

Caractérisation des huiles essentielles d'*Hyptis spicigera* Lam., *Pluchea ovalis* (Pers.) DC. et *Laggera aurita* (L.F.) Benth. Ex. C.B. Clarke, plantes aromatiques tropicales.

Kabera J¹, Koumaglo K. H.², Ntezurubanza L³, Ingabire MG⁴, Kamagaju L.⁵

^{1,4,5} IRST-/Centre de Recherche en Pytomédicaments et Sciences de la Vie (Butare -Rwanda)

² Laboratoire d'extraits végétaux et arômes naturels (LEVAN), Université de Lomé (Togo)

³ Institute of Biology, University of Ottawa, Ontario, Canada K1N 6N5



Hyptis spicigera



Pluchea ovalis



Laggera aurita

Résumé

Dans la Région Ouest Africaine, les feuilles d' *Hyptis spicigera* sont utilisées dans la conservation des denrées alimentaires. *Pluchea ovalis* et *laggera aurita* sont utilisées comme plantes médicinales. Ainsi dans le cadre de notre étude sur les plantes aromatiques et à huiles essentielles, les plantes entières d' *Hyptis spicigera*, *Pluchea ovalis* et *Laggera aurita*, ont été extraites par entraînement à la vapeur. Le rendement en huile essentielle pour toutes ces plantes est faible : *Hyptis Spicigera*(0.04%), *Pluchea ovalis* (0.02%) et *Laggera aurita*(0.007%).

Les huiles essentielles obtenues sont caractérisées par leur indice de réfraction et leur composition chimique. L'analyse chimique effectuée par chromatographie gazeuse donne, pour *Hyptis spicigera* les constituants majoritaires γ -terpinène (38,9 %), α - pinène (18,9%), β -pinène (8,9%), p-cymène(7,5%) ; pour *Pluchea ovalis* : limonène (18,9%), p-cymène (11,7%) , β -maaliène(7,4%) , β -phellandrène(7,3%), isocomène(6,2%) et *laggera aurita* : 2,5-dimethoxy-p-cymène(21,2%), β -caryophyllène(16,58%), δ -caninène(5,9%) et α -cadinol(4,2%)

Mots clés : *Hyptis spicigera*, *Pluchea ovalis*, *Laggera aurita*, huile essentielle, rendement, indice de réfraction, composition chimique.

Summary

In West Africa Region, *Hyptis spicigera* leaves are use as spray to keep and protect crops from various insect attack; well *Pluchea ovalis* and *Laggera aurita* are use as medicinal plants. Thus, in regard to our studies over aromatic and oils essentials plants, the while plants of *Hyptis spicigera*, *Pluchea ovalis* and *Laggera aurita* have been extracted by steam distilled. For all these plants, the yield of essential oil is low: *Hyptis spicigera*(0.04%), *Pluchea ovalis*(0.02%) *Laggera aurita*(0.007%).

The essential oils obtained were characterised through their refraction indice and chemical composition. The analysis had been made by GC (gaz chromatography). The result of had demonstrated that the major constituents of *Hyptis spicigera* were: γ -Terpinene (38.9 %), α - pinene (18.9 %), β -pinene(8,9%), and p-cymene (7.5%); for *Pluchea ovalis* : limonene(18.9%), p-cymene(11,7%), β -maaliene(7.4%), β -phellandrene (7.3 %) , isocomene (6.2 %) and *Laggera aurita*, : 2,5-dimetoxy-p-cymene(21.2 %), β -caryophyllene (16.58 %), δ -cadinene (5.9 %), α -cadinol (4.2 %).

Key words: *Hyptis spicigera*, *Pluchea ovalis*, *Laggera aurita*, essential oil, yield, refraction indice, chemical composition.

Introduction

Ces trois espèces aromatiques sont répandues en Afrique subsaharienne et possèdent des utilisations médicinales variées.

En Afrique de l'Ouest, l' *H. spicigera* fraîche brûlée chasserait les moustiques et éloignerait les termites dans le grenier. La cendre des feuilles et des fleurs est employée en friction contre la gale. La plante entière donne une tisane fébrifuge prescrite en boisson comme béchique et expectorante. Elle est employée avec succès dans les infections internes.

Le *Pluchea ovalis*, selon les enquêtes ethnobotaniques effectuées, la décoction de ses racines est utilisée dans le pansement des plaies ; les feuilles sont utilisées dans le traitement des abcès et des blessures fraîches (Agbonon, 2003).

Concernant *Laggera aurita*, appelé aussi *Blumea aurita*. ses feuilles sont appliquées en emplâtre à demeure, sur les plaies et les ulcères chroniques. On en fait également le lavement contre la constipation et la dysenterie (Berhaut, 1974).

L'étude de ces plantes s'inscrit dans le programme d'études des plantes aromatiques de la zone tropicale vu de nombreuses applications des leurs huiles essentielles.

Les Huiles essentielles restent toujours notoires grâce à leurs diverses propriétés médicinales en l'occurrence les propriétés ant- inflammatoires, antiseptiques, antivirales, stimulantes, toniques, calmantes, etc.

D'autres part, elles peuvent être toxiques. Cette toxicité est liée à la présence de certains sites oxygénés (Viaud 1993). Parmi les propriétés indésirables, on peut souligner entre autres : les propriétés vésicantes, nécrosantes, allergiques, hépatotoxiques, neurotoxiques, etc. (Franchomme et al, 1990).

Selon Hostettmann, l'un de moyens de connaître une plante à vertus médicinales est d'analyser sa composition chimique, connaître la structure et les propriétés des principes actifs aussi bien que leurs activités pharmacologiques.

Ainsi pour les plantes étudiées, plantes pour lesquelles il n'existe ou pas assez des travaux sur leurs huiles essentielles, notre préoccupation majeure était d'abord de connaître la composition chimique des huiles essentielles qui en sont extraites avant

d'envisager quelles pourraient être leurs propriétés pharmacologiques et d'autres utilisations possibles.

Matériel et Méthodes

Matériel

Outre le matériel végétal constitué par la plante entière pour toutes les trois espèces, le matériel du laboratoire est constitué d'un appareillage suivant :

- un dispositif d'extraction,
- un réfractomètre pour mesurer les indices de réfraction
- un chromatographe en phase gazeuse du type GC Varian 3 400 d'un détecteur à ionisation de flamme,

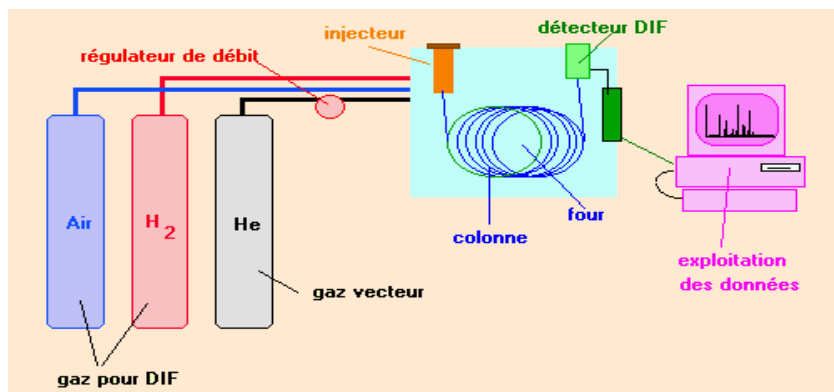


Schéma d'un chromatographe en phase gazeuse muni d'un détecteur à ionisation de flamme.

Méthodes

Extraction

L'huile essentielle est extraite par la méthode d'entraînement à la vapeur. Sur un ballon contenant de l'eau mise en chauffage, on monte un alambic dans lequel on place la biomasse pesée. La vapeur d'eau traverse le matériel végétal en entraînant les produits volatils vers la colonne de condensation. La vapeur condensée est le mélange d'eau et de l'huile essentielle. Celle-ci est recueillie dans une burette contenant de l'eau distillée. L'huile est séparée de l'eau par décantation.

Le rendement

Le rendement est le rapport de la quantité d'huile recueillie après distillation sur la quantité de la biomasse, exprimée en pourcentage. Les quantités d'huile essentielle proviennent du cumul d'au moins cinq distillations.

Indice de réfraction

Les indices de réfraction sont mesurés à l'aide d'un réfractomètre (AFNOR, 2000) à la température ambiante puis ramenés à 20°C par la formule : $I_{20} = I_t + 0,00045(T - 20^\circ\text{C})$ où

I_{20} : indice à 20°C ;

I_t : indice à la température ambiante ou de mesure ;

T : Température ambiante ou de mesure.

Les produits étalons de qualité pour réfractométrie servant à ajuster le réfractomètre sont les suivants (les indices de réfraction à 20°C sont données dans la parenthèse) :

- eau distillée (1,333)
- p-cymène (1,4906)
- benzoate de benzyle (1,5685)
- Bromo-1 naphthalène (1,6585)

Analyses par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les analyses chromatographiques ont été faites sur un chromatographe type Varian 3400 muni d'un détecteur FID et d'un injecteur split/splitless. La colonne utilisée est du type DB-5 de 30m de long et de 0,25mm de diamètre intérieur. La phase stationnaire a une granulométrie de 0.25µm. Le gaz vecteur est de l'azote N50 avec un débit de 1ml/mn. La flamme du détecteur était entretenue par un mélange hydrogène/air à des débits respectifs de 30 et 300ml/mn.

Ci-après les conditions d'analyse :

- température de l'injecteur : 250°C
- température du détecteur : 350°C
- gradient de température : 40 à 200°C à 2°C/mn et de 200 à 250 à 5°C/mn pendant 15mn
- La durée totale d'une analyse est de 109 mn

Résultats et discussions

Les résultats concernent le rendement, les indices de réfraction et la composition chimique des huiles essentielles extraites de ces plantes.

Rendement

Tableau I. Rendement en huile essentielle par rapport à la biomasse fraîche pour toutes les trois plantes

Espèce	Quantité de la biomasse (en gr)	Quantité d'huile essentielle (en gr)	Rendement
<i>Hyptis spicigera</i>	2650,4	1,085	0,04
<i>Pluchea Ovalis</i>	1572,3	1,025	0,065
<i>Laggera aurita</i>	1152,9	0,095	0,008

Toutes ces espèces présentent un rendement en huile essentielle très faible. Il a fallu plusieurs distillations pour obtenir une quantité à analyser. Cette faible teneur serait probablement due à l'âge de la plante, à la période et à l'endroit de récolte sans négliger la nature même de ces plantes aromatiques.

Les indices ont été calculés et ramenés à 20°C. Ils sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau II. Valeurs des indices de réfraction à 20°C des huiles essentielles de ces trois espèces étudiées.

Huile essentielle selon l'espèce	Valeur de l'indice de réfraction
<i>Hyptis spicigera</i>	1,4739 5
<i>Pluchea ovalis</i>	1,48063
<i>Laggera aurita</i>	1,49872

Ces indices de réfraction mesurés correspondent aux normes. Les valeurs sont supérieures à l'indice de réfraction de l'eau à 20°C (1,333).

Constituants chimiques des huiles essentielles étudiées.

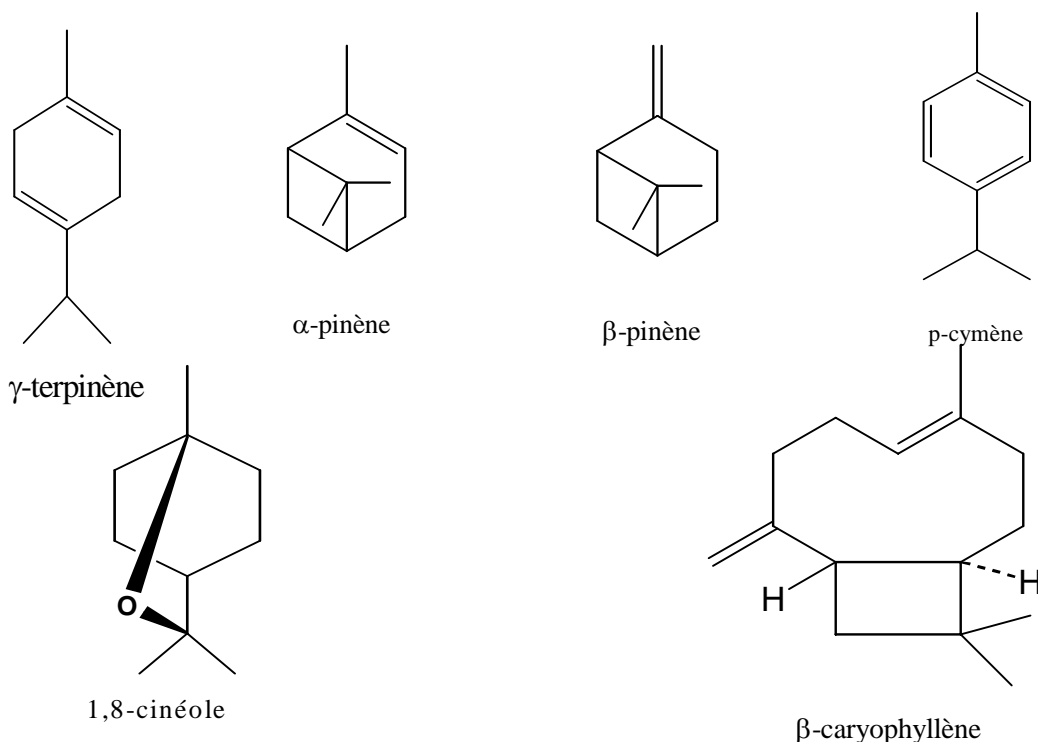
Composition chimique de l'huile essentielle de *Hyptis spicigera*.

Plus de 48 composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de cette espèce.

Les constituants majoritaires sont :

γ -terpinène (38,9%), α -pinène (18,9%), β -pinène (8,9 %), p-cymène (7,5%), eucalyptol ou 1,8-cinéole(6,1%) et β -caryophyllène (5,7%).

On remarque aussi la présence de α -terpinène à 2,7%



Figurel : Structures chimiques des composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle d' *Hyptis spicigera*.

En tenant compte des composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle d' *Hyptis spicigera* que nous avons analysé dans cette étude, nous dressons un tableau de comparaison avec l'huile essentielle de la même espèce dans d'autres pays :

Tableau III: Principaux constituants de l'huile essentielle d' *Hyptis spicigera* selon l'origine.

Composés majoritaires	Togo (présente étude)	Burkina Faso (Bélanger et al. 1994)	Nigeria (Onayade, 1990)	Mali (Lassine Sidibe, 1997)	Cameroun (Bissangou M. F., 1993)
γ -terpinène	38,9	-	-	0,1	-
α -pinène	18,9	5,1	5	12,1 - 13,3	22,1
β -pinène	8,9	3,2	1,7	9,8 - 12,2	9,1
β -caryophyllène	5,7	65,7	67,6	24,7 - 26	1,8
α -terpinène	2,7	-	-	0,4	-
α -thujène	1,9	-	-	0,3	-
myrcène	1,5	-	-	0,3	-

L'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* que nous avons étudiée est principalement riche en γ -terpinène (38,9%) et en α et β - pinène qui sont respectivement à 18,9 et 8,9%. Le β -caryophyllène est à un moindre taux (5,7%). Cependant selon les études faites sur cette espèce au Burkina Faso (Belanger et al. 1994) et au Nigeria (Onayade, 1990), le β - caryophyllène est de très loin le composé majoritaire de l'huile essentielle de ces deux pays (65,7% au Burkina Faso et 67,6% au Nigeria).

Que ce soit au Togo, au Mali ou au Cameroun, l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* révèle la présence de pinènes (α et β) à des taux assez comparables.

L'espèce du Togo présente cependant la particularité d'être la seule riche en γ -terpinène qui est inexistant dans tous les autres pays sauf au Mali où il se retrouve à une faible teneur seulement de 0,1%.

Les terpinènes auraient des propriétés antifongiques. Ils sont actuellement incorporés dans la fabrication de produits ayant cette propriété (AYCARD et al.

1993). Les pinènes sont utilisés dans la formulation de certains insecticides et comme parfums de base des huiles synthétiques de pins.

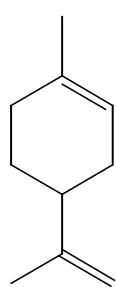
Constituants chimiques de l'huile essentielle de *Pluchea ovalis*

Les constituants chimiques de l'huile essentielle de cette espèce aromatique identifiés sont une trentaine.

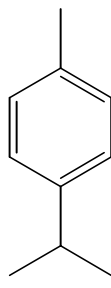
Les constituants majoritaires sont :

- Limonène (18,9%), p-cymène (11,73%), β -maaliène (7,4%), β -phellandrène (7,3%) et isocomène (6,2%)

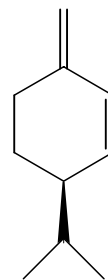
On remarque la présence d'un composé qui n'a pas été identifié dont la teneur est de 8,9%, la présence de β -isocomène(3,1%) et de β -caryophyllène(2,5).



limonène



p-cymène



β -phellandrène

Figure II: Structures chimiques de quelques composés majoritaires rencontrés dans l'huile essentielle de *Pluchea ovalis*.

Des trois espèces étudiées, seule *Pluchea ovalis* n'a jamais été l'objet d'aucune étude en ce qui concerne son huile essentielle. La présente étude paraît la première. L'huile essentielle de cette espèce aromatique que nous avons étudiée possède comme composé majoritaire le limonène (18,9%).

Constituants chimiques de l'huile essentielle de *Laggera aurita*

Plus de 50 composés ont été identifiés dont les majoritaires sont :

β -caryophyllène (16,58%), 2,5-diméthoxy-p-cymène (21,2%), δ -cadinène (5,9%)

On constate aussi la présence de α -cadinol (4,2%), de méthyl chavicol(3,9%), de germacrène-D-4-ol(3,6) et de thymol méthyl éther(3,5%).

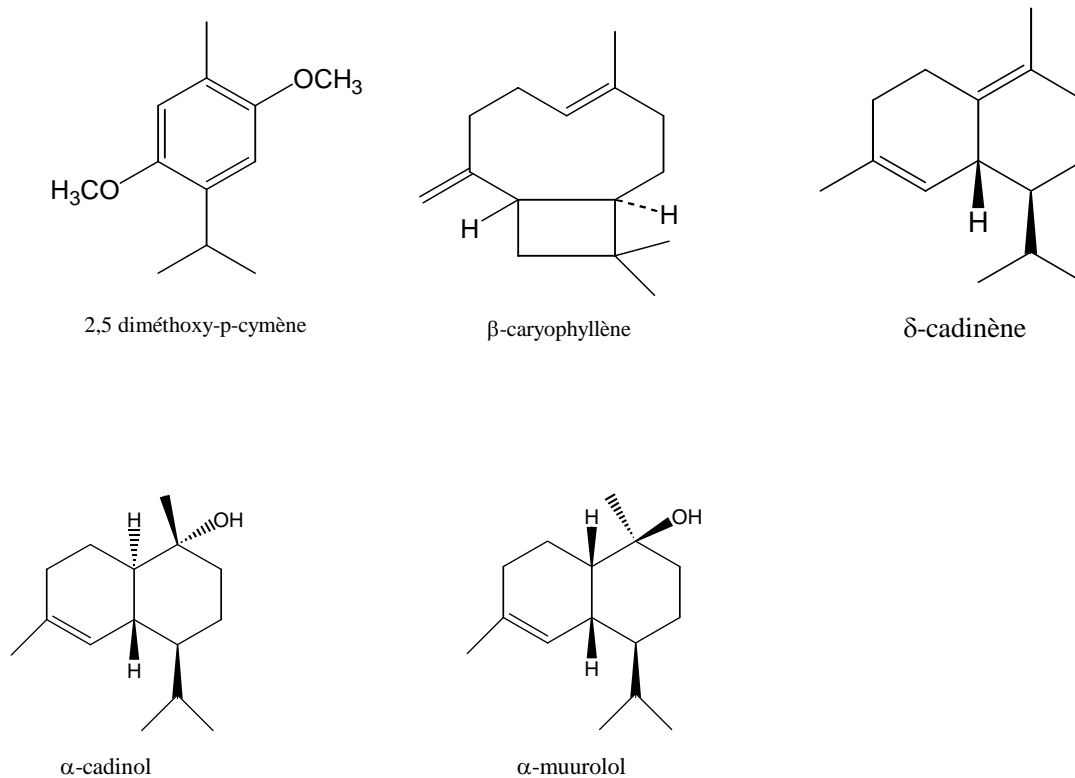


Figure III: Structures chimiques des composés majoritaires rencontrés dans l'huile essentielle de *Laggera aurita*.

L'huile essentielle de cette espèce appelée encore *Blumea aurita* a été analysée seulement au Burkina Faso où les travaux seraient toujours en cours.

En comparant la composition chimique de l'huile essentielle de *Laggera aurita*, espèce du Togo avec celle du Burkina Faso, celle du Togo est majoritairement constituée de p- cymène (21,2%), de β-caryophyllène (16,58%), et α-cadinène (5,9%) tandis que pour celle du Burkina Faso, les mêmes composés ont respectivement la teneur de 1,3% , 4,0%, et 0,4%. Par contre, α-cadinol (28,7%) est le constituant majoritaire de cette espèce au Burkina Faso, suivi de δ-cadinène (10,7%), de τ-muurolol (10,1%) et terpinéol-4-ol (6,8%), (Samate, 2001)

CONCLUSION

D'une manière globale, nous avons constaté que les huiles essentielles sont composés d'un grand nombre de constituants chimiques connus et possèdent une concentration rarement rencontrée dans les produits courants. Chaque huile apparaît comme un mélange indissociable doté de vertus thérapeutiques très intéressantes.

Nous avons pu constater que l'*Hyptis spicigera* du Togo est à chémotype γ -terpinène pendant que celui du Burkina Faso est à chémotype β -caryophyllène. Cette dominance de β -caryophyllène est observable d'ailleurs à toutes espèces quelle que soit leur origine, exception faite à l'espèce du Togo. Mais également, il a été constaté au Cameroun un chémotype à α -pinène, l'huile essentielle était obtenue en distillant les fleurs et les feuilles.

Cette étude nous a permis également d'établir la composition chimique de l'huile essentielle de *Pluchea ovalis*. Cette composition est la première mise en évidence, nous avons constaté un pourcentage relativement important de limonène.

Pour ce qui concerne le *Laggera aurita*, l'espèce du Togo a une teneur de β -caryophyllène plus élevée que celle du Burkina Faso.

Etant donné que ces trois espèces végétales aromatiques n'ont pas fait l'objet de beaucoup d'études, pour l'avenir ou la suite de ce travail, il est indispensable de se focaliser sur l'étude de la variabilité de la composition chimique en tenant compte de l'âge de la plante, de la période de la récolte, du lieu, etc. Ceci va permettre d'observer les différents changements sur plan qualitatif et quantitatif des huiles essentielles afin d'estimer à quelles conditions ou à quelle période telle ou telle huile essentielle pourrait donner un rendement satisfaisant ou avoir une activité intéressante. Ici, nous pensons aux tests d'activités insecticides/insectifuges, antifongiques, bactéricides ou antimicrobiennes en général.

Bibliographie

1. AGBONON AMEGNONA I., EKLU- GADEGBEKU K., AKLIKOKOU K., ESSIENK, AKPAGANA K., GBEASSOR M. (2002), The effect of mangifera indica bark and *Pluchea ovalis* roots on tracheal smooth muscle in vitro. *Fitoterapia* ; 73(7-8) : 619-622.

2. AYCARD J.P., KINI F., GAYDOUE.M. FAURE R. (1993); Novel labdane diterpenes from insecticidal plant *Hyptis spicigera*. Vol 62 n°1 P:45-50.
3. BELANGER A., DEXTRAZE L., NACRO M., SAMATE A. D., COLLIN G., GARNEAU F. X. ET GAGNON H. (1994), compositions chimiques d'huiles essentielles de plantes aromatiques du Burkina Faso, Actes des 13^{èmes} journées internationales des Huiles essentielles. Digue-les- Bains, France, p.300-305.
4. BERHAUT J. (1974), Flore illustrée du Sénégal, Tom II, P. 459
5. BISSANGOU M.F. (1993), Contribution à l'étude des composés organiques volatils extraits des plantes aromatiques d'Afrique subsaharienne. Thèse de doctorat, Montpellier II, France.
6. FRANCHOMME P. et PENOEL D. (1990), Matière médicale aromatique fondamentale (317-406), livre quatrième, l'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. R.Jollois Edit., Limoge, 446p.
7. HOSTETTMANN K. (1997), Tout savoir sur le pouvoir des plantes, Ed. Favre, S.A., Lausanne, Suisse.
8. L.SIDIBE (1997), Contribution à l'étude de certaines huiles essentielles de Lamiacées, Myrtacées, Graminées et Rutacées du Mali, thèse de doctorat, Univ. Blaise Pascal de Clermont, n° 136, numéro d'ordre D.U. 896.
9. NACOULMA O.G.(1996), Plantes médicinales et pratiques médicinales traditionnelles au Burkina Faso. Cas du Plateau Central, thèse de doctorat ès sciences naturelles, Tom1, 320p et Tom2 : annexes 285p
- 10.ONAYADE O.A., LOOMAN A., SCHEFFER J.J.C. AND BAERHEIM SVENDSEN A. (1990), Composition of the essential oil *Hyptis spicigera* Lam. Flav. Frag.J., 101-105
- 11.SAMATE ABDOUL D. (2001), Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation, thèse de doctorat, Univ.de Ouagadougou, Burkina Faso.
12. VIAUD H. (1993), Thérapeutiques naturelles - GNOMA Ed