



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE

UFR ENVIRONNEMENT

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique

ANNEE ACADEMIQUE :
2020-2021

N° D'ORDRE : 0504/2021

N° CARTE D'ETUDIANT :

CI0416008446

MASTER

Physique-Chimie Appliquée

Option : Environnement

THEME :

**Caractérisation chimique des huiles essentielles
de *Crassocephalum sp* (Asteraceae)**

LABORATOIRE :

Sciences et
Technologies de
L'Environnement
(LSTE)

Présenté par :

CISSÉ Mamadou

JURY

Président : Mme. TRAORE OUATTARA Karidia, Professeur Titulaire,
Université Jean LOROUGNON GUEDE

Directeur : M. DONGUI Bini Kouamé, Professeur Titulaire,
Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ

Encadreur : M. KOUAME Bi Koffi François Prévost, Maître-Assistant,
Université PELEFORO GON COULIBALY

Examineur : M. OUSSOU Kouamé Raphael, Maître-Assistant,
Université Jean LOROUGNON GUEDE

Soutenu publiquement

Le : 16-10-2021

ANNEE ACADEMIQUE
: 2020-2021

N°D'ORDRE :
.....

N°CARTED'ETUDIANT:
CI0416008446

LABORATOIRE :
Sciences et
Technologies de
L'environnement

Soutenu
publiquement
le :

MASTER

Physique-Chimie Appliquée

Option : Environnement

THEME :

**Caractérisation chimique des huiles
essentielles de *Crassocephalum sp* (Asteraceae)**

Présenté par :

CISSÉ Mamadou

JURY

**Président : Mme. TRAORE OUATTARA Karidia, Professeur Titulaire,
Université Jean LOROUGNON GUEDE**

**Directeur : M. DONGUI Bini Kouamé, Professeur Titulaire,
Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ**

**Encadreur : M. KOUAME Bi Koffi François Prévost, Maître-Assistant,
Université PÉLÉFORO GON COULIBALY**

**Examineur : M. OUSSOU Kouamé Raphael, Maître-Assistant,
Université Jean LOROUGNON GUEDE**

DEDICACE

A mon feu père Cissé Bamory pour l'éducation, les valeurs morales, le sens de la responsabilité que tu m'as inculqué ainsi que les sacrifices consentis à mon égard. Tu as choisi de faire de moi quelqu'un de studieux en me mettant sur la voie qui mène sans nul doute aux découvertes diverses. J'aimerais tant que tu sois parmi nous en ce jour exceptionnel, mais parce que la mort est la finalité de tout début, un fait irréversible, un chemin où chacun passera, tu es absent. Chère père que Seigneur vous bénisse là où vous êtes. Je ne cesserai jamais de prier pour vous de mon vivant.

REMERCIEMENTS

Nous venons par ces lignes pour exprimer notre profonde reconnaissance à toutes les personnes ressources sans le soutien desquelles ce travail n'aurait pu être réalisé.

A **Mme TIDOU Abiba Sanogo épouse KONE**, Professeur Titulaire, Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG) nous disons merci, pour son dialogue avec tout le personnel enseignant et administratif de ladite Université qui nous a permis de travailler toutes ces années dans un climat plus ou moins apaisé.

A mon jury :

Je remercie mon encadreur Docteur **KOUAME Bi Koffi François Prévost**, Maître-Assistant, pour son sens élevé d'humanisme qui m'a permis de m'engager dans ce travail. Merci pour votre ouverture d'âme et d'esprit, vos analyses précises et concises, votre rigueur, votre patience de tous les moments lors de ce travail,

Je remercie la présidente **Mme. TRAORE Karidia**, Professeur Titulaire, vous m'avez fait le grand honneur d'accepter de nous diriger dans ce travail avec bienveillance et rigueur. Votre attachement au travail bien fait est l'objet de ma considération.

Je remercie mon directeur scientifique **DONGUI Bini Kouamé**, Professeur Titulaire, nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de ce travail. Nous avons pour vous l'estime et le respect qu'imposent votre compétence, votre sérieux et votre qualité d'enseignement.

Je remercie mon examinateur Docteur **OUSSOU Kouamé Raphael**, Maître-Assistant, c'est un réel plaisir et un honneur pour nous de vous compter parmi les membres de jury de ce mémoire. Malgré vos nombreuses occupations vous avez accepté de juger ce travail.

A toute ma famille :

Je remercie du fond du cœur ma mère, vous avez été pour moi au long de mes études, le plus grand symbole d'amour et de dévouement qui n'ont jamais cessé ni diminué.

Tous mes sincères remerciements à toutes mes tantes et tous mes oncles pour votre présence active et réconfortante, votre patience, votre écoute et votre engagement, et tout ceci pour la confiance que vous avez mise en moi.

A tous ceux que j'ai oublié, je m'en excuse et je vous remercie aussi

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	i
ABREVIATIONS ET SYMBOLES	iv
LISTE DES TABLEAUX	v
LISTE DES FIGURES	vi
INTRODUCTION	1
PARTIE I : GÉNÉRALITÉS	3
1.1 GENERALITES SUR LA FAMILLE DES ASTERACEAE (HUMBERT, 1963)	3
1.2 GENERALITES SUR LE GENRE <i>CRASSOCEPHALUM</i>	3
1.2.1 UTILISATIONS TRADITIONNELLES	3
1.2.2 METABOLITES SECONDAIRES SIGNALES	4
1.2.2.1 Métabolites secondaires non volatils et activités biologiques	4
1.2.2.2 Métabolites secondaires volatils et activités biologiques	5
1.3 GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES	6
1.3.1 DEFINITION DES HUILES ESSENTIELLES	6
1.3.2 LOCALISATION ET LIEU DE SYNTHÈSE	7
1.3.3 METHODES D'EXTRACTION	7
1.3.3.1 Enfleurage et Macération	7
1.3.3.2 Expression	7
1.3.3.3 Distillation : Hydrodistillation	7
1.3.3.4 Entraînement à la vapeur	8
1.3.3.5 Entraînement à la vapeur saturée	8
1.3.3.6 Extraction aux solvants volatils	8

1.3.3.7	Extraction au CO ₂ supercritique-----	9
1.3.4	PROPRIETES PHYSIQUES DES HUILES ESSENTIELLES.....	9
1.3.5	METHODES D'ANALYSE.....	9
1.3.5.1	Chromatographie en phase gazeuse (CPG) associée aux indices de rétention -----	9
1.3.5.2	Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse - -----	11
1.3.6	COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES	12
1.3.6.1	Les monoterpènes -----	12
1.3.6.2	Les sesquiterpènes-----	13
1.3.7	FACTEURS INFLUENÇANT LA COMPOSITION CHIMIQUE	14
1.3.8	CHEMOTYPE DES HUILES ESSENTIELLES	15
PARTIE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES -----		16
2.1	MATERIEL _____	16
2.1.1	MATERIEL VEGETAL.....	16
2.1.2	MATERIEL DE LABORATOIRE.....	16
2.1.2.1	Le matériel technique -----	16
2.1.2.2	Solvants et gaz -----	17
2.2	METHODES _____	17
2.2.1	METHODE D'EXTRACTION.....	17
2.2.2	METHODES CHROMATOGRAPHIQUES ANALYTIQUES.....	18
2.2.2.1	Chromatographie en phase gazeuse (CPG)-----	19
2.2.2.2	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) -----	19

PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION	-----20
3.1 RESULTATS	_____ 20
3.1.1 DIAGRAMME ET CARACTERISATIONS 20
3.1.1.1 Caractérisations de l'extrait	-----20
3.1.1.2 Caractérisations des huiles essentielles extraites des feuilles de <i>Crassocephalum sp</i>	-----20
3.1.1.3 Diagramme de distribution des constituants chimiques	-----24
3.2 DISCUSSION	_____ 24
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	-----22
RÉFÉRENCES	-----27

ABREVIATIONS ET SYMBOLES

CPG	: Chromatographique en Phase Gazeuse
CPG-SM	: Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (<i>Gaz Chromatography-Mass Spectrometry</i>)
KI	: Indice de Kovats (Kovats Indice)
NIST	: Base de données (<i>National Institute of Standards and Technology</i>)
RI	: Indice de Retention (Retention Indice)
SM	: Spectrométrie de Masse (<i>Mass Spectroscopy</i>)

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Caractéristiques de l'extrait des feuilles de *Crassocephalum sp*-----20

Tableau II : Composition chimique des huiles essentielles et des feuilles de *Crassocephalum sp*

KI : Kovats indices RI : Rétention Indices -----21

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Quelques composés majoritaires des huiles essentielles extraites de différentes parties de <i>Crassocephalum crepidioides</i> (Joshi, 2011; Joshi, 2014; Hung <i>et al.</i> , 2019) ----	6
Figure 2 : Système d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau saturée. -----	8
Figure 3 : Exemples de structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles (Choho, 2018)-----	12
Figure 4 : Exemples de structures de sesquiterpènes (Djibo, 2002)-----	13
Figure 5 : Quelques composés des huiles essentielles (Bedi <i>et al.</i> , 2003; Besombes, 2008) --	14
Figure 6 : les feuilles de <i>crassocephalum sp</i> -----	16
Figure 7 : Dispositif d'extraction avec appareil de type Clevenger (Oussou, 2009)-----	18
Figure 8 : Composés majoritaires des huiles essentielles des feuilles de <i>Crassocephalum sp</i>	24
Figure 9 : Distribution en pourcentage des différents composants des huiles essentielles des feuilles de <i>Crassocephalum sp</i> -----	24

INTRODUCTION

La médecine traditionnelle à base de plantes est largement connue en raison de la disponibilité aisée et du faible coût (Iwu *et al.*, 1999). Les remèdes peuvent inclure des parties entières de la plante ou principalement être préparés à partir de feuilles, racines, écorces, graines ou fleurs. Ils sont administrés par voie orale, inhalés ou directement appliqués sur la peau (Westh *et al.*, 2004). La valeur médicinale de ces plantes réside dans la bio-activité des constituants phytochimiques qui produisent des actions physiologiques sur le corps humain (Hill, 1952). Les plus importants des constituants phytochimiques bioactifs sont les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes, les saponosides, les composés phénoliques et les huiles essentielles (Solecki, 1975).

Les huiles essentielles et l'aromathérapie sont utilisées depuis des siècles par de nombreuses civilisations, remontant à la Chine et à l'Égypte antiques. Il existe de nombreuses références écrites rapportant les utilisations bénéfiques de certaines huiles essentielles telles que l'encens, la myrrhe ou le romarin dans la Bible. Depuis quelques années, en raison de son efficacité indéniable, la phyto-aromathérapie s'installe progressivement dans la vie quotidienne des personnes à la recherche de moyens thérapeutiques naturels, aux effets secondaires les moins agressifs possible. Cependant l'emploi systématique des remèdes à base d'huiles essentielles ne se fait pas sans risque. Cela nécessite en amont une étude phytochimique. Cette nécessité passe par la détermination de la composition chimique des huiles essentielles extraites des plantes médicinales. Notre étude a choisi de s'inscrire dans ce cadre.

C'est dans cette optique que le présent travail envisage l'étude phytochimique des feuilles de *Crassocephalum sp*, une nouvelle espèce du genre *Crassocephalum* et de la famille des Asteraceae, qui n'a pas encore été décrite dans la littérature.

L'objectif général est de contribuer à la valorisation des plantes médicinales tropicales et à la connaissance phytochimique, du genre *Crassocephalum*. Pour mener à bien l'étude phytochimique sur l'espèce *Crassocephalum sp*, nous nous sommes appuyés sur deux objectifs spécifiques qui sont :

- isoler les huiles par la méthode de l'entraînement à la vapeur d'eau,
- déterminer la composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *crassocephalum sp* par chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (CPG-SM).

Le mémoire comprendra trois principales parties, outre l'introduction, la conclusion et les perspectives. La première partie sera consacrée à une synthèse bibliographique, à savoir les généralités sur la famille, le genre de l'espèce végétale étudiée, et sur les huiles essentielles. La deuxième partie présentera le matériel et les méthodes utilisés pour l'étude phytochimique. Enfin la troisième partie portera sur les résultats obtenus et la discussion.

PARTIE I : GÉNÉRALITÉS

1.1 Généralités sur la Famille des Asteraceae (Humbert, 1963)

La famille des Asteraceae à laquelle appartient *Crassocephalum sp*, est un grand groupe cosmopolite comportant 1 314 genres et 21 000 espèces. C'est la famille la plus importante, répandue dans le monde entier, mais principalement dans les régions tempérées. Elle comprend des plantes herbacées, lianescentes ou succulentes, et aussi des buissons à grands arbres hermaphrodites, monoïques ou rarement dioïques. Les feuilles sont alternées simples, entières ou parfois spinescentes ressemblant à des écailles. Les inflorescences axillaires ou terminales sont en capitules et portent de petites à grandes fleurs régulières ou irrégulières, sous-tendues par un involucre de bractées disposées sur un seul ou plusieurs verticilles. Les capitules sont solitaires ou ramifiés de type corymbiforme ou paniculés, munis ou non de bractées. Les inflorescences sont composées soit d'un type, soit de deux types de fleurs, avec des fleurs centrales bisexuées et des fleurs périphériques femelles par avortement des étamines. Le fruit est un petit akène sec indéhiscent couronné ou non par le pappus soyeux ou sétacé, ou parfois par la base durcie de la corolle. L'albumen est absent.

1.2 Généralités sur le genre *Crassocephalum*

Le genre *Crassocephalum* appartient à la très grande et très répandue famille Astéraceae dans la tribu Senecioneae. Il a été rapporté que le genre *Crassocephalum* comprend près de 24 espèces (Wagner *et al.*, 1999) dont certaines ont des vertus médicinales.

1.2.1 Utilisations traditionnelles

Plusieurs espèces du genre *Crassocephalum* sont utilisées en médecine traditionnelle pour leur vertu thérapeutique. *Crassocephalum bauchiense* Huch est couramment utilisée en médecine traditionnelle camerounaise. L'extrait des feuilles a été utilisé pour traiter plusieurs maladies, notamment l'épilepsie, la douleur, l'arthrite, les douleurs intestinales et les coliques (Arbonnier, 2009). Une décoction de feuilles de cette plante a été signalée comme étant utile pour soulager la bronchite et la fièvre qui l'accompagne. Selon les guérisseurs traditionnels camerounais, la plante est également efficace en cas de déficit cérébral, de troubles du comportement chez les enfants déficients mentaux, de troubles inflammatoires et de douleurs neuropathiques (Taïwe *et al.*, 2012).

En Indonésie, les feuilles de *Crassocephalum crepidioides* sont utilisées contre les ulcères (Lestari *et al.*, 2015) et contre divers maux, tels que les troubles digestifs, les maux de tête, les maux d'estomac. *Crassocephalum crepidioides* est également utilisée comme légume nutraceutique comme anthelminthique, anti-inflammatoires, antidiabétique et antipaludique et pour traiter les plaies au Bénin, Nigéria et au Vietnam (Dairo *et al.*, 2007; Adjatin *et al.*, 2012; Adjatin *et al.*, 2013; Vu *et al.*, 2017).

Traditionnellement, *C. crepidioides* est employée au Cameroun pour se débarrasser des vers intestinaux (Noumi *et al.*, 2001), en Ouganda pour traiter le virus de l'immunodéficience humaine/SIDA (Lamorde *et al.*, 2010) et en Côte d'Ivoire, les femmes enceintes se servent de cette plante pour faire bouger le bébé (Malan *et al.*, 2011).

1.2.2 Métabolites secondaires signalés

1.2.2.1 Métabolites secondaires non volatils et activités biologiques

Des recherches phytochimiques sur des espèces du genre *Crassocephalum* ont permis de découvrir une variété d'alcaloïdes, de diterpènes et de coumarines (Asada *et al.*, 1985, Kongsaree *et al.*, 2003; Taiwe *et al.*, 2012). Certains de ces composés ont montré une activité biologique. Des études ont montré que le diterpène labdane isolé des parties aériennes séchées de *crassocephalum manni* a une activité anti-inflammatoire grâce à son action inhibitrice de la cyclooxygénase (Liu *et al.*, 2006; de las Heras *et al.*, 2007; Taiwe *et al.*, 2012). L'extrait aqueux et la fraction alcaloïde des feuilles de *Crassocephalum bauchiense* ont présenté des effets antinociceptifs significatifs dans les tests d'acide acétique, au formol, au glutamate et au capsaïcine (Taiwe *et al.*, 2012).

D'autres travaux de recherches ont permis d'identifier des feuilles de *Crassocephalum crepidioides* des saponines, tanins, flavonoïdes, stéroïdes et des polyphénols (Adjatin *et al.*, 2013; Lestari *et al.*, 2015). Les polyphénols peuvent protéger les cellules du corps humain contre les dommages causés par les radicaux libres, inhiber l'hydrolyse et les enzymes oxydatives et agir comme antibactérien (Pourmorad *et al.*, 2006).

Il a été démontré une activité anticancéreuse de *C. crepidioides* par un effet protecteur contre les dommages oxydatifs des cellules hépatiques. (Aniya *et al.*, 2005; Hou *et al.*, 2007). Des recherches ont également montré que l'extrait méthanolique des feuilles de cette plante possède des propriétés anticoagulantes (Ayodele *et al.*, 2019).

1.2.2.2 Métabolites secondaires volatils et activités biologiques

Des études sur les métabolites secondaires volatils (huiles essentielles) ont été réalisées sur une seule espèce du genre *Crassocephalum*, l'espèce *Crassocephalum crepidioides*.

Au Vietnam, les principaux composés des huiles essentielles extraites des fleurs de *Crassocephalum crepidioides*, sont le myrcène (43,3%), le β -phellandrène (10,7%) et le cryptone (8,1%). Cette composition chimique est semblable à celle des feuilles qui sont également riches en myrcène (59,3%), β -phellandrène (11,9%) et cryptone (6,4%) (Hung *et al.* 2019). Cependant, la composition chimique des huiles essentielles des tiges, diffère légèrement avec celles des feuilles et fleurs. Les huiles des tiges ont comme composés majoritaires le myrcène (26,1%), l' α -pinène (10,7%), l' α -humulène (5,9%) et le (*E*)- β -farnésène (5,2%). En revanche, les huiles essentielles des fleurs et des parties aériennes (feuilles + tiges) de la plante récoltée à l'Ouest de l'Inde (Joshi, 2011) ont des compositions chimiques proches de celles du Vietnam. Les huiles essentielles extraites des fleurs de l'Inde contiennent 46,1% de myrcène et 31,0% de β -phellandrène et les huiles essentielles des parties aériennes contiennent 45,3 % de myrcène et 20,2 % de β -phellandrène (Joshi, 2011). La cryptone, qui était relativement abondante dans les huiles essentielles du Vietnam n'a été observée que dans de faibles proportions (0,1 %) dans les huiles de l'Inde. Tandis que les huiles essentielles des racines de *C. crepidioides* de l'Inde montrent une composition chimique différente de celles des fleurs et des tiges. Les racines sont riches en (*E*)- β - farnésène (30,6%), α -humulène (10,3%), β -caryophyllène (7,2 %), *cis*- β -guaiène (6,1 %) et α -bulnesène (5,3 %) (Joshi, 2014). La Figure 5 présente les structures des composés majoritaires des huiles essentielles extraites des différentes parties de *C. crepidioides*.

Les huiles essentielles de *C. crepidioides* ont montré une excellente activité larvicide contre trois espèces de moustiques dans une étude comparative de l'activité larvicide de nombreuses huiles essentielles. Cette activité des huiles essentielles est probablement due à la forte quantité de myrcène qui est aussi connu pour ses propriétés larvicides (Hung *et al.* 2019).

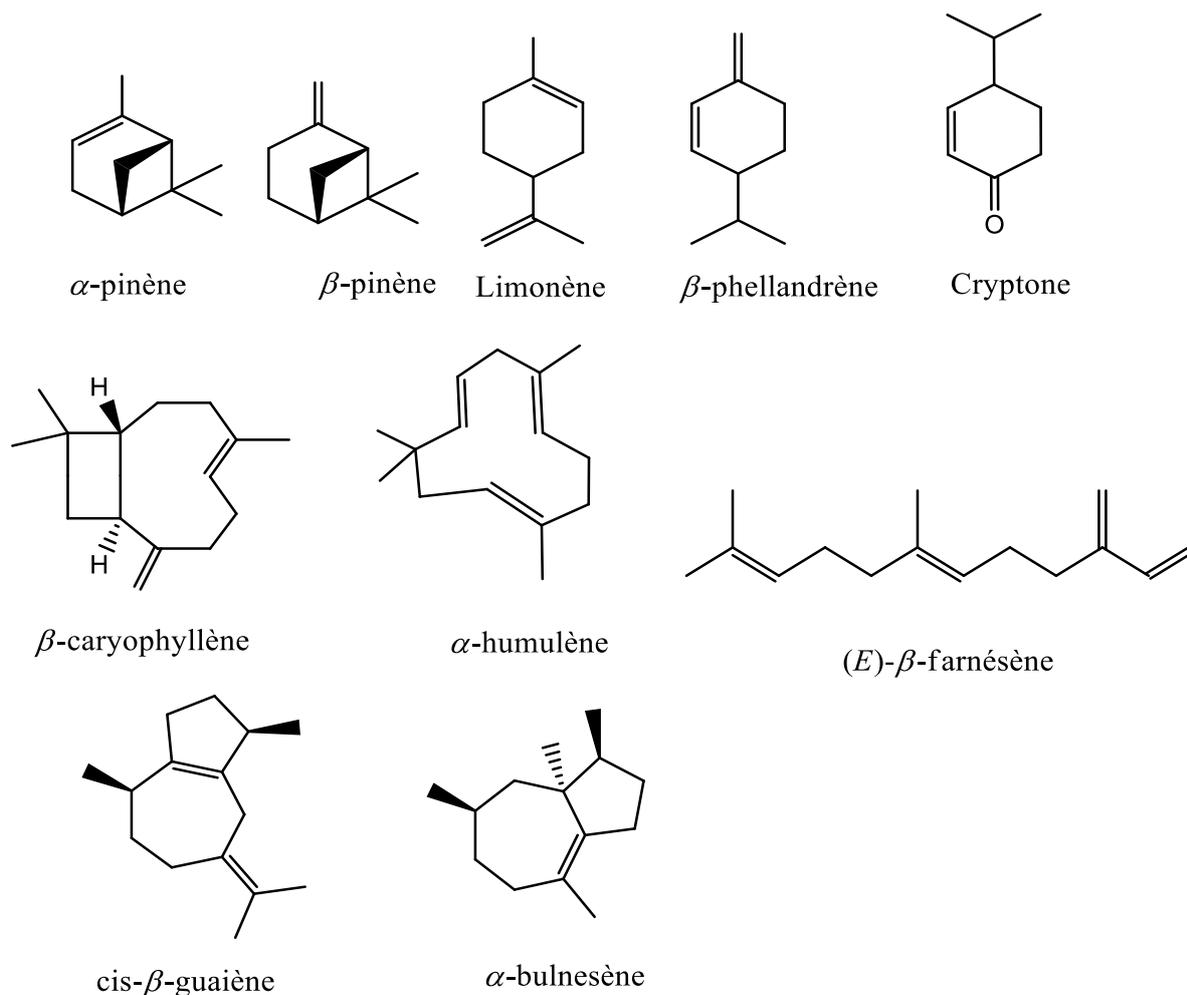


Figure 1 : Quelques composés majoritaires des huiles essentielles extraites de différentes parties de *Crassocephalum crepidioides* (Joshi, 2011; Joshi, 2014; Hung *et al.*, 2019)

1.3 Généralités sur les huiles essentielles

1.3.1 Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique (Kalembe *et al.*, 2003). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (Burt, 2004), mais également à partir de gommés qui s'écoulent du tronc des arbres. De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone

liquide à basse température et sous haute pression (Santoyo *et al.*, 2005) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (Kimbaris *et al.*, 2006).

1.3.2 Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, bois racines, rhizomes, fruits et graines. La synthèse et l'accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées à la surface de la plante : cellules à huiles essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae, polis sécréteurs des Lamiaceae, des poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae, canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae (Bruneton, 1993). Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe (Fahn, 1979; Fahn, 1988).

1.3.3 Méthodes d'extraction

1.3.3.1 Enfleurage et Macération

Cette technique est la plus ancienne, très couteuse et peu employée aujourd'hui. On l'utilise pour des fleurs sensibles, ne supportant pas un chauffage trop élevé, comme par exemple le jasmin, la violette et la rose. Les fleurs sont mises à macérer dans des graisses ou des huiles et chauffées (bain-marie ou soleil) puis étalées sur des châssis en bois pendant plusieurs jours. Une fois gorgés de parfum, les corps gras sont filtrés au travers de tissus de lin ou de coton. Les huiles sont ensuite lavées à l'alcool pur, filtrées et évaporées (Hertog, 1996; Ren *et al.*, 2003; Bagre *et al.*, 2011; Deng *et al.*, 2011).

1.3.3.2 Expression

C'est une technique simple où les écorces des agrumes sont pressées à froid pour extraire les huiles essentielles (Hertog, 1996; Ren *et al.*, 2003; Bagre *et al.*, 2011; Deng *et al.*, 2011).

1.3.3.3 Distillation : Hydrodistillation

La distillation est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. Le matériel végétal dans un minimum d'eau est chauffé jusqu'à ébullition ; l'huile essentielle s'évapore alors avec les vapeurs dégagées, puis est condensée (elle redevient liquide lorsqu'on la refroidit) et séparée de l'eau (Hertog, 1996; Ren *et al.*, 2003; Bagre *et al.*, 2011; Deng *et al.*, 2011).

1.3.3.4 Entraînement à la vapeur

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, le procédé de l'entraînement à la vapeur a été mis au point. La masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur est pulsée. Les cellules se distendent et les particules d'huile se libèrent. Ces dernières sont alors vaporisées et condensées dans un serpentin réfrigéré. La récupération de l'huile essentielle se fait de la même manière que dans le cas de l'hydrodistillation (Hertog, 1996; Ren *et al.*, 2003; Bagre *et al.*, 2011; Deng *et al.*, 2011).

1.3.3.5 Entraînement à la vapeur saturée



Figure 2 : Système d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau saturée (Franchomme *et al.*, 1990).

La distillation à la vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques. En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition de l'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées (Holley & Patel, 2005).

1.3.3.6 Extraction aux solvants volatils

Cette méthode est appropriée aux fleurs ne supportant pas la chaleur, les solvants très volatils comme l'éther et l'hexane qui s'évaporent facilement à basse température sont employés. Les végétaux sont placés dans d'énormes cuves en acier appelées extracteurs et soumis à des lavages successifs aux solvants qui se chargent ainsi de leur parfum. Après décantation et filtration, le solvant est évaporé afin d'obtenir une sorte de pâte fortement odorante appelée concrète. Après

une série de lavages à l'alcool dans des batteuses mécaniques et de glaçages, la concrète donne naissance à une essence pure appelée absolue (Hertog, 1996; Ren *et al.*, 2003; Bagre *et al.*, 2011; Deng *et al.*, 2011).

1.3.3.7 Extraction au CO₂ supercritique

Il s'agit de la technique la plus récente d'extraction à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique : le CO₂. Sous pression (plus de 75 bars) et à température de 31°C, le gaz carbonique se trouve dans un état "supercritique". Au départ de l'extraction au CO₂ supercritique, les végétaux broyés sont placés dans des "paniers" cylindriques équipés de filtres aux deux extrémités. Les paniers sont ensuite placés dans l'extracteur, où une pompe assure la circulation du CO₂ à l'état supercritique. L'huile essentielle est alors dissoute dans le CO₂ sous forme de fluide. Celui-ci est ensuite rendu à l'état gazeux et se sépare du composé extrait, avant d'être envoyé dans le liquéfacteur pour être réutilisé (Hertog, 1996; Ren *et al.*, 2003; Bagre *et al.*, 2011; Deng *et al.*, 2011).

1.3.4 Propriétés physiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des liquides à température ordinaire, d'odeur aromatique très prononcée, généralement incolores ou jaune pâle à l'exception de quelques huiles essentielles telles que l'huile de l'Achillée et l'huile de la Matricaire. Ces dernières se caractérisent par une coloration bleue à bleu verdâtre, due à la présence de l'azulène (C₁₀H₈) et du chamazulène (C₁₄H₁₆) (Vangelder, 2017).

La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînaibles à la vapeur d'eau ; il existe, cependant, des exceptions telles que les huiles essentielles de Sassafras, Clou de Girofle et de Cannelle dont la densité est supérieure à celle de l'eau. Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire (Duraffourd *et al.*, 1990).

1.3.5 Méthodes d'analyse

1.3.5.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG) associée aux indices de rétention

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique séparative qui s'applique principalement aux composés naturellement volatils, mais aussi à des molécules qui peuvent être rendues volatiles, à des températures ne provoquant pas leur décomposition. On procède

par des réactions d'acétylation ou de silylation (réactions de dérivatisation) (Bielicka-Daszkiewicz *et al.*, 2004; Rojas-Escudero *et al.*, 2004). La CPG fait partie des techniques de séparation les plus répandues et des plus utiles dans les laboratoires de chimie analytique. Cela est lié à son extrême sensibilité, à sa polyvalence, à sa rapidité de mise au point d'analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation. La CPG est couramment utilisée dans le domaine des mélanges complexes tels que les huiles essentielles. Elle permet une évaluation qualitative et quantitative de la composition chimique des échantillons. Le principe de cette technique s'appuie sur l'affinité des différents composés présents dans ces mélanges complexes à une phase dite stationnaire. Leur détection est possible même pour des teneurs inférieures au nanogramme. Cette technique présente également une bonne adaptabilité, grâce à un grand choix de phases stationnaires, de phases mobiles (hélium, argon, azote ou encore hydrogène) et de températures (isotherme ou programmée). La CPG permet aussi, grâce à la prise en compte des aires des pics, de fournir une quantification relative des constituants.

L'affinité des composés aux phases stationnaires des colonnes capillaires de chromatographie induit un temps spécifique de passage, lors de leur élution dans ces colonnes, appelé temps de rétention. Mais, la seule connaissance ou utilisation des temps de rétention (t_r) pour l'identification des composés n'est cependant pas suffisante. En effet, cette valeur dépend fortement de plusieurs paramètres telles que les conditions expérimentales (programmation de température) ou la phase stationnaire utilisée (nature, vieillissement). Aussi, dans le domaine des huiles essentielles, les constituants sont caractérisés par un couple d'indices de rétention (I_r) obtenus sur des colonnes capillaires de nature différente, l'un sur colonne apolaire et l'autre sur colonne polaire. Ces indices, plus fiables que les temps de rétention, sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane linéaires à température constante (Indice de Kováts, I_K) (Kováts, 1965) ou en programmation de température (Indices de rétention, I_r) (Van Den Dool *et al.*, 1963). On les compare ensuite avec ceux de composés de référence, mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature.

Des difficultés résident néanmoins dans l'utilisation de la CPG associée aux indices de rétention. Ce sont :

- les écarts fréquemment constatés entre les indices de rétention obtenus au laboratoire avec ceux de la littérature pour un même composé, tout particulièrement pour les composés élués en fin de colonne sur colonne polaire,

- l'impossibilité d'identifier des sesquiterpènes uniquement sur la base des indices de rétention. Par exemple, (Joulain, 1994) remarque d'ailleurs que 230 sesquiterpènes de même masse moléculaire se répartissent sur une plage de seulement 300 unités d'indices de rétention,

- les cas de coélutions multiples : il arrive quelques fois que plusieurs composés co-éluent sur les colonnes de chromatographiques. Nous pouvons citer l'exemple du limonène qui co-élué avec le β -phellandrène et le 1,8-cinéole sur colonne apolaire ; celui de l' α -cédrène et de l' α -funébrène également sur colonne apolaire.

Pour pallier ces difficultés, la CPG est souvent couplée avec des techniques spectroscopiques pour rendre fiable l'identification des constituants des mélanges complexes.

1.3.5.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse

Le couplage de la CPG avec la spectrométrie de masse (CPG-SM) en mode impact électronique (IE) est la technique d'analyse de référence concernant les huiles essentielles. Après individualisation par la CPG, les fractions chromatographiques sont analysées par le spectromètre de masse dans leur ordre d'élution. Chaque pic chromatographique est ainsi associé à un spectre de masse. L'identification des composés se fait par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés de référence présents dans des bibliothèques de spectres informatisées, qui sont soit commerciales (Mc Lafferty *et al.*, 1989; Adams, 2001; Adams 2007) soit élaborées dans les laboratoires. L'utilisation des bibliothèques réalisées au sein des laboratoires donne généralement des résultats nettement plus fiables que les bibliothèques commerciales car elles contiennent des spectres de références enregistrés dans les mêmes conditions expérimentales que celles des mélanges à étudier.

Dans la plupart des cas, l'utilisation conjointe de la spectrométrie de masse et des indices de rétention calculés sur deux colonnes de polarité différente en CPG, permet l'identification d'un grand nombre de constituants dans les mélanges complexes tels que les huiles essentielles. Cette identification est aussi grandement simplifiée par un logiciel, prenant simultanément en compte les propositions de la spectrométrie de masse et les indices de rétention sur deux colonnes (Vernin *et al.*, 1986; Vernin *et al.*, 1988; Cavaleiro *et al.*, 2001).

Néanmoins, des difficultés subsistent avec ce couplage dans le cas où l'on rencontre par exemple des composés ayant des spectres de masse insuffisamment différenciés. Des informations complémentaires peuvent être obtenues avec des techniques « d'ionisation douce

» telles que l'ionisation chimique positive (ICP) ou l'ionisation chimique négative (ICN) (Lange *et al.*, 1988, Schultze *et al.*, 1992, Paolini *et al.*, 2005). Ces deux types d'ionisation produisent des ions quasi-moléculaires qui renseignent sur la masse molaire et la nature du composé.

1.3.6 Composition chimique des huiles essentielles

Les constituants des huiles essentielles varient en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, des organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (Burt, 2004; Oussou, 2009). Les constituants sont principalement des monoterpènes, des sesquiterpènes qui sont estimés à plus de 1000 et 3000 respectivement.

1.3.6.1 Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les constituants les plus simples de la série des terpénoïdes. Ils sont issus du couplage de deux unités « isopréniques » (C₁₀). Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α et γ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinènes, camphène). Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle. Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools (géraniol, α -terpinéol, bornéol, trans-trans-franésol), phénols (thymol), aldéhydes (citronellal), cétones (carvone, β -vetivone), esters (acétate de cédryle), éthers (1,8-cinéole) (Choho, 2018).

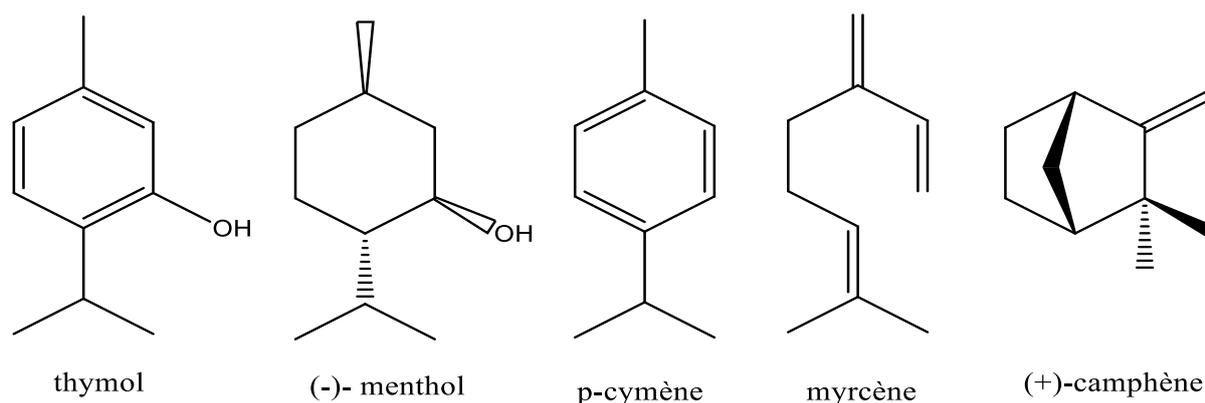


Figure 3 : Exemples de structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles (Choho, 2018)

1.3.6.2 Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des constituants habituels des huiles essentielles des végétaux supérieurs. Ils sont issus de l'enchaînement de trois unités « isopréniques » (C15). Ils peuvent intervenir dans des propriétés pharmacologiques attribuées à ses fractions volatiles. Biologiquement, certaines structures sesquiterpéniques sont des phytoalexines, d'autres semblent agir comme des régulateurs de croissance, ou encore attirent les insectes ou agissent à l'encontre de ceux-ci comme des facteurs antinutritifs (Wichl & Anton, 1999). La figure 4 ci-dessous présente les structures de certains sesquiterpènes généralement rencontrés dans les huiles essentielles.

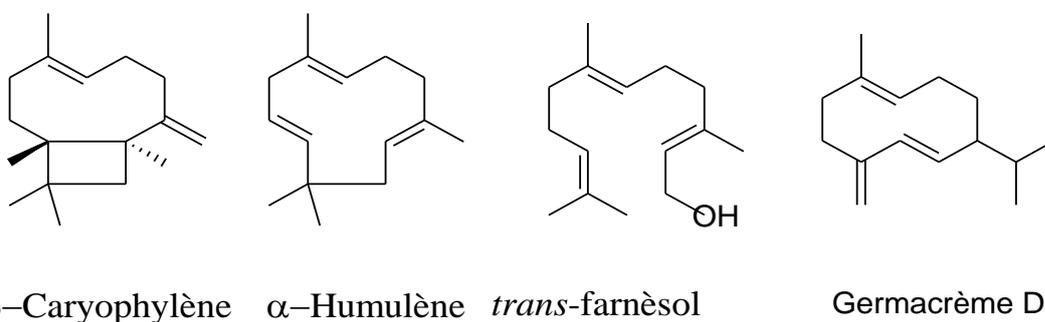


Figure 4 : Exemples de structures de sesquiterpènes (Djibo, 2002)

Les huiles essentielles renferment également des composés oxygénés dérivés des sesquiterpènes et aussi des phénylpropanes (Svoboda *et al.* 1999). La Figure 5 ci-dessous présente les structures de quelques composants retrouvés dans les huiles essentielles.

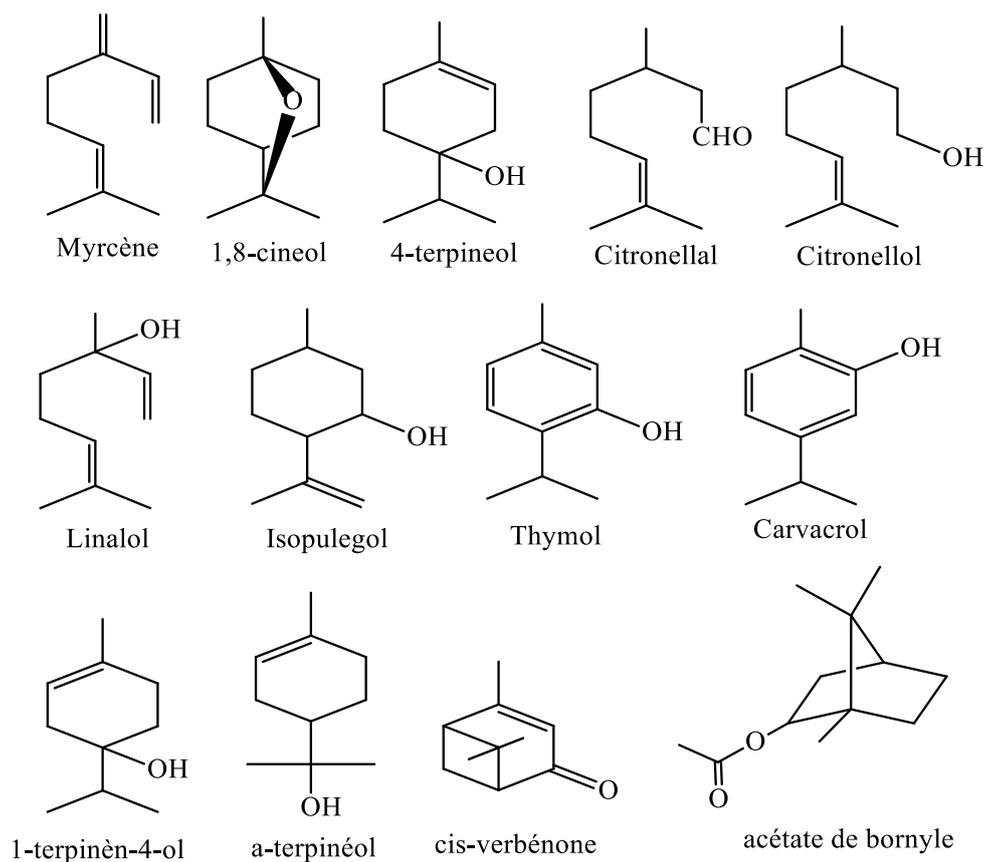


Figure 5 : Quelques composés des huiles essentielles (Bedi *et al.*, 2003; Besombes, 2008)

1.3.7 Facteurs influençant la composition chimique

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant diverses conditions : l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, lieu de séchage, la température et durée de séchage (Svoboda *et al.*, 1999, Smallfield 2001). C'est ainsi que l'action des huiles s'interprète par le résultat des effets combinés de leurs composés actifs et inactifs. Ces composés inactifs pourraient influencer la disponibilité biologique des composés actifs et plusieurs composants actifs pourraient avoir un effet synergique (Svoboda *et al.*, 1999).

Nonobstant la complexité des huiles (Svoboda *et al.*, 1999), les proportions des différents constituants d'une huile essentielle peuvent varier de façon importante tout au long du développement. De plus, les chémotypes ou races chimiques sont très fréquents chez les plantes aromatiques. Par exemple on compte pour *Thymus vulgaris*, espèce morphologiquement homogène, sept chémotypes différents (Bruneton, 1993).

Les conditions principales requises pour une production rentable en huile essentielle sont : bon matériel végétal, variété de la plante, le sol, équipement d'extraction, le climat (Smallfield, 2001).

1.3.8 Chémotype des huiles essentielles

La notion de chémotype relative aux essences végétales est centrale pour qualifier une huile essentielle donnée. En effet, une même plante aromatique, botaniquement définie produit une essence de composition chimique dépendant du biotope dans lequel elle se développera (Lamamra, 2018). Cette différence peut concerner aussi les organes producteurs des essences de la plante aromatique (Rasooli *et al.*, 2002). Ce sont ces variétés chimiques que l'on appelle chémotypes (Lamamra, 2018). Biochimiquement différents, deux chémotypes présenteront non seulement des activités thérapeutiques différentes mais aussi des toxicités très variables (Rasooli, 2002). Cette notion malheureusement peu connue et donc le manque de précision laissent la porte ouverte aux échecs thérapeutiques et à la toxicité de certaines d'entre elles (Marino *et al.*, 2001).

On voit selon (Russel, 1991) l'importance qu'il y a, pour assurer la qualité du produit et sa constance, à étudier, définir, et contrôler l'ensemble des paramètres, de la culture à l'élaboration du produit final. Toute généralisation s'avère hasardeuse (Lamamra, 2018)

PARTIE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Matériel

2.1.1 Matériel végétal

La plante de cette étude a été récoltée en Côte d'Ivoire et identifiée au Centre National de Floristique de l'Université Felix Houphouët-Boigny de Cocody-Abidjan. La récolte a été faite en mars 2020, dans les jachères de Gambia dans la Sous-préfecture de Oumé (Centre-ouest de la Côte d'Ivoire). Les feuilles ont été récoltées en début de matinée (8h00) et sont conservées, pendant le transport jusqu'au laboratoire pour l'extraction, à température ambiante (environ 25°C).



Figure 6 : les feuilles de *crassocephalum sp*

2.1.2 Matériel de laboratoire

Le matériel de laboratoire ayant servi à la réalisation de notre travail se divise en deux :

- Le matériel technique
- Les solvants et gaz

2.1.2.1 Le matériel technique

Il comprend :

- Le dispositif avec l'appareil de type Clevenger et une plaque chauffante (pour l'extraction des essences) ;
- Une Balance de type Pioner aux caractéristiques suivantes : model : PA202C ; MAX : 2100g ; d : 0,01g (pour la pesée du matériel végétal) ;

- Un chromatographe en phase gazeuse de type Delsi DI 200 muni d'un détecteur à ionisation de flamme et une colonne DB5 pour l'analyse de la composition chimique des huiles essentielles.
- Un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard modèle 6890 couplé à un modèle Hewlett-Packard MS 6890 équipé d'une colonne HP5
- Le petit matériel et verrerie du laboratoire.

2.1.2.2 Solvants et gaz

Les différents solvants et gaz qui ont été utilisés pour la réalisation de nos différentes manipulations sont :

- ✓ De l'eau distillée (pour l'extraction des huiles)
- ✓ Du sulfate de magnésium $MgSO_4$ (pour le séchage de l'huile)
- ✓ De l'éthanol (pour le nettoyage de la verrerie)
- ✓ De l'acétone (pour le séchage rapide de la verrerie)
- ✓ De l'azote comme gaz porteur (pour la CPG)

2.2 Méthodes

2.2.1 Méthode d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par entraînement à la vapeur à l'aide d'un appareil de type Clevenger. 1000 g de matières végétales est placé sur une grille métallique sous laquelle se trouve de l'eau à ébullition pendant 4h. Les huiles sont entraînées par la vapeur. Après condensation et liquéfaction, l'huile surmonte l'eau dans le tube à essai. L'huile séparée de l'eau est séchée par congélation puis par le sulfate de magnésium, et conservée à 0°C.



Figure 7 : Dispositif d'extraction avec appareil de type Clevenger (Oussou, 2009)

- Description du procédé d'extraction

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des trois variantes de la distillation des essences végétales. L'opération consiste à placer la masse végétale (1000 g de matières végétales) sur une grille métallique ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond d'un alambic contenant de l'eau à ébullition pendant 4h. La vapeur d'eau crée passe à travers la masse végétale entraînant ainsi avec elle ses composés volatils dans le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où a lieu la condensation. Le mélange hétérogène condensé dans le serpentin est recueilli dans un tube à essai. L'huile de *crassocephalum sp* de densité faible par rapport à l'eau surnage et est donc recueillie par simple filtration.

L'entraînement à la vapeur d'eau est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques (Bego, 2001). L'huile essentielle recueillie à la fin de l'extraction dans le flacon, est conservée à la température de 0°C dans un congélateur pour éviter une éventuelle dégradation de celle-ci.

2.2.2 Méthodes chromatographiques analytiques

Les huiles essentielles ont été analysées d'abord par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et ensuite par CPG couplée à la détection par spectrométrie de masse (CPG-MS). Les analyses ont été réalisées dans l'équipe de Chimie et Biomasse de l'Unité Mixte de Recherches de l'Université Pascal Paoli de Corse (France) associée au CNRS (UMR 6134).

2.2.2.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les conditions opératoires sont les suivantes : azote comme gaz porteur, programmation de la température à 50°C pendant 5min et 30°C/min jusqu'à 220°C, température de l'injecteur à 220°C, température du détecteur à 250°C.

2.2.2.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM)

Les huiles essentielles ont été analysées en utilisant un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard² modèle 6890 couplé à un modèle Hewlett-Packard MS 6890 équipé d'une colonne HP5 (30m x 0,25 mm df: 0,25 µm) programmé à 50°C (5 min) et à 50°C/min jusqu'à 300°C (température stabilisée pendant 5 min. Le gaz porteur à 1,0 mL/min), l'injection a été définie en mode split (1/10). Températures de l'injecteur et du détecteur sont à 250°C et 320°C respectivement. L'ionisation a été effectuée par impact d'électrons à 70 eV, le multiplicateur d'électrons a été fixé à 2200 V, et la température de source d'ions est de 230°C.

Les données du spectre de masse ont été acquises dans le mode de balayage dans la gamme de m/z 33-450. L'identification des composés a été réalisée par calcul des indices de rétention (RI) ou Indices de Kovats (KI) (équation 1) et sont comparés avec ceux des spectres de masse dans les banques de données, Adams (Adams, 2001) ou Mc Lafferty et Stauffer (Mc Lafferty *et al.*, 1989).

$$KI = 100 \times \left[n + \frac{\log(t'_{r(\text{inconnu})}) - \log(t'_{r(n)})}{\log(t'_{r(N)}) - \log(t'_{r(n)})} \right] \quad (\text{Equation 2})$$

PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Résultats

3.1.1 Diagramme et caractérisations

3.1.1.1 Caractérisations de l'extrait

La méthode d'extraction par entraînement à la vapeur sur les feuilles de la plante a permis de recueillir un extrait dont les caractéristiques englobant l'aspect, la couleur et l'odeur sont présentées dans le tableau I.

Tableau I : Caractéristiques de l'extrait des feuilles de *Crassocephalum sp*

Caractéristiques	Extrait
Aspect	Fluide, limpide
Couleur	Jaune
Odeur	Forte, pas piquante
Toucher	Huileux

L'extrait se présente comme un fluide huileux, limpide de couleur jaune avec une forte odeur non piquante.

3.1.1.2 Caractérisations des huiles essentielles extraites des feuilles de *Crassocephalum sp*

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles de *crassocephalum sp* a permis d'identifier 52 composés. Les constituants chimiques identifiés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectroscopie de masse (CPG-SM) sont détaillés dans le tableau II.

Cinquante-deux composés ont été identifiés représentant 99,67% de matières volatiles. La composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles est dominée par la présence des monoterpènes avec comme composé prédominant le monoterpène hydrocarboné, le myrcène (87,46%) qui représente à lui seul la quasi-totalité de l'huile. Deux autres monoterpènes hydrocarbonés, le limonène (4,11%) et le β -pinène (2,72%) sont en quantité non

négligeables par rapport au reste des constituants. La figure 8 présente les composés majoritaires des huiles essentielles des feuilles de *Crassocephalum sp.*

Tableau II : Composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Crassocephalum sp*

KI : Kovats indices RI : Réention Indices

Numéro	Composés	KI	RI	Pourcentage
1	3-Méthyl-1-butanol	721	720	0,01%
2	Isovalerate d'éthyle	836	835	0,02%
3	Styrène	885	888	0,01%
4	Tricyclène	922	920	0,04%
5	α -Thujène	926	925	0,02%
6	α -Pinène	934	933	0,25%
7	Thuja-2,4(10)-diène	945	946	0,01%
8	Sabinène	975	967	0,26%
9	β-Pinène	979	973	2,72%
10	Myrcène	983	986	87,46%
11	1-Decène	987	989	0,02%
12	α - phellandrene	1 007	1 007	0,04%
13	α -Terpinène	1 018	1 011	0,04%
14	Paracymène	1 025	1 014	0,09%
15	Limonène	1 030	1 023	4,11%
16	(Z)- β -ocimène	1 035	1 027	0,02%
17	(E)-β-ocimène	1 047	1 038	0,84%
18	γ -Terpinène	1 060	1 050	0,21%
19	1-Octanol	1 072	1 060	0,06%

Tableau II : Suite

Numéro	Composés	KI	RI	Pourcentage
20	p-Cymenène	1 074	1 074	0,02%
21	Linalool	1 081	1 083	0,02%
22	oxide de trans-linalol	1 083	1 085	0,06%
23	α -Dodecène	1 089	1 089	0,61%
24	oxide de α -Pinène	1 095	1 098	0,04%
25	oxyde de nérol	1 140	1 138	0,01%
26	Terpinèn-4-ol	1 163	1 163	0,06%
27	α -Terpineol	1 180	1 173	0,06%
28	Decanal	1 186	1 185	0,16%
29	Cuminaldehyde	1 213	1 216	0,01%
30	Thymol	1 272	1 269	1,28%
31	Carvacrol	1 283	1 278	0,12%
32	decanoate de méthyle	1 309	1 312	0,05%
33	α -Isocomène	1 388	1 387	0,05%
34	Cypérène	1 399	1 400	0,04%
35	β -Isocomène	1 403	1 406	0,02%
36	(<i>E</i>)- β -Caryophyllène	1 419	1 418	0,07%
37	cis-Thujopsène	1 434	1 434	0,07%

Tableau II : Suite

Numéro	Composés	KI	RI	Pourcentage
38	α -Himachalène	1 445	1 446	0.05%
39	α -Humulène	1 449	1 450	0.02%
40	γ -Himachalène	1 476	1 476	0.04%
41	Germacrène D	1 480	1 481	0.04%
42	Tridecanal	1 491	1 491	0.04%
43	(E)- α -bisabolène	1 534	1 534	0.01%
44	Germacrène-D-4-ol	1 568	1 569	0.05%
45	Guaiol	1 589	1 589	0.05%
46	β -Oploponone	1 593	1 594	0.01%
47	acide Tetradecanoïque	1 740	1 745	0.05%
48	Hexadecanoate de méthyle	1 909	1 910	0.03%
49	Isophytol	1 938	1 942	0.13%
50	Hexadecanoate d'éthyle	1 978	1 976	0.04%
51	Oleate de méthyle	2 081	2 086	0.06%
52	(E)-Phytol	2 099	2 100	0.06%
TOTAL				99.67%
Composés oxygénés				2.33%
Composés hydrocarbonés				97.34%
<i>Monoterpènes hydrocarbonés</i>				87.48%
<i>Monoterpènes oxygénés</i>				1.32%
<i>Sesquiterpènes hydrocarbonés</i>				0.08%
<i>Sesquiterpènes oxygénés</i>				10.79%

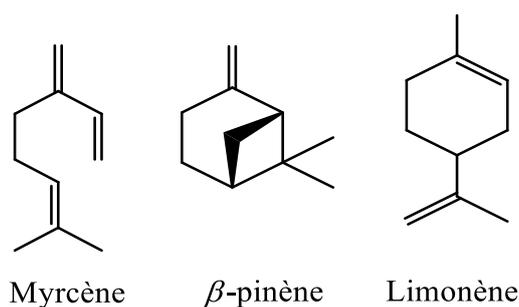


Figure 8 : Composés majoritaires des huiles essentielles des feuilles de *Crassocephalum sp*

3.1.1.3 Diagramme de distribution des constituants chimiques

Les trois composés prédominants représentent à eux seuls 94,30% de l'huile, ce qui traduit un chémotype à monoterpène hydrocarboné des huiles essentielles des feuilles de *crassocephalum sp*. La figure 9 Ci-dessous présente la distribution en pourcentage de ces différents constituants.

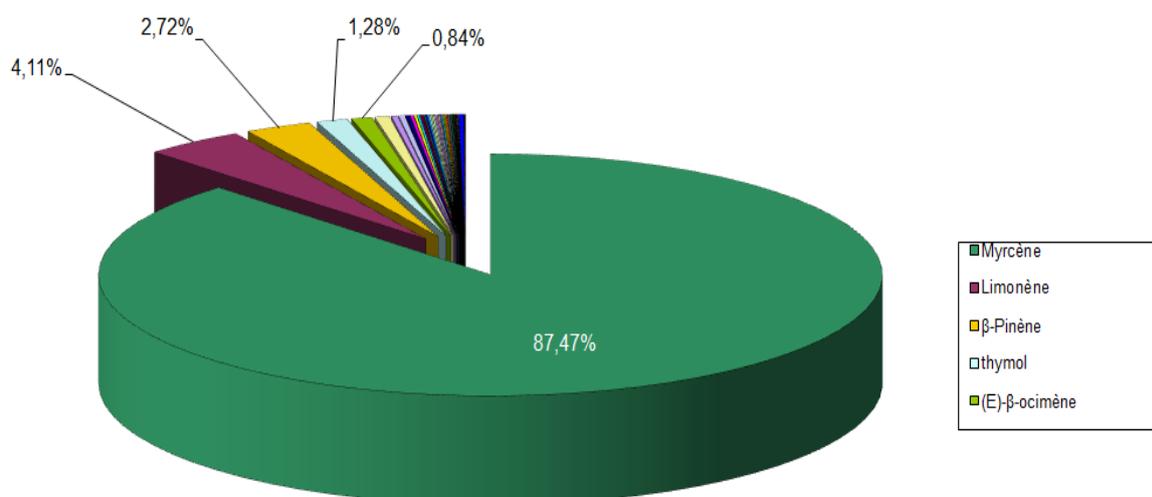


Figure 9 : Distribution en pourcentage des différents composants des huiles essentielles des feuilles de *Crassocephalum sp*

3.2 Discussion

La composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Crassocephalum sp* récoltées en Côte d'Ivoire est différente de celles obtenues pour toutes les parties (feuilles, tiges et racines) de l'espèce *Crassocephalum crepidioides* récoltées au Vietnam (Hung *et al.*, 2019) et en Inde (Joshi, 2011). Les feuilles et les parties aériennes respectivement du Vietnam et de

l'Inde qui contiennent le myrcène, le β -phelladrène et cryptone comme composés prédominants présentent le même composé majeur avec des proportions différentes mais les autres composés majoritaires sont différents de ceux de la plante étudiée. De plus le β -phelladrène et la cryptone qui sont aussi des composés majoritaires des huiles de *Crassocephalum crepidioides* n'ont pas été identifiés dans notre plante étudiée. Ces différences sont liées aux facteurs d'origine intrinsèque (état, stade de récolte etc.) et extrinsèque (température, la méthode utilisée, etc.) (Oussou, 2009).

Le myrcène, le constituant majeur de l'huile, pourrait transmettre ces différentes propriétés biologiques aux huiles des feuilles de cette plante utilisée en médecine traditionnelle. En effet, dans des études d'activités biologiques de plusieurs monoterpènes, le myrcène a présenté un effet antibactérien important (Rasoul *et al.*, 2012). Inoue *et al.*, (2004) ont aussi montré que le myrcène contribuait à l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Melaleuca alternifolia* (Inoue *et al.*, 2004).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude est une contribution à la valorisation des plantes médicinales tropicales et des espèces très peu connues du genre *Crassocephalum*. A ce jour il existe qu'une seule espèce végétale du genre *Crassocephalum* dont la composition chimique des huiles essentielles est connue, il s'agit de *Crassocephalum crepidioides*. Ce travail de recherche présente pour la première fois l'étude phytochimique des huiles essentielles extraites d'une autre espèce (*Crassocephalum sp*). Notre étude a montré un autre chémotype à monoterpène myrcène, limonène et β -pinène. Le myrcène qui représente presque la totalité de la matière volatile de notre plante étudiée, est aussi le composé prédominant de l'espèce *Crassocephalum crepidioides* avec un pourcentage moins important. La grande quantité de l'antibactérien myrcène dans les huiles extraites des feuilles de *Crassocephalum sp* pourrait indiquer une importante activité antibactérienne des huiles. Une étude d'activité antibactérienne sur plusieurs souches antibactériennes sera envisagée. Des études phytochimiques des métabolites secondaires volatils des autres parties seront aussi à envisager pour comparaison et afin de déterminer la meilleure partie de la plante pour une application thérapeutique.

RÉFÉRENCES

- Adams R. P. (1989). Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy. Academic Press, San Diego (USA), 780 p.
- Adams R. P. (2001). Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation Carol Stream, Illinois (USA), 798 p.
- Adams R. P. (2007). Identification of essential oils components by gas Chromatography/mass Spectroscopy. 4th Edition. Allured Publishing Corporation Carol Stream, Illinois (USA), 804 p.
- Adjatin A., Dansi A., Badoussi E., Loko Y. L., Dansi M., Azokpota P., Gbaguidi F., Ahissou H., Akoègninou A., Akpagana K. and Sanni A. (2013). Phytochemical screening and toxicity studies of *Crassocephalum rubens* (Juss. ex Jacq.) S. Moore and *Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore consumed as vegetable in Benin. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(8) : 1-13.
- Adjatin A., Dansi A., Eze C. S., Assogba P., Dossou-Aminon I., Akpagana K., Akoègninou A. and Sanni A. (2012). Ethnobotanical investigation and diversity of Gbolo (*Crassocephalum rubens* (Juss. ex Jacq.) S. Moore and *Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore), a traditional leafy vegetable under domestication in Benin. *Genet Resour Crop Evol* 59 : 1867–1881.
- Aniya Y., Koyama T., Miyagi C., Miyahira M., Inomata C., Kinoshita S. and Ichiba T. (2005). Free radical scavenging and hepatoprotective actions of the medicinal herb, *Crassocephalum crepidioides* from the Okinawa Islands. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(1) : 19-23.
- Arbonnier M. (2009). Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest, Versailles : Ed. Quaedam (France), 574 p.
- Asada Y., Shiraishi M., Takeuchi T., Osawa Y. and Furuya T. (1985). Pyrrolizidine Alkaloids from *Crassocephalum crepidioides*. *Planta Medica*, 51(6) : 539-540.

- Ayodele O. O., Onajobi F. D. and Osoniyi O. (2019). In vitro anticoagulant effect of *Crassocephalum crepidioides* leaf methanol extract and fractions on human blood. *Journal of Experimental Pharmacology*, 11 : 99-107.
- Bagre I., Bahi C., Ouattara K., Guede Z. N., Djaman A. J., Coulibaly A. and N'Guessan J. D. (2011). Étude botanique et exploration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. sur la croissance in vitro de *Cryptococcus neoformans*. *Phytothérapie*, 9(2) : 136-141.
- Bedi S. G., Tonzibo Z. F., Boti B., Chopard C., Mahy J.-P. and N'Guessan Y. T. (2003). Anti-inflammatory and analgesic activities: chemical constituents of essential oils of *Ocimum gratissimum*, *Eucalyptus Citriodora* and *Cymbopogon Goganteus* inhibited lipooxygenase L-1 and cyclooxygenase of PGHS. *Bull. Chem. Soc. Ethiop*, 17 : 191-197.
- Bego Ph. (2001) Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles. Collection aromathérapie pratique et familiale, Paris, 437 p.
- Besombes C. (2008). Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse d'Université de La Rochelle (France), 289 p.
- Bielicka-Daszkiwicz K., Debicka M. and Voelkel A. (2004). Comparison of three derivatization ways in the separation of phenol and hydroquinone from water samples. *Journal of chromatography A*, 1052(1-2) : 233-236.
- Bruneton J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2^{ème} édition Tec&Doc. Paris (France), pp. 387-402.
- Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3) : 223-253.
- Cavaleiro C., Rezzi S., Salgueiro L., Bighelli A., Casanova J. and Proença da Cunha A. (2001). Intraspecific chemical variability of the leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* var. *turbinata* from Portugal. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29 : 1175-1183.

- Choho M. F. (2018). Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de deux (02) Annonaceae : *Uvaria chamae* et *Monanthes tomentosa*. Mémoire De Master, UJLOG (Côte d'Ivoire), 53 p.
- Dairo F. A. S. and I. G. Adanlawo (2007). Nutritional Quality of *Crassocephalum crepidioides* and *Senecio biafrae*. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6(1) : 35-39.
- de las Heras B., Hortelano S., Girón N., Bermejo P., Rodríguez B. and Boscá L. (2007). Kaurane diterpenes protect against apoptosis and inhibition of phagocytosis in activated macrophages. *British Journal of Pharmacology*, 152(2) : 249-255.
- Deng Y., Chin Y.-W., Chai H.-B., de Blanco E. C., Kardono L. B. S., Riswan S., Soejarto D. D., Farnsworth N. R. and Kinghorn A. D. (2011). Phytochemical and bioactivity studies on constituents of the leaves of *Vitex quinata*. *Phytochemistry Letters*, 4 : 213-217.
- Duraffourd C., D'Hervicourt L. and Lapraz J. C (1990). Cahiers de phytothérapie clinique. Tome 1: Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris (France), 96 p.
- Fahn A. (1979). Secretory tissues in plants. Academic Press, London, England (USA), 302 p.
- Fahn A. (1988). Tansley Review No. 14 Secretory tissues in vascular plants. *New Phytol*, 108 : 229-257.
- Franchomme P. & Pénéol D. (1990). L'aromathérapie exactement. In: Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois (Eds.), Limoges. 445 p.
- Hertog M. G. (1996). Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. *Proceeding of the nutrition society*, 55 : 385-397.
- Hill A. F. (1952). Economic Botany. A text book of useful plants and plants products McGraw-Hill Book Company Inc, 2nd ed., New York (USA), 560 p.
- Holley R. A. & Patel D. (2005) - Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*. 22 (4) : 273–292.

-
- Hou C. C., Chen Y. P., Wu J. H., Huang C. C., Wang S. Y., Yang N. S. and Shyur L. F. (2007). A galactolipid possesses novel cancer chemopreventive effects by suppressing inflammatory mediators and mouse B16 melanoma. *Cancer Research*, 67(14) : 6907-6915.
- Humbert H. (1963). Flore de Madagascar et des Comores. Tome II: 189ème Familles composées (France), pp. 440-450
- Hung N. H., Satyal P., Dai D. N., Tai T. A., L. T. Huong, N. T. H. Chuong, H. V. Hieu, P. A. Tuan, P. V. Vuong and W. N. Setzer (2019). "Chemical Compositions of *Crassocephalum crepidioides* Essential Oils and Larvicidal Activities Against *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus*. *Natural Product Communications*, 14(6) : 1-5.
- Inoue Y., Shiraishi A., Hada T., Hamashima H. and Shimada J. (2004). The Antibacterial Effects of Myrcene on *Staphylococcus aureus* and Its Role in the Essential Oil of the Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*). *Natural Medicines*, 58(1) : 10-14.
- Iwu M. W., Duncan A. R. and Okunji C. O. (1999). New Antimicrobials of Plant origin., Perspectives on New Crops and New Uses. J. Janick (ed.) ASHS Press, Alexandria, VA (Cote d'Ivoire), pp. 457-462.
- Joshi R. K. (2011). Terpene composition of *Crassocephalum crepidioides* from Western Ghats region of India. *International journal of natural products research*, 1(2): 19-22.
- Joshi R. K. (2014). Study on essential oil composition of the roots of *Crassocephalum repidioides* (Benth.) S. Moore." *Journal of the Chilean Chemical Society*, 59(1) : 2363-2365.
- Joulain D. (1994). Methods for analyzing essential oils. Modern analysis methodologies: use and abuse. *Perfumer & Flavorist*, 19 : 5-17.
- Kalemba D. and Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10(10) : 813-829.
- Kimbaris A. C., Siatis N. G., Daferera D. J., Tarantilis P. A., Pappas C. S. and Polissiou M. G. (2006). Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the

-
- isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason Sonochem*, 13(1) : 54-60.
- Kongsaeree P., S. Prabpai, N. Sriubolmas, C. Vongvein and S. Wiyakrutta (2003). Antimalarial dihydroisocoumarins produced by *Geotrichum* sp., an endophytic fungus of *Crassocephalum crepidioides*. *Journal of Natural Products*, 66(5) : 709-711.
- Kováts E. (1965). Gas chromatographic characterisation of organic substances in the retention index system. *Advances in Chromatography* 1. Giddings JC, Keller RA (eds), Marcel Dekker: New York (USA), pp. 229-247.
- Lamamra M. (2018). Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Mémoire de master 2 en Biologie et Physiologie Végétale, Université Ferhat Abbas-Setif (Algérie), 107 p.
- Lamorde M., Tabuti J. R., Obua C., Kukunda-Byobona C., Lanyero H., Byakika-Kibwika P., Bbosa G. S., Lubega A., Ogwal-Okeng J., Ryan M., Waako P. J. and Merry C. (2010). Medicinal plants used by traditional medicine practitioners for the treatment of HIV/AIDS and related conditions in Uganda. *Journal of Ethnopharmacology*, 130(1) : 43-53.
- Lange G. and Schultze W. (1988). Differentiation of isopulegol isomers by chemical ionization mass spectrometry." In : *Bioflavour'87*. Walter de Gruyter and Co, Schreier P. Ed., (Berlin), pp. 115-122.
- Lestari T., Nurmala A. and Nurmalasari M. (2015). Penetapan kadar polifenol dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. moore). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 13(1) : 107-110.
- Liu Q., Harrington D., Kohen J. L., Vemulpad S. and Jamie J. F (2006). Bactericidal and cyclooxygenase inhibitory diterpenes from *Eremophila sturtii*. *Phytochemistry*, 67(12) : 1256-1261.

- Malan D. F. and Neuba D. F. (2011). Traditional practices and medicinal plants use during pregnancy by Anyi-Ndenye women (Eastern Côte d'Ivoire). *Afr J Reprod Health*, 15(1) : 85-93.
- Marino, M., C. Bersani and G. Comi (2001). "Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae." *International Journal of food microbiology*, 67 : 187-195.
- Mc Lafferty F. W. and Stauffer D. B. (1989). The Wiley NBS registry of mass spectral data. 2ème Edition John Wiley and Sons, New York (USA), 1064 p.
- Noumi E. and Yomi A. (2001). Medicinal plants used for intestinal diseases in Mbalmayo region, Central Province, Cameroon. *Fitoterapia*, 72(3) : 246-254.
- Oussou K. R. (2009). Etude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Thèse de Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire), 241 p.
- Paolini J., Costa J. and Bernardini A. F. (2005). Analysis of the essential oil from aerial parts of *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* (L.) by gas chromatography with electron impact and chemical ionisation mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 1076 : 170-178.
- Pourmorad F., Hosseinimehr S. J. and Shahabimajd N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11) : 1142-1145.
- Rasooli I. and Mirmostafa S. A. (2002). Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus serpyllum* essential oils. *Fitoterapia*, 73 : 244-250.
- Rasoul M., Marei G. I. K. and Abdelgaleil S. (2012). Evaluation of antibacterial properties and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, 6(15) : 3667-3672.
- Ren W., Qiao Z., Wang H., Zhu L. and Zhang L. (2003). Flavonoids : Promising anticancer agents. *Medicinal research reviews*, 23(4) : 519-539.

-
- Rojas-Escudero E., Alarcón-Jiménez A. L., Elizalde-Galván P. and Rojo-Callejas F. (2004). Optimization of carbohydrate silylation for gas chromatography. *Journal of chromatography A*, 1027 : 117-120.
- Russel A. D. (1991). Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics : food additives and pharmaceutical preservatives. *Journal of Applied Bacteriology*, 71(3) : 191-201.
- Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibañez E., Señoráns F. J. and Reglero G. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection*, 68(4) : 790-795.
- Schultze W., Lange G. and Schmaus G. (1992). Isobutane and ammoniac chemical ionization mass spectrometry of sesquiterpene hydrocarbons. *Scora. Flavour and Fragrance Journal*, 7 : 55-64.
- Smallfield B. (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research (Algerie)*, Number 45 : 4p.
- Solecki, R. S. (1975). Shanidar IV, a Neanderthal Flower Burial in Northern Iraq. *Science*, 190(4217) : 880-881.
- Svoboda K. P. and Hampson J. B. (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxydant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK, pp. 1-17.
- Taïwe G. S., Bum E. N., Talla E., Dimo T., Sidiki N., Dawe A., Nguimbou R. M., Paul D., Dzeufiet D and Waard M. D. (2012). Evaluation of antinociceptive effects of *Crassocephalum bauchiense* Hutch (Asteraceae) leaf extract in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1) : 234-241.
- Van Den Dool H. and Kratz P. D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of chromatography*, 11 : 463-471.

-
- Vangelder V. (2017). L'aromathérapie dans la prise en charge des troubles de santé mineurs chez l'adulte à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille (France), 146 p.
- Vernin G., Boniface C., Metzger J., Guiglione C., Hammound A., Suon K. N., Fraisse D. and Parkanyi C. (1988). GC-MS-SPECMA bank analysis of *Juniperus communis* needles and berries. *Phytochemistry*, 27 (4) : 1061-1064.
- Vernin G., Petitjean M., Poite J. C., Metzger J., Fraisse D. and Suon K. N. (1986). Mass spectra and Kováts indices databank of volatile aroma compounds. Chap. VII In : Computer Aids to Chemistry. Vernin G. and Chanon M. (Eds.) Chichester, Ellis Horwood Publisher (England), pp. 294-333.
- Vu D. T. and Nguyen T. A. (2017). The neglected and underutilized species in the Northern mountainous provinces of Vietnam. *Genet Resour Crop Evol*, 64 : 1115-1124.
- Wagner W. L., Herbs D. R. and Sohmer S. (1999). Manual of the Flowering Plants of Hawaii, Revised Edition, Bernice P. Bishop Museum Special Publication, University of Hawaii Bishop. Museum Press, Honolulu, Vol 2, 1919 p.
- Westh H., Zinn C. S. and Rosdahl V. T. (2004). An international multicenter study of antimicrobial consumption and resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from 15 hospitals in 14 countries. *Microb Drug Resist*, 10(2) : 169-176.
- Wichl M. & Anton R. (1999). Plante thérapeutique, Tradition, Pratique officinale, science et thérapeutique, Marburg (Deutschland), 692p.

Résumé

Ce travail est consacré à la caractérisation chimique des huiles essentielles extraites des feuilles de *Crassocephalum sp*, une espèce de la famille des Asteraceae. L'isolement par entraînement à la vapeur reste jusqu'à présent la méthode appropriée pour l'extraction des huiles essentielles des feuilles. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) ont permis d'identifier les différents constituants chimiques de l'huile. La composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles de *Crassocephalum sp* est dominée par la présence des monoterpènes avec comme composé prédominant le monoterpène hydrocarboné : le myrcène. Le myrcène, un puissant antibactérien pourrait attribuer ses propriétés biologiques aux huiles essentielles des feuilles de cette plante.

Mots-clés : Asteracea, Composition chimique, *Crassocephalum sp*, huiles essentielles.

ABSTRACT

This work consists to a chemical characterization of essential oils extracted from the leaves of *Crassocephalum sp*, a species of the Asteraceae family. Steam entrainment isolation has so far remained the appropriate method for extracting essential oils from the leaves. Gas chromatography (GC) and gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) have identified the different chemical constituents of the oil. The chemical composition of essential oils extracted from the leaves of *Crassocephalum sp* is dominated by the presence of monoterpenes with the predominant compound being the hydrocarbon monoterpene: myrcene. Myrcene, a powerful antibacterial could attribute its biological properties to the essential oils of the leaves of this plant.

Keywords : Asteraceae Chemical composition, *Crassocephalum sp*, essential oils