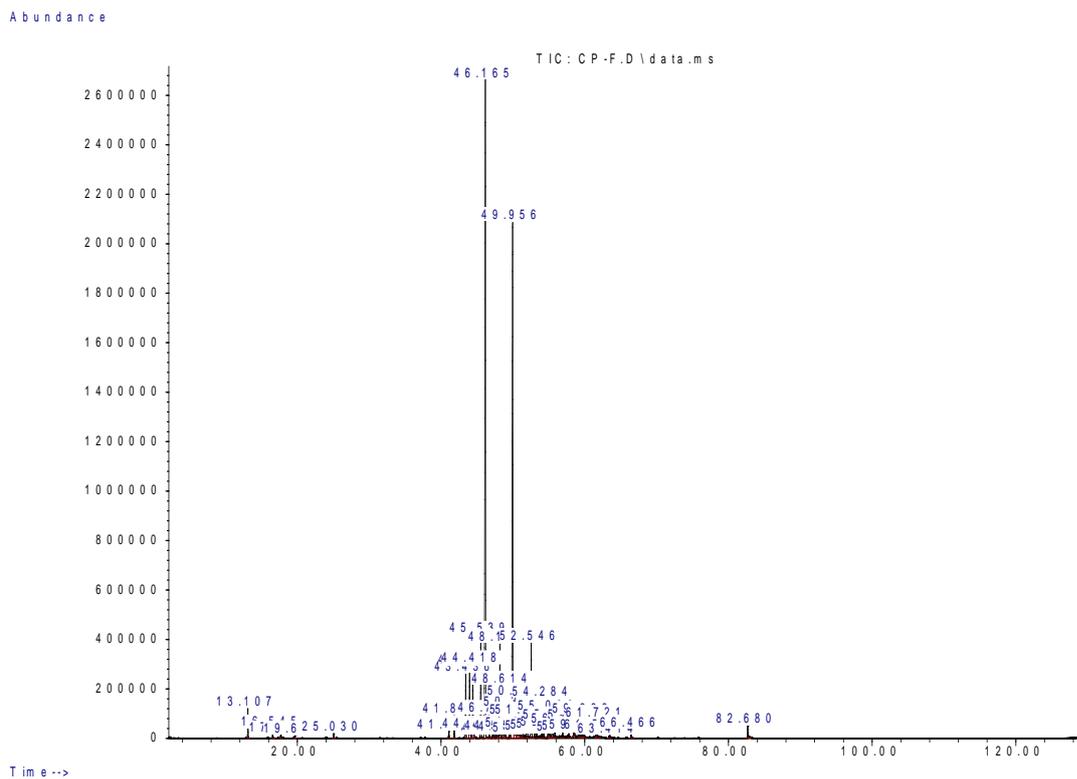
Annexe 17: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des feuilles de *Premna quadrifolia*



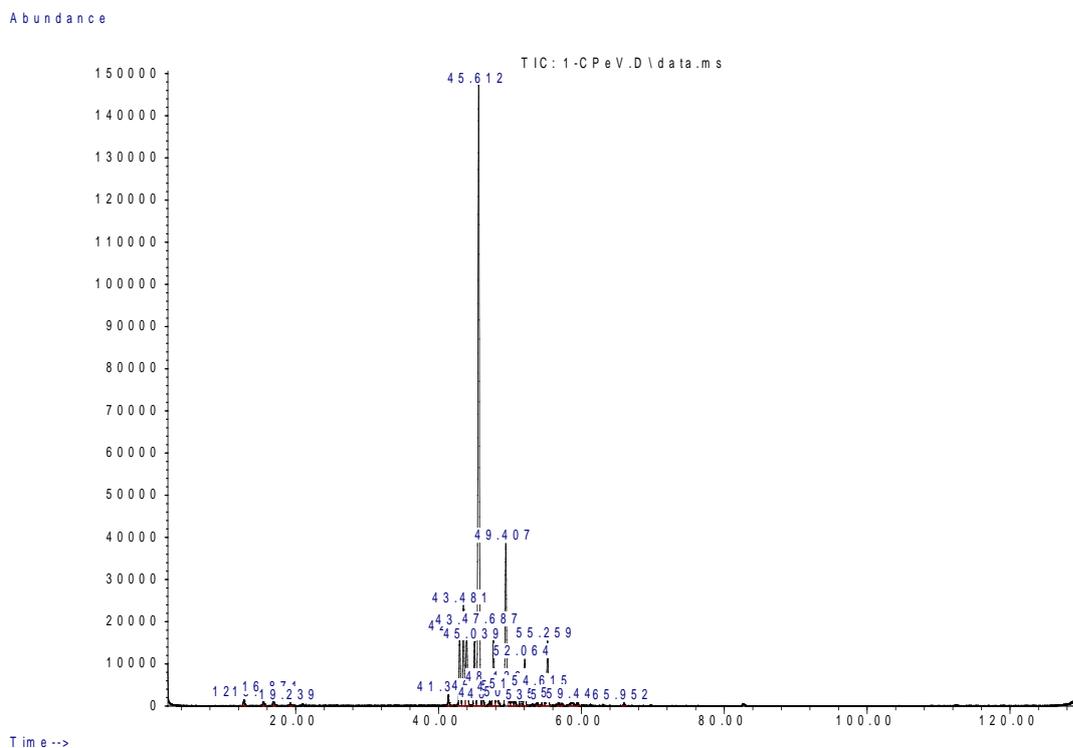
Annexe 18: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de *Premna angolensis*



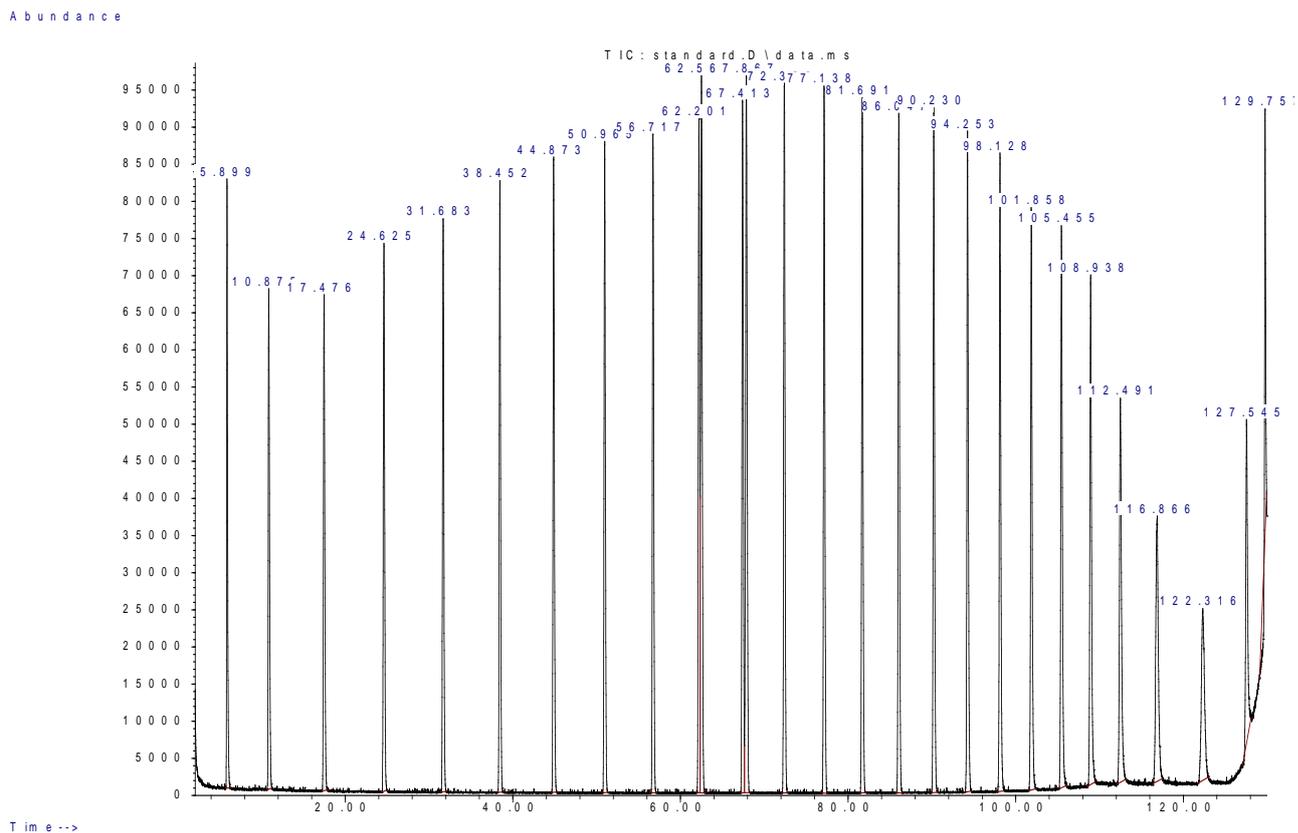
Annexe 19: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des feuilles de *Premna angolensis*



Annexe 20: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des feuilles de *Clerodendrum polycephalum*



Annexe 21: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur des feuilles de *Clerodendrum polycephalum*



Annexe 22: Chromatogramme des n-alcane standards

Certificate of Analysis

C8-C40 ALKANES CALIBRATION STD,1X1ML,VARIED,DICHLOROMETHANE

*Certified
Reference
Material*

Product ID 40147-U

Lot LRAC1880

Expiration Date February 2021

Manufacturing Date February 2019

Storage Conditions Refrigerate

Solvent/Matrix DICHLOROMETHANE

Analyte	Units	Certified ^{1,4} Value	Raw Material Purity,%	Raw Material Lot	CAS
N-TRITRIACONTANE	ug/ml	500 ± 15	97.5	FIK01-QOHQ	630-05-7
N-TRIDECANE	ug/ml	504 ± 15	99.8	MKBX8880V	629-50-5
N-DODECANE	ug/ml	499 ± 15	99.3	WXBC5140V	112-40-3
N-UNDECANE	ug/ml	501 ± 15	99.0	MKCF0376	1120-21-4
N-DECANE	ug/ml	501 ± 15	99.1	WXBC6468V	124-18-5
N-NONANE	ug/ml	502 ± 15	99.9	LC00219	111-84-2
N-OCTANE	ug/ml	500 ± 15	99.5	BCBW1807	111-65-9
PRISTANE	ug/ml	501 ± 15	99.3	LB34903	1921-70-6
N-HENTRIACONTANE (C31)	ug/ml	500 ± 15	99.5	BCBZ2021	630-4-6
N-HEXADECANE	ug/ml	501 ± 15	99.9	LC02125	544-76-3
N-PENTATRIACONTANE	ug/ml	500 ± 15	97.6	LB96090	630-07-9
OCTATRIACONTANE	ug/ml	500 ± 15	97.1	LC19744	7194-85-6
HEPTATRIACONTANE	ug/ml	500 ± 15	97.1	BCBV7378	7194-84-5
N-NONACOSANE	ug/ml	501 ± 15	100	BCBT9434	630-03-5
N-HEPTACOSANE	ug/ml	501 ± 15	98.7	0000016847	593-49-7
PHYTANE	ug/ml	500 ± 15	97.0	1-LDO-115-1	638-36-8
NONATRIACONTANE	ug/ml	500 ± 15	94.0	0000041159	7194-86-7
N-HENEICOSANE	ug/ml	502 ± 15	99.8	MKBZ8320V- 1	629-94-7
N-HEXATRIACONTANE	ug/ml	500 ± 15	99.5	LB86126	630-06-8
N-TETRATRIACONTANE	ug/ml	501 ± 15	96.1	2HQRD	14167-59-0
N-DOTRIACONTANE	ug/ml	500 ± 15	98.9	LB95569	544-85-4
N-TRIACONTANE	ug/ml	500 ± 15	97.0	LC05406	638-68-6
N-OCTACOSANE	ug/ml	501 ± 15	99.6	LC17526	630-02-4



SIGMA-ALDRICH®

2931 Soldier Springs Rd. Laramie, Wyoming 82070 USA
307-742-5452
rtctechgroup@sial.com www.sigma-aldrich.com

Lot LRAC1880
Expiration Date February 2021
Manufacturing Date February 2019
Storage Conditions Refrigerate
Solvent/Matrix DICHLOROMETHANE

N-HEXACOSANE	ug/ml	501 ± 15	99.9	LC19495	630-01-3
N-TETRADECANE	ug/ml	503 ± 15	99.5	LC15053	629-59-4
N-TETRACOSANE	ug/ml	502 ± 15	99.8	MKBZ5406V-2	616-31-1
N-PENTADECANE	ug/ml	500 ± 15	99.6	LC08640	629-62-9
N-TRICOSANE	ug/ml	500 ± 15	99.9	LB36889	638-67-5
N-DOCOSANE	ug/ml	500 ± 15	99.8	MKCC2657	629-97-0
N-EICOSANE	ug/ml	502 ± 15	99.6	LC17248	112-95-8
N-NONADECANE	ug/ml	503 ± 15	99.9	201521	629-92-5
N-OCTADECANE	ug/ml	502 ± 15	100	MKCG6046	593-45-3
N-HEPTADECANE	ug/ml	503 ± 15	99.6	LC16733	629-78-7
N-TETRACONTANE	ug/ml	500 ± 15	99.2	BCBZ6227	4181-95-7
N-PENTACOSANE	ug/ml	501 ± 15	98.8	0000025344	629-99-2

Certificate of Analysis

C8-C40 ALKANES CALIBRATION
STD,1X1ML,VARIED,DICHLOROMETHANE

*Certified
Reference
Material*

Product ID 40147-U

Lot LRAC1880

Expiration Date February 2021

Manufacturing Date February 2019

Storage Conditions Refrigerate

Solvent/Matrix DICHLOROMETHANE

1 **Metrological traceability:** Traceable to the SI and higher order standards from NIST through an unbroken chain of comparisons. The balance used to weigh raw materials is accurate to +/-0.0001 g and calibrated regularly using mass standards traceable to NIST. All dilutions were performed gravimetrically. Additionally, individual analytes are traceable to NIST SRMs where available and specified above.
4 **U_{CRM}** - Uncertainty values in this document are expressed as Expanded Uncertainty (U_{CRM}) corresponding to the 95% confidence interval. U_{CRM} is derived from the combined standard uncertainty multiplied by the coverage factor k, which is obtained from a t-distribution and degrees of freedom. The components of combined standard uncertainty include the uncertainties due to characterization, homogeneity, long term stability, and short term stability (transport). The components due to stability are generally considered to be negligible unless otherwise indicated by stability studies. The mathematical representation of the U_{CRM} calculation is as follows:

$$U_{CRM} = \sqrt{u_{char}^2 + u_{homogeneity}^2 + u_{stability}^2}$$

k: Coverage factor derived from a t-distribution table, based on the degrees of freedom of the data set. Assume 2.0 for a **Confidence interval = 95%**

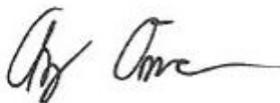
Traceability: The standard was manufactured under an ISO/IEC 17025:2017 certified quality system. The balance used to weigh raw materials is accurate to +/- 0.0001g and calibrated regularly using mass standards traceable to NIST. All dilutions were performed gravimetrically. Additionally, individual analytes are traceable to NIST SRMs where available and specified above.

Homogeneity: Homogeneity was assessed in accordance with ISO 17034:2016. Completed units were sampled using a random stratified sampling protocol. The results of chemical analysis were then compared using a one-way analysis of variance approach as described by TNI EL-V3-2009 Appendix A.2. See Instructions for minimum sub-sample size.

Expiration is at end of month given on certificate and label.

THIS PRODUCT WAS DESIGNED, PRODUCED AND VERIFIED FOR ACCURACY AND STABILITY IN ACCORDANCE WITH **ISO/IEC 17025:2017 (ANAB Cert AT-1467)** and **ISO 17034:2016 (ANAB Cert AR-1470)**.

MSDS reports for components comprising greater than 1.0% of the solution or 0.1% for components known to be carcinogens are available upon request.



Andy Ommen - QC Manager



Mark Pooler - QA Supervisor

Certification Date March 05, 2019
Version 0-352019



SIGMA-ALDRICH®

2931 Soldier Springs Rd. Laramie, Wyoming 82070 USA
307-742-5452
rttechgroup@sial.com www.sigma-aldrich.com



ATTESTATION D'IDENTIFICATION

N°005/20

Le **Centre National de Floristique** atteste avoir identifié les échantillons de végétaux présentés par Monsieur **KOUASSI Kouamé Séraphin**, Doctorant en chimie des substances naturelles (CPCSN) de l'Université Nangui ABROGOUA.

Ces échantillons correspondent aux taxonomies suivantes :

N° d'échantillon	Partie	Nom scientifique	Famille	N° d'herbier
01	Feuille	<i>Annickia polycarpa</i>	Annonaceae	UCJ 001183
02	Feuille	<i>Clerodendrum Polycephalum</i>	Lamiaceae	UCJ 017401
03	Feuille	<i>Acanthospermum hispidum</i>	Asteraceae	UCJ 003383
04	Feuille	<i>Emilia praetermissa</i>	Asteraceae	UCJ 003601
05	Feuille	<i>Porophyllum ruderale</i>	Asteraceae	UCJ018336
06	Feuille	<i>Premna quadrifolia</i>	Lamiaceae	UCJ 017472
07	Feuille	<i>Premna angolensis</i>	Lamiaceae	UCJ 017453

Fait à Abidjan, le 03 décembre 2020

Le Directeur Adjoint du CNF

La Directrice-Adjointe
Université Félix Houphouët Boigny

TIEBRE Marie-Solange
Professeur Titulaire

**ARTICLES ET
COMMUNICATIONS ISSUS DE
LA THESE**

Composition chimique par CPG/SM et activités antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. récoltée en Côte d'Ivoire.

KOUASSI Kouamé Séraphin, KOUAME Bosson Antoine, MAMYRBÉKOVA-BÉKRO Janat Akhanovna, BEKRO Yves-Alain

Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN) - UFR-SFA Université Nangui Abrogoua 02 BP 801 Abidjan 02 Côte d'Ivoire

Résumé:

L'huile essentielle (HE) de la partie aérienne de *porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. obtenue par entraînement à la vapeur a été analysée par CPG/SM. Puis l'activité antimicrobienne de l'HE a été évaluée sur des bactéries et champignons de référence du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire. L'HE est constituée essentiellement de monoterpènes (94,69%), d'hydrocarbures aromatiques (4,39%) et de sesquiterpènes (0,27%). Les composés majoritaires sont β -Myrcène (35,52%), γ -terpinène (26,37%), β -pinène (21,65%), Limonène (9,26%) et 1-Undécène (4,39%). L'HE a inhibé la plupart des souches testées, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* CIP, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* et *Candida glabrata*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 3,75mg/mL. Cependant, elle ne possède aucun effet sur *Salmonella typhimurium* SO 66, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Key Words: *Porophyllum ruderale*, Côte d'Ivoire, Huile Essentielle.

1-Introduction

La flore ivoirienne présente une grande biodiversité qui profite à la médecine traditionnelle utilisée par la grande majorité des populations rurales. En Côte d'Ivoire, le recours à la phytothérapie est de tradition, parmi les espèces végétales utilisées en médecine traditionnelle, figurent les plantes aromatiques et médicinales qui sont une source de produits à forte valeur ajoutée (huiles essentielles, extraits, résines). *Porophyllum ruderale*, est une plante annuelle érigée, généralement plutôt peu ramifiée, atteignant 20 à 100 cm de haut. Elle est plus connue sous le nom de la "coriandre bolivienne" ou d' "arnica-brésilienne", et originaire d'Amérique tropicale (Fonseca et al., 2006). En Côte d'Ivoire, on observe une soudaine apparition et prolifération de cette adventice sur les parcelles agricoles. Cette plante se propage principalement par les graines. De la famille des *Asteraceae*, *P.ruderale* produit beaucoup de semences avec un taux de germination élevé (Dogba et al., 2018). Plusieurs études ont été menées sur la plante, principalement sur le continent américain. Des phénols totaux et une activité antioxydante ont été révélés dans des extraits aux ultrasons de *p.ruderale*. (Conde-Hernández et al., 2014). Des dérivés de thiophène isolés de *P. ruderale* présenteraient une forte activité contre les formes promastigotes et amastigotes axéniques de *L. Amazonensis* (Takahashi et al., 2011). Cependant, peu d'études chimiques existent en Côte d'Ivoire sur la plante. Cette étude vise à déterminer la composition de l'HE obtenue par entraînement à la vapeur, de *P. ruderale*, puis évaluer l'activité de l'HE sur les souches de références du Centre de Recherche Scientifique Suisse en Côte d'Ivoire.

2- MATERIEL ET METHODES

2.1- Matériel végétal

La partie supérieure de la plante fraîche a été récoltée en début Octobre dans la commune de Bingerville (Abidjan) et distillée dans les 24h qui ont suivi. La plante a été identifiée par TERE Henry technicien botaniste au Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS, Adiopodoumé - Côte d'Ivoire) et par le Centre National de Floristique (CNF) d'Abidjan conformément à l'herbier numéro UCJ018336.

2.2- Entraînement à la vapeur

L'entraînement à la vapeur a été réalisé dans un dispositif à quatre compartiments, conçu à cet effet. La chaudière qui peut contenir environ soixante litres d'eau est reliée à une grande cuve par un tuyau. La grande

cuve contient un ensemble quatre grilles solidaires à une tige amovible. Sur les grilles, ont été disposés 5,5 Kg de matériel végétal. De cette cuve, la vapeur d'eau entraîne les composés volatiles dans une troisième cuve qui sert de réfrigérant. Puis le quatrième compartiment est le système de récupération.

2.3- Analyse CPG/SM

L'analyse des HE diluées dans le dichlorométhane (1 :100) a été réalisée sur un chromatographe GC (7890A, Agilent Technologies) couplé à une MS (5975C, Agilent Technologies). Un échantillon liquide de volume 1µL a été injecté dans une colonne capillaire HP-5MS à 250°C. La température du four a été programmée à 40 ° C pendant 5 min, puis 2°C/min pendant 15 min jusqu'à 250°C, puis un débit de 10°C/min jusqu'à 300°C. Le débit du gaz porteur Hélium 1mL/min, retard au solvant: 2 min. Température du détecteur MS 280°C, tension du détecteur 1,4 kV, plage de balayage du rapport masse / charge de l'ion 40 à 500. L'identification des composés a été effectuée par la comparaison indices de rétentions, calculés à partir des temps de rétention et de spectre de masse avec les données de la base de données de l'Institut National des Normes et de la Technologie (NIST) et de la littérature.

2.4- Evaluation de l'activité antibactérienne des HE

2.4.1- Mesure des diamètres d'inhibition

Les souches utilisées pour les études de sensibilité vis-à-vis des différentes HE sont des souches de références du laboratoire du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire. L'activité antibactérienne des différentes HE à différentes concentration, a été déterminée contre chaque souche bactérienne par la méthode de Berghe et Vlietinck ([Berghe et Vlietinck, 1991](#)). L'ensemencement de l'inoculum de 1 mL est réalisé avec une culture de 18 à 20 h (10^5 - 10^6 UFC/mL), en surface du milieu Mueller Hinton (MH) préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après 15 min, des puits ont été découpés à l'aide de pipettes Pasteur. Le fond des puits est obturé par une goutte de gélose MH pour limiter la diffusion des huiles sous la gélose. Ensuite, 50 µL de l'huile à différentes dilutions, est distribuée dans chaque puits. Après diffusion, les cultures sont incubées dans des étuves à 37 °C pendant 24 h. Les auréoles d'inhibition sont mesurées avec un pied à coulisse.

2.4.2- Détermination des concentrations minimales

On repique dans 10 ml de bouillon MH, 0.1 mL de bouillon de 18 heures pour les *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus*, *klébsiella*, *candida*. On fait de même pour 0.3 mL *Staphylococcus aureus* et *épidermidis*. On incube à 37

°C pendant 3 à 5 heures jusqu'à l'apparition d'une légère opalescence d'environ $5 \cdot 10^7$ bactéries/mL. Ensuite, on ajoute 1 ml de ces bouillons à 10 ml de bouillon MH préalablement chauffé à 37°C (inoculum). Puis, on met 100 µl de la solution d'extrait d'huile essentielle dans la colonne n°12 de la microplaque, 50 µl de bouillon MH à partir de la colonne n° 11 jusqu'à la colonne n°2 et 100 µl de bouillon MH dans la colonne n°1. On dilue, à partir de la colonne n°12 jusqu'à la colonne n°3 en prélevant 50 µl à chaque fois, et on distribue 50µl de l'inoculum dans chaque puits des colonnes n°12 à n°2. Enfin, on incube à 37°C pendant 18 heures et on fait la lecture à l'œil nu. On note aussi la concentration de la dernière cupule ou il n'y a pas de turbidité.

3- RESULTATS ET DISCUSSION

3.1- Rendement et CPG/SM

L'HE de *P.ruderales* est liquide de couleur jaune avec un rendement d'environ 0,1%. L'identification des constituants a été réalisée à l'aide des indices de rétention et des spectres de masse. Les indices de rétention ont été calculés à partir des temps de rétentions (KOVATS, 1958)(IUPAC, 1997). L'analyse CPG/SM de l'HE nous a permis d'identifier huit (08) composés qui font environ 99,20% de la composition totale de l'HE, tableau 1. Cette huile est constituée de monoterpène (94,69%), d'alcènes (4,39%) et de sesquiterpènes (0,27%). Les composés majoritaires sont β-Myrcène (35,52%), γ-terpinène (26,37%), β-pinène (21.65%), Limonène (9,26%) et 1-Undécène (4.39%).

Ces résultats montrent les mêmes composés, mais avec des pourcentages différents que ceux obtenus par Raggi et al.(2014) qui ont obtenus par hydrodistillation et analysés par chromatographie en phase gazeuse (GC) et spectrométrie de masse GC (GC – MS) l'huile essentielle des parties aériennes de deux sous-espèces cultivées de *Porophyllum ruderales*. *Porophyllum ruderales subsp. macrocephalum* (PRM) et *Porophyllum ruderales subsp. ruderales* (PRR) . Les monoterpènes étaient les constituants les plus abondants. L'huile de PRM présente le limonène (83,5%), le myrcène (6,3%) et le 1-undécène (5,4%) comme les principaux composés, tandis que l'huile de PRR contient du E-β-ocimène (54,9%), du limonène (25,2%) et le β-pinène (10,1%) comme principaux composants.

Cependant, ils ont montré que la composition chimique des huiles essentielles des deux sous-espèces serait différente selon la région de croissance. En outre, de grandes variations existeraient entre les stades végétatif et reproducteur en ce qui concerne la composition chimique (Raggi et al.,2014).

Cette variation de la composition de l'HE de *P.rudérale* a été observée par plusieurs auteurs. [Fonsceca et al. \(2006\)](#), au Brésil ont obtenu comme composé majoritaire de l'HE des feuilles et des fleurs, le monoterpène β -Phéllandrène. Une analyse menée en Bolivie par [Loayza et al. \(2000\)](#), a donné pour composé majoritaire le Sabinène (64%). Quant à [Rondón et al. \(2008\)](#), ils ont eu comme composés majoritaires le mélange Limonène et β -Phéllandrène (50,3%) suivis du Sabinène (20,2%).

Tableau 1: composition de l'HE de *p.rudérale* obtenue par entrainement a la vapeur.

pic	composés	TR (min)	IR	m/z	% HE
1	α -Pinène	12,7	926	136	1,40
2	β-Pinène	15,5	969	136	21,65
3	β-Myrcène	16,9	991	136	35,52
4	Limonène	19,2	1025	136	9,26
5	β -Ocimène	20,2	1038	136	0,49
6	γ -Terpinène	20,9	1048	136	26,37
7	1-Undécène	24,0	1092	154	4,39
8	-	24,5	1099	150	0,17
9	-	27,619	1142	93	0,12
10	α -Copaène	43,5	1379	204	0,27
11	-	44,612	1396	189	0,09
12	-	53,9	1552	204	0,12
13	-	55,1	1571	222	0,18
Monoterpenes					94,69
Sesquiterpènes					0,12
Hydrocarbures aromatiques					4,39
Autres					0,68
Total					99,88

TR: Temps de Rétention; IR: Indice de Rétention; m/z: masse sur charge

Il revient des différentes analyses que la famille des monoterpènes est largement représentée dans l'HE de *P.ruderale*. Le pourcentage du composé majoritaire de l'HE obtenue par entraînement à la vapeur dans cette étude, β -Myrcène (35,52%), est inférieur à ceux des composés majoritaires des HE, limonène (83,5%), E- β -ocimène (54,9%), [Raggi et al.\(2014\)](#); Sabinène (64%), [Loayza et al. \(2000\)](#), obtenus par hydrodistillation.

3.2- Activités antimicrobiennes de l'HE de *P.ruderale*.

L'activité est considérée nulle pour un diamètre d'inhibition (d.i.) inférieur ou égale à 8 mm ; faible pour d.i. compris entre 8 et 14 mm, moyenne pour d.i. compris entre 14 et 20 mm ; forte pour d.i. supérieur ou égal à 20 mm. Les diamètres d'inhibition des huiles sont consignés dans le tableau2. L'HE de *P.ruderale* est moyennement efficace sur la plupart des bactéries étudiées. Elle possède un effet bactériostatique avec une plus grande sensibilité pour *Staphylococcus epidermidis* CIP.53124 et *Klébsiella pneumoneae*. Cet effet de l'huile pourrait être attribué au β -Myrcène qui est le constituant majoritaire. En effet les huiles essentielles de deux espèces d'Asteraceae, *P. ruderale* (PR) et *C. bonariensis* (CB) ont été testées pour leur activité anti-inflammatoire . Les principaux constituants monoterpéniques de chaque huile, β -Myrcène (en PR) et Limonène (en CB), ont été testés et étaient capables d'inhiber l'inflammation y compris la migration cellulaire; avec un effet similaire observé pour Limonène pur. β -Myrcène et Limonène purs ont également été efficaces pour inhiber la production d'oxyde nitrique à des doses inférieures à la cytotoxicité de ces monoterpènes ([Souza et al., 2003](#)).

Tableau2: diamètre d'inhibition, concentrations minimales inhibitrice et bactéricide de l'HE de *P.ruedrale*.

Souches	HE <i>P.rudera</i> le				Gentamycine (référence)			
	Di (mm)	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB/CMI	Di (mm)	CMI	CMB	CMB /CMI
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 4.83	15	3,75	30	8	30	0,005	0,01	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> CIP.53124	24	3,75	15	4	30	0,0025	0,005	2
<i>Salmonella typhimirium</i> SO 66	0	-	-	-	28	-	-	-
<i>Eschérichia coli</i> ATCC 25922	0	-	-	-	28	-	-	-
<i>Klébsiella pneumoneae</i>	20	3,75	15	4	35	0,005	0,01	2
<i>Pseudomonas aéruginosa</i> ATCC 27853	0	-	-	-	30	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	18	3,75	30	8	34	0,0025	0,005	2
					Amphotéricine B(référence)			
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	14	3,75	30	8	35	0,05	0,1	2
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 13803	12	3,75	30	8	30	0,05	0,1	2
<i>Candida glabrata</i> ATCC 66032	13	3,75	30	8	35	0,05	0,1	2

Di :diamètre d'inhibition ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

Cependant , l'HE de *P.rudera*le ne posséderait aucun effet sur *Salmonella typhimirium* SO 66, *Eschérichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aéruginosa* ATCC 27853. Or des résultats d'activités antibactériennes de l'huile essentielle de cette espèce contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) et à Gram négatif

(*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*), ont montré un large spectre d'activité avec des valeurs minimales de concentration inhibitrice (CMI) allant de 20 à 200 µg / mL (Rondón et al. 2008). D'où la nécessité de tests antérieurs.

Conclusion:

Cette étude a permis d'identifier pour la première fois la composition chimique de l'HE de *P.ruderales* récoltée en Côte d'Ivoire. Obtenue par entraînement à la vapeur, l'HE a été analysée par CPG/SM et est constituée essentiellement de monoterpènes. Les composés majoritaires sont β-Myrcène(35,52%), γ-terpinène(26,37%), β-pinène(21.65%), Limonène (9,26%) et 1-Undécène(4.39%). L'HE possède une activité moyenne sur *Klebsiella pneumoneae*, *Bacillus subtilis* CIP, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidice*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* et *Candida glabrata*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 3,75mg/mL. Elle pourrait constituée une piste de recherche contre les pathologies dues à ces souches.

Remerciement :

Merci à Gwaenaël Chamoulaud et Galyna Shul de l'Université du Québec à Montréal pour les analyses chromatographiques.

Merci à TERE Henry technicien botaniste pour l'identification de la plante et à Touré Sadikou technicien du Laboratoire d'analyse pour les analyses antimicrobiennes, au Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS, Adiopodoumé -Côte d'Ivoire).

Référence bibliographiques:

Fonseca, M. C. M., Meira, R. M. S. A., & Casali, M. D. V. (2006). Anatomie d'organes végétatifs et histolocalisation des lipides et des composés phénoliques dans *Porophyllum ruderale* (Asteraceae). *Planta Daninha.*; Vol.24, no.4, p. 707-13.

DOGBA M., MALAN D.F., NEUBA D.F.R., 2 et KONAN A.S.,(2018). Biologie et écologie de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass., une Compositae nouvellement apparue en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*,36(3), p5907-5918.

Lilia A. Conde-Hernández, José Á. Guerrero-Beltrán.(2014). Total phenolics and antioxidant activity of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale*. *Food Chemistry* 142 , p455–460

Takahashi H.T., Novello C.R., Ueda-Nakamura T., Filho B.P.D., Palazzo de Mello J.C. and Nakamura C.V.,(2011). Thiophene Derivatives with Antileishmanial Activity Isolated from Aerial Parts of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. *Molecules*, 16(5), p3469-3478.

Berghe V.D.A., Vlietinck A.J. 1991. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Methods in plant biochemistry*. Hostettman, K Ed., *London: Academic press*,1991.

KOVATS E.(1958). Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil 1: Retentions indices aliphatischer halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone. *Helvetica Chimica Acta*: 41(7).

IUPAC.(1997). Compendium of Chemical Terminology, 2è édition (le Livre d'or). *Wilkinson Blackwell Scientific Publications*, Oxford. P108.

Raggi L., Young M.C.M, Cordeiro I and Moreno P.R.H., (2014). Differentiation of two *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subspecies by the essential oil composition. *Journal of Essential Oil Research* ,27(1); P 30-33 .

Raggi L., Cordeiro I., Moreno P.R.H, and Young M.C.M., (2014). Essential oil composition from *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subspecies, cultivated in two biogeographically different regions, Brazilian Cerrado and Atlantic Rain Forest. *Planta Medica*, 80(16) · DOI: 10.1055/s-0034-1394966

Loayza L., Walter G., Lorenzo D.; Dellacassa E., Mondello L., Dugo G., (2000). Composition of the essential oil of *Pororophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. From Bolivia. *Flavour and Fragrance Journal*. 14(6); p393-398.

Rondón, M.E.; Delgado, J.; Velaco, J.; Rojas, J.; Rojas, L.B.; Morales, A.; Carmona, J.,(2008). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from aerial parts of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. collected in Venezuela. *Ciência* ,16, p5–9.

Souza, M.C.; Siani, A.C.; Ramos, M.F.; Menezes-de-Lima, O.J.; Henriques, M.G., (2003). Evaluation of anti-inflammatory activity of essential oils from two Asteraceae species. *Pharmazie* , 58,p 582–586.

Chemical Composition and Antibacterial Activities of the Essential Oils from the Leaves of *Premna angolensis* and *Premna quadrifolia*, Two Lamiaceae from Côte d'Ivoire

¹KOUASSI Kouamé Séraphin, ¹KOUAME Bosson Antoine*, ¹MAMYRBÉKOVA-BÉKRO Janat Akhanovna, ¹BEKRO Yves-Alain, ²FOFIE N'guessan Bra Yvette

¹Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles, UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Pharmacognosie Botanique et Cryptogamie, UFR- Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët-Boigny.

Abstract:- This study was conducted with the objective of contributing to the valorization of aromatic and medicinal plants of Côte d'Ivoire. The essential oil (EO) of the leaves of two species of *Premna*, *P. angolensis* and *P. quadrifolia* obtained through steam distillation process, were analyzed through gas chromatography coupled with mass spectroscopy (GC-MS) and their antimicrobial activities was evaluated by agar diffusion method. The yields of EO extracted from the leaves of *P. angolensis* and *P. quadrifolia* are respectively $0.10 \pm 0.02\%$ and $0.40 \pm 0.02\%$.

99.43% of the total chemical composition of the EO of *P. angolensis* leaves, are composed mainly of hydrocarbon sesquiterpenes (71.90%) followed by oxygenates (14.16%) and monoterpenes (13.22%). The main compounds found are β -caryophyllene (33.07%) and Humulene (10.78%). The EO of *P. quadrifolia* leaves, 99.59% of the composition was identified. It contains hydrocarbon sesquiterpenes (89.15%), followed by oxygenates compounds (8.61%) and monoterpenes (1.83%). The major compounds are α -bulnesene (23.33%), germacrene D (18.83%) and caryophyllene (18.06%). The antimicrobial tests have shown that EO of *P. quadrifolia* leaves has no activities on studied strains and *P. angolensis* oil has a mild activity on *Staphylococcus epidermidis* and *Klebsiella pneumoniae* and a weak sensibility on *Staphylococcus aureus* CIP 4.83 and *Candida albicans* ATCC 10231. This study highlights chemical composition of the EO from *P. angolensis* and *P. quadrifolia* leaves. It shows more similarities of the chemical compositions of these two species of *Premna* and the interesting antimicrobial activity potential of *P. angolensis* EO.

Keywords:- *Premna angolensis*, *Premna quadrifolia*, essential oil, GC-MS, Côte d'Ivoire.

I. INTRODUCTION

Plants are being used for the treatment of several diseases in Côte d'Ivoire, by the populations. Among the species used in traditional Ivorian medicine, many are aromatic plants that produce essential oils. *Premna angolensis* and *Premna quadrifolia* are two of these plants used in traditional medicine. The genus *Premna* comprises about 225 species, distributed mainly in the tropics and sub-tropics. It has already been classified within the family Verbenaceae (Munir, 1984), but has been transferred to the family Lamiaceae (Harley et al. 2004; APG, 2009; Olmstead 2010, 2012). Morphologically, most species of the genus *Premna* are small trees or shrubs and rarely found as lianas (De Kok 2013). *Premna angolensis* is widely found in tropical Africa, from eastern Senegal to Ethiopia, Kenya, Tanzania and Angola. Small to medium-sized tree up to 21 (-33) m tall, less often shrubby; bole up to 120 cm in diameter, often curved, sometimes fluted, usually hollow (Chase et Reveal, 2009; Haston et al., 2009). In Côte d'Ivoire the bark of *P. angolensis* are used in enemas and baths to treat fever in children. In several other countries, *P. angolensis* is used in traditional medicine (Burkill, 2000; Bolza et Keating, 1972; Fernandes, 2005; Lovett et al., 2006; Verdcourt, 1992).

Premna quadrifolia is a shrub or small tree growing up to 3.5 meters tall. Tree of edges of gallery with downy leaves. Crumpled young shoots exhale a very bad odor (Vergiat, 1970). Several uses are to be noted, in particular to treat malaria, diarrhea, stomach disorders, headaches, coughs, tuberculosis, and infectious diseases such as leucorrhoea, genital diseases, cancerous wounds, bad breath and white tongue (Girardi et al. 2015; Perry and Metzger, 1980; Quattrocchi, 2012; Sharma et coll. 2014). However, the EO of the leaves of these plants are not yet been biologically investigated to our knowledge in Côte d'Ivoire.

The main objective of this work was to determine the chemical composition and antibacterial activities of EO extracted from the leaves of *P. angolensis* and *P. quadrifolia*, two aromatic plant species collected in Côte d'Ivoire.

II. MATERIAL AND METHODS

➤ Plant material and steam distillation

The plant material consisted of dry leaves of *P. angolensis* and *P. quadrifolia* leaves from Priro (7- 10' 59.999" N 4- 55' 0.001" W). The plants were identified by a botanist technician from the Swiss Center for Scientific Research in Côte d'Ivoire (CSRS, Adiopodoumé - Côte d'Ivoire) and authenticated at the National Floristic Center (CNF) of Abidjan using the existing herbarium, under the number UCJ017472 for *P. quadrifolia* and UCJ017453 for *P. angolensis*. The materials were dried at room temperature. The EO extraction was carried out in 4 hours through a steam-distillation technique. The steam distillation technique consisted of a four-compartment stainless steel device, used to extract essential oils from the plant. The boiler (capacity: 60 l) was connected to a large tank by a stainless steel pipe. The large tank (height: 100 cm, internal diameter: 51 cm, i.e. a volume of 0.2 m³) contains four grids attached to a removable rod. On the grids, the leaves were placed. From this tank, the water vapor drives the volatile compounds into a third tank (height: 100 cm, internal diameter: 41cm, ie a volume of 0.13 m³) which served as a refrigerant. The EO are obtained in a fourth compartment serving as a recovery system.

➤ GC-MS analysis :

A GC (7890A, Agilent Technologies) instrument coupled with MS (5975C, Agilent Technologies). The liquid sample volume of 1 µl was injected to a liner with 250°C and a split ratio of 100:1. The capillary column HP-5MS was used. Oven temperature programming was as follows: 40°C (hold 5 min), then a rate of 2°C/min to 250°C; then a rate of 10°C/min to 300°C. The carrier gas helium flow was 1 mL/min. The source and transfer line of MS detector were at 230 and 280°C, respectively, while the detector voltage was 1.4 kV, and the scan range of mass-to-charge ratio of ion was 40-500.

➤ Evaluation of in vitro antibacterial activities

The strains used for sensitivity studies of the Essential Oils were *Staphylococcus aureus* CIP 4.8 ; *Staphylococcus epidermidis* CIP.53124 ; *Salmonella typhimurium* SO 66 ; *Escherichia coli* ATCC 25922 ; *Klébsiella pneumoniae* ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ; *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ; *Candida albicans* ATCC 10231 ; *Candida tropicalis* ATCC 13803 et *Candida glabrata* ATCC 66032 obtained from the laboratory of Suisse Center for scientific research in Côte d'Ivoire. The antibacterial activity of the EO against each bacterial strain at different concentrations was determined using the method of Berghe and Vlietinck (Berghe et Vlietinck, 1991). The inoculum of 1 mL was sown in a culture for 18 hours to 20 hours (10⁵-10⁶ UFC/mL), on Mueller-Hinton agar. After 15 min, wells were cut using Pasteur pipettes. The bottom of the wells

were closed with a drop of MH agar to limit the diffusion of the oils under the agar. Then, 50 µL of the oil at different dilutions was distributed into each well. After diffusion, cultures were incubated in incubators at 37°C for 24 hours. Inhibition rings were measured with a caliper. 0.1 mL of 18 hours broth of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus*, *klebsiella*, *candida* was transplanted into 10 mL of MH broth and 0.3 mL for *Staphylococcus aureus* and *epidermidis*. Incubated at 37°C for 3 to 5 hours until the appearance of a slight opalescence of about 5,10⁷ bacteria/mL. Then 1 mL of these broths were added to 10 mL of MH broth previously heated to 37 ° C (inoculum). Then 100 µL of the essential oil extract solution was placed in column No. 12 of the microplate, 50 µL of MH broth from column No. 11 to column No. 2 and 100 µL of MH broth in column 1. A dilution from column no. 12 to column no. 3, taking 50 µL each time, and 50 µl of the inoculum was distributed into each well of columns no. 12 to no. 2. The reading was made with the naked eyes after incubation at 37°C for 18 hours. The concentration of the last cup where there is no turbidity was also noted. The antibiotics Amphotericin B and Gentamicin were used as references.

III. RESULTS AND DISCUSSION

➤ Extraction yield and Chemical composition of the EO

The EO extracted from the leaves of *P. angolensis* and *P. quadrifolia* are yellow, they have an aromatic odor with yields of 0.10 ± 0.02% and 0.40 ± 0.02% respectively. These yields, which could be attributed to the distillation technique, was calculated by the quotient of the mass of EO extracted to the mass of the distilled plant material, are good in view of several yields published on plants harvested in Côte d'Ivoire. It's the case for the trunk bark of *Cleitopholis patens* (0.18-0.23%), (Ouattara, 2012) and for the leaves of *Melanthera scandens* (0.012), (Konan, 2015). The genus *Premna* is not widely known to be high in EO content. Nonetheless, previous studies have reported the EO content to be in a range of 0.056 to 0.102% in some species of *Premna* (Narayan et Muthana, 1953; Teai et al. 1998; Chanotiya et al. 2009; Rahman et al. 2011; Sadashiva et al. 2013; Adjalien et al. 2015). The identification of their constituents was carried out by GC-MS. The retention indices were determined from the retention times (Kovats, 1958; IUPAC, 1997). Twenty-seven (27) compounds were identified in the EO of the leaves of *P. angolensis*, about 99.43% of total composition (Table1). The chemical composition of the EO contains 71.90% of hydrocarbon sesquiterpenes, 14.16% of oxygenated compounds, 13.22% of monoterpenes and 0.15% of alkenes. The main compounds are β-caryophyllene (33.07%) and humulene (10.78%). These results are quite similar to those found in the literature. Adjalien and al. (2015) analyzed by GC-MS, the EO of the leaves of *P. angolensis*. They identified twenty-nine (29) compounds of which the most predominant are the hydrocarbon sesquiterpenes (26.6%) and oxygenated sesquiterpenes (20%). The major compounds were octen-3-ol (28%) and (E) -β-caryophyllene (13.5%).

With regard to its total chemical composition, the essential oil from the leaves of *P. quadrifolia* we identified 36 compounds, about 99.38% (Table 2). Mainly consisted of hydrocarbon sesquiterpenes (89.15%), oxygenated compounds (8.61%) and monoterpenes (1.61%). The main compounds are α -bulnesene (23.33%), germacrene D (18.83%) and caryophyllene (18.06%). Adjalien et al. (2015) had performed a GC-MS analysis of the EO of the leaves of this plant which gave similar results. They

revealed forty-two (42) compounds, the most predominant of which are sesquiterpenes (65.5%). The predominant compounds are β -elemene (21%) and β -caryophyllene (13.1%) (Adjalien et al. 2015).

According to these results, several compound well distributed in the two species of *Premna* studied in varying concentrations. But they are different major compounds.

Number	Compounds	RT (min)	RI	m/z	% of total
1	α -Pinene	12.8	927	136	0.24
2	Sabinene	15.5	969	136	1.68
3	β -Myrcene	16.9	991	136	6.14
4	D-Limonene	19.2	1025	136	4.82
5	γ -terpinene	20.9	1048	136	0.34
6	α -Cubebene	41.4	1345	204	0.47
7	Copaene	43.0	1370	204	5.60
8	β -Elemene	44.1	1387	204	7.64
9	(E)-β-Caryophyllene	45.6	1412	204	33.07
10	Humulene	47.7	1446	204	10.78
11	1,8-Nonadiene, 2-methyl-5,7-dimethylene-	48.1	1453	161	0.15
12	(Z)- β -Caryophyllene	48.3	1457	204	0.42
13	Germacrene D	49.4	1475	204	7.54
14	(+)-Eremophilene	50.3	1489	204	0.83
15	α -Muurolene	51.5	1509	204	1.13
16	Cadina-1(10),4-diene	52.1	1519	204	3.28
17	Germacrene B	53.8	1549	204	0.36
18	beta-Farnesene	54.6	1564	204	0.78
19	Caryophyllene oxide	55.3	1584	222	6.89
20	6-epi-Cubenol	56.8	1601	222	1.29
21	Epi-Cadinol	58.7	1635	222	0.58
22	Selin-11-en-4-ol	59.1	1643	222	0.26
23	α -Eudesmol	59.4	1649	222	0.35
24	α -Cadinol	60.2	1663	222	0.40
25	Phytone	69.7	1845	250	1.22
26	Phytol	82.3	2114	296	2.80
27	Phytolacetate	83.5	2200	338	0.37
Monoterpenes					13.22
Sesquiterpenes					71.90
Oxygenated Compounds					14.16
Others					0.15
Total					99.43

RT : RetentionTime ; RI : Retention Indice

Table 1:- Constituents identified in the EO of *P. angolensis* leaves

Number	Compounds	RT (min)	RI	m/z	% of total
1	α -Pinene	12.7	927	136	0.40
2	Sabinene	15.5	969	136	0.78
3	D-Limonene	19.2	1025	136	0.43
4	α -Cubebene	41.4	1345	204	0.06
5	Copaene	42.7	1366,	204	0.23
6	α -Ylangene	43,0	1370	204	1.38
7	β -Elemene	43.7	1381	204	0.13
8	β -Cubebene	44.1	1388	204	5.39
9	Caryophyllene	45.6	1412	204	18.06
10	(+)-Calarene	46.2	1422	204	0.19
11	α -Guaiene	46.9	1434	204	13.48

12	Humulene	47.7	1446	204	4.16
13	(Z)- β -Caryophyllene	48.3	1457	204	0.23
14	(E)-Dodec-2-enol	48.7	1462	189	0.02
15	Germacrene D	49.4	1475	204	18.83
16	(+)-Eremophilene	50.3	1488	204	1.62
17	α-Bulnesene	51.0	1500	204	23.33
18	Cadina-1(10),4-diene	52.1	1520	204	0.82
19	Germacrene B	53.8	1549	204	1.22
20	palustrol	54.9	1569	222	0.24
21	Caryophyllene oxide	55.3	1575	222	1.88
22	β -Elemenone trans	55.9	1586	222	0.12
23	α -Guaiol	56.4	1594	222	0.39
24	6-epi-Cubenol	56.8	1602	222	0.52
25	1,10-di-epi-Cubenol	57.2	1609	222	0.13
26	4(15)-Eudesmen-6-ol	57.4	1613	222	0.16
27	(+)-epi-Cubenol	58.05	1624	222	0.35
28	Cubenol	58.5	1633	222	0.86
29	Selin-11-en-4-ol	59.1	1643	222	0.19
30	epi α -Cadinol	59.3	1648	222	0.81
31	α -Cadinol	60.1	1662	222	0.47
32	Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 α -ol	61.1	1680	222	0.14
33	(E,E)-Farnesol	63.0	1715	222	0.1
34	Oplopanone	63.9	1732	238	0.09
35	Phytol	82.3	2115	297	2.03
36	Phytolacetate	83.5	2141	123	0.13
Monoterpenes					1.61%
Sesquiterpenes					89.15%
Oxygenated compounds					8.61%
Total					99.38%

RT : Retention Time ; RI : Retention Indice

Table 2:- Constituents identified in the EO of *P. quadrifolia* leaves.➤ *Antibacterial potential*

After the incubation, there was a zone of inhibited growth around the well, the size of which was related to the antimicrobial capacity of the substance. Results (table 3), showed that the EO of the leaves of *P. quadrifolia* has no activity on bacterial strains and fungi. As for the EO of the leaves of *P. angolensis*, it has a weak activity on *Staphylococcus aureus* CIP 4.83 and *Candida albicans* ATCC 10231. It has a mild activity on *Staphylococcus epidermidis* and *Klebsiella pneumoniae*. Indeed the activity is considered nonexistent for a diameter of inhibition (d.i.) less than or equal to 8 mm; weak for d.i. between 8 and 14 mm, mild for d.i. between 14 and 20 mm; strong for d.i. greater than or equal to 20 mm (**Berghe et Vlietinck, 1991**). The difference in sensitivity of EO with respect to the strains despite an almost similar composition could be due to the major compounds which are different.

	d.i of EO PA (mm)	d.i of PQ EO(mm)	d.i Gent.(reference)(mm)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	00	00	34
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 4.83	10	00	30
<i>Staphylococcus epidermidis</i> CIP.53124	15	08	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	00	00	30
<i>Salmonella typhimurium</i> SO 66	00	00	28
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	00	00	28
<i>Klebsiella blse</i>	15	08	35
			Amphotericin B (reference)
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	09	00	35
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 13803	08	00	30
<i>Candida glabrata</i> ATCC 66032	08	00	35

d.i : diameter of inhibition

Table 3:- Diameter of inhibition of EO on bacteria and fungi

The MIC and BMC of the EO of the leaves of *P. angolensis* are determined from the inhibition diameter greater than or equal to 11mm (Table 4).

	MIC mg/ml	MBC mg/ml	MBC/MIC	Effect of the EO
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3.75	30	8	bacteriostatic
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3.75	30	8	bacteriostatic

MIC: Minimal Inhibitory Concentration; MBC : Minimum Bactericidal Concentration

Table 4:- Minimum inhibitory and bactericidal concentration of EO of the leaves of *P. angolensis*

The EO of the leaves of *P. angolensis* is bacteriostatic. It therefore inhibits the multiplication of bacteria without killing them. By inhibiting bacteria, it could work with the immune system to remove the bacteria from the body.

IV. CONCLUSION

This study allowed us to identify the composition by GC-SM and to evaluate the bacterial activities of EO from the leaves of two *Premna* from Côte d'Ivoire. EO of the leaves of *P. angolensis* contains 71.90% of hydrocarbon sesquiterpenes, 14.16% of oxygenated compounds, 13.22% of monoterpenes and 0.15% of alkenes. The main compounds are β -caryophyllene (33.07%) and humulene (10.78%). And EO from the leaves of *P. quadrifolia* contains hydrocarbon sesquiterpenes (89.15%), oxygenated compounds (8.61%) and monoterpenes (1.61%). The major compounds are α -bulnesene (23.33%), germacrene D (18.83%) and caryophyllene (18.06%). The composition of the two species are almost identical.

Antimicrobial tests showed that EO of the leaves of *P. angolensis* oil has a mild activity on *Staphylococcus epidermidis* and *Klebsiella pneumoniae* and a weak sensibility on *Staphylococcus aureus* CIP 4.83 and *Candida albicans* ATCC 10231. So these activities would justify the use of extract of *P. angolensis* for treatment by the populations. That of *P. quadrifolia* has no activity on bacterial strains and fungi.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank Gwaenaël Chamoulaud, Galyna Shul of the University of Quebec at Montréal for the chromatographic analyzes, Téré Henry botanist technician for plant identification and Touré Sadikou, Technician at the Analysis Center of the Swiss Center for scientific research in Côte d'Ivoire for antimicrobial analyzes.

➤ Statement of Conflict of Interest and Source of Funding

The Authors declare absence of any conflicts of interest. In addition, no funding was received.

REFERENCES

- [1]. **Adjalian E., Sessou P., Odjo T., Figueredo G., Kossou D., Avlessi F., Menut C., and Sohounhloué D., (2015).** Chemical Composition and Insecticidal and Repellent Effect of Essential Oils of Two *Premna* Species against *Sitotroga cerealella*. Journal of Insects.6
- [2]. **Angiosperm Phylogeny Group,(2009).** « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III », *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), p105-121
- [3]. **Berghe V.D.A., Vlietinck A.J.1991.** Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. Methods in plant biochemistry. Hostettman, K Ed., London: Academic press,1991.
- [4]. **Bolza, E. & Keating, W.G., (1972).** African timbers: the properties, uses and characteristics of 700 species. Division of Building Research, CSIRO, Melbourne, Australia. 710 pp.
- [5]. **Chanotiya CS, Yadav AK, Singh AK. (2009).** Leaf oil composition of *Premna barbata* Wall. ex Sch. from Kumaon region of Uttarakhand. J Essent Oil Res. 21:76–77.
- [6]. **Chase M. W.et Reveal J. L.,(2009).** A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* :161, p122-127
- [7]. **De Kok R. (2013).** The genus *Premna* L. (Lamiaceae) in the Flora Malesiana area. Kew Bull. 68:1–30.
- [8]. **Fernandes, R., (2005).** Lamiaceae. In: Pope, G.V. & Martins, E.S. (Editors). Flora Zambesiaca. Volume 8, part 7. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom. pp. 61–153.
- [9]. **Girardi C, Butaud JF, Ollier C, Inger N, Weniger B, Raharivelomanana P, Moretti C.(2015).** Herbal medicine in the Marquesas Islands. J Ethnopharmacol. 161:200–213.
- [10]. **Harley RM, Atkins S, Budantsev AL, Cantino PD, Conn BJ, Grayer R, Harley MM, de Kok R, Krestovskaja T, Morales R, et al. 2004.** The Families and Genera of Vascular Plants. Flowering plants, Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae) Labiales. In: Kubitzki K, Kadereit JW, editors. Vol. 7. Berlin: Springer. p. 167–275.

- [11]. **Haston E. ,Richardson J. E. et Stevens P. F. ,(2009)** .The linear angiosperm phylogeny group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* :161, p128-131
- [12]. **IUPAC.(1997)**. Compendium of Chemical Terminology, 2è édition (le Livre d'or). *Wilkinson Blackwell Scientific Publications*, Oxford. P108.
- [13]. **Konan N. S.(2015)**.Composition chimique et étude comparative des activités anti-oxydante et antibactérienne des huiles essentielles extraites de 3 plantes de la famille des Asteraceae de Côte d'Ivoire. Thèse Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Nangui Abrogoua. p130.
- [14]. **Kovats E.(1958)**. Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil 1: Retentions indices aliphatischer halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone. *Helvetica Chimica Acta*: 41(7).
- [15]. **Lovett, J.C., Ruffo, C.K., Gereau, R.E. & Taplin, J.R.D.,(2006)**. Field guide to the moist forest trees of Tanzania. [Internet] Centre for Ecology Law and Policy, Environment Department, University of York, York, United Kingdom. [http://celp.org.uk/ projects/tzforeco/](http://celp.org.uk/projects/tzforeco/)
- [16]. **Munir AA.(1984)**. A taxonomic revision of the genus *Premna* L. (Verbenaceae) in Australia. *Adelaide Bot Gard.* 7:1–44.
- [17]. **Narayan VL, Muthana MS. (1953)**. Essential oil from *Premna tomentosa*. *J Indian Inst Sci.* 35:55–67.
- [18]. **Olmstead R. (2010)**. A synoptical classification of the Lamiales. Version 2.2. [updated 2016 July 26; cited 2015 Oct 20]. Available from: https://myplant.org/sites/default/files/lamiales_classn.v.2.2_0.pdf.
- [19]. **Olmstead R. (2012)**. A synoptical classification of the Lamiales. Version 2.6.2. [updated 2016 April 12; cited 2015 Oct 20]. Available from: <https://depts.washington.edu/phylo/Classification.pdf>.
- [20]. **Ouattara Z. A. (2012)**. Contribution de la RMN¹³C à la Caractérisation des Huiles Essentielles de Cinq Annonacées Acclimatées en Côte d'Ivoire, Université de corse-pascal paoli école doctorale environnement et société -Université de cocody-abidjan ufr-ssmt. Thèse en Convention de Cotutelle Internationale présentée pour l'obtention du grade de Docteur en Chimie. p225.
- [21]. **Perry LM, Metzger J. (1980)**. Medicinal plants of East and Southeast Asia. Attributed properties and uses. Cambridge Massachusetts: The MIT Press.
- [22]. **Quattrocchi U.(2012)**. CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants, vol. III (E-L). Boca Rotan Florida: Taylor & Francis Group.
- [23]. **Rahman A, Shanta ZS, Rashid MA, Parvin T, Afrin S, Khatun MK, Sattar MA. (2011)**. In vitro antibacterial properties of essential oil and organic extracts of *Premna integrifolia* Linn. *Arabian J Chem.* 9:S475–S479.
- [24]. **Sadashiva CT, Sharanappa P, Naidoo Y, Balachandran I. (2013)**. Chemical composition of essential oil from the leaves of *Premna coriacea* Clarke. *Afr J Biotechnol.* 12:2914–2916.
- [25]. **Sharma J, Gairola S, Sharma YP, Gaur RD. (2014)**. Ethnomedicinal plants used to treat skin diseases by Tharu community of district Udham Singh Nagar, Uttarakhand, India. *J Ethnopharmacol.* 158:140–206.
- [26]. **Verdcourt, B., (1992)**. Verbenaceae. In: Polhill, R.M. (Editor). *Flora of Tropical East Africa*. A.A. Balkema, Rotterdam, Netherlands. 155 pp.



ISSN: 0975-833X

Available online at <http://www.journalcra.com>

International Journal of Current Research
Vol. 12, Issue, 02, pp.9987-9991, February, 2020

DOI: <https://doi.org/10.24941/ijcr.37846.02.2020>

INTERNATIONAL JOURNAL
OF CURRENT RESEARCH

RESEARCH ARTICLE

COMPOSITION, ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF ESSENTIAL OIL FROM *ENANTIA POLYCARPA* AND *CLERODENDRUM POLYCEPHALUM*

KOUASSI Kouamé Séraphin, *KOUAME Bosson Antoine, MAMYRBEKOVA-BEKRO Janat
Akhanovna and BEKRO Yves-Alain

Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles, UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua,
02 BP 801, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

ARTICLE INFO

Article History:

Received 14th November, 2019
Received in revised form
10th December, 2019
Accepted 29th January, 2020
Published online 28th February, 2020

Key Words:

Enantia Polycarpa,
Clerodendrum Polycephalum,
Essential Oil, GC-MS, Côte D'Ivoire.

ABSTRACT

This research was conducted to contribute to the values of medicinal and aromatic plants of Cote d'Ivoire. As such, we carried out the phytochemical composition of essential oil from *Enantia polycarpa* and *Clerodendrum polycephalum* baker by gas chromatography coupled to mass spectroscopy (GC-MS), estimate the antioxidant activity per spectrophotometer and finally achieve some antimicrobial tests upon reference strain of the Swiss center in Cote d'Ivoire. Thus, we identified 96.61% of the total composition of essential oil from *Enantia polycarpa* leaves which is mainly made up of oxygenated compounds (45.45%) followed by sesquiterpenes (42.42%) and monoterpenes (12.12%). The main compounds are β -Elemene (27.14%), γ -Elemene (23.46%) and α -Pinene (6.43%). Concerning essential oil from *Clerodendrum polycephalum* leaves, 95.84% of the composition was identified. It is mainly composed of sesquiterpenes (69.04%) followed by oxygenated compounds (23.80%) and monoterpenes (7.14%). The main compounds are Caryophyllene (30.27%) and Germacrene D (23.96%). The IC_{50} of essential oil from *Enantia polycarpa* and that of *Clerodendrum polycephalum* are respectively 0.27 (± 0.05) mg/mL and 0.73 (± 0.2) mg/mL. The vitamin C taken as a reference has an IC_{50} of 0.06 (± 0.003) mg/mL. Moreover, the antimicrobial tests have revealed that the essential oil of *Clerodendrum polycephalum* leaves has got no effect upon the tested strains. The essential oil from *Enantia polycarpa* has got no effect on *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida tropicalis* but has got an inhibitory activity on *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella* *blse*, *Candida albicans* and *Candida glabrata*.

Copyright © 2020, KOUASSI Kouamé Séraphin et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: KOUASSI Kouamé Séraphin, KOUAME Bosson Antoine, MAMYRBEKOVA-BEKRO Janat Akhanovna and BEKRO Yves-Alain. 2020. "Composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil from *Enantia polycarpa* and *Clerodendrum polycephalum*.", *International Journal of Current Research*. 12. (02). 9987-9991.

INTRODUCTION

Using plants for the treatment of diseases in Cote d'Ivoire is systematic. Many aromatic plants that produce essential oil are part to species used in the ivorian traditional therapy. *Enantia polycarpa* (*Annickia polycarpa*) is small to medium-size tree up to 20 m; bark smooth to slightly rough or fissured, green to blackish, inner bark fibrous and bright yellow. They are eight (8) species of *E. polycarpa* limited to West and Central Africa, from Sierra Leone to Nigeria and western Cameroon, but one endemic to Tanzania north-eastern. It is traditionally used to treat sores, ulcers, leprosy and ophthalmia. The Guéré use bark extract as a nerve poison of hunting arrows. Bark decoction is also used to treat fever and malaria (Anonymous, 2018).

*Corresponding author: KOUAME Bosson Antoine,
Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles,
UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801, Abidjan 01,
Côte d'Ivoire.

Several phytochemical and antimicrobial tests have been carried out on solvent extracts from the bark (Ambé, 2017; Ajali, 2000; Anonymous). However, the essential oil of the leaves of this plant has not yet been biologically investigated to our knowledge. As for *Clerodendrum polycephalum*, it's an erect or scandent shrub to 4 m high, of savanna and closed jungle, in Guinea to Southern Nigeria, and in Eastern Cameroun. Leaf-sap is used in Côte d'Ivoire to wash the face of persons subject to fainting, giddiness and attacks of epilepsy. It is therefore used in traditional treatment as a painkiller, antidote and for paralysis (Anonymous). The essential oil extracted from *Clerodendrum polycephalum* of Côte d'Ivoire was not studied before. This work is to determine the chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils extracted from the leaves of *Enantia polycarpa* and *Clerodendrum polycephalum*, two aromatic plants species from the flora of Côte d'Ivoire.

MATERIAL AND METHODS

Plant material and hydrodistillation: The vegetable material is composed of leaves of *E. polycarpa* from Azaguié (5° 37' 59.999" N 4° 4' 59.999" W) (Anonymous, 2019) and *C. polycephalum* leaves from Priro (7° 10' 59.999" N 4° 55' 0.001" W) (Anonymous, 2019). They have been identified thanks to herbarium of National Floristic Center of Cote d'Ivoire, respectively under the numbers UCJ001183 and UCJ017398. The material was dried in a room temperature. The essential oil extraction was realised in four (4) hours with a Clevenger type hydro-distiller.

GC-MS analysis: A GC (7890A, Agilent Technologies) instrument coupled with MS (5975C, Agilent Technologies). The liquid sample volume of 1 µL was injected to a liner with 250°C and a split ratio of 100:1. The capillary column HP-5MS was used. Oven temperature programming was as follows: 40°C (hold 5 min), then a rate of 2°C/min to 250°C; then a rate of 10°C/min to 300°C. The carrier gas helium flow was 1 mL/min. Solvent delay: 2 min. The source and transfer line of MS detector were at 230 and 280°C, respectively, while the detector voltage was 1.4 kV, and the scan range of mass-to-charge ratio of ion was 40-500.

In vitro radical scavenging test: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Cat.: D913-2, Lot: STBB0555), is solubilized in the absolute methanol to get concentrated solution of 0.03 mg/mL. 10 mg of essential oil are diluted within 5 mL of the same solvent. Different concentrated ranges comprised between 0.0625 to 2 mg/mL of each sample of essential oil are made by successive dilutions in the absolute methanol. In some dry and sterile tubes we introduce 2.5 mL of essential oil sample and 1 mL of methanolic solution of DPPH. After stirring, we put the tubes in dark for 30 min. the absorbance is then measured with a spectrophotometer (UV-visible WPA S800, N°113648) at 517 nm against a blank consisting of 2.5 mL of pure methanol and 1 mL of alcoholic solution of DPPH. The positive control vitamin C prepared under the same condition as the study samples. The inhibitory half-concentration (IC₅₀) of the sample was determined graphically.

In vitro antibacterial activities Evaluation: The strains used are reference strain from the laboratory of Swiss center in Cote d'Ivoire. Antibacterial activity of the different essential oil with different concentrations was determined against each bacterial strain by Berghe and Vlietinck methods (Berghe, 1991). Inoculum sowing of 1 mL takes 18 to 20 h (10⁵-10⁶ UFC/mL), on Mueller Hinton (MH) agar. After 15 min, some wells are cut, using pasteur pipettes. At the bottom of the wells are closed with a drop of MH agar to limit the diffusion of the oil under the agar. Then, 50 µL of the different dilutions of the oil is poured into each well. After diffusion, the cultures are incubated in incubators at 37 °C for 24 h. The inhibition rings are measured with caliper. 0.1 mL of 18 hours broth of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus*, *klebsiella*, *Candida* is transplanted into 10 mL of MH broth and 0.3 mL for *Staphylococcus aureus* and *epidermidis*. Incubated at 37 °C for 3 to 5 hours until the appearance of a slight opalescence about 5 10⁷ bacteria/mL. Then 1 mL of these broths is added to 10 mL of MH broth warmed before at 37°C (inoculum). Afterward, 100 µL of the extracted solution of essential oil is put in the column n°12 of the microplate, 50 µL of MH broth from the column n° 11 to the n°2 and 100 µL of MH broth in

the column n°1. A dilution from the column n°12 to the n°3 taking 50 µL each time, and 50µL of the inoculum is poured into each well of the columns n°12 to n°2. the reading is made with naked eye after incubation at 37°C during 18h.

RESULTS AND DISCUSSION

Yield of extraction and chemical composition of the essential oils: essential oils extracted from *Enantia polycarpa* (annonaceae) and *Clerodendrum polycephalum* Baker (Verbenaceae) leaves are yellow with output of respectively 0.27±0.005% and 0.13±0.005%, releasing an aromatic odour. The identification of their constituents was realised through GC-MS. The retention indices were determined from retention times (Kovats, 1958; Iupac, 1997). Thirty-three (33) compounds have been identified in the essential oil of *Enantia polycarpa* leaves, that makes 96.61% of the global composition (table1). The oil composition shows 45.45% of oxygenated compound, 42.42% of sesquiterpene and 12.12% of monoterpenes. The main compounds are β-Elementene (27.14%), γ-Elementene (23.46%) and the α-Pinene (6.43%). Yapi and Al (Yapi, 2018), studied the chemical variability of the extracted essential oil from *Enantia polycarpa* leaves, and showed that its composition is dominated by β-Elementene, Germacrene B et D et β-Cubebene. Considering its global composition, the essential oil from *C. Polycephalum* brings out forty one (41) compound, that makes 95.84% (table2). It's mainly composed of sesquiterpenes (69.04%), of oxygenated compounds (23.80%) and of monoterpenes (7.14%). The main compounds are Caryophyllene (30.27%) and Germacrene D (23.96%). According to the bibliography consulted, a study realised by Akintayo and al., on the Nigeria species (Akintayo, 2016), showed that its composition is dominated by forty (40) compounds identified including sesquiterpenes (74.1%); the oxygenated sesquiterpenes (11.9%) and the monoterpenes (10.6%). The main constituents of the oil are β-Caryophyllene (28.9%), α-Murolene (9.0%) and the β-Pinene (8.6%), representing 97.2% the total content of oil. According to this research, both ivoirian and nigerian species have some chemical similarities that seem to depend on pedoclimatic conditions.

Antioxydant activities of essential oil: essential oil possess an antioxydant activity. The essential oil of *E. polycarpa* leaves showed the good activity (IC₅₀ = 0.27± 0.05 mg/mL). Concerning that of *C. Polycephalum*, the activity is comparatively low. (0.73± 0.2) mg/mL. Generally, the essential oil from *E. Polycarpa* activity is relatively high regarding that of *C. polycephalum* leaves for the same given concentration, (Picture 1). The vitamin C (IC₅₀ = 0.06± 0.003 mg/mL) taken as a reference. The huge proportion of oxygenated compositions in the essential oil of *E. polycarpa* leaves could justify its high antioxydant activity ; that is not the case of that of *C. polycephalum* which is mainly composed of sesquiterpenes. In fact, according to the works of Kalemba and al in 2003, the activity of molecules depend on both the lipophilic character of their hydrocarbonate skeleton and the hydrophilic character of their functional group. The oxygenated molecules are generally more active than the hydrocarbon molecule (Oussou, 2009; Sipailiene et al., 2006; Kalemba, 2003).

Antibacterial Activities: The results of the antimicrobial tests have shown that the essential oil of *C. Polycephalum* leaves has got no effect on the bacterial strains and fungi.

Table 1. Constituents identified in the essential oil of *E. Polycarpa* leaves

N°	Compounds	RT (min)	RI	m/z	%
1	α -Pinene	12.74	926.52	136.12	6.43
2	β -Pinene	15.49	969.23	136.12	1.60
3	Limonene	19.25	1024.86	136.12	1.75
4	γ -Terpinene	27.50	1140.86	134.11	0.61
5	Myrtenal	31.08	1191.58	149.80	0.20
6	Copaene	42.95	1370.17	204.10	0.51
7	β -Elemene	44.10	1388.06	204.20	27.14
8	Caryophyllene	45.59	1411.87	204.20	2.87
9	Germacrene D	46.25	1422.71	204.10	0.29
10	Elixene	46.65	1429.28	204.20	2.90
11	Humulene	47.68	1446.14	204.20	0.51
12	β -Guaiene	49.05	1468.67	204.10	0.40
13	β -Selinene	49.66	1478.72	204.20	2.26
14	α -Selinene	50.23	1488.01	204.20	1.00
15	aromadendrene	50.80	1498.35	204.20	3.81
16	Cadina-1(10),4-diene	52.23	1522.08	204.10	0.51
17	Eudesma-4(14),7(11)-diene	52.54	1527.48	204.20	0.36
18	α -Bergamotene	52.89	1533.56	204.20	1.03
19	γ -Elemene	53.79	1549.23	204.20	23.46
20	Caryophyllene Oxide	55.26	1574.69	220.20	4.55
21	HumulèneEpoxide	56.21	1591.29	220.20	0.60
22	HumuleneEpoxide II	56.76	1600.78	220.20	0.58
23	γ -Eudesmol	57.09	1606.79	220.20	1.64
24	Epi-Cubenol	58.02	1623.83	222.20	1.00
25	α -Eudesmol	59.03	1642.03	222.20	0.70
26	Cadinol	59.34	1647.92	222.20	0.95
27	Cadina-1,4-diene-3-ol	59.95	1658.98	220.20	0.66
28	Santalol	60.37	1666.75	222.20	1.55
29	Eudesm-7(11)-en-4-ol	60.88	1676.08	220.0	1.25
30	(E)-Eudesma-4(15),7-dien-12-ol	62.32	1702.45	220.20	1.67
31	14-Hydroxy-alpha-Humulene	62.84	1712.36	220.00	3.22
32	α -Cyperone	63.88	1732.30	218.20	0.46
33	β -Vetivone	68.86	1829.18	202.17	0.16

RT: RetentionTime; RI : Retention Indice

Table 2. Constituents identified in the essential oil of *C. Polycephalum* leaves

N°	Compounds	RT (min)	RI	m/z	%
1	α -Pinene	13.10	932.14	136.10	0.93
2	Oct-1-en-3-ol	16.54	985.52	110.10	0.31
3	3-Octanol	17.67	1002.81	112.10	0.10
4	Limonene	19.64	1030.36	136.10	0.08
5	β -Myrcene	25.03	1105.76	136.00	0.17
6	Elemene d	41.08	1340.96	204.10	0.27
7	α -Cubebene	41.84	1352.84	204.20	0.85
8	α -Copaene	43.43	1377.65	204.20	2.55
9	β -Bourbonene	43.96	1385.89	204.20	3.04
10	β -Cubebene	44.41	1392.90	204.20	2.90
11	β -Elemene	44.57	1395.30	204.00	0.28
12	α -Gurjunene	45.54	1410.95	204.20	4.47
13	Caryophyllene	46.16	1421.21	204.20	30.27
14	β -Gurjunene	46.72	1430.42	204.20	0.92
15	γ -Elemene	47.15	1437.47	204.10	0.13
16	α -Bergamotene	47.31	1440.08	204.20	0.18
17	α -Muurolene	47.66	1445.82	204.20	0.19
18	α -Caryophyllene	48.18	1454.33	204.20	3.98
19	Aromadendrene allo(-)	48.61	1461.47	204.20	2.15
20	2-isopropyl-5-methyl-9-methylene-bicyclo(4.4.0)dec-1-ene	48.79	1464.33	204.20	0.26
21	γ -Cadinene	48.96	1467.20	204.20	0.23
22	Germacrene D	49.95	1483.46	204.20	23.96
23	α -Guaiene	50.30	1489.21	204.20	1.42
24	Bicyclosquiphellandrene	50.51	1492.56	204.2	0.46
25	Bicyclogermacrene	50.83	1497.89	204.20	2.26
26	γ -Muurolene	51.16	1503.49	204.20	0.94
27	Valencene	51.30	1505.97	204.10	0.20
28	Cadina-1(10),4-diene	51.55	1510.20	204.20	0.15
29	Cadina-1,4-diene	51.91	1516.45	204.20	1.29
30	β -Cadinene	52.54	1527.50	204.20	4.06
31	Eudesma-3,7(11)-diene	52.98	1535.12	204.20	0.20
32	Cadina-3,9-diene	53.29	1540.46	204.20	0.24
33	α -Cadinene	54.04	1553.52	204.20	0.31
34	Germacrene B	54.28	1557.67	204.20	1.65
35	Palustrol	54.90	1568.43	222.10	0.29
36	Nerolidol	55.06	1571.28	222.20	1.00
37	Caryophyllene Oxide	56.92	1603.76	222.1	0.67
38	Cubenol	58.43	1631.29	222.20	0.07
39	α -Cadinol	59.19	1645.11	222.10	0.92
40	Guai-1(10)-en-11-ol	59.88	1657.77	222.20	1.17
41	3-(Trifluoromethyl) phenylacetic acid	61.56	1688.50	220.10	0.22
42	2-Tridecyloxirane	63.41	1723.25	226.23	0.10

RT: Retention Time; RI: Retention Indice

Table 3. Diameter of inhibition of essential oil (EO) on bacteria and fungi

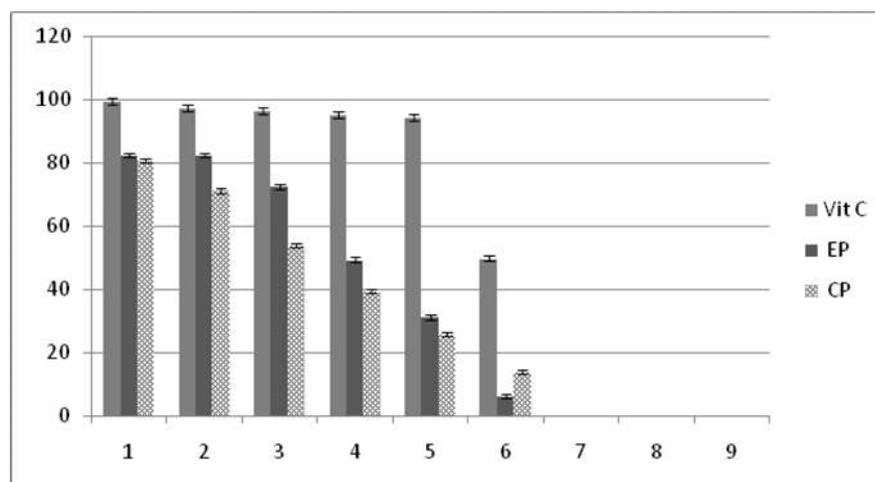
	d.i of EO CP (mm)	d.i of EP EO(mm)	d.i Oxy-tetracycline (reference)(mm)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	08	13	35
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 4.83	-	11	35
<i>Staphylococcus epidermidis</i> CIP.53124	-	-	35
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	30
<i>Salmonella typhimirium</i> SO 66	08	15	25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	33
<i>Klebsiella blse</i>	09	11	35
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	-	-	35
			Amphotericin B (reference)
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	08	18	20
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 13803	08	08	20
<i>Candida glabrata</i> ATCC 66032	08	11	20

d.i : diameter of inhibition, CP : *Clerodendrum polycephalum*, EP : *Enantia polycarpa*

Table 4. Minimum inhibitory and bactericidal concentration of EO of the leaves of *E. Polycarpa*

	MIC mg/ml	MBC mg/ml	MBC/MIC	Effect of the EO
<i>Candida Albicans</i> ATCC 10231	12.5	50	4	bacteriostatic
<i>Candida Glabrata</i> ATCC 66032	6.25	50	8	bacteriostatic
<i>Salmonella Typhimirium</i> SO 66	12.5	50	4	bacteriostatic
<i>Bacillus Subtilis</i> ATCC 6633	6.25	50	8	bacteriostatic
<i>Klebsiella Blse</i>	6.25	50	8	bacteriostatic
<i>Stahylococcus Aureus</i> CIP 4.83	6.25	50	8	bacteriostatic

MIC: Minimal Inhibitory Concentration; MBC : Minimum Bactericidal Concentration

**Picture 1. Histogram of inhibition % of the different extracts**

However, the essential oil composition of *C. Polycephalum* having revealed a huge content in β -Caryophyllene could present good prospects. In fact, in 2014, Klauke and al. conducted a study examining analgesic effects of β -Caryophyllene on some mice that showed that when administrated orally, reduced both answers to inflammatory pains and neuro-inflammations spinals. They concluded that the β -Caryophyllene could be significantly efficaceous in the treatment of long, persistant and handicap pains, (Klauke, 2014). As for the essential oil of *E. polycarpa* leaves, it possesses a weak effect on *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella blse* and *Candida glabrata*. It has a middle effect on *Salmonella typhimirium* and *Candida albicans* with a greater sensitivity on *Candida albicans*. In fact, for a diameter of inhibition (d.i.) inferior or equal to 8 mm, the activity is considered non- existent. Weak for a (d.i.) between 8 and 14 mm; average for (d.i.) between 14 and 20 mm ; high for (d.i.)

superior or equal to 20 mm. The d.i. of oils upon bacteria and fungi are recoded on the Table 3. The MIC and MBC of the essential oil of *E. polycarpa* leaves were determined from the diameter inhibition superior or equal to 11mm (Table 4). The MBC/MIC reports, show that the essential oil of *E. polycarpa* leaves is bacteriostatic, with a greater sensitivity for *Salmonella typhimirium* SO 66 and *Candida albicans* ATCC 10231 thus, It inhibits the multiplication of bacteria without killing them. Inhibiting the bacteria, they could collaborate with the immune system to oust the bacteria from the body.

Conclusion

This study permitted to identify the composition through GC-MS, to evaluate the antioxydant and bacterial activities of essential oil of *Enantia polycarpa* and of *Clerodendrum polycephalum* leaves of Côte d'Ivoire. Thus, the essential oil of *E. polycarpa* leaves is made up of oxygenated compound

(45.45%), of sesquiterpenes (42.42%) and of monoterpenes (12.12%). As for the oil from *C. polycephalum* leaves, it is mainly composed of sesquiterpenes (69.04%), of oxygenated composition (23.80%) and of monoterpenes (7.14%). The main compounds are Caryophyllene (30.27%) and Germacrene D (23.96%). The essential oil of *E. polycarpa* leaves showed the good activity ($IC_{50} = 0.27 \pm 0.05$ mg/ml). For that of *C. Polycephalum* leaves, the activity is relatively weak (0.73 ± 0.2) mg/ml. The results of the antimicrobial tests have shown that the essential oil of *C. Polycephalum* leaves has got no effect on the bacterial strains and fungi. However, the essential oil composition of *C. Polycephalum* having revealed a huge content in β -Caryophyllene could present good prospects. As for the essential oil of *E. polycarpa* leaves, it has got no effect on *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida tropicalis*, but possesses an inhibitory activity on *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *Klebsiella blse*, *Candida albicans* and *Candida glabrata*. Thus, these activities would justify the use of extracted of *E. polycarpa* in the treatment of cutaneous infections and lesions by the populations.

Acknowledgement

The authors would like to thank Gwaenael Chamoulaud and Galyna Shul from the University of Quebec in Montreal for the chromatographic analysis and Touré Sadikou, Technician of the analysis Laboratory of the Swiss center in Côte d'Ivoire for the antimicrobial analysis.

Statement of conflict of interest and source of funding: The Authors declare the absence of conflicts of interest. In addition, no funding source mobilization.

Keypoints

- Chemical composition of essential oil from *Clerodendrum polycephallum* leaves from Côte d'Ivoire ;
- Antioxydant activity of the essential oil of *Enantia polycarpa* and *Clerodendrum polycephallum* leaves from Côte d'Ivoire;
- The inhibitory activity of essential oil of *Enantia polycarpa*'s leaves on *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *Klebsiella blse*, *Candida albicans* and *Candida glabrata*.

REFERENCES

- Ajali U. 2000. Antibacterial activity of *Enantia polycarpa* bark. *Fitoterapia*, 71;3:315-316
- Akintayo L.O., Olamidisun A.O., Isiaka A.O., Moses S.O. 2016. Chemical Composition of Essential Oil from the Leaves of *Clerodendrum polycephalum Baker* growing in Nigeria. *Journal of essential oil-bearing plants JEOP* 19; 1:119-124.
- Ambé A. S. A., Guessennd N. K., Ouattara D. et al. 2017. Botanical survey, phytochemical investigation, and antibacterial activity of aqueous extract of *Enantia polycarpa (DC) Engl. and Diels* stem bark against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytothérapie*, 15; 5:267-273.
- Anonymous, *Annickia polycarpa* (DC.) Setten & Maas. [https://www.prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&g=pe&p=Annickia+polycarpa+\(DC.\)+Setten+&+Maas](https://www.prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&g=pe&p=Annickia+polycarpa+(DC.)+Setten+&+Maas). (03/10/2018) (online).
- Anonymous. *Clerodendrum polycephalum Bak.* (famille LABIATAE). https://plants.jstor.org/stable/10.5555/a1.ap.upwta.5_454. (05/18/2019) (online).
- Anonymous. Coordonnees-gps-de-Azaguié (gps-coordinates-of-Azaguié). <https://www.gps-longitude-latitude.net>. (10/20/2019) (online).
- Anonymous. *coordonnees-gps-de-Prikro (gps-coordinate-of-prikro)*: <https://www.gps-longitude-latitude.net>.(10/20/2019) (online).
- Berghe V.D.A., Vlietinck A.J. 1991. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Methods in plant biochemistry*. Hostettman, K Ed., London: Academic press,1991.
- IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2e edition (Gold Book). Wilkinson Blackwell Scientific Publications, Oxford: 1997.
- Kalembe D., Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10;10: 813-829.
- Klauke A.L., Racz I., Pradier B. 2014. The cannabinoid CB₂ receptor-selective phytocannabinoid beta-caryophyllene exerts analgesic effects in mouse models of inflammatory and neuropathic pain. *European Neuropsychopharmacology*. 24;4:608-620
- Kovats E. 1958. Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil 1: Retentions indices aliphatischer halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone; (Gas chromatographic characterization of organic compounds. Part 1: Retention indices of aliphatic halides, alcohols, aldehydes and ketones). *Helvetica Chimica Acta*: 41;7.
- Oussou K.R. 2009. Etude chimique et activité biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan; (Chemical study and biological activity of essential oils from seven aromatic plants from the Ivorian pharmacopoeia. Doctorate from the University of Cocody-Abidjan): 241.
- Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R., Sarkinas A. 2006. Antimicrobial Activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*. 18;6:698-703.
- Yapi T. A., Ouattara Z. A., Boti J., B. 2018. Composition and Chemical Variability of *Enantiapolycarpa Engl. & Diels* Leaf Essential Oil from Côte d'Ivoire. *Chemistry & Biodiversity*, 15;7.

Author : KOUASSI Kouamé Séraphin (kouassi.seraphin@univ-na.ci)

Co-authors : KOUAME Bosson Antoine, MAMYRBÉKOVA-BÉKRO Janat Akhanovna, BEKRO Yves-Alain

Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN) - UFR-SFA Université Nangui Abrogoua 02 BP 801 Abidjan 02 Côte d'Ivoire

ABSTRACT

This research was conducted to contribute to the values of medicinal and aromatic plants of Côte d'Ivoire. As such, we carried out the chemical composition of essential oil (EO) from *E.praetermissa* aerial part for the first time by gas chromatography coupled to mass spectroscopy (GC-MS) and retention indice GC(RI), estimate the antioxidant activity by spectrophotometer and finally achieve antimicrobial tests on reference strains of Swiss scientific research center in Côte d'Ivoire. EO are obtained by two methods, hydrodistillation (HD) and steam distillation (SD). Results show that EO of aerial part of *E.praetermissa* is composed mainly of oxygenated compound (33.11% - 49.63%) followed by alkenes (25.87% - 23.66%), followed by sesquiterpenes (20.23% - 21.63%) then monoterpenes (14.2% - 3.34%). From the two methods, it's dominated by oxygenated sesquiterpene caryophyllene oxide (27.74% - 24.02%) and the olefinic hydrocarbon 1-undecene (23.66% - 25.58%). EO reveal a very good antioxidant potential, RC_{50} (EO-SD)= 0.014 ± 0.01 mg/mL and RC_{50} (EO-HD) = 0.026 ± 0.01 mg/mL.

The EO of *E.praetermissa* aerial parts has activity on most bacterial strains and fungi tested. It is moderately effective against *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. glabrata* with greater sensitivity against *S. epidermidis* and *K. pneumoniae*. The minimal inhibitory concentrations (MIC) of EO are 3.75 mg/mL. Comparatively, EO-HD inhibit more than EO-SD against *Staphylococcus epidermidis* and *Klebsiella pneumoniae*.

Keys words : *Emilia praetermissa*, Essential oil, antimicrobial activity, Côte d'Ivoire.

INTRODUCTION

Ivorian flora has a great biodiversity that benefits traditional endogenous medicine in Côte d'Ivoire (Milne-Redhead, 1950 ; Hepper, 1963; Nicolson, 1980; Lisowski, 1997 ; Chung et al., 2009).

In Côte d'Ivoire, a survey show that *E. praetermissa* is used against stomach each, malaria, childhood diseases and for pregnancy (Yapi et al. 2015). Literature reveals chemical and biological studies mainly on solvent extracts (Ndji et al., 2017 ; Anaka et al., 2013 ; Afolayan et al., 2017). However, according to the literature consulted, there are no studies on the essential oils of the plant. It is for the strengthening of research for a better knowledge of the phytochemical composition and biological potential of *E.praetermissa* essential oil, that was initiated the present study

MATERIAL AND METHODS

Aerial part of *E. praetermissa* was harvested in Cocody (Abidjan-Côte d'Ivoire). EO was extracted by two methods. They are hydrodistillation by cleverger and steam distillation device.

GC-MS analysis was made in the laboratory of chemical department at Quebec University in Montreal. Retention indices were calculated with retention times (Kovats, 1958; Kováts, 1965 ; IUPAC, 1997. (PubChem- online), Paolini, 2005, Daouda, 2015, Kouassi et al., 2020).

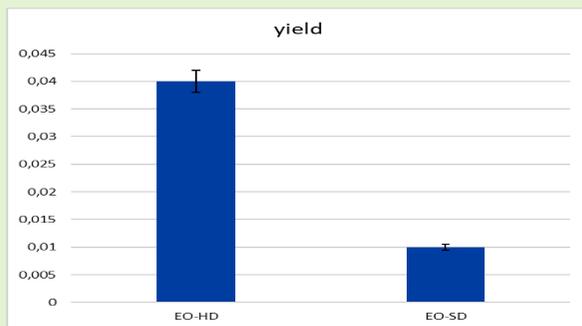
In vitro radical scavenging test with DPPH was made by method of Blois (Blois, 1958). The reducing concentration of 50% (RC_{50}) of the sample was determined graphically.

And In vitro antibacterial activities was evaluated by Berghe and Vlietinck methodology (Berghe et Vlietinck, 1991).

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical composition

Essential oil (EO) These yields could be attributed to several factors including distillation technique, period and harvest area. The higher yields for Cleverger-type hydrodistillation compared to those of EO obtained in steam training could be explained by the recovery device, as the contact surface is wider at the level of the decanting bulb which would promote the dispersion of the EO and therefore more difficult to recover. Taha et al. (2017) have showed that yield from cleverger distillation where also the best in case of *Rosmarinus officinalis* aerial part's distillation.

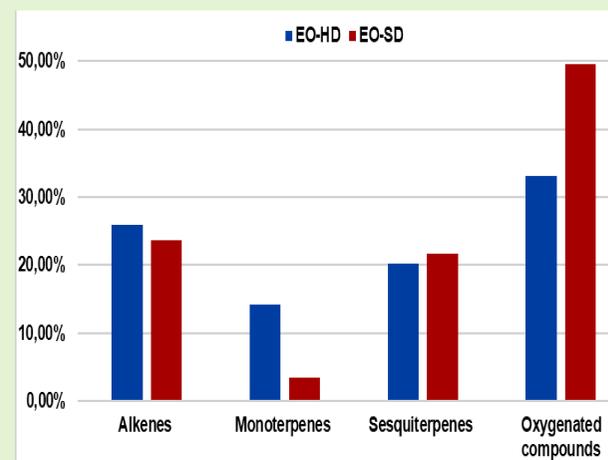


Picture 1: yield of EO

Analysis of EO-HD of aerial parts of *E.praetermissa* yielded thirty-two compound, about 93.41% of EO total composition. The major compound are the alkene 1-undecene (25.58%) followed by a bicyclic sesquiterpene and its oxygenated counterpart, caryophyllene oxide (24.02%) caryophyllene (8.34%).

As for the chemical analysis of EO-SD, it revealed eighteen compound, about 98.26% of the total composition of the EO. It's dominated by caryophyllene oxide (27.74%), 1-undecene (23.66%), phytol (10.82%) and caryophyllene (9.06%).

There is a difference on chemical composition. This could suggest variability quantitatively (Taha et al. 2017) and qualitatively in the composition of EO extracted with extraction methods.



Picture 2: comparative diagram of main chemical families on two EO

Antioxydant potential of EO : Antioxydant potential of EO are evaluated by spectrophotometry, it reveals that EO have very good activity.

EO-SD showed the best antioxydant potential, CR_{50} (EO-SD)= 0.014 ± 0.01 mg/mL, CR_{50} (Vita C)= 0.021 ± 0.01 mg/mL and CR_{50} (EO-HD) = 0.026 ± 0.01 mg/mL. This good antioxidant activity of EO from the aerial parts of *E. praetermissa* could be due to high-level contents of oxygenated compounds in EO-HD and EO-SD. This may explain the fact that EO-SD, which has a larger oxygenated compound, has a higher antioxidant activity. In general, essential oils rich in oxygen compound have more anti-radical activity than hydrocarbon terpene oils (Benov, 1994).

Comparison of inhibition zone of EO-HD and EO-SD against *S. epidermidis* and *K. pneumoniae*

Table1: EO-HD and EO-SD inhibition zones against *S. epidermidis* and *K. pneumoniae*

Strains	EO-SD di(mm)	EO-HD di (mm)	OXYTETRACYCLINE (reference) di(mm)
<i>K. pneumoniae</i>	13	15	30
<i>S. epidermidis</i>	14	15	30

Inhibition diameter EO-SD are inferior than those of EO-HD. But the EO have a bacteriostatic effect against *S. epidermidis* and *K. pneumoniae*. *E. Praetermissa* EO have a good antimicrobial potential like his solvent extracts (Afolayan et al., 2017). It may be a source of new bioactive compound for drug development.

CONCLUSION

This study shows that EO from the aerial parts of *E.praetermissa*, rich in oxygenated compound, has good antioxidant and antimicrobial activities. This could explain the abundant uses of this plant in traditional medicine. Given the potential of *E.praetermissa*, it could be a promising source for the research of bioactive compound. Nevertheless according to the method of extraction of these compound, significant differences could occur. In the case of EO, depending on whether one distills by hydrodistillation or by steam training, there are variations in the colors of oils, yields, chemical compositions and biological activities. According to the study, there are at least 10-30% differences in chemical composition which would imply the difference of other antioxidant and antimicrobial activities. So each extraction method would correspond or be appropriate for a specific use. It would therefore be more beneficial to carry out a preliminary study before any use is made of essential oils.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank Gwaenael Chamoulaud and Galyna Shul from the University of Quebec in Montreal for the chromatographic analysis and Touré Sadikou, Technician from Laboratory of the Swiss scientific research center in Côte d'Ivoire for the antimicrobial analysis.

REFERENCES

- Afolayan C. O., Onifade A. K. and Akindele P.O., (2017). Antimicrobial Activity of *Emilia praetermissa* Leaf Extracts on Organisms Isolated from Patients with Otitis Media Attending Federal Medical Centre Owo and Ondo States Specialist Hospital Akure. *Microbiology Research Journal International*, 19(1), pp1-8.
- Anaka O. N., Owolabi O. J. and Emenike C. F., (2013). Anti-hyperlipidemic effect of aqueous leaf extract of *Emilia praetermissa* milne-redh (Asteraceae) in rats. *International Journal of Biosciences*, 3(5), pp68-77.
- Berghe V. D. A., Vlietinck A. J., (1991). Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Methods in plant biochemistry*. Hostettman, K Ed., London: Academic press.
- Blois M., (1958). Antioxydant determinations by the use of a stable free radical. *Journal Nature*, 181: pp1199-1200.
- Chung K. F., Ku S.M., Kono Y. and Peng C.I., (2009). *Emilia praetermissa* Milne-Redh. (Asteraceae)—A Misidentified Alien Species in Northern Taiwan. *Taiwania*, 54 (4), pp385-390.
- Daouda T., (2015). Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire. Chimie organique. Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire, p154.
- Hepper F.N., Hutchinson J., Dalziel J.M., (1963). Flora of West Tropical Africa. *Crown Agents for Overseas Governments and Administrations*, London, UK, (2), pp244-245.
- IUPAC, (1997). Compendium of Chemical Terminology, 2è édition (le Livre d'or). *Wilkinson Blackwell Scientific Publications*, Oxford. 108p.
- Kalembe D. and Kunicka A., (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, (10), pp813-829.
- Kouassi K. S., Kouamé B. A., Mamyrbékova-Békro J. A., Békro Y-A. (2020). Composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil from *Enantia polycarpa* and *Clerodendrum polycephalum*. *International Journal of Current Research*, 12(2), pp9987-9991.
- Kouassi K. S., Kouamé B. A., Mamyrbékova-Békro J. A., Békro Y-A. (2020). Composition chimique par CPG/SM et activités antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. récoltée en Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, pp1857 - 7881 (Print), e - ISSN 1857- 7431.
- Kouassi K. S., Kouamé B. A., Mamyrbékova-Békro J. A., Békro Y-A., Fofié N. B. Y., (2020). Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils from the leaves of *Premna angolensis* and *Premna quadrifolia*, two Lamiaceae from Côte d'Ivoire. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, 5(8), pp.681-686 ;
- Kovats E., (1958). Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil 1: Retentions indices aliphatischer halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone. *Helvetica Chimica Acta*: 41(7).
- Kováts E., (1965). Gas Chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Advances in Chromatography*, pp229-247.
- Lisowski , (1997). Le genre Emilia (Cass.) Cass. (Asteraceae) dans la Flore de Guinée (Afrique occidentale). *Bull. Jard. Bot. Natl. Belg.* (66), pp201-206.
- Milne-Redhead E., (1950). Tropical African plants: XXI. *Kew Bull.* (5) ; pp375-376.
- National Institutes of Health (NIH). (en ligne : 4 décembre 2020). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- National Institute of Standards and Technology (NIST), (1999). PC Version 1.7 of the NIST/EPA/NIH. *Mass Spectral Library*, the Perkin Elmer Corporation.
- Nicolson D.H., (1980). Summary of cytological information on Emilia and the taxonomy of four Pacific taxa of Emilia (Asteraceae: Senecioneae). *Syst. Bot.* (5), pp391-407.
- Ndji O. G. L., Amang A. P., Mezui C., Nkwengoua Z. E., Enow-Orock E.G., Tan P. V. and Nyasse B., (2017). Toxicological Studies of Ethanolic Extract of *Emilia praetermissa* Milne-Redh (Asteraceae) in Rats. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 11(4), pp1-14.
- Paolini J., (2005). Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM (IE et IC) et RMN du carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux Asteraceae endémiques de Corse : *Eupatorium cannabinum* subsp. corsicum et *Doronicum corsicum*. Chimie. Université de Corse. p343.
- Taha E. K., Faouzi E., Noureddine E., Houmane M., Rachida C., Abdellatif B., (2017). Comparaison Quantitative Et Qualitative Des Huiles Essentielles De Rosmarinus Officinalis Obtenues Par Différentes Méthodes. *European Scientific Journal*; 13(21), pp172-182.
- Yapi A.D., Kassi N.J., Fofié N.B. Y., Zirih G.N.(2015). Etude ethnobotanique des Asteraceae médicinales vendues sur les marchés du district autonome d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9 (6):pp2633-2647.

Résumé :

Cette étude est premièrement une contribution à la caractérisation phytochimique et des activités biologiques des huiles essentielles issues des plantes aromatiques de la flore ivoirienne. Deuxièmement, une contribution à un usage optimal des huiles essentielles par le choix de la technique d'extraction. L'huile essentielle de cinq plantes aromatiques de la flore ivoirienne a été extraite par deux méthodes : l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau. D'abord les huiles essentielles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM) et associée aux indices de rétentions (CPG-IR). Ensuite leurs activités antioxydante et antimicrobienne ont été évaluées. L'étude a révélé dans tous les cas plus de composés dans l'huile essentielle extraite par hydrodistillation. Le composé majoritaire lorsqu'il est le même a une teneur plus élevée dans le cas de l'entraînement à la vapeur d'eau. Les huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau ont une activité antioxydante qui est toujours plus grande que celle des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation. Quant à l'activité antimicrobienne, elle se situe dans le même intervalle pour les deux méthodes.

Donc chaque méthode d'extraction correspondrait ou serait appropriée à un usage spécifique. Il serait plus bénéfique donc de faire une étude préalable avant un quelconque usage des huiles essentielles.

Mots clés : Huiles essentielles, hydrodistillation, entraînement à la vapeur, Côte d'Ivoire.

Abstract :

This study is firstly a contribution to the phytochemical characterization and biological activities of essential oils from aromatic plants of the ivorian flora. Secondly, a contribution to the optimal use of essential oils by choosing the extraction method.

The essential oil of five aromatic plants of the ivorian flora was extracted by two methods : hydrodistillation and steam entrainment.

At first the essential oils were analyzed by gas chromatography coupled with mass spectroscopy (GC-MS) and associated with retention indice (GC-RI). Then their antioxidant and antimicrobial activities were evaluated. The study revealed more compound in the essential oil extracted by hydrodistillation. The majority compound when it is the same has a higher content in the case steam training. Essential oils obtained by steam entrainment have an antioxidant activity that is always greater than that of essential oils obtained by hydrodistillation. Antimicrobial activity is in the same range for both methods.

So each extraction method would correspond or be appropriate for a specific use. It would therefore be more beneficial to carry out a preliminary study before any use of essential oils.

Keys words : Essential oils, hydrodistillation, steam distillation, Côte d'Ivoire.
