

N° d'ordre

Année 2010

UNIVERSITE DE LA REUNION  
UFR DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES

## THESE

En vue de l'obtention du grade de

DOCTEUR EN SCIENCES  
Discipline : CHIMIE

par

**Mohamed SAID HASSANI**

Titre

**VALORISATION DE QUATRE PLANTES ENDEMIQUES ET  
INDIGENES DES COMORES**

*présentée et soutenue publiquement le 21 septembre 2010*

### Composition du jury

Madame A. GAUVIN-BIALECKI	Maître de Conférences-HDR - LCSNSA - Université de La Réunion
Madame E. GIRARD-VALENCIENNES	Maître de Conférences - LCSNSA - Université de La Réunion
Madame A. GURIB-FAKIM	Professeur- Université de Maurice
Madame C. MENUET	Professeur - ENSC de Montpellier
Madame J. SMADJA	Professeur - LCSNSA - Université de La Réunion
Madame S. ZRIRA	Professeur - IAV de Rabat - Maroc

# R E M E R C I E M E N T S

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Madame le Professeur Jacqueline SMADJA de m'avoir donné l'opportunité de réaliser une partie de ce travail au sein de son laboratoire. Je la remercie également de m'avoir permis de finaliser et soutenir cette thèse à l'Université de la Réunion.

Mes remerciements les plus vifs s'adressent à Madame le Professeur Chantal MENUT et Madame le Professeur Saadia ZRIRA pour m'avoir accueilli au sein de leurs laboratoires respectifs, pour avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse et faire partie de mon jury.

Je remercie chaleureusement Madame le Professeur Ameenah GURIB-FAKIM pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse en qualité d'examineur.

J'aimerais remercier tout particulièrement Madame le Docteur-HDR Anne GAUVIN-BIALECKI pour sa grande disponibilité, ses précieux conseils et son total investissement dans cette thèse aussi bien pour les travaux réalisés dans les autres laboratoires que pour ceux réalisés au sein du LCSNSA.

Je remercie Madame Emmanuelle GIRARD-VALENCIENNES pour son soutien et ses conseils avisés.

Je remercie également le Professeur Jean-Louis LABAT, le Docteur Roger LAVERGNE, Monsieur Yahaya Ibrahim et Madame Ramadhoini Islame dont les compétences botaniques m'ont été d'un grand secours pour la récolte et l'identification des plantes.

Toute ma reconnaissance également à Messieurs les Professeurs François FRAPPIER et Mohamed OUKESSOU et à Mesdemoiselles Marie-Caroline JONVILLE et Siham MEHDI pour les tests biologiques effectuées au cours de ce travail.

Je ne saurai oublier toutes les personnes sans qui ces quelques années ne se seraient pas passées aussi agréablement, tant à Montpellier (France), qu'à Rabat (Maroc), à Réduit (Maurice) et à Saint Denis (La Réunion) lors de la réalisation de cette thèse.

Un grand merci, du fond du cœur, à l'ensemble du personnel et doctorants du LCSNSA, en particulier le Professeur Bertrand ILLIEN, les Docteur-HDR Isabelle GRONDIN, Alain SHUM CHEONG SING et Bertrand PAYET, les Docteurs Thomas PETIT, Arnaud Marvilliers, Audrey MARTINEZ et Patricia RABIER, les doctorants Sabrina ELISE, Sophie TECHER, Clara DONADIO, Marie WATSON, William PIANG SIONG et Sébastien PICCINO, sans oublier Mademoiselle Suzelle POULMANE et Monsieur Julien LEBON.

Un merci tout spécial à mes ami(e)s pour tous les moments de détente passés ensemble qui m'ont permis de retrouver une certaine sérénité dans les moments difficiles.

Merci également à mes collègues et ami(e)s de l'ONG ULANGA Ngazidja (Comores) et de l'Association Terre et Faune (Suisse) pour avoir été indulgents à mon égard concernant les activités de protection de l'environnement aux Comores.

Enfin, ce travail n'aurait pas abouti sans le soutien constant et les encouragements de ma femme et mes enfants. La confiance qu'ils m'ont témoignée tous les jours a vaincu les moments de doute et de découragement.

Je terminerai par un grand merci à feu mes parents et grands parents qui ont su me transmettre leurs précieux messages avant leur départ éternel. Qu'ALLAH leur accorde le Paradis.

## A V A N T - P R O P O S

Les résultats de ce travail de thèse sont le fruit d'une collaboration internationale et régionale de divers laboratoires :

- Le Laboratoire de l'Institut des Biomolécules Max Mousseron de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier (ENSCM) du Professeur Chantal MENUT de Montpellier en France,
- Le Laboratoire des Substances Naturelles et des Arômes (Labo subnarôme), de l'Institut Agronomique et Vétérinaire (IAV) Hassan II du Professeur Saadia ZRIRA de Rabat au Maroc,
- Le Département de Chimie de la Faculté des Sciences de l'Université de Maurice du Professeur Ameenah FAKIM-GURIB de Réduit à Maurice,
- Le Laboratoire de Chimie de Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA) de la Faculté des Sciences et Technologies de l'Université de la Réunion du Professeur Jacqueline SMADJA de Saint Denis à La Réunion.

Par ailleurs, les tests d'activité ont été menés dans les laboratoires suivants :

- Le Laboratoire de Microbiologie, de l'Institut Agronomique et Vétérinaire (IAV) Hassan II de Rabat au Maroc,
- Institute of Pharmaceutical Chemistry de l'Université de Vienne, Autriche.
- L'Institut de Pharmacognosie et Phytochimie (IPP) de l'Ecole de Pharmacie de l'Université de Lausanne, Suisse.
- Le Laboratoire de Chimie et Biochimie des Substances Naturelles, Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN), USM 0502, CNRS, UMR 5154, Paris, France.

L'ensemble de ces travaux ont bénéficié du soutien financier de plusieurs partenaires :

- L'Université des Comores,
- L'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) dans le cadre des Bourses de perfectionnement scientifique ou pédagogique,
- La Banque Islamique de Développement (BID) dans le cadre de la Coopération Technique des pays membres,
- Le Ministère Français des Affaires Etrangères dans le cadre de la coopération universitaire et recherche entre la France et l'Union des Comores.

Ce travail de thèse a, d'ores et déjà, donné lieu en 2002 et en 2005 à deux publications:

- [1] MENUT C., BESSIÈRE J.M., SAID HASSANI M., BUCHBAUER G., SCHOPPER B., Chemical and biological studies of *Ocotea comoriensis* bark essential oil, *Flavour and Fragrance Journal*, 2002, 17, 459 - 461.
- [2] SAID HASSANI M., SAÏD ABDALLAH B., ZRIRA S., BENJILALI B., Chemical composition of the essential oil of *Laggera alata* var. *alata* (D. Don) Sch. Bip. Ex Oliv. (Asteraceae) from Comoros Islands, Part I, *Journal of Essential Oil - Bearing Plants*, 2005, 8(1), 15 - 18.

Une troisième publication est en cours de rédaction :

- [3] SAID HASSANI M., MEHDI S., ZAINATI I., ZRIRA S., OUKESSOU M., Chemical composition and antimicrobial activity of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spring. (Lamiaceae) leaves dried essential Oil from Archipelago of Comoros.

# L I S T E   D E S   A B R E V I A T I O N S

AcOEt	: Acétate d'éthyle
APT	: Attach Proton Test
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
CDCl <sub>3</sub>	: Chloroforme deutérié
CG-DIF	: Chromatographie Gazeuse couplée à un Détecteur à Ionisation de Flamme
CG-SM	: Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	: Dichlorométhane
CHCl <sub>3</sub>	: Chloroforme
CLMP	: Chromatographie Liquide à Moyenne Pression
CI <sub>50</sub>	: Concentration Inhibitrice à 50%
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
DMAPP	: Dimethylallyldiphosphate
DMSO	: Diméthylsulfoxyde
EtOH	: Ethanol
GPP	: Geranyldiphosphate
GPPS	: Geranyldiphosphate synthase
IPP	: Isopentyldiphosphate
IRR	: Indice de Rétention Relatif
LIS	: Linalol synthase
MeOH	: Méthanol
RMN	: Résonance Magnétique Nucléaire
TSB	: Tryticase Soja Bouillon
UV	: Ultra-Violet

# S O M M A I R E

REMERCIEMENTS	2
AVANT-PROPOS	3
LISTE DES ABREVIATIONS	4
INTRODUCTION GENERALE	8
CHAPITRE I : <i>Laggera alata</i> var. <i>alata</i> (D. Don) Sch. Bip. Ex Oliv.(Asteraceae)	13
I.1 Description botanique	14
I.2 Travaux antérieurs	15
I.2.1. Utilisations des espèces du genre <i>Laggera</i> en médecine traditionnelle	15
I.2.2. Les huiles essentielles des espèces du genre <i>Laggera</i>	15
I.3 Etude de <i>Laggera alata</i> var. <i>alata</i> de l'Archipel des Comores	19
I.3.1. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles	19
I.3.1.1 Principe de l'étude	19
I.3.1.2 Résultats	19
I.3.1.3. Discussion	21
I.3.2. Conclusion et perspectives	22
CHAPITRE II : <i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng (Lamiaceae)	24
II.1 Description botanique	25
II.2 Travaux antérieurs	26
II.2.1. Utilisations des espèces du genre <i>Plectranthus</i> en médecine traditionnelle	26
II.2.2. Les huiles essentielles des espèces du genre <i>Plectranthus</i>	27
II.3 Etude de <i>Plectranthus amboinicus</i> de l'Archipel des Comores	28
II.3.1. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles	28
II.3.1.1 Principe de l'étude	28
II.3.1.2 Résultats	28
II.3.1.3 Discussion	30
II.3.2. Activité biologique de l'huile essentielle des feuilles	31
II.3.2.1 Principe de l'étude	31
II.3.2.2 Résultats	31
II.3.2.3 Discussion	33
II.3.3. Conclusion et perspectives	33
CHAPITRE III : <i>Ocotea Comoriensis</i> Kostermans (Lauraceae)	35
III.1 Description botanique	36
III.2 Travaux antérieurs	37
III.2.1. Utilisations des espèces du genre <i>Ocotea</i> en médecine traditionnelle	37
III.2.2. Les huiles essentielles des espèces du genre <i>Ocotea</i>	37

III.3	Etude de l' <i>Ocotea comoriensis</i> de l'Archipel des Comores	40
III.3.1.	Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles, fruits et écorces	40
III.3.2.1	Principe de l'étude	40
III.3.1.2	Résultats	40
III.3.1.3	Discussion	47
III.3.2.	Activités biologiques de l'huile essentielle d'écorce (Ec2)	48
III.3.2.1	Principe de l'étude	48
III.3.2.2	Résultats	48
III.3.2.2	Discussion	49
III.3.3.	Conclusion et perspectives	49
<b>CHAPITRE IV : <i>Teclea boiviniana</i> (H. Perr.) Baillon (Rutaceae)</b>		51
IV.1	Description botanique	52
IV.2	Travaux antérieurs	53
IV.2.1.	Utilisations des espèces du genre <i>Teclea</i> en médecine traditionnelle	53
IV.2.2.	Composition chimique des espèces du genre <i>Teclea</i>	53
IV.2.2.1	Les composés volatils	53
IV.2.2.2	Les composés non volatils	54
IV.2.3.	Activités biologiques des espèces du genre <i>Teclea</i>	58
IV.3	Etude de <i>Teclea boiviniana</i> de l'Archipel des Comores	58
IV.3.1.	Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles	58
IV.3.2.1	Principe de l'étude	58
IV.3.1.2	Résultats	59
IV.3.1.3	Discussion	60
IV.3.2.	Criblage chimique des feuilles et des racines	62
IV.3.2.1	Principe de l'étude	62
IV.3.2.2	Résultats	62
IV.3.2.3	Discussion	63
IV.3.3.	Isolement et analyse de composés non volatils des racines	63
IV.3.3.1	Principe de l'étude	63
IV.3.3.2	Résultats	64
IV.3.3.3	Discussion	66
IV.3.4.	Activités biologiques des extraits non volatils des feuilles et des racines	66
IV.3.4.1	Principe de l'étude	66
IV.3.4.1	Résultats	66
IV.3.4.2	Discussion	66
IV.3.4.	Conclusion et perspectives	67
<b>CONCLUSION GENERALE</b>		68

<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	<b>73</b>
<b>I Collecte</b>	<b>74</b>
I.1 <i>Laggera alata</i> var. <i>alata</i>	74
I.2 <i>Plectranthus amboinicus</i>	74
I.3 <i>Ocotea comoriensis</i>	74
I.4 <i>Teclea boiviniana</i>	74
<b>II Les huiles essentielles</b>	<b>75</b>
II.1 Extraction des huiles essentielles	75
II.1.1 <i>Laggera alata</i> var. <i>alata</i>	75
II.1.2 <i>Plectranthus amboinicus</i>	75
II.1.3 <i>Ocotea comoriensis</i>	75
II.1.4 <i>Teclea boiviniana</i>	75
II.2 Analyse des huiles essentielles	75
II.2.1 <i>Laggera alata</i> var. <i>alata</i>	75
II.2.2 <i>Plectranthus amboinicus</i>	77
II.2.3 <i>Ocotea comoriensis</i>	77
II.2.4 <i>Teclea boiviniana</i>	80
<b>III <i>Teclea boiviniana</i> : étude des composés non volatils des feuilles et des racines</b>	<b>80</b>
III.1 Obtention des extraits apolaires et polaires des feuilles et des racines	80
III.2 Criblage phytochimique	83
III.3 Fractionnement et analyse de l'extrait apolaire des racines	86
III.3.1 Fractionnement	86
III.3.2 Analyse structurale par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	86
<b>IV Tests d'activité biologiques</b>	<b>87</b>
IV.1 Activité antibactérienne	87
IV.1.1. Matériel	87
IV.1.2. Méthode	87
IV.2 Activité larvicide	88
IV.3 Activité antipaludique	88
IV.4 Activité antioxydante	88
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>89</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	<b>96</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b>	<b>97</b>
<b>LISTE DES CLICHES</b>	<b>97</b>

# INTRODUCTION GENERALE

Situé dans l'Océan Indien, à l'entrée du canal du Mozambique, à 300 Km des côtes Africaines et à 400 Km au Nord Ouest de l'île de Madagascar, l'Archipel des Comores est composé de quatre îles : Grande Comore, Anjouan, Mohéli et Mayotte, avec une superficie totale de 2236 Km<sup>2</sup>. Seules les trois premières îles forment actuellement l'Union des Comores, vaste de 1660 Km<sup>2</sup>. Mayotte, quant à elle, fait partie de la République française en tant que collectivité territoriale d'Outre-Mer.

Les îles Comores présentent un potentiel d'un grand intérêt du point de vue de la diversité biologique aussi bien au niveau de la flore que de la faune. Ces îles occupent la deuxième place, derrière Madagascar, sur l'endémisme dans l'Océan Indien.

Concernant tout d'abord la flore, le nombre d'espèces végétales est estimé à  $\pm$  2000 espèces sur les trois îles, selon la mission d'Adjanooun (1982). Toutefois, les inventaires connus de la flore sont à l'heure actuelle largement insuffisants. Des récents travaux du Centre National de Documentation et de Recherche Scientifique (CNDRS), notamment dans le cadre du projet régional COI « PLARM » (Etude des caractéristiques et composants des plantes aromatiques et médicinales) font état d'au moins 350 espèces inventoriées, dont 120 familles, 118 genres et 132 espèces. A l'heure d'aujourd'hui, plus de 50 plantes sont reconnues comme étant endémiques de l'Archipel. Parmi les familles les plus importantes répertoriées aux Comores, on trouve notamment les familles suivantes : Amaranthacées, Anacardiées, Apocynacées, Araliacées, Bignoniaceae, Celastraceae, Cunoniacées, Euphorbiacées, Ebenacées, Lauracées, Moracées, Melastomacées, Myrtacées, Myristicacées, Monimiacées, Oleacées, Rubiacées, Rutacées et Verbenacées. D'une manière générale, la diversité des formations végétales résulte de la multiplicité des microclimats et de la nature des sols : sols nus (coulées de laves récentes), forêts primaires pluviales, mangroves dans les plaines, végétation anthropisée (arbres fruitiers, cocotiers), passage de la végétation semi-xérophile à éricoïde. Aujourd'hui cependant, en raison de l'introduction au cours des siècles de nombreuses espèces exotiques et de l'exploitation incontrôlée des terres, les espèces indigènes, endémiques et les associations végétales sont en danger.

Concernant la faune, on peut estimer qu'elle est, dans l'Union des Comores, diversifiée et équilibrée. Bien que pauvre en grands mammifères, tous les grands groupes zoologiques y sont représentés. On recense actuellement 17 espèces de mammifères (avec 2 espèces et 3 sous-espèces endémiques), 98 espèces d'oiseaux (35 sous-espèces endémiques et 14 espèces formant un genre endémique), 24 espèces de reptiles (10 endémiques). Parmi ces espèces, un grand nombre d'entre elles sont menacées en particulier par le braconnage et la chasse. Il convient de citer par exemple la chauve-

souris géante appelée communément Roussette de Livingstone (*Pteropus livingstonii*), le petit lémurien *Lemur mongoz* L., le Founingo des Comores (*Alectroenas sganzzini*) ou pigeon bleu ou encore *Treron australis*, le pigeon vert. La faune marine n'est pas en reste. Citons par exemple le coelacanthe, *Latimeria chalumnae*, taxon relique et mal connu, découvert en 1938. Son aire de distribution à l'échelle mondiale est réduite à la seule zone constituée par la fosse marine entre Grande Comore et Anjouan. Enfin, il y a également le mammifère marin Dugong (*Dugong dugon*, nommé localement gouva) dont l'habitat semble limité autour de Mohéli.

Les Comores sont donc riches d'espèces végétales et animales d'importance mondiale, introuvables ailleurs. Cette richesse et cette spécificité de la biodiversité ont permis aux îles Comores d'être classées *hotspot* de la biodiversité. D'après Mittermeier, président de *Conservation International*, les *hotspots* en biodiversité sont des sites d'urgence écologiques de notre planète. Historiquement, ce concept de hotspots a été créé en 1988 par un écologiste britannique nommé Norman Myers, pour qualifier les écosystèmes généralement situés dans les forêts tropicales et qui concentrent un très haut pourcentage de la diversité biologique globale. En 2000, une classification a permis de dénombrer 25 hotspots en biodiversité dans le Monde. En 2004, une réévaluation des hotspots dans le Monde, réalisée avec la participation de 400 spécialistes de la biodiversité, a conduit à la reconnaissance de 34 régions classées comme hautement riches en diversité biologique et en même temps, comme des zones critiques pour la préservation de la vie. L'Archipel des Comores avec Madagascar, Les Seychelles, Maurice (incluant Rodrigues) et La Réunion, constitue l'une de ces 34 régions.

Paradoxalement, l'Union des Comores est aussi l'un des pays les plus pauvres au Monde et où la biodiversité est davantage menacée à cause de la pauvreté associée à la croissance démographique, aux modes de production adoptés depuis plusieurs décennies et aux pratiques agricoles dangereuses pour l'environnement naturel. Comme bon nombre de pays du Sud hautement dotés en ressources naturelles, l'Archipel des Comores est classé « pays moins avancé » (PMA). D'après le Ministère de la Production et de l'environnement de l'Union des Comores, les Comores occupent le 141<sup>ème</sup> rang des 174 pays classés en fonction de leur richesse.

Le constat d'une perte continue de la biodiversité associée à une grande pauvreté, a amené l'Union des Comores à mettre en place une politique de développement conciliant conservation de la biodiversité et valorisation marchande. Ainsi, l'Union des Comores priorise parmi plusieurs alternatives, la valorisation des substances naturelles et

en particulier des huiles essentielles, pour la recherche pharmaceutique, les industries cosmétiques et agroalimentaires. Les autorités misent beaucoup sur cette activité pour financer la conservation de la biodiversité et pour permettre aux communautés locales d'améliorer leur niveau de vie. Les substances naturelles issues des plantes médicinales et aromatiques de l'Union des Comores, constitue une source potentielle de plus-value importante. Au niveau international, le commerce de substances naturelles peut avoir un impact non négligeable sur le développement économique. Les communautés rurales ainsi que les petites et les moyennes entreprises peuvent jouer un grand rôle et bénéficier de ce commerce.

La note conjoncturelle de la Banque Centrale des Comores (BCC) d'avril 2010 sur l'évolution de la situation économique, financière et monétaire des Comores au cours de l'année 2009 montre un PIB à plus de 52% sur le secteur primaire : élevage, pêche et production agricole dont la vanille, l'ylang ylang et le girofle ; trois produits de rente qui toutefois, subissent chaque année une diminution non seulement de leur production mais aussi de leur prix. Cette chute a contribué à décourager les paysans qui délaissent progressivement l'entretien des plantations. A cet effet, une diversification des produits de rente s'impose.

C'est dans cette optique d'une diversification des produits de rente et d'une valorisation économique des substances naturelles des îles Comores qu'il a été envisagé au cours de cette thèse, l'étude chimique de quatre plantes endémiques ou indigènes :

- *Laggera alata* var. *alata* (D. Don) Schp. Ex Oliv (Asteraceae).

Cette plante pantropicale a été sélectionnée pour sa richesse en huile essentielle.

- *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Lamiaceae).

Plante pantropicale, connue aux Comores sous le nom des « *nyadombwe* » et « *parawuve* », *Plectranthus amboinicus* a été choisie non seulement pour sa richesse en huile essentielle mais aussi pour ses nombreuses utilisations traditionnelles aux Comores.

- *Ocotea comoriensis* Kostermans (Lauraceae)

Endémique de l'Archipel des Comores, cette plante y est connue sous les noms de « *Mnaliwa* », « *Mrihali Gandje* » et « *Mkanfure* ». Aux Comores, le bois d'*Ocotea comoriensis* est particulièrement apprécié pour l'ébénisterie, la charronerie, la

construction d'embarcations, les boiseries intérieures et les mortiers. Cette plante a été sélectionnée pour son endémicité et pour sa richesse en huile essentielle.

- *Teclea boiviniana* (Baillon) H. Perr (Rutacées)

Le choix de cette plante repose non seulement sur son endémicité mais aussi sur son utilisation traditionnelle, tant sur l'aspect médicinal que spirituel.

Chacune de ces quatre plantes fera l'objet d'un chapitre de ce mémoire. Chaque chapitre comprend :

- ▶ une description botanique de la plante

- ▶ un récapitulatif des usages traditionnels de la plante et des espèces du même genre ainsi qu'un bilan des travaux chimiques antérieurs. Cette synthèse bibliographique sur la composition chimique se limite aux composés volatils pour les genres *Laggera*, *Plectranthus* et *Ocotea* et s'étend aux composés non volatils pour le genre *Teclea*.

- ▶ un exposé des travaux chimiques réalisés sur la plante, accompagné des résultats des tests d'activités menés sur les huiles essentielles ou les extraits non volatils (à l'exception de l'espèce *Laggera alata* var. *alata* qui n'a été soumise à aucun test d'activité).

# CHAPITRE I

## *Laggera alata* var. *alata* (D. Don) Sch. Bip. Ex Oliv. (Asteraceae)

### Laboratoire impliqué :

- ◆ Laboratoire des Substances Naturelles et des Arômes (Labo subnarôme) de l'Institut Agronomique et Vétérinaire (IAV) Hassan II, Rabat, Maroc. (*Extraction et analyse des composés volatils*)

### Publication :

SAID HASSANI M., SAID ABDALLAH B., ZRIRA S., BENJILALI B., Chemical composition of the essential oil of *Laggera alata* var. *alata* (D. Don) Sch. Bip. Ex Oliv. (Asteraceae) from Comoros Islands, Part I, Journal of Essential Oil Bearing Plants, **2005**, 8(1), 15 - 18.

## I.1 Description botanique

Famille : Asteraceae

Synonymes : *Blumea alata* (D. Don) DC  
*Conyza alata* (D. Don) Roxb  
*Erigeron alatum* D. Don

Description botanique [1] :

Plante herbacée (de 0,3 - 2,5 m) à tige annuelle, un peu lignifiée à la base.

Feuilles oblongues ordinairement décurrentes en ailes. Capitules pédonculés, ordinairement penchés, disposés en grappe rameuse feuillée plus ou moins ample. Involucre à bractées involucrelles externes couvertes de très petits poils glanduleux dense ou lâches, parfois presque glabres. Fleurs lilas ou purpurines. Fleurs externes mâles multisériées fertiles, fleurs du disque femelles nombreuses, fertiles. Réceptales plan, nu. Corolles des fleurs mâles filiformes, finement dentées au sommet, plus courtes que le style ; corolles de fleurs femelles régulières, tubuleuses, peu élargies vers le haut, à 5 dents. Elles sont jaunâtres ou rosées. Anthères très brièvement bilobées à la base ou sagittées, à auricules obtuses ou subaiguës non caudiculées, non connées avec celles des anthères voisines. Style des fleurs femelles à branches linéaires - subulées, papilleuses. Ailes, égalant ou dépassant l'entre - nœud inférieur, entières.



Cliché 1 : *Laggera alata* var. *alata*  
 [M. SAID HASSANI]

## I.2 Travaux antérieurs

Les différents types de recherche bibliographique informatisée ou non qu'il est possible d'effectuer ne font référence à aucune publication sur *Laggera alata* var. *alata* de l'archipel des Comores. Il apparaît donc nécessaire d'élargir nos recherches pour cette même espèce originaire des autres pays, ainsi qu'aux autres espèces du genre *Laggera*. Deux types d'informations ont été rassemblés : (1) les usages traditionnels des espèces du genre *Laggera* en Afrique, en Chine et à Madagascar : (2) la composition chimique et l'activité biologique des huiles essentielles extraites des espèces du genre *Laggera*.

### I.2.1. Utilisations des espèces du genre *Laggera* en médecine traditionnelle

Le tableau I illustre quelques utilisations traditionnelles des espèces du genre *Laggera* en médecine traditionnelle.

### I.2.2. Les huiles essentielles des espèces du genre *Laggera*

Les compositions chimiques des huiles essentielles extraites de feuilles, racines et tiges de huit espèces du genre *Laggera* sont rassemblées dans le tableau II. Seuls les composés volatils majoritaires isolés de ces huit espèces y figurent.

Les activités biologiques relevées pour les huiles essentielles de six espèces du genre *Laggera* sont regroupées dans le Tableau III.

Tableau I  
Utilisations d'espèces du genre *Laggera* en médecine traditionnelle

Espèce	Origine	Partie de la plante utilisée	Mode de préparation	Voie	Actions thérapeutiques	Références
<i>L. alata</i>	Rwanda	Feuilles	Décoction	Orale	Trypanosomiase	[2-5]
	Inde	Plante entière			Anti venin	
	Gabon	Feuilles Plante entière		Fumigation	Narcotique Douleurs intercostales, douleurs rhumatismales et fièvres	
	Madagascar	Plante entière			Paludisme	
<i>L. brevipes</i>	Afrique de l'Est	Racines	Décoction	Orale	Après Accouchement	[6]
	Rwanda	Tiges		Externe	Herpes	[7,8]
	Tanganyika	Plante entière	Décoction	Orale	Désordre sexuel	
<i>L. pterodonta</i>	Chine	Plante entière	Décoction	Orale	Anticancéreux Malaria Anti-inflammatoire Grippe Bronchites	[9-11]
				Externe	Antibactérien Démangeaison	
<i>L. sp</i>	Nigéria	Huile essentielle			Antimicrobien, Analgésique	[12]

Tableau II  
Composés volatils majoritaires (% > 2) isolés d'espèces du genre *Laggera*

Composés	<i>L. aurita</i>		<i>L. alata</i>		<i>L. alata var. alata</i> [17]		<i>L. alata var. montana</i> [18]		<i>L. gracilis</i>		<i>L. oloptera</i>		<i>L. pterodonta</i>		<i>L. tomentosa</i>
	[13,14]		[15,16]		[17]		[18]		[18]		[18,19]		[20,21]		[22]
	Burkina Faso	Inde	Nigéria	Madagascar	Cameroun	Cameroun	Burkina Faso	Cameroun	Bénin	Cameroun	Ethiopie				
<b>Alcanes</b>															
<i>n</i> -heptacosane	-	+ (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>n</i> -dotriacontane	-	+ (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Monterpènes hydrogénés</b>															
$\alpha$ -pinène	-	-	-	-	-	-	72,1 (f)	-	-	-	-	-	-	-	-
limonène	-	-	-	-	-	-	14,8 (f)	-	-	-	-	-	-	-	-
sabinène	-	-	16,0 (f)	-	-	-	-	2 - 28 (f)	-	-	-	-	-	-	-
<b>Monterpènes oxygénés</b>															
<i>m</i> -menth-6-én-8-ol	-	+ (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-hydroxycarvotanacétone-7-O-angélate	-	-	2,0 (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
chrysanthénone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	58 (f)
<b>Sesquiterpènes hydrogénés</b>															
$\beta$ -caryophyllène	9,6 (f)	-	10,1 (f)	-	-	7,0 (f)	-	15 - 20 (f)	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -humulène	6,4 (f)	-	14,2 (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -sélinène	-	-	-	+ (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
germacrène D	-	-	-	-	-	-	-	10 - 17 (f)	-	-	-	-	-	-	-
<b>Sesquiterpènes oxygénés</b>															
$\delta$ -cadinol	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
laggérol	-	+ (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
camphre	-	-	-	-	7,0 (f)	-	-	-	7,5 (f)	4 - 12 (f)	-	-	-	-	-
$\alpha$ -eudesmol	-	-	12,6 (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7-épi- $\gamma$ -eudesmol	-	-	-	+ (f)	21,0 (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7-épi- $\beta$ -eudesmol	-	-	-	+ (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7-épi- $\alpha$ -eudesmol	-	-	-	+ (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -eudesmol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4 - 15 (f)	-	-	-	-	-
$\gamma$ -eudesmol	-	-	-	-	-	10,0 (f)	-	20 (t)	-	17 - 45 (f)	-	-	-	-	-
10-épi- $\gamma$ -eudesmol	-	-	-	-	-	-	-	-	24,6 (f)	-	-	-	-	-	-
<b>Composés aromatiques</b>															
2,3-diméthoxy- <i>p</i> -cymène	-	+ (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5-diméthoxy- <i>p</i> -cymène	27,7 (f)	-	11,7-44,0 (f)	-	34,0 (f)	33,0 (f)	-	67 (r), 36(t)	30,5 (f)	4 - 50 (f)	-	-	-	-	-

f : feuilles, r : racines, t : tige, + : présence détectée

Tableau III  
 Activités biologiques d'espèces du genre *Laggera*

Activités biologiques	Souches/Lignées	<i>Laggera</i>						
		<i>alata</i> [2]	<i>aurita</i> [23]	<i>brevipes</i> [7]	<i>decurrens</i> [24]	<i>flava</i> [13]	<i>pterodonta</i> [8,25]	
		Rwanda	Inde	Rwanda	Namibie	Inde	Inde	Soudan
Antibactérienne	<i>Bacillus anthracis</i>		+ (f, v)			+ (f, v)		
	<i>Bacillus subtilis</i>		+ (f, v)			+ (f, v)		
	<i>Corynebacterium pyogenes</i>		+ (f, v)			+ (f, v)		
	<i>Klebsiella species</i>		+ (f, v)			+ (f, v)		
	<i>Proteus vulgaris</i>		+ (f, v)			+ (f, v)		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		+ (f, v)			+ (f, v)		
	<i>Salmonella newport</i>		+ (f, v)			+ (f, v)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>		+ (f, v)			+ (f, v)		
Antitrichomonale	<i>Trichomonas vaginalis</i>	+ (f, n.v.)						
Antivirale	<i>Virus coxsackie</i>			+ (t, n.v.)				
	<i>Virus poliovirus</i>			+ (t, n.v.)				
	<i>Virus herpes</i>			+ (t, n.v.)				
	<i>Virus semlick forest</i>			+ (t, n.v.)				
	<i>Virus measles</i>			+ (t, n.v.)				
	<i>virus vaccinia</i>							+ (pe,n.v.)
Cytotoxicité	CA-9KB							+ (pe,n.v.)
Phytotoxique					+ (f,n.v.)			

f : feuille, pe : plante entière, t : tige, v : extrait volatil; n.v. : extrait non volatil  
 + : activité biologique détectée

### I.3 Etude de *Laggera alata* var. *alata* de l'Archipel des Comores

Les parties aériennes de *Laggera alata* var. *alata* ont été récoltées au mois de septembre 2004, dans le village de Mwanzaza Djumbe (à 13 Km au Sud de Moroni - Grande Comore). Les travaux menés sur cette plante ont été exclusivement consacrés à l'étude de la composition chimique de son huile essentielle.

#### I.3.1. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles

##### I.3.1.1 Principe de l'étude

L'huile essentielle, obtenue par hydrodistillation des feuilles sèches avec un rendement de 0,10% (1 mL HE / 100 g de matière sèche) a été analysée par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG-DIF) et par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG-SM). Ces deux techniques permettant respectivement une approche quantitative et qualitative du mélange de composés volatils.

##### I.3.1.2 Résultats

Les analyses ont conduit à l'identification de 85,0% de la composition totale de l'huile essentielle de *Laggera alata* var. *alata* (D. Don) Sch. Bip. Ex Oliv. (Asteraceae).

Les 37 composés identifiés sont rassemblés par famille dans le tableau IV. Ce tableau comprend en outre les indices de rétention relatifs calculés pour chacun des constituants sur colonne apolaire (SE54).

Tableau IV  
Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Laggera alata* var. *alata*

Composés	IRR SE 54	Composition (%)
<b>Monoterpènes hydrocarbonés</b>		
$\alpha$ -pinène	932	0,5
camphène	946	tr
sabinène	971	0,1
$\beta$ -pinène	974	0,2
$\beta$ -myrcène	989	0,1
$\alpha$ -phellandrène	1002	tr
$\alpha$ -terpinène	1014	tr
limonène	1027	0,2
<i>cis</i> -ocimène	1036	tr
<i>trans</i> -ocimène	1047	0,5
$\gamma$ -terpinène	1057	tr
terpinolène	1086	tr
<i>Total</i>		1,6
<b>Monoterpènes oxygénés</b>		
1,8-cinéole	1029	tr
linalol	1099	0,2
camphre	1142	tr
terpinén-4-ol	1176	0,1
propionate de linalyle	1190	0,1
carvénone	1261	tr
<i>Total</i>		0,4
<b>Sesquiterpènes hydrocarbonés</b>		
$\delta$ -élémente	1338	0,9
$\alpha$ -cubébène	1350	1,5
$\alpha$ -ylangène	1372	0,1
$\alpha$ -copaène	1377	2,3
$\beta$ -bourbonène	1386	0,5
$\beta$ -cubébène	1391	0,7
$\alpha$ -cédrène	1414	tr
$\beta$ -caryophyllène	1426	30,5
$\alpha$ -caryophyllène	1459	16,2
$\alpha$ -muurolène	1487	21,2
$\beta$ -gurjunène	1497	tr
$\gamma$ -cadinène	1516	tr
<i>trans</i> -calaménène	1526	1,8
$\gamma$ -élémente	1560	0,3
<i>Total</i>		76,0
<b>Sesquiterpènes oxygénés</b>		
oxyde de caryophyllène	1588	2,8
Cédrool	1607	0,8
<i>Total</i>		3,6
<b>Composés aromatiques</b>		
<i>p</i> -cymène	1022	tr
thymolméthyléther	1242	tr
Carvacrol	1305	3,4
<i>Total</i>		3,4
<b>% Total d'identification</b>		<b>85,6</b>
n.i. : non identifié, tr : trace (<0,1%)		

La composition chimique de l'huile essentielle de *Laggera alata* var. *alata* de l'archipel des Comores est dominée principalement par des sesquiterpènes hydrocarbonés (76,0%).

Parmi ces sesquiterpènes, les composés suivants se trouvent en proportion importante : le  $\beta$ -caryophyllène (30,5%), l' $\alpha$ -muurolène (21,2%) et l' $\alpha$ -caryophyllène (16,2%). D'autres sesquiterpènes hydrocarbonés ont été détectés en faibles proportions. Il s'agit de l' $\alpha$ -copaène à 2,3%, du *trans*-calaménène à 1,8%, de l' $\alpha$ -cubébène à 1,5%, du  $\delta$ -élémente à 0,9%, du  $\beta$ -cubébène à 0,7%, du  $\beta$ -bourbonène à 0,5% et du  $\gamma$ -élémente à 0,3%.

Les sesquiterpènes oxygénés quant à eux sont au nombre de 2 : l'oxyde de caryophyllène et le cédrol, détectés à hauteur de 2,8% et 0,8%, respectivement.

Les monoterpènes bien qu'un peu plus nombreux que les sesquiterpènes ne représentent en fait que 2,0% de la composition totale dont 1,6% de monoterpènes hydrogénés et 0,4% de monoterpènes oxygénés. Nous pouvons citer l' $\alpha$ -pinène (0,5%), le *trans*-ocimène (0,5%), le limonène (0,2%), le  $\beta$ -pinène (0,2%), le linalol (0,2%), le sabinène (0,1%), le  $\beta$ -myrcène (0,1%), le propionate de linalyle (0,1%) et le terpinén-4-ol (0,1%).

L'huile essentielle des feuilles de *Laggera alata* var. *alata* comprend également des composés aromatiques qui sont au nombre de 3 : le carvacrol avec une proportion, dont le pourcentage s'élève à hauteur de 3,4%, le *p*-cymène et le 2-isopropyl-1-méthoxy-4-méthylbenzène tous deux détectés à l'état de trace.

#### I.3.1.3. Discussion

L'huile essentielle des feuilles de *Laggera alata* var. *alata* est riche en composés terpéniques (20 monoterpènes et 16 sesquiterpènes). Cependant ce sont les sesquiterpènes hydrogénés qui constituent la classe dominante de cette huile en raison de leur pourcentage élevé, évalué à hauteur de 76,0% de la totalité de constituants. Parmi ces sesquiterpènes hydrocarbonés, le  $\beta$ -caryophyllène (30,5%), l' $\alpha$ -muurolène (21,2%) et l' $\alpha$ -caryophyllène (16,2%) représentent à eux seuls 67,9%.

L'étude bibliographique résumée dans le tableau II p.17, sur la composition chimique des huiles essentielles de huit espèces du genre *Laggera* de différentes origines, nous permet de répartir ces huit espèces en quatre groupes selon la classe des composés volatils dominants comme indiqué dans le tableau V ci-dessous.

Tableau V  
Classement par composition chimique significative des espèces du genre *Laggera*

Groupe	Composés volatils dominants	Espèces	Origine	Références
1	diméthoxy- <i>p</i> -cymène et sesquiterpènes	<i>L. aurita</i>	Burkina Faso, Inde	[13,14]
		<i>L. alata</i>	Nigéria	[15,16]
		<i>L. alata var montana</i>	Cameroun	[18]
		<i>L. gracilis</i>	Cameroun	[18]
		<i>L. oloptera</i> (t,r)	Cameroun	[18]
		<i>L. pterodonta</i>	Bénin, Cameroun	[20,21]
2	Monoterpènes et Sesquiterpènes	<i>L. oloptera</i> (f)	Cameroun	[18]
3	Monoterpènes	<i>L. oloptera</i>	Burkina Faso	[19]
		<i>L. tomentosa</i>	Ethiopie	[22]
4	Sesquiterpènes	<i>L. alata var. alata</i>	Madagascar	[17]

f : feuilles, t : tiges, r : racines

L'espèce *Laggera alata* var. *alata* de l'Archipel des Comores renferme dans ses feuilles une huile essentielle riche en sesquiterpènes ; elle peut par conséquent être classée dans le groupe 4 et rejoint ainsi l'espèce *Laggera alata* var. *alata* de Madagascar. Soulignons cependant que bien qu'il s'agisse de la même espèce et de la même variété, toutes deux ne sont pas identiques. En effet, l'huile essentielle du spécimen se développant aux Comores renferme majoritairement du  $\beta$ -caryophyllène, de l' $\alpha$ -muurolène et de l' $\alpha$ -caryophyllène alors que celle extraite du spécimen se développant à Madagascar comprend principalement du  $\beta$ -sélinène, du 7-épi- $\alpha$ -eudesmol, du 7-épi- $\beta$ -eudesmol et du 7-épi- $\gamma$ -eudesmol. Peut-on dès lors dire que nous avons mis en évidence deux chemotypes pour l'espèce *Laggera alata* var. *alata*, l'un se trouvant à Madagascar, l'autre aux Comores ? Le terroir est-il responsable de cette variation de la composition chimique de l'huile essentielle ? N'y a-t-il pas eu une erreur d'identification des spécimens étudiés ? Autant d'interrogations auxquelles il faudra répondre par une multiplication des analyses des huiles essentielles de cette espèce collectée dans différentes zones géographiques.

### I.3.2. Conclusion et perspectives

A l'issue de ce travail consacré à l'étude chimique de l'huile essentielle des feuilles de cette espèce, il semble que cette huile, présente une spécificité de terroir vis-à-vis de celles extraites de la même variété se développant à Madagascar [17] et des autres espèces du genre *Laggera*.

Cette amorce d'étude chimiotaxonomique devra à l'avenir être renforcée par l'analyse de l'huile essentielle de *Laggera alata* var. *alata* collecté sur différentes zones géographiques afin de confirmer que l'espèce se développant au Comores présente bien une spécificité.

Pour une valorisation économique, ces travaux devraient par ailleurs être complétés par une évaluation de l'activité biologique de cette huile essentielle.

# CHAPITRE II

## *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Lamiaceae)

### **Laboratoires impliqués :**

- ◆ Laboratoire des Substances Naturelles et des Arômes (Labo subnarôme) de l'Institut Agronomique et Vétérinaire (IAV) Hassan II, Rabat Maroc. (*Extraction et analyse des composés volatils*)
- ◆ Laboratoire de Microbiologie de l'Institut Agronomique et Vétérinaire (IAV) Hassan II, Rabat Maroc. (*Tests anti-bactériens*)

### **Publication :**

SAID HASSANI M., MEHDI S., ZAINATI I., ZRIRA S., OUKESSOU M., Chemical composition and antimicrobial activity *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spring. (Lamiaceae) leaves dried essential oil from Archipelago of Comoros. (*En cours de redaction*)

## II.1 Description botanique

Famille : Lamiaceae (anciennement Labiateae)

Synonymes : *Plectranthus aromaticus* Benth  
*Coleus amboinicus* Lour.  
*Coleus aromaticus* Benth.

Description botanique [26] :

Herbe pérenne, fortement aromatique.

Tiges plusieurs, décombantes, rosâtres, atteignant 1 m de long ou plus, s'enracinant souvent aux nœuds, à poils courts ou longs, non glanduleux ; axes de l'inflorescence visqueux (poils glanduleux). Feuilles charnues, épaisses, pétiolées, largement ovées, atteignant 5 x 5 cm, pubescentes (poils denses) à laineuses - tomenteuses, serrées - crénelées au sommet, largement en coin à tronquées à la base ; pétiole velu, long de 1 - 2 cm. Inflorescence spiciforme, peu ou non ramifiée ; faux verticilles 10 - 15, très courtement pédonculés, à 10 - 20 fleurs, velus - hirsutes, ± espacés à la floraison et à la fructification. Bractées ovées, atteignant 5 x 3 mm, persistantes. Pédicelle ± dressé, de longueur variable, atteignant 5 mm de long. Calice ca. 2,5 mm de long, velu, atteignant 5 mm sur le fruit ; lèvre supérieure dressée, ovée, apiculée, nettement plus large et plus longue que les 4 subégales dents inférieures. Corolle blanche - mauve, velue, longue de 7 - 10 mm ; tube long de 4 - 5 mm, légèrement géniculé ; lèvre supérieure dressée, 1,5 - 2 mm de long ; lèvre inférieure étroitement naviculée, longue de 4 - 5 mm, étalée. Filets des étamines 4, dont 2 plus courtes, soudés à la base ; paire d'étamines les plus grandes légèrement plus longues que la lèvre inférieure ; thèques uniloculaires, rétrécies au milieu. Style longuement bifides, à lobes égaux, atteignant ca. 0,8 mm de long. Nucules largement oblongues, luisantes, finement ponctuées, ca. 0,8 x 0,6 mm.



Cliché 2 : *Plectranthus amboinicus*  
 [H. ABDEREMANE]



Cliché 3 : Feuilles sèches de *Plectranthus amboinicus*  
 au marché de Volo volo  
 [H. ABDEREMANE]

## II.2 Travaux antérieurs

Les recherches bibliographiques menées sur l'espèce *Plectranthus amboinicus* et sur le genre *Plectranthus* en général nous ont conduits à deux types d'informations : (1) les usages traditionnelles des espèces du genre *Plectranthus* en Afrique, à Madagascar et aux Comores ; (2) la composition chimique et l'activité biologique des huiles essentielles extraites des espèces du genre *Plectranthus*.

### II.2.1. Utilisations des espèces du genre *Plectranthus* en médecine traditionnelle

Il a été relevé dans la littérature un bon nombre d'usages en médecine traditionnelle non seulement pour l'espèce *Plectranthus amboinicus* mais aussi pour neuf autres espèces du même genre [27].

Aux Comores, *Plectranthus amboinicus* est connu sous les noms vernaculaires : « *Nyadombwe* » ou « *Parawuve* ». La pharmacopée locale utilise ses racines pour lutter contre la malaria [28] et ses feuilles pour leur activité antitussive [29]. Le décocté de la plante entière peut avoir quant à lui un triple usage : sédatif des coliques abdominales, médication de la dysurie et laxatif [30].

En Afrique, la plante est également utilisée par la pharmacopée traditionnelle pour lutter contre les fièvres et infections [31], les problèmes urinaires ou génitaux [32] et pour son action anti-inflammatoire [33].

Les usages traditionnels relevés pour les autres espèces du genre *Plectranthus* ont été rassemblés dans le tableau VI.

Tableau VI  
Utilisations d'espèces du genre *Plectranthus* en médecine traditionnelle

Espèces	Origine	Actions thérapeutiques		
		Fièvre/Infections	Urinaire/Génitale	Inflammation
<i>P. barbatus</i>	Afrique (Est, Centre et Nord)	[34]	[35]	[36]
<i>P. coeruleus</i>	Afrique de l'Est	[32]	-	-
<i>P. lactiflorus</i>	Tanzanie	[32]	-	-
<i>P. lanceolatus</i>	Madagascar	[32]	-	-
<i>P. laxiflorus</i>	Afrique (Est, Centre-Ouest et Sud)	[32,34]	[32,34]	[32,34]
<i>P. melleri</i>	Madagascar	[37]	-	-
<i>P. montanus</i>	Afrique de l'Est	[34]	-	-
<i>P. prostratus</i>	Uganda	-	[38]	-
<i>P. tetensis</i>	Afrique de l'Est	[32,34]	-	-

## II.2.2. Les huiles essentielles des espèces du genre *Plectranthus*

Une revue exhaustive a été réalisée en 2002 sur la composition chimique des espèces du genre *Plectranthus* [39]. Cette revue reprend l'ensemble des composés volatils contenus dans les huiles essentielles, des diterpènes (environ 140 composés), des alkylphénols à longues chaînes, des flavonoïdes et des acides gras isolés des espèces de ce genre.

Concernant plus précisément la classe des composés volatils, seuls ceux contenus dans l'huile essentielle de spécimens de *P. amboinicus* se développant dans l'Océan Indien, ont retenu notre attention. Ces résultats sont reportés dans le tableau VII.

Tableau VII  
Composition chimique des huiles essentielles des espèces *Plectranthus amboinicus* de l'Océan Indien

Composés	<i>P. amboinicus</i>			
	Réunion [40]	Maurice [41]	Inde [42]	Inde [43]
<b>Alcools aliphatiques</b>				
1-octén-3-ol	-	1,1	-	-
<b>Monoterpènes hydrogénés</b>				
$\alpha$ -phellandrène	-	0,2	-	-
$\Delta$ -3-carène	16,3	1,0	-	-
$\alpha$ -terpinène	-	0,4	-	-
limonène	-	0,7	-	-
$\gamma$ -terpinène	11,9	1,0	-	-
<b>Monoterpènes oxygénés</b>				
linalol	-	1,2	-	-
camphre	12,3	39,0	-	-
1,8-cinéole	-	-	0,8	-
terpinén-4-ol	-	2,4	0,2	-
géraniol	-	0,2	-	-
<b>Sesquiterpènes hydrogénés</b>				
$\alpha$ -copaène	-	0,4	-	-
$\beta$ -caryophyllène	-	1,7	-	13,1
$\alpha$ -humulène	-	0,5	-	-
$\delta$ -muurolène	-	0,5	-	-
$\beta$ -sélinène	-	1,4	-	-
$\alpha$ -sélinène	-	0,1	-	-
$\delta$ -cadinène	-	0,6	-	-
<i>cis</i> - $\alpha$ -bergamotène	-	1,5	-	-
patchoulane	-	-	-	8,7
<b>Sesquiterpènes oxygénés</b>				
spathuléol	-	-	0,2	-
$\gamma$ -cadinol	-	-	0,3	-
$\alpha$ -cadinol	-	-	0,3	-
(Z,E)-farnésol	-	-	0,5	-
<b>Composés aromatiques</b>				
carvacrol	13,4	41,3	1,2	50,7
thymol	-	0,2	94,3	-
<i>p</i> -cymène	-	0,7	0,3	-

Par ailleurs, seule l'huile essentielle de *P. amboinicus* originaire de l'Inde [42] a été testée pour ses activités biologiques. Il a été ainsi révélé pour cette huile essentielle, une forte activité insecticide contre les termites.

## II.3 Etude de *Plectranthus amboinicus* de l'Archipel des Comores

Les travaux menés sur *Plectranthus amboinicus* ont été consacrés d'une part, à l'étude de la composition chimique de son huile essentielle et d'autre part, à l'évaluation de l'activité anti-bactérienne de cette huile essentielle.

### II.3.1. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles

#### II.3.1.1 Principe de l'étude

Extraite par hydrodistillation des feuilles sèches achetées au marché de Volo volo, de Moroni, l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* a été obtenue avec un rendement de 1,25% (1,25 mL HE / 100 g de matière sèche) et analysée quantitativement et qualitativement respectivement par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG-DIF) et par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG-SM).

#### II.3.1.2 Résultats

Les analyses ont conduit à l'identification de 98,3% de la composition totale de l'huile essentielle de feuilles de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Lamiaceae).

Les 27 composés identifiés sont rassemblés par famille dans le tableau VIII. Ce tableau comprend en outre les indices de rétention relatifs calculés pour chacun des constituants sur colonne apolaire DB-5.

Tableau VIII  
Composition chimique de l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* des Comores

Composés	IRR	%
	DB-5	
<b>Monoterpènes hydrocarbonés</b>		
$\alpha$ -thujène	940	0,6
$\alpha$ -pinène	948	0,8
camphène	965	1,1
sabinène	971	tr
$\beta$ -pinène	1005	1,0
$\alpha$ -phellandrène	1018	0,7
$\Delta$ -3-carène	1023	15,0
$\alpha$ -terpinène	1028	4,7
<i>cis</i> -ocimène	1038	1,6
$\gamma$ -terpinène	1065	8,4
$\alpha$ -terpinolène	1092	1,3
<b>Total</b>		<b>35,3</b>
<b>Monoterpènes oxygénés</b>		
linalol	1102	0,6
camphre	1140	22,2
bornéol	1160	tr
terpinén-4-ol	1170	0,6
$\alpha$ -terpinéol	1182	tr
<b>Total</b>		<b>23,3</b>
<b>Sesquiterpènes hydrocarbonés</b>		
$\gamma$ -cubébène		tr
$\alpha$ -copaène	1359	0,4
$\beta$ -caryophyllène	1399	2,3
<i>Z</i> - $\alpha$ - <i>trans</i> -bergamotène	1415	1,2
$\alpha$ -caryophyllène	1434	0,7
$\beta$ -sélinène	1467	1,9
n.i.	1475	0,5
n.i.	1495	0,3
n.i.	1502	0,5
<b>Total</b>		<b>7,8</b>
<b>Sesquiterpènes oxygénés</b>		
oxyde de caryophyllène	1532	1,1
n.i.	1765	0,4
<b>total</b>		<b>1,5</b>
<b>Composés aromatiques</b>		
<i>o</i> -cymène	1034	7,7
thymolméthylether	1235	0,8
thymol	1297	0,6
carvacrol	1299	23,0
<b>Total</b>		<b>32,1</b>
<b>% total d'identification</b>		<b>98,3</b>

n.i. : non identifié, tr : trace

La composition chimique de l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Lamiaceae) est dominée principalement par des monoterpènes à 58,6% et des composés aromatiques 32,1%. Avec 9,3%, les sesquiterpènes quant à eux ne constituent qu'une faible proportion de l'huile essentielle.

Concernant la classe des monoterpènes, les composés hydrocarbonés y sont majoritaires : 35,3% de dérivés hydrocarbonés contre 22,3% de dérivés oxygénés.

Parmi les dérivés hydrocarbonés, on relèvera en particulier la présence majoritaire du  $\Delta$ -3-carène (15,0%), du  $\gamma$ -terpinène (8,4%) et de l' $\alpha$ -terpinène (4,8%).

Parmi les dérivés oxygénés, le camphre détecté à hauteur de 22,2% est l'unique composé majoritaire de ce groupe.

Les composés aromatiques sont principalement représentés par le carvacrol (23,0%) et l'*o*-cymène (7,7%). Le thymolméthyléther et le thymol sont à des teneurs faibles, 0,8% et 0,6%, respectivement.

Concernant la classe des sesquiterpènes, les composés hydrocarbonés y sont majoritaires : 7,8% de dérivés hydrocarbonés contre 1,5% de dérivés oxygénés.

Parmi les sesquiterpènes hydrocarbonés, les composés détectés à teneur non négligeable sont : le  $\beta$ -caryophyllène (2,3%), le  $\beta$ -sélinène (1,9%) et le (*Z*)- $\alpha$ -trans-bergamotène (1,2%).

Parmi les sesquiterpènes oxygénés, seul l'oxyde de caryophyllène a été élucidé avec un faible pourcentage de 1,1%.

### II.3.1.3. Discussion

L'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* des Comores renferment 5 composés majoritaires représentant à eux seuls 81,0% de la totalité de la composition, à savoir : le carvacrol (23,0%), le camphre (22,2%), le  $\Delta$ -3-carène (15,0%), le  $\gamma$ -terpinène (8,4%), l'*o*-cymène (7,7%) et l' $\alpha$ -terpinène (4,7%).

Dans la littérature, sont données les compositions chimiques des huiles essentielles de cette même espèce se développant à la Réunion [40], à Maurice [41] et en Inde [42,43] (Tableau VII p.27). En Inde, l'étude a été réalisée par deux équipes distinctes. La première [42] montre que l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* est composée à 94,2% de thymol ; la seconde [43] a étudié un spécimen dont l'huile essentielle était caractérisée par une forte teneur en carvacrol (50,7%), en  $\gamma$ -caryophyllène (13,1%) et en patchoulane

(8,7%). A la Réunion [40], *Plectranthus amboinicus* renferme une huile essentielle dont les composés majoritaires sont le  $\Delta$ -3-carène (16,3%), le carvacrol (13,4%), le camphre (12,3%) et le  $\gamma$ -terpinène (11,9%). *Plectranthus amboinicus* de l'île Maurice se caractérise quant à lui, par une huile essentielle particulièrement riche en carvacrol (41,3%) et en camphre (39,0%).

Au vu de ces résultats, il apparaît que *Plectranthus amboinicus* des Comores présentant également une forte teneur en carvacrol (23,0%) et en camphre (22,2%) se rapproche très nettement du chemotype se développant à l'île Maurice et à la Réunion.

## II.3.2. Activité biologique de l'huile essentielle des feuilles

### II.3.2.1 Principe de l'étude

L'activité anti-bactérienne de l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* a été testée sur deux souches : l'une Gram négatif (-) (*Escherichia coli*) et l'autre Gram positif (+) (*Staphylococcus aureus*).

### II.3.2.2 Résultats

Les premiers essais réalisés à partir de solutions d'huile essentielle dont les dilutions étaient de 1/2, 1/4 et 1/8, ont montré une inhibition totale des deux souches bactériennes. En conséquence, une diminution des concentrations a été envisagée et des essais complémentaires ont été effectués. Le tableau IX, ci-dessous, présente les valeurs moyennes du diamètre d'action inhibitrice sur les souches testées en fonction des concentrations de l'huile essentielle.

Tableau IX  
Valeurs moyennes du diamètre d'action inhibitrice en fonction des concentrations de l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus*

Dilution	Diamètre* d'action inhibitrice (moyenne)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1/16	13	22
1/32	12	17
1/64	11	15
1/128	10	14
1/256	10	13
1/512	10	12

\* unité : le millimètre

Les courbes 1 et 2 (Figures 1 et 2) illustrent également cette inhibition de *E. coli* et *S. aureus*, par l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus*, en fonction de la dilution de cette dernière. Les courbes obtenues présentent une modélisation polynomiale d'ordre 2, dont les équations mathématiques et les coefficients de détermination (CD) sont donnés. Il est à relever que les CD sont très élevés traduisant ainsi une bonne corrélation entre le taux de dilution et le niveau d'inhibition.

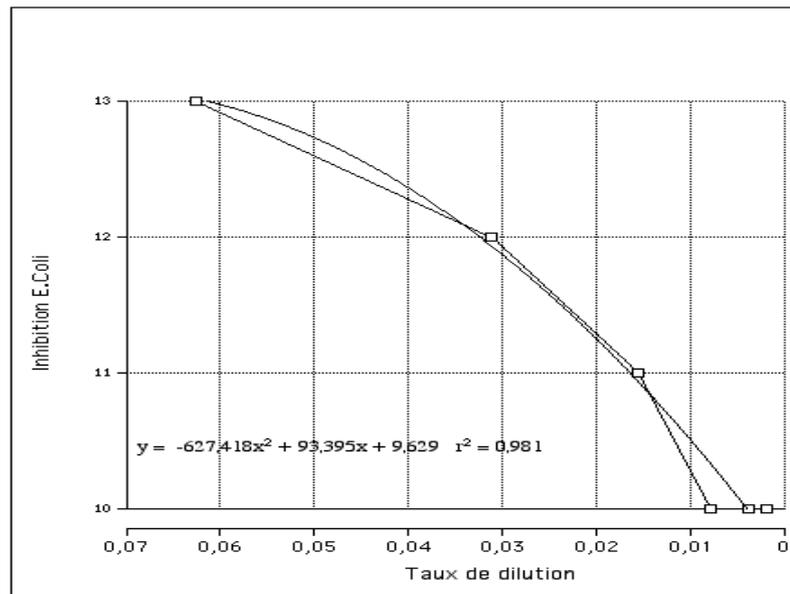


Figure 1

Courbe d'inhibition d'*Escherichia coli* en fonction de la dilution de l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus*

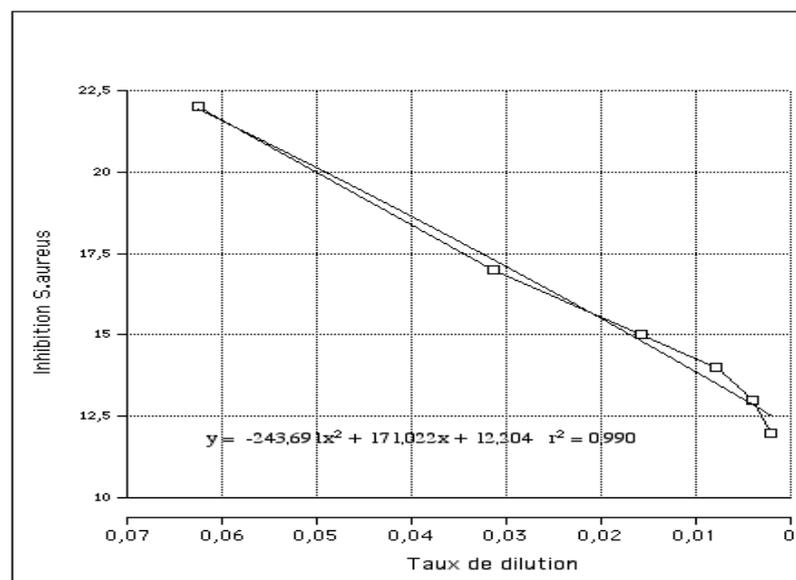


Figure 2

Courbe d'inhibition de *Staphylococcus aureus* en fonction de la dilution de l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus*

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* i.e. la plus faible concentration de l'huile capable d'inhiber totalement la croissance bactérienne, a ensuite été évaluée à 0,2% et 0,1% sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, respectivement.

### II.3.2.3 Discussion

Il est bien souvent difficile d'attribuer l'activité biologique d'une huile essentielle à la présence d'un composé unique car cette activité est le plus souvent le résultat d'une synergie entre différents composés. Toutefois, l'activité antibactérienne mise en évidence pour l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* des Comores peut probablement être attribuée en grande partie à la présence du carvacrol (23,0%), du camphre (22,2%) et du thymol (0,6%) reconnus pour leur activité antibactérienne importante tant sur Gram (+) que sur Gram (-) [44]. En outre, il est également intéressant de relever la présence non négligeable du  $\Delta$ -3-carène (15,0%), de l' $\alpha$ -terpinène (4,7%) et du  $\gamma$ -terpinène (8,4%), tous trois reconnus non seulement pour leur action inhibitrice sur différentes souches bactériennes tels que *Beneckeia natrigens*, *Klebsiella pneumonia* et *Salmonelle pullorum* [45,46] mais aussi comme agents anti-oxydants [47-50]. Cette activité anti-oxydante serait par ailleurs grandement renforcée par le carvacrol et le thymol [48].

Ainsi, la combinaison des actions anti-bactérienne et anti-oxydante permettrait à l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* des Comores d'être valorisée comme agent de conservation naturel aussi bien dans le domaine de l'alimentaire que dans celui des cosmétiques.

Soulignons par ailleurs, que les activités biologiques de l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* mises en évidence (activité anti-bactérienne) ou soupçonnées (activités anti-oxydante) viennent compléter la liste déjà conséquente des propriétés biologiques relevées pour cette plante : effet modulateur sur l'éthylène glycol provoquant des calculs rénaux chez le rat ; activité antifongique sur les souches *Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis* ; agent potentiel contre les rhumatismes inflammatoires [49-52].

### II.3.3. Conclusion et perspectives

Dans la perspective d'une démarche de diversification des plantes à valeur ajoutée des Comores (Ylang ylang, Girofle, etc.), *Plectranthus amboinicus*, plante aromatique des Comores, a été choisie comme candidat potentiel. Les premiers résultats de nos travaux

effectués sur l'huile essentielle extraite des feuilles de cette plante ont conforté ce choix. En effet, l'huile essentielle riche en carvacrol, camphre,  $\Delta$ -3-carène,  $\gamma$ -terpinène et  $\alpha$ -cymène, présente un réel potentiel de valorisation en tant qu'agent de conservation naturel aussi bien dans l'industrie alimentaire que dans l'industrie des cosmétiques. Ce rôle d'agent de conservation naturel, elle le doit à son activité antibactérienne démontrée sur les souches Gram (-) *Escherichia coli* et Gram (+) *Staphylococcus aureus* et à son activité anti-oxydante soupçonnée en raison de sa composition chimique ; les monoterpènes tels que l' $\alpha$ -terpinène, le  $\gamma$ -terpinène, le carvacrol ou encore le thymol sont en effet reconnus pour leur activité anti-oxydante. Face à la nécessité de réduire les agents de conservation chimiques ou synthétiques, le recours aux produits naturels tels que les huiles essentielles semble de plus en plus apprécié. L'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* a donc toutes ses chances en répondant à cette demande du marché actuel.

Nos premiers résultats forts prometteurs ne sont que les prémices d'une étude qui reste à approfondir. Afin d'aboutir réellement au développement et à la valorisation économique de *Plectranthus amboinicus*, les futurs travaux de recherche devront comprendre :

- une multiplication des extractions aussi bien des huiles essentielles que des extraits bruts obtenus par macération de la plante sèche, à froid, dans des solvants organiques.
- une multiplication des évaluations des activités biologiques de ces extraits : cytotoxicité, activités anti-bactérienne, anti-fongique, anti-oxydante,...
- un fractionnement bioguidé des huiles essentielles et des extraits bruts afin d'identifier le (ou les) constituant(s) responsable(s) des activités observées.
- un suivi de la plante durant une année entière afin d'évaluer l'effet éventuel du cycle végétatif sur le rendement en extrait et sur la composition chimique de ce dernier.

# CHAPITRE III

## *Ocotea comoriensis* Kostermans (Lauraceae)

### Laboratoires impliqués :

- ◆ Département de Chimie de la Faculté des Sciences de l'Université de Maurice, Réduit, Maurice.  
(*Extraction des huiles essentielles*)
- ◆ Laboratoire de l'Institut des Biomolécules Max Mosseron de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier (ENSCM), France. (*Analyse des composés volatils*)
- ◆ Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA) de l'Université de la Réunion, France. (*Analyse des composés volatils*)
- ◆ Institute of Pharmaceutical Chemistry, Université de Vienne, Autriche. (*Tests anti-oxydants*)
- ◆ Institut de Pharmacognosie et Phytochimie (IPP) de l'École de Pharmacie de l'Université de Lausanne, Suisse. (*Tests larvicides*)
- ◆ Laboratoire de Chimie et Biochimie des Substances Naturelles, Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN), USM 0502, CNRS, UMR 5154, Paris, France. (*Tests antipaludiques*)

### Publication :

MENUT C., BESSIERE J.M., SAID HASSANI M., BUCHBAUER G., SCHOPPER B., Chemical and Biological studies of *Ocotea comoriensis* bark essential oil, Flavour Fragr. J., **2002**, 17, 459-461.

### III.1 Description botanique

Famille : Lauraceae

Synonymes : /

Description botanique [53] :

Arbre, généralement de 20 m de haut, à ramilles subanguleuses, glabres ou montrant vers le sommet, sous la loupe, de très petits poils épars, à bourgeons densément poilus, soyeux, à rameaux grisâtres, un peu verruqueux. Feuilles ovales - elliptiques, de 6 à 19 cm sur 2 à 8 cm, distinctement triplinerves, les côtés basilaires creusés à l'insertion, à réseau dense et un peu saillant. Inflorescences terminales et axillaires en panicule. Fleurs (et panicules) densément tomentelleuses, blanches, de 1 à 1,5 mm de long et jusqu'à 6 mm de diamètre. 6 petits pétales jaunes alternent avec 6 sépales blancs plus grands; extrémité du stigmate noire. Ovaire glabre ou faiblement poilu, ellipsoïdal, long de 1 mm environ, atténué en style cylindrique-conique assez épais, atteignant 1,5 mm de long à stigmate discoïde. Fruit au bout d'un pédoncule long de 6 à 11 cm, charnu (drupe), ovale, forme variable (quelquefois, apparence d'un gland), rugueux.



Cliché 4 : Feuilles et fruits d'*Ocotea comoriensis*  
[M. SAID HASSANI]



Cliché 5 : Ecorces d'*Ocotea Comoriensis*  
[M. SAID HASSANI]

## III.2 Travaux antérieurs

Hormis un rapport [54] faisant mention de l'utilisation de son bois pour la construction de maison et la fabrication des meubles, aucune donnée bibliographique n'a été trouvée sur l'*Ocotea comoriensis*. Il nous a donc semblé judicieux d'élargir nos recherches aux autres espèces du genre *Ocotea*.

Deux types d'informations ont été retenus : (1) les usages traditionnels des espèces du genre *Ocotea* en Afrique ; (2) la composition chimique et l'activité biologique des huiles essentielles extraites de plusieurs espèces du genre *Ocotea*.

### III.2.1. Utilisations des espèces du genre *Ocotea* en médecine traditionnelle

L'espèce *Ocotea comoriensis* Kostermans (Lauraceae) ne semble n'avoir aucune application en médecine traditionnelle. En revanche, trois autres espèces du même genre : *O. bullata*, *O. kenyensis* et *O. usambarensis* sont utilisées par la pharmacopée locale africaine (Tableau X).

Tableau X  
Utilisations d'espèces du genre *Ocotea* en médecine traditionnelle

Espèce	Origine	Partie de la plante utilisée	Préparations	Actions thérapeutiques	Références
<i>O. bullata</i>	Afrique du Sud	Ecorces	Poudre sniffée ou fumée en cigarette	Complication urinaire Maux de tête	[55,56]
<i>O. kenyensis</i>	Kenya	Ecorces			[57]
<i>O. usambarensis</i>	Afrique de l'Est	Ecorces	Décoction	Maux d'estomac	[56]

### III.2.2. Les huiles essentielles des espèces du genre *Ocotea*

Les études bibliographiques réalisées ont contribué à l'obtention de deux types de données relatives aux huiles essentielles du genre *Ocotea*. A savoir :

- d'une part, la composition chimique des huiles essentielles extraites de leurs fruits, feuilles et bois ou encore écorces. Le tableau XI présente les composés volatils majoritaires (>3%) isolés pour 19 espèces recensées du genre *Ocotea*.
- et d'autre part, les activités biologiques de quelques unes des ces huiles essentielles (tableau XII).

Tableau XI  
Composés volatils majoritaires (% > 3) isolés d'espèces du genre *Ocotea*

Composés	<i>O. austinii</i> [58]		<i>O. bofo</i> [59]		<i>O. bracteosa</i> [60]		<i>O. brenesii</i> [61]		<i>O. floribunda</i> [62-64]		<i>O. holdridgeana</i> [63,64]	
	Costa Rica		Equateur		Brésil		Costa Rica		Costa Rica		Costa Rica	
<b>Aldéhydes</b>												
<i>trans</i> -2-hexénal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Monoterpènes hydrogénés</b>												
$\alpha$ -pinène	33,2 (f)	14,9 (b)	-	-	-	-	-	-	22,4 - 22,5 (f)	-	-	29,9 (f)
$\beta$ -pinène	13,0 (f)	8,2 (b)	-	-	-	-	-	-	12,6 - 21,3 (f)	-	-	9,1 (f)
camphène	3,6 (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sabinène	-	-	10,4 (fr)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -phellandrène	-	-	19,6 (fr)	-	-	5,2 (f)	-	-	-	-	-	-
limonène	-	-	5,0 (fr)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
terpinolène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> - $\beta$ -ocimène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Monoterpènes oxygénés</b>												
acétate de bornyle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,8-cinéole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
gèranial	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
néral	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpinéol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
linalol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Sesquiterpènes hydrogénés</b>												
$\delta$ -cadinène	5,7 (f)	-	-	-	12,4 (e)	-	9,2 (f)	-	-	-	-	-
germacrène D	3,3 (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19,9 (f)
$\gamma$ -gurjunène	3,3 (f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -caryophyllène	3,1 (f)	-	-	-	-	-	6,1 (b)	-	-	-	-	-
$\gamma$ -cadinène	-	4,6 (b)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
viridiflorène	-	5,0 (b)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lédène	-	-	-	-	11,1 (e)	-	-	-	-	-	-	-
aromadendrène	-	-	-	-	4,2 (e)	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -copaène	-	-	-	-	-	21,1 (f)	6,6 (b)	-	-	-	-	-
$\alpha$ -cubébène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kaurène	-	-	-	-	-	-	-	-	34,0 (f)	-	-	-
germacrène A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -sélinène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
germacrène B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -cadinène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Sesquiterpènes oxygénés</b>												
$\beta$ -eudesmol	-	9,1 (b)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -eudesmol	-	8,8 (b)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
globulol	-	-	-	-	10,1 (e)	5,6 (f)	5,0 (b)	-	-	-	-	-
spathuléol	-	-	-	-	-	7,3 (f)	-	-	-	-	-	-
oxyde de caryophyllène	-	-	-	-	-	-	6,3 (b)	-	-	-	-	-
oxyde d'humulène II	-	-	-	-	-	-	4,6 (b)	-	-	-	-	-
nérolidol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-murolène-10-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -cadinol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
bulnésol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
acétate de farnésyle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>composés aromatiques</b>												
<i>p</i> -cymène	-	-	4,8 (fr)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
méthylchavicol	-	-	48,7 (fr)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
asaricine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -cinnamaldéhyde	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
cinnamate de méthyle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
acétate de cinnamyle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
benzaldéhyde	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

b : bois, e : écorce, f : feuilles, fr : fruits, m : mélange

Tableau XII  
 Activités biologiques des huiles essentielles d'espèces du genre *Ocotea*

Activités biologiques	<i>Ocotea</i>													
	<i>bofo</i> [59]	<i>bracteosa</i> [60]	<i>floribunda</i> [62,64]	<i>holdridgeana</i> [64]	<i>meziana</i> [64,65]	<i>notata</i> [66]	<i>quixos</i> [68,69]	<i>sp1</i> [64-66]	<i>sp2</i> [64,65]	<i>tonduzii</i> [64]	<i>usambarensis</i> [71]	<i>valeriana</i> [64]	<i>veraguensis</i> [65,72]	<i>Whitei</i> [64,65,72]
Antithrombotique							+							
Antibactérienne						+	+							
Antifongique							+				+			
Antimicrobienne	+													
Antioxydante	+						+							
Antiplaquettaire							+							
Cytotoxique			+		+	+		+	+				+	+
Inhibitrice de la cruzaïne <sup>a</sup>			+	+	+		+	+	+	+		+		+
Molluscicide		+												

+ : activité biologique détectée

<sup>a</sup> Cystéine protease du parasite *Trypanosoma cruzi*

### III.3 Etude de l'*Ocotea comoriensis* de l'Archipel des Comores

Sélectionnée pour sa richesse en huile essentielle, l'*Ocotea comoriensis* a tout d'abord fait l'objet d'une analyse comparative des composés volatils contenus dans ses feuilles, fruits et écorces collectés en période de fructification (avril). Puis, la variation de la composition chimique de l'huile essentielle extraite des écorces d'un même individu a également été étudiée en fonction de la saison. Pour cela, deux collectes ont été réalisées, l'une en avril (période de fructification), l'autre en septembre (période de repos végétatif).

Enfin, ce travail a été complété par l'évaluation de l'activité biologique (activités anti-larvaire, anti-paludique et anti-oxydante) de l'huile essentielle extraite des écorces.

#### III.3.1. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles, fruits et écorces

##### III.3.2.1 Principe de l'étude

Les huiles essentielles des feuilles, des fruits et des écorces collectés sur le site de la Grille à la Grande Comore, ont été réalisées par hydrodistillation de la matière sèche. Leurs analyses qualitative et quantitative ont été réalisées respectivement par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG-DIF) et par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG-SM).

##### III.3.1.2 Résultats

##### ► Rendements

Le tableau XIII ci-dessous, indique le rendement en huile essentielle pour chacun des organes étudiés.

Tableau XIII  
Rendement en huile essentielle de l'espèce *Ocotea comoriensis*

Code	Parte de la plante extraite	Période de collecte	Rendement* (%)	Aspect de l'huile
Ec1	Ecorces	Avril	0,20	Orange
Ec2	Ecorces	Septembre	0,35	Jaune
Fe1	Feuilles	Avril	0,35	Orange
Fr1	Fruits	Avril	0,39	Jaune-orange (odeur puissante)

(\*) : Rendement calculé par rapport à la masse des écorces, feuilles et fruits secs

### ► *Composition chimique*

Les analyses qualitatives et quantitatives ont conduit à l'identification de 75,8%, 96,1%, 76,8% et 94,6% de la composition totale des huiles essentielles des écorces (Ec1 et Ec2), des feuilles (Fe1) et des fruits (Fr1), respectivement. Les 86 composés identifiés dans Ec1, Ec2, Fe1 et Fr1 sont rassemblés par famille dans le tableau XIV.

Ce tableau comprend en outre les indices de rétention relatifs (IRR) calculés pour chacun des constituants de Ec1, Fe1 et Fr1, sur deux types de colonnes capillaires ; l'une apolaire (SPB-5), l'autre polaire (Supelcowax). Sont inclus également dans ce tableau les indices de rétention relatifs (IRR) des composés volatils de Ec2 ; indices calculés pour une colonne capillaire apolaire (OV101).

Les huiles essentielles des écorces, des feuilles et des fruits collectés en avril contiennent respectivement :

- 0,4% ; 1,8% et 18,4% de monoterpènes
- 84,7% ; 80,4% et 78,6 de sesquiterpènes
- 5,8% ; 0,9% et 1,3% de dérivés aromatiques

Ces trois huiles essentielles sont donc principalement constituées de sesquiterpènes. Chacune d'entre elles affiche cependant des particularités.

Tableau XIV  
Composition chimique des huiles essentielles des écorces (Ec1, Ec2), des feuilles (Fe1) et des fruits (Fr1)  
de l'*Ocotea comoriensis*

Composés	IRR			Composition (%)			
				Ecorces		Feuilles	Fruits
	SPB-5	OV101	Supelcowax	Ec1	Ec2	Fe1	Fr1
<b>Monoterpènes hydrocarbonés</b>							
tricyclène	926		n.d.	-	-	-	tr
$\alpha$ -thujène		920		-	0,2	-	-
$\alpha$ -pinène	937	931	1021	-	13,7	0,3	1,2
camphène	953	945	1057	-	18,1	0,4	3,9
sabinène	976	963	n.d.	-	0,1	-	tr
$\beta$ -pinène	982	971	1096	-	8,4	0,3	1,6
$\beta$ -myrcène	981	982	1148	-	2,6	-	tr
$\alpha$ -phellandrène	1009		n.d.	-	-	-	tr
$\alpha$ -terpinène	1020		n.d.	-	-	-	tr
limonène	1028	1024	1198	Tr	5,6	0,5	0,2
$\gamma$ -terpinène	1061	1051	n.d.	-	0,1	-	tr
terpinolène	1092	1080	n.d.	-	0,2	-	tr
4-acétyl-1-méthylcyclohexène	1136		n.d.	-	-	tr	tr
n.i.	1337		n.d.	-	-	-	0,3
<i>total</i>				<0,1	49,0	1,4	7,2
<b>Monoterpènes oxygénés</b>							
1,8-cinéole (eucalyptol)	1035	1022	1208	-	2,1	-	tr
linalol	1104	1087	1533	Tr	0,7	-	0,1
fenchol (endo)	1123		n.d.	-	-	-	0,1
<i>cis-p</i> -menth-2-én-1-ol	1130		n.d.	Tr	-	-	tr
<i>trans-p</i> -menth-2-én-1-ol	1148		n.d.	Tr	-	-	tr
<i>trans</i> -pinocarvéol	1149		n.d.	-	-	-	tr
hydrate de camphène	1159		n.d.	-	-	-	tr
isobornéol	1168		n.d.	-	-	-	tr
bornéol	1177	1155	1693	-	2,3	tr	1,4
terpinén-4-ol	1186		1593	-	-	-	0,2
$\alpha$ -terpinéol	1200		1690	-	-	tr	0,4
<i>cis-p</i> -menthan-2-one	1207		n.d.	Tr	-	-	tr
<i>cis</i> -pipéritol	1218		n.d.	Tr	-	-	tr
citronellol	1234		n.d.	Tr	-	-	tr
carvotanacétone	1256		1677	0,4	-	-	tr
n.i.	1289		n.d.	-	-	0,2	tr
acétate d'isobornyle (ou de bornyle)	1293	1271	1576	-	13,8	0,2	9,0
<i>Total</i>				0,4	18,9	0,4	11,2
<b>Sesquiterpènes hydrocarbonés</b>							
$\delta$ -élémente	1345		1468	0,6	-	0,7	tr
$\alpha$ -cubébène	1357	1349	1454	0,3	4,5	1,5	3,4
$\alpha$ -ylangène	1350		1481	8,2	-	0,5	tr
$\alpha$ -copaène	1385	1377	1493	3,1	1,6	0,7	1,8
$\beta$ -bourbonène	1394		1515	-	-	tr	-
$\beta$ -cubébène	1397	1387	1533	Tr	1,5	tr	-
$\beta$ -élémente	1399		1586	1,0	-	2,0	1,3
sativène	1400		n.d.	0,3	-	-	-
7-épi-sesquithujène	1409		1548	-	-	0,3	-
$\alpha$ -cis-bergamotène	1421		1560	-	-	0,3	-
(E)-caryophyllène	1431	1419	1595	1,8	0,6	4,0	0,6
<i>trans</i> - $\alpha$ -bergamotène	1441		n.d.	-	-	tr	-
$\alpha$ -guaïène	1446		n.d.	0,3	-	tr	tr
guaïa-6,9-diène	1452		1598	2,0	-	tr	-
4bH,10aH-guaïa-1(5),6-diène	1458		n.d.	0,6	-	0,4	-
n.i. (composé C1)	1460		1727	2,6	-	-	0,6
(E)- $\beta$ -farnésène	1461		1650	-	-	1,9	-

Tableau XIV (suite)

Composés	IRR			Composition (%)			
				Ecorces		Feuilles	Fruits
	SPB-5	OV101	Supelcowax	Ec1	Ec2	Fe1	Fr1
<b>Sesquiterpènes hydrocarbonés (suite)</b>							
$\alpha$ -humulène	1466	1453	1667	Tr	0,9	0,9	1,8
drima-7,9(11)-diène	1481		1678	-	-	-	2,6
n.i.	1483			-	-	-	1,3
$\gamma$ -muurolène	1487		1685	5,1	-	0,9	3,5
$\alpha$ -amorphène	1490	1472	1681	4,4	0,4	2,4	tr
germacrène D		1478			0,5	-	-
$\beta$ -sélinène	1499		1715	2,4	-	6,7	tr
$\alpha$ -muurolène	1510	1502	1717	5,0	1,0	-	1,9
bicyclosesquiphellandrène	1504		n.d.	-	-	-	tr
$\beta$ -bisabolène	1514		1718	-	-	0,9	-
<i>trans</i> - $\beta$ -guaïène	1516		1701	-	-	-	1,5
$\gamma$ -cadinène	1525	1510	1752	2,8	1,1	tr	tr
$\delta$ -cadinène	1533	1521	1748	3,3	2,5	-	10,8
<i>trans</i> -calaménène	1534	1518	1824	Tr	0,7	4,0	0,4
<i>trans</i> -cadina-1(2),4-diène	1544		1775	Tr	-	tr	0,4
$\alpha$ -cadinène	1548		1785	-	-	-	1,6
n.i.	1576		n.d.	Tr	-	-	0,8
<b>total</b>				<b>43,8</b>	<b>15,3</b>	<b>28,2</b>	<b>34,3</b>
<b>Sesquiterpènes oxygénés</b>							
n.i. (composé C2)	1472		1708	7,6	-	-	0,6
n.i. (composé C3)	1475		1634	2,4	-	-	-
n.i.	1492			-	-	1,3	-
1,11-époxyde calaménène	1501		n.d.	-	-	-	tr
<i>épi</i> -cubébol	1508		1880	-	-	4,0	-
cubébol I		1508		-	1,2	-	-
cubébol (cubébol II)	1529	1518	n.d.	-	0,7	-	tr
italicène époxyde	1560		1866	-	-	-	1,2
élémol	1563		2070	-	-	1,9	-
nérolidol (isomère Z/E n.i.)	1569		2024	1,1	-	2,5	0,5
germacrène D-4-ol		1570		-	1,2	-	-
spathuléol	1594		2115	-	-	-	2,5
oxyde de caryophyllène	1598	1574	1983	11,3	1,3	8,5	-
gleenol	1608		n.d.	-	-	-	1,0
n.i.	1609		n.d.	Tr	-	0,7	-
n.i.	1614		n.d.	-	-	0,5	0,1
n.i.	1621		n.d.	-	-	-	0,2
époxyde d'humulène II	1626	1598	2037	3,6	0,7	2,4	3,6
1,10-di- <i>épi</i> -cubébol	1630		2064	-	-	-	3,3
n.i.	1635		n.d.	-	-	-	0,8
n.i. (composé C4)	1637		2159	2,6	-	0,7	-
1- <i>épi</i> -cubébol	1643	1621	2058	-	1,0	1,6	tr
T-muurolol + T-cadinol		1636		-	3,0	-	-
n.i. (composé C5)	1648		1958	-	-	3,0	-
<i>épi</i> - $\alpha$ -cadinol	1656		2162	6,1	-	3,6	14,9
$\beta$ -eudesmol	1671		2221	3,9	-	21,6	-
$\alpha$ -cadinol	1672	1647	2231	2,4	3,0	-	15,9
<b>total</b>				<b>40,9</b>	<b>12,1</b>	<b>52,2</b>	<b>44,3</b>

Tableau XIV (suite)

Composés	IRR			Composition (%)			
				Ecorces		Feuilles	Fruits
	SPB-5	OV101	Supelcowax	Ec1	Ec2	Fe1	Fr1
<i>Dérivés aromatiques</i>							
cymène ( <i>o</i> ou <i>p</i> )	1028		1264	1,9	-	tr	tr
$\alpha$ -calacorène	1556		1910	1,7	-	-	0,6
cadalène	1691		2216	1,0	-	0,9	0,7
thymolméthyléther	1249		n.d.	tr	-	-	tr
safrole	1300		1867	1,2	-	-	-
carvacrol	1323		n.d.	tr	-	-	tr
3,4,5-triméthoxyphényl-isopropylcétone		1790		-	0,8	-	-
<i>total</i>				5,8	0,8	0,9	1,3
% total d'identification				75,8	96,1	76,8	94,6

t.i. : tentative d'identification, tr : trace (% < 0,1%), n.d. : non détecté, n.i. : non identifié

#### ■ L'huile essentielle d'écorces Ec1

L'huile essentielle d'écorces présente une forte proportion en sesquiterpènes légèrement dominés par les dérivés hydrocarbonés détectés à hauteur de 43,8% contre 40,9% de dérivés oxygénés.

Pour les dérivés hydrocarbonés, les composés suivants se trouvent en proportion importante : l' $\alpha$ -ylangène (8,2%), le  $\gamma$ -muurolène (5,1%), l' $\alpha$ -muurolène (5,0%), l' $\alpha$ -amorphène (4,4%), le  $\delta$ -cadinène (3,3%), l' $\alpha$ -copaène (3,1%), le  $\gamma$ -cadinène (2,8%), le  $\beta$ -sélinène (2,4%) et un composé non identifié C1 (2,6%) dont le spectre de masse est donné au tableau XV p.46.

Pour les dérivés oxygénés : l'oxyde de caryophyllène (11,3%), l'*épi*- $\alpha$ -cadinol (6,1%), le  $\beta$ -eudesmol (3,9%) et l'époxyde d'humulène II (3,6%) constituent les composés majoritaires. Parmi les sesquiterpènes oxygénés, trois composés C2, C3 et C4 non identifiés sont également présents en forte proportion (7,6%, 2,6% et 2,4% respectivement). Le tableau XV p.46 reprend les données de leur spectre de masse.

Les monoterpènes, sont quant à eux largement minoritaires et n'ont été détectés qu'en faibles pourcentages (carvotanacétone 0,4%) ou à l'état de trace (limonène, linalol, *cis-p*-menth-2-én-1-ol, *trans-p*-menth-2-én-1-ol, *cis-p*-menthan-2-one, *cis*-pipéritol et citronellol).

Les composés aromatiques, au nombre de six, comprennent en particulier le cymène (1,9%), l' $\alpha$ -calacorène (1,7%), le safrole (1,2%) et le cadalène (1,0%).

■ L'huile essentielle d'écorces Ec2

L'huile essentielle de l'écorce (Ec2) collectée en période de repos végétatif au mois de septembre est exclusivement composée de monoterpènes et de sesquiterpènes. Elle comprend en effet : 67,9% de monoterpènes et 27,4% de sesquiterpènes.

Sa forte teneur en monoterpènes est due principalement aux pourcentages élevés de camphène (18,1%), d'acétate de bornyle (13,8%), d' $\alpha$ -pinène (13,7%), de  $\beta$ -pinène (8,4%) et le limonène (5,6%).

Parmi les sesquiterpènes identifiés, on relève en particulier l' $\alpha$ -cubébène (4,5%) et l' $\alpha$ -cadinol (3,0%).

■ L'huile essentielle des feuilles Fe1

L'huile essentielle des feuilles présente une forte proportion de sesquiterpènes dominés par les dérivés oxygénés dont la proportion a été évaluée à 52,2% contre 28,2% de dérivés hydrocarbonés.

Pour les dérivés oxygénés, les composés suivants se trouvent en proportion importante : le  $\beta$ -eudesmol (21,6%), l'oxyde de caryophyllène (8,5%), l'*épi*-cubébol (4,0%), l'*épi*- $\alpha$ -cadinol (3,6%), le nérolidol (2,5%), l'époxyde d'humulène II (2,4%) et un composé non identifié C5 (3,0%) dont le spectre de masse est détaillé tableau XV p.46.

Les dérivés hydrocarbonés sont marqués par la présence majoritaire : de  $\beta$ -sélinène (6,7%), du (*E*)-caryophyllène (4,0%), du *trans*-calaménène (4,0%), de l' $\alpha$ -amorphène (2,4%) et du  $\beta$ -élémente (2,0%).

Les monoterpènes sont quant à eux largement minoritaires. 9 monoterpènes ont été identifiés, tous à très faible pourcentage dont l' $\alpha$ -pinène (0,3%), le camphène (0,4%), le  $\beta$ -pinène (0,3%), le limonène (0,5%) et l'acétate de bornyle (0,2%).

Le cymène (< 0,1%) et le cadalène (0,87%) sont les uniques représentants de la classe des composés aromatiques pour Fe1.

### ■ L'huile essentielle des fruits Fr1

L'huile essentielle de fruits présente une forte proportion de sesquiterpènes parmi lesquels les composés oxygénés sont majoritaires : 44,3% de dérivés oxygénés contre 34,3% de dérivés hydrocarbonés.

Pour les dérivés oxygénés, les composés suivants se trouvent en proportion importante : l' $\alpha$ -cadinol (15,9%), l'*épi*- $\alpha$ -cadinol (14,9%), l'époxyde d'humulène II (3,6%), le 1-10-*di-épi*-cubénol (3,3%) et le spathulénol (2,5%).

Pour les dérivés hydrocarbonés se distinguent par leurs pourcentages relativement élevés : le  $\delta$ -cadinène (10,8%), le  $\gamma$ -muurolène (3,5%), l' $\alpha$ -cubébène (3,4%) et le drima-7,9(11)-diène (2,6%).

Contrairement aux huiles essentielles d'écorce (Ec1) et de feuilles (Fe1), l'huile essentielle des fruits (Fr1) est marquée par une proportion non négligeable de monoterpènes (18,4%) dont l'acétate d'isobornyle (9,0%), le camphène (3,9%), le  $\beta$ - et l' $\alpha$ -pinène (respectivement 1,6 et 1,2%).

Les composés aromatiques ont été détectés pour Fr1 au nombre de 5, tous à des teneurs extrêmement faibles dont l' $\alpha$ -calacorène (0,6%) et le cadalène (0,7%)

Tableau XV  
Spectres de masse des composés C1-C5 non identifiés détectés dans les huiles essentielles de l'*Ocotea comoriensis*

Composés	IRR		MM	m/z (intensité relative, 70 eV)
	SPB-5	Supelcowax		
C1	1460	1727		204 (27), 189 (16), 161 (100), 147 (11), 133 (25), 119 (29), 105 (37), 91 (39), 81(15), 79 (17), 77 (15), 69 (11), 67(11), 55 (10), 41 (17)
C2	1472	1708	220	220 (36), 205 (66), 187 (26), 177 (100), 163 (43), 149 (43), 138 (57), 135 (73), 123 (36), 107 (43), 91 (50), 79 (31), 67 (14), 55 (27), 43 (31), 41 (34).
C3	1475	1634	222	222 (14), 205 (7), 193 (7), 179 (19), 161 (16), 151 (10), 136 (53), 127 (100), 125 (36), 123 (42), 122 (44), 121 (36), 119 (6), 107 (53), 95 (45), 81 (37), 71 (32), 67 (27), 55 (29), 43 (71), 41 (31)
C4	1637	2159	222	222 (6), 204 (58), 189 (35), 185 (28), 179 (26), 161 (100), 147 (35), 135 (51), 121 (51), 109 (71), 105 (72), 95 (52), 93 (63), 91 (71), 81 (74), 79 (55), 77 (46), 67 (35), 55 (38), 43 (80), 41 (55)
C5	1648	1958		222 (1), 204 (267), 189 (25), 179 (16), 161 (100), 147 (14), 133 (14), 119 (7), 105 (30), 95 (14), 93 (18), 91 (23), 81(14), 79 (14), 77 (10), 69 (11), 67(8), 59 (15), 55 (10), 43 (28), 41 (14)

### III.3.1.3 Discussion

#### ► *Rendements*

Les résultats obtenus montrent qu'en période de fructification (avril), les fruits et les feuilles sont les plus riches en huile essentielle : 0,39% et 0,35% respectivement contre 0,20% pour les écorces. Par ailleurs, pour les écorces le rendement en huile essentielle apparaît un peu plus important en période de repos végétatif (0,35%) qu'en période de fructification (0,20%). Signalons toutefois que ces variations de rendements observées entre les différents organes pour une saison donnée, ou pour un seul organe (écorce) sur deux saisons, restent relativement faibles et peu significatifs.

#### ► *Composition chimique*

L'espèce *Ocotea comoriensis*, récoltée en avril, période où la plante est en fruits, présente aussi bien dans son huile essentielle d'écorce (Ec1) que celles des feuilles (Fe1) et de fruits (Fr1) une forte proportion de sesquiterpènes qu'ils soient hydrocarbonés ou oxygénés. Il est à noter cependant que chacune de ces huiles essentielles offre une composition chimique qui leur est spécifique tant d'un point de vue qualitatif que quantitatif.

L'huile d'écorce (Ec1) est dominée par l'oxyde de caryophyllène (11,3%), l' $\alpha$ -ylangène (8,2%), l'*épi*- $\alpha$ -cadinol (6,1%), le  $\gamma$ -muurolène et l' $\alpha$ -muurolène (5,1% et 5,0%, respectivement), l' $\alpha$ -amorphène (4,4%), le  $\delta$ -cadinène (3,3%), l' $\alpha$ -copaène (3,1%), le  $\gamma$ -cadinène (2,8%) et le  $\beta$ -sélinène (2,4%).

L'huile essentielle des feuilles (Fe1) comprend majoritairement comme l'huile essentielle d'écorce (Ec1), de l'oxyde de caryophyllène (8,5%), mais aussi du  $\beta$ -eudesmol (21,6%), du  $\beta$ -sélinène (6,7%), de l'*épi*-cubébol (4,0%), du (*E*)-caryophyllène (4,0%), du *trans*-calaménène (4,0%) et de l'*épi*- $\alpha$ -cadinol (3,6%).

L'huile essentielle des fruits se distingue quant à elle par de fortes proportions d' $\alpha$ -cadinol (15,9%), d'*épi*- $\alpha$ -cadinol (14,9%), de  $\delta$ -cadinène (10,8%), d'époxyde d'humulène II (3,6%), de  $\gamma$ -muurolène (3,5%), d' $\alpha$ -cubébène (3,4%) et de 1-10-*di*-*épi*-cubébol (3,3%).

De plus, hormis cette différenciation au niveau des composés majoritaires, on remarque que sur les 99 composés détectés, seuls 20 composés sont communs aux trois huiles. Citons à titre d'exemple le  $\beta$ -élémane, le (*E*)-caryophyllène, l' $\alpha$ -muurolène, le  $\gamma$ -muurolène et l'*épi*- $\alpha$ -cadinol.

Par ailleurs, concernant plus spécifiquement l'huile essentielle d'écorce étudiée à deux moments du cycle végétatif pour un même spécimen d'*Ocotea comoriensis* (en fruits et au repos végétatif), d'importantes différences au niveau de sa composition chimique peuvent être relevées. Alors qu'en période de fructification, l'huile essentielle (Ec1) est largement dominée par les sesquiterpènes (84,7%), en période de repos végétatif (Ec2), sa proportion en monoterpènes devient nettement plus importante passant de 0,4% pour Ec1 à 67,9% pour Ec2. L'étude menée met donc en évidence une variation de la composition chimique de l'écorce en fonction du cycle végétatif. Il est à noter cependant que les différences observées entre Ec1 et Ec2, en particulier au niveau des composés minoritaires dont les composés aromatiques présents chez Ec1 et Ec2, ne sont pas forcément toutes attribuables à la période d'étude. Elles peuvent être dues également à la sensibilité de l'appareillage (chromatographe, colonne capillaire, etc.) qui n'était pas le même pour Ec1 et Ec2.

### III.3.2. Activités biologiques de l'huile essentielle d'écorce (Ec2)

#### III.3.2.1 Principe de l'étude

Les activités biologiques anti-larvaire (*Aedes aegypti*), antipaludique (*Plasmodium falciparum*) et antioxydante ont été évaluées uniquement pour l'huile essentielle d'écorce Ec2 collectée en Septembre, période de repos végétatif.

#### III.3.2.2 Résultats

Les résultats des tests anti-larvaire, anti-paludique et antioxydant appliqués à l'huile essentielle d'écorce Ec2 sont les suivants :

- 125 ppm (activité anti-larvaire sur les larves d'*Aedes aegypti*),
- 10 µg/mL (activité antipaludique sur *Plasmodium falciparum*)
- 33,1 µg/mL (activité antioxydante)

### III.3.2.2 Discussion

Si les résultats obtenus lors des tests d'activités anti-larvaire et antioxydante sur l'huile essentielle d'écorce (Ec2) d'*Ocotea comoriensis* ne sont pas vraiment significatifs, celui obtenu pour l'activité antipaludique est en revanche prometteur. Une  $CI_{50}$  de 10  $\mu\text{g/mL}$  est en effet plus qu'intéressante, au vu des critères de sélection (Tableau XVI) [73-75].

Tableau XVI  
Critère de sélection des activités biologiques [73-75]

$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Activité
< 10	Bonne
10 - 50	Modérée
50 - 100	Faible
> 100	Inactive

### III.3.3. Conclusion et perspectives

Notre travail, axé sur les composés volatils d'*Ocotea comoriensis* des Comores, a montré dans un premier temps, qu'en période de fructification (avril), l'écorce, les feuilles, et les fruits étaient riches d'une huile essentielle marquée par une forte teneur en sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés. Chacune de ces trois huiles présente cependant sa spécificité tant d'un point de vue qualitatif que quantitatif.

Puis dans un deuxième temps, pour un unique spécimen, la comparaison de la composition chimique de l'huile essentielle d'écorce obtenue, au mois d'avril (période de fructification) avec celle obtenue au mois de septembre (période de repos végétatif) a permis de mettre en évidence la variation de la quantité et de la qualité de l'huile essentielle d'écorce en fonction du cycle végétatif. On retiendra en effet que d'une part, le rendement en huile essentielle évolue entre 0,20% en avril et 0,35% en septembre, et d'autre part que largement dominée par les sesquiterpènes en avril, l'huile essentielle d'écorce devient riche en monoterpènes en septembre.

Ces premiers résultats nous encouragent à poursuivre nos investigations sur les composés volatils de *Ocotea comoriensis*. Il serait intéressant en effet de voir si la variation saisonnière mise en évidence pour l'huile essentielle d'écorce est également observée pour l'huile essentielle des feuilles. Par ailleurs, nous pourrions compléter ce travail en effectuant après isolement et purification, l'analyse par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) de composés majoritaires non identifiés par la technique de la CG-SM tels que les sesquiterpènes C1 à C4 détectés à hauteur de 2,6%, 7,6%, 2,4% et 2,6%

respectivement dans l'huile essentielle d'écorce (Ec1) obtenue en période de fructification.

Enfin, la recherche d'activités anti-larvaire, anti-paludique et anti-oxydant effectuée uniquement à partir de l'huile essentielle d'écorce Ec2 du mois de septembre pourrait être élargie aux autres huiles essentielles. Les premiers résultats obtenus pour Ec2 lors du test d'activité antipaludique en particulier sont en effet encourageants.

# CHAPITRE IV

## *Teclea boiviniana* (H. Perr.) Baillon (Rutaceae)

### **Laboratoires impliqués :**

- ◆ Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA) Université de la Réunion, France. (*Extractions et analyses des composés volatils et non volatils*)
- ◆ Laboratoire de Pharmacognosie (B36) de l'Université de Liège, Belgique. (*Tests anti-paludiques*)

## IV.1 Description botanique

Famille : Rutaceae

Synonymes : /



Cliché 6 : *Teclea boiviniana*  
[M. SAID HASSANI]

### Description botanique [76] :

Arbre toujours vert, d'environ 2 à 10 mètres de haut, glabre, excepté les parties jeunes très légèrement pubescentes, rameaux grisâtres, finement striés, avec de petites lenticelles plus claires, en général allongées.

Feuilles alternes, trifoliolées, membraneuses ; pétiole de 1,5 - 5 cm de long, étroit, bien canaliculé en dessus mais sans rebords ; folioles sessiles, les latérales inéquilatérales dans la moitié inférieure et un peu plus petites (5,3 - 13 x 1,6 - 3,7cm) que la médiane (7,3 - 17 x 2,5 - 4,5cm), toutes assez étroitement oblancéolées, du point large atténuées - aiguës sur la base et vers le sommet étroitement obtus ; nervures fines et nombreuses, bien visibles sur les deux faces, la médiane blanche, les secondaires un peu rougeâtres par transparence ; ponctuations très petites, visibles en noir (loupe) sur la page inférieure, citrines par transparence et difficiles à voir, même au binoculaire. Inflorescences ♀ en petite grappe dense de 6 - 12 fleurs, sessile, très courte, ne dépassant pas 1cm de long : axe et pédicelles pubescents ; pédicelles allongés (3 - 4 mm) et grêles ; fleurs 4- mères ; Calice cupuliforme, à limbe réduit à un étroit rebord très obscurément lobé ; pétales valvaires - in dupliqués, ovales-oblongs (3 x 1,3 mm), larges dès la base et atténués vers le sommet subaigu ; staminodes nuls, disque jaune, adhérent à la base de l'ovaire, à 4 gros tubercules ; ovaire sphérique, blanchâtre, à surface mamelonnée (réservoirs glanduleux), chaque mamelon terminé par un long poil raide, caduc dès que l'ovaire se développe ; une seule loge biovulée ; ovules collatéraux ; style épais et très court, terminé par un large stigmate pelté, noir, épais et à bords infléchis. Inflorescences ♂ à fleurs plus nombreuses et à pédicelles de longueur plus variable (0,5 à 3mm) ; calice cupuliforme pubescent à l'extérieur, plus petit (1 mm de large), à 4 lobes très petits et ciliolés ; pétales semblables ; étamines à la fin plus longues (3,5 mm) que les pétales, à anthère orbiculaire (0,6 mm diam.) ; disque obsolète ; rudiment d'ovaire conique, haut de 1 mm, prolongé ou non en style, couvert de long poils.

Il est à noter que depuis 2005, selon Labat *et al.* [77], le genre *Teclea* est aujourd'hui combiné au genre *Vepris*.

## IV.2 Travaux antérieurs

Les recherches bibliographiques réalisées ont montré qu'un bon nombre de travaux, concernant aussi bien les utilisations traditionnelles que la composition chimique, ont déjà été menés sur *Teclea boiviniana* (Baillon) H. Perr. (Rutaceae).

Toutefois, il nous a paru judicieux d'élargir notre recherche et de recenser la totalité des travaux effectués sur les différentes espèces du genre *Teclea* afin d'apprécier l'ensemble des utilisations traditionnelles, des études biologiques et chimiques relatives à ce genre botanique.

### IV.2.1. Utilisations des espèces du genre *Teclea* en médecine traditionnelle

La littérature fait mention de cinq espèces du genre *Teclea* qui seraient utilisées par la pharmacopée traditionnelle. Le tableau XVII récapitule les données de la littérature sur ce point.

Tableau XVII  
Utilisations d'espèces du genre *Teclea* en médecine traditionnelle

Espèce	Origine	Partie de la plante utilisée	Actions thérapeutiques	Références
<i>T. afzelii</i>	Cameroun	Feuilles	Infections dues à des blessures Douleurs abdominales Toux Fièvre et Asthme	[78]
<i>T. boiviniana</i>	Comores	Feuilles en association	Paludisme	[29]
<i>T. gerrardii</i>	Afrique du Sud	Ecorces	Maux de poitrine	[79,80]
<i>T. nobilis</i>	Afrique du Sud et de l'Est	Feuilles	Gonorrhées, Activité analgésique Activité antipyrétique	[78,81]
<i>T. unifoliolata</i>	Comores	Feuilles en association	Paludisme	[29]

### IV.2.2. Composition chimique des espèces du genre *Teclea*

#### IV.2.2.1 Les composés volatils

Seules deux références bibliographiques [82,83] font mention de la composition chimique des huiles essentielles extraites des espèces du genre *Teclea* : *T. boiviniana*, *T. nobilis* et *T. unifoliolata*. L'ensemble de ces données bibliographiques sont résumées dans le tableau XVIII.

Tableau XVIII  
Composés volatils majoritaires (>2%) isolés d'espèces du genre *Teclea*

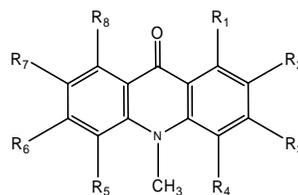
Composés	<i>T. boiviniana</i> [82]		<i>T. nobilis</i> [83]	<i>T. unifoliolata</i> [82]	
	Archipel des Comores		Arabie Saoudite	Archipel des Comores	
<b>Monoterpènes hydrogénés</b>					
$\alpha$ -pinène	+	(f)	-	-	
$\beta$ -pinène	+	(f)	-	-	
limonène	+	(f)	-	-	
isomère de l'ocimène	-	-	13,0 (f)	-	
isomère de l'ocimène	-	-	8,8 (f)	-	
<b>Sesquiterpènes hydrogénés</b>					
$\alpha$ -cadinène	-	+	(e)	-	
$\beta$ -élémente	-	+	(e)	+	(f)
sesquiterpène	+	(f)	-	-	
$\alpha$ -élémente	+	(f)	-	-	
germacrène D	+	(f)	19,0 (f)	-	
<b>Sesquiterpènes oxygénés</b>					
$\beta$ -élémol	+	(f)	-	-	
n.i. (alcools ou oxydes)	-	-	-	+	(f)
guaïol	-	-	3,9 (f)	-	
élémol	-	-	2,9 (f)	-	
bulnésol	-	-	2,5 (f)	-	

e : écorce, f : feuilles, + : présence détectée

#### IV.2.2.2 Les composés non volatils

12 espèces du genre *Teclea* ont été examinées pour leur composition chimique en métabolites secondaires non volatils. Plus d'une cinquantaine de composés ont été isolés. Il s'agit pour la majorité d'entre eux d'alcaloïdes (Tableaux XIX, XX et XXI), essentiellement de type acridone et furoquinoline ; quelques rares composés terpéniques (sesquiterpènes, triterpènes, limonoïdes...) sont également cités (Tableau XXII).

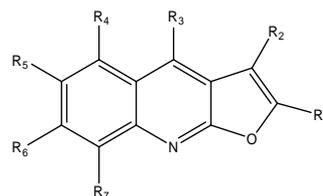
Tableau XIX  
Alcaloïdes, type acridone, isolés d'espèces du genre *Teclea*



Composés	<i>Teclea</i>			
	<i>boiviniana</i> [82,84,85]	<i>gerrardii</i> [86]	<i>nobilis</i> [78]	<i>trichocarpa</i> [87]
1,2,3-triméthoxy-10-méthylacridone		+		
1,3,5-triméthoxy-10-méthylacridone	+			
1,3-diméthoxy-10-méthoxyacridone		+		
6-méthoxytécléanthine	+			+
arborinine	+	+	+	
évoxanthine	+	+		
mécicopicine	+	+		
normécicopicine				+
técléanthine	+			+
tégerrardine A		+		
tégerrardine B		+		

+ : présence détectée

Tableau XX  
Alcaloïdes, type furoquinoléine, isolés d'espères du genre *Teclea*



Composés	<i>Teclea</i>										
	<i>afzelii</i> [88,89]	<i>boiviniana</i> [86,88]	<i>gerrardii</i> [79,87]	<i>natalensis</i> [90]	<i>nobilis</i> [78,91,92]	<i>ouabanguiensis</i> [93]	<i>simplicifolia</i> [94]	<i>sudanica</i> [95]	<i>trichocarpa</i> [87]	<i>unifoliolata</i> [82,96]	<i>verdoorniana</i> [97,98]
4,8-diméthoxy-6,7-méthylènedixyfuro[2,3-b]quinoléine					+						
anhydroévoxine					+						
chlorodesnkolbisine					+						
dictamine				+					+		
évoxine		+	+								
flindersiamine					+	+		+			+
isohalpopine							+				
isohalpopine-3,3-diméthyléther				+			+				
isotécléoxine					+						
kokusaginine	+					+				+	+
maculine	+							+		+	
méthylnkolbisine					+						
montrifoline	+				+	+	+				
nkolbisine	+				+						
nobiline					+						
ptéléine					+						
skimmianine			+				+	+	+	+	
técléabine					+						
tecléamine					+	+					
tecléanatalensis A1				+							
tecléanatalensis B2				+							
técléanine A				+							
tecléaverdoornine	+				+	+					+
tecléaverdine											+
tecléine					+	+					+
técléoxine					+						

+ : présence détectée

Tableau XXI  
Autres alcaloïdes isolés d'espèces du genre *Teclea*

Composés	<i>Teclea</i>		
	<i>nobilis</i> [78,91]	<i>ouabanguiensis</i> [93]	<i>verdoorniana</i> [99]
cyclomégistine	+		
cyclomégistine B	+		
éduline		+	
isoplatydesmine		+	
8-méthoxyflindersine	+		
técléanone			+
ribalinie	+	+	

+ : présence détectée

Tableau XXII  
Terpènes isolés d'espèces du genre *Teclea*

Composés	<i>Teclea</i>		
	<i>afzelii</i> [88,89]	<i>nobilis</i> [100,101]	<i>ouabanguiensis</i> [102]
7-déacétylprocéranone			+
7-déacétylazadirone			+
7-déacétoxy-7-oxoazadirone			+
lupéol	+	+	+
ouabanginone			+
$\beta$ -sitostérol glucopyranoside	+		
técléanine			+
téclénone A		+	
téclénone B		+	
1 $\beta$ -hydroxy-4(15)-oppositène (dérivé)		+	

+ : présence détectée

### IV.2.3. Activités biologiques des espèces du genre *Teclea*

Parmi les différentes publications relatives à l'espèce *Teclea boiviniana*, aucune ne mentionne la recherche ou l'existence d'activité biologique. En revanche, plusieurs activités biologiques sont décrites pour d'autres espèces de *Teclea*, comme indiqué dans le tableau XXIII suivant.

Tableau XXIII  
Activités biologiques des extraits volatils et non volatils d'espèces du genre *Teclea*

Activités biologiques	<i>Teclea</i>			
	<i>afzelii</i> [88,89]	<i>gerrardii</i> [79]	<i>nobilis</i> [83,103]	<i>trichocarpa</i> [87]
Analgésique			+ (f, v)	
Antibactérienne	+ (e, n.v.)			
Anti-inflammatoire			+ (f, n.v.)	
Antipaludique	+ (e, n.v.)	+ (e, n.v.)		+ (f, n.v.)
Antipyrétique			+ (f, v)	

e : écorces de tiges, f : feuilles, v : extrait volatil, n.v. : extrait non volatil  
+ : activité biologique détectée

### IV.3 Etude de *Teclea boiviniana* de l'Archipel des Comores

*Teclea boiviniana* a été collectée à deux reprises sur le site de Maluzini (à 5 Km au Sud de Moroni - Grande Comore). La première collecte, effectuée en septembre 2004 (période de fructification), était destinée à l'étude des composés volatils contenus dans l'huile essentielle des feuilles ; la seconde, réalisée au mois d'août 2009, a été utilisée pour une étude préliminaire des composés non volatils des feuilles et des racines. Parallèlement à ce travail relatif à la composition chimique de *Teclea boiviniana* des Comores, l'activité antipaludique de la plante a également été évaluée.

#### IV.3.1. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles

##### IV.3.2.1 Principe de l'étude

L'huile essentielle, obtenue par hydrodistillation des feuilles fraîches avec un rendement de 0,01% (pourcentage massique) a été analysée par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG-DIF) et par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG-SM). Ces deux techniques permettant respectivement une approche quantitative et qualitative du mélange de composés volatils.

## IV.3.1.2 Résultats

Les analyses qualitative, effectuée par CG-SM, et quantitative, effectuée par CG-DIF, ont conduit à l'identification de 90,8% de la composition totale. Les 15 composés identifiés sont rassemblés par famille dans le tableau XXIV. Ce tableau comprend en outre les indices de rétention relatifs calculés pour chacun des constituants sur deux types de colonnes capillaires, l'une apolaire (SPB-5), l'autre polaire (Supelcowax).

Tableau XXIV  
Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Teclea boiviniana*

Composés	IRR		Composition (%)
	SPB-5	Supelcowax	
<b>Alcools</b>			
3-hexén-1-ol	864	1372	7,6
2-hexén-1-ol	870	1396	2,6
hexan-1-ol	872	1339	
<i>total</i>			10,2
<b>Monoterpènes oxygénés</b>			
<i>trans</i> -oxyde de linalol (furanöide)	1072	1464	3,8
<i>cis</i> -oxyde de linalol (furanöide)	1088	1436	3,6
linalol	1097	1535	55,9
terpinène-4-ol	1180	n.d.	1,6
$\alpha$ -terpinéol	1192	1690	1,5
géraniol	1253	1834	2,1
<i>total</i>			68,5
<b>Sesquiterpènes hydrocarbonés</b>			
<i>trans</i> - $\alpha$ -bergamotène	1545	1780	tr
<i>total</i>			<0,1%
<b>Sesquiterpènes oxygénés</b>			
$\beta$ -acoréol	1638	n.d.	0,4
<i>épi</i> - $\alpha$ -cadinol	1646	2160	3,3
$\alpha$ -cadinol	1661	2220	7,0
<i>total</i>			10,7
<b>Composés aromatiques</b>			
benzèneacétaldéhyde	1043	1645	1,3
2-(1,Z) propénylphénol	1163	n.d.	tr
Total			1,3
<b>Composés non identifiés</b>			
C6	1222	2023	8,1
C7	1323	1588	1,1
<i>total</i>			9,2
<b>% total d'identification</b>			<b>90,8</b>

n.d. : non détecté, n.i. : non identifié, tr : trace (% < 0,1%)

Le classement par famille, des 15 constituants identifiés, montre que l'huile essentielle de *T. boiviniana* comprend :

- 3 alcools aliphatiques (10,2%) dont le 3-hexén-1-ol détecté à hauteur de 7,6%.
- 6 monoterpènes oxygénés (68,5%) dont le constituant majoritaire de l'huile essentielle : le linalol (55,9%).
- 1 sesquiterpène hydrocarboné, le *trans*- $\alpha$ -bergamotène détecté à l'état de trace.
- 3 sesquiterpènes oxygénés (10,7%) parmi lesquels l' $\alpha$ -cadinol dont le pourcentage s'élève à 7,0%.
- 2 composés aromatiques : le benzène acétaldéhyde (1,3%) et le 2-(1,Z)-propylphénol à l'état de trace.

On relèvera en outre, parmi les composés non identifiés, la présence d'un composé C6 de pourcentage relativement élevé (8,1%). Les fragments observés sur son spectre de masse ne nous permettent pas de le classer parmi les monoterpènes, les sesquiterpènes ou encore les composés aromatiques (Tableau XXV).

Tableau XXV  
Spectres de masse des composés C6 et C7 non identifiés détectés dans l'huile essentielle des feuilles de *Teclea boiviniana*

Composés	IRR		MM	m/z (intensité relative 70 eV)
	SPB-5	Supelcowax		
C6	1222	2023	?	137 (3), 113 (100), 96 (64), 84 (11), 67 (23), 55 (17), 43(30), 42 (20), 41 (17), 39 (8)
C7	1323	1588	210	210 (10), 177 (4), 168 (3), 150 (14), 140 (17), 135 (23), 125 (100), 109 (33), 99 (14), 91 (7), 84 (13), 77 (7), 69 (16), 55 (14), 43 (80)

#### IV.3.1.3 Discussion

Les travaux de Vaquette menés en 1974 [82] sur l'huile essentielle des feuilles de *Teclea boiviniana* de l'Archipel des Comores, relatent la présence dans cette huile essentielle, uniquement de l' $\alpha$ - et du  $\beta$ -pinène, du limonène, de l' $\alpha$ -élémane, du germacrène D et du  $\beta$ -élémol. (Tableau XVIII p.54)

Contrairement à ces travaux, notre étude a mis en évidence une huile essentielle à forte teneur en monoterpènes oxygénés dont le linalol (55,9%), composé reconnu pour ses nombreuses propriétés biologiques, à savoir : détergent, sédatif, anticonvulsif et anxiolytique [104-110]. Le linalol est également un ingrédient utilisé dans les produits de beauté, les produits décoratifs, la parfumerie fine, les shampoings, la savonnerie et autres articles de toilette [104].

La présence à plus de 50% du linalol dans l'huile essentielle de *Teclea boiviniana* pourrait donc conférer à cette huile des propriétés biologiques intéressantes qu'il faudra s'efforcer de mettre en évidence à l'avenir.

Par ailleurs, le linalol, en raison de sa forte teneur dans l'huile essentielle de *Teclea boiviniana* pourrait également être utilisé comme marqueur chimiotaxonomique de l'espèce.

Enfin, on relève dans l'huile essentielle un pourcentage non négligeable de *cis* et *trans* oxydes de linalol (furanoïdes) (3,6+3,8=7,4%). Au regard de la forte teneur en linalol, la présence de ces deux composés volatils biosynthétisés à partir du linalol, n'est pas étonnante. Rappelons que la biosynthèse du linalol et de ses dérivés comprend les étapes suivantes :

1. La synthèse biologique du géranyldiphosphate (GPP) à partir de l'isopentyldiphosphate (IPP) et/ou diméthylallyldiphosphate (DMAPP) par l'intermédiaire de l'enzyme géranyldiphosphate synthase (GPPS).
2. L'obtention du linalol par réaction enzymatique du GPP avec le linalol synthase (LIS).
3. La formation du *cis*- et du *trans*-oxydes de linalol (furanoïdes) à partir du linalol. Cette synthèse comprend elle-même, deux étapes :
  - a. Le linalol est transformé en 6,7-époxyde de linalol
  - b. Un réarrangement intramoléculaire du 6,7-époxyde de linalol par une attaque nucléophile d'un des doublets de l'oxygène de la fonction alcool sur l'époxyde.

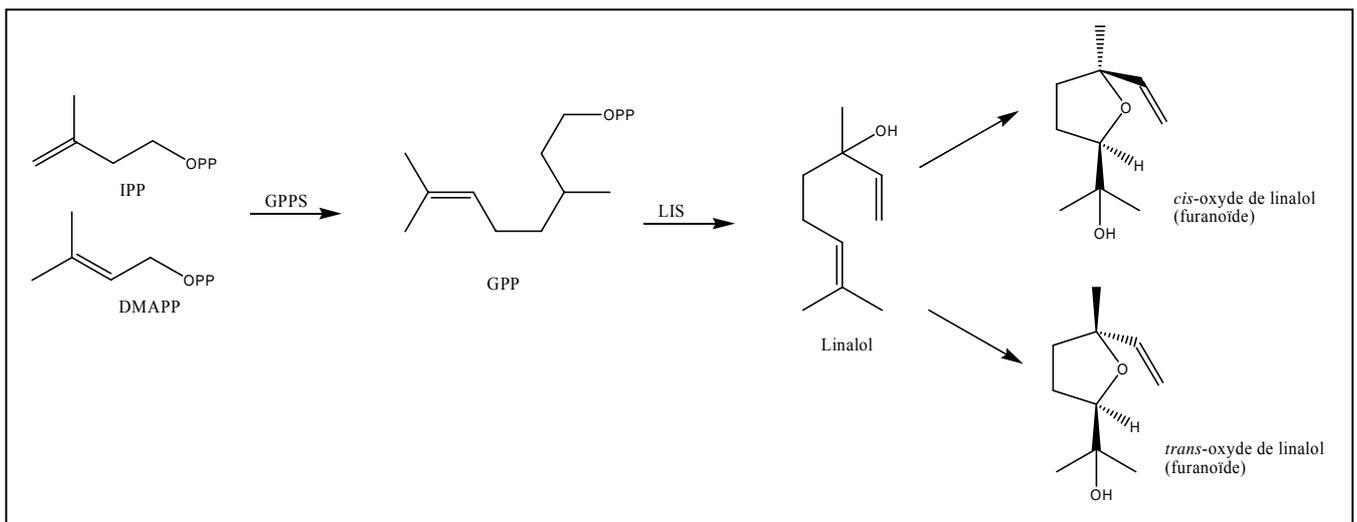


Figure 3  
Biosynthèse du linalol et de ses dérivés *cis-trans* oxydes de linalol (furanoïdes) [110,111]

### IV.3.2. Criblage chimique des feuilles et des racines

#### IV.3.2.1 Principe de l'étude

Il s'agit de tests qualitatifs préliminaires permettant de mettre en évidence à l'aide de réactifs plus ou moins spécifiques quelques grandes familles de composés chimiques présents dans les feuilles et les racines de *Teclea boiviniana*.

Pour ce faire, les extraits bruts apolaires et polaires obtenus par épuisement de la matière végétale à l'aide du dichlorométhane puis du méthanol, sont dilués à des concentrations connues (10 mg/mL) et déposés sur des plaques de Chromatographie sur Couche Mince (CCM) de silice. Ces plaques sont alors éluées grâce à des mélanges de polarité variable selon le type d'extraits. Il peut y avoir pulvérisation d'un seul réactif ou bien de plusieurs successivement, avec révélation par chauffage ou non. « Plante Drug Analysis » [112].

#### IV.3.2.2 Résultats

Le tableau XXVI est une synthèse des résultats du criblage effectué pour chacun des extraits (apolaire et polaire) des feuilles et des racines de *Teclea boiviniana*.

Tableau XXVI  
Bilan du criblage chimique sur les extraits apolaires et polaires des feuilles et racines de *Teclea boiviniana*

Test	Substances détectées	Feuilles		Racines	
		Extrait apolaire	Extrait polaire	Extrait apolaire	Extrait polaire
T1	<i>Coumarines</i>	+	-	+	-
T2	<i>Valépotriates</i>	-	-	-	-
T3	<i>Substances amères, Huiles essentielles, Principes astringents, Saponines</i>	+	+	+	+
T4	<i>Naphtoquinones</i>	-	-	-	-
T5	<i>Arbutine, Phénols simples</i>	+	+	+	+
T6	<i>Cardénolides</i>	-	-	-	-
T7	<i>Flavonoïdes, Lactones sesquiterpéniques</i>	-	-	-	-
T8	<i>Tanins, Polyphénols</i>	-	-	-	-
T9	<i>Alcaloïdes</i>	+	-	+	-
T10	<i>Substances phénoliques, Flavonoïdes</i>	-	-	-	-
T11	<i>Cardénolides</i>	-	-	-	-
T12	<i>Anthraquinones, Anthones, Coumarines</i>	-	-	-	-
T13	<i>Flavonoïdes, Alcaloïdes, Coumarines</i>	-	-	-	-
T14	<i>Terpènes, Substances amères, Saponines, Huiles essentielles</i>	-	-	-	-

+ : présence détectée

#### IV.3.2.3 Discussion

Le criblage chimique effectué au moyen de 14 tests sur les extraits bruts des feuilles et des racines de *Teclea boiviniana* a mis en évidence pour les extraits polaires et apolaires, la présence probable :

- de *substances amères*, de *principes astringents*, de *saponines* ou encore de composés volatils d'*huiles essentielles* (Test T3) ;
- et de *composés phénoliques* (Test T5).

Les extraits apolaires des feuilles et des racines contiendraient en outre :

- des *coumarines* (Test T1) ;
- et des *alcaloïdes* (Test T9).

Cette première approche de la composition chimique par CCM montre que *Teclea boiviniana*, comme la plupart des espèces du genre *Teclea* citées dans la littérature (Tableaux XIX à XXI p.55-57), contiendrait dans ces feuilles et ses racines, des alcaloïdes. Par ailleurs, le test T3 révélant pour les quatre extraits de multiples spots colorés (violet, bleu, vert, jaune) indique que *Teclea boiviniana* des Comores comme *T. afzelii* du Cameroun, *T. nobilis* d'Arabie Saoudite et *T. ouabanguiensis* du Cameroun (Tableau XXII p.57), pourrait contenir des terpènes et en particulier des limonoïdes (substances amères) tels que le 7-déacétylazadirone, le 7-déactylprocéranone, le 7-déacétoxy-7-oxoazadirone, l'ouabanginone ou encore la técléanine [102]. L'espèce *Teclea boiviniana* semble cependant se distinguer des autres espèces du genre par la présence probable de composés phénoliques et de coumarines.

#### IV.3.3. Isolement et analyse de composés non volatils des racines

##### IV.3.3.1 Principe de l'étude

Suite au criblage chimique, il a été décidé d'approfondir l'étude de la composition chimique de l'extrait apolaire des racines de *Teclea boiviniana*. Cette extrait semble en effet contenir un grand nombre de métabolites secondaires appartenant à des familles de composés aux propriétés biologiques intéressantes : alcaloïdes, phénols, coumarines ou encore terpènes.

Un fractionnement par Chromatographie Liquide Moyenne Pression (CLMP) de l'extrait apolaire a donc été envisagé sur gel de silice. L'élution a été réalisée au moyen

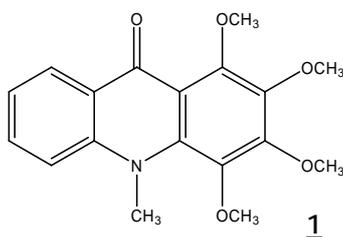
d'un gradient de solvant de polarité croissante (Cyclohexane/AcOEt/MeOH). 30 fractions (F1-F30) ont été recueillies. Un suivi du fractionnement sur plaque CCM a permis de sélectionner 24 de ces fractions (F1-F5, F8-F9, F11-F24, F26-F28) pour une analyse préliminaire par Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN<sup>1</sup>H) et du carbone (RMN<sup>13</sup>C).

#### IV.3.3.2 Résultats

L'analyse préliminaire en RMN des 24 fractions sélectionnées a permis de sélectionner 3 de ces fractions (F11, F16 et F20) desquelles dors et déjà, ont pu être caractérisés trois alcaloïdes de structure connue.

##### ► *La mélicopicine*

Cet alcaloïde de type acridone tétraméthoxylée, a été obtenu sous forme d'un mélange avec un second composé non identifié, dans la fraction F11.



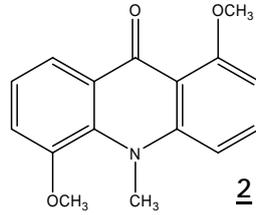
#### Données RMN :

<sup>1</sup>H : 3,80 (s, 3H, N-OMe); 3,93 (s, 3H, OMe); 3,97 (s, 3H, OMe); 4,03 (s, 3H, OMe); 4,14 (s, 3H, OMe); 7,25 (t, 1H, H-6); 7,45 (d, 1H, H-5); 7,68 (t, 1H, H-7); 7,38 (d, 1H, H-8).

<sup>13</sup>C : 41,84 (N-Me); 61,45 (OMe en 4); 61,71 (OMe); 61,78 (OMe); 62,05 (OMe en 1); 115,41 (C9a); 115,70 (C5); 115,81 (C7); 127,08 (C8a); 127,12 (C8); 133,16 (C6); 137,36 (C2); 138,85 (C4a); 141,89 (C4); 144,90 (C10a); 154,76 (C1); 155,34 (C3); 173,48 (C9).

► *La técléanthine*

Cet alcaloïde de type acridone diméthoxylée, a été identifié dans la fraction F16.



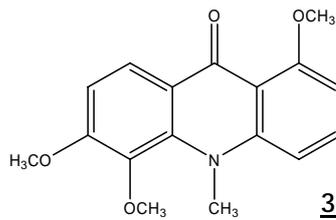
Données RMN :

$^1\text{H}$  : 3,82 (s, 3H, N-OMe); 3,92 (s, 3H, OMe en 1); 4,14 (s, 3H, OMe en 5); 6,00 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>-O); 6,52 (s, 1H, H-4); 7,20 (d, 1H, H-6); 7,35 (t, 1H, H-7); 7,95 (d, 1H, H-8).

$^{13}\text{C}$  : 42,58 (N-Me); 56,33 (OMe en 5); 60,83 (OMe en 1); 90,68 (C4); 101,63 (O-CH<sub>2</sub>-O) ; 112,14 (C9a); 114,28 (C6); 118,74 (C8); 122,11 (C7); 127,13 (C8a); 132,40 (C2); 134,40 (C10a); 142,31 (C4a); 145,17 (C1); 149,40 (C5); 153,62 (C3); 177,24 (C9).

► *La 6-méthoxytécléanthine*

Cet alcaloïde de type acridone triméthoxylée, était contenu dans la fraction F20.



Données RMN :

$^1\text{H}$  : 3,82 (s, 3H, N-OMe); 3,92 (s, 3H, OMe en 1); 4,14 (s, 3H, OMe en 5); 6,00 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>-O); 6,52 (s, 1H, H-4); 7,20 (d, 1H, H-6); 7,35 (t, 1H, H-7); 7,95 (d, 1H, H-8).

$^{13}\text{C}$  : 42,58 (N-Me); 56,33 (OMe en 5); 60,83 (OMe en 1); 90,68 (C4); 101,63 (O-CH<sub>2</sub>-O) ; 112,14 (C9a); 114,28 (C6); 118,74 (C8); 122,11 (C7); 127,13 (C8a); 132,40 (C2); 134,40 (C10a); 142,31 (C4a); 145,17 (C1); 149,40 (C5); 153,62 (C3); 177,24 (C9).

#### IV.3.3.3 Discussion

Les premiers résultats de ce criblage par RMN, confirment bien la présence d'alcaloïdes dans la plante ; présence qui avait été supposée dans un premier temps par les tests phytochimiques. Par ailleurs, comme J. Vaquette [82, 84, 85] qui s'était consacré à l'étude de *Teclea boiviniana* de Madagascar, nous avons identifié dans les racines de *T. boiviniana* des Comores, trois alcaloïdes de type acridone : la mélicopicine, la técléanthine et la 6-méthoxytécléanthine. Il est par conséquent possible de proposer aujourd'hui ces trois alcaloïdes comme marqueurs potentiels de l'espèce. En outre, au vu des données de la littérature et de nos premiers résultats, il semble que l'une des caractéristiques des espèces du genre *Teclea* soit leur richesse en alcaloïdes.

#### IV.3.4. Activités biologiques des extraits non volatils des feuilles et des racines

##### IV.3.4.1 Principe de l'étude

L'activité antipaludique a été évaluée à partir des extraits apolaires et polaires des feuilles et des racines de *Teclea boiviniana*.

##### IV.3.4.2 Résultats

Les résultats du test anti-paludique sont présentés dans le tableau XXVII ci-dessous.

Tableau XXVII  
Bilan du du test anti-paludique sur les extraits apolaires et polaires des feuilles et racines de *Teclea bioviniana*

Activité anti-paludique	Feuilles		Racines	
	<i>Extrait apolaire</i>	<i>Extrait polaire</i>	<i>Extrait apolaire</i>	<i>Extrait polaire</i>
Cl <sub>50</sub> (µg/mL)	99	52	59	58

##### IV.3.4.3 Discussion

Une activité biologique est considérée comme faible lorsque la concentration inhibitrice à 50% est comprise entre  $50 < Cl_{50} < 100$  µg/mL (Tableau XVI p.49). Il apparaît donc que les quatre extraits testés offrent une activité anti-paludique faible. Remarquons toutefois que les résultats proches de la limite inférieure (entre 52 et 58 µg/mL) pour l'extrait polaire des feuilles ainsi que pour les extraits apolaire et polaire des racines

demeurent intéressants et peuvent laisser présager de l'existence dans ces fractions, de composés à activité anti-paludique.

#### IV.3.4. Conclusion et perspectives

*Teclea boiviniana* des Comores a, dans un premier temps, fait l'objet d'une étude détaillée de sa composition en composés volatils. Suite à ces travaux, il apparaît que la plante renferme dans ses feuilles une huile essentielle dont on a pu identifier 90,8% de la composition. Cette huile se particularise par sa forte teneur en linalol (55,9%), suivi de très loin par le 3-hexén-1-ol (7,6%), l' $\alpha$ -cadinol (7,0%) ainsi que le *cis*- et le *trans*-oxyde de linalol (3,6 et 3,8% respectivement). Elle renferme en outre un composé non identifié détecté à hauteur de 8,1% qu'il serait bien à l'avenir, d'isoler et de purifier pour une identification par RMN.

L'huile essentielle de *Teclea boiviniana* (Baillon) H. Perr. à forte teneur en linalol, reconnu pour ses multiples usages (sédatifs, hypnotiques, ...) [97, 106, 108-111], constitue donc une possibilité de valorisation économique de la plante. Il faudra bien entendu au préalable, d'une part vérifier la stabilité de la composition chimique de l'huile essentielle en fonction de la saison et d'autre part, déterminer la saison à laquelle le rendement en huile essentielle est le plus élevé. Ces travaux doivent être par ailleurs renforcés par une évaluation de l'activité biologique de cette huile à partir d'une gamme de souches bactériennes.

Dans un deuxième temps, il a été mené une amorce d'étude sur les composés non volatils contenus dans les feuilles et les racines de la plante. De ce travail préliminaire effectué à partir de tests phytochimiques et d'un criblage par RMN, il en ressort que *Teclea boiviniana*, comme bon nombre des espèces du genre *Teclea*, renferme des alcaloïdes, en particulier la mélicopicine, la técléanthine et la 6-méthoxytécléanthine, trois alcaloïdes de type acridone. Cette étude des composés non volatils n'en est qu'à ses débuts et mériterait d'être largement approfondie dans l'avenir.

Enfin, les résultats des tests anti-paludiques effectués sur les extraits apolaires et polaires des feuilles et des racines nous laissent entrevoir un espoir d'isoler de *Teclea boiviniana* un (ou des) composé(s) à activité anti-paludique. Cet espoir est également renforcé par les données de la littérature qui mettent en avant l'activité anti-plasmodique d'un grand nombre d'alcaloïdes en particulier les alcaloïdes de type furoquinoléine tels que ceux isolés d'espèces du genre *Teclea* [87,89].

# CONCLUSION GENERALE

Après une étude bibliographique sur les genres *Laggera*, *Plectranthus*, *Ocotea* et *Teclea*, notre travail a été consacré à l'étude de quatre plantes collectées dans les îles de l'Union des Comores et plus particulièrement l'île Ngazidja (Grande Comore) : *Laggera alata* var. *alata* ; *Plectranthus amboinicus*, *Ocotea comoriensis* et *Teclea boiviniana*. Le premier objectif de notre étude était la détermination de la composition chimique de leurs huiles essentielles. Le second objectif, non moins important, était de détecter dans ces plantes la présence de substances bioactives volatiles ou non. L'intérêt majeur de ce travail étant de mettre en évidence une valorisation économique potentielle de la flore des Comores, permettant ainsi une diversification de la commercialisation de produits à haute valeur ajoutée issus de plantes, essentiellement limités jusqu'à ce jour, à l'Ylang ylang, la vanille et le clou de girofle. Une exploitation de ces ressources naturelles de façon durable et pérenne contribuerait ainsi à une amélioration de la vie de la population de l'Archipel des Comores, en particulier celle des femmes fortement impliquées dans la culture des plantes à parfum.

De nos travaux, il en ressort que :

- L'huile essentielle extraite des feuilles de *Laggera alata* var. *alata* des Comores présente une richesse particulière en sesquiterpènes (79,6%). D'après la littérature, les spécimens se développant à Madagascar renferment eux aussi majoritairement des sesquiterpènes. Cependant, si les spécimens des Comores se caractérisent par de fortes proportions de  $\beta$ -caryophyllène, d' $\alpha$ -muurolène et d' $\alpha$ -caryophyllène, les spécimens de Madagascar se distinguent quant à eux par la présence majoritaire du  $\beta$ -sélinène, et des 7-épi- $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -eudesmol. *L. alata* var. *alata* semble donc avoir une variation de la composition de son huile essentielle en fonction de sa zone géographique de développement.

- L'huile essentielle des feuilles de *Plectranthus amboinicus* des Comores montre non seulement une teneur importante en monoterpènes (58,6%) dont le  $\Delta$ -3-carène (15,0%) et le camphre (22,2%) mais également une quantité notable de composés aromatiques (32,1%) tels que le carvacrol (23,0%) et l'*o*-cymène (7,7%). Ces résultats comparés aux données de la littérature ont permis de constater que dans la zone Océan Indien, il se développe à La Réunion, à l'île Maurice et aux comores, un même chemotype de *Plectranthus amboinicus* caractérisé par de fortes teneurs en camphre et en carvacrol. Ce chemotype se distinguant de ceux rencontrés en Inde. En outre, l'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* des Comores présente un réel potentiel de valorisation en tant qu'agent de conservation naturel aussi bien dans l'industrie alimentaire que dans

l'industrie des cosmétiques. Ce rôle d'agent de conservation naturel, elle le doit à son activité antibactérienne démontrée sur les souches Gram (-) *Escherichia coli* et Gram (+) *Staphylococcus aureus* et à son activité anti-oxydante soupçonnée en raison de sa composition chimique ; les monoterpènes tels que l' $\alpha$ -terpinène, le  $\gamma$ -terpinène, le carvacrol ou encore le thymol sont en effet reconnus pour leur activité anti-oxydante. Face à la nécessité de réduire les agents de conservation chimiques ou synthétiques, le recours aux produits naturels tels que les huiles essentielles semble de plus en plus apprécié. L'huile essentielle de *Plectranthus amboinicus* en répondant à cette demande du marché actuel, présente donc quelques espoirs de valorisation économique.

- Les huiles essentielles de feuilles, de fruits et d'écorce d'*Ocotea comoriensis* extraites en période de fructification affichent toutes trois une richesse significative en sesquiterpènes (80,4%, 78,6% et 84,7% respectivement pour les feuilles, les fruits et l'écorce). Cependant, chacune des huiles présente une composition spécifique.

L'huile essentielle des feuilles comprend majoritairement de l'oxyde de caryophyllène (8,5%), mais aussi du  $\beta$ -eudesmol (21,6%), du  $\beta$ -sélinène (6,7%), de l'*épi*-cubébol (4,0%), du (*E*)-caryophyllène (4,0%), du *trans*-calaménène (4,0%) et de l'*épi*- $\alpha$ -cadinol (3,6%).

L'huile essentielle des fruits se distingue quant à elle, par de fortes proportions d' $\alpha$ -cadinol (15,9%), d'*épi*- $\alpha$ -cadinol (14,9%), de  $\delta$ -cadinène (10,8%), d'époxyde d'humulène II (3,6%), de  $\gamma$ -muurolène (3,5%), d' $\alpha$ -cubébène (3,4%) et de 1-10-*di*-*épi*-cubénol (3,3%).

Enfin, l'huile d'écorce est dominée par l'oxyde de caryophyllène (11,3%), l' $\alpha$ -ylangène (8,2%), l'*épi*- $\alpha$ -cadinol (6,1%), le  $\gamma$ -muurolène et l' $\alpha$ -muurolène (5,1% et 5,0%, respectivement), l' $\alpha$ -amorphène (4,4%), le  $\delta$ -cadinène (3,3%), l' $\alpha$ -copaène (3,1%), le  $\gamma$ -cadinène (2,8%) et le  $\beta$ -sélinène (2,4%).

Par ailleurs, concernant plus spécifiquement l'huile essentielle d'écorce étudiée pour un même spécimen, à deux moments du cycle végétatif d'*O. comoriensis* (en fruits et au repos végétatif), d'importantes différences au niveau de sa composition chimique peuvent être relevées. Alors qu'en période de fructification, l'huile essentielle (Ec1) est largement dominée par les sesquiterpènes (84,7%), en période de repos végétatif (Ec2), sa proportion en monoterpènes devient nettement plus importante passant de 0,4% pour Ec1 à 67,9% pour Ec2. L'étude menée met donc en évidence une variation de la composition chimique de l'écorce en fonction du cycle végétatif.

Enfin, l'activité antipaludique décelée pour l'huile essentielle d'écorce d'*O. comoriensis* en période de repos végétatif ( $CI_{50} = 10 \mu\text{g/mL}$ ) est encourageante et nous

incite à poursuivre nos investigations pour une valorisation d'*O. comoriensis* en tant que source d'agents anti-paludiques.

- L'huile essentielle extraite des feuilles de *Teclea boiviniana* présente une importante teneur en monoterpènes dont le linalol (55,9%) et ses dérivés de type furanoïde (*cis*- et *trans*-oxyde de linalol à hauteur respective de 3,6 et 3,8 %). La présence majoritaire du linalol se révèle être intéressante non seulement d'un point de vue chimiotaxonomique mais aussi médicinal. Ce composé est en effet connu pour ses multiples usages (sédatifs, anxiolytiques...). Avec la présence majoritaire du linalol, il se dessine donc une valorisation économique possible pour *T. boiviniana*.

Par ailleurs, il a été mené une amorce d'étude sur les composés non volatils contenus dans les feuilles et les racines de la plante. De ce travail préliminaire effectué à partir de tests phytochimiques et d'un criblage par RMN, il en ressort que *T. boivinia*, comme bon nombre des espèces du genre *Teclea*, renferme des alcaloïdes, en particulier la mélicopine, la técléanthine et la 6-méthoxytécléanthine, trois alcaloïdes de type acridone. Cette étude des composés non volatils n'en est qu'à ses débuts et mériterait d'être largement approfondie dans l'avenir.

Enfin, les résultats des tests anti-paludiques effectués sur les extraits apolaires et polaires des feuilles et des racines nous laissent entrevoir un espoir d'isoler de *Teclea boiviniana* un (ou des) composé(s) à activité anti-paludique.

Ces travaux effectués sur quatre plantes de la Flore de l'Archipel des Comores sont porteurs d'espoir et mériteraient d'être poursuivis en multipliant en particulier les tests d'activités sur les huiles essentielles extraites. N'oublions pas en effet que les huiles essentielles, en raison de leurs cinq propriétés fondamentales connues (propriétés antiseptique, de défloculation, de diurèse, osmotique et bioélectronique) offrent un large spectre d'applications. Elles sont par exemple utilisées dans les domaines de la cosmétologie, de l'aromatisation culinaire ou encore des compléments alimentaires. Par ailleurs, du fait de leurs compositions chimiques variées, les huiles essentielles possèdent chacune une action unique : antiseptique, diurétique, tonique, antispasmodique, antirhumatismale, antitussive, etc. Elles peuvent également être utilisées dans la lutte biologique. En tant qu'insecticides naturelles, elles peuvent en effet servir de protection des végétaux notamment dans l'agriculture biologique. Toutes ces propriétés et applications relevées dans la littérature indiquent que nous avons tout intérêt à poursuivre nos investigations dans le domaine des huiles essentielles ; en particulier des huiles

essentielles provenant de la Flore de l'Archipel des Comores qui est loin d'avoir été totalement explorée, encore moins exploitée.

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

## I Collecte

### I.1 *Laggera alata* var. *alata*

La plante a été collectée au mois d'avril 2010, dans le village de Mwandzaza Djumbe (à 13 Km au Sud de Moroni), avec l'aide de Monsieur Yahaya Ibrahim, technicien botaniste au Centre National de Documentation et de Recherche Scientifique (CNDRS, Moroni). Un échantillon est conservé à l'Herbier National du CNDRS (Référence : RL 2780).

### I.2 *Plectranthus amboinicus*

Les feuilles sèches de la plante ont été achetées au marché de Volo volo à Moroni.

### I.3 *Ocotea comoriensis*

La plante a été collectée aux mois de septembre 1998 et d'avril 2009, dans la forêt de la Grille au nord de l'île de Ngazidja (Grande Comore), avec l'aide du Professeur Jean-Noël LABAT, du Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN) de Paris (France), assisté de Monsieur Yahaya Ibrahim technicien botaniste au Centre National de Documentation et de Recherche Scientifique (CNDRS, Moroni) et de Madame Ramadhoini Islame enseignant-chercheur à la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université des Comores. Un échantillon d'herbier a été déposé aux Herbiers du CNDRS (Référence : RL 2881), de la Faculté des Sciences de l'Université des Comores, sis à Moroni et du MNHN (Paris- France).

### I.4 *Teclea boiviniana*

Le matériel végétal a été collecté au mois d'avril, dans la zone de Maluzini, près de la ville d'Iconi à 5 km au Sud de Moroni, en présence de Madame Ramadhoini Islame, enseignant-chercheur à la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université des Comores. L'identification botanique a été pratiquée par Yahaya Ibrahim, technicien botaniste, du Centre National de Documentation et de Recherche Scientifique (CNDRS), sis à Moroni. Un échantillon d'herbier a été déposé aux herbiers du CNDRS (Référence : RL 2725) et de la Faculté des Sciences de l'Université des Comores.

## II Les huiles essentielles

### II.1 Extraction des huiles essentielles

#### II.1.1 *Laggera alata* var. *alata*

L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation des feuilles sèches de la plante à l'aide d'un montage de type Clevenger équipé d'un ballon de 2 L. Après 5 heures d'extraction, l'huile essentielle est récupérée par décantation et séchée sur sulfate de magnésium.

#### II.1.2 *Plectranthus amboinicus*

L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation des feuilles sèches de la plante à l'aide d'un montage de type Clevenger équipé d'un ballon de 2 L. Après 3 heures d'extraction, l'huile essentielle est récupérée par décantation et séchée sur sulfate de magnésium.

#### II.1.3 *Ocotea comoriensis*

Les huiles essentielles d'*Ocotea comoriensis* ont été extraites par hydrodistillation de la matière sèche (feuilles, fruits et écorces), à l'aide d'un montage de type Clevenger équipé d'un ballon de 2 L. Après 5 heures d'extraction, les huiles essentielles ont été récupérées par décantation et séchées sur sulfate de magnésium.

#### II.1.4 *Teclea boiviniana*

L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation de la matière fraîche, à l'aide d'un montage de type Clevenger équipé d'un ballon de 10 L. Après 4 heures d'extraction, l'hydrodistillat d'un volume de 80 mL, est soumis à une extraction liquide-liquide par 4 x 50 mL de dichlorométhane. La phase organique contenant l'huile est ensuite séchée sur sulfate de magnésium et évaporée sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif.

### II.2 Analyse des huiles essentielles

#### II.2.1 *Laggera alata* var. *alata*

▪ L'analyse quantitative de l'huile essentielle a été réalisée à l'aide d'un chromatographe DANI MONOCOLUM EXPENDER, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. La colonne utilisée est apolaire de type SE 54. Le tableau XXVIII récapitule les conditions d'analyse appliquées.

Tableau XXVIII  
Analyse par CG-DIF de l'huile essentielle de *Laggera alata* var. *alata* (conditions opératoires)

Paramètres d'analyse	
Colonne	SE-54
<i>Longueur</i>	50 m
<i>diamètre interne</i>	0,32 mm
<i>épaisseur de phase</i>	0,25 $\mu$ m
Gaz vecteur	azote
<i>débit constant</i>	0,7 mL/min
Injecteur	
<i>Température</i>	220°C
<i>Mode</i>	splitless
Pas de programmation du four	50°C (5 min) 50°C à 225°C (4°C/min)
Quantité injectée	
<i>huile essentielle diluée dans le pentane (10%)</i>	1 $\mu$ L
Détecteur à ionisation de flamme	
<i>Température</i>	230°C

▪ L'analyse qualitative de l'huile essentielle a été réalisée par CG-SM à partir d'un chromatographe Hewlett Packard 6890 Series couplé à un spectromètre de masse Hewlett Packard 5970, équipé d'une colonne apolaire de type DB-5. Les conditions d'analyse sont récapitulées dans le tableau XXIX.

Tableau XXIX  
Analyse par CG-SM des huiles essentielles de *Laggera alata* var. *alata* (conditions opératoires)

Paramètres d'analyse	
Chromatographe	HP 6890 Series
Colonne	DB-5
<i>Longueur</i>	30 m
<i>diamètre interne</i>	0,25 mm
<i>épaisseur de phase</i>	0,25 $\mu$ m
Gas vecteur	hélium
<i>débit constant</i>	1 mL/min
Injecteur	
<i>Température</i>	200°C
<i>Mode</i>	splitless
Pas de programmation du four	60°C (5 min) 60°C à 210°C (4°C/min) 210°C (5 min)
Quantité injectée	
<i>huile essentielle diluée dans le pentane (2%)</i>	1 $\mu$ L
Détecteur	
<i>Température</i>	270°C
Spectromètre de masse	HP 5970
<i>courant d'ionisation</i>	70 eV
<i>gamme de masse</i>	30 à 550 uma

Parallèlement à ces analyses par CG-SM, les indices de rétention relatifs (IRR) propres à chacun des composés ont été calculés sur la colonne utilisée, à partir d'alcane standards de C<sub>8</sub> à C<sub>22</sub>

Les identifications ont été effectuées d'une part, par comparaison des indices de rétention relatifs avec ceux de la littérature [113-117] et d'autre part, par comparaison des spectres de masse avec ceux contenus dans la banque de données informatisée NIST02, ainsi qu'avec ceux parus dans la littérature [113-117].

### II.2.2 *Plectranthus amboinicus*

- L'analyse quantitative de l'huile essentielle a été réalisée à l'aide d'un chromatographe DANI MONOCOLUM EXPENDER, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. La colonne utilisée est apolaire de type SE 54. Les conditions d'analyse sont identiques à celles appliquées à l'huile essentielle de *Laggera alata* var. *alata* (tableau XXVIII p.76).

- L'analyse qualitative de l'huile essentielle a été réalisée par CG-SM à partir d'un chromatographe Hewlett Packard 6890 Series couplé à un spectromètre de masse Hewlett Packard 5970, équipé d'une colonne apolaire de type DB-5. Les conditions d'analyse et d'identification sont identiques à celles appliquées à l'huile essentielle de *Laggera alata* var. *alata* (tableau XXIX p.76).

### II.2.3 *Ocotea comoriensis*

#### ► Analyse des huiles essentielles des écorce Ec1, des feuilles Fe1 et des fruits Fr1

- L'analyse quantitative des huiles essentielles a été réalisée à l'aide d'un chromatographe Varian CP 3800 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. La colonne utilisée est apolaire de type SPB-5. Le tableau XXX récapitule les conditions d'analyse appliquées.

Tableau XXX  
Analyse par CG-DIF des huiles essentielles Ec1, Fe1 et Fr1 d'*Ocotea comoriensis* (conditions opératoires)

Paramètres d'analyse	
Colonne	SPB-5
Longueur	60 m
diamètre interne	0,32 mm
épaisseur de phase	0,25 µm
Gaz vecteur	azote
débit constant	0,7 mL/min
Injecteur	
Température	250°C
Mode	splitless
Pas de programmation du four	60°C à 230°C (4°C/min) 230°C (60 min)
Quantité injectée	
huile essentielle diluée dans CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0,1 µL
Détecteur à ionisation de flamme	
Température	300°C

▪ L'analyse qualitative des huiles essentielles a été réalisée par CG-SM à partir d'un chromatographe Hewlett Packard 6890 couplé à un spectromètre de masse Hewlett Packard 5972 et à partir d'un chromatographe Hewlett Packard 6890N couplé à un spectromètre de masse Hewlett Packard 5973N. Deux colonnes capillaires ont été utilisées : l'une polaire de type Supelcowax™ 10, l'autre apolaire de type SPB-5. Les conditions d'analyse variables selon le type de colonne utilisée, sont récapitulées dans le tableau XXXI.

Tableau XXXI  
Analyse par CG-SM des huiles essentielles Ec1, Fe1 et Fr1 d'*Ocotea comoriensis* (conditions opératoires)

Paramètres d'analyse	Colonnes	
	<i>longueur (L), diamètre interne (di), épaisseur de phase (e)</i>	
	Supelcowax™ 10	SPB-5
	<i>L : 60 m</i>	<i>L : 60 m</i>
	<i>di : 0,32 mm</i>	<i>di : 0,32 mm</i>
	<i>e : 0,25 µm</i>	<i>e : 0,25 µm</i>
Chromatographe	HP 6890	HP 6890 N
Gaz vecteur	Hélium	hélium
<i>débit constant</i>	<i>0,8 mL/min</i>	<i>0,7 mL/min</i>
Injecteur		
<i>Température</i>	<i>250°C</i>	<i>250°C</i>
<i>Mode</i>	<i>Split</i>	<i>split</i>
Pas de programmation du four	<i>50°C à 230°C (4°C/min)</i> <i>230°C (30 min)</i>	<i>60°C à 230°C (4°C/min)</i> <i>230°C (60 min)</i>
Quantité injectée		
<i>huile essentielle non diluée</i>	<i>0,01 µL</i>	<i>0,01 µL</i>
<i>huile essentielle diluée dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></i>	<i>0,1 µL</i>	<i>0,1 µL</i>
Spectromètre de masse	HP 5972	HP 5973N
<i>courant d'ionisation</i>	<i>70 eV</i>	<i>70 eV</i>
<i>gamme de masse</i>	<i>30 à 550 uma</i>	<i>30 à 550 uma</i>

Parallèlement à ces analyses par CG-SM, les indices de rétention relatifs (IRR) propres à chacun des composés ont été calculés sur les différents types de colonne utilisée, à partir d'alcane standards de C<sub>8</sub> à C<sub>22</sub> pour la colonne apolaire (SPB-5) et de C<sub>8</sub> à C<sub>28</sub> pour la colonne polaire (Supelcowax).

Les identifications ont été effectuées d'une part, par comparaison des indices de rétention relatifs avec ceux de la littérature [113-117] et d'autre part, par comparaison des spectres de masse avec ceux contenus dans les banque des données informatisées NIST02 et Wiley7n, ainsi qu'avec ceux parus dans la littérature [113-117].

#### ► *Analyse de l'huile essentielle des écorce Ec2*

▪ L'analyse quantitative de l'huile essentielle a été réalisée à l'aide d'un chromatographe Shimadzu GC-14A équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et d'un intégrateur CR4A. La colonne utilisée est apolaire de type OV-101. Le tableau XXXII récapitule les conditions d'analyse appliquées.

Tableau XXXII  
Analyse par CG-DIF de l'huile essentielle Ec2 d'*Ocotea comoriensis* (conditions opératoires)

Paramètre d'analyse	
Colonne	OV101
<i>Longueur</i>	50 m
<i>diamètre interne</i>	0,32 mm
<i>épaisseur de phase</i>	0,25 $\mu$ m
Gaz vecteur	azote
<i>débit constant</i>	1 mL/min
Injecteur	
<i>Température</i>	210°C
<i>Mode</i>	splitless
Pas de programmation du four	50°C à 200°C (5°C/min)
Quantité injectée	
<i>huile essentielle diluée dans le pentane (2%)</i>	1 $\mu$ L
Détecteur à ionisation de flamme	
<i>Température</i>	250°C

▪ L'analyse qualitative de l'huile essentielle a été réalisée par CG-SM à partir d'un chromatographe Hewlett Packard couplé à un spectromètre de masse Hewlett Packard 5970 et équipé d'une colonne capillaire apolaire de type DB-1. Les conditions sont récapitulées dans le tableau XXXIII.

Tableau XXXIII  
Analyse par CG-SM de l'huile essentielle Ec2 d'*Ocotea comoriensis* (conditions opératoires)

Conditions opératoires	
Chromatographe	HP 5970
Colonne	DB-1
<i>Longueur</i>	25 m
<i>diamètre interne</i>	0,23 mm
<i>épaisseur de phase</i>	0,25 $\mu$ m
Gas vecteur	hélium
<i>débit constant</i>	0,9 $\mu$ L/min
Injecteur	
<i>Température</i>	180°C
<i>Mode</i>	splitless
Pas de programmation du four	50°C (3 min) 50°C à 200°C (3°C/min)
Quantité injectée	
<i>huile essentielle diluée dans du pentane (2%)</i>	1 $\mu$ L
Spectromètre de masse	HP 5970
<i>courant d'ionisation</i>	70 eV

Parallèlement à ces analyses par CG-SM, les indices de rétention relatifs (IRR) propres à chacun des composés ont été calculés sur la colonne utilisée, à partir d'alcane standards de C<sub>8</sub> à C<sub>22</sub>

Les identifications ont été effectuées d'une part, par comparaison des indices de rétention relatifs avec ceux de la littérature [113-117] et d'autre part, par comparaison des spectres de masse avec ceux contenus dans la banque de données informatisée NIST02, ainsi qu'avec ceux parus dans la littérature [113-117].

#### II.2.4 *Teclea boiviniana*

▪ L'analyse quantitative de l'huile essentielle a été réalisée à l'aide d'un chromatographe Varian CP 3800 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. La colonne utilisée est apolaire de type SPB-5. Les conditions d'analyse sont identiques à celles appliquées aux huiles essentielles Ec1, Fe1 et Fr1 d'*Ocotea comoriensis* (tableau XXX p.77).

▪ L'analyse qualitative de l'huile essentielle a été réalisée par CG-SM à partir d'un chromatographe Hewlett Packard 6890 couplé à un spectromètre de masse Hewlett Packard 5972 et à partir d'un chromatographe Hewlett Packard 6890N couplé à un spectromètre de masse Hewlett Packard 5973N. Deux colonnes capillaires ont été utilisées : l'une polaire de type Supelcowax™ 10, l'autre apolaire de type SPB-5. Les conditions d'analyse et d'identification sont identiques à celles appliquées aux huiles essentielles Ec1, Fe1 et Fr1 d'*Ocotea comoriensis* (tableau XXXI p.77).

### III *Teclea boiviniana* : étude des composés non volatils des feuilles et des racines

#### III.1 Obtention des extraits apolaires et polaires des feuilles et des racines

Le matériel végétal (feuilles et racines) séché est tout d'abord pulvérisé au moyen d'un broyeur (FRITSCH). La poudre sèche est alors épuisée par des solvants de polarité croissante : dichlorométhane puis méthanol afin d'obtenir les extraits apolaires et polaires respectivement. Cette extraction séquentielle est réalisée grâce à un extracteur ASE 300 Dionex®.

##### ► *Principe de l'ASE 300*

L'ASE 300 est un système automatique pour l'extraction rapide des composés organiques à partir d'échantillons solides ou semi-solides. L'ASE 300 accélère les processus traditionnels d'extraction en utilisant des solvants à des températures élevées. Une pression est appliquée à la cellule d'extraction pour maintenir le solvant chauffé à l'état liquide durant l'extraction. Après la phase de chauffage, l'extrait est rincé et transféré de la cellule de l'échantillon vers le flacon de récupération. La figure 4 illustre les différents composants de l'ASE 300 et la figure 5 indique les circuits fluidiques du solvant et du gaz.

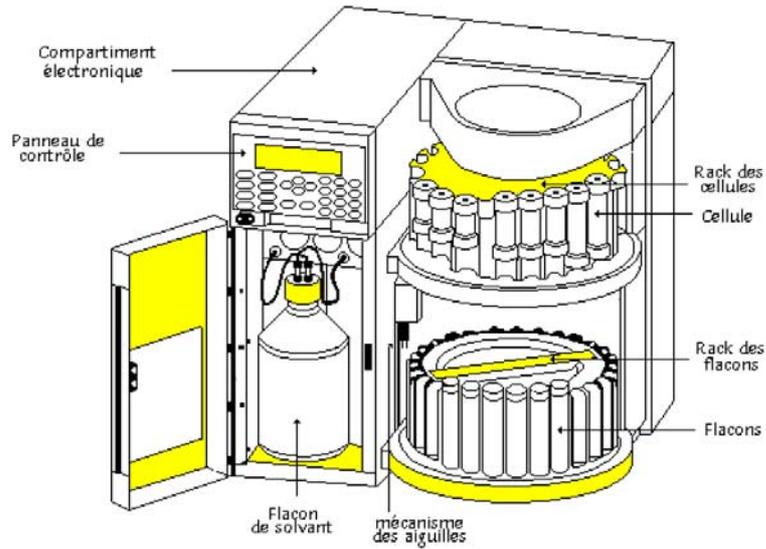


Figure 4 : Composants de l'ASE 300 (source : Dionex®)

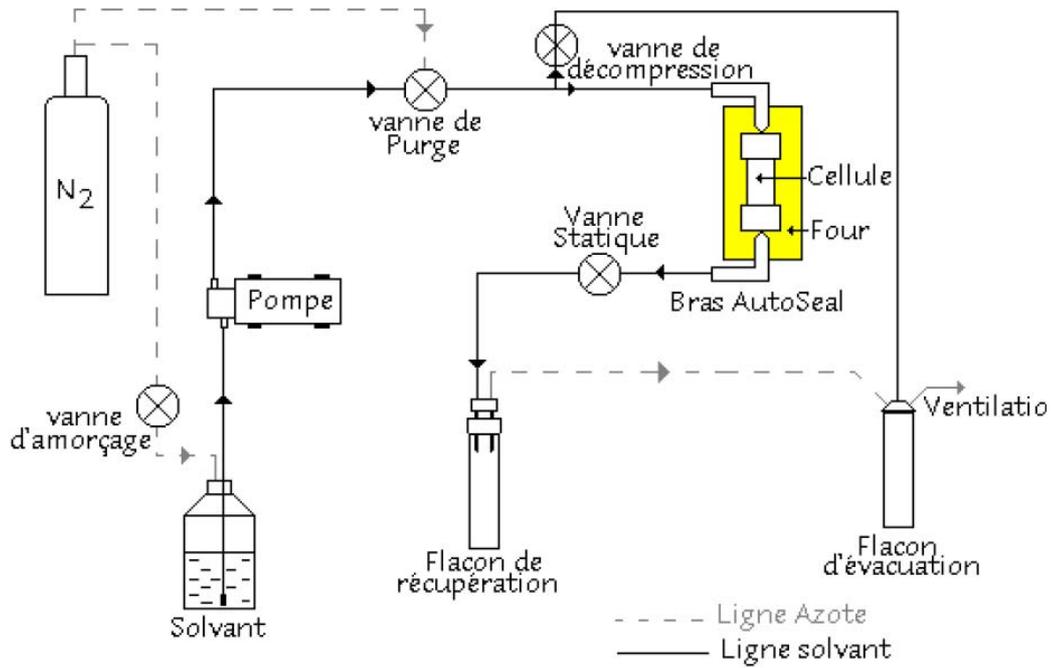


Figure 5 : Circuits fluidiques du solvant et du gaz (source : Dionex®)

► **Conditions d'extraction appliquées**

- Chauffage : 5 min.
- Extraction statique : 6 min.

*Durant le chauffage et la phase statique, la vanne statique s'ouvre périodiquement pour maintenir la pression dans la cellule.*

- Récupération : 100 % Volume

*La vanne statique s'ouvre et l'extrait va vers le flacon de récupération et un nouveau solvant est pompé à travers la cellule (normalement de 50 à 100 % du volume de la cellule).*

- Purge : 120 secondes

*Le solvant restant est déplacé avec le gaz de purge. Le flacon de récupération contient tout le solvant et les espèces extraites de l'échantillon.*

- Cycles : 5 cycles pour une cellule
- Pression exercée lors de l'extraction : 1500 psi (103.38 bars)
- Température 40°C : température de chauffage

► **Rendements des extractions**

Les extraits apolaires et polaires sont récupérés après évaporation sous pression réduite des contenus des flacons de récupération de l'ASE 300. Les rendements d'extraction sont donnés dans le tableau XXXIV ci-dessous.

Tableau XXXIV  
Rendements des extractions aux solvants des feuilles et des racines de *Teclea boiviniana*

Partie de la plante étudiée	Feuilles		Racines	
	Extrait apolaire (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	Extrait polaire (MeOH)	Extrait apolaire (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	Extrait polaire (MeOH)
Rendements (%)*	1,6	11,7	1,5	6,3

\* Calculé par rapport à la masse de matière sèche extraite

### III.2 Criblage phytochimique

Les extraits bruts sont dilués à une concentration de 10 mg/mL de solvant adéquat : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> pour les extraits apolaires, MeOH pour les extraits polaires.

A l'aide d'un capillaire, 10 µL (soit 100 µg) de la solution sont déposés sur une plaque CCM (Macherey-Nagel) du type Silica gel 60 F<sub>254</sub> (avec indicateur de fluorescence UV<sub>254</sub>), le dépôt doit être linéaire environ 6 mm.

Deux mélanges d'éluants sont utilisés pour la migration :

- Cyclohexane/AcOEt 50:50 (v:v) pour les extraits apolaires (extraits CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)
- CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 65:35:5 (v:v) pour les extraits polaires (extraits MeOH)

Les plaques sont alors révélées aux UV (254 et 365 nm) et par pulvérisation de différents réactifs.

#### ► *Liste des réactifs pulvérisés*

##### Test T1 : Détection des coumarines

Préparer une solution éthanolique d'acétate de plomb à 5 %. Pulvériser.

Les coumarines apparaissent sous forme de taches fluorescentes vertes à 365 nm.

##### Test T2 : Détection des valépotriates

Mélanger de l'acide chlorhydrique concentré et de l'acide acétique glacial (8:2 v:v). Chauffer après pulvérisation.

Les valépotriates apparaissent sous forme de taches brunes et bleues (VIS et UV 365 nm).

##### Test T3 : Détection de substances amères, huiles essentielles, principes astringents, saponines

0,5 mL d'aldéhyde anisique sont mélangés, dans l'ordre, à 10 mL d'acide éthanolique glacial, puis à 85 mL de MeOH et enfin à 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré, puis le réactif complet est pulvérisé.

La révélation de taches colorées est faite par chauffage.

##### Test T4 : Détection des naphtoquinones

100 mg de bleu de méthylène sont dissous dans 100 mL d'éthanol en y ajoutant 1 mL d'acide éthanolique et 1 g de zinc. Pulvériser.

La présence de naphtoquinone se détermine par l'apparition de taches bleues.

##### Test T5 : Détection des l'arbutine et de phénols simples

Préparer une solution méthanolique à 1 % (m/V) de 2,6-dichloroquinone-4-chloronimide. Pulvériser puis exposer la plaque aux vapeurs d'ammoniaque.

Les phénols simples et l'arbutine apparaissent sous forme de taches violet-bleu intense en visible.

**Test T6 : Détection des cardénolides**

2 volumes d'une solution aqueuse de chloramine à 1 % (m/V) sont mélangés à 8 volumes d'une solution éthanolique d'acide trichloroacétique à 25 % (m/V). Pulvériser et chauffer.

La présence de fluorescences bleu-clair et jaune-brunâtre sont caractéristiques des cardénolides.

**Test T7 : Détection des flavonoïdes et des lactones sesquiterpéniques**

Une solution éthanolique de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 5 % (m/V) est pulvérisée.

A 365 nm, l'apparition de taches jaunes après un léger chauffage indique une réaction positive pour les flavonoïdes et une fluorescence de couleurs diverses indique la présence de lactones sesquiterpéniques (VIS et UV 365 : jaune, jaune fluorescent, orange ou bleu fluorescent).

**Test T8 : Détection des tanins et des polyphénols**

La recherche des tanins et des polyphénols est effectuée par pulvérisation d'un réactif à base de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) dilué à 10 % (m/V) dans une solution de MeOH à 50 %.

Les colorations sont très variables allant du vert au brun-bleu.

**Test T9 : Détection des alcaloïdes**

Préparer deux solutions :

Solution A : on dissout 0,85 g de nitrate basique de bismuth, 10 g d'acide tartrique dans 40 mL d'eau.

Solution B : on dissout 16 g d'iodure de potassium dans 40 mL d'eau.

Au moment de l'emploi mélanger 5 mL de solution A + 5 mL de solution B + 100 mL d'eau + 20 g d'acide tartrique. (Réactif de Dragendorff).

La présence d'alcaloïdes est décelée par la présence de taches oranges (qui disparaissent au cours du temps).

**Test T10 : Détection des substances phénoliques et des flavonoïdes**

Pulvériser d'une solution aqueuse de Sel de bleu solide (FBS : Fast Blue Salt) à 0, 5% puis d'une solution d'hydroxyde de potassium à 0,1 N.

Les substances phénoliques se caractérisent par la présence de taches rouge-brun ou oranges.

Les flavonoïdes se caractérisent par des taches bleues ou bleu-violet.

**Test T11 : Détection des cardénolides**

Préparer une solution éthanolique à 3% d'acide 3,5-dinitrobenzoïque mélangée à de la lessive de soude (Réactif de Kedde). Pulvériser.

Ce réactif permet la détection du cycle  $\gamma$ -lactone. Apparition de taches roses ou bleu-violet. Les bufadiénolides ne réagissent pas.

**Test T12 : Détection des anthraquinones, des anthrones et des coumarines**

Préparer une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium à 5 % (m/V). Pulvériser. (Test de Bornträger).

L'observation de taches rouges à la lumière visible avant et après chauffage indique une réaction positive à l'anthraquinone et l'observation de taches jaunes, indique la présence d'anthrones.

- Anthraquinones : VIS + UV 365 = rouge
- Anthrones : VIS + UV 365 = jaune
- Coumarines : UV 365 = fluorescences bleues

**Test T13 : Détection de flavonoïdes, d'alcaloïdes et de coumarines**

Vaporiser successivement une solution méthanolique de diphénylboryloxy-éthylamine à 1 % et une solution éthanolique de polyéthylèneglycol 4000 à 5 % (= PEG) (pour abaisser le seuil de détection) sur les plaques.

Les flavonoïdes apparaissent sous forme de taches fluorescentes, oranges, rouges, jaunes, bleues et vertes sous UV à 366 nm :

- flavonols (glycosides quercétine, myricétine) : UV 365 : orange fluorescent
- flavonols (glycosides kaempférol, isorhamnétine) : UV 365 : vert-jaune fluorescent
- flavones (glycosides lutéoline) : UV 365 : orange fluorescent
- flavones (glycosides apigénine) : UV 365 : vert-jaune fluo
- alcaloïdes : UV 365 : intensification des fluorescences bleues
- coumarines : UV 365 : intensification des fluorescences bleues
- anthrones, anthranols : UV 365 : intense fluorescence jaune
- arbutine : UV 365 : intense orange ou bleu
- acides dicafféoylquiniques : UV 365 : bleu à bleu-vert intense

**Test T14 : Détection de substances variées**

(réactif général et polyvalent pour terpènes, substances amères, saponines et huiles essentielles)

Préparer deux solutions :

Solution A : un mélange de volumes égaux d'une solution éthanolique de vanilline 1 % avec une solution d'acide perchlorique à 3 % (Réactif de Godin).

Solution B : solution éthanolique d'acide sulfurique à 10%.

Pulvériser A puis B. Chauffer à 100°C jusqu'à apparition de taches de couleurs diverses à la lumière visible.

- Substances type terpènes et substances amères : VIS = bleu foncé ou rouge foncé
- Principes amers (goût amer de l'extrait) : VIS = brun-rouge, jaune-brun, vert foncé
- Huiles essentielles : VIS = bleu, brun, rouges

### III.3 Fractionnement et analyse de l'extrait apolaire des racines

#### III.3.1 Fractionnement

Le fractionnement de l'extrait apolaire des racines de *Teclea boiviniana* a été réalisé par Chromatographie Liquide Moyenne Pression (CLMP) au moyen d'une pompe BÜCHI (C-606) équipée d'un module de contrôle BÜCHI (C-615) et d'un collecteur de fractions (C-606). La colonne de verre borosilicaté C-690 BÜCHI de diamètre interne 2,6 cm est remplie d'une hauteur de silice (Macherey-Nagel ; MN Kieselgel 60, 0,063-0,2 mm, 70-230 Mesh) de 46 cm. 3,5 g de l'échantillon ont été pesés, dissous dans 20 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et injectés dans la boucle d'injection (20 mL). La colonne est éluée par un gradient d'élué de polarité croissante Cyclohexane/AcOEt/MeOH (Figure 6).

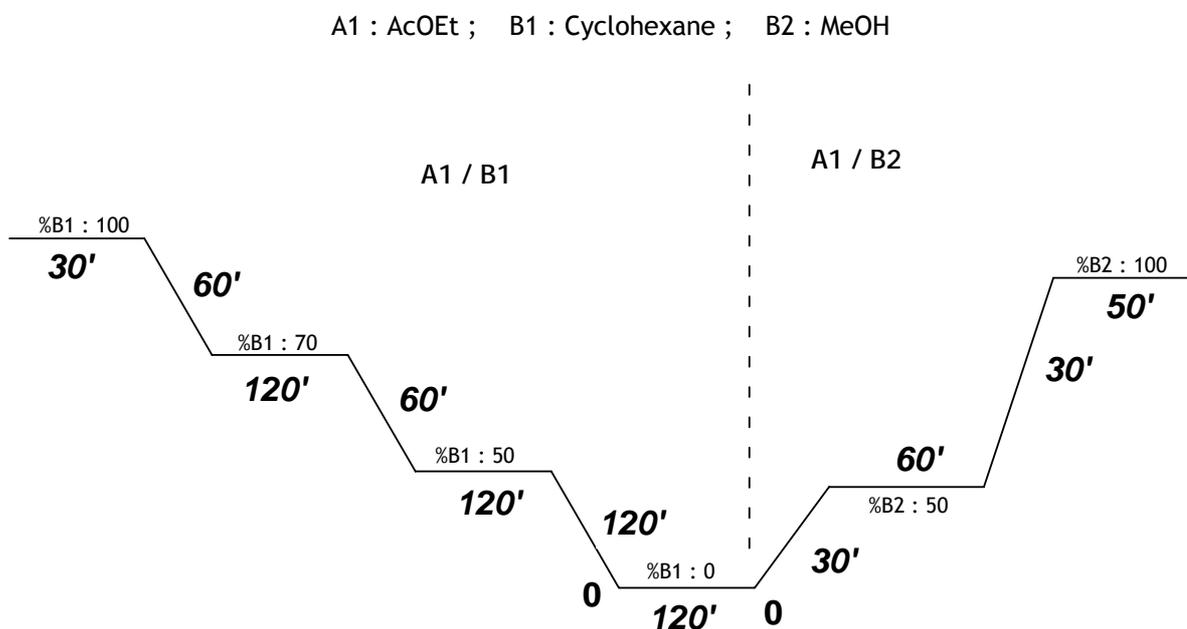


Figure 6 : Programmation du gradient d'élué en CLMP (temps en minutes)

#### III.3.2 Analyse structurale par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres RMN ont été enregistrés sur le spectromètre Bruker Avance III 600 MHz Ultrashield Plus de la plateforme de recherche et cyclotron de La Réunion (CYROI).

Les fréquences de fonctionnement pour les noyaux  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  sont respectivement 600,34 MHz et 150,91 MHz.

Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont indiqués en ppm et le solvant est utilisé comme référence interne ( $\text{CDCl}_3$ ).

La correspondance entre les lettres utilisées en abréviations et la nature des massifs est la suivante : s pour singulet, d pour doublet, t pour triplet, q pour quadruplet, dd pour doublet de doublets, dt pour doublet de triplets, td pour triplet de doublets, dq pour doublet de quadruplets, tdd pour triplet de doublets dédoublé, m pour multiplet.

## IV Tests d'activité biologiques

### IV.1 *Activité antibactérienne*

*Ce test a été appliqué à l'huile essentielle de feuilles de **Plectranthus amboinicus**.*

#### IV.1.1. Matériel

Les souches bactériennes utilisées sont *Staphylococcus aureus* CECT 239 (Gram positif) et *Escherichia coli* CECT 405 (Gram négatif).

Les différents milieux de culture utilisés sont : la Gélose Eosine Bleu de Méthylène (milieu sélectif pour *Escherichia coli*), la Gélose de Baird Parker (milieu sélectif pour *Staphylococcus aureus*), la gélose Mueller - Hinton, et le bouillon Trypticase Soja (TSB).

Les anneaux métalliques circulaires en inox ont un diamètre uniforme de 8 mm.

#### IV.1.2. Méthode

*Préparation de l'inoculum* : Pour la préparation d'un inoculum de  $10^9$ UFC/mL, deux ou trois colonies de la souche sont prélevées et mises en suspension dans 10 mL de TSB puis incubée à 37°C pendant 18h. Des dilutions sont ensuite réalisées en cascade dans des tubes contenant 10 mL de TSB pour l'obtention d'un inoculum de  $10^7$ UFC/mL. Le TSB est préalablement réchauffé à 37°C afin d'éviter tout choc thermique [118].

*Test de sensibilité aux huiles essentielles par la technique de diffusion en milieu solide* : Le milieu de culture a été chauffé à 100°C jusqu'à liquéfaction complète, puis laissé refroidir jusqu'à une température de 55°C. Ensuite, il a étéensemencé par la suspension bactérienne fraîchement préparée à raison de 1%, puis réparti dans les boîtes de pétri à raison de 20 mL/boîte. Celles-ci ont été laissées se durcir sur un support dont l'horizontalité a été préalablement vérifiée à l'aide d'un niveau à bulle d'air.

Les cylindres en inox ont été remplis chacun par 50 µL de l'échantillon (dilutions préparées à partir de l'huiles essentielle pure dans de l'eau physiologique à 0,2% d'agar), dont un cylindre a été réservé pour témoin (eau physiologique à 0,2% d'agar). Enfin, les boîtes ont été incubées pendant 18 à 24h à 37°C.

Au terme de la période d'incubation, les boîtes de pétri ont été récupérées et les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés.

*Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)* : En milieu solide, l'huile essentielle est incorporée dans un milieu gélosé (Mueller - Hinton) coulé en boîtes de Pétri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches à étudier. Après incubation 18 à 24h à 37°C, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu

contenant la plus faible concentration de l'huile essentielle. La CMI permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes aux substances étudiées.

#### IV.2 *Activité larvicide*

*Test appliqué à l'huile essentielle d'écorce Ec2 d'Ocotea comoriensis :*

Les œufs d'*Aedes aegypti* ont été incubés pendant 24h dans l'eau courante à 25°C. Vingt larves sont ensuite placées dans 10 mL d'eau, auxquels est ajoutée l'huile essentielle diluée dans du DMSO. La concentration finale de DMSO ne doit pas excéder 1%. Le tout est mis sous incubation à 25°C. Le nombre de larves encore vivantes peut être évalué après 1h et 24h par simple comptage visuel. [119]

#### IV.3 *Activité antipaludique*

*Test appliqué à l'huile essentielle d'écorce Ec2 d'Ocotea comoriensis :*

L'activité anti-paludique a été testée sur la souche *Plasmodium falciparum* selon le protocole développé en 1979 par Desjardins *et al.* [74], et en 1996 par Frappier *et al.* [75].

*Test appliqué aux extraits bruts de Teclea boiviniana :*

Deux souches de *Plasmodium falciparum*, l'une sensible à la chloroquine (3D7) et l'autre résistante ont été testées suivant la procédure décrite en 2002 par Frédérick *et al* [73].

#### IV.4 *Activité antioxydante*

*Test appliqué à l'huile essentielle d'écorce Ec2 d'Ocotea comoriensis :*

Le test mesurant l'activité antioxydante de l'huile essentielle est basé sur le principe de la réduction de radicaux libres fournis par le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH). [120]

10µL d'une solution d'huile essentielle sont déposés sur une plaque de chromatographie sur couche mince de type Silicagel 60 F254 (Merck). La plaque est développée dans le système de solvant : Butanol / Acide acétique / Eau 65:25: 15 (v:v). Après migration, les plaques sont séchées afin d'éliminer toute trace de solvants puis révélées à l'aide d'une solution de DPPH à la concentration de 2 mg/mL (M/V) dans le méthanol. La lecture s'effectue après 30minutes. En présence de composés possédant des propriétés antioxydantes, le DPPH est réduit et passe de la couleur pourpre au jaune.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] HUMBERT H., Flore de Madagascar et des Comores, 1962, 189, 358-360.
- [2] HAKIZAMUNGU, E.; VAN PUYVELDE, L., WERY, M., Screening of Rwandese medicinal plants for anti - trichomonas activity. J. Ethnopharmacol., 1992, 36(2), 143-146.
- [3] SELVANAYAHGAM ZE., GNANEVENDHAN SG, BALAKRISHNA K., RAO RB., Antisnake venom botanicals from ethnomedicine, J. Herbs Spices Med. Plants, 1994, 2(4), 45-100.
- [4] BURKILL H.M., the useful plants of west tropical Africa, Royal Botanic Gardens, Kew (K), 1985, 1, 479.
- [5] RASOANAIVO P., PETITJEAN A., RATSIMAMANGA-URVERG S., RAKOTO-RATSIMAMANGA A., Medicinal plants used to treat malaria in Madagascar, J. Ethnopharmacol., 1992, 37(2), 117-127.
- [6] WATT J.M., BREYER-BRANDWIJK M.G., The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa. 2<sup>nd</sup> Ed., E.S. LIVINGSTONE, LTD., LONDON. BOOK, 1962.
- [7] VLIETINCK A.J., VAN HOOFF L., TOTTE J., LASURE A., VANDEN BERGHE D., RWANGABO PC., MVUKIYUMWAMI J., Screening of hundred Rwandese medicinal plants for antimicrobial and antiviral properties. J. Ethnopharmacol., 1995, 46(1), 31-47.
- [8] BHAKUNI D.S., DHAR M.L., DHAR M.M., DHAWAN B.N., GUPTA B., SRIMALI R.C., Screening of Indian plants for biological activity. Part III. Indian J. Exp. Biol., 1971, 9, 91.
- [9] DUKE J.A., AYENSU E.S., Medicinal plants of China. Reference Publications, Inc. Algonac, Michigan, Book, 1985, 1, 4, 52-361.
- [10] ZHAO Y., YUE JM., HE, Y.N., LIN Z.W., SUN H.D., Eleven new eudesmane derivatives from *Laggera pterodonta*. J. Nat. Prod., 1997, 60(6), 545-549.
- [11] PEI S.J., Preliminary study of ethnobotany in Xishuang Banna, People's Republic of China. J. Ethnopharmacol., 1985, 13(2), 121-137.
- [12] BOUQUET A., Féticheurs et médecine traditionnelles du Congo, Brazaville. Mémoires ORSTOM, 1969, 36, 94.
- [13] MEVY J.P., BOUSQUET-MÉLOU A., GREFF S, MILLOGO J., FERNANDEZ C., Chemical composition of the volatile oil of *Laggera aurita* Schulz from Burkina-Faso, Biochem. Syst. Ecol., 2006, 34, 815-818.
- [14] ZUTSHI, S.K., BAMBORIA B.K., BOKADIA M.M., Chemical investigation of the essential oil of *Laggera aurita*. Curr. Sci., 1975, 44(16), 571-572.
- [15] EKUNDAYO O., OGUNTOMEIN B., LAAKSO I., HILTUNEN R., Composition of the essential oil of *Laggera alata*, Planta med., 1989, 55(6), 573-574.
- [16] ONAYADE O.A., SCHEFFER J.J.C., SCHRIPEMA, J., 6-Hydroxycarvotanacetone and other constituents of the essential oil of *Laggera alata* (D.Don) Sch. Bip. Ex Oliv. Flavour Fragr. J., 1990, 5(3), 165-172.
- [17] RAHARIVELOMANANA P., BIANCHINI J.P., RAMANOELINA A.R.P., RASOARAHONA J.R.E., FAURE R., CAMBON A., Eudesmane sesquiterpenes from *Laggera alata*. Phytochemistry, 1998, 47(6), 1085-1088.
- [18] KUIATE J.R., BESSIERE J.M., AMVAM ZOLLO P.H., Composition of the essential oils from *Laggera spp.* from Cameroon. Flavour Fragr. J., 2002, 17(2), 105-108.
- [19] NEBIE R.H.C., BELANGER A., MILLOGO/RASOLODIMBY J., YAMEOGO R., SIB F.S., Composition chimique des huiles essentielles de *Laggera oloptera* (DC) Adams, du Burkina Faso, J. Soc. Ouest-Afr. Chim., 2002, 14, 143-148.
- [20] SOHOUNHLOUE K.D., SAGBO, A.U., MENUT C., BESSIÈRE, J.M., Aromatic plants of tropical West Africa. XIII. Chemical composition of the leaf oil of *Laggera pterodonta* (DC.) Sch. Bip. ex Oliv. from Benin, J. Essent. Oil Res., 2004, 16(3), 193-194.
- [21] NGASSOUM M.B., JIROVETZ L., BUCHBAUER G., FLEISCHHACKER W., Investigation of the essential oil and headspace of *Laggera pterodonta* (DC.) Sch. Bip. ex OHv., a medicinal plant from Cameroon. J. Essent. oil Res., 2000, 12, 345-349.

- [22] ASFAW, N., STORESUND, H.J., AASEN, A.J., Constituents of the essential oil of *Laggera tomentosa* Sch. Bip. ex Oliv. et Hiern endemic to Ethiopia, *J. Essent. Oil Res.*, 2003, 15, 102.
- [23] GEDA A., BOKADIA M.M., Antimicrobial activity of essential oils on human pathogenic bacteria. *Sci. Cult.*, 1980, 46(1), 33-35.
- [24] VAN PUYVELDE L., BOSSELAERS J., STEVENS C., DE KIMPE N., VAN GESTEL J., VAN DAMME P., Phytotoxins from the leaves of *Laggera decurrens*. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47(5), 2116-2119.
- [25] AYOUB SMH., BABIKER Al., Screening of plants used in Sudan folk medecine for anticancer activity. *Fitoterapia*, 1984, 55(4), 209-212.
- [26] HEDGE I.C., CLEMENT R.A., PATON A.J., PHILLIPSON P.B., Labiatae. *Fl. Madagasc.* 1998, 175, 1-293.
- [27] LUKHOB A.C.W., SIMMONDS S.J., PATON A.J., *Plectranthus*: A review of ethnobotanical uses, *J. Ethnopharmacol.*, 2006, 103, 1-24.
- [28] KAOU A.M., MAHIU-LEDDET V., HUTTER S., AÏNOUDDINE S., HASSANI S., YAHAYA I., AZAS N., OLLIVIER E., Antimalarial activity of crude extracts from nine African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, 2008, 116, 74-83.
- [29] SAID HASSANI M., YAHAYA I., Programme Tramil - Comores. Rapport final. Programme. Moroni. Comores, 1995.
- [30] ADJANOHOUN E., AKE ASSI L., AHMED A., EYENE J., GUINKO S., KAYONGA A., KEITA A., LEBRAS M., Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques aux Comores, Rapport, ACCT, 1982.
- [31] GURIB-FAKIM A., SWERAJ M.D., GUEHO J., DULLOO E., Medicinal plants of Rodrigues. *Int. J. of Pharmacog.*, 1996, 341, 2-14.
- [32] NEUWINGER H.D., African traditional medicine. A dictionary of plant use and applications. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, 2000, 406-408.
- [33] MORTON J.F., Country borage (*Coleus amboinicus* Lour.): a potent flavoring and medicinal plant. *Journal of Herbs, Spices Medicinal Plants* 1992, 1, 77-90.
- [34] KOKWARO J.O., Medicinal plants of East Africa, second ed. Kenya Literature Bureau, Nairobi 1993.
- [35] WATT J.M., BREYER-BRANDWIJK M.G., The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa, second ed. E. and S. Livingstone Ltd., London, 1962.
- [36] CHIFUNDERA K., Contribution to the inventory of medicinal plants from the Bushi area, South Kivu Province, Democratic Republic of Congo. *Fitoterapia*, 2001, 72, 351-368.
- [37] YAMADA T., A report on the ethnobotany of the Nyindu in the Eastern part of the former Zaire. *African Study Monographs*, 1999, 20, 1-70.
- [38] MUGISHA M.K., The socio-cultural aspects in utilization of medicinal plants in reproductive healthcare in Western Uganda. A paper presented at The World's Women Congress, 2002. *Gender Studies and Development*, Makerere, 2002.
- [39] ABDEL-MOGIB M., ALBAR H.A., BATTERJEE S.M., Chemistry of the genus *Plectranthus* (A review), *Molecules*, 2002, 7, 271-301.
- [40] VERA R., MONDON J.M., PIERIBATTESTI J.C., Chemical composition of the essential oil and aqueous extract of *Plectranthus amboinicus*. *Planta Med.*, 1993, 59, 2, 182-183.
- [41] GURIB-FAKIM A., SEWRAJ M.D., NAROD F., MENUT C., Aromatic plants of Mauritius: volatile constituents of the essential oils of *Coleus aromaticus* Benth., *Triphasia trifolia* (Burm. F.) and *Eucalyptus kirtoniana* F. Muell. *J. Essent. Oil Res.*, 1995, 7, 215-218.
- [42] GURDIP SINGH, PRAKASH SINGH O.M., PRASAD Y.R., DE LAMPASONA M.P., CATALAN C., Studies on essential oils. Part 33: Chemical and insecticidal investigations on leaf oil of *Coleus amboinicus* Lour. *Flavour Fragr. J.*, 2002, 17, 6, 440-442.

- [43] MANGATHAYARU K., PRATAP D.V.V., THIRUMURGAN D., PATEL P.S., DAVID D.J., KARTHIKEYAN J., Essential oil composition of *Coleus amboinicus* Lour. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2005, 67(1), 122-123.
- [44] BAKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK D., IDAOMAR M., Biological effects of essential oils - A review. Food Chem. Toxicol., 2008, 46, 446-475.
- [45] BURT S., Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. Int. J. Food Microbiol., 2004, 94, 223-253.
- [46] SONBOLI A., SALELI P., KANANI M.R., EBRAHIMI S.N.,  $\gamma$ -Terpinene, *p*-cymene antibacterial and antioxidant activities. Z. Naturforsch., 2005, 60, 534-538.
- [47] LI G., LIU Z., Unusual antioxidant behavior of  $\alpha$  and  $\gamma$ -terpinene in protecting methyl linoleate, DNA, and erythrocyte. J. Agric. Food Chem., 2009, 57(9), 3943-3948.
- [48] EDRIS A.E., Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. Phytother. Res., 2007, 21, 308-323.
- [49] ALVIN J.M., JANARDHANAN I.S., Modulatory effect of *Plectranthus amboinicus* Lour. on ethylene glycol - induced nephrolithiasis in rats. Indian J. Pharmacol., 2005, 37(1), 43-44.
- [50] RINALDA A.G.O., EDELTRUDES O.L., EVANDRO L.S., WELLINGTON L.V., KRISTERSON R.L.F., VINÍCIUS N.T., IGARA O.L., SILVA-FILHO R.N., Interference of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng essential oil on the anti-Candida activity of some clinically used antifungals. Braz. J. Pharmacog., 2007, 17(2), 186-190.
- [51] CHANG J.M., CHENG C.M., HUNG L.M., CHUNG Y.S., WU R.Y., Potential use of *Plectranthus amboinicus* in the treatment of Rheumatoid Arthritis. eCAM, 2007, 1-6.
- [52] NIRMALA D.K., PERIYANAYAGAM K.V., Pharmacognostical studies on the leaves of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng. Int. J. Green Pharm., 2008, 182-184.
- [53] KOSTERMANS A.J.G.H., Lauraceae. Flore de Madagascar et des Comores. 81<sup>e</sup> Famille. Muséum National d'Histoire Naturelle. Paris. 1950.
- [54] DUCATILLION C., LOUP C., Pratiques paysannes des Comores : l'arbre dans le paysage agricole. Rapport, République Fédérale Islamique des Comores, 1985.
- [55] BRYANT A.T., Zulu Medicine and medicine - men. C. Struik, Cape. 1966.
- [56] WATT J.M., BREYER-BRANDWIJK M.G., The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa. 2<sup>nd</sup> edn. Livingstone, London, 1962.
- [57] CUNNINGHAM A.B., An investigation of the herbal medicine trade in Natal-Kwazulu. Investigational Report n°29. Institute of Natural Resources. University of Natal, Pietermaritzburg. 1988.
- [58] CHAVERRI C., CICCIO J.F., Essential oils from *Ocotea austinii* C. K. Allen (Lauraceae) from Costa Rica, J. Essent. Oil Res., 2007, 19(5), 439-443.
- [59] GUERRINI A., SACCHETTI G., MUZZOLI M., RUEDA G.M., MEDICI A., BESCO E., BRUNI R., Composition of the volatile fraction of *Ocotea bofo* Kunth (Lauraceae) Calyces by GC-MS and NMR fingerprinting and its antimicrobial and antioxidant activity, J. Agric. Food Chem., 2006, 54, 7778-7788.
- [60] COUTINHO D.F., DIAS C.S., BARBOSA J.M., AGRA M.F., MARTINS R.M., SILVA T.M.S., DANCUNHA E.V.L., SILVA M.S., CRAVEIRO A.A., Composition and molluscicidal activity of the essential oil from the stem bark of *Ocotea bracteosa* (Meisn.) Mez. J. Essent. Oil Res., 2007, 19(5), 482-484.
- [61] CHAVERRI C., CICCIO J.F., Essential oil of trees of the genus *Ocotea* (Lauraceae) in Costa Rica. I. *Ocotea brenesii*, Revista de Biología Tropical, 2005, 53(3-4), 431-436.
- [62] WERKA J.S., BOEHME A.K., SETZER W.N., Biological activities of essential oils from Monteverde, Costa Rica. Nat. Prod. Commun., 2007, 2(12), 1215-1219.
- [63] TAKAKU S., HABER W.A., SETZER W.N., Leaf essential oil composition of 10 species of *Ocotea* (Lauraceae) from Montverde, Costa Rica. Biochem. Syst. Ecol., 2007, 35, 525-532.

- [64] SETZER W.N., TAKAKU S., STOKES S.L., PENTON H.F., Inhibition of cruzain by *Ocotea* leaf essential oils from Montverde, Costa Rica. *Pharmacologyonline*, 2006, 3, 785-793.
- [65] WRIGHT B.S., BANSAL A., MORIARITY D.M., TAKAKU S., SETZER W.N., Cytotoxic leaf essential oils from neotropical Lauraceae: Synergistic effects of essential oil components. *Nat. Prod. Communi.*, 2007, 2(12), 1241-124.
- [66] GARRETTA R., GRUZ R.A.S., PINHEIRO L.S., GUERRA M.S., ROCHA L., Chemical composition and biological activities of the essential oil from *Ocotea notata* (Nees) Mez. *Actes du 1<sup>st</sup> Brazilian Conference on natural products (XXVII annual meeting on micromolecular evolution, systematics and ecology, reflections on the current status of chemosystematics)*, 2007, p. 40 (RPS-15).
- [67] LORENZO D., LOAYZA I., LEIGUE L., FRIZZO C., DELLACASS E., MOYNA P., Asaricin, the main component of *Ocotea opifera* Mart. essential oil. *Nat. Prod. Lett.*, 2001, 15(3), 163-170.
- [68] BALLABENI V., TOGNILINI M., BERTONI S., BRUNI R., GUERRINI A., RUEDA G.M., BAROCELLI E., Antiplatelet and antithrombotic activities of essential oil from wild *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) calices from Amazonian Ecuador, *Pharmacol. Res.*, 2007, 55, 23-30.
- [69] SACCHETTI G., GUERRINI A., NORIEG P., BIANCHI A., BRUNI R., Essential oil of wild *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) leaves from Amazonian Ecuador. *Flavour Fragr. J.*, 2006, 21(4), 674-676.
- [70] BRUNI R., MEDICI A., ANDREOTTI E., FANTIN C., MUZZOLI M., DEHESA M., ROMAGNOLI C., SACCHETTI G., Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. *Food Chem.*, 2004, 85, 415-421.
- [71] TERREAUX C., MAILLARD M., HOSTETTMANN K., LODI G., HAKIZAMUNGU E., Analysis of the fungicidal constituents from the bark of *Ocotea usambarensis* Engl. (Lauraceae), *Phytochem. Anal.*, 1994, 5, 233-238.
- [72] MORIARITY D.M., BANSAL A., COLE R.A., TAKAKU S., HABER W.A., SETZER W.N., Selective cytotoxic activities of leaf essential oils from Monteverde, Costa Rica. *Nat. Prod. Communi.*, 2007, (12), 1263-1268.
- [73] FREDERICH M., TITS M., GOFFIN E., PHILIPPE G., GRELLIER P., DE MOL P., HAYETTE M.P., ANGENOT L., In vitro and in vivo antimalarial properties of isostrychnopentamine, an indolomonoterpenic alkaloid from *Strychnos usambarensis*, *Planta Medica*, 2004, 70, 520-525.
- [74] DESJARDINS R.E., CANFIELD C.J., HAYNES J.D., CHULAY J.D., Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by a semiautomated microdilution technique. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1979, 16, 710-718.
- [75] FRAPPIER F., JOSSANG A., SOUDON J., CALVO F., RASOANAIVO P., RATSIMAMANGA-URVERG S., SAEZ J., SCHRÉVEL J. ET GRELLIER P. Bisbenzoquinolines as modulators of chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* and multidrug resistance in tumor cells. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1996, 40, 1476-1481.
- [76] PERRIER DE LA BATHIE H., *Flore de Madagascar et des Comores*, Paris, 1950, 104.
- [77] LABAT J.-N., PIGNAL M., PASCAL O., Deux espèces nouvelles et une combinaison nouvelle chez les Rutaceae de l'Archipel des Comores. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical garden*, 2005, 361-369.
- [78] AL-REHAILY A.J., AHMAD M.S., MUHAMMAD I., AL-THUKAIR A.A., PERZANOWSKY P.P., Furoquinoline alkaloids from *Teclia nobilis*, *Phytochemistry*, 2003, 64, 1405-1411.
- [79] KAMDEM WAFFO A.F., COOMBES P.H., CROUCH N.R., MULHOLLAND D.A., EL AMIN S.M.M., SMITH P.J., Acridone and furoquinoline alkaloids from *Tecla gerrardii* (Rutaceae : Toddalioideae) of southern Africa. *Phytochemistry*, 2007, 68, 663-667.
- [80] HUTCHINGS. A, SCOTT, A.H., LEWIS, G., CUNNINGHAM A., Zulu medicinal plants. An inventory. University of Natal Press. Pietermaritzburg, 1996, 153.

- [81] WATT J.M., BREYER-BRANDWIJK, M.G., The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa. ES Livingston. Edinburg, 1962.
- [82] Vaquette J., Contribution à la chimiotaxonomie des Rutacées : Etude de *Zanthoxylum decaryi* H. Perr. Etude de *Teclea boiviniana* H. Perr. et de *Teclea unifoliolata* Baillon. Thèse de doctorat d'Etat en Pharmacie, UER chimie thérapeutique, Université de Paris-Sud, 1974.
- [83] AL-REHAILY A.J., Chemical and biological evaluation of essential oil of *Teclea nobilis* Leaf, Pakistan J. Biol. Sci., 2001, 4(2), 166-168.
- [84] VAQUETTE J., CLEROT M.O., PARIS M.R., POUSSET J.L., CAVE A., PARIS R.R., Sur une rutacée de Madagascar, le *Teclea boiviniana* Baill. Isolement de deux nouvelles acrodines la 6-méthoxy-télécléanthine et la 1,3,5-triméthoxy-10-acrodine. Plantes médicinales et phytothérapie, 1974, 8(1), 57-62.
- [85] VAQUETTE J., HOCQUEMILLER R., POUSSET J.L., CAVÉ A., Alkaloids from leaves of *Teclea boiviniana* (Baill.) H. Perr., Planta Med., 1978, 33, 78-84.
- [86] COMBES P.H., MWANGI E.M., PETERS B.K., CROUCH N.R., MULHOLLAND D.A., The cyclobuta[b]quinoline alkaloid cyclomegistine from *Tecla gerrardii* I. Verd. (Toddalioidae : Rutaceae), Biochem. Syst. Ecol., 2009, 37, 494-496.
- [87] MURIITHI M.W., ABRAHAM W.R., KYEREME J.A., SCOWEN I., CROFT S.L., GITU P.M., KENDRICK H., NJAGI E.N.M., WRIGHT C.W., Isolation and in vitro antiplasmodial activities of alkaloids from *Teclea trichocarpa* : In vivo antimalarial activity and X-ray crystal structure of normelicopicine, J. Nat. Prod., 2002, 65, 956-959.
- [88] KUETE V, WANSI M.A.T., KANA SOP M.M., TCHO T.A., PENLAP B.V., ETOA F.-X., WANDJI J., MARION M.J.J., LALL N., Antimicrobial activity of the methanolic extract and compounds from *Teclea afzelii* (Rutaceae), South African Journal of Botany, 2008, 74, 572-576.
- [89] WANSI T.D, HUSSAIN H, TCHAO A.T., KOUAM S.F., SPECHT N, SARITE S.R., HOERAUF A., KROHN K., Antiplasmodial activities of furoquinoline alkaloids from *Teclea afzelii*, Phytotherapy Research. Short Communication, 2009.
- [90] TARUS P.K., COOMBES P.H., CROUCH N.R., MULHOLLAND D.A. MOODLEY B., Furoquinoline alkaloids from the southern African Rutaceae *Teclea natalensis*, Phytochemistry, 2005, 66, 703-706.
- [91] DAGNE E., YENESEW A., Quinoline alkaloids from *Teclea nobilis*, Fitoterapia, 1987, 58(5), 343-344.
- [92] YENESEW A., DAGNE E., Alkaloids of *Teclea nobilis*, Phytochemistry, 1988, 27(2), 651-653.
- [93] AYAFOR J.F., SONDEGAM B.L., BILON A.N., TSAMO E., KIMBU S.F., Furoquinoline alkaloids of *Teclea ouabanguensis*, J. Nat. Prod., 1982, 45(6), 714-717.
- [94] WONDIMU A., DAGNE E, WATERMAN P.G., Quinoline alkaloids from the leaves of *Teclea simplicifolia*, Phytochemistry, 1988, 27(4), 959-960.
- [95] FISH F., MESHAL I.A., WATERMAN P.G., The alkaloids of Ghanian *Teclea* Species: *Teclea* cfr. *sudanica*, Fitoterapia, 1977, 48(4), 170-172.
- [96] VAQUETTE J., POUSSET J.L., CAVE A., Alcaloïdes des feuilles de *Teclea unifoliolata* Baill. (Rutaceae), Plantes médicinales et phytothérapie, 1974, 8(1), 72-75.
- [97] AYAFOR J.F., OKOGUN J.I., Nkolbisine. A new furoquinoline alkaloids and 7-deacetylazadirone from *Teclea verdoorniana*, J. Nat. Prod., 1982, 45(2), 182-185.
- [98] AYAFOR J.F., OKOGUN J.I., Isolation and identification of three new phenolic furoquinoline alkaloids from *Teclea verdoorniana* Exell & Mendonça (Rutaceae), J.C.S. Perkin I, 1982, 909-915.
- [99] WATERMAN P.G., Tecleanone from *Diphasia klaineana* and *Teclea verdoorniana*, Phytochemistry, 1975, 14, 2092-2093.
- [100] AL-REHAILY A.J., Chemical and biological evaluation of essential oil of *Teclea nobilis* leaf, Pakistan J. Biol. Sci., 2001, 4(2), 166-168.

- [101] AL-REHAILY A.J., AHMAD M.S., MOSSA J.S., MUHAMMAD I., New axane and oppositane sesquiterpenes from *Teclea nobilis*, *J. Nat. Prod.*, 2002, *65*(9), 1374-1376.
- [102] AYAFOR J.F., SONDEGAM B.L., BILON A.N., CONNOLY J.D., Limonoids of *Teclea ouabanguiensis*. *J. Nat. Prod.*, 1986, *49*(4), 583-587.
- [103] AL-REHAILY A.J., EL-TAHIR K.E.H., MOSSA J.S., RAFATULLAH S, Pharmacological studies of various extracts and major constituent, lupleol, obtained from hexane extract of *Teclea nobilis* in Rodents. *Natural Product Sciences*, 2001, *7*(3), 76-82.
- [104] LAPCZYNSKI A., LETIZIA C.S., API A.M., Fragrance material review on d-linalool, *Food Chem. Toxicol.*, 2008, *46*, S195-S196.
- [105] LETIZIA C.S., COCCHIARA J., LALKO J., API A.M., Fragrance material review on linalool, *Food Chem. Toxicol.*, 2003, *41*, 943-964.
- [106] EMAMGHOREISHI M., HEIDARI-HAMEDANI G., Sedative-hypnotic activity of extracts and essential oil of coriander seeds, *Iran J. Med. Sci.*, 2006; *31*(1), 22-27.
- [107] ELISABETSKY E., MARSCHNER J., SOUZA D.O., Effects of linalool on glutamatergic system in the rat cerebral cortex, *Neurochem. Res.*, 1995, *20*(1), 461-465.
- [108] ELISABETSKY E., COELHO DE SOUZA G.P., DOS SANTOS M.A.C, SIQUEIRA I.R., AMADOR T.A., Sedative properties of linalool, *Fitoterapia*, 1995, *66*(5), 407-414.
- [109] RE L., BAROCCI S., SONNINO S., MENDARELLI A., VIVANI C., PAOLUCCI G., SCARPANTONIA A., RINALDI L., MOSCA E., Linalool modifies the nicotinic receptor-ion channel kinetics at the mouse neuromuscular junction, *Pharmacol. Res.*, 2000, *42*(2), 177-181.
- [110] RAGUSO R. A., PICHERSKY E., A day in the life of a linalool molecule: Chemical communication in a plant-pollinator system. Part 1: Linalool biosynthesis in flowering plants, *Plant Species Biology*, 1999, *14*, 95-120.
- [111] LAVY M., ZUKER A., LEWINSOHN E., LARKOV O., RAVID U., VAINSTEIN A., WEISS D., Linalool and linalool oxide production in transgenic carnation flowers expressing the *Clarkia breweri* linalool synthase gene, *Molecular Breeding*, 2002, *9*, 103-111.
- [112] WAGNER H., BLADT S., ZGAINSKI E.M., *Plant drug analysis*. Ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New Yoyk, 1984.
- [113] ADAMS R.P., Identification of essential oil components by gas chromatography/quadropole mass spectroscopy. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL. 2001.
- [114] KONDOJOYAN N., BERDAGUE J.L., A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds. Ed. Laboratoire Flaveur, France, 1996.
- [115] JENNINGS W., SHIBAMOTO T., Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillaire gas chromatography. Academic Press, New York. 1980.
- [116] KOVATS, E., Gas-chromatographysche Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1 : Retentions indices aliphatischer Haolgenide, Alkohole, Aldehyde und Cetone, *Helv. Chim. Acta* 1958, *41*, 1915-1932.
- [117] SHIBAMOTO T., Retention indices in essential oil analysis. In: *Capillary gas chromatography in essential oil analysis*. Ed. Sander, P. et Bicchi, C. Huethig, Heidelberg, 1987, 259-274.
- [118] COURVALIN P., DRUGEON H., FLANDROIS J.P., GOLDSTEIN F., Fiches techniques d'étude pratique de bactéricide. In: *Bactéricide*. Courvalin et al. Eds., Maloine, Paris, 1990, 313-351.
- [119] CEPLEANU F., Validation and application of three bench-top bioassays for screening of crude plant extracts and subsequent activity-guided isolation. Thèse. University of Lausanne, Switzerland, 1993.
- [120] TAKAO T., KITATANI F., WATANABE N., YAGI A., SAKATA K., A simple screening method for antioxidants produced by marina bacteria from fish and shellfish, *Biosci., Biotechnol. Biochem.*, 1994, *58*, 1780-1783.

## Liste des Tableaux

Tableau I	: Utilisations d'espèces du genre <i>Laggera</i> en médecine traditionnelle	p.16
Tableau II	: Composés volatils majoritaires (% > 2) isolés d'espèces du genre <i>Laggera</i>	p.17
Tableau III	: Activités biologiques d'espèces du genre <i>Laggera</i>	p.18
Tableau IV	: Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de <i>Laggera alata</i> var. <i>alata</i>	p.20
Tableau V	: Classement par composition chimique significative des espèces du genre <i>Laggera</i>	p.22
Tableau VI	: Utilisations d'espèces du genre <i>Plectranthus</i> en médecine traditionnelle	p.26
Tableau VII	: Composition chimique des huiles essentielles des espèces du genre <i>Plectranthus</i>	p.27
Tableau VIII	: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Plectranthus amboinicus</i> des Comores	p.29
Tableau IX	: Valeurs moyennes du diamètre d'action inhibitrice en fonction des concentrations de l'huile essentielle de <i>Plectranthus amboinicus</i>	p.31
Tableau X	: Utilisations d'espèces du genre <i>Ocotea</i> en médecine traditionnelle	p.37
Tableau XI	: Composés volatils majoritaires (% > 3) isolés d'espèces du genre <i>Ocotea</i>	p.38
Tableau XII	: Activités biologiques des huiles essentielles d'espèces du genre <i>Ocotea</i>	p.39
Tableau XIII	: Rendement en huile essentielle de l'espèce <i>Ocotea comoriensis</i>	p.40
Tableau XIV	: Composition chimique des huiles essentielles des écorces (Ec1, Ec2), des feuilles (Fe1) et des fruits (Fr1) de l' <i>Ocotea comoriensis</i>	p.42
Tableau XV	: Spectres de masse des composés C1-C5 non identifiés détectés dans les huiles essentielles de l' <i>Ocotea comoriensis</i>	p.46
Tableau XVI	: Critère de sélection des activités biologiques	p.49
Tableau XVII	: Utilisations d'espèces du genre <i>Teclea</i> en médecine traditionnelle	p.53
Tableau XVIII	: Composés volatils majoritaires (>2%) isolés d'espèces du genre <i>Teclea</i>	p.54
Tableau XIX	: Alcaloïdes, type acridone, isolés d'espèces du genre <i>Teclea</i>	p.55
Tableau XX	: Alcaloïdes, type furoquinoléine, isolés d'espèces du genre <i>Teclea</i>	p.56
Tableau XXI	: Autres alcaloïdes isolés d'espèces du genre <i>Teclea</i>	p.57
Tableau XXII	: Terpènes isolés d'espèces du genre <i>Teclea</i>	p.57
Tableau XXIII	: Activités biologiques des extraits volatils et non volatils d'espèces du genre <i>Teclea</i>	p.58
Tableau XXIV	: Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de <i>Teclea boiviniana</i>	p.59
Tableau XXV	: Spectres de masse des composés C6 et C7 non identifiés détectés dans l'huile essentielle des feuilles de <i>Teclea boiviniana</i>	p.60
Tableau XXVI	: Bilan du criblage chimique sur les extraits apolaires et polaires des feuilles et racines de <i>Teclea boiviniana</i>	p.62
Tableau XXVII	: Bilan du du test anti-paludique sur les extraits apolaires et polaires des feuilles et racines de <i>Teclea boiviniana</i>	p.66
Tableau XXVIII	: Analyse par CG-DIF de l'huile essentielle de <i>Laggera alata</i> var. <i>alata</i> (Conditions opératoires)	p.76

Tableau XXIX	: Analyse par CG-SM des huiles essentielles de <i>Laggera alata</i> var. <i>alata</i> (Conditions opératoires)	p.76
Tableau XXX	: Analyse par CG-DIF des huiles essentielles Ec1, Fe1 et Fr1 d' <i>Ocotea comoriensis</i> (Conditions opératoires)	p.77
Tableau XXXI	: Analyse par CG-SM des huiles essentielles Ec1, Fe1 et Fr1 d' <i>Ocotea comoriensis</i> (Conditions opératoires)	p.78
Tableau XXXII	: Analyse par CG-DIF de l'huile essentielle Ec2 d' <i>Ocotea comoriensis</i> (Conditions opératoires)	p.79
Tableau XXXIII	: Analyse par CG-SM de l'huile essentielle Ec2 d' <i>Ocotea comoriensis</i> (Conditions opératoires)	p.79
Tableau XXXIV	: Rendements des extractions aux solvants des feuilles et des racines de <i>Teclea boiviniana</i>	p.82

---

### Liste des Figures

Figure 1	: Courbe d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i> en fonction de la dilution de l'huile essentielle de <i>Plectranthus amboinicus</i>	p.32
Figure 2	: Courbe d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i> en fonction de la dilution de l'huile essentielle de <i>Plectranthus amboinicus</i>	p.32
Figure 3	: Biosynthèse du linalol et de ses dérivés <i>cis-trans</i> -oxydes de linalol (furanoides)	p.61
Figure 4	: Composants de l'ASE 300 (source : Dionex®)	p.81
Figure 5	: Circuits fluidiques du solvant et du gaz (source : Dionex®)	p.81
Figure 6	: Programmation du gradient d'élution en CLMP ( <i>temps en minutes</i> )	p.86

---

### Liste des Clichés

Cliché 1	: <i>Laggera alata</i> var <i>alata</i> [M. SAID HASSANI]	p.14
Cliché 2	: <i>Plectranthus amboinicus</i> [H. ABDREMANE]	p.25
Cliché 3	: Feuilles sèches de <i>Plectranthus amboinicus</i> au marché de Volo volo [H. ABDREMANE]	p.25
Cliché 4	: Feuilles et Fruits d' <i>Ocotea comoriensis</i> [M. SAID HASSANI]	p.36
Cliché 5	: Ecorces d' <i>Ocotea Comoriensis</i> [M. SAID HASSANI]	p.36
Cliché 6	: <i>Teclea boivniana</i> [M. SAID HASSANI]	p.52

---

---

## Valorisation de quatre plantes endémiques et indigènes des Comores

### Résumé

Ce mémoire comprend quatre chapitres, chacun étant consacré à l'étude chimique et biologique d'une plante endémique ou indigène de l'Archipel des Comores: *Laggera alata* var. *alata* (Asteraceae), *Plectranthus amboinicus* (Lamiaceae), *Ocotea comoriensis* (Lauraceae) et *Teclea boiviniana* (Rutaceae).

Dans le premier chapitre consacré à la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Laggera alata* var. *alata* provenant des Comores, une richesse particulière en sesquiterpènes a été démontrée (79,6%). D'après la littérature, les spécimens se développant à Madagascar renferment eux aussi majoritairement des sesquiterpènes. Cependant, si les spécimens des Comores se caractérisent par de fortes proportions de  $\beta$ -caryophyllène, d' $\alpha$ -muurolène et d' $\alpha$ -caryophyllène, les spécimens de Madagascar se distinguent quant à eux par la présence majoritaire du  $\beta$ -sélinène, et des 7-épi- $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ -eudesmol. *Laggera alata* var. *alata* semble donc avoir une variation de la composition de son huile essentielle en fonction de sa zone géographique de développement.

Le deuxième chapitre présente la composition de l'huile essentielle des feuilles de *Plectranthus amboinicus*. Cette huile essentielle montre non seulement une teneur importante en monoterpènes (58,6%) dont le  $\Delta$ -3-carène (15,0%) et le camphre (22,2%) mais également une quantité notable de composés aromatiques (32,1%) dont le carvacrol (23,0%) et l'*o*-cymène (7,7%). De plus, les analyses biologiques pratiquées sur l'huile essentielle de *P. amboinicus* ont mis en évidence une activité antibactérienne très intéressante (Gram + et Gram -) vraisemblablement due à la présence des composés majoritaires cités précédemment.

Dans le troisième chapitre, la comparaison des huiles essentielles de feuilles, de fruits et d'écorce d'*Ocotea comoriensis* extraites en période de fructification a globalement révélé pour ces trois huiles essentielles une richesse significative en sesquiterpènes (80,4%, 78,6% et 84,7% respectivement pour les feuilles, les fruits et l'écorce). Cependant, chacune des huiles présente une composition spécifique. Par ailleurs, l'influence de la saison sur la composition chimique de l'huile essentielle d'écorce a été étudiée. L'écorce de la plante collectée en période de fructification renferme une huile essentielle riche en oxyde de caryophyllène (11,3%),  $\alpha$ -ylangène (8,2%) et épi- $\alpha$ -cadinol (6,1%) alors que l'huile essentielle d'écorce extraite en période de repos végétatif contient majoritairement des monoterpènes : 18,1% de camphène, 13,8% d'acétate de bornyle, 13,7% d' $\alpha$ -pinène et 8,4% de  $\beta$ -pinène. Une activité antipaludique a été également décelée sur l'huile essentielle d'écorce d'*O. comoriensis* en période de repos végétatif (IC<sub>50</sub> = 10  $\mu$ g/mL).

Le quatrième chapitre décrit les résultats obtenus pour l'huile essentielle extraite des feuilles de *Teclea boiviniana*. Les analyses chimiques ont montré une importante teneur en monoterpènes dont le linalol (55,9%) et ses dérivés de type furanoïde (*cis*- et *trans*-oxyde de linalol à hauteur respective de 3,6 et 3,8 %). Le linalol se révèle donc être un marqueur chimiotaxonomique de cette espèce. Il est, également, intéressant de signaler que ce composé est connu pour ses effets sédatifs et anxiolytiques. Une première approche de la composition chimique des extraits non volatils apolaires et polaires des feuilles et des racines de la plante a été réalisée par le biais de criblages phytochimiques et d'analyses RMN.

Mots-clés : Comores, plantes endémiques et indigènes, *Laggera alata* var. *alata*, *Ocotea comoriensis*, *Plectranthus amboinicus*, *Teclea boiviniana*, utilisation traditionnelle, huiles essentielles, activités biologiques.

---

## Valorisation of four endemic and indigenous plants from Comoro Islands

### Abstract

This manuscript includes four chapters, each of them is devoted to the chemical and biological study of an endemic or indigenous plant of Comoro archipelago: *Laggera alata* var. *alata* (Asteraceae), *Plectranthus amboinicus* (Lamiaceae), *Ocotea comoriensis* (Lauraceae) and *Teclea boiviniana* (Rutaceae).

In the first chapter the chemical composition of *Laggera alata* var. *alata* from Comoros is described. In the leaf essential oil, a high sesquiterpene content was found (79.6%) among which  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -muurolene and  $\alpha$ -caryophyllene. However, the literature mentions that the specimens growing in Madagascar contains chiefly  $\beta$ -selinene, and 7-epi- $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ -eudesmol. So, this study demonstrates that there is a possible relationship between essential oil composition and geographical location.

The second chapter reports the chemical composition of the essential oil of *Plectranthus amboinicus*. This essential oil presented not only, a high content of monoterpenes (58.6%) such as  $\Delta$ -3-carene (15.0%) and camphor (22.2%), but also, a large amount of aromatic compounds (32.1%) such as carvacrol (23.0%) and *o*-cymene (7.7%). Besides, biological analyses carried out on *P. amboinicus* essential oil revealed very interesting antibacterial activity (Gram + and Gram -) probably due to the components cited above.

In the third chapter, the composition of the essential oils from leaves, fruits and bark of *Ocotea comoriensis* collected during fruit development stage is discussed. The three oils showed a significant sesquiterpene content (80.4%, 78.6% and 84.7% respectively for leaves, fruits and bark). However, each oil was found to possess its specific composition. Besides, season influence on bark essential oil composition was studied. The principal components from bark oil collected during fruit stage development were found to be caryophyllene oxide (11.3%),  $\alpha$ -ylangene (8.2%) and epi- $\alpha$ -cadinol (6.1%) while in the bark oil collected during vegetative stage, the monoterpenes camphene (18.1%), bornylacetate (13.8%),  $\alpha$ -pinene (13.7%) and  $\beta$ -pinene (8.4%) were the main compounds. Moreover, antimalaria activity was detected in *Ocotea comoriensis* bark essential oil collected during vegetative stage (IC<sub>50</sub> = 10  $\mu$ g/mL).

The fourth chapter describes the results obtained for leaves essential oil of *Teclea boiviniana*. Chemical analysis showed a high content of monoterpenes among which linalool (55.9%) and linalool furanoid type derivatives (*cis*- et *trans*-linalool oxide respectively 3.6 and 3.8 %). Linalool could therefore be used as a taxonomic marker of this species. It is also interesting to note that linalool is well-known for sedative and anxiolytic effects. Preliminary approach of chemical composition of apolar and polar nonvolatile extracts of *T. boiviniana* leaves and roots was also carried out by using phytochemical screening and NMR.

Key words: Comoros, endemic and indigenous plants, *Laggera alata* var. *alata*, *Ocotea comoriensis*, *Plectranthus amboinicus*, *Teclea boiviniana*, traditional uses, essential oils, biological activities.

