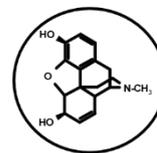


*République de Côte d'Ivoire*  
*Union – Discipline – Travail*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*



UNIVERSITÉ  
NANGUI ABROGOUA

N° d'ordre : 729

## THÈSE

Présentée pour obtenir le

**DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ NANGUI ABROGOUA**

Mention : **Chimie**

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

Par

**KOUAO Toffé Alexis**

Sujet :

**Études chimique et biologique de *Solanum rugosum*,  
*Solanum erianthum* et de *Oricia suaveolens* de Côte  
d'Ivoire**

Soutenue le 07 décembre 2021 devant le jury composé de :

M. BEKRO Yves-Alain, Professeur Titulaire (UNA)	Président
M. KONE Mamidou Witabouna, Professeur Titulaire (UNA)	Rapporteur
M. YAPI Acafou Thierry, Maître de Conférences (UFHB)	Rapporteur
M. BENIE Anoubilé, Professeur Titulaire (UNA)	Examineur
M. BAMBA Fanté, Maître de Conférences (UFHB)	Examineur
M. KOUAME Bosson Antoine, Maître de Conférences (UNA)	Directeur Scientifique

# TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.....	viii
DÉDICACES.....	ix
REMERCIEMENTS .....	x
LISTE DES SIGLES ET DES ABREVIATIONS .....	xii
LISTE DES FIGURES .....	xiv
LISTE DES TABLEAUX.....	xvi
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....	4
I. MÉTABOLITES SECONDAIRES .....	4
I.1. Définition et généralités .....	4
I.2. Classification des métabolites secondaires .....	4
I.2.1. Composés phénoliques.....	4
I.2.1.1. Définition .....	4
I.2.1.2. Biosynthèse des polyphénols .....	5
I.2.1.2 .1. Voie de l'acide shikimique .....	5
I.2.1.2.2. Voie de l'acide malonique .....	7
I.2.1.3. Acides phénols .....	7
I.2.1.4. Flavonoïdes .....	8
I.2.1.5. Coumarines .....	11
I.2.1.6. Tanins.....	13
I.2.3. Alcaloïdes.....	15
I.2.4. Terpènes .....	17
I.2.4.1. Définition .....	17
I.2.4.2. Classification.....	17
I.2.4.3. Biosynthèse des terpènes .....	17

II. HUILES ESSENTIELLES .....	20
II.1. Définition.....	20
II.2. Localisation.....	20
II.3. Procédés d'extraction des huiles essentielles .....	20
II.3.1. Hydrodistillation.....	20
II.3.2. Entraînement à la vapeur .....	20
II.3.3. Expression à froid.....	21
II.3.4. Extraction au CO <sub>2</sub> supercritique .....	21
II.3.5. Extraction par solvant.....	21
II.3.6. Extraction par micro-onde .....	22
II.3.7. Composition chimique des huiles essentielles.....	22
II.4. Méthodes d'analyse des huiles essentielles .....	23
II.4.1. Méthodes d'analyse par couplage chromatographique spectrométrie : Voie A.....	24
II.4.1.1. CPG associée aux indices de rétention (CPG (Ir)).....	24
II.4.1.2. Couplage CPG-SM.....	25
II.4.1.3. Couplage CPG-SM-SM.....	26
II.4.1.4. Couplages CPG-IRTF et CPG-IRTF-SM.....	27
II.4.1.5. Couplage CPGxCPG-SM .....	27
II.4.1.6. Couplages CLHP-SM et CLHP-SM-SM.....	28
II.4.1.7. Couplage CLHP-CPG-SM.....	28
II.4.1.8. Couplage CLHP-RMN <sup>1</sup> H .....	28
II.4.2. Identification des constituants après purification : Voie B.....	29
II.4.3. Analyse par RMN <sup>13</sup> C sans séparation préalable.....	30
II.4.3. 1. Historique .....	30
II.4.3.2. Intérêt de la RMN du carbone-13 (RMN <sup>13</sup> C) pour l'analyse des mélanges complexes.....	30
II.4.3.3. Identification des constituants en mélange .....	31
II.4.3.3.1. Observation des signaux .....	32

II.4.3.3.2. Individualisation des signaux .....	33
II.4.3.3.3. Attribution des signaux dans le spectre d'un mélange complexe.....	33
II.4.3.4. Méthode d'analyse développée au laboratoire SPE.....	35
II.5. Activités biologiques des HE.....	37
II.5.1. Activité antioxydante.....	37
II.5.2. Activités antimicrobiennes .....	37
II.5.2.1. Activité antibactérienne .....	37
II.5.2.2. Activité antifongique .....	38
II.5.3. Autres activités .....	38
III. GÉNÉRALITES SUR LES PLANTES ÉTUDIÉES .....	39
III.1. Présentation de <i>Solanum erianthum</i> et <i>Solanum rugosum</i> .....	39
III.1.1. Solanaceae .....	39
III.1.2. Genre <i>Solanum</i> .....	39
III.1.3. Travaux antérieurs .....	39
III.1.4. Présentation de <i>S. erianthum</i> D. Don .....	41
III.1.4.1. Description botanique.....	42
III.1.4.2. Usages et propriétés pharmacologiques .....	42
III.1.5. Présentation de <i>Solanum rugosum</i> Dunal.....	43
III.1.5.1. Description botanique.....	43
III.1.5.2. Usages et propriétés pharmacologiques .....	44
III.2. Présentation de <i>Oricia suaveolens</i> Engl. ....	45
III.2.1. Rutaceae .....	45
III.2.2. Description botanique.....	45
III.2.3. Usages et propriétés pharmacologiques .....	46
III.2.4. Travaux antérieurs .....	46
CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES .....	49
I. MATÉRIEL .....	49

I.1. Matériel végétal.....	49
I.2. Souches bactériennes et fongiques.....	49
II. MÉTHODES.....	50
II.1. Extraction et caractérisation des huiles essentielles .....	50
II.1.1. Hydrodistillation.....	50
II.1.2. Caractérisations chimiques .....	51
II.1.2.1. Préparation des échantillons pour les analyses CPG et CPG-SM .....	51
II.1.2.2. Analyses par chromatographie en phase gazeuse (CPG) .....	51
II.1.2.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG-SM).....	51
II.1.2.4. Analyses par résonance magnétique nucléaire (RMN) .....	52
II.1.2.5. Identification des constituants individuels.....	52
II.1.2.6. Rendement des extractions des HE.....	53
II.2. Étude des extraits aux solvants organiques de <i>S. rugosum</i> .....	53
II.2.1. Préparation du matériel végétal .....	53
II.2.2. Analyse minérale .....	53
II.2.3. Extraits hydrométhanoliques .....	54
II.2.4. Extraits sélectifs.....	54
II.2.5. Screening phytochimique .....	56
II.2.6. Dosage des polyphénols totaux .....	57
II.2.7. Dosage des flavonoïdes totaux .....	57
II.2.8. Dosage des tanins .....	58
II.2.8.1. Tanins hydrolysables .....	58
II.2.8.2. Tanins condensés.....	58
II.2.9. Évaluation du pouvoir antioxydant des extraits aux solvants organiques de <i>S. rugosum</i> .....	58
II.2.9.1. Test DPPH .....	58
II.2.9.2. Test FRAP .....	59

II.3. Évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles et des extraits aux solvants organiques de <i>S. rugosum</i> .....	60
II.3.1. Test de stérilité des extraits.....	60
II.3.2. Préparation des précultures .....	60
II.3.3. Préparation des inocula.....	61
II.3.4. Évaluation de l'activité antibactérienne.....	61
II.3.4.1. Technique de diffusion en puits des H.E. ....	61
II.3.4.2. Test d'efficacité des extraits aux solvants organiques de <i>S. rugosum</i> .....	62
II.3.4.3. Numération de l'inoculum .....	63
II.3.4.4. Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide des H.E et des extraits aux solvants de <i>S. rugosum</i> .....	64
II.3.4.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	65
II.3.4.6. Détermination du pouvoir bactéricide ou bactériostatique .....	65
II.3.5. Évaluation de l'activité antifongique des HE .....	66
II.3.5.1. Protocole expérimental .....	66
II.3.5.2. Détermination de la CMI et de la concentration minimale fongicide (CMF) .....	66
CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION .....	67
I. Huiles essentielles (HE) .....	67
I.1. Caractéristiques des HE extraites.....	67
I.2. Composition chimique des HE de <i>S. rugosum</i> et de <i>S. erianthum</i> .....	68
I.2.1. HE de feuilles de <i>S. rugosum</i> .....	68
I.2.2. HE de feuilles de <i>Solanum erianthum</i> .....	71
I.2.3. Structures de quelques composés majoritaires des HE .....	72
I.2.4. Étude comparative des HE du genre <i>Solanum</i> .....	73
I.3. Composition chimique des HE de <i>Oricia suaveolens</i> .....	75
I.3.1. HE de feuilles.....	75
I.3.2. HE d'écorces de tronc .....	76

I.3.3. HE d'écorces de racines.....	78
I.3.4. Structures de quelques composés identifiés dans les HE de <i>O. suaveolens</i> .....	80
I.3.5. Étude comparative des huiles de <i>Oricia suaveolens</i> .....	81
I.4. Activité antibactérienne et fongicide des HE.....	83
I.4.1. Sensibilité des souches vis-à-vis des HE .....	83
I.4.2. Potentiel antibactérien et fongicide des huiles essentielles.....	84
II. Extraits aux solvants organiques de <i>Solanum rugosum</i> .....	86
II.1. Analyse des minéraux.....	86
II.1.1. Teneurs en microéléments .....	86
II.1.2. Teneurs en macroéléments .....	87
II.2. Rendement des différents extraits.....	88
II.3. Profils chromatographiques des extraits aux solvants de <i>S. rugosum</i> .....	89
II.3.1. Composition qualitative.....	89
II.3.1.1. Phytocomposés identifiés dans les extraits hexaniques.....	89
II.3.1.2. Phytocomposés identifiés dans les extraits chloroformiques .....	90
II.3.1.3. Phytocomposés identifiés dans les extraits acétate éthyliques .....	93
II.3.1.4. Phytocomposés identifiés dans les extraits n-butanoliques .....	94
II.3.2. Dépistage de l'activité antioxydante des extraits sélectifs de <i>S. rugosum</i> sur CCM.....	97
II.3.2.1. Extraits hexaniques .....	97
II.3.2.2. Extraits chloroformiques .....	97
II.3.2.3. Extraits acétate éthyliques .....	98
II.3.2.4. Extraits n-butanoliques .....	99
II.4. Teneurs en polyphénols totaux .....	99
II.5. Teneurs des flavonoïdes totaux .....	101
II.6. Teneurs des tanins.....	102
II.7. Évaluation du pouvoir antioxydant des extraits hydrométhanoliques .....	103
II.7.1. Test vis-à-vis du DPPH .....	103

II.7.2. Test de FRAP.....	104
II.8. Activités antibactériennes des extraits de <i>Solanum rugosum</i> .....	106
II.8.1. Sensibilité des souches aux extraits et aux antibiotiques.....	106
II.8.2. Caractérisation du pouvoir antibactérien de l'extrait des feuilles de <i>S. rugosum</i> .....	107
CONCLUSION .....	109
PERSPECTIVES .....	111
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	112

## **AVANT-PROPOS**

Ce travail a été réalisé sous la direction de Monsieur KOUAME Bosson Antoine, Maître de Conférences à l'Université NANGUI ABROGOUA (UNA), en vue de l'obtention du Doctorat en Chimie Organique, Chimie des Substances Naturelles.

Les différentes études phytochimiques notamment l'extraction des Huiles Essentielles (HE) et le screening phytochimique ont été réalisées au Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN), dirigé par le professeur BEKRO Yves-Alain. Les dosages par spectrophotométrie ont été réalisés au Laboratoire Central d'Analyses (LCA) de l'UNA.

Les analyses chromatographiques et spectrométriques des échantillons d'huile essentielle, ont été possibles grâce à l'équipe "Chimie et Biomasse" de l'Unité Mixte de Recherches de l'Université Pascal Paoli de Corse (France) associée au CNRS (UMR 6134) "Sciences pour l'environnement" (SPE), sous la direction du Professeur TOMI Félix.

Les tests biologiques ont été réalisés au Centre Suisse de Recherches Scientifiques (CSRS) pour les huiles essentielles et pour les extraits de plantes à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI).

## DÉDICACES

*À DIEU, le père TOUT PUISSANT*

À la mémoire de mon très cher Père, que son âme repose en paix.

À ma mère ASSIEDOU AYA pour tout son soutien et son amour ; je t'aime Maman.

À ma grande-mère ANANE KOUAH ELISABETH.

À ma tante KANGAH CECILE.

À mes frères et sœurs.

À tous les membres de ma famille.

## REMERCIEMENTS

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

Il m'est aussi agréable de remercier Professeur BOHOUA Guichard, vice-président chargé de la pédagogie, la vie universitaire, la recherche et l'innovation technologique de l'UNA.

Je dis également merci au Docteur KRE N'guessan, Maître de Conférences et Directeur de l'UFR-SFA de l'UNA, pour m'avoir accepté dans son UFR et pour la formation dont j'ai bénéficié tout au long de mon parcours universitaire.

J'adresse ma profonde et sincère gratitude au Professeur BEKRO Yves- Alain, Directeur du Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LBCOSN) de l'UNA. Je vous remercie infiniment de vos enseignements de qualité, conseils et de m'avoir accueilli dans votre laboratoire.

J'adresse mes profonds remerciements au Professeur MAMYRBEKOVA Janat Akhanovna épouse BEKRO, Directrice du Pôle de Recherche de Pharmacopée Africaine et de Substances Naturelles, je tiens à vous adresser mes profonds remerciements pour votre patience, gentillesse, écoute, pour l'amour du travail bienfait.

Je remercie également mon Directeur de mémoire Monsieur KOUAME Bosson Antoine, Maître de Conférences à l'UNA, de son aide, sa disponibilité, ses encouragements, ses bons conseils et d'avoir accepté de m'encadrer.

J'adresse mes sincères remerciements aux membres du jury, Professeur BEKRO Yves-Alain (Président du jury), Professeur KONE Mamidou Witabouna (Rapporteur), Docteur YAPI Acafou Thierry, Maître de Conférences (Rapporteur), Professeur BENIE Anoubilé (Examineur) et au Docteur BAMBBA Fanté, Maître de Conférences (Examineur) pour avoir sacrifié un peu de leur précieux temps afin de porter un regard scientifique critique sur ce travail.

Je remercie aussi Docteur OUFFOUE Koffi Sebastien, Maître de Conférences à l'université FELIX HOUPHOUËT BOIGNY (UFHB) qui est l'un des rapporteurs de ce travail, de ses apports constructifs.

Je remercie Docteur OUATTARA Zana, Maître de Conférences, de votre implication sans faille dans ce travail. De par votre canal, les échantillons d'huile essentielle ont été analysés.

J'adresse mes remerciements à l'équipe "Chimie et Biomasse" de l'Unité Mixte de Recherches de l'Université PASCAL PAOLI DE CORSE (France) associée au CNRS (UMR 6134) "Sciences pour l'environnement" (SPE), dirigée par le Professeur TOMI Félix pour avoir accepté l'analyse de mes échantillons dans son laboratoire.

J'exprime mes remerciements à l'endroit de tous les enseignants-chercheurs du LCBOSN : au Professeur BENIE Anoubilé ; aux Maîtres de Conférences : BOUA Boua Benson, KONAN Marcel, N'GAMAN Christelle épouse KOUASSI ; aux Maîtres Assistants : KADJA Amani Brice, KABRAN Guy-Roger, N'GUESSAN Alain Hugues, et aux Assistants : KOUASSI Kouadio Christian, Atsain Marie Rosine épouse ALLANGBA, BAGUIA Fatou Diane Micheline épouse BROUNE pour les conseils avisés.

J'exprime ma grande reconnaissance aux Docteurs GOORE Stéphane Gervais, KAMBIRÉ Didjour Albert, MONYN Ebalah Delphine épouse KOUAME, GUESSAN Bi Goblé Landry, KATOU Yapo Séverin, ADOU Demel Axel, TANO Modeste Bosson et AKISSI Zachée Louis Evariste, pour l'aide incontestable et précieuse accordée pour la réalisation de mon mémoire.

Je tiens à remercier Messieurs TEHE Henri (CSRS-Abidjan) et feu ASSI Jean (CNF-Abidjan) pour avoir participé à la récolte et à l'identification des différentes espèces étudiées.

Je voudrais traduire ma reconnaissance aux étudiants du LCBOSN pour leur collaboration et appui. Je tiens à remercier particulièrement KOUASSI Aké Jean Alain, KONAN Kouassi Pierre Alain, KOUASSI Kouamé Séraphin et NOBA Assamala.

Je remercie les Abbés KOFFI Emile, ADOU BOGNAN François et le cathéchiste KODJO Simon de toutes vos bonnes prières dont j'ai bénéficié pour l'avancement de ce travail.

Je remercie également Mademoiselle KOUASSI Amino Ruth Marcelle pour son aide, ses encouragements et pour le soutien moral. Que tu trouves ici l'expression de ma reconnaissance.

Je voudrais remercier tous mes ami(e)s qui m'ont soutenu durant toutes ces années d'études, principalement NIAMKE Enoh Marcel, OGOU Ando Firmin, ADOPO Guy, AKE Ake Darius, AKA Soubro Kevin, DJEHA Stéphane, KOBENAN Kouassi Isidor, ANE Marthe et ANE Collette.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à toutes les personnes qui ont permis, de près ou de loin, la réalisation de cette thèse.

## LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS

AFNOR : Association Française de Normalisation

AMC : Ampicilline + acide clavulanique

ATM : Aztreoname

CC : Chromatographie sur Colonne

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CE<sub>50</sub> : Demi-Concentration efficace

CLHP : Chromatographie Liquide à Haute Performance

CLHP-SM : Chromatographie Liquide de Haute Performance couplée avec la Spectrométrie de Masse

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMF : Concentration Minimale Fongicide

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

CPGP : Chromatographie en Phase Gazeuse Préparative

CPG-SM-QTOF: Chromatographie en Phase Gazeuse –Time of Flight

CR<sub>50</sub> : Concentration Réductrice du DPPH à 50%

CTX: Cefotaxime

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

DMPP: Diméthylallylpyrophosphate

DPPH: 2,2- diphénylpicrylhydrazyle

FOX: Cefoxitine

FPP : Farnésylpyrophosphate

FRAP : Ferric Reducing-Antioxidant Power / Pouvoir Réducteur-Antioxydant Ferrique

GGP : Géranyl Géranylpyrophosphate

GPP : Géranylpyrophosphate

HE : Huile Essentielle

HHDP : Hexahydroxyldiphenique

IPM : Imipeneme

IPP : Isopenténylpyrophosphate

Ir : Indice de rétention

Ira : Indice de rétention sur colonne apolaire

Irp : Indice de rétention sur colonne polaire  
LCBOSN : Laboratoire de Chimie Bio-organique et de Substances Naturelles  
m /v : Masse sur le volume  
MH : Muller Hinton  
MVA : Acide mévalonique  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
OOAS : Organisation Ouest Africaine de la Santé  
PAL : Phénylalanine ammonialyase  
PNLCA : Programme National de Lutte contre le Cancer  
PNPMT : Politique Nationale de Promotion de la Médecine Traditionnelle  
PR : Pourcentage de Réduction  
r : Rendement  
Rf : Rapport frontal  
RMN <sup>1</sup>D : Résonance Magnétique Nucléaire Monodimensionnelle  
RMN <sup>2</sup>D : Résonance Magnétique Nucléaire Bidimensionnelle  
SM : Spectrométrie de Masse  
SNA : Système Nerveux Autonome  
SNC : Système Nerveux Central  
TAL : Thyrosine ammonialyase  
TPTZ: (2, 4,6-Tri (2-pyridyl) -s-triazine)

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Représentation des voies de biosynthèse des composés phénoliques (Akroum, 2011).....	6
Figure 2: Structure de l'acide hydroxycinnamique et dérivés.....	7
Figure 3: Structure de l'acide hydroxybenzoïque et dérivés .....	8
Figure 4: Squelette structural commun aux flavonoïdes (N'guessan, 2021) .....	8
Figure 5: Structures moléculaires de quelques classes des flavonoïdes.....	9
Figure 6: Schéma biosynthétique des flavonoïdes (Bruneton, 2016).....	10
Figure 7: Structures chimiques de quelques coumarines (Booth <i>et al.</i> , 2004 ; N'gaman, 2013). .....	11
Figure 8: Schéma biosynthétique de la coumarine (Adou, 2021) .....	12
Figure 9: Structure chimique d'un tanin gallique (Pentagalloylglucose).....	13
Figure 10: Structure chimique d'un tanin condensé (Procyanidol B-1).....	14
Figure 11: Structure chimique d'un tanin complexe (Monoolicine B) .....	14
Figure 12: Schéma de biosynthèse des alcaloïdes (Guette, 2007 ; N'gaman, 2013). .....	16
Figure 13: Structures moléculaires de quelques alcaloïdes .....	16
Figure 14: Structure de l'isoprène .....	17
Figure 15: Schéma de la formation de l'isopenténylpyrophosphate et du diméthylallylpyrophosphate.....	18
Figure 16: Schéma biosynthétique des terpènes.....	19
Figure 17: Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles.....	22
Figure 18: Méthodes d'analyse d'un mélange complexe.....	23
Figure 19: Identification des constituants d'un mélange complexe par RMN <sup>13</sup> C. ....	36
Figure 20: Rameaux feuillus de <i>Solanum erianthum</i> (Solanaceae) .....	42
Figure 21: Rameaux feuillus de <i>Solanum rugosum</i> (Solanaceae).....	44
Figure 22: Rameaux feuillus de <i>Oricia suaveolens</i> (Rutaceae) .....	46
Figure 23: Dispositif d'extraction des huiles essentielles .....	51
Figure 24 : Schéma synoptique des extractions hydrométhanoliques de <i>S. rugosum</i> .....	54
Figure 25: Schéma synoptique d'extraction des extraits sélectifs de <i>S. rugosum</i> .....	55
Figure 26: Conversion du DPPH (oxydant) en DPPH-H (réducteur) (Popovici <i>et al.</i> , 2009) .....	59
Figure 27: Test de stérilité.....	60
Figure 28: Tri d'efficacité des extraits .....	63
Figure 29: Numération de l'inoculum .....	64
Figure 30: Gamme de concentrations pour la détermination de la CMI.....	65

Figure 31: Détermination de la CMB.....	65
Figure 32: Chromatogramme de HE des feuilles de <i>Solanum rugosum</i> .....	68
Figure 33: Spectre RMN <sup>13</sup> C de l'huile essentielle de feuilles <i>Solanum rugosum</i> .....	69
Figure 34: Composition chimique des HE de feuilles de <i>Solanum rugosum</i> .....	71
Figure 35: Composition chimique des HE de feuilles de <i>Solanum erianthum</i> .....	72
Figure 36 : Structures de quelques composés majoritaires identifiés dans les HE de <i>Solanum</i> .....	73
Figure 37: Composition chimique des HE de feuilles de <i>Oricia suaveolens</i> .....	76
Figure 38: Composition chimique des HE d' écorces de tronc de <i>Oricia suaveolens</i> .....	77
Figure 39: Composition chimique des HE d' écorces de racines de <i>Oricia suaveolens</i> .....	79
Figure 40 : Structures de quelques composés identifiés dans les HE de <i>Oricia suaveolens</i> .....	81
Figure 41: Spectre de masse en mode impact électronique d' $\alpha$ -humulène .....	82
Figure 42: Spectre de masse en mode impact électronique de (E)- $\beta$ -caryophyllène .....	83
Figure 43 : Teneur en polyphénols totaux dans les différents organes de <i>Solanum rugosum</i> .....	100
Figure 44 : Teneur en flavonoïdes totaux (pourcentage) dans les organes de <i>Solanum rugosum</i> .....	101
Figure 45: Teneurs en tanins condensés dans <i>Solanum rugosum</i> .....	102
Figure 46: Teneurs (en pourcentages) en tanins hydrolysables .....	102
Figure 47: Pourcentage de réduction du radical DPPH.....	103
Figure 48: Droite d'étalonnage du Trolox.....	105
Figure 49: Profils antioxydants FRAP ( $\mu$ M TE/g MS) des extraits de <i>S. rugosum</i> et de la vitamine C .....	105

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Phénotype des souches bactériennes cliniques.....	50
Tableau 2: Rendement (%) des extractions d'HE .....	67
Tableau 3: Composition chimique de feuilles de <i>S. rugosum</i> .....	70
Tableau 4: Composition chimique de feuilles de <i>S. erianthum</i> .....	71
Tableau 5: Composition chimique des feuilles de <i>O. suaveolens</i> .....	75
Tableau 6: Composition chimique d'écorces du tronc de <i>O. suaveolens</i> .....	77
Tableau 7: Composition chimique d'écorces de racines de <i>O. suaveolens</i> .....	79
Tableau 8 : Structure et déplacements chimiques des deux conformères du (E)- $\beta$ -caryophyllène .....	80
Tableau 9: Récapitulatif des diamètres d'inhibition des huiles sur les bactéries en mm .....	84
Tableau 10: Récapitulatif des diamètres d'inhibition des huiles sur les champignons en mm .....	84
Tableau 11: Paramètres antibactériens des HE .....	85
Tableau 12: Paramètres antifongiques des HE.....	86
Tableau 13: Teneurs (%) en micro-éléments dans <i>Solanum rugosum</i> .....	87
Tableau 14: Teneurs (%) en macroéléments dans <i>Solanum rugosum</i> .....	88
Tableau 15: Rendement (%) des extractions de <i>Solanum rugosum</i> .....	89
Tableau 16: Profils chromatographiques des extraits hexaniques de <i>S. rugosum</i> .....	90
Tableau 17: Profils chromatographiques des extraits chloroformiques de <i>S. rugosum</i> .....	92
Tableau 18: Profils chromatographiques des extraits acétate éthyliques de <i>S. rugosum</i> .....	93
Tableau 19: Profils chromatographiques des extraits n-butanoliques de <i>S. rugosum</i> .....	95
Tableau 20: Récapitulatif du criblage phytochimique de <i>S. rugosum</i> .....	96
Tableau 21: Composés antioxydants vis-à-vis du radical DPPH dans les extraits hexaniques de <i>S. rugosum</i> .....	97
Tableau 22: Composés antioxydants vis-à-vis du radical DPPH dans les extraits chloroformiques de <i>S. rugosum</i> .....	98
Tableau 23: Composés antioxydants vis-à-vis du radical DPPH dans les extraits éthyle acétatiques de <i>S. rugosum</i> .....	98
Tableau 24: Composés antioxydants vis-à-vis du radical DPPH dans les extraits n-butanoliques de <i>S. rugosum</i> .....	99
Tableau 25: Valeur de CR <sub>50</sub> des extraits hydrométhanoliques de <i>Solanum rugosum</i> .....	104
Tableau 26: Sensibilité des souches aux extraits et aux antibiotiques .....	107
Tableau 27: Paramètres antibactériens des extraits .....	108

## ANNEXES

Annexe 1: Chromatogramme de la CPG (Ir) sur colonne apolaire de HE des feuilles de <i>Solanum erianthum</i> .....	1
Annexe 2: Chromatogramme de la CPG (Ir) sur colonne apolaire de HE des écorces de tronc de <i>Oricia suaveolens</i> .....	1
Annexe 3: Chromatogramme de la CPG (Ir) sur colonne apolaire de HE des écorces de racines de <i>Oricia suaveolens</i> .....	2
Annexe 4: Spectre RMN <sup>13</sup> C de l'huile essentielle de feuilles de <i>Solanum erianthum</i> .....	3
Annexe 5: Spectre RMN <sup>13</sup> C de l'huile essentielle de feuilles <i>Solanum rugosum</i> .....	4
Annexe 6: Spectre RMN <sup>13</sup> C de l'huile essentielle des écorces de tronc de <i>Oricia suaveolens</i> .....	5
Annexe 7: Inhibition de l'HE des feuilles de <i>S. erianthum</i> sur <i>Staphylococcus epidermidis</i> et <i>Proteus mirabilis</i> .....	6
Annexe 8: Inhibition de l'HE des feuilles de <i>S. rugosum</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	6
Annexe 9: Inhibition de l'HE des feuilles de <i>O. suaveolens</i> sur <i>Escherichia coli</i> .....	6
Annexe 10: Détermination de la CMB de l'HE des feuilles de <i>S. rugosum</i> sur <i>Bacillus subtilis</i> .....	7
Annexe 11 : Détermination de la CMF de l'HE des feuilles de <i>O. suaveolens</i> sur <i>Candida glabrata</i> ....	7
Annexe 12: Chromatogrammes des extraits hexaniques de <i>S. rugosum</i> .....	8
Annexe 13: Chromatogrammes des extraits chloroformiques de <i>S. rugosum</i> .....	9
Annexe 14: Chromatogrammes des extraits acétate éthyliques de <i>S. rugosum</i> .....	10
Annexe 15 : Chromatogrammes des extraits n-butanoliques de <i>S. rugosum</i> .....	11
Annexe 16: Courbe de réduction du radical DPPH des extraits de <i>Solanum rugosum</i> et de la vitamine C .....	12
Annexe 17: Détermination de la CR <sub>50</sub> des extraits de feuilles de <i>Solanum rugosum</i> .....	12
Annexe 18: Détermination de la CR <sub>50</sub> des extraits d'écorces de tiges de <i>Solanum rugosum</i> .....	13
Annexe 19: Détermination de la CR <sub>50</sub> des extraits d'écorces de racines de <i>Solanum rugosum</i> .....	13
Annexe 20: Inhibition des feuilles sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
Annexe 21: Détermination de la CMB des Feuilles sur <i>P. aeruginosa</i> ATCC.....	14
Annexe 22: Détermination de la CMB des Feuilles sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
Annexe 23 : Préparation des réactifs .....	15

## INTRODUCTION

Le règne végétal demeure une source inépuisable d'une variété de plantes médicinales. En effet, seule une petite partie des 400 000 espèces végétales connues, a été investiguée sur les plans phytochimique et pharmacologique (**Hostettmann *et al.*, 1998**).

Aujourd'hui, l'usage populaire des plantes reste d'une grande importance. D'après les données fournies par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 80% des populations mondiales résolvent leurs problèmes de santé par des remèdes traditionnels, d'une part, parce qu'elles n'ont souvent pas accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne et, d'autre part, parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité (**Novais *et al.*, 2004 ; Kouamé, 2012**).

En effet, les plantes sont capables de produire une grande diversité de métabolites qui ne participent pas à leur métabolisme de base, mais représentent plutôt des produits du métabolisme secondaire. Nous pouvons citer comme exemple, les alcaloïdes, les terpènes, les stéroïdes, les polyphénols, les huiles essentielles (HE), etc. (**Akroum, 2011**).

Malgré les progrès réalisés par la médecine moderne dans les découvertes de médicaments, elle reste limitée face à la recrudescence de certaines pathologies infectieuses et le stress oxydant. Très répandue dans beaucoup de zones tropicales et subtropicales du monde, la dengue constitue aujourd'hui, par ses formes hémorragiques, un sérieux problème de santé publique. D'après l'OMS, 3,9 milliards de personnes dans 128 pays sont exposées à l'infection, soit 40 à 50 % de la population mondiale. En janvier 2019, la Côte d'Ivoire a fait face à une autre épidémie de Dengue dans la capitale, Abidjan, dont 93 cas confirmés sur un total de 569 cas suspects (soit un taux de positivité de 16,34%) (**OOAS, 2019**). La plus récente des maladies infectieuses est la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) dont les premiers cas ont été signalés pour la première fois à Wuhan, en Chine, en décembre 2019. La Côte d'Ivoire enregistre en date du 08 juillet 2021, 48 564 cas confirmés dont 315 décès (**Anonyme 1**). Aussi le stress oxydatif est considéré comme la principale cause de nombreuses maladies telles que le cancer, les affections cardiovasculaires et neurodégénératives, le diabète, hypertension artérielle et le sida (**Moussa, 2020**). Selon l'OMS, le nombre de nouveaux cas de cancer en 2018 est estimé à 18,1 millions et le nombre de décès à 9,6 millions. 70 % de ces cancers surviennent dans les pays en développement. En Côte d'Ivoire, le nombre de nouveaux cas était estimé à 14 484 cas dont 8 303 femmes et 4643 hommes (**PNLCA, 2019**).

De nombreux programmes ont été conduits aux fins de découvrir et de développer de nombreux agents antioxydants et antimicrobiens d'origine biologique. Ainsi, des antibiotiques et

antifongiques ont été développés en 1998 contre les infections bactériennes et fongiques **(Persidis, 1999)**.

En outre, vu les limites de l'usage des antioxydants de synthèse contre le stress oxydant et la résistance aux antibiotiques de certaines bactéries, la recherche de nouvelles substances bioactives s'avère nécessaire **(Albay et al., 2008)**. L'usage des molécules antioxydantes de synthèse semble être remis en cause en raison des risques toxicologiques potentiels **(Tanoh et al., 2019 ; Xu et al., 2017)**. Les antioxydants synthétiques actuellement disponibles, notamment le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA) semblent avoir des effets néfastes sur la santé **(Moussa, 2020)**. Le benzoate de benzyle utilisé depuis des décennies pour réduire les dégâts du stress oxydant s'est avérée responsable d'effets indésirables pour la peau **(Koffi et al., 2018)**. Les souches de *Bacillus licheniformis* ont été résistantes à l'amoxicilline, la pénicilline G, la céfotaxime et le chloramphénicol. Concernant *Pseudomonas aeruginosa*, une résistance totale à la colistine, la ceftazidime et à la céfazoline suivie par une résistance importante à la vancomycine et au chloramphénicol (75 %) a été révélée **(Brahimi et al., 2020)**.

Dans la majorité des pays africains notamment en Côte d'Ivoire, la médecine traditionnelle est parfois la seule source de soins primaires accessibles pour les populations surtout celles des zones rurales **(PNPMT, 2014)**.

De plus, les substances naturelles sont des produits à forte valeur ajoutée. Cependant, leur valorisation passe par une étape préliminaire de caractérisation (études chimique par les techniques chromatographique et spectroscopiques ; études biologiques et toxicologiques etc..). Plusieurs plantes conditionnées sous diverses formes galéniques : extraits, poudre, sirop, gélules, ... sont l'objet de commercialisation pour leurs propriétés intrinsèques intéressantes : i) la thaumatine, une protéine extraite des graines du fruit de *Thaumatococcus danielli* et des feuilles de *Stevia* (*S. eupatoria* et *S. rebaudiana*), comme édulcorants ; ii) les feuilles de *Desmodium* (*Desmodium adescendens*) et de *Chardon-Marie* (*Silybum marianum*), comme hépatoprotecteurs ; iii) les feuilles de *Artemisia annua* contre le paludisme ; iv) les HE pour leurs propriétés olfactives, biologiques et antimicrobiennes, ...

Dans le but de valoriser les produits naturels végétaux, plusieurs investigations phytochimiques ont été réalisées afin d'apporter une preuve scientifique des vertus afin de rassurer la population et en conséquence valider l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales.

Dans ce présent travail nous soutenons la thèse selon laquelle, l'usage des plantes médicinales de *Solanum rugosum* Dunal, *Solanum erianthum* D. Don (Solanaceae) et de *Oricia suaveolens*

Engl (Rutaceae) peut apporter un soulagement aux problèmes thérapeutiques dans la lutte contre les infections bactériennes, fongiques et le stress oxydant.

L'objectif général est de déterminer la composition chimique et l'activité biologique des produits issus de *Solanum rugosum*, *Solanum erianthum* et de *Oricia suaveolens* de Côte d'Ivoire.

En effet *Solanum rugosum* et *Solanum erianthum* sont des plantes envahissantes (**Danho, 2014**). Elles poussent à la lisière des forêts, des plantations, près des habitations. *Solanum rugosum* et *Oricia suaveolens* sont deux plantes de la médecine traditionnelle ivoirienne dont les huiles essentielles sont décrites pour la première fois dans cette étude. Très peu d'études sont rapportées sur les huiles essentielles de *Solanum erianthum*. Par contre, aucune étude portant sur la phytochimie de *S. rugosum* de Côte d'Ivoire n'est rapportée dans la littérature. De plus, seule celle du Brésil est mentionnée dans les études antérieures. Des études phytochimiques concernant les extraits aux solvants de *Oricia suaveolens* sont mentionnées dans la littérature.

Nous nous proposons dans cette étude :

- i) de caractériser les HE de *S. rugosum*, *S. erianthum* et *O. suaveolens* par la combinaison des méthodes analytiques CPG (Ir), CPG-SM et RMN <sup>13</sup>C dans le but de mener des investigations plus exhaustives ;
- ii) d'évaluer les activités antibactérienne et antifongique de ces HE ;
- iii) de déterminer la composition minérale, et phytochimique puis d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits aux solvants organiques de *S. rugosum*
- iv) de caractériser le mode d'action des extraits aux solvants de *S. rugosum*.

Le présent mémoire comporte trois parties :

- ✓ la première partie aborde la revue bibliographique sur les métabolites secondaires, les huiles essentielles et les plantes d'étude ;
- ✓ la deuxième partie présente le matériel et les méthodes utilisés ;
- ✓ la troisième partie porte sur les résultats obtenus et la discussion.

## CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

### I. MÉTABOLITES SECONDAIRES

#### I.1. Définition et généralités

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des molécules naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires connus (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires. Ces métabolites secondaires sont des composés phytochimiques non directement impliqués dans les processus vitaux de bases des plantes (croissance, la division cellulaire, la respiration, la photosynthèse, reproduction). Ils représentent une source importante de molécules utilisables par l'Homme dans des domaines aussi variés que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Jean-Jacques *et al.*, 2005**).

Les métabolites secondaires interviennent dans les relations que la plante entretient avec les organismes vivants qui l'entourent, comme signaux de communication et/ou de défense contre les herbivores et les agents pathogènes (**Lebreton, 1982**). Ils ont une répartition limitée dans l'organisme de la plante, dont plus de 200 000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale. Mais, ils sont produits en faible quantité (**Hartmann, 2007**).

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (**Krief, 2003**).

#### I.2. Classification des métabolites secondaires

##### I.2.1. Composés phénoliques

###### I.2.1.1. Définition

Les composés phénoliques constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ils sont les produits du métabolisme secondaire des plantes depuis les racines jusqu'aux fruits (**Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006**), et comportent au moins 9000 différentes structures connues (**Bahorun, 1997**).

La structure chimique des polyphénols est caractérisée par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substituants qui les relient (**Manallah, 2012**). On distingue : les acides phénols, les lignanes, les quinones, les coumarines, les flavonoïdes, les tanins etc...

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'Acétyl- coenzyme A et de la phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules (Nkhili, 2004).

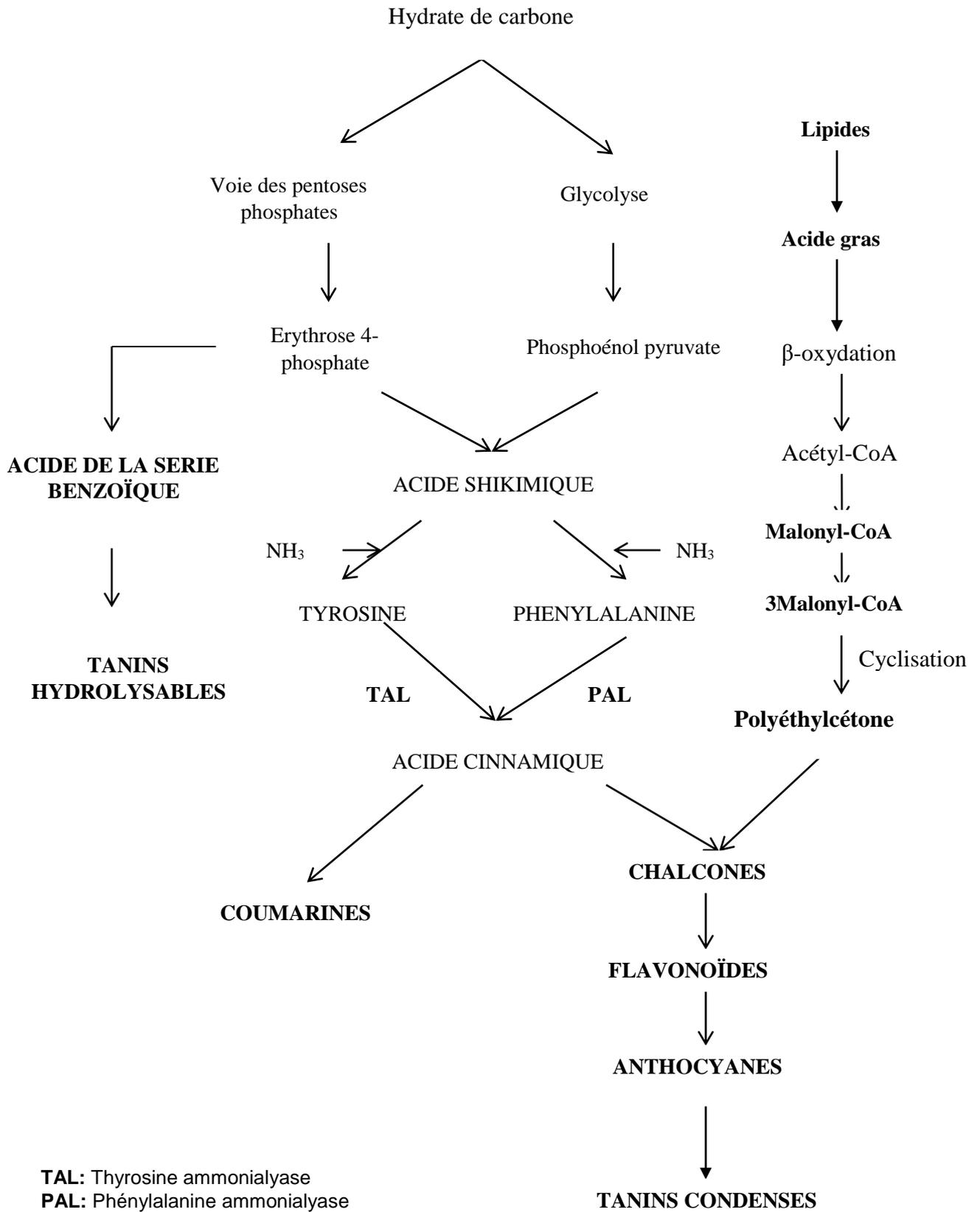
#### **I.2.1.2. Biosynthèse des polyphénols**

Il existe deux voies principales de biosynthèse des polyphénols : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acide malonique.

##### **I.2.1.2 .1. Voie de l'acide shikimique**

Dans cette voie, l'érythrose 4 -phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits à partir des hydrates de carbone, lors de leur dégradation à travers des pentoses phosphates et de la glycolyse respectivement (**Figure 1**). Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>), qui forment les tanins hydrolysables et de la chalcone (molécule de base de tous les flavonoïdes et tanins condensés) (**Haslam, 1994 ; Dewick, 1995**).

Aussi, il est intéressant de préciser que la tyrosine et la phénylalanine dérivent de cette voie métabolique. En effet, ces deux acides aminés sont des intermédiaires métaboliques entre l'acide shikimique et l'acide cinnamique.



**Figure 1:** Représentation des voies de biosynthèse des composés phénoliques (Akroum, 2011)

### I.2.1.2.2. Voie de l'acide malonique

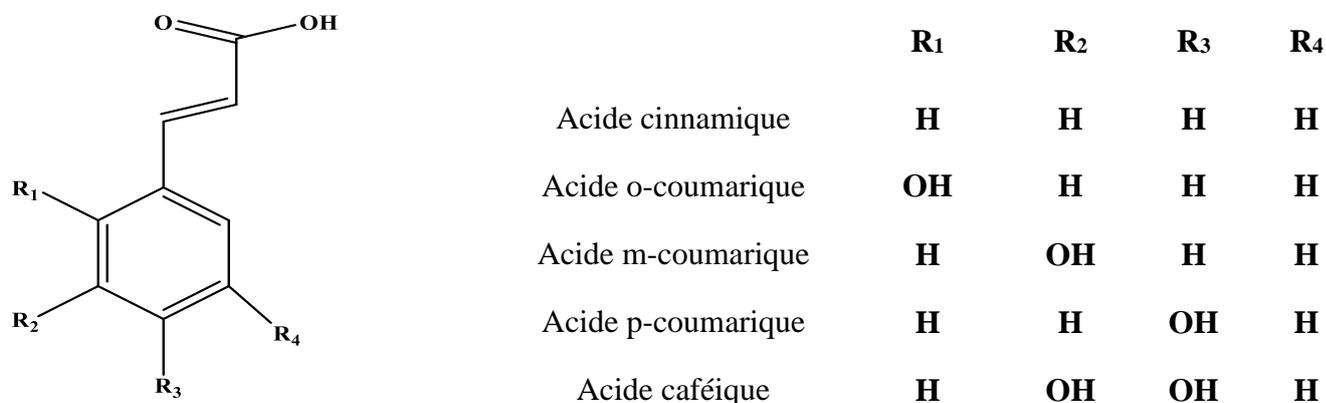
La glycolyse et la  $\beta$ -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl-CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoAcarboxylase (**Fleegeret Flipse, 1964 ; Richter, 1993**).

### I.2.1.3. Acides phénols

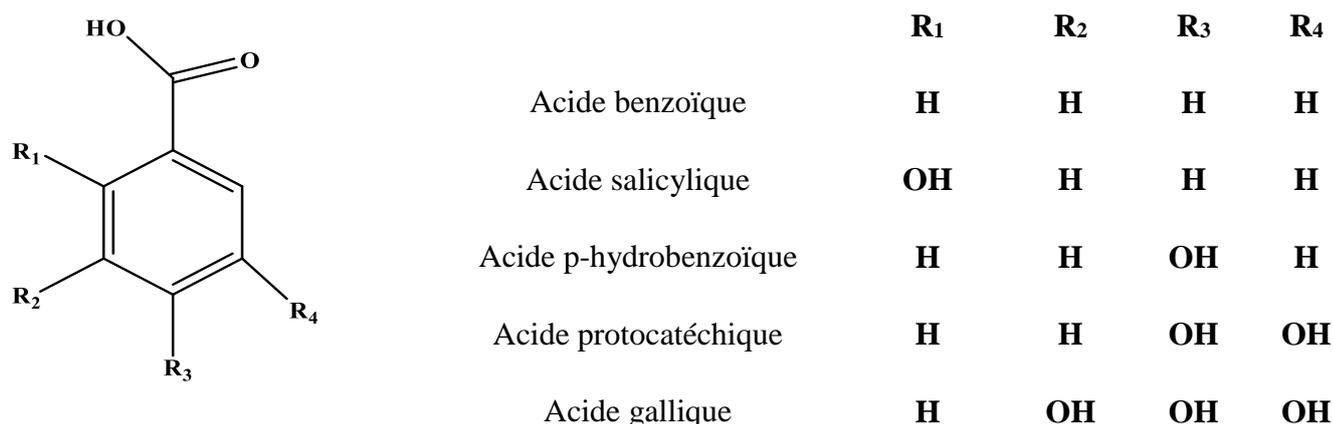
Les acides phénols ou acides phénoliques ont une fonction acide et plusieurs fonctions hydroxyles phénoliques. Ils sont considérés comme des produits phytochimiques à pouvoir complexant ; et manifestant des effets : prébiotique, antioxydant, et anti-inflammatoire. Leur toxicité est faible (**Laraoui, 2007**).

Les acides phénoliques sont incolores et plutôt rares dans la nature.

On distingue deux principales classes d'acide phénolique : les dérivés de l'acide cinnamique (**Figure 2**) et ceux de l'acide hydroxybenzoïque (**Figure 3**). On les retrouve dans de nombreuses plantes comestibles et médicinales (**Psotová et al., 2003**).



**Figure 2:** Structure de l'acide hydroxycinnamique et dérivés

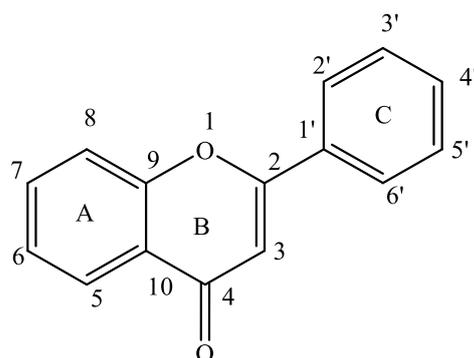


**Figure 3:** Structure de l'acide hydroxybenzoïque et dérivés

#### I.2.1.4. Flavonoïdes

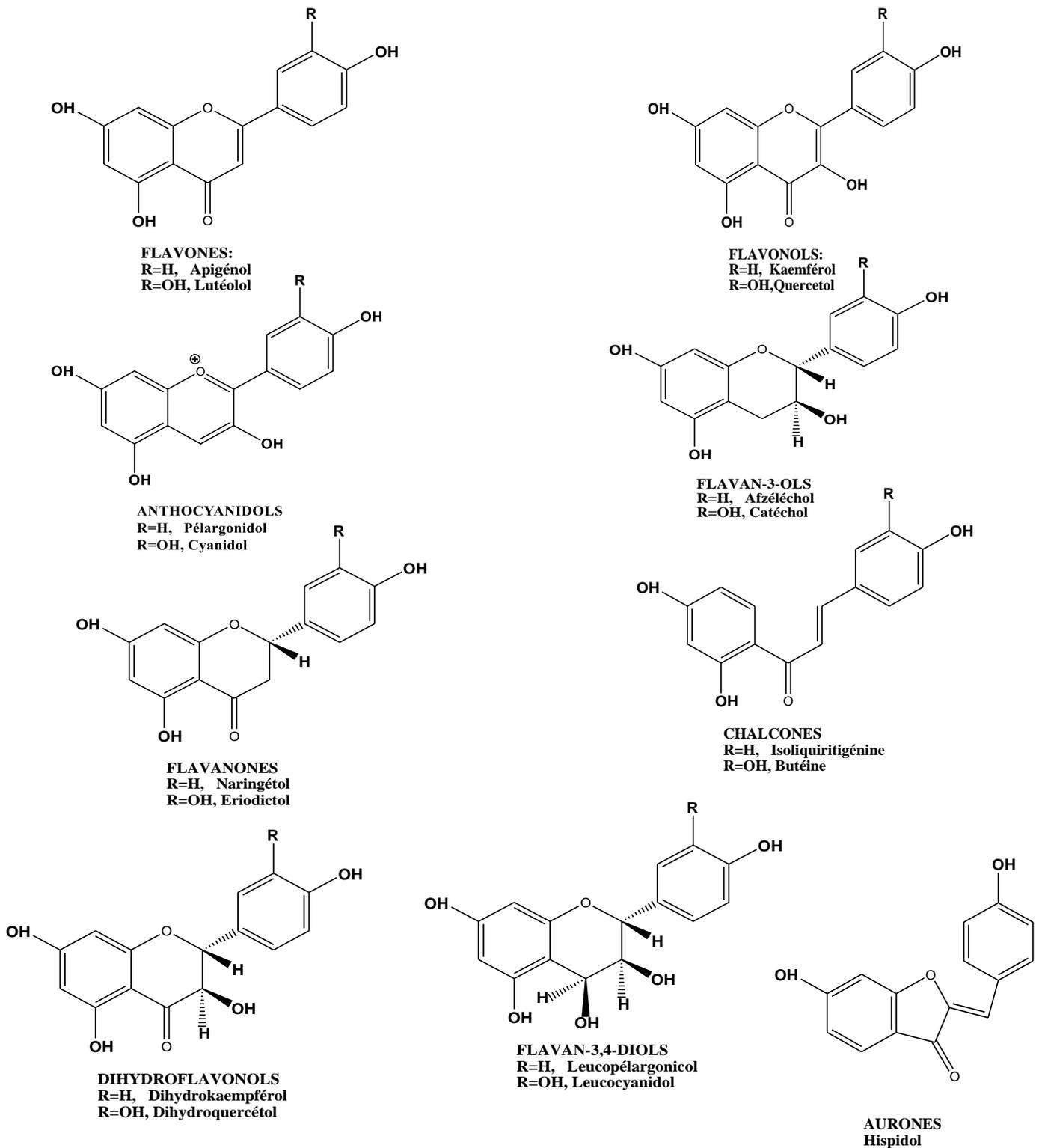
Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Bouakaz, 2006**). Plus de 4000 flavonoïdes ont été décrits (**Harborne, 1988 ; Harborne et Williams, 1995**). A ce jour, ils sont responsables des colorations (jaune, orange et rouge) et présents dans tous les organes des plantes (fleurs, fruits feuilles racines tiges etc.) (**Havsteen, 2002 ; Bruneton, 2016**). Les flavonoïdes possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont doués d'activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses (**Middleton et Kardasnam, 1994**).

Leur structure chimique de base (**Figure 4**) comporte deux cycles benzéniques dont l'un (A) est joint par un hétérocycle oxygéné (B) en positions 9 et 10 et l'autre (C) lié par ce dernier en position 2.



**Figure 4:** Squelette structural commun aux flavonoïdes (**N'guessan, 2021**)

Les flavonoïdes peuvent être regroupés en différentes sous classes et ceci en fonction du degré d'oxydation et d'insaturation du cycle B. Les différentes classes sont représentées dans la **figure 5** (**Gamet-Payraastre et al., 1999 ; N'guessan, 2021**).

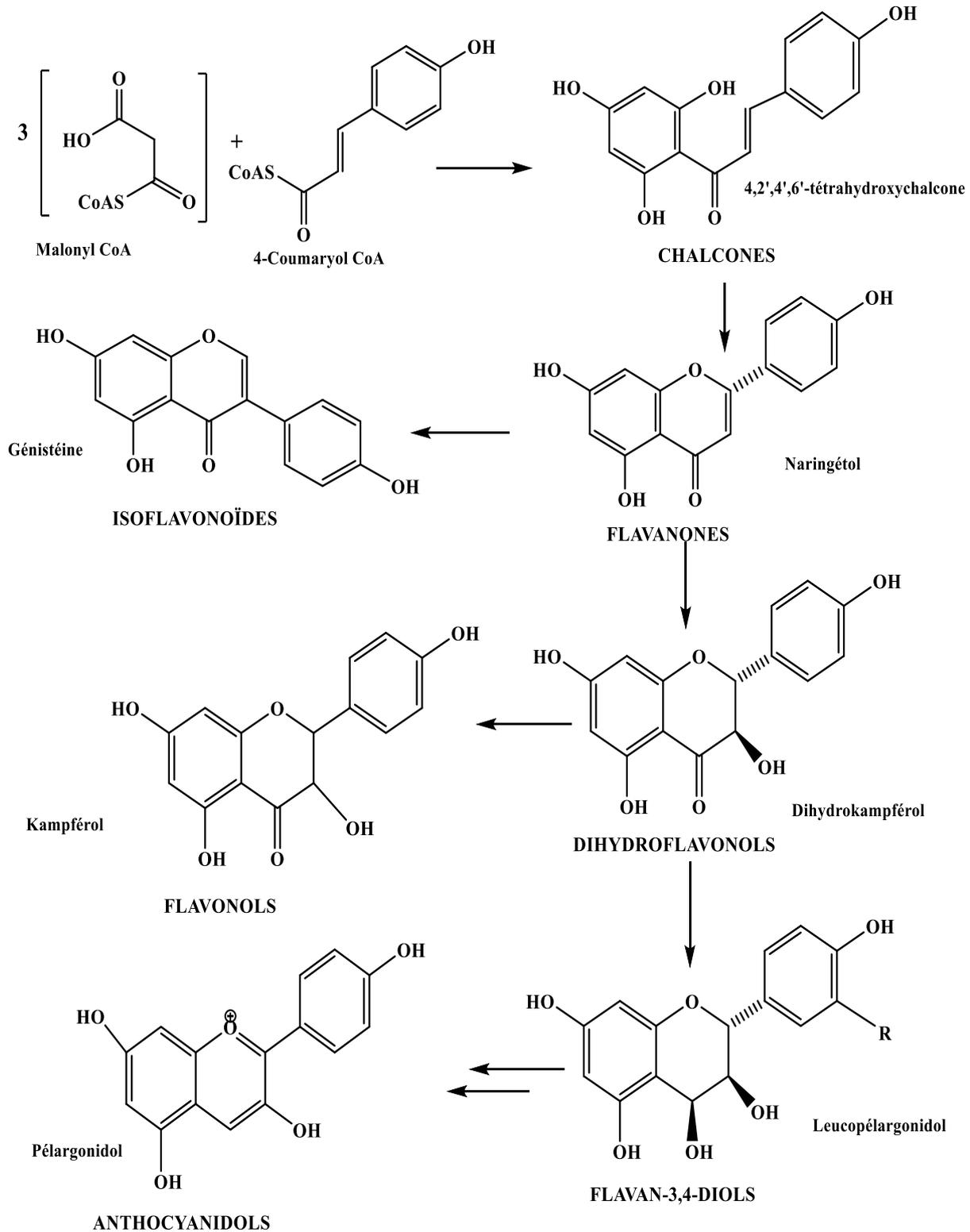


**Figure 5:** Structures moléculaires de quelques classes des flavonoïdes

- **Biosynthèse des flavonoïdes**

L'étape la plus importante de la formation des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalcone-synthase, de trois molécules de malonyl-CoA avec un ester du coenzyme A et d'un acide hydro-cinnamique, le 4-coumaroyl-coenzyme A (**Figure 6**). Le produit de la réaction est

une chalcone, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone. Dans les conditions physiologiques normales, la chalcone tend à s'isomériser spontanément en flavone racémique. Ainsi la chalcone apparaît comme le précurseur de toutes les classes de flavonoïde (**Bruneton, 2016**).



**Figure 6:** Schéma biosynthétique des flavonoïdes (**Bruneton, 2016**)

### I.2.1.5. Coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipteryx odorata* Wild, Fabaceae) d'où fut isolée pour la première fois en 1820 la coumarine (Bruneton, 2016). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés de types C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>. Ce sont des 2H-1-benzopyran-2-ones. Elles constituent une classe importante de composés naturels. Leur structure se trouve dans environ 150 espèces, appartenant à 30 familles de plantes. Elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché (Deiana *et al.*, 2003 ; Booth *et al.*, 2004).

Les coumarines sont le point de départ de famille de composés qui se forment par une ou des substitutions sur le cycle aromatique (Figure 7) (Booth *et al.*, 2004 ; N'gaman, 2013).

De ce fait et selon la nature des substituants, les coumarines simples, les coumarines prénylées (avec une unité isoprène comme la rutacultine), les furanocoumarines (dérivés de l'ombelliférone tels que le psoralène et la pimpinelline), les pyranocoumarines (visnadine), les di et tricoumarines (edgeworthine et triumbellatine) ont été distinguées (Booth *et al.*, 2004).

Les coumarines sont essentiellement des toxiques veineux et des protecteurs des capillaires sanguins dans certaines maladies vasculaires, circulatoires et antioedémateuses (Mabry *et al.*, 1980). Elles sont utilisées comme antibactériens (Kong *et al.*, 2010) anticancéreux (Von Angerer *et al.*, 1994) et stimulants des phénomènes respiratoires (Gray et Waterman, 1978).

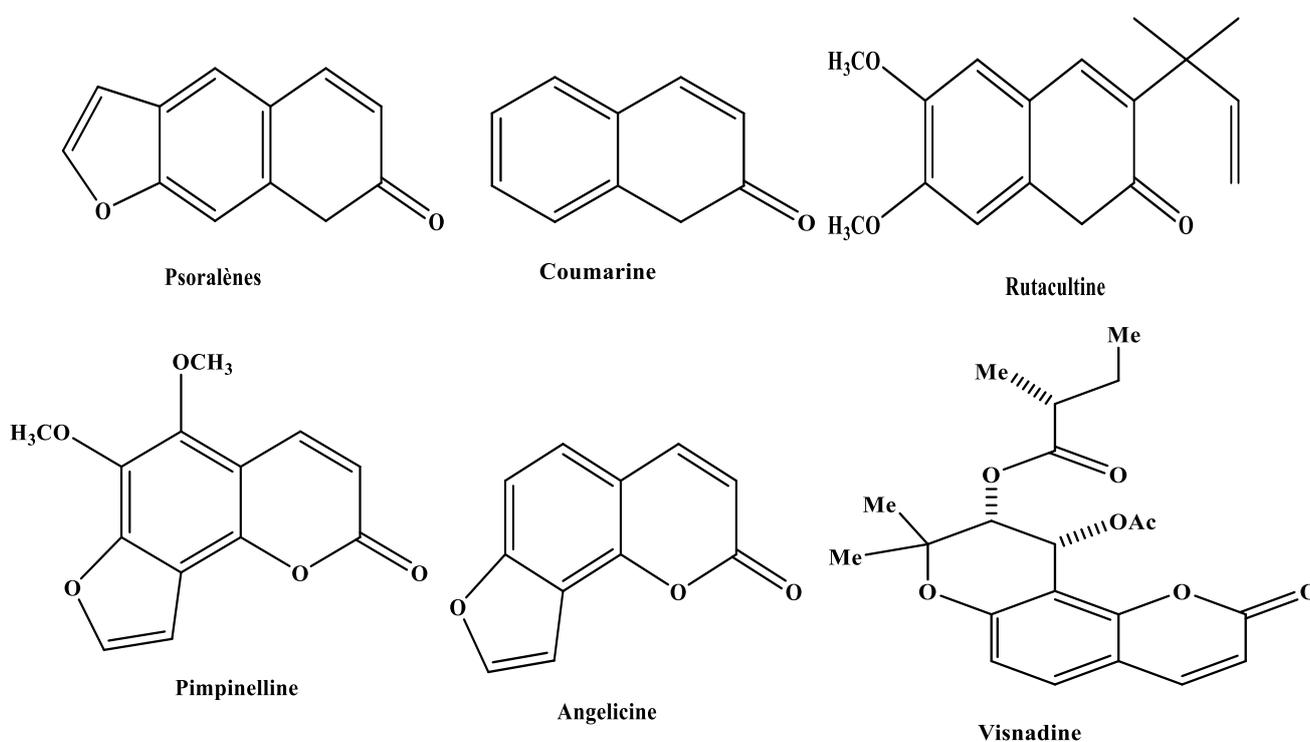
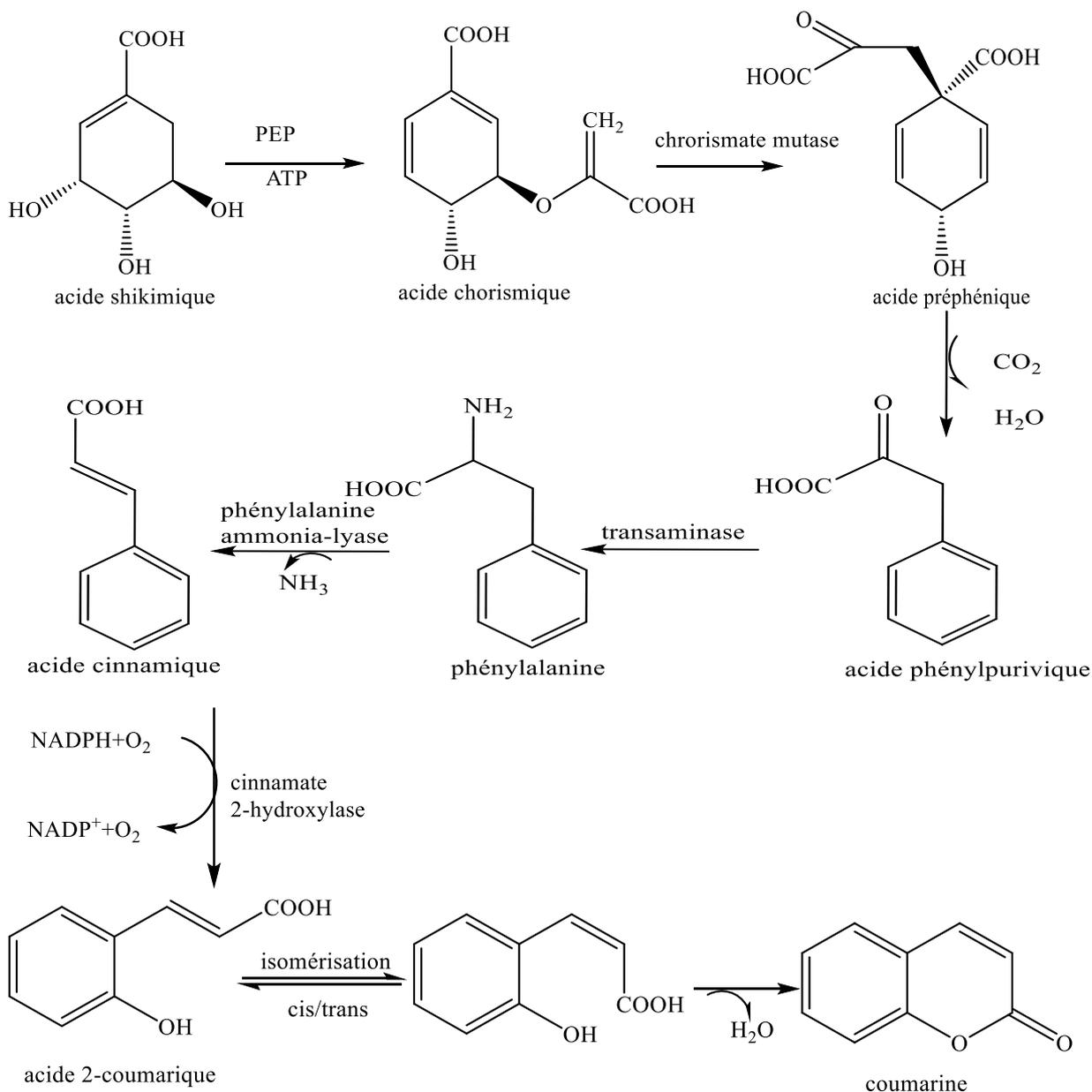


Figure 7: Structures chimiques de quelques coumarines (Booth *et al.*, 2004 ; N'gaman, 2013).

- **Biosynthèse des coumarines**

Les coumarines simples sont biogénétiquement dérivées de l'acide shikimique, via l'acide cinnamique (**Figure 8**). La spécificité du processus est l'hydroxylation en C-2, produisant une rupture ( $\beta$ -oxydation) de la chaîne latérale, ou l'isomérisation de la chaîne et la lactonisation ultérieure, générant la coumarine (**Dewick, 2002 ; N'Gaman, 2013, Adou, 2021**). Pour les coumarines complexes, la prénylation en C6 conduit aux formes linéaires et en C8 aux formes angulaires (**Bourgaud *et al.*, 2006 ; Adou, 2021**).



**Figure 8: Schéma biosynthétique de la coumarine (Adou, 2021)**

### I.2.1.6. Tanins

Les tanins sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en cuir (**Bruneton, 2016**).

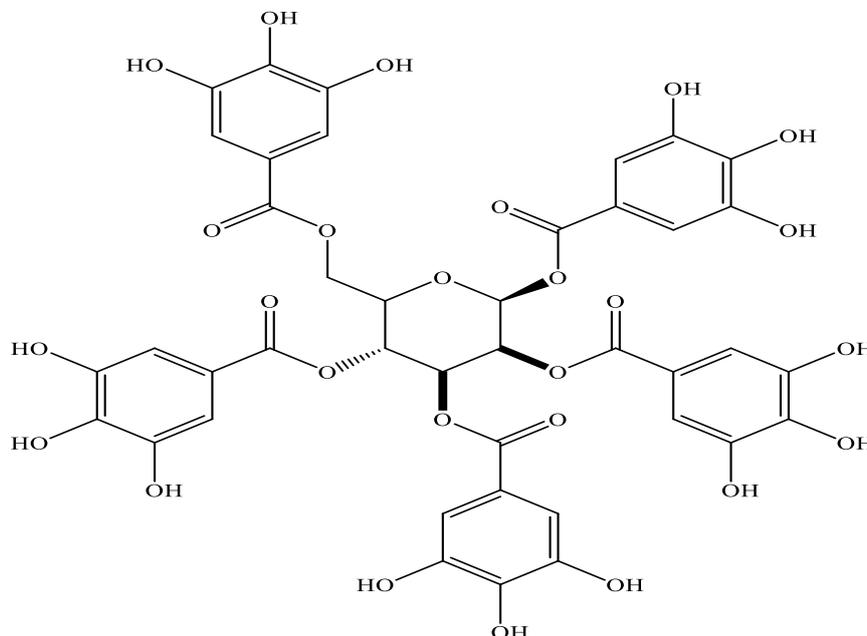
D'un point de vue biochimique, une première définition a été proposée par **Bate-Smith et Swain (1962)** : les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton.

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût astringent à l'écorce ou aux feuilles et les rendent ainsi impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (**Bruneton, 2016**).

Leur structure chimique leur confère une capacité à fixer et à précipiter des molécules telles que les alcaloïdes, la gélatine, les polysaccharides et essentiellement les protéines (**Pengelly, 2004**).

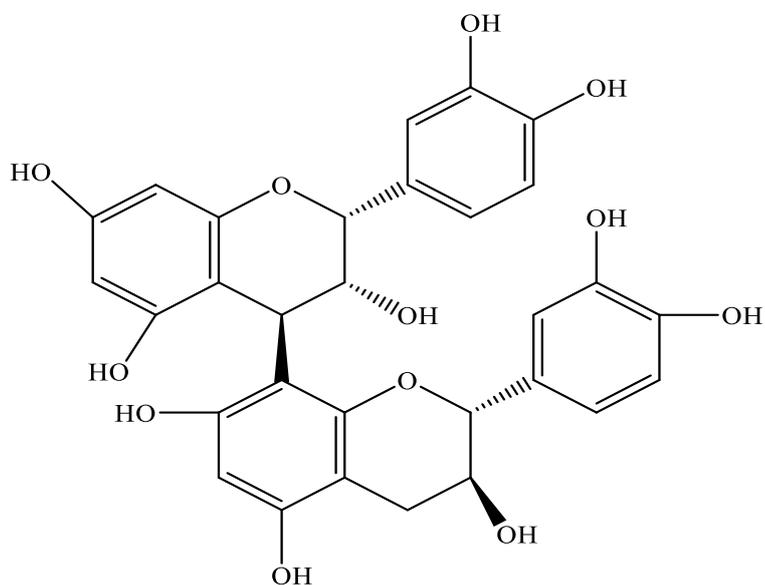
On les classe en trois groupes :

- **Tanins hydrolysables** : Ce sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénolique. Le sucre est généralement le glucose. L'acide phénolique est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique(HHDP) et ses dérivés dans le cas des tanins éllagiques (**Bruneton, 2016**).



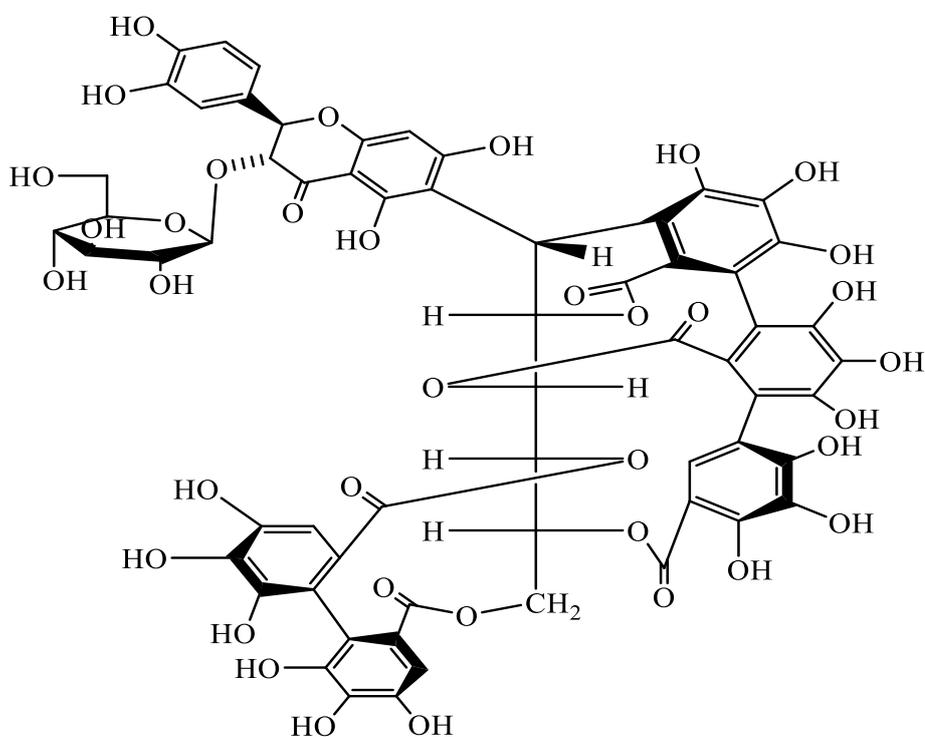
**Figure 9:** Structure chimique d'un tanin gallique (**Pentagalloylglucose**)

- **Tanins condensés** ou proanthocyanidines ou encore procyanidines sont des polymères flavaniques. Ils sont constitués d'unités supérieure et terminale de flavan-3-ols et/ou de flavan-3,4-diols, liées entre elles par des liaisons carbones carbonnes (**Bruneton, 2016**).



**Figure 10:** Structure chimique d'un tanin condensé (**Procyanidol B-1**)

- **Tanins complexes** sont des tanins qui comportent à la fois une unité de catéchine (ou flavan-3-ol) liée à une unité de gallotanin ou d'ellagitanin (**Khanbabaee et Van Ree, 2001**).



**Figure 11:** Structure chimique d'un tanin complexe (**Monoolicine B**)

### **I.2.3. Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine végétale, azotées et à caractère alcalin. Ils sont également des hétérocycles avec un atome d'azote comme hétéroatome. Les alcaloïdes possèdent des structures moléculaires très complexes, plus ou moins basiques et douées des propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (**Zenk et Jueng, 2007**). Ils constituent un des groupes de métabolites secondaires contenant plus de 10 000 à 12 000 structures (**Stöckigt et al., 2002**).

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques dans les domaines les plus variés : système nerveux central (SNC), système nerveux autonome (SNA), cardiovasculaire, anesthésie, tumeurs, maladies parasitaires, etc. (**Bruneton, 2016 ; Benkiki, 2006**). Ils agissent au niveau du SNC, qu'ils soient dépresseurs (morphine, scopolamine,) ou stimulants (strychnine, caféine,) (**Bruneton, 2016**).

D'autres ont des propriétés anesthésiques locales (cocaïne), antitumorales (vinblastine, ellipticine,), antipaludiques (quinine), amoebicides (émétine) (**Bruneton, 2016**).

On distingue trois grands groupes suivants qu'ils possèdent ou non un acide aminé, comme précurseurs direct et qu'ils comportent ou non un azote dans un hétérocycle (**Guignard et al., 1985**).

- **Alcaloïdes vrais**

Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, ils sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel (**Badiaga, 2011**).

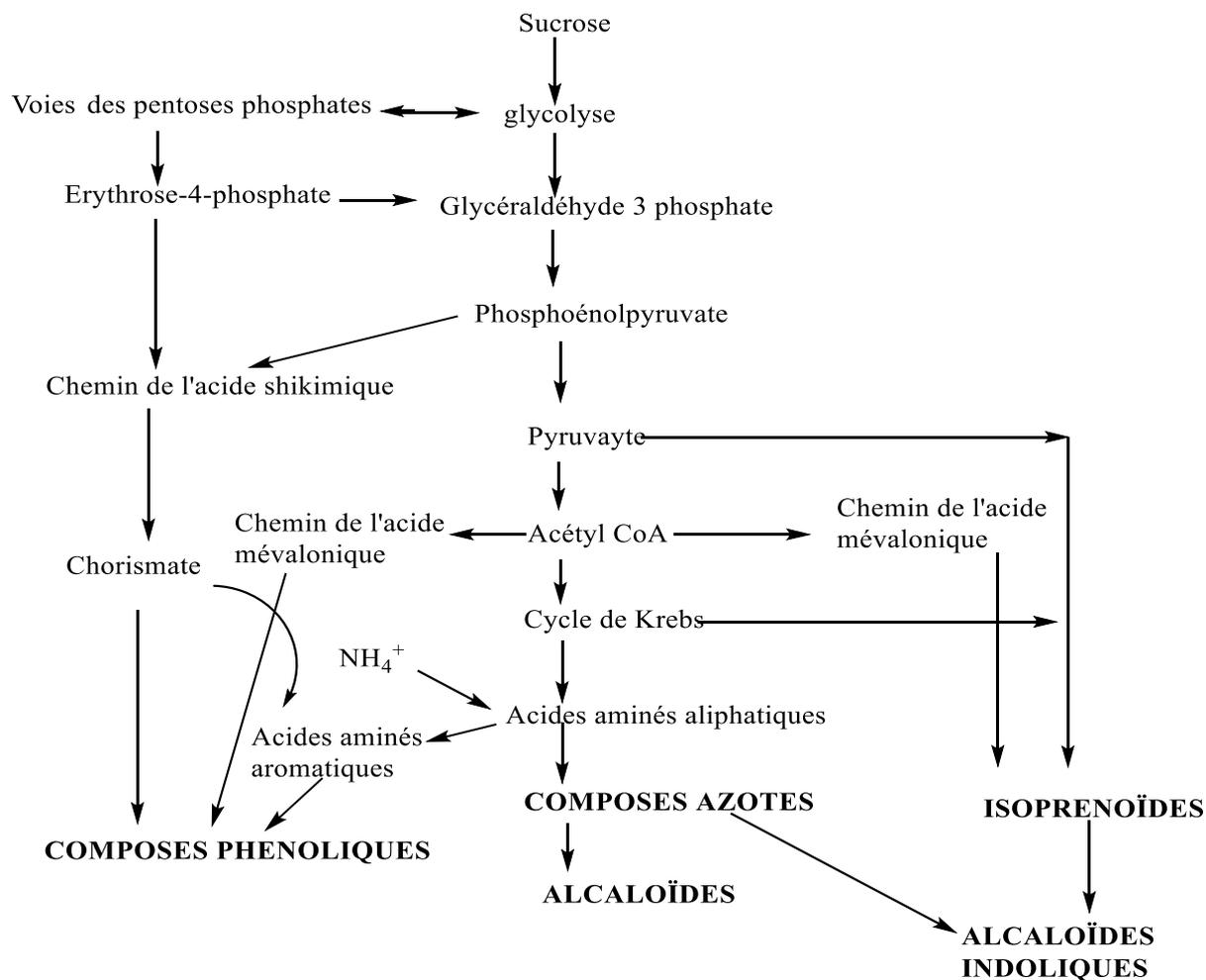
- **Pseudo-alcaloïdes**

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Badiaga, 2011**).

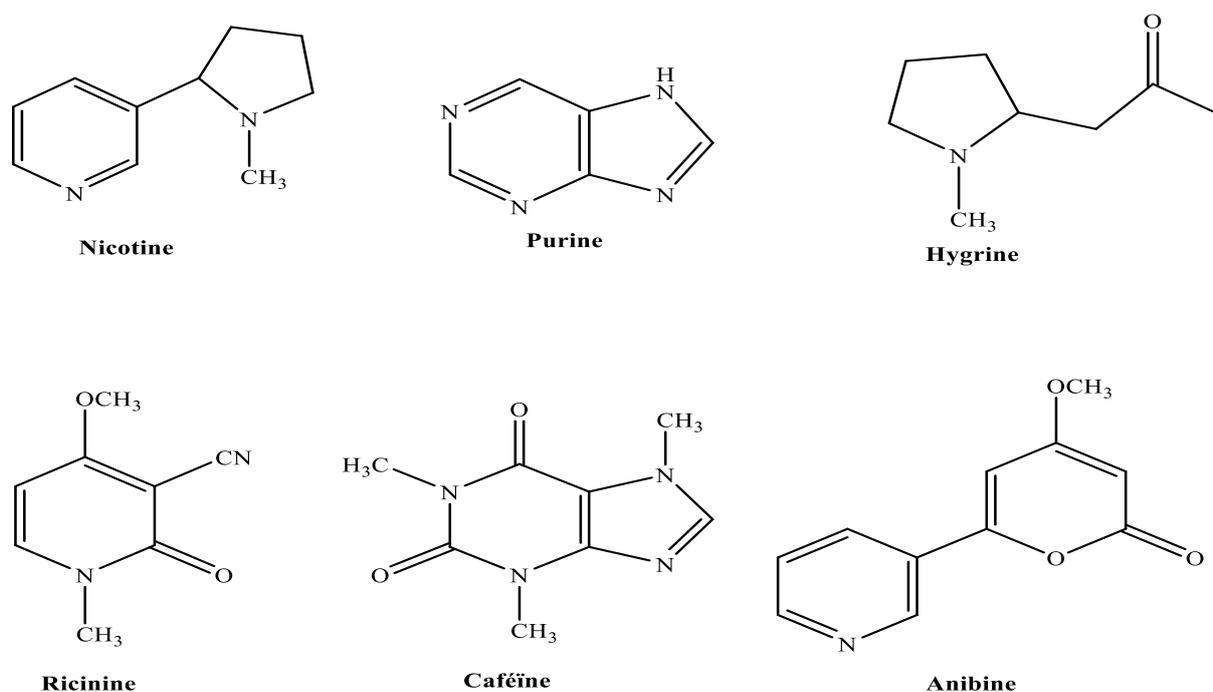
- **Proto-alcaloïdes**

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont solubles dans l'eau (**Badiaga, 2011**).

La figure 12 présente la voie de biosynthèse des alcaloïdes.



**Figure 12:** Schéma de biosynthèse des alcaloïdes (Guette, 2007 ; N'gaman, 2013).

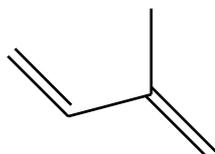


**Figure 13:** Structures moléculaires de quelques alcaloïdes

## I.2.4. Terpènes

### I.2.4.1. Définition

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine (**Bruneton, 2016**). Ils dérivent de l'isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène) (**Figure 14**) et ont pour formule de base des multiples de  $(C_5H_8)_n$ .



**Figure 14:** Structure de l'isoprène

### I.2.4.2. Classification

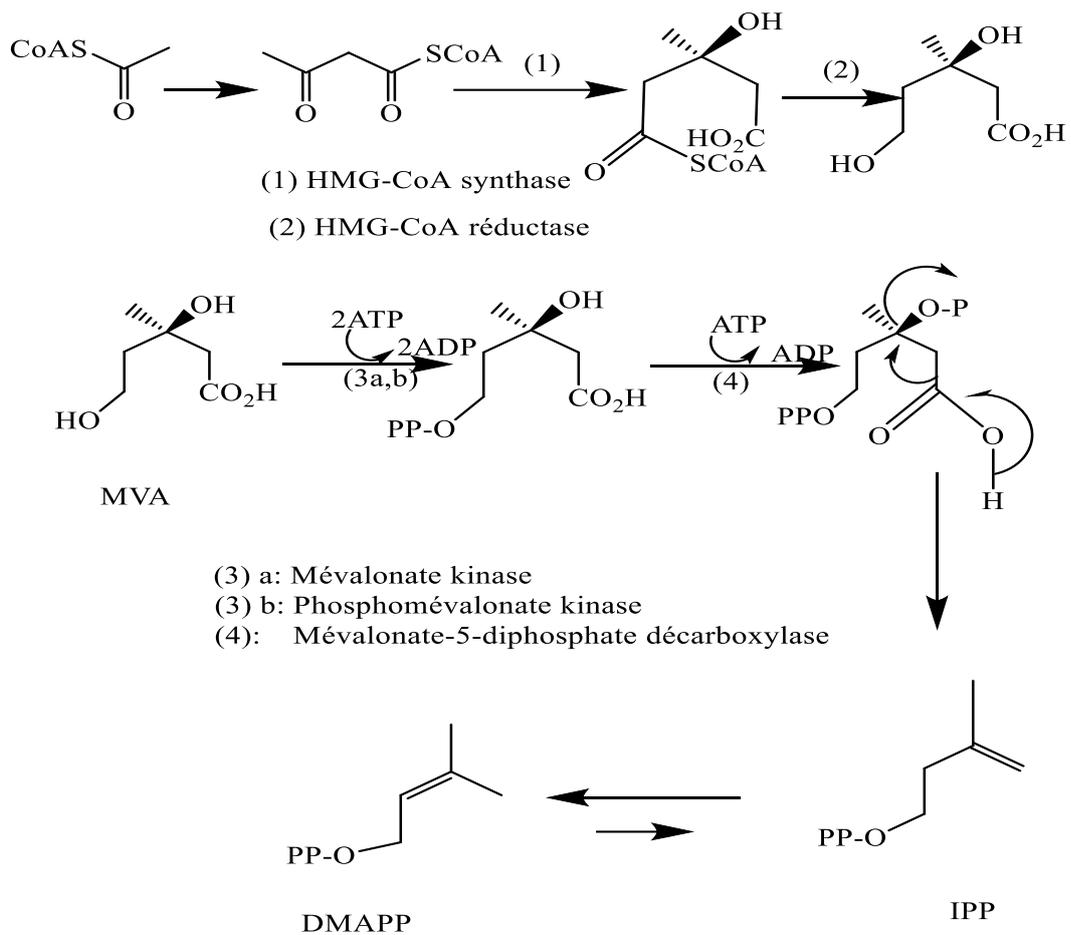
En fonction du nombre  $n$  (entier) d'unités, on peut distinguer : les monoterpènes ( $n = 2$ ,  $C_{10}$ ), les sesquiterpènes ( $n = 3$ ,  $C_{15}$ ), les diterpènes ( $n = 4$ ,  $C_{20}$ ), les sesterpènes ( $n = 5$ ,  $C_{25}$ ), les triterpènes ( $n = 6$ ,  $C_{30}$ ), les tétraterpènes ( $n = 8$ ,  $C_{40}$ ) et les polyterpènes.

Les terpènes possèdent des propriétés antihypertensive, antirétrovirale, anti-inflammatoire, analgésique, antimicrobienne et antiparasitaire (**Bruneton, 2016**).

### I.2.4.3. Biosynthèse des terpènes

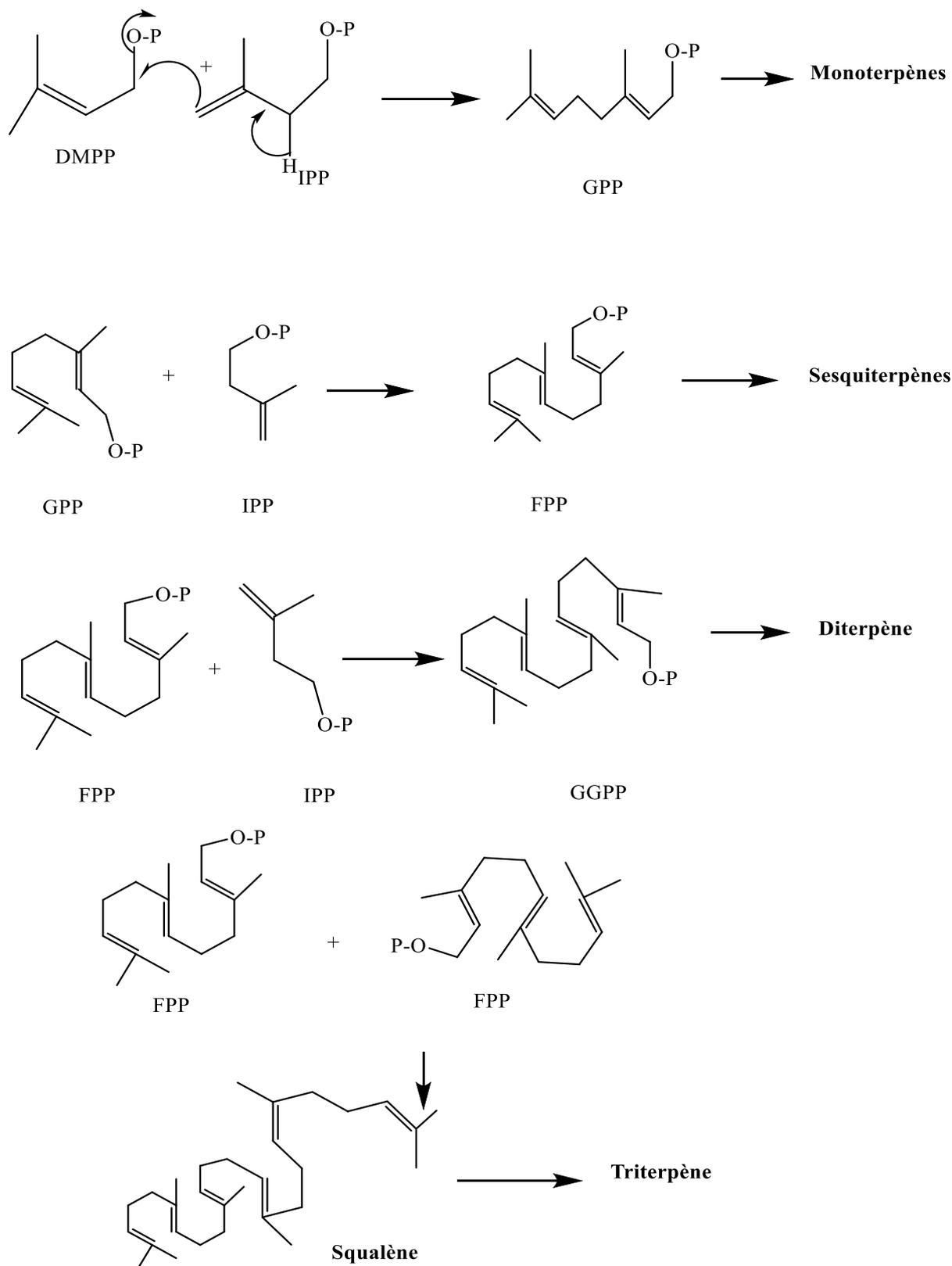
La biosynthèse des terpènes se déclenche par l'hydrolyse de l'ATP de l'isoprène. L'acide mévalonique (MVA) est la clé de la biosynthèse des terpénoïdes. La condensation de 3 molécules d'acétyl-CoA forme le *3-hydroxy 3-méthylglutaryl-CoA*, ensuite la réduction de ce dernier donne MVA qui est par la suite activé par une enzyme spécifique. Le MVA est converti en isopenténylpyrophosphate (IPP) ou isoprène actif. C'est le IPP qui constitue l'unité isoprénique d'enchaînement, et il s'isomérisé en diméthylallylpyrophosphate (**Figure 15**).

La condensation d'une molécule (DMPP) avec une molécule (IPP), conduit au géranylpyrophosphate (GPP) précurseur des monoterpènes en C-10. Le couplage de ce dernier avec une nouvelle molécule (IPP), conduit au farnésylpyrophosphate (FPP) précurseur des sesquiterpènes en C-15 qui peut agir avec une autre molécule de (IPP) pour former le géranylgéranylpyrophosphate (GGP) précurseur des diterpènes en C-20. D'autre part, le couplage réductif de deux unités (FPP) donne le squalène en C30, précurseur des triterpènes (**Ayad, 2008**).



**Figure 15:** Schéma de la formation de l'isopenténylpyrophosphate et du diméthylallylpyrophosphate

Plusieurs combinaisons de l'IPP et du DMAPP (**Figure 16**) conduisent à la formation des précurseurs des différentes classes de terpènes (**Bruneton, 2016**).



**Figure 16:** Schéma biosynthétique des terpènes

## II. HUILES ESSENTIELLES

### II.1. Définition

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

Ce sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveurs généralement fortes, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, par les méthodes de distillation, d'enfleurage, d'expression, par solvant ou par d'autres méthodes (**Bernadet, 2000 ; Bezanger et al., 1990 ; Block et al., 1984**).

Les HE ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'homme qui les utilisait autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner (**Bruneton, 2016**).

### II.2. Localisation

Les HE n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les plantes capables d'élaborer les constituants qui composent ces HE sont connues sous le nom de plantes aromatiques, réparties dans un nombre limité de familles : Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae, etc. (**Bruneton, 2016**). Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits, graines (**Figueredo, 2007**).

### II.3. Procédés d'extraction des huiles essentielles

#### II.3.1. Hydrodistillation

Son principe consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, ensuite l'ensemble est porté à ébullition. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Le mélange est ensuite refroidi. L'eau et les HE, une fois condensées, se séparent en deux phases (**Dima, 2014 ; Baser et Buchbauer, 2010**).

#### II.3.2. Entraînement à la vapeur

C'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des huiles essentielles, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques (**Bego, 2001**). Le matériel végétal, dans ce cas, n'est pas en contact avec l'eau, il se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une

distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (**Benjlali, 2004**). L'hydrolat est la phase aqueuse recueillie contenant des traces de composés aromatiques, il est aussi appelé l'eau florale.

### **II.3.3. Expression à froid**

Cette technique est la plus simple, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Cela concerne les citrus (orange, citron, mandarine...).

Cette méthode se fait sans chauffage et consiste à dilacérer (briser mécaniquement) les péricarpes ou « zestes » en y exerçant une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique. Cela permet de faire sortir l'essence contenue dans les sacs oléifères, qui tapissent l'écorce du fruit, et de récupérer cette dernière par un procédé physique (**Bruneton, 2016 ; Laurent, 2017**).

### **II.3.4. Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique**

La particularité de cette technique repose sur le solvant utilisé. Il s'agit du CO<sub>2</sub> en phase supercritique. À l'état supercritique, le CO<sub>2</sub> n'est ni liquide, ni gazeux et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction. Les fluides supercritiques comme le CO<sub>2</sub> sont de bons solvants à l'état supercritique et de mauvais solvant à l'état gazeux (**Nguemtchouin, 2012 ; Herzi, 2013 ; Yapi et al., 2013**).

### **II.3.5. Extraction par solvant**

L'extraction se fait à l'aide de solvants organiques volatils. La division de la matière à extraire facilite le contact avec le solvant, permet d'augmenter la charge de l'extracteur et aussi de réduire le rapport du solvant à la charge. On obtient des huiles concrètes avec des solvants volatils tels que le cyclohexane, le pentane ou l'éther de pétrole qui est le plus utilisé maintenant. Ce procédé a remplacé l'enfleurage qui est devenu beaucoup trop coûteux (**France-Ida, 1996 ; Garnero, 1996 ; Bego, 2001**).

### II.3.6. Extraction par micro-onde

Ce procédé utilise les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances (Paré, 1997). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction en quelques secondes (France-Ida, 1996). Ce procédé, très rapide et peu consommateur d'énergie, donne un produit, qui est le plus souvent de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (Bruneton, 1999).

### II.3.7. Composition chimique des huiles essentielles

Ce sont des mélanges complexes et variables de constituants (Figure 17) qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes de composés majeurs :

- ✓ Le groupe des terpénoïdes constitués presque exclusivement de monoterpènes et de sesquiterpènes (Mainebau, 1994) ;
- ✓ Le groupe de composés aromatiques dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquents (Mainebau, 1994).

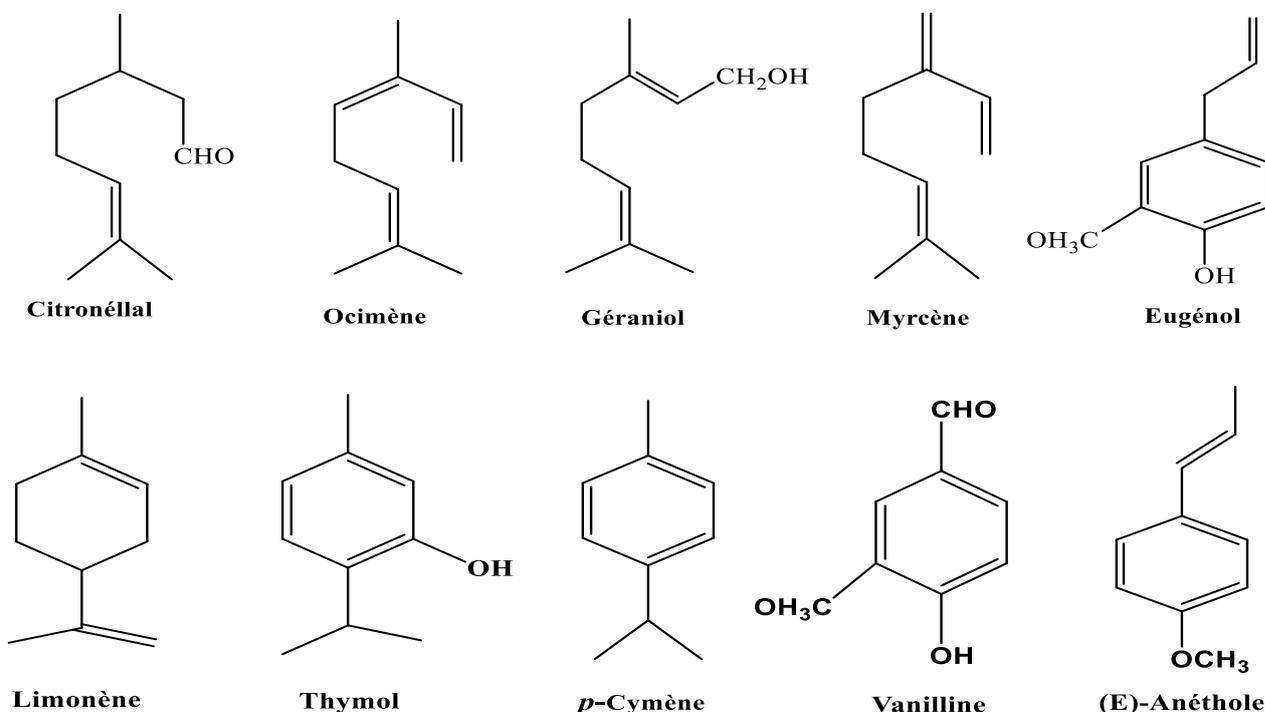


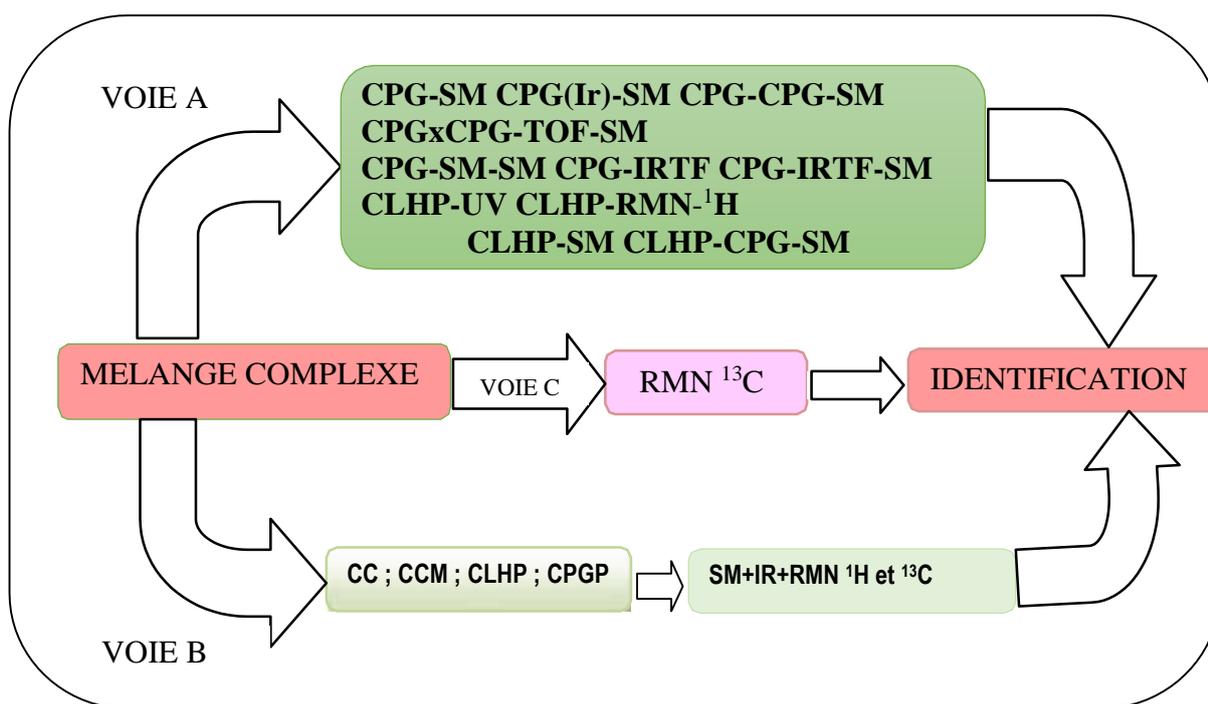
Figure 17: Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles

## II.4. Méthodes d'analyse des huiles essentielles

Les huiles essentielles, obtenues par entraînement à la vapeur, hydrodistillation ou expression à froid de certaines espèces végétales sont des mélanges, généralement complexes, constitués de plusieurs dizaines (parfois plusieurs centaines) de composés. Ces mélanges renferment de nombreux terpènes (mono-, sesqui- et parfois diterpènes) ainsi que divers composés de la famille des phénylpropanoïdes et mêmes des composés aliphatiques (non terpéniques). Les huiles essentielles présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que la pharmacie, la cosmétique, la parfumerie et l'agroalimentaire.

La caractérisation de ces huiles essentielles (analyse chimique) demeure une étape essentielle pour leur valorisation et/ou leur commercialisation. Il est donc nécessaire de disposer d'outils analytiques rapides, fiables et adaptés permettant d'identifier et de quantifier les différents constituants de ces mélanges complexes.

D'une façon générale, l'étude de la composition chimique d'un mélange naturel peut être effectuée selon différentes voies (**Figure 18**).



**Figure 18:** Méthodes d'analyse d'un mélange complexe.

❖ La voie A s'avère être fort adaptée aux analyses de routine ou à l'identification des constituants ne présentant pas de difficultés majeures (huiles essentielles déjà décrites, contrôle de qualité, ...). Cette voie fait intervenir le couplage en « ligne » d'une ou plusieurs techniques

chromatographiques (CPG, CLHP), permettant d'individualiser et de quantifier les constituants, avec une technique spectroscopique (SM, IRTF), permettant leur identification par comparaison de leurs données spectrales avec celles de produits connus, contenues dans des bibliothèques de spectres informatisées ;

❖ La voie B s'apparente à l'identification de nouvelles molécules. Elle fait intervenir au préalable la purification des constituants par différentes techniques physico-chimiques et chromatographiques, suivie d'une étude spectroscopique (SM, IRTF, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , RMN 2D) de chacun d'eux, en vue de leur identification. Cette méthode s'impose lorsque les constituants d'un mélange présentent des difficultés d'analyses (structures complexes et/ou très proches) ;

❖ Une autre approche, la voie C, intermédiaire par rapport aux précédentes, met en œuvre la Résonance Magnétique Nucléaire du carbone-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ) comme technique d'identification des constituants d'un mélange complexe, sans séparation préalable ou précédée d'une étape de fractionnement réduite au minimum. De plus, cette technique peut être utilisée pour la quantification de composés difficilement quantifiables par les techniques habituelles.

#### **II.4.1. Méthodes d'analyse par couplage chromatographique spectrométrie : Voie A**

##### **II.4.1.1. CPG associée aux indices de rétention (CPG (Ir))**

La naissance de la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) est annoncée par James et Martin, en 1952. Cette technique, comme toutes les techniques chromatographiques, permet de séparer des molécules de natures diverses, présentes dans un mélange éventuellement complexe. Cette méthode s'applique principalement aux composés naturellement volatils, mais aussi à des molécules qui, par des réactions de dérivation (acétylation, silylation), sont rendues volatiles à des températures ne provoquant pas leur décomposition (**Bielicka-Daszkiewicz *et al.*, 2004, Rojas- Escudero *et al.*, 2004**). La CPG est non seulement une technique de séparation mais aussi d'analyse car elle peut contribuer à l'identification d'un produit dans un mélange en prenant en compte le temps de rétention. Par ailleurs, la comparaison des aires des pics fournit une quantification relative des constituants. Si l'identification d'un produit peut être facilitée par la connaissance de son temps de rétention qui est une valeur caractéristique pour une phase stationnaire donnée, les indices de rétention, plus fiables que les temps de rétention, sont privilégiés pour l'analyse d'huiles essentielles. Ils sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane linéaires à température constante (Indice de Kovats, IK) (**Kovats, 1965**) ou en programmation de

température (Indices de rétention,  $I_r$  ou indices de **Van Den Dool et Kratz, 1963**). Pour chacun des constituants d'un mélange, les indices de rétention sont calculés sur colonnes polaire et apolaire. Ils sont ensuite comparés avec ceux de composés de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature). Cependant, pour un même composé, il est fréquent de constater des écarts, lorsque l'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire avec ceux de la littérature, tout particulièrement, pour les composés élués en dernier et dans le cas de la colonne polaire. Ainsi donc, les indices de rétention ne peuvent pas permettre à eux seuls d'identifier un composé, à l'exception de quelques monoterpènes usuels. Il est à fortiori beaucoup plus délicat d'identifier des sesquiterpènes. Ainsi, **Joulain, (1994)** fait observer que 230 sesquiterpènes de même masse moléculaire se répartissaient sur une plage de seulement 300 unités d'indices de rétention. Ainsi, à titre d'exemple, on peut citer quelques cas de co-élution : l'alismol co-élue avec le trans-guai-6-èn-10- $\beta$ -ol sur colonne apolaire (BP-1), le  $\beta$ -copaène co-élue avec le  $\gamma$ -élémane sur colonne apolaire (BP-1) et avec le  $\beta$ -élémane sur colonne polaire (BP-20). Ces exemples montrent que les indices de rétention ne constituent pas une base suffisante pour l'identification des constituants d'une huile essentielle. Ainsi pour rendre fiable l'identification de ces constituants, la CPG est couplée avec des techniques spectroscopiques.

#### **II.4.1.2. Couplage CPG-SM**

Le couplage de la CPG et de la SM en mode Impact Électronique (SMIE) permet de connaître, dans la majorité des cas, la masse molaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales à partir des fragmentations observées. Ce procédé permet donc d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux contenus dans des bibliothèques de spectres informatisées commerciales (**Masada, 1976 ; Jennings et Shibamoto, 1980 ; Mc Lafferty et Stauffer, 1994 ; Adams, 1989, 2001 et 2007 ; König et al., 2001**) ou élaborées au laboratoire. En général, l'utilisation des bibliothèques réalisées au sein du laboratoire, contenant les spectres de références enregistrés dans les mêmes conditions expérimentales que celles des mélanges à étudier, donne des résultats nettement plus fiables que les bibliothèques commerciales.

L'utilisation conjointe de la spectrométrie de masse et des indices de rétention calculés sur deux colonnes de polarité différente en CPG, permet, en général, l'identification d'un grand nombre de constituants dans les mélanges complexes tels que les huiles essentielles (**Adams, 1989 ; Bilia et al., 2002 ; Lianga et al., 2004 ; Maia et al., 2004 ; Chericoni et al., 2004 ; Senatore et al., 2004 ; Adio et al., 2004a**). De plus, la mise au point d'un logiciel informatique

qui tient compte simultanément des indices de rétention et des spectres de masse des composés, développé par **Vernin *et al.*, (1986, 1988)**, a facilité l'identification des constituants de nombreuses huiles essentielles.

En mode impact électronique (IE), il se présente des difficultés qui sont dues principalement :

- ✓ À la similitude des spectres de masse. C'est le cas de composés proches d'un point de vue structurale comme les quatre isomères du menthol ou du farnésol (**Masada, 1976 ; Coleman *et al.*, 1989**). Cette similitude des spectres de masse est également observée pour certaines molécules possédant des squelettes différents telles les (Z, Z) et (E, Z) - $\alpha$ -farnésène (sesquiterpènes linéaires avec 4 insaturations) et le cis- $\alpha$ -bergamotène (sesquiterpène bicyclique diénique) (**Schultze *et al.*, 1992**) ;
- ✓ À la faible intensité voire à l'absence du pic moléculaire sur le spectre de masse.

Des informations complémentaires peuvent être obtenues avec des techniques « d'ionisation douce » telles que l'ionisation chimique positive (ICP) ou l'ionisation chimique négative (ICN) (**Lange *et al.*, 1988 ; Schultze *et al.*, 1992**). L'ionisation chimique consiste à produire des ions par collision de la molécule à ioniser avec des ions primaires présents dans la source. On cherche donc à provoquer des collisions ion-molécule dans une partie délimitée de la source. Pratiquement toutes les substances neutres sont susceptibles de donner des ions positifs (ICP), alors que les ions négatifs (ICN) nécessitent la présence de molécule comportant un ou plusieurs atomes électro-négatifs permettant la capture d'électrons (**De Hoffmann *et al.*, 1999**). L'observation de ces ions donne accès à la masse moléculaire des composés ce qui permet notamment de différencier les alcools de leurs acétates. C'est le cas, par exemple, du (E)-nérolidol et de l'acétate de (E)-nérolidyle lorsque l'ammoniac est employé comme gaz réactif (**Schultze *et al.*, 1992**). De même, des stéréoisomères peuvent être différenciés. Ainsi, les quatre stéréoisomères de l'isopulégol sont différenciés sur la base de leur spectre de masse obtenu en utilisant l'isobutane comme gaz réactif (**Lange *et al.*, 1988**).

#### **II.4.1.3. Couplage CPG-SM-SM**

La CPG couplée à la spectrométrie de masse multidimensionnelle à double analyseur (SM-SM) est reconnue pour sa sélectivité nettement supérieure à celle obtenue avec un seul spectromètre de masse analyseur (**Cazaussus *et al.*, 1988 ; Decouzon *et al.*, 1990**). Elle vient ainsi pallier aux difficultés d'identification liées aux similitudes de spectres rencontrées lors de l'analyse de mélanges complexes. Elle consiste à sélectionner les ions correspondant à un rapport  $m/z$  choisi au moyen d'un premier analyseur qui joue ainsi le rôle de filtre. Les

fragments de l'ion secondaire constituent un deuxième spectre de masse qui diffère en fonction de l'origine de l'ion primaire (**Rouessac et al., 2004**).

#### **II.4.1.4. Couplages CPG-IRTF et CPG-IRTF-SM**

La spectrométrie Infra-rouge renseigne en général sur les fonctions chimiques présentes dans les molécules et elle permet également de différencier les stéréoisomères. Elle permet de différencier des stéréoisomères géométriques et d'identifier certaines molécules par l'examen de la partie de leur spectre dite « des empreintes digitales ». L'avènement de la spectroscopie Infra-rouge par transformée de Fourier (IRTF) autorisant de grandes vitesses d'acquisition du spectre permet de réaliser le couplage CPG-IRTF. Le spectre IR obtenu peut être comparé à ceux de bibliothèques informatisées. Le couplage CPG-IRTF a permis d'identifier de nombreuses molécules dont le germacrène B dans les HE d'orange et de pamplemousse, qui se transforme partiellement en  $\gamma$ -élémane et le bicyclogermacrène en bicycloélémane par transposition de Cope (**Le Quéré, 1992 ; Chamblee et al., 1997**). Le chromatographe en phase gazeuse peut être couplé en parallèle à la fois au détecteur IR et au spectromètre de masse (CPG-IRTF-SM).

#### **II.4.1.5. Couplage CPGxCPG-SM**

La CPG bidimensionnelle (CPGxCPG) a été mise en œuvre pour individualiser des composés qui co-éluent en CPG monodimensionnelle. Elle est utilisée dans le cas où la résolution des pics obtenus en CPG est insuffisante pour parvenir à une caractérisation complète de mélanges très complexes (**Philipps et al., 1999 ; Dallüge et al., 2003**). Cette méthode est basée sur l'utilisation en ligne de deux colonnes capillaires, placées dans deux fours. La première colonne est de dimension moyenne (25-30 mètres) et apolaire, la deuxième est plus courte (0,5-0,8 mètres) et polaire. L'installation comporte deux détecteurs et une vanne d'introduction entre les deux colonnes. Le transfert est assuré par un modulateur dont les fonctions sont d'isoler, de concentrer et d'introduire continuellement des coupes d'effluents de la première colonne vers la deuxième colonne. Ainsi, la CPG bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse (CPGxCPG-SM), permet la séparation, l'identification et la quantification de composés minoritaires pouvant coéluer avec des composés plus importants. Ainsi, elle a été utilisée pour la caractérisation des effluents pétrochimiques (**Vendeuvre et al., 2004**), dans l'analyse des médicaments (**Songa et al., 2004**) ou dans le domaine alimentaire (**Tranchida et al., 2004**). La CPG-2D a aussi été utilisée dans l'analyse fine des huiles essentielles complexes, qui par exemple contiennent de nombreux sesquiterpènes ou diterpènes, ou des sesquiterpènes oléfiniques qui coéluent avec des monoterpènes oxygénés.

Ainsi, **Marriott et al. (2000)** l'ont appliqué à l'analyse de l'huile essentielle de *Vetiveria zizanioides* qui s'est révélée très complexe. **Mondello et al. (2005)** ont également utilisé cette technique pour éluer séparément le  $\beta$ -bisabolène, l'acétate de néryle et le bicyclogermacrène, présents dans l'huile essentielle de *Citrus limonum* et qui coéluent en CPG conventionnelle avec la phase, et les conditions expérimentales utilisées.

#### **II.4.1.6. Couplages CLHP-SM et CLHP-SM-SM**

La Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) est destinée à des substances peu ou pas volatiles et parfois thermolabiles ou polaires. C'est une technique d'analyse performante, polyvalente et très répandue. La CLHP peut être couplée avec la spectroscopie de masse (CLHP-SM) en contournant certains problèmes dus aux conditions opératoires des deux techniques comme la haute pression, la température ambiante et la phase liquide pour la CLHP et le vide poussé, la haute température et la phase gazeuse pour la SM. L'analyse est affinée en utilisant la spectroscopie de masse en tandem (CLHP-SM-SM). Ces deux techniques ont permis respectivement l'identification de coumarines et de flavones dans les HE de Citrus (**Dugo et al., 2000**) et la quantification du bergaptène et de la bergamotine (furocoumarines) dans des HE de zestes de fruit du genre Citrus (mandarine, pamplemousse, bergamote et citron vert) (**Prosen et Kočar, 2008**).

#### **II.4.1.7. Couplage CLHP-CPG-SM**

Dans ce type de couplage CLHP-CPG-SM, la CLHP est utilisée pour réaliser un préfractionnement des constituants en fonction de leurs familles chimiques avant d'être introduits dans la colonne capillaire de la CPG ; leur détection est ensuite assurée par spectrométrie de masse. Ce dispositif permet une plus grande fiabilité dans l'identification par spectrométrie de masse en limitant les co-élutions. Ce couplage a été utilisé avec une bonne efficacité pour l'identification de constituants présents à l'état de traces dans les HE d'agrumes (**Munari et al., 1990 ; Mondello et al., 1995**).

#### **II.4.1.8. Couplage CLHP-RMN $^1\text{H}$**

La RMN  $^1\text{H}$  est une technique spectroscopique qui permet d'obtenir des informations extrêmement précieuses sur la structure des molécules. Malgré qu'elle soit beaucoup moins sensible que les techniques précédemment décrites, le couplage avec la CLHP s'est révélé efficace pour l'identification de molécules thermosensibles (**Pusecker et al., 1999**) et a permis l'identification de produits de dégradation issus de l'acide 5-aminosalicylique dans un médicament générique (**Novak et al., 2006**).

#### II.4.2. Identification des constituants après purification : Voie B

La séquence opérationnelle développée ici s'apparente à ce qui est fait lors de l'isolement et la caractérisation spectroscopique d'une nouvelle molécule. Le mélange est d'abord fractionné par différentes techniques chromatographiques, telles la chromatographie sur colonne (CC), la chromatographie sur couche mince (CCM), la CLHP et la CPG préparative (CPGP), précédées ou non d'une distillation fractionnée ou d'une cristallisation. Les différents constituants isolés ou présents dans des fractions enrichies sont ensuite identifiés par comparaison de leurs données spectrales avec celles de composés de référence : spectre de masse, spectre IR, spectres de RMN du proton ou du carbone 13 (lorsque la quantité de produit isolé est suffisante), éventuellement RMN bidimensionnelle. Cette voie est extrêmement fiable et permet d'identifier les composés présents dans les mélanges naturels et décrits dans la littérature.

Cette séquence en deux étapes « purification-identification » est la première qui a été utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Elle a été supplantée peu à peu par la voie A, plus rapide. Mais elle est toujours utilisée dans le cas des huiles essentielles complexes car sa grande fiabilité compense l'investissement en temps qu'elle requiert. Pour illustrer l'intérêt de cette méthode de travail, nous pouvons citer à titre d'exemple, les travaux de **Weyerstahl *et al.* (1996, 1997a, 1997b, 2000a, 2000b, 2000c)** qui ont décrit la composition chimique de diverses huiles extrêmement complexes. Ainsi, l'huile essentielle de *Vétiver* d'Haïti est réputée pour être l'une des plus complexes du monde car elle est composée de très nombreux composés minoritaires sesquiterpéniques aux propriétés physico-chimiques et aux données spectroscopiques voisines. Il est par conséquent très difficile d'isoler ces composés et de les identifier. L'huile essentielle a été fractionnée en une partie acide et une partie neutre. La partie neutre a été soumise à une distillation fractionnée qui a permis de séparer les produits lourds des produits légers, puis les différents constituants ont été séparés par CC répétitives puis éventuellement par CCM. Ces constituants ont ensuite été analysés par CPG-SM, RMN <sup>1</sup>H, et parfois RMN <sup>13</sup>C. La partie acide a été soumise à une réaction d'estérification ou de réduction avant la séparation des constituants. Ainsi, près de 170 composés sesquiterpéniques mono- ou polyfonctionnalisés, ont été identifiés. Certains de ces composés possèdent des squelettes originaux et rares tels que prézizaane, zizaane, khusiane, cyclopacamphane, spirovétivane, épi-, seco- et noreudesmanes, oppositane.

Nous pouvons également citer les travaux de **Braun *et al.* (2001)** sur l'huile essentielle de feuilles de *Laurus nobilis* L. L'analyse par CPG-SM de chaque fraction obtenue après la distillation fractionnée de l'huile essentielle et chromatographies répétitives a permis

l'identification de 155 composés dont 76 monoterpènes, 46 sesquiterpènes, 10 phénylpropanoïdes et 23 composés divers dont une majorité de composés linéaires.

Si la voie A, grâce à sa rapidité est très adaptée aux analyses de routine et aux composés volatils, la voie B garantit l'identification des composés. Cependant les diverses étapes de fractionnement et de purification demandent souvent un grand investissement en temps. Une troisième voie (Voie C), intermédiaire par rapport aux précédentes, basée sur l'identification, et si besoin la quantification, des principaux composés des mélanges naturels (huiles essentielles, extraits végétaux, résines, huiles végétales) par l'étude du spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  du mélange sans séparation préalable, a été initiée au début des années 1980 puis elle est développée au laboratoire de "Chimie et Biomasse" depuis une vingtaine d'années.

### **II.4.3. Analyse par RMN $^{13}\text{C}$ sans séparation préalable**

#### **II.4.3. 1. Historique**

À notre connaissance, les premiers travaux relatifs à l'utilisation de la RMN  $^{13}\text{C}$ , en tant qu'outil d'analyse des mélanges naturels ont concerné l'identification des principaux constituants des huiles essentielles d'abord, ponctuellement par **Burgar *et al.* (1979)** puis, de manière plus systématique, par **Formàcek et Kubeczka (1982a ; 2002b)**. Divers travaux ont concerné d'autres domaines d'investigation : produits alimentaires (huiles végétales, graisses animales, vins, miels, ...), extraits végétaux, coupes pétrolières. Dans la plupart des cas, la RMN  $^{13}\text{C}$  a été utilisée pour confirmer l'identification des constituants préalablement identifiés (ou dont la présence était suspectée) par une autre technique, généralement la CPG-SM. C'est dans ce contexte que l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse s'est proposée de mettre au point et de développer une véritable méthode d'identification des constituants des mélanges naturels, basée sur l'analyse informatisée du spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  du mélange.

#### **II.4.3.2. Intérêt de la RMN du carbone-13 (RMN $^{13}\text{C}$ ) pour l'analyse des mélanges complexes**

En dépit de sa faible abondance isotopique naturelle de l'ordre de 1,1% et d'un rapport gyromagnétique 5700 fois moins sensible que celui du proton, le carbone-13 présente divers avantages qui font que ce noyau est préféré aux autres pour le domaine de l'analyse des mélanges complexes (**Günther, 1994**) :

- Le carbone constitue le squelette de toutes les molécules organiques. Dans le cas des molécules naturelles, les différents atomes présents sont, à quelques exceptions près, magnétiquement non-équivalents. Le spectre de RMN du carbone-13 présente donc,

dans la très grande majorité des cas, autant de raies de résonance qu'il y a de carbones dans la molécule. De plus, la fréquence de résonance des carbones étant très sensible aux variations électroniques et stériques, la moindre modification structurale se traduit par une variation plus ou moins importante mais toujours mesurable de tous (ou presque tous) les carbones de la molécule. Ainsi, il est possible d'identifier par RMN du carbone-13 la plupart des molécules organiques, même dans le cas où les molécules ont des structures très proches.

- Les spectres de RMN du carbone-13 peuvent être simplifiés par irradiation totale des hydrogènes, ce qui permet de n'observer qu'une raie de résonance par carbone et parallèlement de bénéficier de l'effet NOE (Nuclear Overhauser Enhancement) qui améliore le rapport signal sur bruit (S/B) en augmentant l'intensité des signaux.
- Le temps de relaxation transverse spin/spin (T2) est beaucoup plus important pour le carbone que pour le proton, la largeur du signal à mi-hauteur étant inversement proportionnelle à T2, il en résulte un gain dans la finesse du pic donc un gain en résolution ce qui est crucial lors de l'enregistrement du spectre d'un mélange.
- Le domaine de résonance du carbone s'étend sur une plage de 240 ppm alors que celui du proton ne s'étend que sur 12 ppm environ. Ceci améliore notablement la dispersion spectrale. Un grand nombre de raies de résonances peuvent être observées dans le spectre du mélange en évitant un nombre rédhibitoire de superpositions.
- Les spectres sont réalisés à température ambiante, ce qui évite la dégradation ou la transformation éventuelle des molécules thermosensibles, observée pendant l'étape d'individualisation dans les colonnes de CPG ou sous l'effet de l'impact électronique dans le spectromètre de masse.
- L'étude des produits « lourds » et très polaires (acides) s'effectue sans difficulté supplémentaire.
- Enfin, la RMN du carbone-13 étant une méthode non destructive, l'échantillon peut être récupéré et éventuellement soumis à d'autres analyses.

#### **II.4.3.3. Identification des constituants en mélange**

L'identification des constituants d'un mélange par RMN  $^{13}\text{C}$  est basée sur la comparaison des déplacements chimiques dans le spectre du mélange avec ceux de composés de référence contenus dans diverses bibliothèques de spectres. Avec cette méthode, les composés ne sont pas préalablement purifiés. Il est donc nécessaire que l'enregistrement du spectre du mélange

et des spectres des composés de référence soit réalisé avec des conditions expérimentales optimisées et standardisées afin de permettre une bonne reproductibilité des résultats obtenus.

#### II.4.3.3.1. Observation des signaux

L'identification d'un composé dans un mélange par RMN nécessite la prise en compte de deux paramètres : l'observation des signaux dans le spectre et leur individualisation.

L'observation des raies de résonance des carbones d'une molécule dépend de plusieurs paramètres :

- La sensibilité de l'appareil qui s'exprime par un rapport signal sur bruit (S/B) ;
- La masse de produit disponible,
- La solubilité du produit dans le solvant choisi ainsi que de sa viscosité ;
- Le nombre d'acquisitions.

Ainsi grâce au développement des aimants supraconducteurs, la RMN voit sa sensibilité augmenter avec l'intensité du champ magnétique des aimants (21,1 Tesla pour les plus performants). Il est donc possible d'utiliser des quantités de plus en plus faibles de produit, ce qui peut être utile dans des cas particuliers. Cependant, dans la majorité des cas, les produits naturels sont disponibles en quantité appréciable ce qui permet de réaliser des spectres de RMN de mélange naturel avec des appareils de routine : 1,9 Tesla lors des premières expériences, 4,7 Tesla pendant longtemps et 9,4 Tesla de nos jours. Par ailleurs, le rapport S/B peut également être amélioré en modifiant les paramètres d'enregistrement des spectres. Ainsi, l'irradiation des protons liée aux noyaux de carbone (découplage), se traduit non seulement par une simplification des spectres (chaque signal se présentant comme un singulet) mais aussi par une augmentation d'intensité pouvant s'élever à 200%, due à l'effet nucléaire Overhauser (effet NOE) (**Günther, 1994 ; Williamson et Neuhaus, 1989 ; Hesse *et al.*, 1997**).

L'augmentation du nombre d'accumulations permet de pallier au manque de sensibilité de l'appareil, surtout pour les spectromètres de routine à champ moyen, ou une quantité faible de produit mais cela entraîne un temps d'utilisation plus important.

En effet, le rapport S/B étant proportionnel à la racine carrée du nombre d'acquisitions, le temps d'analyse devient rapidement prohibitif.

De plus, pour réduire le temps d'utilisation de l'appareil il est possible d'utiliser des sondes de 10 mm spécialement dessinées pour l'enregistrement des spectres de RMN <sup>13</sup>C (au lieu des sondes de 5 mm proton-carbone utilisées habituellement), ceci permet de tripler la quantité de produit disponible pour l'enregistrement du spectre et donc la quantité de signal.

#### **II.4.3.3.2. Individualisation des signaux**

L'individualisation des signaux dépend de la résolution de l'appareil de RMN elle-même fonction de la puissance de l'aimant et des caractéristiques du système informatique permettant l'acquisition du signal. La résolution représente la capacité d'un appareil à individualiser les différents signaux d'un spectre. On peut définir la limite de résolution comme la plus petite différence de fréquence entre deux signaux de résonance pouvant encore être enregistrés séparément (**Williamson et Neuhaus, 1989**). L'individualisation des signaux d'un composé pur pose rarement des problèmes, les superpositions fortuites des signaux de deux carbones étant assez exceptionnelles. On peut citer toutefois les deux méthylènes C3 et C4 du  $\beta$ -pinène qui sont superposés lorsque le spectre est enregistré à 50 MHz et qui sont individualisés à 100 MHz. En revanche, dans le cas du spectre d'un mélange complexe, le nombre de constituants et le nombre de carbones qui composent chaque molécule, sont autant de facteurs qui augmentent la probabilité de superposition des raies de résonance. La résolution est donc un facteur important pour l'identification des constituants d'un mélange complexe.

#### **II.4.3.3.3. Attribution des signaux dans le spectre d'un mélange complexe**

L'intérêt de la spectroscopie de RMN réside dans sa faculté à reconnaître un noyau déterminé par rapport à son environnement dans la molécule. La fréquence de résonance des carbones est très sensible à l'environnement électronique et stérique. La moindre modification structurale se traduit par des variations plus ou moins importantes de pratiquement tous les carbones de la molécule. Contrairement à la majorité des autres techniques spectroscopiques, il est très peu probable que deux composés, même ayant des structures très proches (diastéréoisomères par exemple) présentent des spectres de RMN  $^{13}\text{C}$  superposables ou indifféremment différenciés. Il en résulte que le déplacement chimique est la donnée spectroscopique la plus utilisée pour identifier un composé connu dans un mélange.

Ainsi, chaque molécule sera définie par une série de déplacements chimiques qui constituera son spectre, ou en quelque sorte son empreinte digitale, à partir duquel elle pourra être identifiée. Pour cela, il est donc très important d'avoir une excellente reproductibilité des valeurs des déplacements chimiques, dans le spectre du mélange par rapport aux spectres des composés de référence. Divers paramètres doivent être pris en compte :

- La valeur du déplacement chimique (donnée en ppm par rapport à une référence interne) est indépendante du champ magnétique  $B_0$  de l'appareil utilisé, des séquences impulsives, des paramètres d'acquisition et de traitement du signal ;

- Cependant, en fonction de la fonctionnalisation des molécules, les valeurs de déplacements chimiques peuvent être influencées par la nature du solvant, la concentration et la présence d'autres molécules. C'est le cas par exemple pour les composés phénoliques dont les déplacements chimiques des carbones peuvent varier en fonction de la fonctionnalisation (alcool, composé carbonylé, oxyde) des autres composés oxygénés présents dans le mélange, à cause des liaisons hydrogènes susceptibles de se former (**Castola et al., 1997**).

Pour identifier un composé dans un mélange et afin d'obtenir une meilleure reproductibilité, il est préférable, de se référer aux déplacements chimiques de ses carbones tels qu'ils sont reportés dans une (des) bibliothèque(s) de spectres construite(s) au laboratoire, avec des paramètres expérimentaux parfaitement définis. Cette règle est d'ailleurs valable pour toutes les méthodes comparatives. Si le composé est absent de nos bibliothèques, on peut utiliser les valeurs des déplacements chimiques décrits dans la littérature récente. En effet, la sensibilité des appareils de RMN permet d'enregistrer les spectres avec une faible quantité de produit et par conséquent, avec une faible concentration, ce qui a pour effet de supprimer les liaisons hydrogène potentielles.

La RMN  $^{13}\text{C}$  a été appliquée avec succès à l'identification des constituants présents dans divers types de mélanges.

Dans le domaine des huiles essentielles, c'est à **Formàcek et Kubeczka** que l'on doit les travaux précurseurs d'utilisation de la RMN  $^{13}\text{C}$  comme outil d'analyse (**1982a, 1982b**). L'identification des constituants est basée sur la comparaison des spectres de l'huile essentielle avec ceux de composés de référence enregistrés avec les mêmes conditions expérimentales. Cependant, l'enregistrement des spectres avec très peu de solvant pour pallier le manque de sensibilité des appareils de l'époque, avait pour effet de provoquer sur de nombreux carbones des variations de déplacement chimique non négligeables. L'utilisation conjointe de cette méthode avec la CPG-SM a permis l'analyse d'une cinquantaine d'huiles essentielles, la RMN  $^{13}\text{C}$  étant utilisée plus comme un moyen de confirmation de composés que comme une technique d'identification propre. D'autres huiles essentielles ont été récemment analysées par les mêmes auteurs avec la même méthode (**Formàcek et Kubeczka, 2002**).

D'autres travaux sur l'analyse des huiles essentielles par RMN  $^{13}\text{C}$  ont été décrits. Encore aujourd'hui la plupart des auteurs utilisent la RMN  $^{13}\text{C}$  pour confirmer la présence des composés précédemment identifiés par CPG-SM :

- ❖ Le caryophyllène et l'oxyde de caryophyllène ainsi qu'une dizaine d'autres sesquiterpènes d'une fraction chromatographique de l'huile essentielle de bois de *Guarea guidonia* (Núñez et Roque, 1999),
- ❖ Divers monoterpènes et sesquiterpènes, (*trans*- $\alpha$ - et  $\beta$ -ionone, hexahydrofarnésyl acétone, *trans*-farnésyl acétone, *trans*-phytol), dans l'huile essentielle d'*Equisetum arvense* L. (Radulovic et al., 2006),
- ❖ Divers diesters de néryle dans l'huile essentielle d'*Eupatorium cannabinum ssp corsicum* (Paolini et al., 2007),
- ❖ Le limonène, le  $\beta$ -phellandrène, le  $\beta$ -eudesmol, la valencène, et le junipercamphor, composés majoritaires de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng (Khadri et al., 2008),
- ❖ L'estragole et le linalol qui différencient les huiles essentielles d'*Ocimum forskolei* Benth et d'*Ocimum basilicum* L. (Fatope et al., 2008).

Ferreira et al. (2001) ont mis au point une méthode d'identification des constituants d'une huile essentielle, basée sur l'étude du spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  du mélange et sa comparaison avec des spectres de mono- et sesquiterpènes décrits dans la littérature. Un logiciel informatique prend en compte simultanément la valeur des différents déplacements chimiques observés dans le mélange et la multiplicité de chacun des carbones, préalablement déterminée par des séquences DEPT. Après consultation de la banque de spectres décrits dans la littérature, le logiciel propose une identification.

#### II.4.3.4. Méthode d'analyse développée au laboratoire SPE

- **Principe de la méthode**

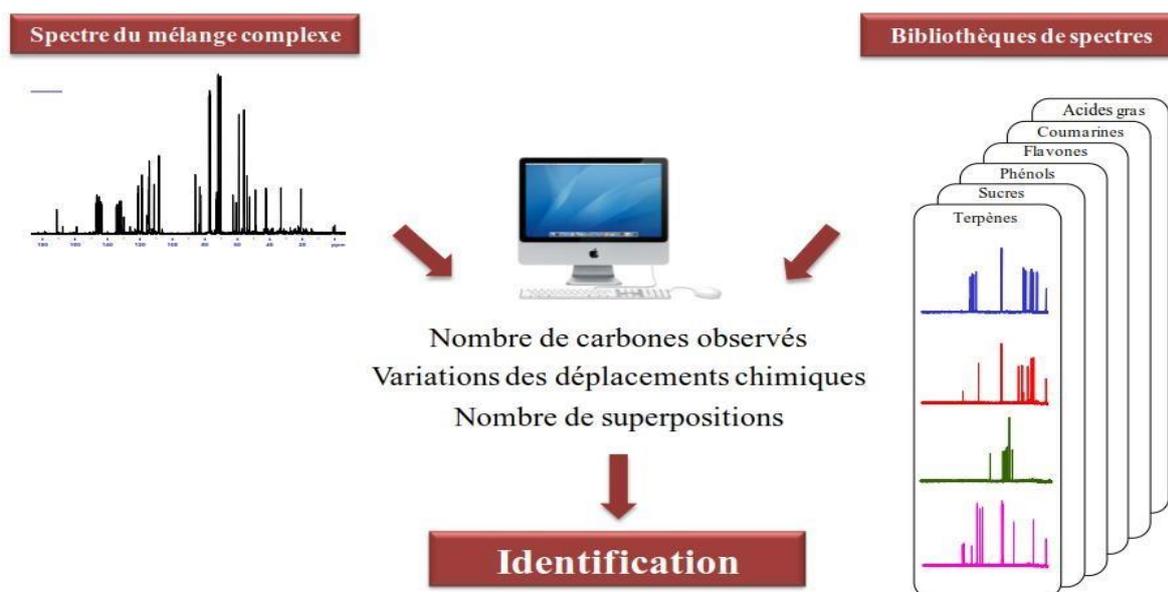
Depuis plus d'un quart de siècle, l'équipe « Chimie et Biomasse » utilise la RMN  $^{13}\text{C}$  comme outil d'analyse des mélanges naturels. Le but de la méthode est l'identification des constituants de mélanges naturels sans étape préalable de purification ou du moins en limitant les étapes de séparation (Corticchiato et Casanova, 1992 ; Tomi et al., 1995).

Le principe de RMN consiste à observer dans le spectre du mélange les raies de résonance appartenant à un composé donné (dont on connaît la série de déplacement chimique) et ce faisant de l'identifier. L'objectif est donc d'éviter, ou du moins de réduire, les étapes longues et fastidieuses de purification des constituants.

L'originalité de cette méthode réside dans l'informatisation de la recherche, grâce à un logiciel d'aide à l'identification développé au laboratoire. Celui-ci assure la comparaison des déplacements chimiques de chacun des C du mélange avec ceux des composés de références

répertoriés dans des bibliothèques de spectres (**Figure 19**). L'enregistrement des spectres des composés de références et des mélanges est réalisé dans des conditions expérimentales identiques (nature du solvant, concentration, paramètres d'enregistrement des spectres) (**Desjobert et al., 1997 ; Tomi et al., 1995 ; Bradesi et al., 1996 ; Tomi et Casanova., 2000**). Afin d'identifier les constituants d'un mélange, il est indispensable de prendre en compte trois paramètres directement accessibles par le logiciel :

- le nombre de pics observés par rapport au nombre de pics attendus pour chaque molécule ;
- le nombre de superpositions pouvant se produire lorsque les différents effets électroniques et/ou stériques font que deux carbones appartenant à deux molécules différentes ont fortuitement le même déplacement chimique, ou lorsque les molécules présentes ont une partie de leur squelette et de leur fonctionnalisation très proche ;
- les variations des déplacements chimiques ( $\Delta\delta$ ) des carbones dans le spectre du mélange par rapport aux valeurs de référence.



**Figure 19:** Identification des constituants d'un mélange complexe par RMN  $^{13}\text{C}$ .

L'identification des composants individuels est basée sur :

- i) La comparaison de leurs indices de rétention ( $I_r$ ) de CPG sur colonnes polaire et apolaire, déterminés par rapport aux temps de rétention d'une série de n-alcanes avec interpolation linéaire, avec ceux des composés de référence ;
- ii) Par la concordance spectrale avec les spectres de masses contenus dans les bibliothèques du laboratoire et les bibliothèques de spectres commerciales (**Bighelli et Casanova, 2009 ; König et al., 2001**) ;

iii) Sur la comparaison des signaux dans les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  des HE avec ceux des spectres de référence compilés dans la bibliothèque spectrale de laboratoire avec l'aide d'un logiciel développé au laboratoire « Chimie-biomasse ».

## **II.5. Activités biologiques des HE**

Le rôle physiologique des HE pour le règne végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés. Les HE sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydantes et antiparasitaires. On leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (**Valnet *et al.*, 1978**).

### **II.5.1. Activité antioxydante**

De nombreuses HE (les huiles de cannelle, de piment, de laurier et d'origan), présentent un pouvoir antioxydant. Elles ont d'excellentes capacités à inhiber les réactions oxydatives (**Karioti *et al.*, 2006**). Ce pouvoir antioxydant est mis à profit dans la conservation alimentaire. En effet la capacité antioxydante de l'huile volatile est étroitement liée au contenu phénolique (**Stefanovits-Banyai *et al.*, 2003**). Cependant, le linalol (composé non phénolique), est capable de réduire le radical DPPH (**Jukie *et al.*, 2005**). Le camphre est également un antioxydant (**Teixérra da, 2004**).

### **II.5.2. Activités antimicrobiennes**

La plupart des HE possèdent des propriétés antimicrobiennes plus ou moins prononcées. En effet, en raison de leur caractère lipophile, leurs constituants se lient aux membranes cellulaires des micro-organismes. Ils inhibent notamment les échanges d'électrons membranaires lors des phosphorylations oxydatives et freinent ainsi le métabolisme énergétique. De fortes concentrations en HE conduisent également à la lyse membranaire et à la dénaturation des protéines cytoplasmiques (**Teuscher, 2005**).

#### **II.5.2.1. Activité antibactérienne**

Plusieurs travaux montrent que les HE et leurs composés majoritaires ont un effet antibactérien vis-à-vis des bactéries à Gram (+) et à Gram (-) (**Bouhdid *et al.*, 2006 ; Ultée *et al.*, 2000 ; Mustafa *et al.*, 2008**). L'activité antibactérienne des HE est principalement liée à leur composition chimique et en particulier, à la nature de leurs composés majoritaires : Thymol, Carvacrol et Eugénol. Les trois composés phénoliques issus des plantes aromatiques (*Origan*,

*Thym, Sauge, Romarin et Clou de girofle*) ont un effet antibactérien à large spectre. Le Thymol est l'élément actif des rince-bouches et l'Eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires et dentaires. Le Carvacrol est le plus actif de tous et est non toxique. Il est utilisé comme agent de conservation alimentaire (**Pauli, 2001 ; Fabian et al., 2006 ; Burt, 2004**).

Il est admis que l'activité antibactérienne des HE se classe dans l'ordre décroissant suivant la nature de leur composés majoritaires : phénol > alcool > aldéhyde > cétone > oxyde > hydrocarbures > esters (**Franchomme, 1981 ; Lee et al., 1971**). L'effet des composés quantitativement minoritaires n'est parfois pas négligeable (**Tantaoui-Elaraki et al., 1993**).

#### **II.5.2.2. Activité antifongique**

Les activités antifongiques de nombreuses HE, incluant les huiles de thym, de citronnelle, de cannelle et de l'arbre à thé, ont été décrites (**Burt, 2004**). L'efficacité des huiles extraites des achillées, *Achillea setacea*, *Achillea teretifolia* (**Unlu et al., 2002**) et *Achillea millefolium* (**Candan et al., 2003**) sur la levure pathogène *Candida albicans*, a également été mise en évidence. Ainsi, dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les HE ou leurs composés actifs peuvent également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (**Lis-Balchin, 2000**).

#### **II.5.3. Autres activités**

Certaines HE présentent également des activités antitumorales. Elles sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. Celle isolée des graines de *Nigella sativa* L., démontre une activité cytotoxique *in vitro* contre différentes lignées cellulaires tumorales. *In vivo*, elle limite la prolifération de métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé la tumeur P815 (**Mbarek et al., 2007**). L'HE de *Melissa officinalis* s'est révélée efficace sur des cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant les cellules leucémiques HL-60 et K562 (**De Sousa et al., 2004**).

D'autres applications médicales sont effectuées. Des travaux ont prouvé la capacité de l'HE de Cardamome à limiter la formation d'ulcères gastriques induits par l'éthanol (**Jafri et al., 2001**). Il a également été démontré que les HE facilitent la pénétration transdermique de substances médicamenteuses lipophiles, comme l'Oestradiol (**Monti et al., 2002**). Un effet anti-inflammatoire a été décrit pour les HE de *Protium strumosum*, *Protium lewellyni*, *Protium grandifolium* (**Siani et al., 1999**). Récemment, il a été montré que l'HE des racines de *Carlina*

*acanthifolia* est capable d'inhiber l'inflammation induite par une injection de carraghénine chez le rat (**Dordevic et al., 2007**).

### III. GÉNÉRALITÉS SUR LES PLANTES ÉTUDIÉES

#### III.1. Présentation de *Solanum erianthum* et *Solanum rugosum*

##### III.1.1. Solanaceae

Les solanaceae sont une famille de plantes à fleurs, appartenant à l'ordre des solanales, du groupe d'astéroïdes dicotylédones (Magnoliopsida). Cette famille comprend environ 98 genres et environ 2 700 espèces présentant une grande diversité d'habitats, de morphologies et d'écologies. Elle a une distribution mondiale, et présente sur tous les continents (**Yadav et al., 2016**). Elle regroupe des arbres, des arbustes, des lianes et des herbes vivaces ou annuelles. Les feuilles sont composées ou entières généralement alternes et portées par un pétiole. Les fleurs sont régulières. Elles se composent de cinq sépales verts, cinq pétales colorés, cinq étamines fixées sur les pétales. Le fruit est entouré à la base par le calice persistant. Il est soit charnu (baie) soit sec et s'ouvrant par des fentes. Les graines sont rondes et aplaties (**Anonyme 2**).

##### III.1.2. Genre *Solanum*

Le genre *Solanum* appartient à la famille des solanaceae et comprend plus de 1400 espèces (**Anonyme 3**). Certaines de ces espèces sont utilisées à des fins alimentaires dont *S. tuberosum* (pomme de terre sauvage), *S. lycopersicum*, (tomate), *S. melongena* (aubergine). Et d'autres membres sont cultivés à des fins médicinales et ornementales que sont : *S. americanum*, *S. nigrum*, *S. macranthum*, *S. pseudocapsicum*, *S. rostratum*, *S. tuberosum*, *S. torvum* et celles qui font objet de notre étude à savoir *S. erianthum*, *S. rugosum* (**Anonyme 4 ; Anonyme 5**).

En Côte d'Ivoire, la flore comprend 22 taxons de Solanacées repartis en 5 genres (**Aké-Assi, 2002**).

##### III.1.3. Travaux antérieurs

Les extraits aux solvants de diverses espèces du genre *Solanum* ont fait l'objet d'un nombre de travaux :

- *S. erianthum* : l'étude phytochimique des feuilles, réalisée en Inde a révélé la présence de phénols, saponines, phytostérols, terpenoïdes, tanins et flavonoïdes (**Francis et al., 2013**). Deux norsesquiterpénoïdes : les solanérianones A et B,

quatre sesquiterpénoïdes : (-)-solavétivone, (+)-anhydro- $\beta$ -rotunol, solafuranone, lycifuranone A ; un alcaloïde, la *N-trans*-feruloyltyramine, un acide gras, l'acide palmitique ; un phénylalcaloïde, l'acétovanillone et deux stéroïdes ; le  $\beta$ -sitostérol et le stigmastérol ont été isolés des racines Taiwanaise (**Chen et al., 2013**) ;

- *S. rugosum* : **Pinto et al. (2011)** ont isolé des fruits de l'espèce du Brésil des glycoalcaloïdes (solasonine et solamargine). Des flavonoïdes tels que tiliroside, 7-*o*- $\alpha$ -L-ramnopyranosyl et kaempferol-3-*o*-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 6)- $\alpha$ -L-ramnopyranosyl] ont été signalés dans les feuilles. Ces mêmes auteurs ont également indiqué la présence de la proline et de l'acide eicoisanoïque dans les feuilles ;
- *S. aethiopicum* : les stérols et polyphénols, flavonoïdes, coumarines, alcaloïdes, quinones, saponines, et glucosides ont été identifiés de l'espèce ivoirienne par criblage chimique des extraits du pédoncule floral (**Mamyrbekova-Békro et al., 2013 ; Boua et al., 2013**).
- *S. torvum* : des flavonoïdes (isoquercétine, rutine, kaempferol, quercétine) ont été identifiés dans l'espèce Chinoise (**Lu Yan-Y et al., 2011**).
- *S. dulcamara* : la solanine, la solasodine et la  $\beta$ -solamarine ont été identifiées dans les différents organes de cette plante (**Kumar et al., 2009**).

Plusieurs études sont également rapportées dans la littérature concernant les huiles essentielles de bon nombre d'espèces du genre *Solanum* :

- À notre connaissance deux travaux, présents dans la littérature traitent de la composition chimique des HE de *S. erianthum*. Les huiles essentielles de *S. erianthum* du Nigeria sont caractérisées par l'abondance d' $\alpha$ -terpinolène (17,8%), d' $\alpha$ -phellandrène (17,5%), de *p*-cymène (15,7%) et de  $\beta$ -pinène (11,7%) dans les feuilles ; l' $\alpha$ -humulène (23,1%), l'époxyde d'humulène II (20,0%), l'oxyde de caryophyllène (16,5%), le salicylate de méthyle (11,8%) et le  $\beta$ -caryophyllène (10,9%) dans les fruits (**Essien et al., 2012**). L' $\alpha$ -humulène (46,6%) et  $\beta$ -caryophyllène (20,6%) sont les composés dominants des HE extraites des feuilles selon les travaux de **Ogunwande et al. (2013)** ;
- L'huile essentielle de feuille de *S. torvum* qui est dominée par (*Z*)-asarone (30,1%) et (*E*)-asarone (36,4%). Les huiles de tiges, fruits et racines contiennent respectivement ( $\beta$ -vétivenène (55,4%) et 1,10-di-épi-cubénol

(25,6%), (dillapiole (55,3%), salicylate de méthyle (19,5%) et santalone (16,1%)); (dillapiole (48%), cyclocolorénone (12,6%) et nérol (12%)) (**Barbosa et al., 2012**) ;

- La composition de l'huile de *S. nigrum* est représentée par dillapiole (22,22%),  $\alpha$ -cadinol (16,47%) et *p*-cymène (10,01%) (%) (**Taherpour et al., 2017**) ;
- Décane (41,06%) et undécane (29,26%) sont les composés dominant l'huile essentielle de *S. pseudocapsicum* (**Aliero et al., 2006**) ;
- Les huiles de *S. xanthocarpum*, ont pour principaux constituants, dans les fruits (benzoate de benzyle, 21,7% et (E, E) géranyllinalol, 12,6%) ; les racines (solavétivone, 22,9% ; acide palmitique, 21,0% et acide linoléique, 8,2%) et dans les tiges (acide palmitique 28,9%, heptacosane 12,8% et acide linoléique 10,1%) (**Satyral et al., 2015**).

À notre connaissance, aucune étude concernant la composition chimique de l'huile essentielle de *S. rugosum* n'est reportée dans la littérature.

#### **III.1.4. Présentation de *S. erianthum* D. Don**

La position systématique de la plante est représentée ci-dessous :

Règne : Plantea

Sous règne : Tracheobionta

Superdivision : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asteridae

Ordre : Solanales

Famille : Solanaceae

Genre : *Solanum* L

Espèces : *Solanum erianthum* D. Don

Synonymes : *Solanum adulterinum* Buch.Ham. ex Wal

*Solanum verbascifolium* sensu Britton & Millsp., Non L

*Solanum verbascifolium* L. var. *adulterum* G. Don (**Anonyme 6**).

Elle est connue en terre ivoirienne sous le nom de Koumonssi en Baoulé et en Agni, Mossifaga en Malinké, Ougopôh en Bété et au Ghana, Pepediewo (**Sam et al., 2013**).

#### III.1.4.1. Description botanique

*S. erianthum* D. Don (**Figure 20**) est un arbuste mesurant environ 6 m de hauteur, avec des poils étoilés doux et denses (**Essien et al., 2012**). Il a des feuilles alternes simples sans stipules. Ses fleurs sont bisexuées et son fruit à poils courts est une baie globuleuse mesurant 8 à 12 mm de diamètre de couleur jaune terne à orange à maturité, contenant de nombreuses graines (**Anonyme 7**).



**Figure 20: Rameaux feuillus de *Solanum erianthum* (Solanaceae)**

**(Photo prise par Kouao en 2018)**

#### III.1.4.2. Usages et propriétés pharmacologiques

Les feuilles sont considérées comme un médicament puissant pour expulser toutes impuretés dans l'urine et en particulier pour traiter les leucorrhées (**Burkill, 2000 ; Essien et al., 2012**). Aussi sont-elles utilisées pour le traitement des hémorroïdes en Côte d'Ivoire, du cancer et du paludisme au Nigeria (**Ajasa et al., 2004 ; Chen et al., 2013**). La pâte de feuilles est utilisée pour panser les ulcères au Ghana (**Sam et al., 2013**).

En Taïwan, les feuilles sont utilisées comme tonique maternel et pour traiter la névralgie lombaire. Les tiges et les racines y sont utilisées pour soigner les rhumatismes et baisser la fièvre ; les racines sont aussi utilisées pour le traitement des maux d'estomac, des douleurs

abdominales, des fractures, des ecchymoses et des lésions granulaires (**Kao et al., 1990 ; Chang et al., 2003 ; Chen et al., 2013**).

Les feuilles de *S. erianthum* du Nigéria ont des propriétés antioxydantes (**Aluko, 2017**), anticancéreuse, antipaludique et bactérienne tandis que les racines de l'espèce Taiwanaise et Indienne ont démontré une activité anti-inflammatoire (**Chen et al., 2013 ; Francis et al., 2013**).

### **III.1.5. Présentation de *Solanum rugosum* Dunal**

La position systématique de la plante est représentée ci-dessous :

Règne : Plantea

Sous règne : Tracheobionta

Superdivision : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asteridae

Ordre : Solanales

Famille : Solanaceae

Genre : *Solanum* L

Espèces : *Solanum rugosum* Dunal

Synonyme : *Solanum asperum* Rich (**Anonyme 8**).

*S. rugosum* est aussi appelé en Baoulé et en Agni Koumonssi puis en Malinké Mossifaga en Côte d'Ivoire (**Sam et al., 2013**).

#### **III.1.5.1. Description botanique**

*S. rugosum* est un petit arbre avec des branches étalées de 1 à 5 mètre de hauteur (**Figure 21**). La tige est cylindrique avec un fût court atteignant 10 cm de diamètre. Ses fleurs sont hermaphrodites et ses feuilles sont pétiolées, simples, alternes, avec stipules. Ses fruits sont des baies, de diamètre variant entre 9 et 11mm, généralement de couleur verte (**Anonyme 9 ; Agra et al., 2009**).



**Figure 21: Rameaux feuillus de *Solanum rugosum* (Solanaceae)**

**(Photo prise par Kouao en 2018)**

### **III.1.5.2. Usages et propriétés pharmacologiques**

Les feuilles de cette plante sont utilisées pour traiter les plaies cutanées et ne sont pas comestibles (**Kamagate *et al.*, 2015**). Également, les feuilles tout comme celles de *S. erianthum*, sont utilisées pour le traitement des hémorroïdes et comme contraceptif en Côte d'Ivoire.

La poudre des feuilles séchées est utilisée pour soigner l'ulcère de buruli en Côte d'Ivoire (**Trébissou *et al.*, 2014**).

Les fruits de *S. rugosum* du Brésil présentent une bonne activité antifongique (**Pinto *et al.*, 2011**) et molluscicide (**Silva *et al.*, 2008**).

## III.2. Présentation de *Oricia suaveolens* Engl.

### III.2.1. Rutaceae

Cette famille comporte en Côte d'Ivoire de nombreuses espèces d'arbustes, de petits arbres très souvent épineux, et plus rarement pas d'assez grands arbres (*Araliopsis tabouensis*) (Aké-Assi, 2002). Les Rutacées se reconnaissent facilement par leurs feuilles odorantes en les froissant. Le limbe est ordinairement criblé de points translucides. Leurs feuilles sont composées, pennées ou digitées, ou trifoliolées ou unifoliolées, exceptionnellement simples (*Aeglopsis*). Elles donnent des fleurs hermaphrodites ou polygames, généralement très petites, possédant 4 à 5 sépales et pétales. Les sépales sont le plus souvent courts et soudés à la base en une petite cupule très légèrement dentée ou lobée. Quant aux pétales, ils sont imbriqués, rarement valvaires. Les étamines sont en nombre égal ou double des pétales et les ovaires sont souvent à plusieurs loges (*Clausena*, *Araliopsis*, *Aeglopsis*, *Afraegle*, *Citropsis*) ou à une seule loge (*Teclea*) ou encore à deux loges (*Diphasia*), avec parfois à plusieurs carpelles libres ou presque (*Zanthoxylum*, *Oricia*, *Diphasia*).

Les Rutaceae donnent des fruits ordinairement charnus, bacciformes (à peau coriace ou ligneuse) ou drupacés, rarement capsulaires (*Zanthoxylum*). Les *Oricia* et plus rarement, les *Zanthoxylum* ont un fruit composé par plusieurs méricarpes résultant du développement des carpelles presque libres.

La flore ivoirienne comprend 20 taxons répartis en 9 genres : *Aeglopsis*, *Afraegle*, *Araliopsis*, *Citropsis*, *Clausena*, *Diphasia*, *Oricia*, *Teclea* et *Zanthoxylum* (Aké-Assi, 2002).

*Oricia suaveolens* est communément connu en Afrique de l'Ouest sous les noms de « iolo » en Abbey (Côte d'Ivoire), « parihi » en Krou et en Bété (Côte d'Ivoire), « jagbole » en Mende (Sierra Leone) (Fouotsa *et al.*, 2013) et « ain-adie » en Yoruba (Nigeria) (Umberto, 2012).

### III.2.2. Description botanique

*O. suaveolens* (Engl) est un arbuste ou un arbre atteignant 10 m de long. Ses feuilles (Figure 21) sont trifoliées, rarement simples, avec un pétiole long (Oricia, 1897).



**Figure 22: Rameaux feuillus de *Oricia suaveolens* (Rutaceae)**

**(Photo prise par Kouao en 2018)**

### **III.2.3. Usages et propriétés pharmacologiques**

Les écorces de tronc et les feuilles sont utilisées comme des antiparasitaires, cytotoxiques, analgésiques, fébrifuges et pour le traitement des maux de dents, des fièvres (Maurice, 2014 ; Umberto, 2012).

### **III.2.4. Travaux antérieurs**

Concernant l'espèce *O. suaveolens* des études portant sur les extraits aux solvants sont mentionnées dans la littérature :

- Le fractionnement de l'extrait méthanolique des feuilles a conduit à l'isolement de l'alkaloïde furoquinoléine (6,7-méthylènedioxy-5-hydroxy-8-méthoxy-dictamine et du glycoside de flavanone (5-hydroxy-4'-méthoxy-7-O-[ $\alpha$ -l-rhamnopyranosyl(1" $\rightarrow$ 5")- $\beta$ -d-apiofuranosyl]-flavanoside) (Nouga *et al.*, 2015). Stigma-5-en-3-ol, lupol, évoxanthine, norevoxanthine, 1-hydroxy-2,3-diméthoxy-10-méthylacridone, 1,3-diméthoxy 10-méthylacridone ont été isolés du bois et skimmianine, kokusaginine, montrifoline, 1-hydroxy-4-méthoxy-10-méthylacridone, syringarésinol, limonine isolés de la racine (Fouotsa *et al.*, 2013). Deux alcaloïdes indoloquinazoline : orisuaveoline A et orisuaveoline B,

deux alcaloïdes de furoquinoline : la quinosuaveoline A et la quinosuaveoline B, et 12 composés ont été isolés d'*Oricia suaveolens* (Wansi, 2008). Des recherches phytochimiques antérieures sur l'écorce de la tige de cette plante ont permis d'identifier tecleanone, evoxanthine, kokusaginine, halfordinine, 1,3-diméthoxy-N-méthylacridone, lupeol (Fish *et al.*, 1978) et l'oricine (Abe, 1971 ; Abe *et al.*, 1971).

Les espèces du genre de la famille des Rutaceae ont fait l'objet de plusieurs études concernant les extraits aux solvants organiques dans la littérature. Ainsi :

- *O. gabonensis* : Des écorces de racines ont été isolées l'évoxanthine, un alcaloïde et le lupéol, un composé terpénique (Vaquette *et al.*, 1975).
- *Zanthoxylum gilletii* : Selon Adou *et al.* (2019), plusieurs structures de coumarines ont été identifiées, au nombre desquelles figurent l'auraptène, l'impératorine, les isocoumarines, les furanocoumarines et les hydroxycoumarines. Par ailleurs, certains composés tels que les flavonoïdes (apigénine, kaempféride et médicarpine), les acides phénoliques (acides gallique et cinnamique) et le dérivé anthracénique (glucorhéine) ont été également identifiés. Les alcaloïdes de type oblongine, tembétarine et mafnoflorine et le flavonoïde hespéridine ont été isolés et identifiés de l'écorce (Corado *et al.*, 2001). Cinq alcaloïdes de type amide, N-(4-hydroxyphénéthyl)octacosanamide, N-(4-hydroxyphénéthyl) hexacosanamide, N-(4-hydroxyphénéthyl)décaneamide, N-vanilloyltyramine, et N-(O-docosanoylvanilloyl)tyramine, ont été isolés de l'écorce de tige de cette plante (Wanzi *et al.*, 2009).

Plusieurs travaux concernant la composition chimique des composés volatils des plantes aromatiques de la famille des Rutaceae sont mentionnées dans la littérature, mais aucune étude sur *O. suaveolens* n'est signalée :

- Les composés majeurs de l'huile essentielle de *Afraegle paniculata* sont le  $\delta$ -cadinène (11,76%),  $\alpha$ -sélinène (9,01%),  $\alpha$ -cubébène (8,80%), o-menth-8-ène (6,06%) et le  $\beta$ -caryophyllène (5,66%) (N'dri *et al.*, (2011) ;
- Selon les travaux de Steinberg *et al.* (2017), l'huile des écorces de *Zanthoxylum clava-herculis* est dominée par le sabinène (47,0% ; 95%), le limonène (18,7% ; 99%), et le terpinèn-4-ol (12,9% ; 75%) et celle de *P. trifoliata* est composée de limonène (15,2% ; 99%), de sabinène (6,9% ; 79%) et de  $\beta$ -phellandrène (6,2% ; 87%) ;

- Les travaux de **Pham et al. (2009)** ont montré que : la myristicine (35.3%), le terpinolène (16.7%), et le d-3-carène (11.3%) sont les constituants qui prédominent l'huile de *Clausena indica* ;
- L'huile de feuilles de *M. peninsularis* est dominée par les sesquiterpènes, les principaux composants sont ( $\beta$ -caryophyllène et  $\alpha$ -humulène). Celle de *Melicope fellii* est dominée par le  $\beta$ -caryophyllène (9,9%), l' $\alpha$ -humulène (8,4%) et l'oxyde de caryophyllène (7,4%) (**Brophy et al., 2004**).

## CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

### I. MATÉRIEL

#### I.1. Matériel végétal

Les feuilles, les écorces de tiges et de racines de *S. rugosum*, les feuilles de *S. erianthum*, les feuilles, les écorces de tronc et de racines de *Oricia suaveolens* ont constitué le matériel végétal d'étude. Il a été récolté en Côte d'Ivoire respectivement dans la région d'Abidjan, plus précisément à Abobo (5° 26' 00" Nord, 4° 01' 00" Ouest) et à Adjamé (5° 29' 17" Nord, 4° 01' 56" Ouest) entre le mois de juillet et de septembre 2017 pour les organes provenant de *S. rugosum* et de *S. erianthum*, et dans la forêt de petit Yapo, une division de la forêt de Yapo-Abbé (5° 43' 50,5" Nord, 4° 4' 41,9" Ouest) sur la route de la ville d'Agboville, en septembre 2017 pour ceux de *Oricia suaveolens*. Les identifications ont été effectuées par les botanistes de l'Université NANGUI ABROGOUA, par Monsieur Tehe Henri, botaniste au Centre Suisse et de Recherche Scientifique en Côte d'Ivoire (CSRS) et confirmée par le Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, en comparaison avec les herbiers référencés LAA 10504, 7419 (*S. rugosum*), LAA 10503, 9317 (*S. erianthum*) et LAA 10096, 8961, 8343, 8415 (*Oricia suaveolens*). Les organes identifiés ont été séchés sous climatisation permanente à une température de 18°C.

#### I.2. Souches bactériennes et fongiques

Les souches bactériennes et fongiques issues du laboratoire du Centre Suisse de Recherches Scientifiques (CSRS) et de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI) ont été utilisées pour la réalisation des tests biologiques sur les souches suivantes :

- GRAM (-) : *Escherichia coli* ATCC 25922 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ; *Proteus mirabilis* ATCC 14153 ; *Escherichia coli* 353UB/19 CNRa (663C/19) ; *Klebsiella oxytoca* 343UB/19 CNRa ; *Pseudomonas aeruginosa* 301UB/19 CNRa (578C/19) ; *Pseudomonas aeruginosa* 692Ma/19 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ;
- GRAM (+) : *Staphylococcus epidermidis* CIP 53124 ; *Staphylococcus aureus* CIP 483 ; *Staphylococcus aureus* 348C/19 CNRa (5168) ; *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ; *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ;
- CHAMPIGNONS : *Candida albicans* ATCC 10231 ; *Candida tropicalis* ATCC 13803 ; *Candida glabrata* ATCC 66032.

Les souches bactériennes cliniques ont eu leurs antibiogrammes réalisés et leurs phénotypes connus (**Tableau 1**).

**Tableau 1 : Phénotype des souches bactériennes cliniques**

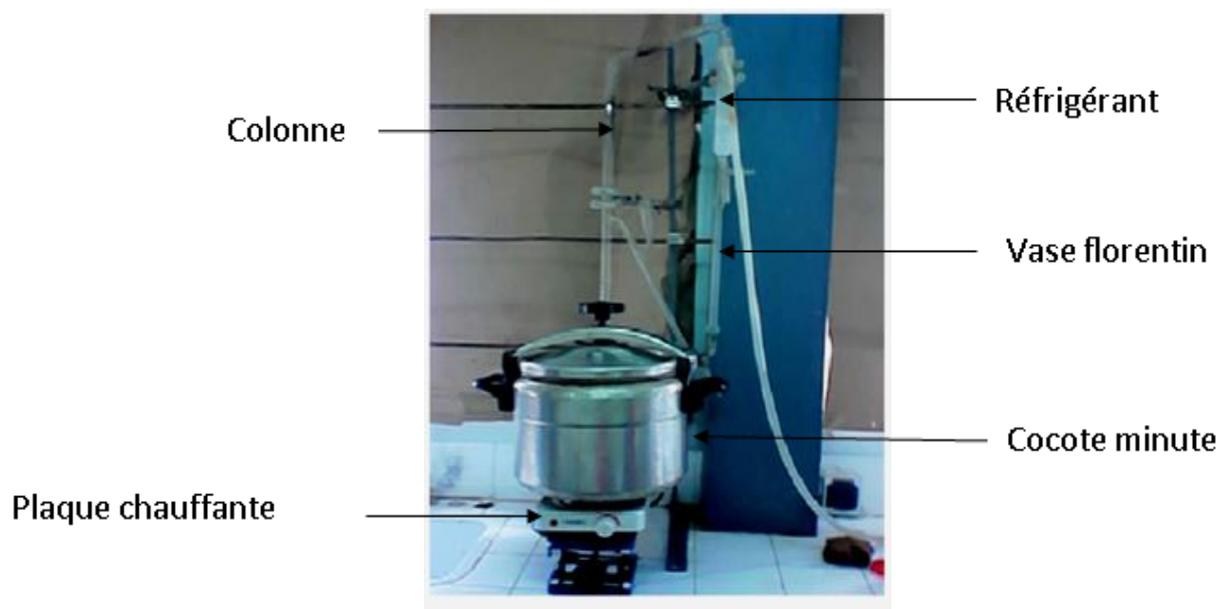
Code	Souche	Phénotype
348C/19	<i>Staphylococcus aureus</i>	Résistante à la Méricilline
ATCC 29213	<i>Staphylococcus aureus</i>	Sensible Résistante productrice de Bétalactamase à
353UB/19	<i>Escherichia coli</i>	Spectre Elargie Résistante aux Fluoroquinolones
ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i>	Sensible
343UB/19	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Résistante aux Fluoroquinolones
301UB/19	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistante à l'Imipenème
692Ma/19	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistante à l'Imipenème
ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sensible

## II. MÉTHODES

### II.1. Extraction et caractérisation des huiles essentielles

#### II.1.1. Hydrodistillation

L'extraction des HE a été faite à partir d'un hydrodistillateur de type Clevenger, connecté à une cocote minute de capacité 10 L (**Figure 23**) dans laquelle sont introduits le matériel végétal et le solvant d'extraction (eau) séparés par une grille. La cocote minute est chauffée par la suite à 100 °C sur une plaque chauffante pendant une durée de 3h30. Les vapeurs traversant le matériel et emportant les composés volatils sont condensés au niveau du réfrigérant et recueillies au niveau de l'essencier où l'huile essentielle est séparée par gravité à la surface de l'eau. Elle est transvasée dans un tube à essai, séchée sur MgSO<sub>4</sub> anhydre puis conservée dans un pilulier au réfrigérateur à 5°C.



**Figure 23:** Dispositif d'extraction des huiles essentielles

(Photo prise par Goble en 2015)

## II.1.2. Caractérisations chimiques

### II.1.2.1. Préparation des échantillons pour les analyses CPG et CPG-SM

Les huiles essentielles sont dissoutes dans le chloroforme deutéré avant d'être injectées au chromatographe (50  $\mu\text{L}$  d'HE dans 350  $\mu\text{L}$  de  $\text{CDCl}_3$ ).

### II.1.2.2. Analyses par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les HE extraites ont été analysées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (type Clarus 500 de Perkin-Elmer), équipé d'un injecteur diviseur, avec deux colonnes de silice apolaire et polaire de 50 x 0,22 mm, diamètre interne, 0,25  $\mu\text{m}$  d'épaisseur du film, revêtu respectivement de polydiméthylsiloxane ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{OSi}$ )<sub>n</sub> et de polyéthylène glycol, et de deux détecteurs à ionisation de flamme. Les conditions de fonctionnement sont les suivantes : le gaz vecteur est l'hydrogène ; la pression au sommet de la colonne est de 20 psi ; la température de l'injecteur et des détecteurs est de 250°C. La programmation de la température est de 60°C à 220°C à une vitesse de 2°C / min, avec un roulement de 20 minutes à 220°C ; l'injection a été réalisée en mode diviseur avec un rapport 1/60. La quantité d'échantillon injectée est de 0,5  $\mu\text{L}$ .

### II.1.2.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG-SM)

Les analyses ont été effectuées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer autosystem XL équipé d'un injecteur automatique et d'une colonne apolaire (Rtx-1) (diamètre interne : 60  $\mu\text{m}$

0,22 mm, épaisseur du film de 0,25  $\mu\text{m}$ ), couplé à un appareil Perkin Elmer TurboMass détecteur de masse. Le gaz vecteur est de l'hydrogène (1 mL / min) et exerce une pression de colonne à 25 psi. La température de l'injecteur est de 250°C et celle du détecteur de 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de température de 60°C à 230°C, à 2°C / min, puis d'un palier de 45 minutes à 230°C. L'injection a été réalisée en mode scindé avec un rapport de division de 1/50. La quantité d'échantillon injectée est de 0,2  $\mu\text{L}$ . Les spectres de masse sont obtenus au moyen d'un détecteur à filtre quadripolaire et l'ionisation est réalisée par impact électronique par un faisceau d'électrons de 70 eV.

#### II.1.2.4. Analyses par résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres ont été enregistrés avec une sonde de 5 mm. Le solvant est  $\text{CDCl}_3$  additionné de tétraméthylsilane (TMS). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm ( $\delta$ ) par rapport au TMS pris comme référence interne.

Les spectres du  $^{13}\text{C}$  ont été enregistrés avec les paramètres suivants : angle d'impulsion 45° ; temps d'acquisition = 2,7 s correspondant à une acquisition de 128 K avec une largeur spectrale (SW) de 24000 Hz (environ 240 ppm) ; délai de relaxation  $D1 = 0,1$  s ; résolution digitale de 0,183 Hz/pt. Le nombre d'accumulation est compris entre 2000 et 5000 pour chaque enregistrement. Les données du signal (FID) sont multipliées avant la transformée de Fourier par une fonction exponentielle ( $LB = 1,0$  Hz). Les spectres sont édités sur un logiciel fourni par le fabricant du spectromètre (Bruker Topspin<sup>TM</sup>) et traitées via le logiciel Mestrelab MestRENOVA (version 6.0.2-5475).

#### II.1.2.5. Identification des constituants individuels

L'identification des composants repose sur :

- (a) la comparaison de leurs indices de rétention CPG (Ir) sur des colonnes polaires et apolaires déterminées par rapport aux temps de rétention d'une série de n-alcanes (C7-C28) avec interpolation linéaire (logiciel Target Compounds de Perkin Elmer) avec ceux des composés authentiques ou des données de la littérature (**König *et al.*, 2001**) ;
- (b) la correspondance informatique avec des bibliothèques de spectres commerciales (**McLafferty et Stauffer, 1994 ; Adams, 2001**) où élaborées au laboratoire avec ceux des données de la littérature ;
- (c) la comparaison des signaux contenus dans les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  des huiles essentielles avec ceux des spectres de référence compilés dans la bibliothèque spectrale du laboratoire de

l'Université de Corse à l'aide d'un logiciel développé par l'équipe « Chimie et Biomasse » (Tomi *et al.*, 1995 ; Rezzi *et al.*, 2002 ; Ouattara *et al.*, 2014).

Dans les échantillons étudiés, les composants individuels ont été identifiés par RMN <sup>13</sup>C à des teneurs aussi faibles.

#### II.1.2.6. Rendement des extractions des HE

Les rendements des HE extraites à partir des différents organes (feuilles, écorces de tronc et racines) des plantes d'étude sont calculés à partir du rapport de la masse de l'HE sur celle de la matière végétale sèche (m/m) (équation 1).

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse d'HE obtenue (g)}}{\text{Masse de matière végétale sèche (g)}} \times 100 \quad (1)$$

### II.2. Étude des extraits aux solvants organiques de *S. rugosum*

#### II.2.1. Préparation du matériel végétal

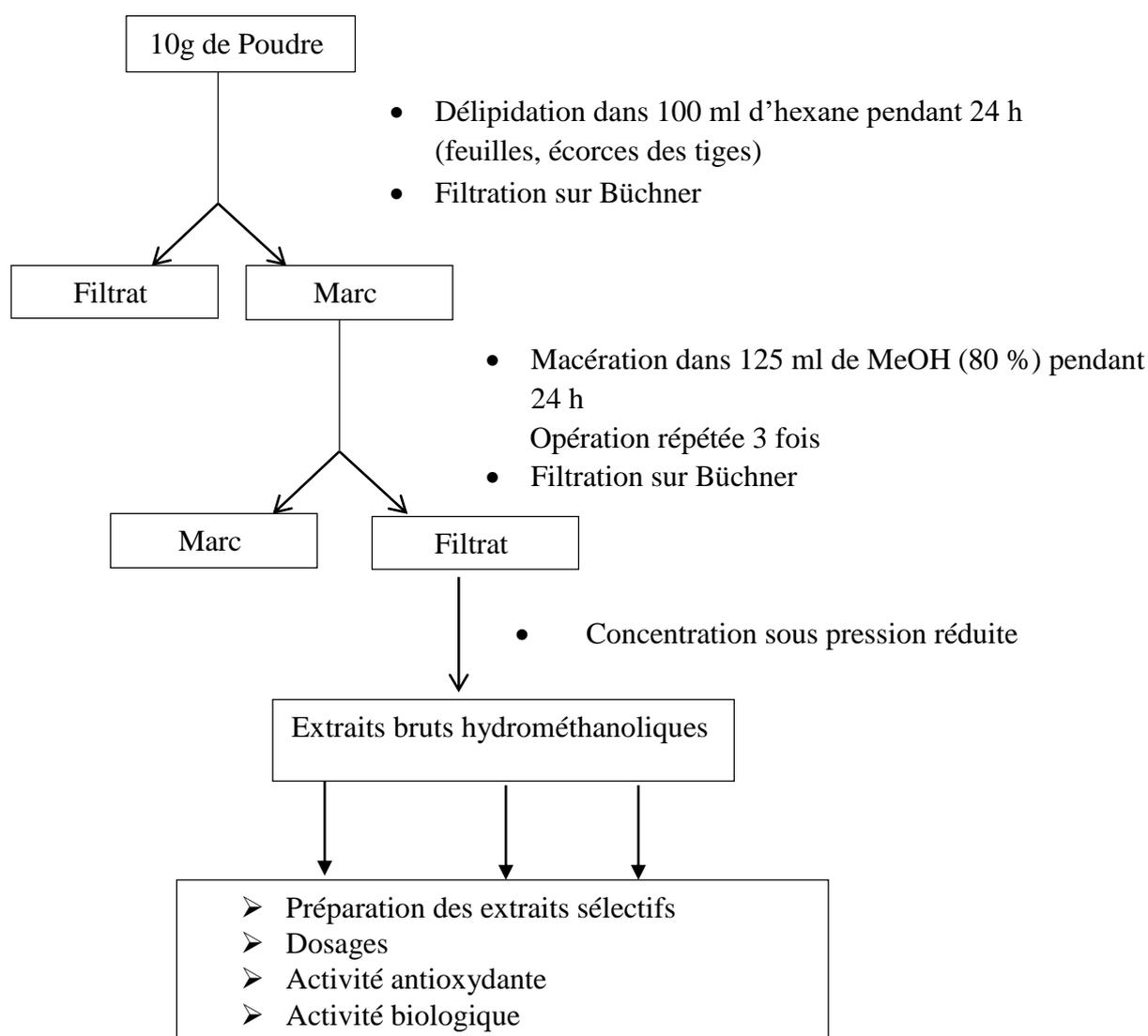
Les organes récoltés sont nettoyés à l'eau courante. Les feuilles et les écorces de tiges et de racines sont séchées dans une salle sous climatisation pendant 21 jours. Les poudres obtenues après pulvérisation à l'aide d'un broyeur électrique, sont conservées dans des bocaux en verre étanchement fermés. Elles ont servi pour la préparation des différents extraits d'étude (**Figure 24**).

#### II.2.2. Analyse minérale

Le matériel sec a été incinéré dans un four électrique de marque Nabertherm More thanheart à 350°C, puis homogénéisé à l'aide d'un vibro-broyeur RETSCH MM 400. La cendre obtenue (4g) est mélangée intimement à 1 g de poudre de liant pour la confection d'une pastille (diamètre 32 mm) à l'aide d'une presse hydraulique sous une pression de 10 Torr. Une fois produite, la pastille est mise à l'intérieur d'un dessiccateur afin d'évaporer le liant ajouté. Elle est par la suite analysée avec un spectromètre de fluorescence X (AMETEK spectro Xepos. ED 2000) couplé à un ordinateur qui permet de traiter les données grâce au logiciel propre à oxford xpertease windows. Le principe de l'analyse par XRF consiste à bombarder la matière avec des rayons X, celle-ci réémet de l'énergie sous forme de rayons X ; c'est la fluorescence X ou émission secondaire de rayons X. Le spectre des rayons X émis par la matière est caractéristique de la composition minérale de l'échantillon.

### II.2.3. Extraits hydrométhanoliques

Une masse de 10 g de poudre de chaque organe (feuilles, écorces de tiges) est macérée dans 100 ml d'hexane sous agitation permanente pendant 24 h pour délipidation. Après filtration, les marcs sont soumis à une autre macération de 24 h dans 125 mL de MeOH 80%. L'opération est répétée 3 fois avec les mêmes marcs. Après filtration sur Büchner, les macérés obtenus sont réunis puis concentrés à l'évaporateur rotatif. Les extraits bruts hydrométhanoliques obtenus ont servi par la suite à la préparation des extraits sélectifs, aux différents dosages et à l'évaluation des activités antioxydante et biologique.



**Figure 24** : Schéma synoptique des extractions hydrométhanoliques de *S. rugosum*

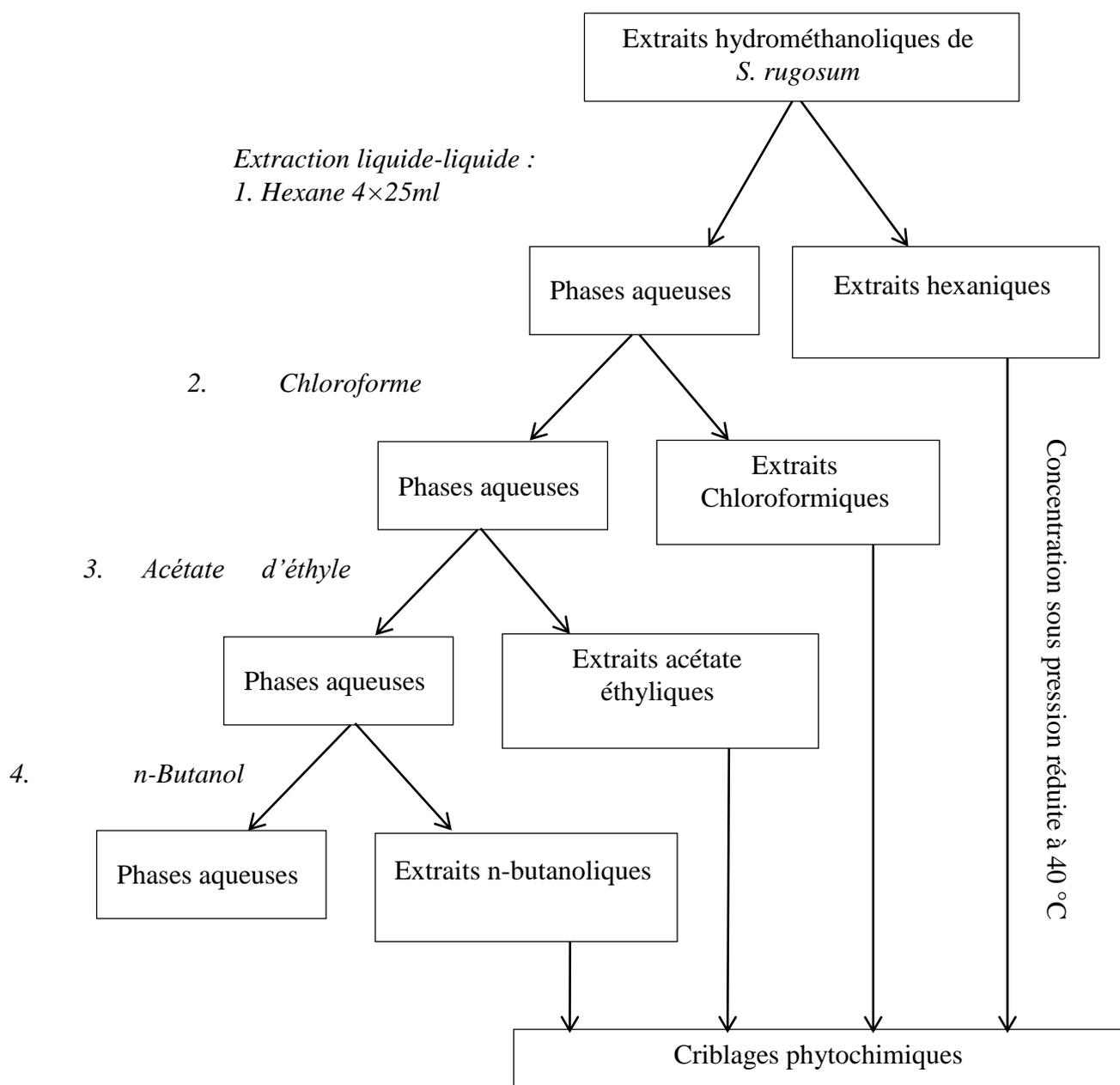
### II.2.4. Extraits sélectifs

Les extraits bruts des feuilles, des écorces de tiges et des écorces de racines de *S. rugosum* ont été traités respectivement par l'hexane, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol (Kabran, 2014). Les différentes fractions organiques obtenues ont été concentrées à

l'évaporateur rotatif sous pression réduite, puis séchées à l'étuve pour donner les extraits sélectifs hexaniques, chloroformiques, acétate éthyliques et n-butanoliques. Les fractions ont été conservées au réfrigérateur pour le criblage phytochimique (**Figure 25**) (**Kabran, 2014**).

Les rendements sont calculés selon l'équation 2 :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait sélectif obtenu (g)}}{\text{Masse de l'extrait utilisé (g)}} \times 100 \quad (2)$$



**Figure 25:** Schéma synoptique d'extraction des extraits sélectifs de *S. rugosum*

### II.2.5. Screening phytochimique

Le criblage phytochimique par chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits sélectifs (hexaniques, chloroformiques, acétate éthyliques et n-butanoliques) a été réalisé pour mettre en évidence les familles de composés présents dans les différents extraits. Ainsi, 12 échantillons en raison de 4 extraits par organes ont été chromatographiés par CCM. La méthodologie est tirée de la littérature en s'appuyant sur les travaux réalisés par certains auteurs (**Georgievskii et al., 1990 ; Ekoumou, 2003 ; Lagnika, 2005 ; Konan, 2010 ; N'guessan et al., 2011 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**).

À l'aide d'un tube capillaire, quelques microlitres de chaque extrait sont déposés sur une plaque de silice (60 F 254 d'épaisseur 0,2 mm en couche fine sur une plaque d'aluminium). Les traces du solvant sont évaporées des dépôts à l'aide du sèche-cheveux. Ensuite, la plaque est introduite dans une cuve contenant un système de solvants : acétate d'éthyle (AcOEt), hexane (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), chloroforme (CHCl<sub>3</sub>), éthanol (EtOH), acide acétique (CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H), ammoniac (NH<sub>3</sub>).

- **Extrait hexanique** : C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> /AcOEt (5,5/1,5 ; v/v) pour les feuilles et C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>/AcOEt (5/3 ; v/v) pour les écorces de tiges et racines ;
- **Extrait chloroformique** : CHCl<sub>3</sub>/EtOH/ NH<sub>3</sub> issu de NH<sub>4</sub>OH (5/1/0,1 ; v/v/v) ;
- **Extrait acétate éthylique** : CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H / CHCl<sub>3</sub> / EtOH/ H<sub>2</sub>O/ AcOEt (1,25/ 3 / 0,25/ 0,25/ 2 ; v/v/v/v/v) ;
- **Extrait n-butanolique** : CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H / CHCl<sub>3</sub> / EtOH/ H<sub>2</sub>O/ AcOEt (4 / 3,75 / 0,5/ 0,5/ 4 ; v/v/v/v/v).

Après développement, la plaque est visualisée directement ou bien après traitement par un révélateur chimique approprié, soit à l'œil nu soit sous lumière UV à 254 nm ou 366 nm (**Békro et al., 2007 ; Kabran et al., 2011**).

Les réactifs de caractérisation des différents composés chimiques utilisés sont : la solution éthanolique de trichlorure d'Aluminium (AlCl<sub>3</sub>, 1% (m/v)), la solution méthanolique d'hydroxyde de potassium (KOH, 5% (m/v)), la solution aqueuse trichlorure de Fer (FeCl<sub>3</sub>, 2% (m/v)), la solution aqueuse d'acétate de plomb basique ((AcO)<sub>2</sub>Pb 5% (m/v)), l'ammoniac (NH<sub>3</sub>), les réactifs de Godin, de Liebermann-Bürchard, de Neu et de Dragendorff.

Les rapports frontaux (Rf) sont calculés pour chaque spot décelé par l'équation 3 :

$$Rf = ds/df \quad (3)$$

**ds** : Distance parcourue par chaque substance ;

**df** : Distance parcourue par le front de solvant.

### II.2.6. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux ont été déterminées suivant la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999 ; Heilerová *et al.*, 2003) modifiée (Konan, 2010).

À 1 mL de chaque extrait dilué au 1/10<sup>ème</sup> avec de l'eau distillée, sont ajoutés 1,5 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (17%, m/v) et 0,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (0,5N). L'ensemble est incubé à 37 °C pendant 30 min ; l'absorbance est lue à 760 nm contre un blanc sans extrait pris comme référence. La quantification des polyphénols totaux est faite en fonction d'une droite d'étalonnage linéaire ( $y=0,0232x + 0,0002$ ) réalisée par un extrait d'étalon d'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000 µg/mL) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (µg EAG/g MS) de la plante en poudre.

La teneur en polyphénols totaux (Q) est calculée selon l'équation 4.

$$Q = (V \times C \times d) / m \text{ (en } \mu\text{g EAG/g matière sèche)} \quad (4)$$

**V** : volume final de l'extrait (mL)

**C** : concentration de l'extrait (µg/mL)

**d** : dilution

**m** : masse de matière sèche du matériel végétal hydrolysé (g)

### II.2.7. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode de Hariri *et al.* (1991) modifiée. Un volume 2 mL de chaque extrait est dilué au 1/10ème et mélangé à 100 µL de réactif de Neu. L'absorbance est lue à 404 nm et comparée à celle du quercétol pris comme standard (0,05 mg/mL), dilué dans les mêmes conditions et traité avec la même quantité de réactif. Le pourcentage des flavonoïdes totaux est calculé en équivalent quercétol selon la formule suivante (équation 5) :

$$F = (0,05 \times A_{\text{ext}} / A_{\text{q}}) \times 100 \times d / C_{\text{ext}} \text{ (en \%)} \quad (5)$$

**A<sub>ext</sub>** : absorption de l'extrait

**A<sub>q</sub>** : absorption de la quercétine

**C<sub>ext</sub>** : concentration de l'extrait (mg/mL)

**d**: dilution

## II.2.8. Dosage des tanins

### II.2.8.1. Tanins hydrolysables

Cette méthode est basée sur une réaction des tanins avec le trichlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) qui provoque la formation du complexe de coloration rouge violette (**Dif et al., 2015**). Une masse de 0,4 g de la poudre végétale a été macérée dans 20 ml du méthanol à 80% pendant 18 h. À 1 mL du macéré, 3,5 mL d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  (0,01 M dans HCl à 0,001 M) sont additionnés. L'absorbance est lue sur un spectrophotomètre UV à 660 nm. La teneur des tanins hydrolysables a été exprimée par la formule suivante (équation 6) :

$$\text{TH (\%)} = (\text{Abs} \times \text{M} \times \text{V}) / \text{E mole} \times \text{P} \quad (6)$$

**TH** : tanins hydrolysables,

**Abs** : absorbance,

**E mole** : 2169 de l'acide gallique (constante exprimée en mole),

**M** : masse

**V** : volume de l'extrait utilisé,

**P** : masse de l'échantillon.

### II.2.8.2. Tanins condensés

Le dosage des tanins condensés s'est fait par la méthode décrite par **Broadhurst et al. (1978)** et **Heilmmler et al. (2006)**.

À 400  $\mu\text{L}$  de chaque échantillon (0,5 mg/mL), 1,5 mL de la solution de vanilline (4% dans MeOH) et 0,8 mL de HCl concentré sont ajoutés. Le mélange est incubé durant 15 min et l'absorbance est lue à 500 nm. Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la catéchine (0- 150  $\mu\text{g/mL}$ ) ; et sont exprimées en microgramme d'équivalent catéchine par milligramme ( $\mu\text{g ETC/mg}$ ).

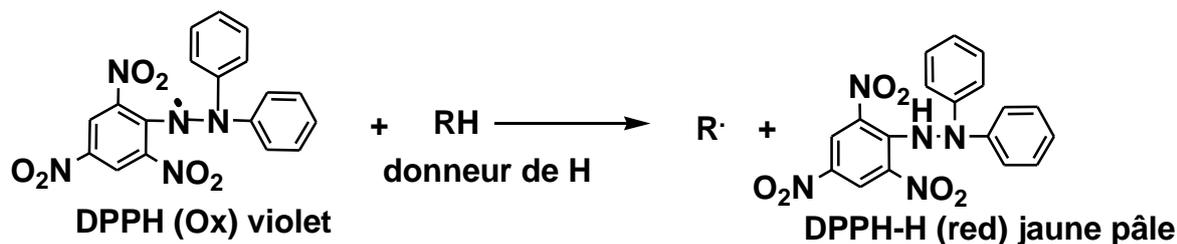
## II.2.9. Évaluation du pouvoir antioxydant des extraits aux solvants organiques de *S. rugosum*

### II.2.9.1. Test DPPH

- **Dépistage par CCM**

Le test DPPH utilisé pour révéler une éventuelle activité antioxydante des extraits sélectifs issus des extraits, est basé sur la technique mise au point par **Takao et al. (1994)**. En effet, les composés manifestant une activité antiradicalaire, se révèlent sous forme de spots jaune pâle

sur fond violet (**Figure 26**). Les développants utilisés pour migrer les phytoconstituants actifs, sont les mêmes employés pour le criblage phytochimique.



**Figure 26:** Conversion du DPPH (oxydant) en DPPH-H (réducteur) (Popovici *et al.*, 2009)

À l'aide d'un capillaire, chaque solution d'extrait est déposée sur une chromatoplaque, qui est ensuite placée dans une cuve saturée de solvant de migration. Après développement, les chromatogrammes sont séchés puis giclés par une solution éthanolique de DPPH (2 mg/mL). Après 30 min de temps optimal, les constituants de l'extrait présentant une activité antiradicalaire potentielle sont révélés sous forme de spots de couleur jaune pâle sur fond violet (Takao *et al.*, 1994).

- **Quantification par spectrophotométrie**

La méthode utilisée est celle de Blois (1958) avec de légères modifications.

Le DPPH est solubilisé dans EtOH absolu pour obtenir une solution de concentration 0,03 mg/mL. Différentes gammes de concentrations de chaque extrait sont préparées avec le même solvant (1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,0625 mg/mL, 0,03125 mg/mL). Dans des tubes secs et stériles, sont introduits 1 mL de solution d'extrait à analyser et 2 mL de solution de DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'abri de la lumière pendant 30 min. L'absorbance du mélange est mesurée à 517 nm contre un blanc (2 mL de solution de DPPH + 1 mL d'EtOH absolu). Le témoin positif de référence utilisé est l'acide ascorbique (vitamine C) préparé dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le pourcentage de réduction du DPPH est calculé selon l'équation 7 :

$$\% \text{ de réduction (PR) du DPPH} = \left( 1 - \frac{\text{Absorbance extrait}}{\text{Absorbance contrôle}} \right) \times 100 \quad (7)$$

### II.2.9.2. Test FRAP

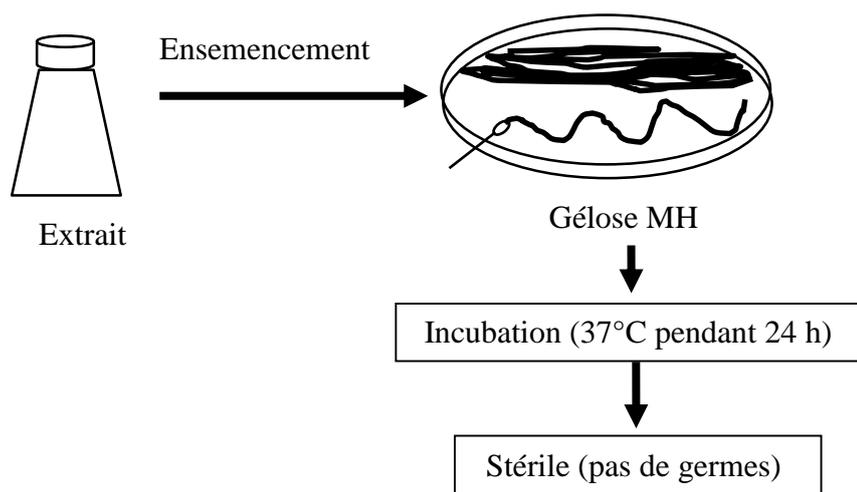
Le pouvoir réducteur des échantillons est déterminé selon la méthode FRAP. La méthode est basée sur la réduction du cation  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$  par les antioxydants. Le complexe tripyridyltriazine ferreux (TPTZ- $\text{Fe}^{3+}$ ) ajouté à l'échantillon est réduit en complexe TPTZ- $\text{Fe}^{2+}$  de couleur bleu dont l'absorbance est lue à 593 nm. Le Trolox est l'antioxydant standard utilisé

pour le contrôle positif, et son absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons testés. Le réactif FRAP utilisé pour l'analyse est un mélange de trois solutions : le tampon acétate de sodium (300 mM, pH = 3,6), la solution TPTZ (2, 4,6-Tri (2-pyridyl) -s-triazine) (10 mM préparé dans une solution de 40 mM de HCl) et la solution de FeCl<sub>3</sub> (20 mM) dans un rapport volumique 10 : 1 : 1. Le réactif FRAP fraîchement préparé est préalablement chauffé à 37 °C dans un bain-marie. Un volume de 100 µL de Trolox (0,187 mM ; 0,375 mM ; 0,75 mM et 1,5 mM) et des échantillons préparés à une concentration de 0,25 mg/mL ont été ajoutés à 3 mL du réactif FRAP. L'absorbance du complexe (TPTZ-Fe<sup>3+</sup>) est lue à 593 nm après 4 min. La courbe standard a été construite en utilisant une courbe d'étalonnage du Trolox et les résultats ont été exprimés en mM Trolox équivalent (**Benzi et al., 1996 ; Gong et al., 2016**).

### II.3. Évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles et des extraits aux solvants organiques de *S. rugosum*

#### II.3.1. Test de stérilité des extraits

Avant d'effectuer les tests, une épreuve de stérilité a été réalisée sur les extraits pour vérifier l'absence de germe. Les différents extraits ont été directementensemencés sur des géloses MH et incubés à 37 °C pendant 24 h. Après ce délai, les extraits testés sont déclarés stériles, si aucun germe n'est visible sur les différentes géloses (**Figure 27**).



**Figure 27:** Test de stérilité

#### II.3.2. Préparation des précultures

Les souches utilisées pour les études préliminaires de sensibilité vis-à-vis des différentes H.E. et des extraits de plante sont des moisissures et des souches bactériennes de références et

cliniques provenant du Centre Suisse de Recherche Scientifique (CSRS) et de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Ces différentes souches ont été conservées dans des géloses ordinaires contenues dans des tubes à hémolyse. Avant la réalisation des tests antifongiques et antibactériens, deux repiquages consécutifs ont été effectués pour chaque souche. En premier lieu, il a consisté à introduire le contenu des tubes à hémolyse dans du bouillon Trypticase caséine soja (champignons), des bouillons Mueller Hinton (MH) et Cœur Cervele (BCC) (bactéries). Ces bouillons ont été incubés respectivement pendant 48 h-72 h à 30°C et 24 h à 37± 1°C. Le deuxième repiquage a été d'ensemencer les bouillons Trypticase caséine soja, MH et BCC incubés sur différentes géloses coulées dans des boîtes de Pétri à savoir, Chapman pour les *Staphylococcus aureus*, EMB (Eosine et au Bleu de Méthylène) pour les entérobactéries, cétrimide pour les *Pseudomonas aeruginosa*, nutritive pour *Proteus mirabilis* et *Bacillus subtilis*, et Trypticase caséine soja pour les champignons, à l'aide d'une anse stérile. Ces milieux ont été incubés à 30°C pendant 48h-72h et à 37°C pendant 24 h à l'étuve (**Guessemnd et al., 2005 ; Monyn, 2018**), pour l'obtention de cultures jeunes en phase exponentielle de croissance.

### **II.3.3. Préparation des inocula**

La préparation de l'inoculum a débuté par un prélèvement sur le milieu sélectif d'une colonie bactérienne bien isolée de 18 à 24 h. La colonie a été homogénéisée dans 2 mL d'eau physiologique stérile pour l'obtention d'une densité optique (DO) de 0,5 Mc Farland afin d'obtenir une population bactérienne d'environ 10<sup>6</sup> UFC/mL. Cet inoculum a permis à ensemencer par stries serrées, à l'aide d'un écouvillon, les géloses Mueller Hinton pour la réalisation du test.

Quant aux champignons, leurs inocula sont préparés à partir des cultures jeunes du genre *Candida*. Des suspensions à partir de colonies bien isolées sur du milieu Trypticase caséine soja d'une culture pure de champignons de 48 à 72 h sont préparées dans 10 mL d'eau distillée afin d'avoir une solution opaque de champignons.

### **II.3.4. Évaluation de l'activité antibactérienne**

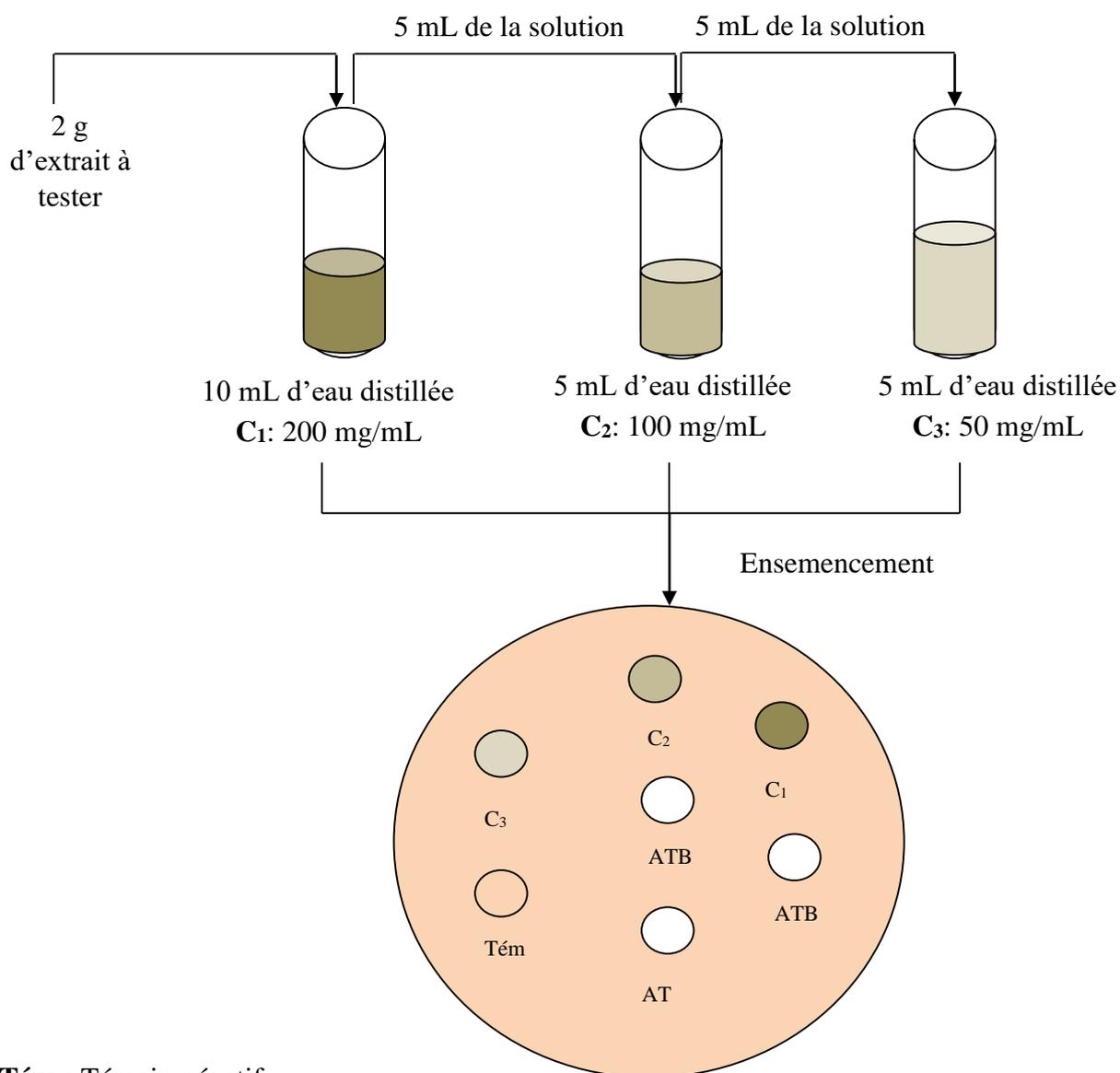
#### **II.3.4.1. Technique de diffusion en puits des H.E.**

L'activité antibactérienne des différentes HE à différentes concentrations a été déterminée pour chaque souche bactérienne (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* SO 66, *Proteus mirabilis* ATCC 14153, *Klebsiella BLSE*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus épidermidis* CIP 53124, *Staphylococcus aureus*

CIP 483) par la méthode de **Berghe et Vlietinck (1991)** à partir d'une culture de 18 à 20 h ( $10^5$ - $10^6$  UFC/mL). Un volume de 1 mL d'inoculum a été ensemencé sur une gélose Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après 15 mn, des puits ont été découpés sur la gélose à l'aide de pipettes Pasteur. Le fond des puits est obturé par une goutte de gélose Mueller Hinton pour limiter la diffusion des huiles sous la gélose. Ensuite, 50  $\mu$ L de l'HE à différentes dilutions et une référence (Oxy Tetracycline) est distribuée dans chaque puits. Après prédiffusion, les cultures sont incubées dans des étuves à la température de 37°C pendant 24 h. Les auréoles d'inhibition sont mesurées par un pied à coulisse. L'activité est considérée nulle pour un diamètre d'inhibition (d.i.) inférieur ou égale à 8 mm ; faible pour d.i. compris entre 8 et 14 mm, moyenne pour d.i. compris entre 14 et 20 mm ; forte pour d.i. supérieur ou égal à 20 mm.

#### **II.3.4.2. Test d'efficacité des extraits aux solvants organiques de *S. rugosum***

Avant d'étudier les paramètres antibactériens des extraits, un test d'efficacité a été réalisé. Des concentrations d'extraits de 50 mg/mL, 100 mg/mL et 200 mg/mL ont été préparées et mises dans des puits réalisés sur les géloses préalablement ensemencées. Une solution à volume égal d'eau stérile a servi de témoin négatif et les antibiotiques, tels qu'ampicilline + acide clavulanique (AMC), Cefotaxime (CTX), Aztreoname (ATM), imipénème (IPM), Cefoxitine (FOX) comme témoins positifs utilisés dans le traitement des pathologies liées aux souches bactériennes testées (**Figure 28**).



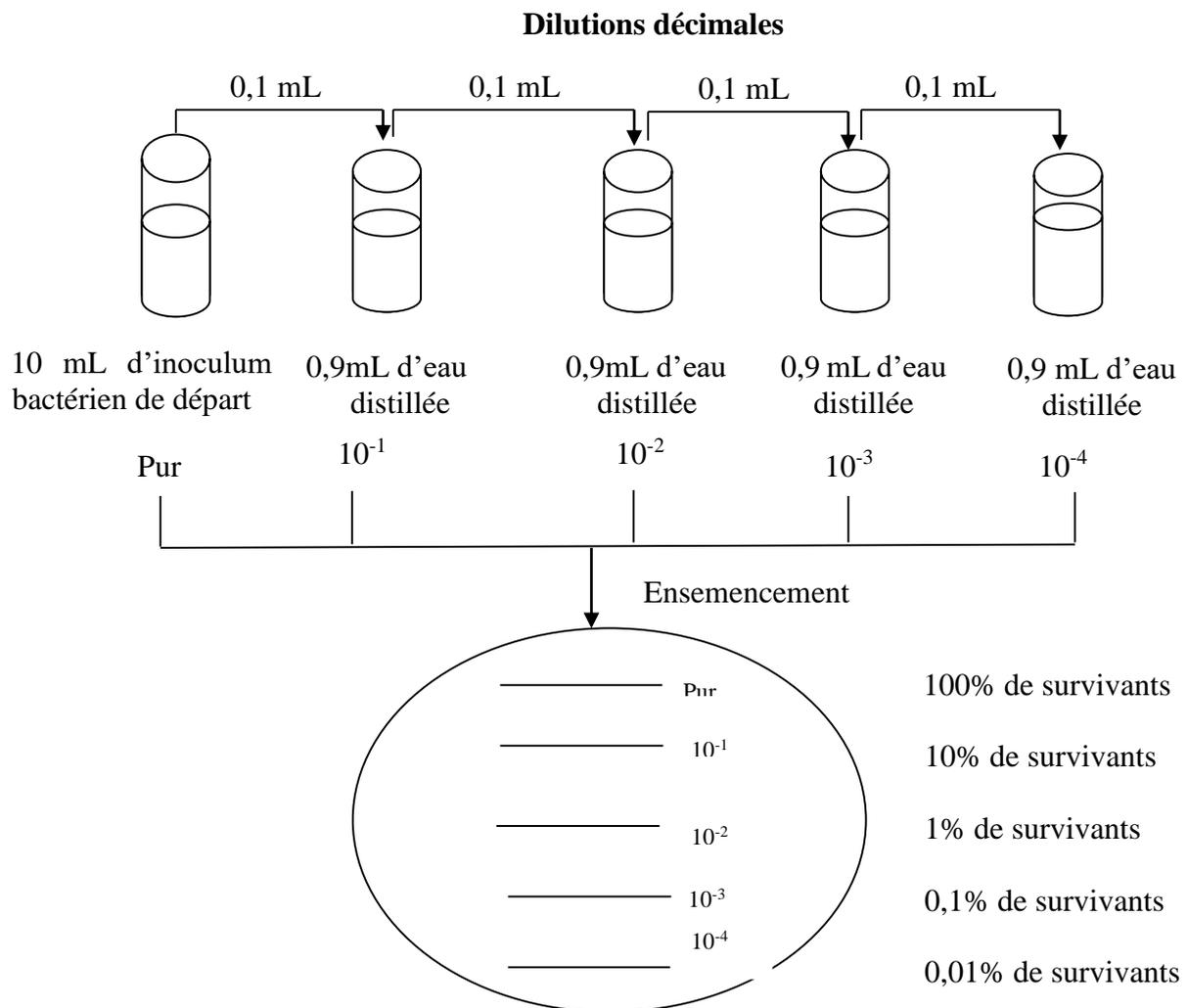
**Tém** : Témoin négatif

**ATB** : Antibiotique

**Figure 28:** Tri d'efficacité des extraits

### II.3.4.3. Numération de l'inoculum

Quatre dilutions successives au  $10^{\text{ème}}$  de  $10^{-1}$  à  $10^{-4}$  ont été réalisées à partir de l'inoculum de départ. Ces dilutions et l'inoculum ont été ensemencés en stries de 5 cm sur les différentes géloses MH, puis incubés à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 h (**Figure 29**). Ces boîtes de Pétri ont constitué les boîtes A.

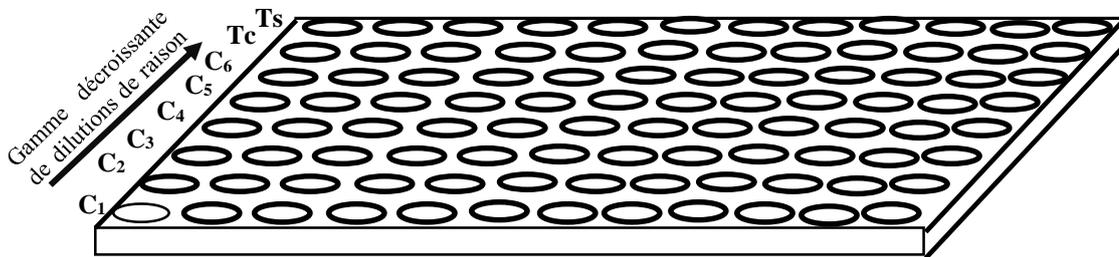


**Figure 29:**Numération de l'inoculum

#### **II.3.4.4. Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide des H.E et des extraits aux solvants de *S. rugosum***

Un volume de 100 µL des différentes concentrations d'extrait végétal (200 ; 100 ; 50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 mg/mL) à tester a été reparti dans les puits de microplaque de la plus grande concentration à la plus faible (Mims *et al.*, 1993 ; Dosso et Faye-Kette, 2000 ; Koné *et al.*, 2004) ainsi que de l'eau distillée stérile pour le témoin de contrôle (Tc). A ces quantités sont ajoutés 100 µL de l'inoculum bactérien. Ce qui a permis d'obtenir de nouvelles concentrations (100 ; 50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3,125 mg/mL) dans les puits de la microplaque. Alors que pour le témoin de stérilité (Ts), 200 µL d'eau distillée sont mis dans un puit de la microplaque. La microplaque a été incubée à 37°C pendant 24 h.

La CMI correspond donc à la concentration du premier puits expérimental à partir duquel aucun trouble n'est observé à l'œil nu (**Figure 30**).

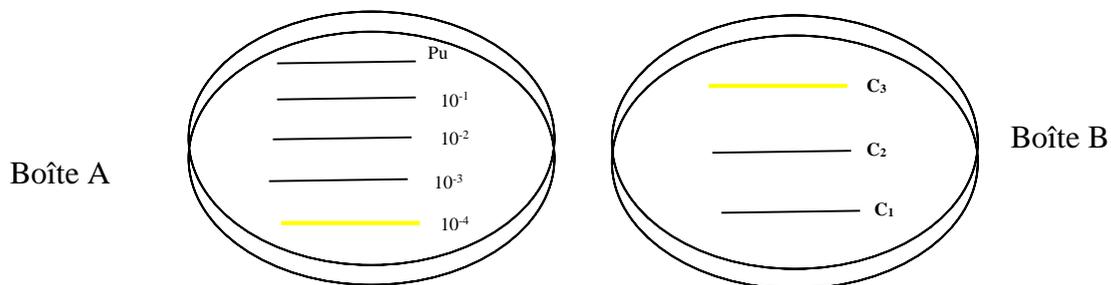


**Figure 30:** Gamme de concentrations pour la détermination de la CMI

#### II.3.4.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Les puits dans lesquels aucun trouble n'a été observé à l'œil nu, ont été ensemencés par strie de 5 cm sur les géloses MH en commençant par le tube de la CMI. Elles ont été ensuite incubées à 37°C en 24 h. Ces boîtes ont constitué les boîtes B.

La CMB correspond à la plus faible concentration d'extrait pour laquelle il y a au plus 0,01% de bactéries survivantes. Elle a été lue par comparaison de la boîte B à la boîte A (**Figure 31**).



**Figure 31:** Détermination de la CMB

#### II.3.4.6. Détermination du pouvoir bactéricide ou bactériostatique

Le calcul du rapport CMB/CMI permet la détermination du pouvoir bactéricide ou bactériostatique des substances. Si ce rapport est inférieur ou égal à 2, la substance est dite bactéricide et strictement supérieur à 2, la substance concernée est bactériostatique (**Marie et al., 2016 ; Ouattara et al., 2016**).

## **II.3.5. Évaluation de l'activité antifongique des HE**

### **II.3.5.1. Protocole expérimental**

La gélose Trypticase caséine soja préalablement coulée dans les boîtes de Pétri, a été inondée avec 2 à 4 mL de l'inoculum. Le surplus est aspiré et les boîtes de Pétri sont séchées pendant 15 min à 30°C. Après séchage, des puits de 6 mm sont creusés dans l'agar à l'aide de l'extrémité ouverte d'une pipette Pasteur. Un volume de 50 µL de l'HE est déposé dans les puits. Les boîtes sont laissées à la température ambiante du laboratoire (37°C) pendant 15 à 30 min pour une pré-diffusion des solutions, puis incubées à 30°C pendant 48 à 72 h. Après l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse. Le même procédé a été réalisé avec un antifongique de référence (Amphotéricine B).

### **II.3.5.2. Détermination de la CMI et de la concentration minimale fongicide (CMF)**

Les HE ayant montré une zone d'inhibition de diamètre supérieur ou égal à 11 mm, sont sélectionnés pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode de **Mims *et al.* (1993)**. La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) correspondant à la plus petite concentration d'un extrait capable de tuer 99,99% de champignons (soit moins de 0,01 % de survivants) ont été déterminées. Elle définit l'effet fongicide d'un extrait. La même gamme de concentration, réalisée par la technique de macro dilution en milieu liquide (CMI), est utilisée pour déterminer la CMF de l'extrait à tester. Dans le cas des champignons, les ensemencements ont été effectués sur du milieu Trypticase caséine soja. Les rapports CMF/CMI ont été calculés. Lorsque ce rapport est inférieur à 4, l'extrait est considéré comme fongicide. Lorsqu'il est supérieur ou égal à 4, l'extrait est considéré comme fongistatique (**Guinoiseau, 2010**).

## CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

### I. Huiles essentielles (HE)

#### I.1. Caractéristiques des HE extraites

Les rendements, la couleur et l'odeur des HE extraites sont consignés dans le Tableau 2.

**Tableau 2: Rendement (%) des extractions d'HE**

	Organes utilisés				
	<i>S. rugosum</i> Feuilles	<i>S. erianthum</i> Feuilles	<i>O. suaveolens</i> Feuilles	<i>O. suaveolens</i> Écorces du tronc	<i>O. suaveolens</i> Écorce de racines
<b>Caractéristiques des HE</b>					
<b>Masse (g)</b>	1210,26	1242,25	1550	1475	310,92
<b>Masse de HE (g)</b>	0,32	0,39	0,94	0,22	0,48
<b>Couleur HE</b>	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune pale
<b>Odeur</b>	Aromatique	Aromatique	Aromatique	Aromatique	Aromatique
<b>Rendement HE %</b>	0,0264	0,0313	0,06	0,01	0,154

L'hydrodistillation des feuilles de *Solanum rugosum* et de *Solanum erianthum* a conduit à l'obtention des HE de couleur jaune avec un rendement respectif de 0,0264% et de 0,0313%. Ces rendements sont pratiquement proches. Le rendement de l'HE de *Solanum erianthum* obtenu reste faible par rapport à celui de l'espèce nigérienne (0,13%) (**Essien et al., 2012**). Cependant certaines huiles extraites par hydrodistillation de type Clevenger des plantes du genre *Solanum* ont été obtenues avec des proportions variables. Ainsi l'HE de feuilles de *S. spirale* de couleur jaune clair pétrole a produit un rendement de 0,009% (**Keawsa-Ard et al., 2012**). Le rendement des HE des fruits verts de *S. pseudocapsicum* est 0,09% (**Aliero et al., 2006**). L'HE des fruits de *S. erianthum* a un rendement de 0,05% selon les travaux de **Radhika et al. (2012)**. Bien qu'il ne s'agisse pas des organes de mêmes espèces, les HE extraites ont des rendements relativement proches ou faibles par rapport à certaines HE des espèces du genre *Solanum*.

Les rendements des HE extraites de *O. suaveolens* par hydrodistillation de type Clevenger sont pour les feuilles (0,06%), les écorces de tronc (0,01%) et les écorces de racines (0,154%). La teneur des HE dans les écorces de racines est plus appréciable que dans les autres organes. Ainsi les écorces de racines de *O. suaveolens* seraient une réserve importante d'HE pour cette plante étudiée. Les résultats d'extractions obtenus sont difficilement comparables à ceux de la littérature puisque ces HE sont décrites pour la première fois. Les plantes étudiées contiennent

effectivement des HE et le rendement en HE des écorces de racines de *O. suaveolens* est le plus élevé. Toutefois notons que les HE sont obtenues avec des teneurs faibles. Ce faible rendement s'expliquerait par le fait que les rendements en HE varient en fonction de l'organe végétal, de la période de récolte, le lieu de récolte de l'espèce et de la technique d'extraction (Ghanmi *et al.*, 2010 ; Nacira et Yousra, 2017).

## I.2. Composition chimique des HE de *S. rugosum* et de *S. erianthum*

### I.2.1. HE de feuilles de *S. rugosum*

L'HE de feuilles de *S. rugosum* a été analysée par la combinaison des techniques chromatographiques (CPG-FID, CPG(Ir)) et spectroscopiques (SM et RMN <sup>13</sup>C) (Figures 32 et 33).

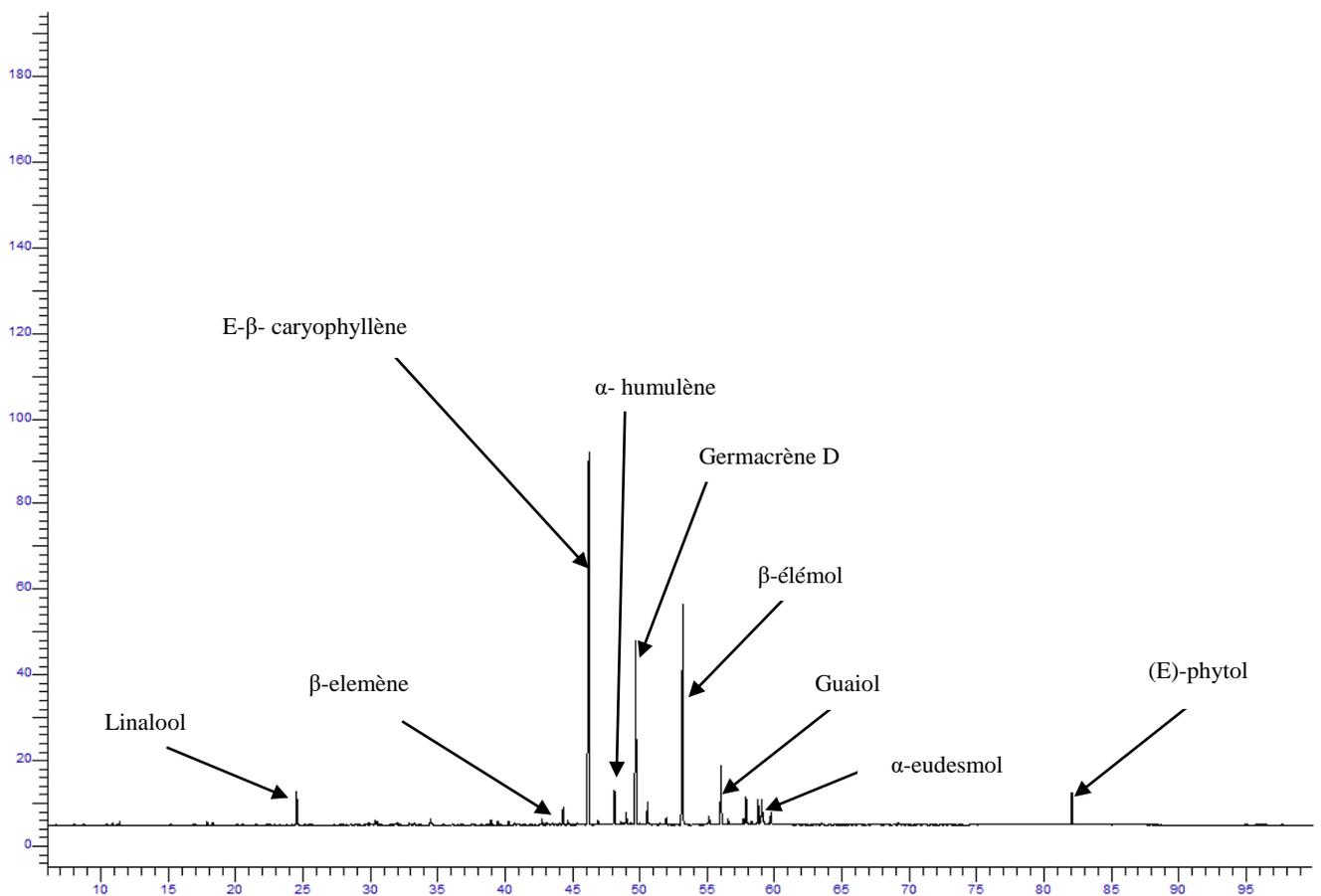
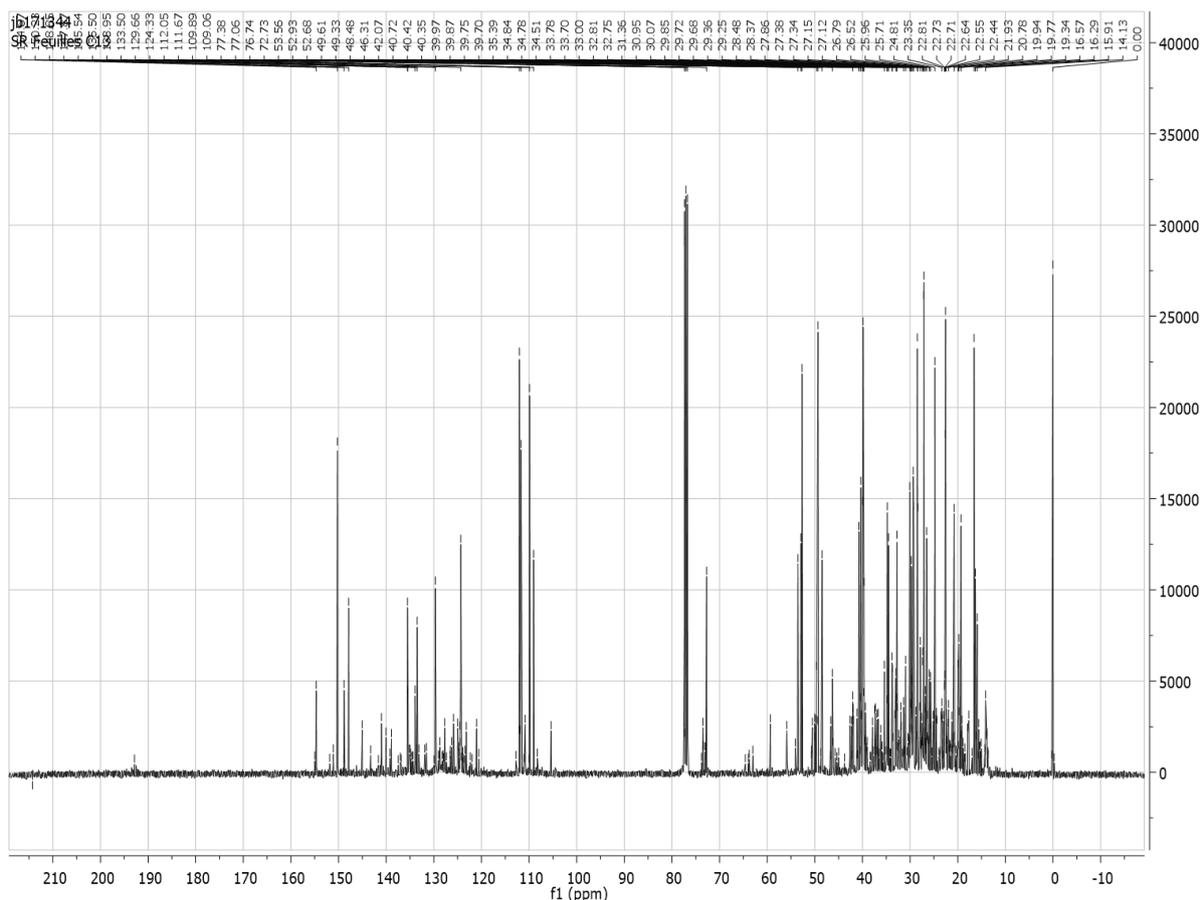


Figure 32: Chromatogramme de HE des feuilles de *Solanum rugosum*



**Figure 33: Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  de l'huile essentielle de feuilles *Solanum rugosum***

L'analyse en RMN  $^{13}\text{C}$  de l'HE nous a également permis d'observer les déplacements chimiques de certains composés dans le mélange. En effet, nous observons, sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figure 33**) de l'échantillon, une série de raies de résonance. Tous les composés identifiés par RMN  $^{13}\text{C}$  sont présents dans la bibliothèque de spectres « Terpènes » constituée au laboratoire. Hormis certains carbones quaternaires des constituants minoritaires, tous les carbones des composés sont attribués sur le spectre du mélange. Les variations de déplacements chimiques ( $\Delta\delta$ ) des carbones par rapport aux valeurs de références sont faibles ( $\Delta\delta < 0,07$  ppm). Il faut noter que tous les composés présentant une teneur supérieure à 0,5% sont identifiés. Une fois l'identification par la RMN  $^{13}\text{C}$  réalisée, les composés sont repérés dans les chromatogrammes des échantillons par leurs indices de rétention, sur colonne apolaire et polaire, ce qui permet de les quantifier. Certains constituants minoritaires (moins de 0,5%) sont uniquement identifiés par CPG (Ir) et le couplage CPG-SM.

Au total 22 composés, représentant 93,5% de la composition globale ont été identifiés (**Tableau 3, Figures 34**).

Les phytocomposés de l'HE sont dominés par les sesquiterpènes hydrocarbonés (54,3%) et oxygénés (32,6%) suivis d'un faible taux de présence de monoterpènes oxygénés (2,9%) et de

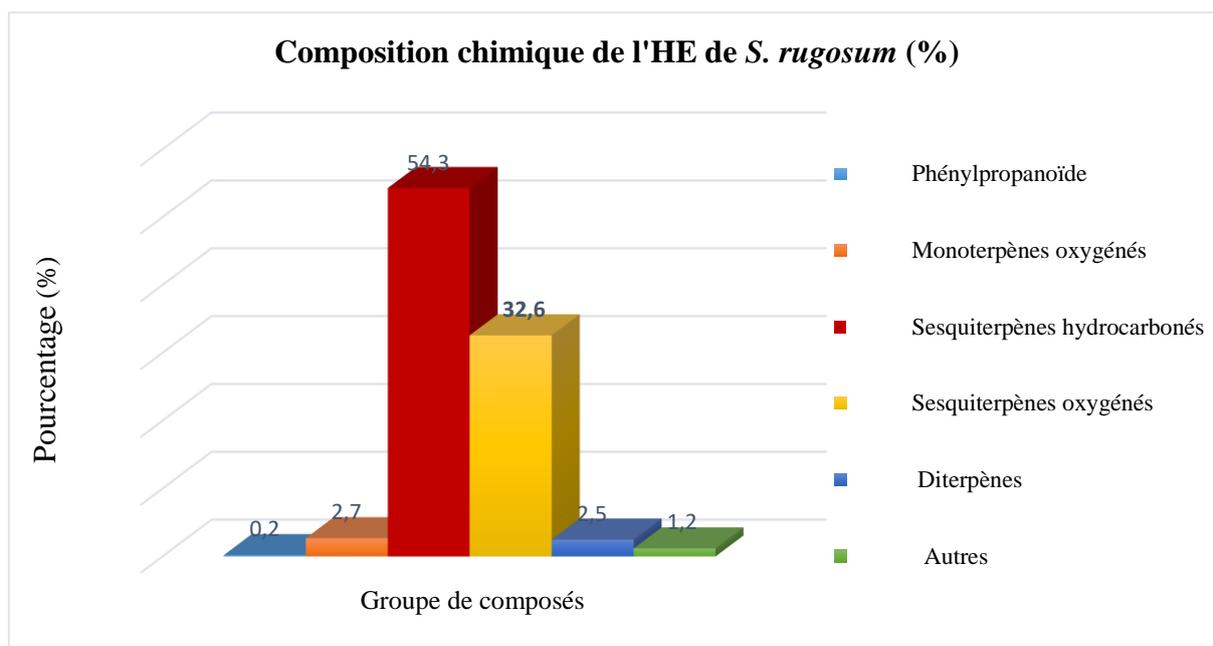
diterpènes (2,5%). Aucun hydrocarbure monoterpène n'a été identifié à la suite de ces analyses. Les principaux composants sont : le (E)- $\beta$ -caryophyllène (33,1%), le  $\beta$ -élémol (19%) et le germacrène D (14%). Certains constituants sont présents en quantité non négligeable : guaiol (4,4%), (E)-phytol (2,5%),  $\alpha$ -humulène (2,5%),  $\gamma$ -eudesmol (2,2%),  $\alpha$ -eudesmol (2,4%) et linalol (2,0%). Le safranal identifié au cours de ces analyses est très faiblement représenté (0,2%).

**Tableau 3: Composition chimique de feuilles de *S. rugosum***

N°	Composés	Ira	Irp	m/z	% <sup>a</sup>	Identification
1	Linalool	1083	1549	154	2,0	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
2	$\alpha$ -Terpinéol	1171	1698	154	0,3	Ir, SM
3	Safranal	1173	1648	150	0,2	Ir, SM
4	Géraniol	1233	1849	154	0,4	Ir, SM
5	(E)- $\beta$ -Damascénone	1361	1823	190	0,4	Ir, SM
6	$\beta$ -Elémène	1386	1592	204	1,3	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
7	(E)- $\beta$ -Caryophyllène	1417	1599	204	33,7	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
8	$\alpha$ -Humulène	1448	1669	204	2,5	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
9	$\beta$ -Ionone	1462	1939	192	0,8	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
10	Germacrène D	1474	1710	204	14,4	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
11	Bicyclogermacrène	1488	1733	204	1,7	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
12	$\gamma$ -Cadinène	1504	1746	204	0,2	Ir, SM
13	$\delta$ -Cadinène	1512	1757	204	0,5	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
14	$\beta$ -Elémol	1534	2081	222	19,8	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
15	Oxyde de Caryophyllène	1567	1980	220	0,7	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
16	Guaiol	1583	2089	222	4,4	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
17	$\gamma$ -Eudesmol	1616	2167	222	2,2	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
18	$\beta$ -Eudesmol	1632	2219	222	1,9	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
19	$\alpha$ -Eudesmol	1637	2228	222	2,4	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
20	$\alpha$ -Cadinol	1639	2230	222	0,3	Ir, SM
21	Bulnésol	1650	2201	222	0,9	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
22	(E)-Phytol	2098	2612	296	2,5	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
<b>Total</b>					<b>93,5</b>	

*L'ordre d'éluéon et les pourcentages (%<sup>a</sup>) sont donnés sur colonne apolaire (BP-1)*

*Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20).*



**Figure 34:** Composition chimique des HE de feuilles de *Solanum rugosum*

### I.1.2. HE de feuilles de *Solanum erianthum*

La combinaison des méthodes analytiques complémentaires (CPG (Ir), CPG-SM et RMN  $^{13}\text{C}$ ) a été appliquée à l'HE de feuilles de *S. erianthum*. Ce qui a conduit à l'identification de 19 composés représentant 93,8% de la composition totale (**Tableau 4, Figure 35**). *S. erianthum* a produit une HE riche en sesquiterpènes (91,7%). Les diterpènes sont peu représentés (1%) ainsi que les composés linéaires non terpéniques (0,6%). Les composants principaux sont l' $\alpha$ -humulène (38,6%), le  $\beta$ -élémol (17,8%), (E)- $\beta$ -caryophyllène (16,7%). Outre ces composés, d'autres sont présents avec une teneur relativement appréciable : guaiol (4,4%), germacrène D (3,1%),  $\gamma$ -eudesmol (2,3%) et  $\alpha$ -eudesmol (2,2%).

**Tableau 4:** Composition chimique de feuilles de *S. erianthum*

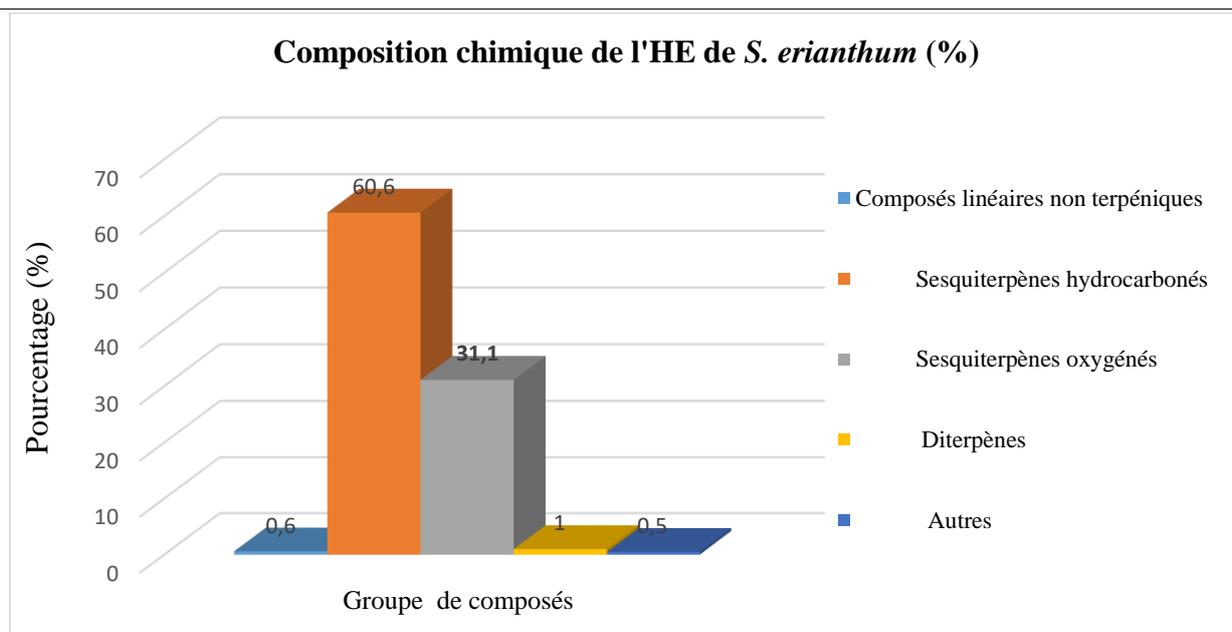
N°	Composés	Ira	Irp	m/z	% <sup>a</sup>	Identification
1	Hexanal	771	1088	100	0,3	Ir, SM
2	(Z)-Hex-3-én-1-ol	833	1386	100	0,3	Ir, SM
3	$\beta$ -Elémène	1386	1592	204	1,1	Ir, SM, RMN $^{13}\text{C}$
4	(E)- $\beta$ - Caryophyllène	1417	1599	204	16,7	Ir, SM, RMN $^{13}\text{C}$
5	$\alpha$ -Humulène	1448	1669	204	38,6	Ir, SM, RMN $^{13}\text{C}$
6	$\beta$ -Ionone	1462	1939	192	0,5	Ir, SM, RMN $^{13}\text{C}$
7	Germacrène D	1474	1710	204	3,1	Ir, SM, RMN $^{13}\text{C}$
8	Bicyclogermacrène	1488	1733	204	0,2	Ir, SM

9	$\delta$ -Cadinène	1512	1757	204	0,9	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
10	$\beta$ -Elémol	1534	2081	222	17,8	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
11	Oxyde de Caryophyllène	1567	1980	220	0,4	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
12	Guaiol	1583	2089	222	4,4	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
13	Oxyde d'Humulène II	1592	2037	220	1,0	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
14	$\gamma$ -Eudesmol	1616	2167	222	2,3	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
15	$\tau$ -Cadinol	1623	2158	222	0,3	Ir, SM
16	$\beta$ -Eudesmol	1632	2219	222	1,7	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
12	$\alpha$ -Eudesmol	1637	2228	222	2,2	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
18	Bulnésol	1650	2201	222	1,0	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
19	(E)-Phytol	2098	2612	296	1,0	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C

**Total**

**93,8**

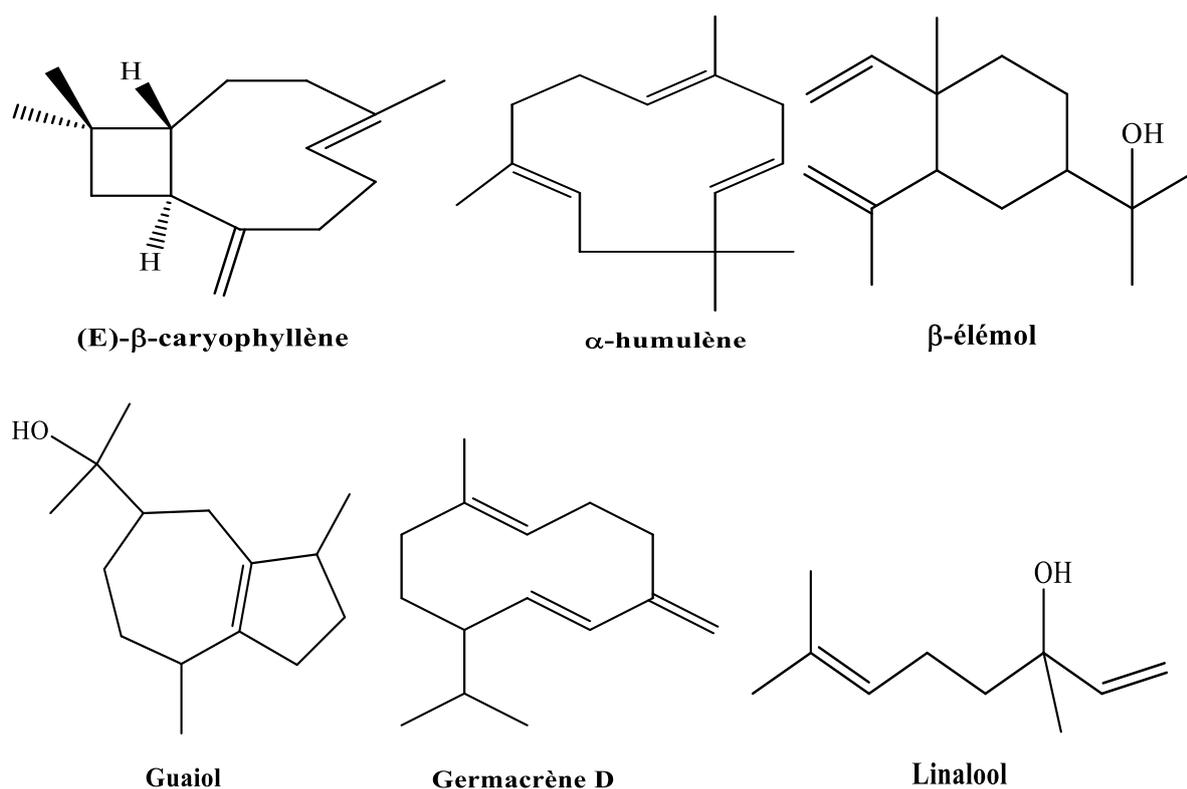
*L'ordre d'élution et les pourcentages (%<sup>a</sup>) sont donnés sur colonne apolaire (BP-1)  
Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire ((BP-20)*



**Figure 35:** Composition chimique des HE de feuilles de *Solanum erianthum*

### I.2.3. Structures de quelques composés majoritaires des HE

La **figure 36**, présente la structure de quelques composés prédominants dans les HE de feuilles de *S. rugosum* et *S. erianthum*.



**Figure 36** : Structures de quelques composés majoritaires identifiés dans les HE de *Solanum*

#### **I.2.4. Étude comparative des HE du genre *Solanum***

Malgré le fait que ces deux HE sont dominées par les sesquiterpènes dans l'HE de *S. rugosum* (87,5%) et dans l'HE de *S. erianthum* (92%), elles présentent une différence significative au niveau de la teneur de l'α-humulène (38,6%, composé prédominant chez *S. erianthum* et seulement 2,5% chez *S. rugosum*). Le (E)-β-caryophyllène (33,7%, composé majeur chez *S. rugosum* ; 16,7% chez *S. erianthum*) et le β-élémol (19% chez *S. rugosum* et 17,8% chez *S. erianthum*) sont les deux principaux composants communs aux deux HE. La teneur de germacrène D (14%) est plus importante dans l'HE de *S. rugosum* que dans celle des feuilles de *S. erianthum* (3,1%). Le guaiol est signalé dans les deux HE avec la même proportion 4,4%. Les monoterpènes sont représentés dans l'HE de *S. rugosum* (3,1%) et absents dans celle de *S. erianthum*. Le diterpène (E)-phytol est détecté chez *S. rugosum* (2,5%) et chez *S. erianthum* (1%).

La composition chimique des HE des espèces ivoiriennes de *S. rugosum* et *S. erianthum*, étudiées dans le cadre de ce travail et essentiellement riches en sesquiterpènes, diffère radicalement de celle des HE extraites de plusieurs espèces du genre *Solanum*. En effet, l'HE extraite des feuilles des espèces nigérianes de *S. erianthum* est principalement dominée par les monoterpènes (86,3%) : l'α-terpinolène (17,8%), l'α-phellandrène (17,5%) et le *p*-cymène (15,7%) (Essien *et al.*, 2012). La composition chimique de l'HE de feuille de *S. torvum*, montre

une richesse en phénylpropanoïdes (*Z*)-asarone, (30,1%), (*E*)-asarone, (36,4%). Les HE extraites des tiges, des fruits et des racines de *S. torvum* sont composées de divers squelettes structurels, notamment le  $\beta$ -vétivenène (55,4%) et le 1,10-di-épi-cubénol (25,6%), pour les tiges ; dillapiole (55,3%), méthylsalicylate (19,5%) et santalone (16,1%), dans les fruits ; dillapiole (48%), cyclocolorénone (12,6%) et nérol (12%), dans les racines (**Barbosa et al., 2012**).

La composition en HE de *S. nigrum* est qualitativement (dillapiole, 22,22% ;  $\alpha$ -cadinol, 16,47% et *p*-cymène, 10,01%) différente de celle de *S. rugosum* et de *S. erianthum* (**Taherpour et al., 2017**). Les HE obtenues par hydrodistillation à partir des baies immatures de *S. pseudocapsicum* sont dominées par des alcanes (décane, 41,06% et undécane, 29,26%) (**Aliero et al., 2006**) et celles des feuilles de *S. xanthocarpum* par heptacosane 20,0% (**Satyral et al., 2015**). Les huiles de *S. xanthocarpum* contiennent principalement dans l'HE des fruits le benzoate de benzyle (21,7%) et le (*E, E*) géranyllinalol (12,6%). Celles des racines sont constituées de solavétivone (22,9%), d'acide palmitique (21,0%) et d'acide linoléique (8,2%). La composition chimique des HE extraite des tiges est dominée par les composés linéairestels que l'acide palmitique (28,9%), l'heptacosane (12,8%) et l'acide linoléique (10,1%) (**Satyral et al., 2015**). Enfin, les HE extraites des feuilles de *S. spirale* (**Keawsa-Ard et al., 2012**) et de *S. macranthum* (**Essien et al., 2012**) sont dominées par les diterpènes (*E*-phytol, 48,10% et 29,0%, respectivement).

Cependant, le (*E*) - $\beta$ -caryophyllène, principaux composants de l'HE des espèces ivoiriennes de *S. rugosum* (33,7%) et *S. erianthum* (16,7%) figurent parmi les composés importants des HE de *S. tuberosum* lors de la germination (18,1 %), de la tubérisation (17,3%) et de la floraison (13,2%) (**Karlsson et al., 2009**) et dans l'HE de fruits de *S. macranthum* (17,8%) (**Essien et al., 2012**). Le germacrène D (14%) dans *S. rugosum* est détecté à 9,6%, 14,9% et 11,4%, respectivement, lors de la germination, de la tubérisation et de la floraison chez *S. tuberosum* (**Karlsson et al., 2009**) et l' $\alpha$ -humulène (38,6%) chez *S. erianthum* est important chez *S. macranthum* (36,5%) (**Essien et al., 2012**). De plus, l' $\alpha$ -humulène et le (*E*) - $\beta$ -caryophyllène sont des composés importants dans l'HE de fruit des espèces nigérianes de *S. erianthum*, respectivement 23,1% et 10,9%. En ce qui concerne la quantité appréciable du  $\beta$ -élémol dans nos huiles essentielles, nos compositions chimiques étaient originales par rapport à celles des autres espèces du genre *Solanum*.

La diversité de la composition chimique, tant qualitative que quantitative des HE est observée dans ce genre.

### I.3. Composition chimique des HE de *Oricia suaveolens*

Les différents constituants des HE extraites à partir des feuilles, des écorces du tronc et des racines d'*Oricia suaveolens* sont récapitulés respectivement dans les **tableaux 5, 6 et 7**.

#### I.3.1. HE de feuilles

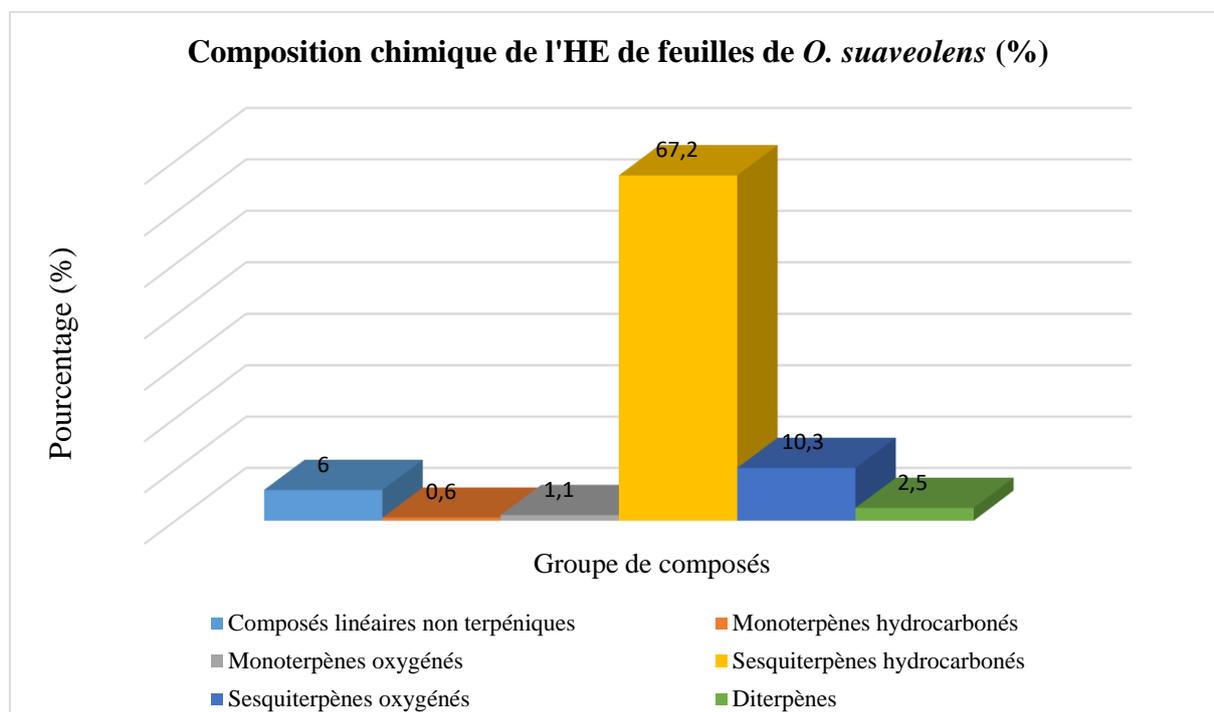
L'analyse de l'HE des feuilles de *O. suaveolens* par CPG (Ir), CPG-SM et RMN <sup>13</sup>C a permis l'identification de 28 phytoconstitués représentant 87,7% de la composition chimique totale (**Tableau 5, Figure 37**). Cette HE est riche en sesquiterpènes (77,5%) tandis que les composés linéaires non terpéniques ((E)-hex-2-éanal, (Z)-hex-2-én-1-ol, hexan-1-ol), les monoterpènes et le diterpènes présents ((Z)- phytol) représentent respectivement 3,3%, 1,7% et 2,5%. Le composé majoritaire est le (E)-β-caryophyllène (39,3%). Les composés tels que le (E)-β-farnésène (9,3%), l'α-humulène (4,0%), l'α-sesquisabinène (3,4%), le (Z)-hex-2-én-1-ol (2,7%), le β-sesquiphellandrène (2,6%), le (Z)-phytol (2,5%), le (E, E)-α-farnésène (2,4%), le (E)-hex-2-éanal (2,4 %), le (Z)-α-bisabolène (2,4%), le β-élémol (2,4%), et l'oxyde de caryophyllène (2,1%) sont présents en proportion non négligeable.

**Tableau 5: Composition chimique des feuilles de *O. suaveolens***

N°	Composés	Ira	Irp	m/z	% <sup>a</sup>	Identification
1	(E)-Hex-2-éanal	823	1225	98	2,4	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
2	(Z)-Hex-2-én-1-ol	842	1408	100	2,7	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
3	Hexan-1-ol	845	1352	102	0,9	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
4	α-Pinène	929	1020	136	0,4	Ir, SM
5	(E)-β-Ocimène	1035	1235	136	0,2	Ir, SM
6	Linalool	1083	1549	154	1,1	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
7	(E)-β-Caryophyllène	1417	1600	204	39,3	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
8	<i>trans</i> -α-Bergamotène	1431	1587	204	1,4	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
9	α-Sesquisabinène	1434	1645	204	3,4	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
10	(E)-β-Farnésène	1446	1669	204	9,3	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
11	α-Humulène	1448	1669	204	4,0	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
12	γ-Curcumène	1471	1691	204	0,8	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
13	Germacrène D	1474	1709	204	1,3	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
14	Bicyclogermacrène	1489	1733	204	0,2	Ir, SM
15	(Z)-α-Bisabolène	1491	1729	204	0,7	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
16	(E, E)-α-Farnésène	1495	1751	204	2,4	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C

17	$\beta$ -Curcumène	1500	1741	204	1,8	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
18	$\beta$ - Sesquiphellandrène	1513	1770	204	2,6	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
19	<i>trans</i> -hydrate Sesquisabinène	1529	1992	222	1,2	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
20	$\beta$ -Elémol	1532	2080	222	2,4	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
21	(E)-Nérolidol	1547	2043	222	1,1	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
22	<i>cis</i> -hydrate Sesquisabinène	1563	2086	222	1,8	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
23	Oxyde de Caryophyllène	1567	1981	220	2,1	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
24	<i>cis</i> -7- <i>épi</i> - Sesquisabinène	1574	2100	222	0,5	Ir, SM
25	Guaiol	1583	2089	222	0,7	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
26	Oxyde d'Humulène II	1592	2037	220	0,2	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
27	Zingibérénol II	1613	2113	222	0,3	Ir, SM
28	(Z)-Phytol	2095	2522	296	2,5	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
<b>Total</b>					<b>87,7</b>	

L'ordre d'éluion et les pourcentages (%<sup>a</sup>) sont donnés sur colonne apolaire (BP-1)  
Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire ((BP-20).



**Figure 37:** Composition chimique des HE de feuilles de *Orcia suaveolens*

### I.3.2. HE d'écorces de tronc

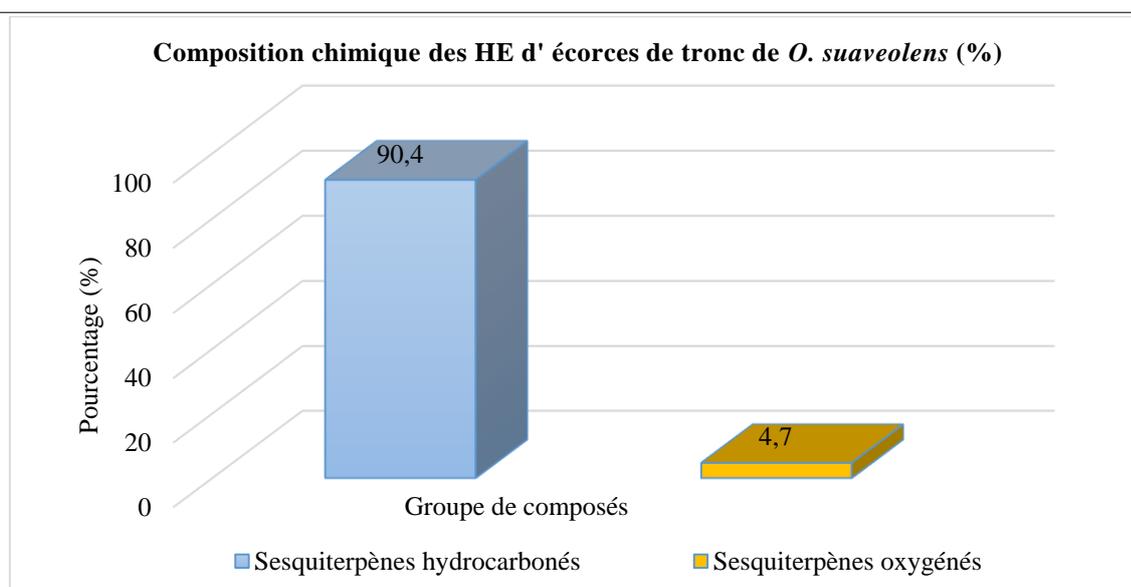
La combinaison des méthodes d'analyses CPG (Ir), CPG-SM et RMN <sup>13</sup>C appliquée à l'HE d'écorces de tronc a permis d'identifier 12 composés représentant 95,1% de la composition

totale (**Tableau 6, Figure 38**). Cette HE est constituée presque exclusivement de sesquiterpènes hydrocarbonés (90,4%). Elle est ultra dominée par le couple  $\alpha$ -humulène (45,8%) / (E)- $\beta$ -caryophyllène (41,6%). Deux sesquiterpènes oxygénés : oxyde de caryophyllène (2,3%) et oxyde d'humulène II (2,1%) sont présents en proportion non négligeable. Aucun monoterpène n'a été identifié au cours de ces analyses.

**Tableau 6: Composition chimique d'écorces du tronc de *O. suaveolens***

N°	Composés	Ira	Irp	m/z	% <sup>a</sup> HE	Identification
1	$\alpha$ -Copaène	1374	1492	204	0,2	Ir, SM
2	$\beta$ -Elémène	1386	1592	204	0,2	Ir, SM
3	<i>cis</i> - $\alpha$ - Bergamotène	1410	1569	204	0,9	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
4	(E)- $\beta$ -Caryophyllène	1417	1600	204	41,6	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
5	$\alpha$ -Humulène	1448	1669	204	45,8	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
6	$\alpha$ -Sélinène	1488	1723	204	0,2	Ir,SM
7	(E, E)- $\alpha$ -Farnésène	1499	1750	204	0,6	Ir,SM
8	(Z)- $\gamma$ -Bisabolène	1505	1730	204	0,3	Ir,SM
9	(E)- $\gamma$ -Bisabolène	1521	1757	204	0,6	Ir,SM
10	Elémol	1532	2050	222	0,3	Ir,SM
11	Oxyde de Caryophyllène	1567	1981	220	2,3	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
12	Oxyde d'Humulène II	1592	2037	222	2,1	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
<b>Total</b>					<b>95,1</b>	

*L'ordre d'éluion et les pourcentages (%<sup>a</sup>) sont donnés sur colonne apolaire (BP-1)  
Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire ((BP-20).*



**Figure 38:** Composition chimique des HE d' écorces de tronc de *Oricia suaveolens*

### I.3.3. HE d'écorces de racines

Onze (11) composés ont été identifiés de l'HE d'écorces de racines de *O. suaveolens* représentant 98,8% de la composition chimique (**Tableau 7, Figure 39**) après analyse de cette HE par CPG (Ir), CPG-SM, RMN <sup>13</sup>C. Cette HE est également :

- i) composée exclusivement de sesquiterpènes ;
- ii) ultra dominée par le couple  $\alpha$ -humulène (47,9%) / (E)- $\beta$  caryophyllène (43,3%) comme dans l'HE d'écorces de tronc ;
- iii) Aucun monoterpène n'a été identifié dans cette HE.

L'oxyde d'humulène II (2,9%), le sesquiterpène oxygéné le plus important de cet échantillon a été identifié par CPG(Ir) et CPG-SM. Les signaux RMN <sup>13</sup>C de ce composé présent avec un pourcentage important dans cette HE (2,9%), n'ont pas été repérés. En effet, les déplacements chimiques des carbones de l'oxyde d'humulène II répertoriés dans la banque de données du laboratoire sont obtenus dans le CDCl<sub>6</sub>. Les analyses RMN <sup>13</sup>C ont été effectuées dans le CDCl<sub>3</sub>.

- **Identification du geijerène et du prégeijerène**

Après l'analyse CPG (Ir) et CPG-SM de l'HE des écorces du tronc, la spectroscopie de masse propose le geijerène (Ira/Irp : 1135/1328) à 1,7% et le prégeijerène (Ira/Irp : 1277/1316) à 0,1%.

Selon certains auteurs le prégeijerène subit un réarrangement de COPE dans les conditions de la CPG pour donner le geijerène (**Manuel, 2004 ; Mahanta et al., 2021**).

Le geijerène identifié par la CPG-SM ne serait peut-être pas un composé de la plante mais plutôt un artéfact d'analyse CPG. La teneur de 1,7% déterminée par la CPG (FID) pour le geijerène est peut-être erronée.

Donc la teneur 1,7% correspondrait à (prégeijerène + geijerène). Dans ses conditions le prégeijerène et le geijerène ne peuvent être identifiés et quantifiés correctement que par la combinaison des méthodes CPG (FID) et RMN <sup>13</sup>C.

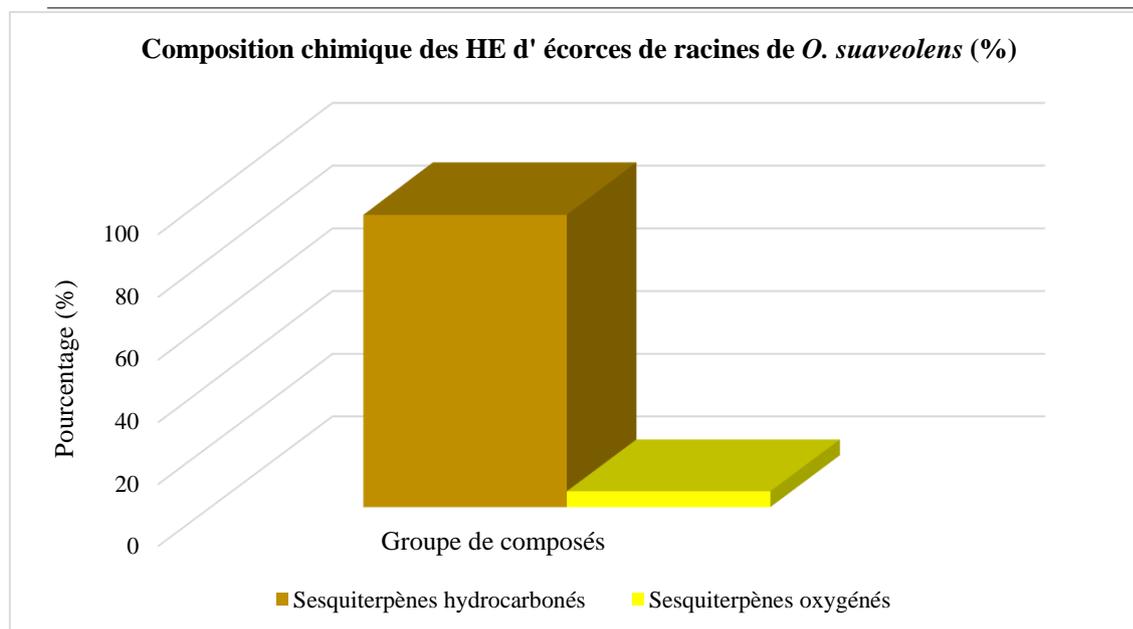
Les déplacements chimiques en RMN <sup>13</sup>C du prégeijerène et du geijerène sont obtenus dans le CDCl<sub>6</sub> contrairement au CDCl<sub>3</sub> utilisé dans le cas de cette étude.

**Tableau 7: Composition chimique d'écorces de racines de *O. suaveolens***

N°	Composés	Ira	Irp	M/Z	% <sup>a</sup>	Identification
1	Geijerène	1135	1328	162	1,7	Ir, SM
2	Prégeijerène	1277	1316	162	0,1	Ir, SM
3	$\alpha$ -Ylangène	1367	1482	204	0,2	Ir, SM
4	(E)- $\beta$ -Caryophyllène	1417	1600	204	43,3	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
5	$\alpha$ -Humulène	1448	1669	204	47,9	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
6	(E, E)- $\alpha$ -Farnésène	1500	1750	204	0,5	Ir, SM
7	Oxyde de Caryophyllène	1567	1981	220	0,6	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
8	Oxyde d'Humulène I	1591	2013	220	0,3	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
9	Oxyde d'Humulène II	1592	2037	220	1,1	Ir, SM, RMN <sup>13</sup> C
10	Oxyde d'Humulène III	1613	2051	220	2,9	Ir, SM
11	$\alpha$ -Cadinol	1635	2230	222	0,2	Ir, SM
<b>Total</b>					<b>98,8</b>	

L'ordre d'éluion et les pourcentages (%<sup>a</sup>) sont donnés sur colonne apolaire (BP-1)

Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire ((BP-20).

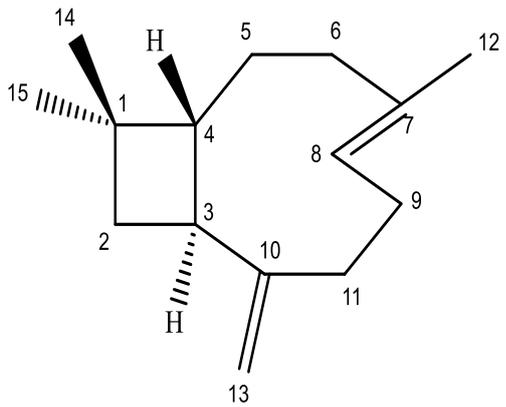
**Figure 39:** Composition chimique des HE d'écorces de racines de *Oricia suaveolens*

- **Identification des conformères du (E)- $\beta$ -caryophyllène**

L'analyse en RMN <sup>13</sup>C de ces huiles essentielles nous a également permis d'observer les déplacements chimiques des deux conformères du (E)- $\beta$ -caryophyllène. En effet, nous observons, sur le spectre RMN <sup>13</sup>C de chacun de ces échantillons, une série de 15 raies de

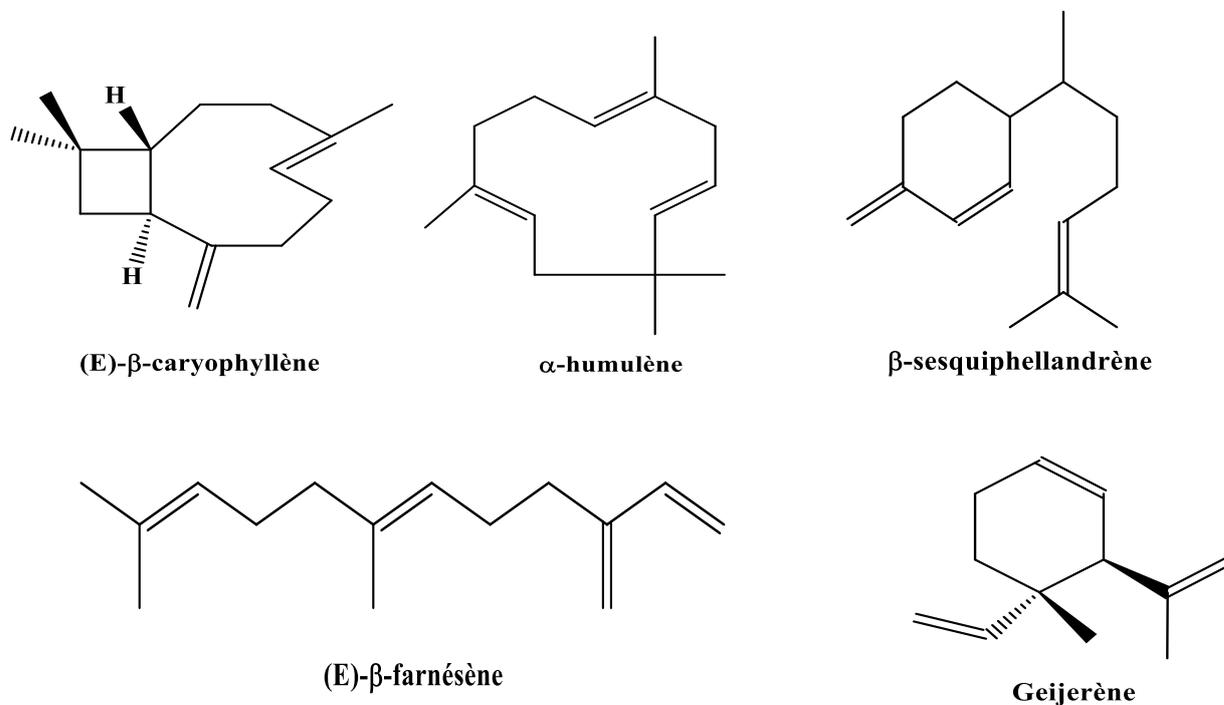
résonance, relativement proches de celles du (E)- $\beta$ -caryophyllène, appartenant à un composé qui n'est pas signalé par la CPG(Ir). Les recherches dans la littérature sur les conformères et stéréoisomères du (E)- $\beta$ -caryophyllène nous a conduit aux travaux réalisés par **Barrero *et al.* (1995)**. Ces derniers ont purifié le (E)- $\beta$ -caryophyllène à 98% et ont montré qu'à 25°C, il se présente sous la forme de deux conformères :  $\alpha\beta$  (82%) et  $\beta\beta$  (18%). Les déplacements chimiques de ces deux conformères présents sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  correspondent aux signaux décrits par ces auteurs (**Tableau 8**).

**Tableau 8 : Structure et déplacements chimiques des deux conformères du (E)- $\beta$ -caryophyllène**

(E)- $\beta$ -caryophyllène	C	$\alpha\beta$		$\beta\beta$	
		$\delta\text{C ppm}$ Barrero <i>et al.</i> , 1995	$\delta\text{C ppm}$	$\delta\text{C ppm}$ Barrero <i>et al.</i> , 1995	$\delta\text{C ppm}$
	<b>1</b>	33,1	<b>33,01</b>	33,01	<b>33,19</b>
	<b>2</b>	40,4	<b>40,43</b>	42,7	<b>42,62</b>
	<b>3</b>	48,6	<b>48,52</b>	49,5	<b>49,34</b>
	<b>4</b>	53,7	<b>53,67</b>	56,0	<b>55,88</b>
	<b>5</b>	28,4	<b>28,38</b>	29,8	<b>29,85</b>
	<b>6</b>	40,1	<b>40,02</b>	34,9	<b>34,85</b>
	<b>7</b>	135,6	<b>135,46</b>	135,1	<b>134,98</b>
	<b>8</b>	124,4	<b>124,38</b>	124,6	<b>124,53</b>
	<b>9</b>	29,5	<b>29,04</b>	31,5	<b>31,36</b>
	<b>10</b>	154,8	<b>154,71</b>	155,2	<b>154,98</b>
	<b>11</b>	34,9	<b>34,87</b>	39,9	<b>39,53</b>
	<b>12</b>	16,4	<b>16,3</b>	16,4	<b>16,45</b>
	<b>13</b>	111,7	<b>111,67</b>	110,9	<b>110,8</b>
	<b>14</b>	30,2	<b>30,09</b>	29,9	<b>29,85</b>
	<b>15</b>	22,7	<b>22,67</b>	22,0	<b>22,01</b>

#### I.3.4. Structures de quelques composés identifiés dans les HE de *O. suaveolens*

La structure de quelques constituants identifiés dans les HE de feuilles, écorces de tronc et écorces de racines est présentée à la **figure 40**.



**Figure 40** : Structures de quelques composés identifiés dans les HE de *Oricia suaveolens*

### I.3.5. Étude comparative des huiles de *Oricia suaveolens*

Ces trois HE sont caractérisées par une prédominance de sesquiterpènes, qui se répartissent essentiellement en hydrocarbonés (70,5-93,6%), alors que les oxygénés ne représentent que de 4,7 à 10,3%. Le (E)-β-caryophyllène (39,6-43,3%) et l'α-humulène (4,0-47,9%) sont les composés majoritaires rencontrés dans ces HE. Contrairement aux échantillons d'HE d'écorces de tronc et d'écorces de racines (absence), l'HE de feuilles de *O. suaveolens* contient des composés monoterpéniques (1,7%).

Les HE d'écorces de tronc et d'écorces de racines contiennent l'α-humulène (45,8% et 47,9%), et (E)-β-caryophyllène (41,6% et 43,3%) respectivement) comme constituants majoritaires. Ce dernier est également majoritaire dans l'HE de feuilles (39,3%).

Les teneurs en α-funebrène (3,3%), α-sesquisabinène (3,4%) et (E)-β-farnésène (9,3%) rencontrées dans les HE de feuilles sont plus importantes que celles dans les écorces de tronc. Ces composés sont, par ailleurs, absents dans les écorces de racines.

La composition chimique des HE de feuilles, des écorces du tronc et des écorces des racines de *O. suaveolens* est différente de celles des HE extraites des plantes de la famille des Rutaceae. Par exemple l'HE des écorces de *Zanthoxylum clava-herculis* est dominée par sabinène (47,0% ; 95%), limonène (18,7% ; 99%), et terpinèn-4-ol (12,9% ; 75%) et celle de *P. trifoliata* est composée de limonène (15,2% ; 99%), de sabinène (6,9% ; 79%) et de β-phellandrène (6,2% ; 87%) (Steinberg *et al.*, 2017). Selon les travaux de N'dri *et al.* (2011), les composés dominant l'huile essentielle de *Afraegle paniculata* sont (δ-cadinène 11,76% ; α-sélinène 9,01% ; α-cubébène 8,80% ; o-menth-8-ène 6,06%) et β-caryophyllène 5,66%). Myristicine

(35,3%), terpinolène (16,7%) et  $\delta$ -3-carène (11,3%) sont les constituants abondants l'HE de *Clausena indica* (Pham et al., 2009).

Le (E)- $\beta$ -caryophyllène et l' $\alpha$ -humulène sont les composés prédominants des HE de *O. suaveolens* et qu'on peut rencontrer dans les HE de certaines espèces aromatiques des Rutaceae à des proportions variables. Ainsi les composés majoritaires de l'HE extraite des feuilles de *Bouchardatia neurococca* sont les sesquiterpènes dont  $\beta$ -caryophyllène (38,5%),  $\alpha$ -humulène (16,1%) (Brophy et al., 1994). L'HE des feuilles de *M. peninsularis* est dominée par les sesquiterpènes, les principaux composants étant  $\beta$ -caryophyllène (30-49%) et  $\alpha$ -humulène (26-35%). *Melicope fellii* a produit une HE sesquiterpénique dont les principaux composants sont le  $\beta$ -caryophyllène (9,9%), l' $\alpha$ -humulène (8,4%) et oxyde de caryophyllène (7,4%) (Brophy et al., 2004).

La prédominance des isomères du caryophyllène : (E)- $\beta$ -caryophyllène et l' $\alpha$ -humulène ( $\alpha$ -caryophyllène) dans les HE des organes de *O. suaveolens* notamment dans les écorces de tronc et racines, fait de cette plante une source naturelle de caryophyllène comme *Zingiber nimmonu* de l'Inde du Sud (Sabutal et al., 2006) et *Polyathia oliveri* de Côte d'Ivoire (Ouattara et al., 2016).

Les spectres de masse en mode impact électronique de ces deux isomères du caryophyllène sont présentés dans les figures 41 et 42. Ces deux molécules ont des spectres de masse quasi-superposables avec les fragments fils à m/z : 81 ; 93 ; 133 ; 147 ; 161 ; 189 ; 204 en commun. Elles ne peuvent être identifiées correctement qu'à partir de leur indice de rétention qui sont différents ((E)- $\beta$ -caryophyllène : Ira/Irp (1417/1600),  $\alpha$ -humulène : Ira/Irp (1448/1669)).

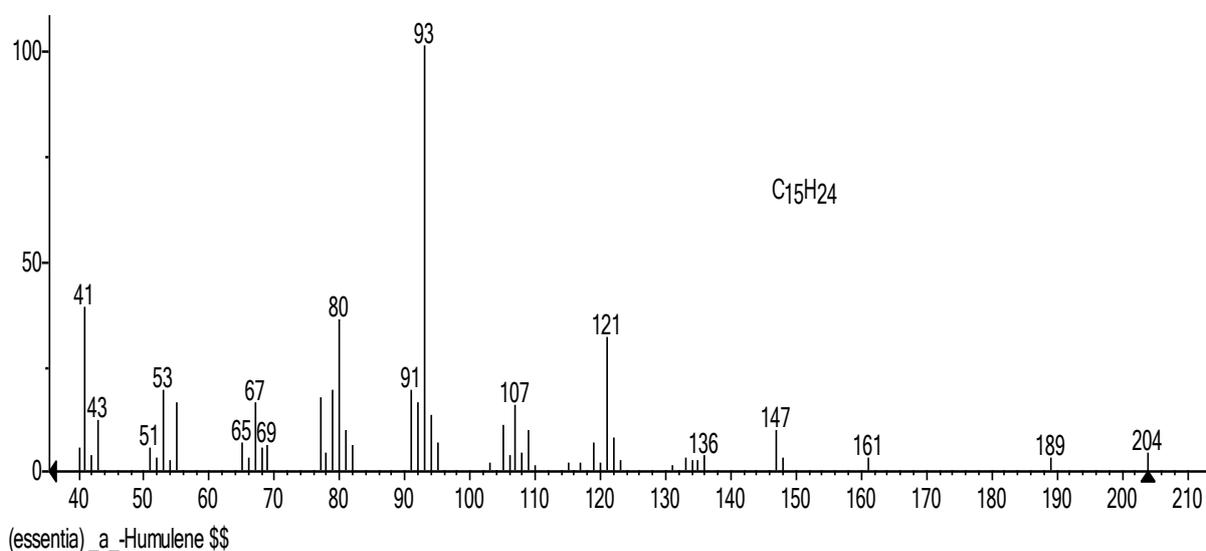
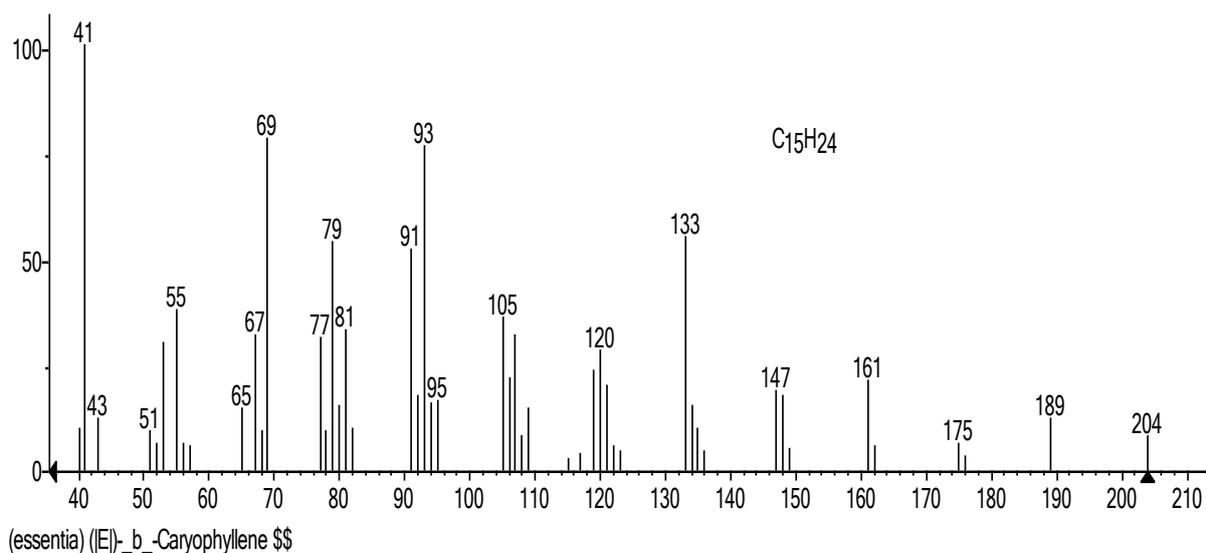


Figure 41: Spectre de masse en mode impact électronique d' $\alpha$ -humulène



**Figure 42:** Spectre de masse en mode impact électronique de (E)-β-caryophyllène

De plus, les déplacements chimiques des atomes de carbones de (E)-β-caryophyllène et α-humulène sont différents. D'où l'intérêt de la combinaison des méthodes d'analyses pour la caractérisation des HE.

#### I.4. Activité antibactérienne et fongicide des HE

##### I.4.1. Sensibilité des souches vis-à-vis des HE

Les **Tableaux 9** et **10** présentent les résultats issus des tests d'inhibition et montrent que les diamètres d'inhibition des HE sur les souches varient de 8 à 13 mm. Les HE dont le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur ou égal à 11 mm ( $d \geq 11$  mm), présentent une activité sur la souche. Ainsi l'HE des feuilles de *O. suaveolens* manifeste une activité sur *Escherichia coli* ( $d=11$  mm), *Candida albicans* ( $d=13$  mm) et *Candida glabrata* ( $d=11$ mm) et l'HE de *S. rugosum* sur *Bacillus subtilus* ( $d=12$  mm) et *Candida glabrata* ( $d=11$  mm).

Cependant, les antibiotiques de référence tels que l'oxytétracycline ( $30 \leq d \leq 35$  mm) et l'amphotéricine B ( $d=20$  mm) ont respectivement une forte action inhibitrice sur la croissance des bactéries et champignons testés par rapport aux huiles essentielles.

L'activité des HE qui sont des mélanges complexes de plusieurs molécules est inférieure à celle exercée par les antibiotiques.

**Tableau 9: Récapitulatif des diamètres d'inhibition des huiles sur les bactéries en mm**

	OS feuille	SR feuille	SE feuille	Oxytétracycline
<i>Bacillus subtilis</i>	-	12	-	35
<i>Staphylococcus aureus</i>	08	-	-	35
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	10	35
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	08	-	30
<i>Escherichia coli</i>	11	-	-	33
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	10	35

OS : *Oricia suaveolens*, SR : *Solanum rugosum* ; SE : *Solanum erianthum*

**Tableau 10: Récapitulatif des diamètres d'inhibition des huiles sur les champignons en mm**

	OS Feuille	SR Feuille	Amphotéricine B
<i>Candida albicans</i>	13	11	20
<i>Candida tropicalis</i>	08	0	20
<i>Candida glabrata</i>	11	08	20

OS : *Oricia suaveolens*, SR : *Solanum rugosum* ; SE : *Solanum erianthum*

#### I.4.2. Potentiel antibactérien et fongicide des huiles essentielles

L'étude de l'activité antibactérienne et fongicide a porté sur les HE ayant manifesté une action inhibitrice sur les bactéries et les champignons. Les résultats des paramètres antibactériens et fongicides (CMI, CMB et CMF) déterminées et des rapports CMB/CMI et CMF/CMI des HE extraites de *Solanum rugosum* et de *Oricia suaveolens* sur les souches *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* et *Candida glabrata* sont consignés dans les **Tableaux 11 et 12**.

Les extraits d'HE ont un effet bactériostatique sur les souches de *Escherichia coli* (CMB/CMI = 8), et de *Bacillus subtilis*, (CMB/CMI = 8). Les effets fongistatiques sont observés pour les HE de *Oricia suaveolens* vis-à-vis des *C. albicans* (CMF/CM=4), *C. glabrata* (CMF/CMI=8), et *C. albicans* (CMF/CMI=8) en présence ou en contact de l'HE de *S. rugosum*. Bien qu'il n'existe pas dans la littérature des études sur l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles de *Solanum rugosum* et de *Oricia suaveolens*, le profil des composés volatils qu'elles contiennent, pourrait justifier aussi l'activité qu'elles peuvent manifester.

Les huiles essentielles des feuilles de *S. rugosum* et de *O. suaveolens* ont eu une activité inhibitrice sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* et *Candida glabrata*.

Cette activité pourrait être due à la prédominance de (E)- $\beta$ -caryophyllène dans les différentes HE. En effet la teneur de (E)- $\beta$ -caryophyllène dans les feuilles de *Solanum rugosum* et de *Oricia suaveolens* est de 33,7% et 39,3% respectivement. Le  $\beta$ -Caryophyllène a des propriétés anticancéreuses, antioxydantes, antimicrobiennes (**Dahham et al., 2015**). Il possède un large éventail d'activités biologiques, y compris les activités anti-inflammatoires et anesthésique (**Aakanksha et al., 2014**).

Les activités bactériostatiques et fongostatiques observées pourraient être l'œuvre des sesquiterpènes au regard de leur forte teneur dans ces HE ou à la synergie des composés qu'elles renferment.

En effet, les sesquiterpènes ont de très larges applications. La plupart d'entre eux présentent des propriétés antiseptiques et bactéricides (**Laurent, 2017**). Ainsi, l' $\alpha$ -humulène est reconnu pour ses activités anti-inflammatoire (**Fernandes et al., 2007**), antibactérienne et antibiofilm (**Jang et al., 2020**). Le  $\beta$ -élémol posséderait une activité antitermitique louable selon **Chen et al. (2012)**. Certains sesquiterpènes comme le germacrène sont de puissants anti-inflammatoires. Les HE à sesquiterpènes présentent une excellente tolérance cutanée, contrairement aux monoterpènes (**Laurent, 2017**). Dans la plupart des cas, on pourrait les appliquer pures sur la peau. De plus, un usage massif peut provoquer des allergies alors qu'à petites doses elles sont antiallergiques (**Laurent, 2017**). La présence de ces composés dans les HE pourrait justifier l'utilisation en médecine traditionnelle de *S. erianthum* et de *S. rugosum*. Sur la base des résultats, les huiles essentielles de *Solanum rugosum* et de *Oricia suaveolens*, peuvent être recommandées pour exploration en tant qu'agents antibactériens ou antifongiques complémentaires.

**Tableau 11: Paramètres antibactériens des HE**

	HE	CMI(mg/mL)	CMB(mg/mL)	CMB/CMI	Interprétation
<i>Bacillus subtilus</i>	SR	6,25	50	8	<b>Bactériostatique</b>
<i>Escherichia coli</i>	OS	6,25	50	8	<b>Bactériostatique</b>

OS : *Oricia suaveolens*, SR : *Solanum rugosum*, CMI : Concentration Minimale Inhibitrice, CMB : Concentration Minimale Bactéricide

**Tableau 12: Paramètres antifongiques des HE**

	HE	CMI(mg/mL)	CMF(mg/mL)	CMF/CMI	Interprétation
<i>Candida albicans</i>	SR	6,25	50	8	<b>Fongistatique</b>
<i>Candida albicans</i>	OS	12,5	50	4	<b>Fongistatique</b>
<i>Candida glabrata</i>	OS	6,25	50	8	<b>Fongistatique</b>

OS : *Orcia suaveolens*, SR : *Solanum rugosum*, CMI : Concentration Minimale Inhibitrice, CMF : Concentration Minimale Fongicide

## II. Extraits aux solvants organiques de *Solanum rugosum*

### II.1. Analyse des minéraux

L'analyse chimique élémentaire réalisée à l'aide du spectromètre à fluorescence X a permis de quantifier 48 éléments minéraux.

#### II.1.1. Teneurs en microéléments

Les microéléments contenus dans *Solanum rugosum* sont consignés dans le **Tableau 13** ci-dessous. Les écorces de racines (3,46%) et les écorces de tiges (1,06%) ont une proportion en microéléments plus élevée que celles dans les feuilles (0,89%).

Nous notons la présence du vanadium (0,11%) dans les écorces des tiges et absent dans les feuilles et les écorces des racines. Le sélénium est observé dans les écorces des racines.

Quant à l'aluminium, celui-ci est absent dans les feuilles et présent dans les écorces des tiges (0,36%) et les écorces des racines (0,89%). La teneur en fer est importante dans les écorces des racines que dans les autres organes de la plante (feuilles, les écorces des tiges).

Les oligo-éléments tels que le cuivre, le fer, le sélénium et le zinc sont considérés comme essentiels dans la nutrition et la santé humaine (**Dominigo et Marquès, 2021**).

Le Fer joue un rôle important dans la croissance de la plante. Il est beaucoup utilisé comme coenzyme et aussi important dans l'alimentation et la santé (**Davidian et al., 2007 ; Mossion, 2007 ; N'gaman, 2013**).

Le cuivre possède des propriétés antibactérienne (désinfection, décontamination) intéressantes a été proposé dans la lutte contre le covid-19. (**Fooladi et al., 2020 ; Hartemann, 2021**)

Le zinc quant à lui, participe à la protection contre les radicaux libres, est impliqué dans la cicatrisation des cellules. Il est aussi un anti-inflammatoire. De plus le zinc est actuellement utilisé dans certains essais cliniques contre le COVID-19 (**Pal et al., 2021**).

La présence de ces minéraux dans les feuilles pourrait justifier son usage traditionnel contre les plaies cutanées, les ulcères et les hémorroïdes.

**Tableau 13: Teneurs (%) en microéléments dans *Solanum rugosum***

	<b>Fe</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Al</b>	<b>V</b>	<b>Se</b>	<b>Total</b>
<b>Feuilles</b>	0,30	0,31	0,28	-	-	-	0,89
<b>Écorces des tiges</b>	0,35	0,17	0,10	0,36	0,11	-	1,09
<b>Écorces des racines</b>	1,06	0,60	0,22	0,89	-	0,69	3,46

Fe : Fer, Al : Aluminium, Cu : Cuivre, Zn : Zinc, V : Vanadium, Se : Sélénium

### II.1.2. Teneurs en macroéléments

Le **Tableau 14** résume la teneur en macroéléments majeurs contenus dans les différents organes de *Solanum rugosum*. Ainsi les écorces de tiges contiennent (70,72%) suivis des feuilles (70,55%) et écorces de racines (66,76%). Les éléments minéraux les plus abondants sont le calcium et le potassium respectivement dans les feuilles (15,22% et 32,66%), dans les écorces de tiges (37,18% et 24%) et pour les écorces de racines (32,06 % et 21,61%).

La teneur en phosphore est de 5,68% dans les feuilles. Les écorces des tiges (2,10%) et racines (2,37%) présentent des teneurs proches. La concentration du chlore dans les feuilles (6,77%) est élevée par rapport à celle des autres organes de la plantes (écorces des tiges et racines (1,96%)). Les extraits des écorces des racines et des feuilles montrent un pourcentage en magnésium appréciable (4,95% dans les feuilles et 5,33% dans les écorces des racines) contre 2,67% dans les écorces des tiges.

Les principaux microéléments que l'on trouve dans le corps sont le sodium, le potassium, le magnésium, le calcium, le chlore, le phosphore et le soufre (**Anonyme 10**). Ils assurent de nombreuses fonctions vitales dans l'organisme dont les besoins diffèrent selon l'âge, le sexe et les habitudes de vie. Le calcium par exemple entre dans la structure et la constitution du squelette et des dents (**Delmi et al., 1990**) et régule le rythme cardiaque tout comme le potassium (**Nassira, 2014**).

Le potassium joue un rôle dans la régulation la pression artérielle, dans la teneur en eau de l'organisme, dans l'excitabilité neuromusculaire, contre les crampes et stimule la sécrétion d'insuline. Chez les alcooliques et les patients sous certains diurétiques ou laxatifs, des carences peuvent être observées (Kadja, 2014).

Ces minéraux observés, pourraient contribuer aux propriétés pharmacologiques que manifestent les différents organes de la plante.

**Tableau 14: Teneurs (%) en macroéléments dans *Solanum rugosum***

	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Cl</b>	<b>Mg</b>	<b>S</b>	<b>Si</b>	<b>Na</b>	<b>Total</b>
<b>Feuilles</b>	5,68	32,66	15,22	6,77	4,95	1,65	2,05	0,16	69,41
<b>Ecorces de tiges</b>	2,10	24	37,18	1,96	2,67	1,38	1,32	0,11	70,72
<b>Ecorce de racines</b>	2,37	21,61	32,06	1,96	5,33	1,94	1,15	0,34	66,76

Ca : Calcium, P : Phosphore, K : Potassium, Cl : Clore, S : Soufre, Mg : Magnésium, Si : Silicium, Na : Sodium

## II.2. Rendement des différents extraits

Les rendements obtenus à partir des extraits hydrométhanoliques et des extraits sélectifs (hexanique, chloroformique, éthyle acétatique et n-butanolique) sont consignés dans le **Tableau 15**.

Les résultats des rendements d'extraction obtenus avec les solvants mixtes méthanol-eau varient de 16 à 21,7%. Les feuilles présentent une teneur élevée (21,7%) par rapport aux teneurs observées dans les écorces de tronc (18,1%) et de racines (16%). Le mélange méthanol-eau peut être considéré comme le meilleur solvant d'extraction des métabolites secondaires dans les organes de feuille de la plante d'étude.

Les différents rendements des extractions sélectives calculés varient en fonction de chaque solvant et de chaque organe. Les rendements observés dans les extraits hexaniques (1,7- 3,4%), chloroformiques (3,2-6,3%), éthyle acétatiques (3,5-5%) sont pratiquement proches. Les meilleurs rendements sont obtenus avec le n-butanol (28,7- 42,1%). Les phytocomposés présents dans les différents organes sont extractibles au n-butanol.

**Tableau 15: Rendement (%) des extractions de *Solanum rugosum***

Organes	Feuilles	Écorces des Tiges	Écorces des Racines
<b>Extraits</b>			
	<b>Rendement des extraits bruts</b>		
<b>Hydrométhanolique</b>	21,7	18,1	16
	<b>Rendement des extraits sélectifs</b>		
<b>Hexane</b>	2,7	1,7	3,4
<b>Chloroforme</b>	6,3	4,3	3,2
<b>Acétate d'éthyle</b>	5,0	3,6	3,5
<b>n-Butanol</b>	28,7	32,2	42,1

### II.3. Profils chromatographiques des extraits aux solvants de *S. rugosum*

#### II.3.1. Composition qualitative

##### II.3.1.1. Phytocomposés identifiés dans les extraits hexaniques

Dans ces extraits, les terpènes, stérols et les coumarines ont été identifiés (**Tableau 16**).

Après traitement au réactif de Liebermann-Bürchard, les stérols apparaissent sous forme de spots bruns, verts dans le visible. Quant aux polyterpènes, ils apparaissent à UV 365 nm sous forme de spots rouges (triterpènes de type oléanane et ursane) en jaune-orangé (triterpènes de type lupane). Les génines triterpéniques apparaissent en violet et en bleue. Les colorations violettes observées après révélation au réactif de Godin confirment la présence de stérols et les polyterpènes. Les stéroïdes sont observés en brun et les triterpènes en vert (**Lagnika, 2005 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**). Les empreintes moléculaires de stérols ont été identifiées dans les chromatogrammes des feuilles ( $R_f = 0,00 ; 0,31 ; 0,38 ; 0,48 ; 0,59 ; 0,64 ; 0,73 ; 0,85 ; 0,88 ; 0,94$ ), des écorces des tiges ( $R_f = 0,18 ; 0,61 ; 0,79 ; 0,85 ; 0,92$ ) et des écorces des racines ( $R_f = 0,21 ; 0,35 ; 0,38 ; 0,44 ; 0,47 ; 0,68 ; 0,71 ; 0,76 ; 0,82$ ) avec les réactifs de Liebermann Büchard et de Godin.

Avec le réactif acétate de plomb basique 5% (m/v), les coumarines sont révélées dans le visible en jaune et sous UV 365 nm en spot de coloration bleue et verte (**Wagner et al., 1996 ; Lagnika, 2005 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**).

Les fluorescences bleues sous UV 365 nm indiquent la présence des coumarines. Le réactif KOH 5% (m/v) les révèle en jaune dans le visible et leur couleur change ou s'intensifie sous UV à 365 nm. Aussi, il permet l'identification des composés anthracéniques qui apparaissent sous forme de taches rouges (**Ladiguina et al., 1983 ; Georgievskii et al., 1990 ; Wagner et**

*al.*, 1996 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014). Les empreintes moléculaires de coumarines ont été identifiées dans les extraits avec une présence importante de spots dans les écorces des racines. Les spots moléculaires rouges révélés avec la solution de KOH (Rf = 0,00 ; 0,12 ; 0,35 ; 0,52 ; 0,56), (Rf = 0,06 ; 0,12 ; 0,38 ; 0,49 ; 0,56 ; 0,65 ; 0,71 ; 0,82 ; 0,92) et (Rf = 0,35, 0,47) sont ceux des anthracènes contenus respectivement dans les feuilles, les écorces des tiges et des racines.

**Tableau 16: Profils chromatographiques des extraits hexaniques de *S. rugosum***

Extrait	Phytocomposés identifiés : Rf, (couleur des spots), révélateur
Feuilles	<b>Stérols<sup>a,b</sup></b> : [0,00] Br <sup>b</sup> ; [0,31] J <sup>b</sup> , B <sup>a</sup> ; [0,38] Vi <sup>b</sup> ; [0,48] Vi <sup>b</sup> ; [0,59] B-Vi <sup>a</sup> ,Vi <sup>b</sup> ; [0,64] J <sup>a</sup> ; [0,73] J-V <sup>a</sup> ; [0,85] B <sup>a</sup> ; [0,88] Vi <sup>b</sup> ; [0,94] Vi <sup>b</sup>
	<b>Terpènes<sup>a,b</sup></b> : [0,00] Or <sup>a1</sup> ; [0,09] Or <sup>a1</sup> ; [0,12] Vi <sup>ab2</sup> ; [0,18] Vi <sup>ab2</sup> ; [0,21] R <sup>a3</sup> ; [0,25] R <sup>a3</sup> ; [0,35] R <sup>a3</sup> ; [0,41] R <sup>a3</sup> ; [0,44] Vi <sup>a2</sup> ; [0,48] R <sup>a3</sup> ; [0,52] R <sup>a3</sup> ; [0,61] R <sup>a3</sup>
	<b>Coumarines<sup>c,d,e</sup></b> : [0,25] B <sup>e</sup> ,J-V <sup>d</sup> ; [0,33] J <sup>de</sup> ; [0,41] B-fl <sup>d</sup> ,Jp <sup>e</sup> ; [0,80] B <sup>cd</sup> ; [0,82] B <sup>e</sup>
	<b>Anthracènes<sup>d</sup></b> : [0,00] R <sup>d</sup> ; [0,12] R <sup>d</sup> ; [0,35] R <sup>d</sup> ; [0,52] R <sup>d</sup> ; [0,56] R <sup>d</sup>
Écorces des tiges	<b>Stérols<sup>a,b</sup></b> : [0,18] Jp <sup>a</sup> ; [0,61] J <sup>a</sup> ; [0,79] J <sup>ab</sup> ; [0,85] B <sup>a</sup> ; [0,92] J <sup>a</sup>
	<b>Terpènes<sup>a,b</sup></b> : [0,02] R <sup>a3</sup> ; [0,09] Or <sup>a1</sup> ; [0,24] Vi <sup>a</sup> -V <sup>b2</sup> ; [0,31] Vi <sup>ab2</sup> ; [0,38] Op <sup>a1</sup> ; [0,67] Vi <sup>a2</sup> ; [0,87] Vi <sup>ab2</sup>
	<b>Coumarines<sup>d,e</sup></b> : [0,00] J <sup>de</sup> ; [0,28] J <sup>d</sup> ; [0,31] J <sup>e</sup> ; [0,42] V <sup>e</sup> ; [0,47] V <sup>d</sup> ; [0,52] B <sup>de</sup> ; [0,59] B <sup>e</sup> ; [0,76] V <sup>d</sup> ,B <sup>e</sup> ; [0,87] B <sup>de</sup>
	<b>Anthracènes<sup>d</sup></b> : [0,06] R <sup>d</sup> ; [0,12] R <sup>d</sup> ; [0,38] R <sup>d</sup> ; [0,49] R <sup>d</sup> ; [0,56] R <sup>d</sup> ; [0,65] R <sup>d</sup> ; [0,71] R <sup>d</sup> ; [0,82] R <sup>d</sup> ; [0,92] R <sup>d</sup>
Écorces des racines	<b>Stérols<sup>a,b</sup></b> : [0,21] Vi <sup>b</sup> ; [0,35] Vi <sup>b</sup> ; [0,38] J <sup>a</sup> ; [0,44] Vi <sup>b</sup> ; [0,47] Vi <sup>b</sup> ; [0,68] J <sup>a</sup> ; [0,71] Vi <sup>b</sup> ; [0,76] J <sup>b</sup> ; [0,82] Vi <sup>b</sup>
	<b>Terpènes<sup>a,b</sup></b> : [0,00] Vi <sup>ab2</sup> ; [0,12] Vi <sup>ab2</sup> ; [0,24] Vi <sup>a</sup> -V <sup>b2</sup> ; [0,54] Vi <sup>a2</sup> ; [0,62] Vi <sup>a2</sup> ; [0,68] Vi <sup>a2</sup> ; [0,85] Vi <sup>a2</sup> ; [0,88] Vi <sup>a2</sup>
	<b>Coumarines<sup>c,d,e</sup></b> : [0,00] B <sup>c</sup> ,J-V <sup>d</sup> ,V-Fl <sup>e</sup> ; [0,07] B <sup>c</sup> ,V <sup>d</sup> ,B <sup>e</sup> ; [0,12] V <sup>d</sup> ; [0,21] B-p <sup>e</sup> ; [0,24] J-p <sup>d</sup> ; [0,31] B <sup>d</sup> ; [0,42] J-V <sup>d</sup> ,V <sup>e</sup> ; [0,54] B <sup>c</sup> ,V <sup>d</sup> ,B <sup>e</sup> ; [0,59] B <sup>e</sup> ; [0,62] V <sup>d</sup> ; [0,74] V <sup>d</sup> ,B <sup>e</sup> ; [0,78] V <sup>e</sup> ; [0,85] B <sup>cde</sup>
	<b>Anthracènes<sup>d</sup></b> : [0,35] R <sup>d</sup> ; [0,47] R <sup>d</sup>

a : réactif de Liebermann Büchard ; b : réactif de Godin ; c : sans révélateur ; d : KOH ; e : (AcO)<sub>2</sub>Pb

Br : Brun, B : Bleu, J : Jaune, V : Vert, J-V : Jaune-vert, B-Vi : Bleu violacé, Vi : Violet, Or : Orange, R : Rouge, Op : Orange pâle, Jp : Jaune pâle, Bp : Bleu pâle, Jp : Jaune pâle, Bfl : Bleu fluo, Vfl : Vert fluo

<sup>1</sup> : Triterpènes de type lupane ; <sup>2</sup> : Génine triterpenique ; <sup>3</sup> : Triterpènes de type orléane et ursane

### II.3.1.2. Phytocomposés identifiés dans les extraits chloroformiques

Le **tableau 17** est le résultat de l'analyse qualitative des extraits chloroformiques de *S. rugosum*.

Avec le réactif de Godin, les taches violettes observées correspondent aux stérols et terpènes. Les stéroïdes sont décelés en brun et les triterpènes en vert. Le réactif de Liebermann-Bürchard révélé les stérols dans le visible en brun et vert ; et en jaune et jaune-vert sous UV à 365 nm. Quant aux terpènes, il les a mis en évidence dans le visible sous forme de taches bleues et

violettes (génines triterpéniques) ; et sous UV 365 nm en spots jaune orangé (triterpènes de type lupane) (**Lagnika, 2005 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**).

La solution de KOH méthanolique est utilisée pour la détection des coumarines. En effet, après pulvérisation, les coumarines sont apparues sous forme de taches jaunes, visibles à l'œil nu et cette coloration s'est intensifiée et s'est diversifiée (colorations bleu et vert sous lumière UV 365 nm) (**Ladiguina et al., 1983 ; Georgievskii et al., 1990 ; Wagner et al., 1996 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**). Les coumarines ont été aussi révélées avec  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$  basique 5% (m/v) dans le visible en jaune et sous UV 365 nm en spot de coloration bleue et verte (**Wagner et al., 1996 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**). Les spots ( $R_f = 0,00 ; 0,21 ; 0,40 ; 0,59 ; 0,64$ ), ( $R_f = 0,00 ; 0,24 ; 0,31 ; 0,42 ; 0,47 ; 0,59 ; 0,65$ ) et ( $R_f = 0,00 ; 0,24 ; 0,31 ; 0,42 ; 0,47 ; 0,59 ; 0,65$ ) sont les coumarines révélées respectivement dans les feuilles, les écorces des tiges et des racines.

Les colorations bleues apparues sous l'effet de  $\text{NH}_3$  indiquent la présence d'anthocyanes dans les feuilles ( $R_f = 0,64$ ), dans les écorces des tiges ( $R_f = 0,47 ; 0,56 ; 0,65$ ) et ( $R_f = 0,28 ; 0,38 ; 0,62 ; 0,68 ; 0,74$ ) dans les écorces des racines.

Le réactif  $\text{AlCl}_3$  à 1% (m/v) révèle les flavonoïdes en jaunes au visible et jaune-vert, bleu au brun à l'UV 365 nm. Après traitement au réactif de Neu et visualisation à l'UV 365 nm un nombre important de spots jaune, orange, bleu, vert et rouge caractéristiques des flavonoïdes (**Wagner et al., 1996 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**) est apparu sur le chromatogramme. L'ammoniac décèle les flavonoïdes dans le visible et sous UV 365 nm en jaune et vert (**Ladiguina et al., 1983 ; Dekker, 2003 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**).

Les chromatogrammes des extraits ont montré la présence de plusieurs empreintes moléculaires de flavonoïdes dans les feuilles, les écorces des tiges et des racines.

Le réactif  $\text{FeCl}_3$  (2%) a mis en évidence les tanins et les acides phénoliques. Dans le visible, les tanins ont été révélés en brun, alors que les autres composés phénoliques l'ont été en vert. Les alcaloïdes apparaissent en spots orange après traitement par le réactif de Dragendorff (**Ekoumou, 2003 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**).

**Tableau 17: Profils chromatographiques des extraits chloroformiques de *S. rugosum***

Extrait	Phytocomposé identifié : Rf, (couleur des spots), révélateur
Feuilles	<b>Stérols<sup>a,b</sup></b> : [0,00] Br <sup>a</sup> ; [0,06] J <sup>a</sup> ; [0,12] Vi <sup>b</sup> ; [0,61] B-V <sup>a</sup> ; [0,69] B-V <sup>a</sup> ; [0,82] Vi <sup>b</sup>
	<b>Terpènes<sup>a,b</sup></b> : [0,09] R <sup>a3</sup> ; [0,15] R <sup>a3</sup> ; [0,18] V <sup>b</sup> ; [0,25] B-Vi <sup>a</sup> , Vi <sup>b2</sup> ; [0,35] Or <sup>a2</sup> ; [0,51] J-Or <sup>a2</sup> ; [0,80] R <sup>a3</sup> ; [0,92] R <sup>a3</sup>
	<b>Coumarines<sup>c,d,e,f</sup></b> : [0,00] B <sup>e</sup> , J <sup>d</sup> ; [0,21] V <sup>e</sup> ; [0,25] B <sup>d</sup> ; [0,28] J <sup>d</sup> ; [0,33] J <sup>d</sup> ; [0,40] Br-B <sup>c</sup> , B-V <sup>e</sup> , Br <sup>f</sup> ; [0,48] Br-B <sup>c</sup> , J <sup>d</sup> ; [0,54] B <sup>d</sup> ; [0,59] B <sup>e</sup> ; [0,61] B <sup>d</sup> ; [0,64] B <sup>ce</sup> ; [0,69] B <sup>cd</sup>
	<b>Anthracènes<sup>d</sup></b> : [0,82] R <sup>d</sup> ; [0,92] R <sup>d</sup>
	<b>Flavonoïdes<sup>f,g,h</sup></b> : [0,00] J <sup>f</sup> ,J-Or <sup>gh</sup> ; [0,06] B <sup>g</sup> ; [0,09] J-Or <sup>f</sup> ; [0,12] R-Or <sup>h</sup> ; [0,25] R-Or <sup>h</sup> ; [0,28] J <sup>f</sup> ; [0,31] J-Br <sup>h</sup> ; [0,38] B-fl <sup>h</sup> ; [0,48] B-V <sup>h</sup> ; [0,51] J-V <sup>f</sup> ; [0,54] B <sup>h</sup> ; [0,61] B-fl <sup>h</sup>
	<b>Anthocyanes<sup>f</sup></b> : [0,64] B <sup>f</sup> <b>Alcaloïdes<sup>j</sup></b> : [0,00] V-Or <sup>j</sup> <b>Tanins<sup>i</sup></b> : [0,00] Br <sup>i</sup> <b>Acides phénols<sup>i</sup></b> : [0,94] V <sup>i</sup>
Écorces des tiges	<b>Stérols<sup>a,b</sup></b> : [0,00] Br <sup>a</sup> ; [0,06] Br <sup>a</sup> ; [0,12] Vi <sup>b</sup> ; [0,18] J-V <sup>a</sup> ; [0,38] J-V <sup>a</sup> ; [0,82] Vi <sup>b</sup>
	<b>Terpènes<sup>a</sup></b> : [0,09] Vi <sup>a2</sup> ; [0,15] R <sup>a3</sup> ; [0,31] R <sup>a3</sup> ; [0,36] R <sup>a3</sup> ; [0,79] R <sup>a3</sup> ; [0,92] R <sup>a3</sup>
	<b>Coumarines<sup>c,d,e,f</sup></b> : [0,00] J <sup>d</sup> , B <sup>e</sup> ; [0,24] B <sup>d</sup> , V <sup>e</sup> ; [0,27] J <sup>d</sup> ; [0,31] J <sup>e</sup> ; [0,33] B <sup>c</sup> ; [0,36] Br <sup>f</sup> ; [0,42] V <sup>d</sup> ,B <sup>e</sup> ; [0,47] V <sup>d</sup> ,B <sup>e</sup> ; [0,52] B <sup>d</sup> ; [0,56] B-Fl <sup>f</sup> ; [0,59] B <sup>e</sup> ; [0,61] B <sup>d</sup> ; [0,65] B <sup>cde</sup>
	<b>Anthracènes<sup>d</sup></b> : [0,82] R <sup>d</sup> ; [0,92] R <sup>d</sup>
	<b>Flavonoïdes<sup>f,g,h</sup></b> : [0,00] J <sup>f</sup> ,J-Or <sup>gh</sup> ; [0,06] B <sup>g</sup> ; [0,09] J-Or <sup>f</sup> ; [0,12] R-Or <sup>h</sup> ; [0,27] Or-p <sup>f</sup> ,R-Or <sup>h</sup> ; [0,31] J-Br <sup>h</sup> ; [0,3] B <sup>h</sup> ; [0,42] V <sup>h</sup> ; [0,47] V <sup>h</sup> ; [0,52] J-V <sup>f</sup> ,B <sup>h</sup> ; [0,59] B <sup>h</sup> ; [0,61] B <sup>g</sup> ; [0,65] B <sup>gh</sup> ; [0,79] B <sup>g</sup> ,R <sup>h</sup>
	<b>Anthocyanes<sup>f</sup></b> : [0,47] B-fl <sup>f</sup> ; [0,56] B-fl <sup>f</sup> ; [0,65] B <sup>f</sup> <b>Alcaloïdes<sup>j</sup></b> : [0,00] V-Or <sup>j</sup> ; [0,94] V-Or <sup>j</sup> ; <b>Tanins<sup>i</sup></b> : [0,00] Br <sup>i</sup> <b>Acides phénols<sup>i</sup></b> : [0,94] V <sup>i</sup>
Écorces des racines	<b>Stérols<sup>a,b</sup></b> : [0,00] Br <sup>ab</sup> ; [0,12] Vi <sup>b</sup> ; [0,35] Vi <sup>b</sup> ; [0,42] B <sup>a</sup> -Vi <sup>b</sup> ; [0,54] B <sup>a</sup> ; [0,62] V <sup>a</sup> -Vi <sup>b</sup> ; [0,79] B <sup>a</sup> ; [0,76] J <sup>b</sup> ; [0,82] Vi <sup>b</sup>
	<b>Terpènes<sup>a,b</sup></b> : [0,07] Vi <sup>a2</sup> ; [0,12] J-Or <sup>a1</sup> ; [0,25] Or <sup>a1</sup> ; [0,82] Vi <sup>ab2</sup> ; [0,84] Vi <sup>a2</sup> ; [0,88] J-Or <sup>a2</sup>
	<b>Coumarines<sup>c,d,e,f</sup></b> : [0,00] V <sup>d</sup> , B <sup>e</sup> ; [0,07] V <sup>d</sup> ; [0,15] V <sup>de</sup> ; [0,25] B-V <sup>d</sup> , V <sup>e</sup> ; [0,28] V <sup>e</sup> ; [0,33] B-V <sup>e</sup> ; [0,35] B <sup>c</sup> ,V <sup>d</sup> ; [0,38] J <sup>d</sup> ; [0,42] B <sup>d</sup> ; [0,48] B <sup>c</sup> ,V <sup>d</sup> ; [0,51] V-fl <sup>e</sup> ; [0,54] B <sup>d</sup> ; [0,59] B <sup>e</sup> ; [0,62] V <sup>d</sup> ; [0,65] J <sup>d</sup> ,B <sup>ce</sup> ; [0,42] B <sup>c</sup> ,V <sup>d</sup> ; [0,74] B <sup>cde</sup> ; [0,80] B <sup>c</sup> ; [0,88] B <sup>cd</sup>
	<b>Flavonoïdes<sup>f,g,h</sup></b> : [0,00] V <sup>f</sup> ,J-V <sup>gh</sup> ; [0,07] B-V <sup>g</sup> ; [0,12] J-p <sup>f</sup> ,V <sup>h</sup> ; [0,20] B <sup>gh</sup> ; [0,31] B <sup>h</sup> ; [0,33] B <sup>g</sup> ; [0,38] B <sup>g</sup> ; [0,40] V <sup>h</sup> ; [0,48] J <sup>h</sup> ; [0,51] V <sup>f</sup> ; [0,54] V-fl <sup>f</sup> ,B <sup>gh</sup> ; [0,62] B <sup>h</sup> ; [0,65] B <sup>g</sup> ; [0,68] B <sup>gh</sup> ; [0,74] B <sup>g</sup> , B-V <sup>h</sup> ; [0,80] B <sup>g</sup>
	<b>Anthocyanes<sup>f</sup></b> : [0,28] B <sup>f</sup> ; [0,38] B-fl <sup>f</sup> ; [0,62] B <sup>f</sup> ; [0,68] B <sup>f</sup> ; [0,74] B <sup>f</sup>
	<b>Alcaloïdes<sup>j</sup></b> : [0,00] Or <sup>j</sup> ; [0,35] Or <sup>j</sup> ; [0,71] Or <sup>j</sup> ; [0,85] Or <sup>j</sup> <b>Tanins<sup>i</sup></b> : [0,00] Br <sup>i</sup>

a : réactif de Liebermann Büchard ; b : réactif de Godin ; c : sans révélateur ; d : KOH ; e : (AcO)<sub>2</sub>Pb ; f :NH<sub>3</sub> ; g :AlCl<sub>3</sub> ; h : réactif de Neu ; i : FeCl<sub>3</sub>; j : réactif de Dragendorff;

Br : Brun, B : Bleu, J : Jaune, V : Vert, V-Or : Vert orangé, J-V : Jaune-vert, B-Vi : Bleu violacé, Vi : Violet, Or : Orange, R : Rouge, Op : Orange pâle, Jp : Jaune pâle, B-V : Bleu vert, Br-B : Brun-Bleu, B-fl : Bleu fluo, V-fl : Vert fluo, J-Br : Jaune-Brun, J-Or : Jaune Orangé, R-Or : Rouge orangé.

<sup>1</sup> : Triterpènes de type lupane ; <sup>2</sup> : Génine triterpenique ; <sup>3</sup> : Triterpènes de type orleane et ursane

### II.3.1.3. Phytocomposés identifiés dans les extraits acétate éthyliques

Les phytocomposés mis en évidence dans les extraits acétate éthyliques (**Tableau 18**) sont les coumarines, les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins et les acides phénols.

La présence des flavonoïdes a été mise en évidence par le réactif  $\text{AlCl}_3$  1% (m/v) à 365 nm. Les colorations bleues à l'UV 365 nm observées sont caractéristiques aux flavonoïdes (**Lagnika, 2005 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**). Avec le réactif de Neu et visualisation à l'UV 365 nm, on note l'apparition des fluorescences jaune, rouge, orange, verte, et bleue caractéristiques des flavonoïdes (**Wagner et al., 1996 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**).

Le réactif de Godin révèle aussi les flavonoïdes dans le visible aux colorations jaunes.

Plusieurs taches moléculaires de flavonoïdes ont été observées dans les différents extraits.

Les anthocyanes ( $R_f = 0,61$ ) dans les feuilles, ( $R_f = 0,31 ; 0,59$ ) dans les écorces des tiges et ( $R_f = 0,87$ ) dans les écorces des racines ont révélées par  $\text{NH}_3$ .

À UV 365 nm, les coumarines sont sous forme de taches bleues (**Lagnika, 2005 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**).

Les spots moléculaires révélés avec la solution de KOH ( $R_f = 0,00 ; ; 0,08 ; 0,15 ; 0,18 ; 0,21 ; 0,24 ; 0,28 ; 0,40 ; 0,59 ; 0,69$ ), ( $R_f = 0,00 ; 0,06 ; 0,18 ; 0,27 ; 0,31 ; 0,38 ; 0,44 ; 0,47 ; 0,59 ; 0,71 ; 0,75$ ) et ( $R_f = 0,00 ; 0,20 ; 0,25 ; 0,28 ; 0,35 ; 0,44 ; 0,51 ; 0,59 ; 0,68 ; 0,71 ; 0,80 ; 0,87$ ) sont ceux des coumarines contenues respectivement dans les extraits des feuilles, des écorces des tiges et écorces des racines.

Le réactif  $\text{FeCl}_3$  met en évidence les tanins et les acides phénols (**Ekoumou, 2003 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014**). Dans les chromatogrammes les tanins sont apparus en brun ( $R_f = 0,08 ; 0,21 ; 0,28 ; 0,48 ; 0,71 ; 0,76$  dans les feuilles), ( $R_f = 0,12 ; 0,71 ; 0,75$  dans les écorces des tiges), ( $R_f = 0,12 ; 0,87$  dans les écorces des racines) et les acides phénols en vert dans les feuilles ( $R_f = 0,88 ; 0,92 ; 0,94$ ) et dans les écorces des tiges ( $R_f = 0,92 ; 0,94$ ).

**Tableau 18: Profils chromatographiques des extraits acétate éthyliques de *S. rugosum***

Extrait	Phytocomposé identifié : $R_f$ , (couleur des spots), révélateur
Feuilles	<b>Coumarines</b> <sup>c,d,e,f</sup> : [0,00] J <sup>d</sup> ; [0,05] J <sup>e</sup> ,Br <sup>f</sup> ; [0,08] J-p <sup>d</sup> ; [0,12] B-fl <sup>c</sup> ,V-fl <sup>e</sup> ,Br <sup>f</sup> ; [0,15] J <sup>d</sup> ; [0,18] J <sup>d</sup> ; [0,21] J <sup>d</sup> ; [0,24] B <sup>e</sup> ,J <sup>d</sup> ,Br <sup>f</sup> ; [0,28] B <sup>d</sup> ; [0,33] J <sup>e</sup> ; [0,35] Br <sup>f</sup> ; [0,40] B <sup>d</sup> ; [0,48] Br <sup>f</sup> ; [0,51] J <sup>e</sup> ; [0,59] J <sup>d</sup> ; [0,69] B <sup>cd</sup> ; [0,71] J-V <sup>e</sup> ; [0,74] B <sup>c</sup> ,J <sup>e</sup>
	<b>Flavonoïdes</b> <sup>b,f,g,h</sup> : [0,05] J <sup>dg</sup> ,Or <sup>h</sup> ; [0,08] J-V <sup>gh</sup> ; [0,12] J <sup>dgh</sup> ; [0,21] J <sup>dg</sup> ; [0,24] Or <sup>h</sup> ; [0,28] J-V <sup>h</sup> ; [0,31] J <sup>d</sup> ; [0,33] J <sup>g</sup> ; [0,35] J <sup>h</sup> ; [0,40] Ro <sup>b</sup> ; [0,44] J-V <sup>h</sup> ; [0,48] J <sup>g</sup> ; [0,54] J <sup>h</sup> ; [0,59] J <sup>f</sup> ; [0,61] V <sup>f</sup> ; [0,69] J <sup>f</sup> ; [0,71] V <sup>gh</sup> ; [0,76] J-V <sup>h</sup> ; [0,85] Ro <sup>b</sup> , J-V <sup>g</sup> , Or <sup>h</sup> ; [0,88] V <sup>h</sup> ; [0,92] V <sup>h</sup> ; [0,94] V <sup>h</sup>
	<b>Anthocyanes</b> <sup>f</sup> : [0,61] B <sup>f</sup>
	<b>Tanins</b> <sup>i</sup> : [0,08] Br <sup>i</sup> ; [0,21] Br <sup>i</sup> ; [0,28] Br <sup>i</sup> ; [0,48] Br <sup>i</sup> ; [0,71] Br <sup>i</sup> ; [0,76] Br <sup>i</sup>
	<b>Acides phénols</b> <sup>i</sup> : [0,88] V <sup>i</sup> ; [0,92] V <sup>i</sup> ; [0,94] V <sup>i</sup>

<b>Écorces des Tiges</b>	<b>Coumarines</b> <sup>c,d,e,f</sup> : [0,00] V <sup>d</sup> ; [0,06] B <sup>d</sup> ; [0,09] B <sup>c</sup> ,V-fl <sup>e</sup> ; [0,12] Br <sup>f</sup> ; [0,18] V <sup>d</sup> ; [0,21] B <sup>c</sup> ; [0,24] B <sup>e</sup> ; [0,27] J <sup>d</sup> ; [0,31] B <sup>cde</sup> ; [0,38] J <sup>d</sup> ; [0,44] B-V <sup>d</sup> ,J-V <sup>e</sup> ; [0,47] J <sup>d</sup> ; [0,59] B <sup>c</sup> ,J-V <sup>d</sup> ; [0,67] B <sup>c</sup> ; [0,71] B <sup>d</sup> ,J-V <sup>e</sup> ; [0,75] J <sup>d</sup> ,J-V <sup>e</sup>
	<b>Flavonoïdes</b> <sup>b,f,g,h</sup> : [0,09] V <sup>g</sup> ,J-V <sup>h</sup> ; [0,21] J-Or <sup>d</sup> , V <sup>f</sup> , B-fl <sup>g</sup> ,V-fl <sup>h</sup> ; [0,31] Ro <sup>b</sup> ,B-fl <sup>g</sup> ,V-fl <sup>h</sup> ; [0,40] Ro <sup>b</sup> , V <sup>f</sup> , B-fl <sup>g</sup> ,J-V <sup>h</sup> ; [0,47] V <sup>f</sup> ; [0,56] J <sup>f</sup> ; [0,59] V <sup>f</sup> ; [0,71] V <sup>gh</sup> ; [0,75] V <sup>f</sup> , J-V <sup>h</sup> ; [0,87] B-fl <sup>h</sup> ; 0,94(R <sup>h</sup> ) Anthocyanes <sup>f</sup> : [0,31] B-fl <sup>f</sup> ; [0,59] B <sup>f</sup> <b>Tanins</b> <sup>i</sup> : [0,12] Br <sup>i</sup> ; [0,71] Br <sup>i</sup> ; [0,75] Br <sup>i</sup> Acides phénols <sup>i</sup> : [0,92] V <sup>i</sup> ; [0,94] V <sup>i</sup> ;
<b>Écorces des Racines</b>	<b>Coumarines</b> <sup>c,d,e,f</sup> : [0,00] V <sup>d</sup> ; [0,09] B <sup>c</sup> ,V-fl <sup>e</sup> ; [0,12] V <sup>d</sup> ,Br <sup>f</sup> ; [0,20] B <sup>cd</sup> ,B-fl <sup>f</sup> ; [0,25] B-V <sup>d</sup> ,B <sup>e</sup> ; [0,28] B <sup>ce</sup> ,B-V <sup>d</sup> ; [0,35] J <sup>d</sup> ; [0,4] B <sup>c</sup> ,V <sup>d</sup> ; [0,51] B <sup>c</sup> ,J <sup>d</sup> ; [0,54] B <sup>e</sup> ; [0,59] V <sup>d</sup> ; [0,68] B <sup>d</sup> ; [0,71] V <sup>d</sup> ,J-V <sup>e</sup> ; [0,74] B <sup>c</sup> ; [0,80] B-V <sup>d</sup> ; [0,87] J-V <sup>d</sup> ,B <sup>e</sup> ; [0,94] B <sup>c</sup>
	<b>Flavonoïdes</b> <sup>b,f,g,h</sup> : [0,02] V <sup>f</sup> ; [0,06] J <sup>b</sup> ,J-V <sup>h</sup> ; [0,25] J <sup>b</sup> ,B-fl <sup>h</sup> ; [0,28] Ro <sup>b</sup> ,B-V <sup>f</sup> ,V-fl <sup>g</sup> ; [0,35] B-V <sup>f</sup> ; [0,40] Ro <sup>b</sup> , B-V <sup>f</sup> , B-fl <sup>g</sup> , J-V <sup>h</sup> ; [0,44] J <sup>h</sup> ; [0,51] J <sup>f</sup> ; [0,54] V <sup>f</sup> ,B-fl <sup>g</sup> ; [0,59] V <sup>f</sup> ; [0,65] Ro <sup>b</sup> ,V <sup>g</sup> ; [0,68] V <sup>h</sup> ; [0,71] Ro <sup>b</sup> ,J-p <sup>f</sup> , J <sup>h</sup> ; [0,74] V <sup>f</sup> ,B-fl <sup>g</sup> , J-V <sup>h</sup> ; [0,80] B-fl <sup>g</sup> Anthocyanes <sup>f</sup> : [0,87] B <sup>f</sup> <b>Tanins</b> <sup>i</sup> : [0,12] Br <sup>i</sup> ; [0,87] Br <sup>i</sup>

c: sans révélateur; d: KOH; e: (AcO)<sub>2</sub>Pb; f: NH<sub>3</sub>; g: AlCl<sub>3</sub>; h: réactif de Neu, i: FeCl<sub>3</sub>; Br: Brun, B: Bleu, J: Jaune, V: Vert, J-V: Jaune-vert, B-V: Bleu vert, R: Rouge, B-fl: Bleu fluo, V-fl: Vert fluo, Or: Orangé

#### II.3.1.4. Phytocomposés identifiés dans les extraits n-butanoliques

Le résumé du criblage phytochimique des extraits n-butanoliques, est consigné dans le **tableau 19**.

Les coumarines ont été révélées avec les réactifs KOH 5% (m/v) et (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Pb basique 5% (m/v) dans le visible, en jaune et sous UV 365 nm en spot de coloration bleue et verte (**Wagner et al., 1996 ; N’gaman, 2013 ; Kabran, 2014**). Plusieurs empreintes moléculaires de coumarines ont été identifiés dans les feuilles (Rf = 0,06 ; 0,18 ; 0,21 ; 0,31 ; 0,38 ; 0,42 ; 0,45 ; 0,59 ; 0,85), les écorces des tiges (Rf = 0,00 ; 0,06 ; 0,33 ; 0,42 ; 0,47 ; 0,52) et dans les écorces des racines (Rf = 0,00 ; 0,07 ; 0,33 ; 0,42 ; 0,48 ; 0,80 ; 0,88).

La présence des flavonoïdes est mise en évidence par la solution éthanolique de AlCl<sub>3</sub> à 1%. Une fluorescence allant du bleu au brun au visible et jaune-vert et observée sous UV 365 nm atteste la présence des flavonoïdes. Le réactif de Neu les révèle aussi par l’apparition de plusieurs colorations sous UV 365 nm (**Lagnika, 2005 ; N’gaman, 2013 ; Kabran, 2014**).

Quant à l’ammoniac, sa vapeur décèle les flavonoïdes dans le visible et sous UV 365 nm en jaune et vert (**Dekker, 2003 ; N’gaman, 2013 ; Kabran, 2014**). Les empreintes moléculaires (Rf = 0,06 ; 0,15 ; 0,21 ; 0,25 ; 0,45 ; 0,51 ; 0,56 ; 0,59 ; 0,65 ; 0,74 ; 0,80 ; 0,82 ; 0,85 ; 0,94), (Rf = 0,06 ; 0,15 ; 0,24 ; 0,31 ; 0,33 ; 0,47 ; 0,52 ; 0,65 ; 0,75 ; 0,82 ; 0,94) et (Rf = 0,07 ; 0,12 ; 0,21 ; 0,25 ; 0,35 ; 0,42 ; 0,59 ; 0,74 ; 0,80 ; 0,94) sont celles des flavonoïdes contenus

respectivement dans les feuilles, écorces des tiges et dans les écorces des racines. Les colorations bleues ou violettes apparues sous l'effet de NH<sub>3</sub>, indiquent la présence d'anthocyanes (Ladiguina *et al.*, 1983 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014). Elles sont présentes dans les extraits des écorces des tiges (Rf =0,47), écorces des racines (Rf = 0,25 ; 0,94), mais sont absentes dans les extraits de feuilles.

Les tanins ont été mis en évidence par la solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> 2% (m/v). Ainsi, ils sont observés à l'œil nu sous forme de coloration brune (Rf= 0,31) dans les feuilles et (Rf = 0,33) dans les écorces des tiges et des racines. De plus, un spot moléculaire d'acide phénol (Rf=0,18) révélé avec le réactif FeCl<sub>3</sub> 2% (m/v) a été identifié dans les feuilles, mais absent dans les écorces des tiges et des racines. Avec le réactif de Dragendor'ff, les alcaloïdes apparaissent en spots orange. (Ekoumou, 2003 ; N'gaman, 2013 ; Kabran, 2014). Les chromatogrammes des différents extraits présentent un spot (Rf = 0,06) dans les feuilles, dans les écorces des tiges deux spots (Rf = 0,00 ; 0,06) et trois spots (Rf = 0,00 ; 0,06 et 0,12) dans les écorces des racines.

**Tableau 19: Profils chromatographiques des extraits n-butanoliques de *S. rugosum***

Extrait	Phytocomposé identifié : Rf, (couleur des spots), révélateur
Feuilles	<b>Coumarines</b> <sup>c,d,e,f</sup> : [0,06] J <sup>d</sup> ,J-Or <sup>e</sup> ; [0,18] J <sup>de</sup> ,Br <sup>f</sup> ; [0,21] V <sup>e</sup> ; [0,25] Br <sup>f</sup> ; [0,31] (B <sup>c</sup> ,J <sup>d</sup> , V-fl <sup>e</sup> , Br <sup>f</sup> ; [0,88] B <sup>d</sup> ; [0,42] B-V <sup>c</sup> ,J <sup>d</sup> ; [0,45] B <sup>e</sup> ; [0,51] B-V <sup>c</sup> ,Br <sup>f</sup> ; [0,56] B-V <sup>c</sup> ,B <sup>d</sup> ; [0,59] B <sup>e</sup> ; [0,69] B-V <sup>c</sup> ; [0,85] J-p <sup>d</sup>
	<b>Flavonoïdes</b> <sup>b,f,g,h</sup> : [0,06] J <sup>f</sup> ; [0,15] J <sup>bg</sup> , Or <sup>h</sup> ; [0,21] J-p <sup>h</sup> ; [0,25] J <sup>b</sup> , V <sup>g</sup> ,J-V <sup>h</sup> ; [0,45] Or <sup>h</sup> ; [0,51] J <sup>bg</sup> , J-Or <sup>h</sup> ; [0,56] J-Or <sup>h</sup> ; [0,59] Ro <sup>b</sup> ,B-V <sup>f</sup> , J-p <sup>g</sup> ; [0,65] Ro <sup>b</sup> , J-p <sup>f</sup> ; [0,74] B-V <sup>f</sup> , V <sup>h</sup> ; [0,80] V-fl <sup>g</sup> ; [0,82] J-p <sup>f</sup> ; [0,85] J-p <sup>h</sup> ; [0,94] R <sup>h</sup>
	<b>Alcaloïdes</b> <sup>j</sup> : [0,06] Or <sup>j</sup> ;
	<b>Tanins</b> <sup>i</sup> : [0,31] Br <sup>i</sup>
Écorces des tiges	<b>Acides phenols</b> <sup>i</sup> : [0,18] V <sup>i</sup>
	<b>Coumarines</b> <sup>c,d,e,f</sup> : [0,00] V <sup>d</sup> ; [0,06] V <sup>d</sup> ; [0,24] B <sup>c</sup> ; [0,33] B <sup>d</sup> ,V-fl <sup>e</sup> , Br <sup>f</sup> ; [0,42] J <sup>d</sup> ; [0,47] B <sup>c</sup> ; [0,52] B <sup>d</sup> ; [0,7] B <sup>c</sup>
	<b>Flavonoïdes</b> <sup>b,f,g,h</sup> : [0,06] J <sup>b</sup> , V <sup>f</sup> ; [0,15] J <sup>b</sup> , V <sup>f</sup> ; [0,24] V <sup>f</sup> ; [0,31]J <sup>h</sup> ; [0,33] V <sup>g</sup> ; [0,47] B <sup>g</sup> , V-fl <sup>h</sup> ; [0,52] J <sup>b</sup> , V <sup>f</sup> ; [0,65] J-p <sup>f</sup> , B-fl <sup>h</sup> ; [0,75] V <sup>h</sup> ; [0,82] Ro <sup>b</sup> , B <sup>g</sup> ; [0,94] R <sup>h</sup>
	<b>Anthocyanes</b> <sup>f</sup> : [0,47] B <sup>f</sup>
Écorces des racines	<b>Alcaloïdes</b> <sup>j</sup> : [0,00] Or <sup>j</sup> ; [0,06] Or <sup>j</sup> ;
	<b>Tanins</b> <sup>i</sup> : [0,3] Br <sup>i</sup>
	<b>Coumarines</b> <sup>c,d,e,f</sup> : [0,00] V <sup>d</sup> ; [0,07] V <sup>d</sup> ; [0,21] B <sup>c</sup> ; [0,33] V <sup>d</sup> , V-fl <sup>e</sup> ; [0,35] B <sup>c</sup> ; [0,42] J <sup>d</sup> , V-Br <sup>e</sup> ; [0,48] B <sup>de</sup> ; [0,80] B <sup>cd</sup> ; [0,84] B <sup>c</sup> ; [0,88] J-p <sup>d</sup> , B-fl <sup>e</sup>
	<b>Flavonoïdes</b> <sup>b,f,g,h</sup> : [0,0] J <sup>h</sup> ; [0,12] V <sup>f</sup> ; [0,21] V <sup>h</sup> ; [0,25] Ro <sup>b</sup> , J <sup>h</sup> ; [0,35] V <sup>f</sup> ; [0,42] Ro <sup>b</sup> , V-Br <sup>f</sup> , B <sup>g</sup> ,V <sup>h</sup> ; [0,59] V <sup>h</sup> ; [0,74] V <sup>h</sup> ; [0,80] V <sup>h</sup> ; [0,94] B-V <sup>f</sup>
Écorces des racines	<b>Anthocyanes</b> <sup>f</sup> : [0,25] B <sup>f</sup> ; [0,94] B-V <sup>f</sup>
	<b>Alcaloïdes</b> <sup>j</sup> : [0,00] Or <sup>j</sup> ; [0,06] Or <sup>j</sup> ; [0,12] Or <sup>j</sup> ;
	<b>Tanins</b> <sup>i</sup> : [0,33] Br <sup>i</sup>

c: sans révélateur; d: KOH; e: (AcO)<sub>2</sub>Pb; f: NH<sub>3</sub>; g: AlCl<sub>3</sub>; h: réactif de Neu; i: FeCl<sub>3</sub>; j: réactif de Dragendor'ff; Br: Brun, B : Bleu, J : Jaune, V : Vert, B-V : Bleu vert, B-fl : Bleu fluo, V-fl : Vert fluo, Or : Orange , J-Or : Jaune Orangé V-Br : Vert brun, J-V : Jaune-vert, R : Rouge

L'étude phytochimique par CCM des différents organes de *Solanum rugosum* de Côte d'Ivoire a révélé la coexistence d'une multitude de phytoconstitués, au nombre desquels nous comptons : les stérols, les terpènes, les coumarines, les anthracènes, les flavonoïdes, les anthocyanes, les acides phénols, les tanins et les alcaloïdes. Le **Tableau 20** résume les résultats obtenus.

**Tableau 20:** Récapitulatif du criblage phytochimique de *S. rugosum*

Phytoconstitués	<i>Solanum rugosum</i>											
	Feuilles				Ecorces des Tiges				Ecorces des Racines			
	Hx	Chl	Ae	Bu	Hx	Chl	Ae	Bu	Hx	Chl	Ae	Bu
<b>Alcaloïdes</b>	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
<b>Acides phénols</b>	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
<b>Anthocyanes</b>	-	+	+	+	-	+	+	+	-	++	+	+
<b>Anthracènes</b>	+	+	-	-	++	+	-	-	+	-	-	-
<b>Coumarines</b>	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	+++	+++	++
<b>Flavonoïdes</b>	-	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	-	+++	+++	++
<b>Stérols</b>	++	++	-	-	+	++	-	-	++	++	-	-
<b>Tanins</b>	-	+	++	+	-	+	+	+	-	+	+	+
<b>Terpènes</b>	++	++	-	-	++	++	-	-	++	++	-	-

- : Absence ; + : présence faible ; ++ : présence moyenne ; +++ : présence forte  
**Hx** : Hexane ; **Chl** : Chloroforme ; **Ae** : Acétate d'éthyle ; **Bu** : n-Butanol.

Les flavonoïdes ont été mises en évidence dans les différents organes (feuilles, écorces de tiges et de racines) de *Solanum rugosum*. Selon les travaux réalisés par certains auteurs, les flavonoïdes tels que tiliroside, 7-o- $\alpha$ -L-ramnopyranosyl et kaempferol-3-o-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1-6)- $\alpha$ -L-ramnopyranosyl] ont été isolés dans les feuilles de l'espèce brésilienne (**Pinto et al., (2011)**). Plusieurs flavonoïdes ont été isolés des espèces du genre *Solanum*. Ainsi, *Solanum torvum* provenant de la chine contient des flavonoïdes (isoquercétine, rutine, kaempferol, quercétine) (**LuYan-Y et al., 2011**). Trois flavonoïdes ont été identifiés sous forme de trace dans la pulpe de *Solanum melongena* (la quercétine-3-glucoside, la quercétine-3-rhamnoside et la myricétine-3-galactoside) (**SinghA et al., 2009**). Le criblage phytochimique réalisé sur *Solanum nigrum* a permis d'identifier dans ses feuilles plusieurs métabolites secondaires notamment les flavonoïdes, les coumarines, les tanins, les saponines, les alcaloïdes et les glycosides (**Zemali et al., 2014**).

Les alcaloïdes ont été mises en évidence dans les feuilles, écorces de tiges et racines de *Solanum rugosum*. En effet, la famille des Solanaceae est connue pour sa forte teneur en

alcaloïdes (**Henintsoa, 2001**). Ainsi la solanine (fruits), la solasodine (fleurs) et la  $\beta$ -solarine (racines) sont trois alcaloïdes extraites de *Solanum dulcamara* (**Kumar et al., 2009**). Selon **Pinto et al. (2011)**, les fruits de *Solanum asperum* contiennent des glycoalcaloïdes. Des études phytochimiques antérieures sur les espèces du genre *Solanum* ont conduit à l'identification de saponines stéroïdiennes, alcaloïdes, terpènes, flavonoïdes, lignanes, stérols, composés phénoliques, coumarines.

Plusieurs familles de métabolites secondaires ont été mises en évidence dans les différents organes de *Solanum rugosum* de Côte d'Ivoire. L'étude quantitative pourrait permettre de faire un rapprochement entre les phytocomposés détectés dans *S. rugosum* et d'éventuelles utilisations en traitements traditionnels en Côte d'Ivoire.

### II.3.2. Dépistage de l'activité antioxydante des extraits sélectifs de *S. rugosum* sur CCM

Les extraits sélectifs ont été testés pour connaître leur potentiel anti-radicalaire.

#### II.3.2.1. Extraits hexaniques

Les extraits hexaniques issus des organes de *S. rugosum*, possèdent quelques composés antiradicalaires, qui sont apparus sous forme de zones très pâles (**Tableau 21**). Il en résulte que tous les extraits pourraient manifester l'activité antiradicalaire.

En conclusion, les stérols, les terpènes, les coumarines et les anthracènes seraient les composés susceptibles d'être antioxydants dans les extraits hexaniques.

**Tableau 21: Composés antioxydants vis-à-vis du radical DPPH dans les extraits hexaniques de *S. rugosum***

Extrait	Rf des composés actifs vis-à-vis du radical DPPH
Feuilles	[0,00] St, TrL, Anthr ; [0,09] TrL; [0,25] TrOu, Coum; [0,31] St; [0,48] St, TrOu
Écorces des Tiges	[0,00] Coum; [0,12] Anthr; [0,31] GTr, Coum; [0,42] Coum; [0,52] Coum; [0,61] St; [0,71] Anthr; [0,76] Coum; [0,82] Anthr
Écorces des Racines	[0,00] GTr, Coum; [0,06] Coum; [0,21] St, Coum; [0,31] St, Coum; [0,42] Coum; [0,54] GTr, Coum; [0,74] Coum; [0,82] St

*St* : Stérol ; *GTr* : Génine triterpénique ; *TrL* : Triterpène type lupane ; *TrOu* : Triterpène type orléane et ursane ; *Coum* : Coumarine ; *Anthr* : Anthracène

#### II.3.2.2. Extraits chloroformiques

Les extraits chloroformiques montrent la présence des composés bioactifs représentés en spots jaune sur fond violet dont le résumé figure dans le **Tableau 22**.

Au vu des résultats obtenus, nous pouvons dire que l'activité antiradicalaire des extraits chloroformiques est due à la coprésence des stérols, des terpènes, des anthracènes, des coumarines, des flavonoïdes des anthocyanes et des tanins.

**Tableau 22: Composés antioxydants vis-à-vis du radical DPPH dans les extraits chloroformiques de *S. rugosum***

Extrait	Rf des composés actifs vis-à-vis du radical DPPH
Feuilles	[0,00] St, Coum, Flav, Alc, Tan ; [0,06] St, Flav; [ 0,25] TrOu, Coum, Flav ; [0,59] Coum; [0,64] Coum, Antho; [0,73] St
Écorces des Tiges	[0,00] St, Coum, Flav, Alc, Tan ; [0,06] St, Flav ; [0,24] Coum, Flav; [ 0,52] Coum, Flav; [0,56] Anhr; [0,64] Anthr, Coum, Flav; [0,67] Coum
Écorces des Racines	[0,00] St, Coum, Flav, Alc, Tan ; [0,21] Flav ; [0,31] Coum, Flav; [0,41] St, Coum; [0,54] St, Coum, Flav; [0,59] Coum; [0,65] Coum, Flav; [0;68] Coum, Flav, Antho; [0,74] Coum, Flav, Antho; [0,78] St; [0,82] Gtr

St : Stérol ; GTr : Génine triterpénique ; TrOu : Triterpène type orléane et ursane ; Coum : Coumarine ; Anthr : Anthracène ; Flav : Flavonoïde ; Antho : Anthocyan ; Alc : Alcaloïde ; Tan : Tanin

### II.3.2.3. Extraits acétate éthyliques

Les phytoconstituants ayant manifesté un potentiel anti radicalaire dans les extraits éthyle acétatiques sont consignés dans le **Tableau 23**. En effet les spots jaune pâles sur fond violet identifiés sur les chromatoplaques sont caractéristiques de l'activité antioxydante.

Nous constatons que les composés responsables de l'activité antioxydant dans les extraits éthyle acétatiques sont les coumarines, les flavonoïdes, les anthocyanes, les alcaloïdes, les tanins et les acides phénols.

**Tableau 23: Composés antioxydants vis-à-vis du radical DPPH dans les extraits éthyle acétatiques de *S. rugosum***

Extrait	Rf des composés actifs vis-à-vis du radical DPPH
Feuilles	[0,00] Coum ; [0,06] Coum, Flav; [0,12] Coum, Flav, Tan; [0,26] Coum, Flav; [0,31] Coum, Flav; [0,38] Coum, Flav; [0,44] Flav; [0,54] Flav; [0,61] Flav; [0,74] Coum; [0,84] Flav, Ac ph; [0,92] Flav, Ac ph
Écorces des Tiges	[0,00] Coum; [0,12] Coum, Flav, Tan; [0,21] Coum, Flav; [0,27] Coum; [0,38] Coum; [0,44] Coum; [0,59] Coum, Flav; [ 0,75] Coum, Flav, Tan; [0,92] Ac ph
Écorces des Racines	[0,00] Coum; [0,12] Coum, Flav, Tan; [0,20] Coum; [0,28] Flav; [0,35] Coum, Flav; [0,44] Coum, Flav; [0,59] Coum, Flav; [0,80] Coum, Flav; [0,87] Coum, Flav, Antho, Tan) ; [0,94] Coum, Flav

Coum : Coumarine ; Flav : Flavonoïde ; Antho : Anthocyan ; Tan : Tanin ; Ac ph : Acide phénol

#### II.3.2.4. Extraits n-butanoliques

L'apparition des taches jaune pâle sur fond violet indique que les extraits n-butanoliques présentent des zones d'activité antiradicalaires (**Tableau 24**). Pour chaque zone d'activité, un Rf est indiqué.

En somme, l'activité antiradicalaire des extraits n-butanoliques est due à la présence des coumarines, des flavonoïdes, des anthocyanes, des alcaloïdes et des tanins décelés.

**Tableau 24: Composés antioxydants vis-à-vis du radical DPPH dans les extraits n-butanoliques de *S. rugosum***

Extraits	Rf des composés actifs vis-à-vis du radical DPPH
Feuilles	[0,31] Coum, Flav, Tan; [0,45] Coum, Flav; [0,64] Flav; [0,80] Flav
Écorces des Tiges	[0,00] Coum, Alc; [0,15] Flav; [0,33] Coum, Flav, Tan; [0,47] Coum, Flav, Antho; [0,73] Coum, Flav
Écorces des Racines	[0,00] Coum, Alc ; [0,06] Alc); [0,15] Coum; [0,33] Coum, Tan; [0,48] Coum; [0,59] Flav; [0,80] Coum, Flav

*Coum* : Coumarine ; *Flav* : Flavonoïde ; *Antho* : Anthocyane ; *Alc* : Alcaloïde ; *Tan* : Tanin

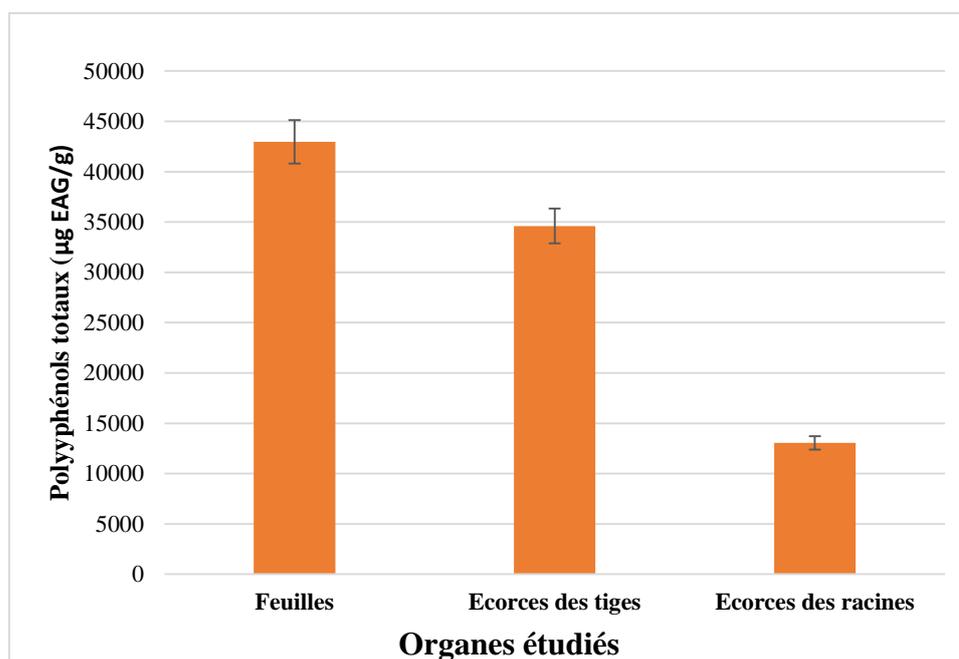
#### II.4. Teneurs en polyphénols totaux

Les teneurs en composés phénoliques dans les extraits hydrométhanoliques sont présentées dans la **figure 43**.

Les résultats montrent que tous les organes étudiés contiennent des composés polyphénoliques en proportion variable. En effet, les feuilles de *S. rugosum* sont plus riches en polyphénols (42965,517 µg EAG/g MS) suivies des écorces du tronc (34603,448 µg EAG/g MS) et des écorces des racines (13051,724 µg EAG/g MS). Ce résultat ne contredit pas ceux obtenus au terme du criblage phytochimique par CCM. En effet, les métabolites secondaires tels que les acides phénols, les coumarines, les flavonoïdes et les tanins ont été mis en évidence dans les extraits de plante de *S. rugosum*.

Tenant compte du fait que les polyphénols sont distribués de façon inégale dans les différentes parties des plantes (**Kadja, 2014**) et encore moins dans les racines, nous pouvons estimer que ces teneurs peuvent justifier l'utilisation de ces organes en médecine traditionnelle. Cette répartition inégale peut s'expliquer par des facteurs biogénétiques et environnementaux. Les chemins biochimiques qui conduisent à ces métaboliques secondaires, peuvent être influencés par certains facteurs (rayonnements UV, excès en éléments minéraux) pour aboutir à des

teneurs relativement importantes pour chaque organe donné de la plante (Konan, 2010 ; Kadja, 2014).

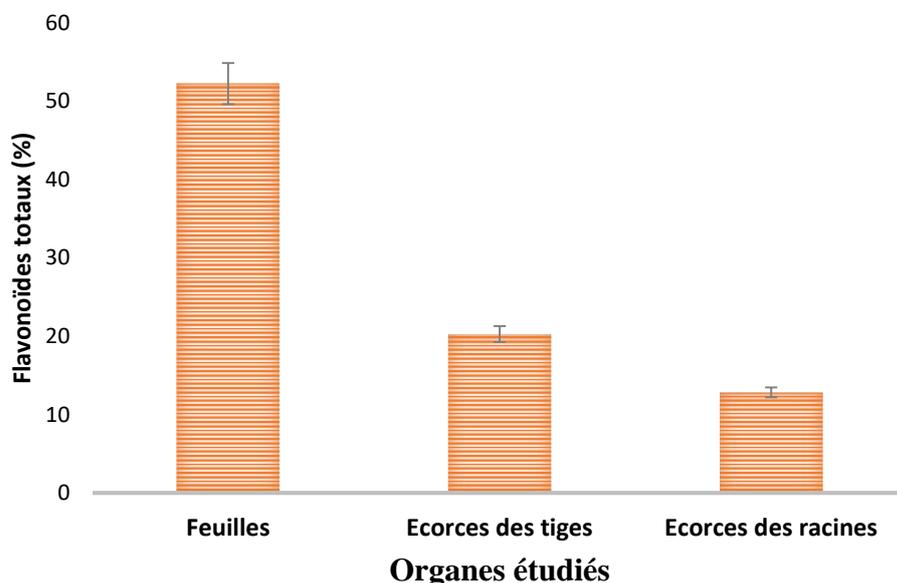


**Figure 43 :** Teneur en polyphénols totaux dans les différents organes de *Solanum rugosum*. Certains auteurs ont quantifié les polyphénols totaux de certaines espèces du genre *Solanum*. Ainsi, la teneur en polyphénols totaux des extraits de *S. erianthum* varie de (42,8-66,7 µg EAG/mg) pour les feuilles et de (42,8-60,6 µg EAG/mg) pour les tiges (Sujata *et al.*, 2013). L'étude menée par Zadra *et al.* (2012) a indiqué que la fraction d'acétate d'éthyle des feuilles de *Solanum guaraniticum* contient la plus grande quantité de polyphénols totaux (546,57 ± 2,35 mg équivalent d'acide gallique/g). L'extrait méthanolique 80% des fruits de *Solanum ferrugineum* contient (22,96 ± 0,12 mg/g) (Medina-Medrano., 2017).

Grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé, ces métabolites secondaires ont une importance croissante. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement des cancers, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Aussi trouvent-ils usage dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique en qualité d'additifs.

## II.5. Teneurs des flavonoïdes totaux

Les résultats de l'analyse quantitative des flavonoïdes dans les organes de *S. rugosum*, ont montré la présence notable de flavonoïdes en proportions variables (**Figure 44**).



**Figure 44** : Teneur en flavonoïdes totaux (pourcentage) dans les organes de *Solanum rugosum*

Le dosage des flavonoïdes totaux des feuilles, des écorces de tiges et de racines a donné respectivement les pourcentages de 52,26% ; 20,27% et 12,84% par rapport à 100% de polyphénols totaux. Les teneurs sont élevées dans les feuilles que dans les écorces de tiges et racines.

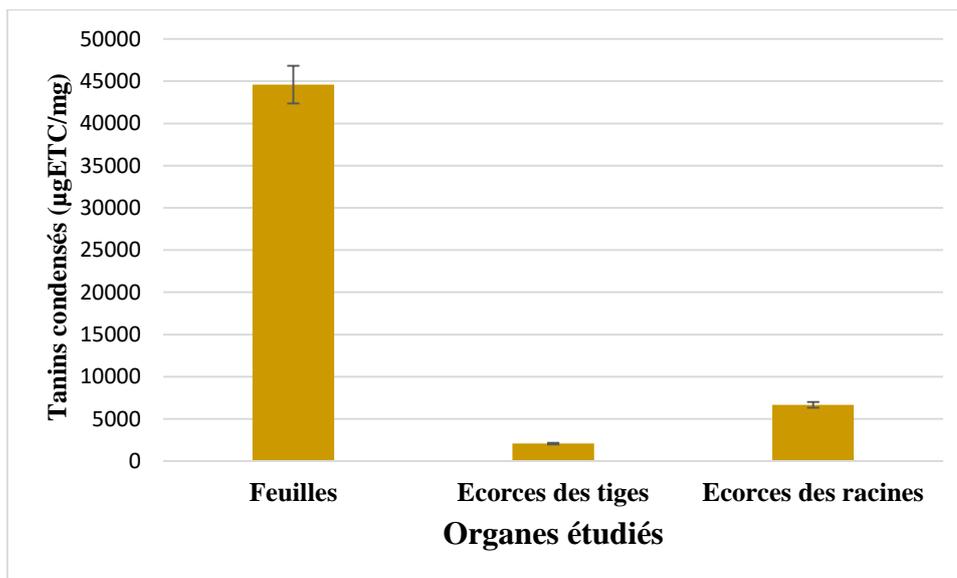
Ce résultat concorde avec ceux obtenus par le criblage phytochimique des extraits sélectifs issus des extraits bruts hydrométhanoliques. Rappelons que plusieurs empreintes moléculaires des flavonoïdes avaient été détectés dans les extraits au  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt et n-BuOH. La forte présence des flavonoïdes dans les feuilles pourrait justifier les nombreuses attaques dont elle subit d'où la synthèse des flavonoïdes pour sa protection. En effet, les plantes synthétisent plus de flavonoïdes pour leur protection lorsqu'elles sont exposées aux agressions de l'environnement, telles que les conditions géographique et climatique (**Gelhin et al., 2006**). Pour cette raison, les feuilles étant plus exposées au soleil renferment plus de flavonoïdes que les autres organes de la plante.

Des études antérieures ont également montré la présence de flavonoïdes dans l'espèce Brésilienne (**Pinto et al., 2011**).

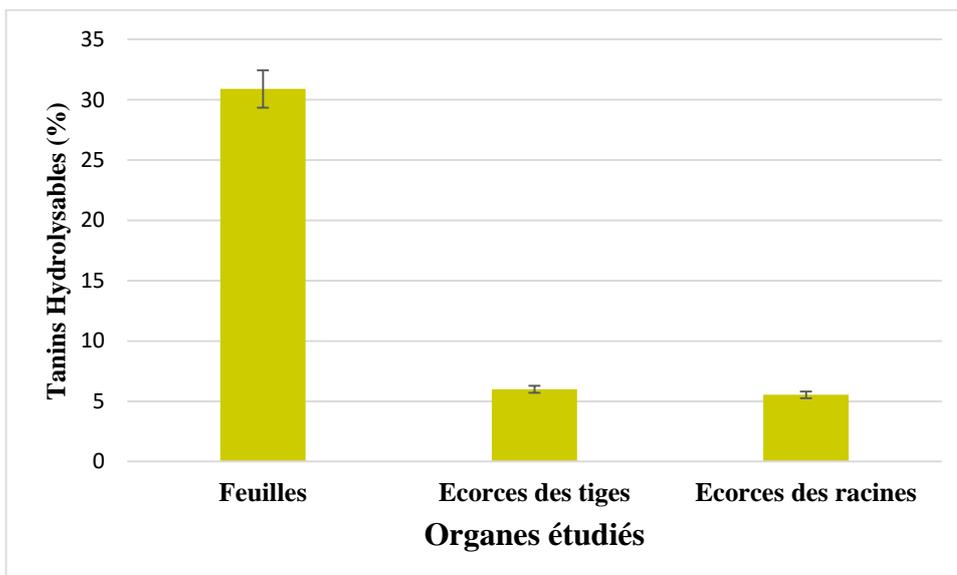
Ces métabolites secondaires constituent la plus importante catégorie de polyphénols, des molécules très réputées pour leurs vertus antioxydantes.

## II.6. Teneurs des tanins

Les teneurs en tanins hydrolysables et condensés ont été enregistrées dans les différents organes de *Solanum rugosum* (Figures 45 et 46). Les extraits de feuilles contiennent (44583,333  $\mu\text{gETC}/\text{mg}$ ), les écorces de tiges (2083,333  $\mu\text{gETC}/\text{mg}$ ) et les écorces de racines (6666,666  $\mu\text{gETC}/\text{mg}$ ) de teneur en tanins condensés. Les feuilles enregistrent la teneur élevée tandis que la plus faible est observée chez les écorces des tiges. Le constat est le même au niveau des teneurs en tanins hydrolysables où les écorces des tiges enregistrent la plus faible teneur et la plus forte est détenue par les feuilles.



**Figure 45:** Teneurs en tanins condensés dans *Solanum rugosum*



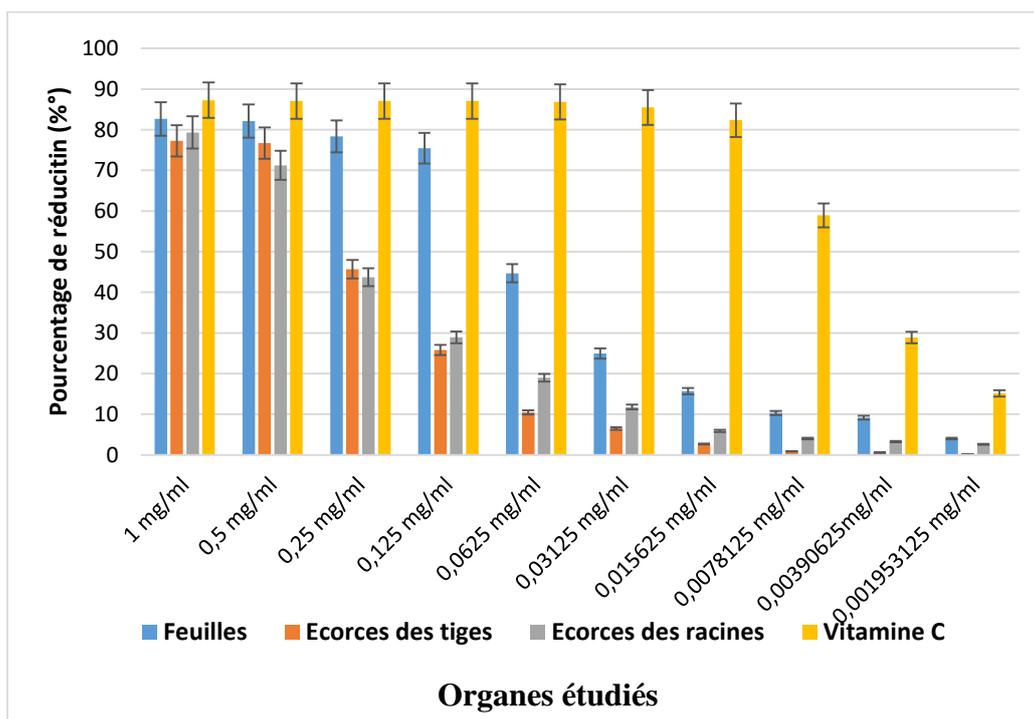
**Figure 46:** Teneurs (en pourcentages) en tanins hydrolysables

Au regard des histogrammes, nous constatons que les teneurs en tanins condensés enregistrées dans les extraits sont plus élevées que celles des tanins hydrolysables. Ces résultats démontrent bien la présence des tanins par rapport à ceux issus du criblage phytochimique par CCM. L'existence des tanins dans les feuilles pourraient justifier également ces usages en médecine traditionnelle.

## II.7. Évaluation du pouvoir antioxydant des extraits hydrométhanoliques

### II.7.1. Test vis-à-vis du DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits bruts hydrométhanoliques de *Solanum rugosum* a été évaluée par spectrophotométrie au moyen du radical DPPH avec la vitamine C, prise comme molécule de référence. Les résultats obtenus ont permis de construire les histogrammes de la figure 47. Ces résultats montrent des pourcentages de réduction du radical DPPH par les différents extraits. Les écorces de tiges et de racines se sont montrés moins antioxydantes que les feuilles.



**Figure 47:** Pourcentage de réduction du radical DPPH

La **figure 47** montre que tous les extraits ont un pourcentage de réduction plus petit que ceux de la vitamine C. Le pourcentage de réduction du radical DPPH varie en fonction de la concentration et en fonction des organes des plantes. Nous notons que les extraits présentent

des pourcentages de réduction du radical DPPH à 50% à partir de 0,5 mg/mL à l'exception des extraits des feuilles qui commencent à réduire le radical DPPH à 0,125 mg/mL.

Le pourcentage de réduction déterminé du radical DPPH par les échantillons rend compte de leur capacité à le réduire. Cependant, pour une meilleure appréciation du potentiel antiradicalaire des échantillons, la concentration de l'échantillon qui réduit 50% du radical DPPH (CR<sub>50</sub>), qui est un indice d'efficacité a été déterminée. En effet, plus la valeur de la CR<sub>50</sub> est petite, plus l'activité antioxydante de l'échantillon est grande (Tanoh *et al.*, 2019). La CR<sub>50</sub> a été déterminée graphiquement par le logiciel Graph Pad Prism et les valeurs sont consignées dans le **Tableau 25**.

**Tableau 25: Valeur de CR<sub>50</sub> des extraits hydrométhanoliques de *Solanum rugosum***

Organes	Feuilles	Écorces des tiges	Écorces des racines	Vitamine C
CR <sub>50</sub> (mg/mL)	0,05	0,26	0,28	0,0067

CR<sub>50</sub> : Concentration réductrice du DPPH à 50%

Le constat est que la plupart des organes d'étude présentent des capacités d'inhibition du radical DPPH remarquables. Les extraits des feuilles ont manifesté une activité de valeur de CR<sub>50</sub> (0,05 mg/mL) que les écorces des tiges (0,26 mg/mL) et les écorces des racines (0,28 mg/mL). Les écorces des tiges et des racines présentent une activité proche. La vitamine C prise comme référence a une activité plus prononcée que les organes (feuilles, écorces des tiges et de racines) de *S. rugosum*.

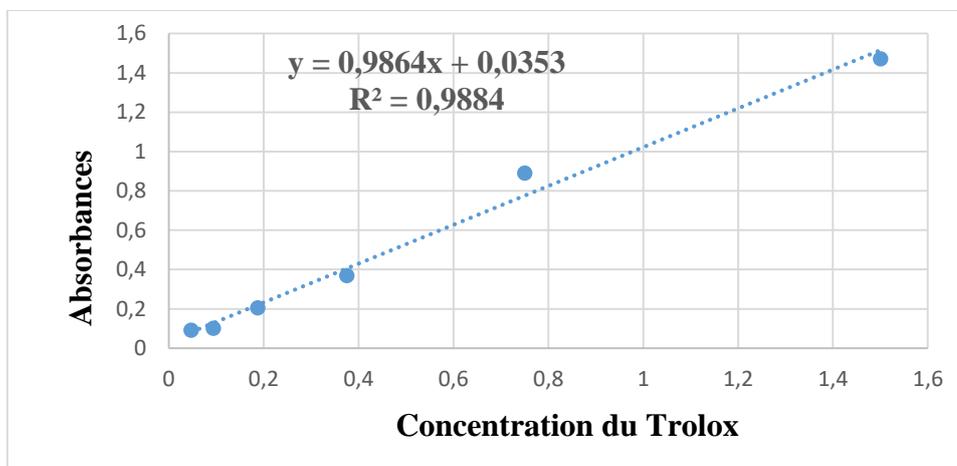
Cette action antiradicalaire observée pourrait s'expliquer par la présence des composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les coumarines, les stérols, les terpènes, les composés anthracéniques, les anthocyanes, les alcaloïdes et les tanins.

En effet, les travaux de Lakshmidevi *et al.* (2016) et Sujatha *et al.* (2013) montrent que l'activité antioxydante des feuilles et tiges de *S. erianthum* est prouvée par ses constituants phytochimiques. Les feuilles présentent une meilleure activité par rapport aux tiges

### II.7.2. Test de FRAP

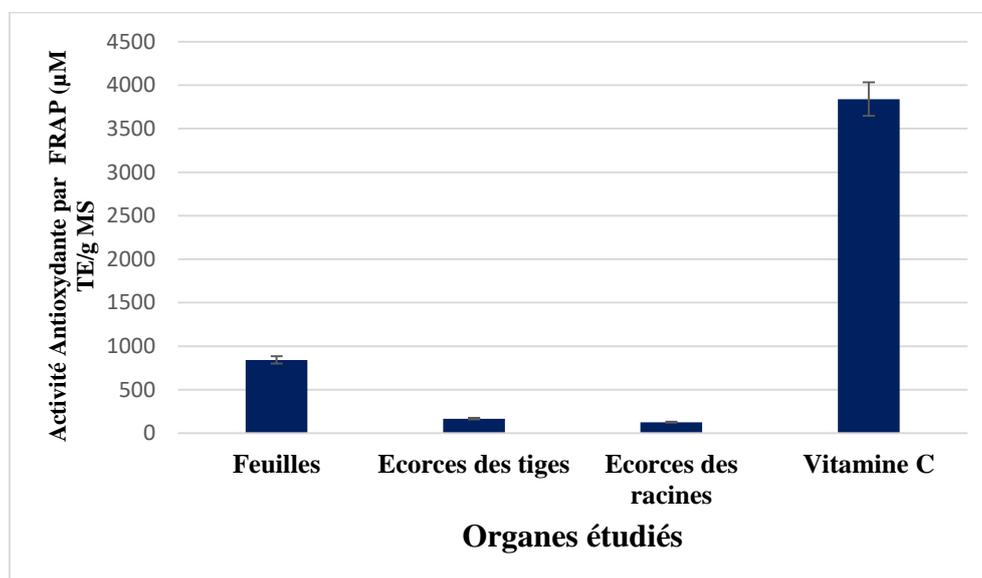
L'évaluation du profil antioxydant FRAP a été réalisée avec les extraits de *S. rugosum* en déterminant leur potentiel de réduction du Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup>. La présence des ions Fe<sup>2+</sup> a été évaluée en mesurant l'augmentation de sa densité par la coloration bleue dans le milieu réactionnel (Benzie, 1996 ; Hinneburg *et al.*, 2006).

Ce potentiel a été déterminé à l'aide de la droite d'étalonnage du Trolox, utilisé comme antioxydant standard à différentes concentrations. La droite d'étalonnage a pour équation de régression  $y=0,9864x + 0,0353$  ( $R^2=0,9884$ ) (Figure 48).



**Figure 48:** Droite d'étalonnage du Trolox

Les activités antioxydantes FRAP des extraits mesurés à 0,25 mg/mL et exprimés en  $\mu\text{M TE/g MS}$ , montrent que les différents extraits réduisent les ions  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$  (Figure 49).



**Figure 49:** Profils antioxydants FRAP ( $\mu\text{M TE/g MS}$ ) des extraits de *S. rugosum* et de la vitamine C

Les résultats obtenus montrent que tous les extraits ont une activité dose dépendante et la capacité de réduire le fer est différente. Le pouvoir réducteur de l'extrait des feuilles (841,899  $\mu\text{M TE/g MS}$ ) est bien plus important que celui des écorces des tiges (167,382  $\mu\text{M TE/g MS}$ )

MS) et des écorces des racines (126,939  $\mu\text{M TE/g MS}$ ). Les feuilles présentent une activité antioxydante plus importante que celles des tiges et des racines. Les valeurs obtenues restent toutefois inférieures à celle de la vitamine C.

Au regard de tous les résultats, il ressort que les extraits des feuilles ont un potentiel antioxydant plus prononcé que les autres organes. L'activité des écorces des tiges et racines sont proches.

Cela est vérifié par les deux méthodes utilisées. En effet, le mécanisme du test DPPH est un transfert d'hydrogène alors que le test FRAP se fonde sur un transfert d'électrons (**Apak et al., 2013**).

## **II.8. Activités antibactériennes des extraits de *Solanum rugosum***

Après 24 h d'incubation, les extraits hydroalcooliques sont stériles. La contamination d'un extrait peut être due à une présence d'autres éléments de la plante, comme les champignons endophytes lui appartenant (**Zerroug, 2011**). Quant aux extraits hydroalcooliques, leur stérilité pourrait être liée à la destruction de ces champignons par le solvant d'extraction.

Différents aspects macroscopiques des souches bactériennes repiquées ont été observés après culture sur les géloses sélectives.

Le **tableau 26** met en évidence la sensibilité des bactéries vis-à-vis des extraits testés à 200 mg/mL et des antibiotiques utilisés dans le traitement des pathologies liées aux germes étudiés.

### **II.8.1. Sensibilité des souches aux extraits et aux antibiotiques**

L'extrait hydrométhanolique des feuilles a montré un effet inhibiteur sur les souches bactériennes à l'exception des autres extraits à 200 mg/mL. En effet, selon **Ponce et al., (2003)**, une bactérie est dite résistante à un extrait lorsque son diamètre d'inhibition autour de cet extrait est  $\leq 8$  mm et sensible si ce diamètre est compris entre 9 et 14 mm, très sensible lorsqu'il est compris entre 15 et 19 mm et extrêmement sensible pour un diamètre supérieur à 20 mm. Les diamètres d'inhibition efficaces sont égaux à 9 mm (**Tableau 26**). Les antibiotiques qui ont été testés, donnent des diamètres d'inhibition allant de 6 à 20 mm à l'égard des différentes souches bactériennes. L'extrait de feuilles présente une inhibition élevée (9 mm) par rapport à la céfoxitine (6 mm) contre la souche *Staphylococcus aureus*. Les extraits testés n'ont pas eu d'effet vis-à-vis des souches bactériennes de *Escherichia coli* et de *Klebsiella oxytoca*.

**Tableau 26: Sensibilité des souches aux extraits et aux antibiotiques**

Souches	Diamètre d'inhibition (mm)							
	Extraits à 200 mg/ml				Antibiotiques			
	Feuilles	Écorces des tiges	Écorces des racines	FOX	AMC	CTX	ATM	IPM
<i>S. aureus</i> ATCC	9	0	0	20	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	9	0	0	6	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC	0	0	0	-	21	28	32	-
<i>E. coli</i>	0	0	0	-	0	0	0	-
<i>K. oxytoca</i>	0	0	0	-	6	8	0	-
<i>P.aeruginosa</i> ATCC	9,33	0	0	-	-	-	-	27
<i>P.aeruginosa</i>	0	0	0	-	-	-	-	10

Fox : Céfoxitine, AMC : Ampiciline+acide clavulanique, CTX : Céfotaxime, ATM : aztreoname, IPM : Imipeneme

### II.8.2. Caractérisation du pouvoir antibactérien de l'extrait des feuilles de *S. rugosum*

Le rapport CMB/CMI a permis de préciser le pouvoir antibactérien des substances.

Les résultats montrent que le rapport CMB/CMI=1 sur la souche *aureus* ATCC sensible et CMB/CMI=2 sur la souche *S. aureus* résistante. Quant à la souche sensible *P. aeruginosa* ATCC le rapport CMB/CMI=2.

Vu ces résultats, nous pouvons dire que l'extrait des feuilles de *S. rugosum* a été bactéricide sur les souches testées (**Tableau 26**). Ainsi, comparativement au témoin de croissance Tc, les tests en milieu liquide des extraits analysés ont mis en évidence une variation décroissante de la densité des bactéries dans les puits expérimentaux liés à la concentration des extraits. Aussi, la détermination des CMI, CMB et CMB/CMI, ont démontré le pouvoir antibactérien de l'extrait des feuilles avec un rapport CMB/CMI  $\leq 2$ .

Cette activité biologique serait due à l'action des composés chimiques présents dans les feuilles. Cela justifierait l'utilisation traditionnelle des feuilles dans le traitement des plaies cutanées dont seraient d'une part responsable les souches de *Staphylococcus aureus*. En effet, les feuilles de *S. rugosum* sont utilisées pour traiter les plaies cutanées (**Kamagate et al., 2015**). La poudre de feuilles obtenue par broyage et séchage pendant deux semaines à l'ombre est utilisée pour soigner l'ulcère de buruli (**Trébissou et al., 2014**). Cette efficacité contre les infections de la peau pourrait être à l'origine de son action bactéricide sur *S. aureus*. De plus le *Staphylococcus aureus* cause principalement des infections de la peau et des tissus mous : abcès, furoncle,

folliculite et peuvent aussi entraîner une pneumonie, des infections des valves cardiaques et des infections osseuses (**Anonyme 11 ; Anonyme 12**).

D'après la littérature, certaines études ont montré que l'extrait de méthanol de tige de *Solanum trilobatum* a montré une activité maximale sur *Staphylococcus aureus* (**Latha et al., 2006**). Les alcaloïdes extraits de diverses parties de *Solanum dulcamara* ont inhibé la croissance d'*E. Coli* et de *S. aureus* (**Kumar et al., 2009**).

Selon **Aliero et Afolayan (2006)**, les extraits de *Solanum tomentesum* ont eu une action négative sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

*Staphylococcus aureus* est un agent pathogène bactérien qui provoque une intoxication alimentaire et de diverses infections. Des stratégies efficaces et de nouveaux médicaments sont nécessaires pour contrôler les infections associées à *S. aureus* en raison de sa résistance aux antibiotiques (**Shuai-Cheng et al., 2019**). De ce fait, les feuilles de *S. rugosum* présentent une efficacité contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. Elles peuvent être classées parmi les plantes médicinales candidates utilisées comme agents antibactériens sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

**Tableau 27:** Paramètres antibactériens des extraits

Souche	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB/CMI	Interprétation
<i>S. aureus</i> ATCC	25	25	1	Bactéricide
<i>Aureus</i>	25	50	2	Bactéricide
<i>P. aeruginosa</i> ATCC	50	100	2	Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice, CMF : Concentration Minimale Fongicide

## CONCLUSION

La Côte d'Ivoire, abrite un ensemble d'espèces végétales importantes et variées et témoigne de ce fait d'une richesse floristique incontestable. Une grande partie de ces espèces végétales est utilisée en médecine traditionnelle par les populations paysannes. De nombreuses molécules dérivées de ses espèces montrent un effet promoteur sur le plan thérapeutique. Le présent travail a porté sur les études chimique et biologique de *Solanum rugosum*, de *Solanum erianthum* et de *Oricia suaveolens*, trois plantes médicinales de Côte d'Ivoire.

Cette étude a permis de caractériser par la combinaison des méthodes d'analyses (CPG (Ir), CPG-SM et RMN <sup>13</sup>C), les huiles essentielles de deux espèces du genre *Solanum* (*S. rugosum* et *S. erianthum*) et de *Oricia suaveolens* (feuilles, écorces de tronc et écorces de racines) de Côte d'Ivoire, pour la première fois. Les résultats montrent que les huiles essentielles de *S. rugosum* et *S. erianthum* sont riches en sesquiterpènes : (E)- $\beta$ -caryophyllène,  $\beta$ -élémol et germacrène D, présents dans *S. rugosum* ;  $\alpha$ -humulène,  $\beta$ -élémol et (E)- $\beta$ -caryophyllène, identifiés dans *S. erianthum*.

L'HE de *O. suaveolens* est également riche en sesquiterpènes, avec la présence importante du (E)- $\beta$ -caryophyllène dans l'HE de feuilles et la prééminence du couple (E)- $\beta$ -caryophyllène/  $\alpha$ -humulène dans les HE des écorces de tronc et de racines.

La composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Solanum rugosum*, *Solanum erianthum* et des feuilles, des écorces du tronc et des racines de *Oricia suaveolens* de Côte d'Ivoire est dominée par les sesquiterpènes.

Les huiles essentielles des feuilles de *Solanum rugosum* et de *Oricia suaveolens* ont manifesté une action bactériostatique sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, et un effet fongistatique sur *Candida albicans* et *Candida glabrata*. Ces activités bactériostatiques et fongistatiques observées pourraient être l'œuvre des sesquiterpènes au regard de leur forte teneur dans ces huiles essentielles ou à la synergie des composés qu'elles renferment.

L'analyse chimique élémentaire réalisée sur les extraits de *Solanum rugosum* à l'aide du spectromètre à fluorescence X a permis de quantifier les éléments minéraux dont Ca, K, P, Cl, S, Si, Na, Fe, Al, Cu, Zn, V, Se et Mg étaient les minéraux importants de la plante. Le criblage par CCM a fait ressortir dans les extraits hexaniques et chloroformiques les groupes de familles tels que les terpènes, stérols, les coumarines les flavonoïdes. Quant aux solvants les plus polaires à savoir AcOEt et n-BuOH, ce sont les phytoconstitués (flavonoïdes, tanins coumarines et acides phénols) qui ont été décelés. Les alcaloïdes sont signalés dans les extraits chloroformique et n-butanolique.

La quantification des polyphénols, des flavonoïdes totaux, des tanins hydrolysables et condensés a été réalisée par la méthode colorimétrique. Les résultats montrent que les feuilles (42965,517 µg EAG/g MS) et les des écorces de tiges (34603,448 µg EAG/g MS) sont riches en polyphénols. Quant aux flavonoïdes totaux, la teneur la plus élevée est également enregistrée dans les feuilles. Le pouvoir antioxydant des extraits de feuilles est important par rapport aux autres organes de la plante. Ce résultat est confirmé par deux méthodes : la réduction du fer et le piégeage du radical libre DPPH.

Les extraits des feuilles ont démontré une action bactéricide sur les souches *Staphylococcus aureus*. Cette activité pourrait être liée à la coprésence des métabolites secondaires que renferment les feuilles.

## PERSPECTIVES

Le présent travail est une contribution à la constitution de base de données sur les plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. La présente étude n'est pas achevée. Elle est à poursuivre et à renforcer davantage. En guise de perspectives, nous envisageons d'une part :

- d'évaluer le potentiel antioxydant des HE ;
- d'approfondir l'étude biologique afin d'orienter les domaines d'application des HE ;
- d'évaluer la toxicité pour une meilleure utilisation des HE ;
- d'effectuer un grand nombre d'échantillons de HE de *Solanum rugosum*, *Solanum erianthum* et de *Oricia suaveolens* de Côte d'Ivoire afin de réaliser une étude de variabilité chimique et définir les différents types de compositions chimiques présents dans nos plantes.

D'autre part :

- de poursuivre l'étude phytochimique de par l'emploi des techniques chromatographiques (CC, CCM, CCMP, CLHP) aux fins d'isoler les composés bioactifs ;
- d'élucider les structures moléculaires par des techniques spectroscopiques (RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, RMN 2D, Ir, SM) ;
- d'évaluer l'activité antioxydante et cytotoxique afin d'établir une corrélation structure /activité.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aakanksha P., Shilpi K.S., Virendra S., Jyotsna A., Bashir A.A., Rakesh P. (2014). Beta-caryophyllene modulates expression of stress response genes and mediates longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Experimental Gerontology*. 15 pages.
- Abe M.O., Taylor D.A. (1971). A quinolone alkaloid from *Oricia suaveolens*. *Phytochemistry*. 10: 1167–1169.
- Abe M.O. (1971). The occurrence of the alkaloid oricine in the wood of *Oricia suaveolens*. *Phytochemistry*. 10: 3328–3330.
- Adams R.P. (1989). Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy, Academic Press: San Diego. 780 pages.
- Adams R.P. (2001). Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured: Carol Stream. 798 pages.
- Adams R.P. (2007). Identification of essential oils components by gas Chromatography/ mass Spectroscopy. 4th edition. Allured: Carol Stream. 804 pages.
- Adio A.M., Paul C., Kloth P., König W.A. (2004a). Sesquiterpenes of the liverwort *Scapania undulate*. *Phytochemistry*. 65: 199-206.
- Adou A.D., Kabran G.R.M., N'guessan A.H.O., Kablan A.L.C., Mamyrbekova-Békro J.A., Békro Y-A. (2019). Analyse phytochimique d'un extrait coumarinique de feuilles de *Zanthoxylum gillettii* de Côte d'Ivoire. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*. 47 : 26-31.
- Agra M.F., Kiriaki N.S., Berger L.R. (2009). Flora da Paraíba, Brasil : *Solanum* L. (Solanaceae). *Acta Botânica Brasílica*. 23 (3) :826-842.
- Ajasa A.M.O., Bello M.O., Ibrahim A.O., Ogunwande I.A., Olawore N.O. (2004). Heavy trace metals and macronutrients status in herbal plants of Nigeria. *Food Chemistry*. 85 : 67–71.
- Aké-Assi L. (2002). Flore de la Côte d'Ivoire : Catalogue systématique, biogéographique et écologique II. Boissiera. 401 pages.
- Akroum S. (2011). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine. 125 pages.

- Albay H., Anaflous A., Abouricha S., Asahroua A., Benchat N.E. (2008). Synthèse et étude des relations structure-activité antimicrobienne de nouveaux dérivés pyridazines N-alkylés. *Revue de microbiologie industrielle, sanitaire, et environnementale*. 2 (1) : 41-52.
- Aliero A.A., Afolayan A. J. (2006). Antimicrobial activity of *Solanum tomentosum*. *African Journal of Biotechnology*. 5 (4): 369-372.
- Aliero A.A., Griesson D.S., Afolayan A.J. (2006). Chemical composition of the essential oil from *Solanum pseudocapsicum*. *Pakistan Journal of Biological Science*. 9(6): 1175-1177.
- Aluko B.T. (2017). Phytochemical analysis and antioxidant activity of ethanolic extract of *solanum erianthum*. *Science World Journal*. 12 (1) :5-8.
- Apak R., Gorinstein S., Böhm V., Schaich M.K., Özyürek M., Güçlü K. (2013). Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity. *Pure and Applied Chemistry*. 85 (5) : 957-998.
- Ayad R. (2008). Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *Zygophyllum cornutum*. Mémoire magister. Université Mentouri Constantine. 40 (47) : 35-39.
- Badiaga M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako. 184 pages.
- Bahorun T. (1997). Substances naturelles actives : La flore Mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research Council Mauritias*: 83-94.
- Barrero A.F., Molina J., Oltra J.E., Altarejos J., Barragán A., Lara A., Segura M. (1995). Stereochemistry of 14-hydroxy- $\beta$ -caryophyllene and Related Compounds. *Tetrahedron* 51: 3813-3822.
- Barbosa Q.P.S., Camara C., Silva T., Ramos C. (2012). Chemical constituents of essential oils from *Solanum torvum* leaves, stems, fruits, and roots. *Chemistry of Natural Compounds*. 48 :698-699.
- Baser K.H.C., Buchbauer G. (2010). Handbook of essential oils: science, technology, and applications. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis. 994 pages.
- Bate-Smith, E.C., SWAIN, T. (1962). Flavonoid compounds. *Comparative Biochemistry* (Mason and A.M. Florin, eds.) Academic Press, New York. 705-809

- Bego Ph. (2001). Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles. Collection aromathérapie pratique et familiale, Ed. MDB Paris. 47 pages.
- Békro Y-A, Mamyrbékova-Békro J.A., Boua B.B., Tra Bi FH, Ehile E.E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*. 4 : 217-225.
- Benjilali B. (2004). Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 17-59.
- Benkiki N. (2006). Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta Montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. Thèse de Doctorat d'Etat. Université El-Hadj Lakhdar Batna (Algérie) : 198 pages.
- Benzie I. F. F., Strain J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay. *Analytical biochemistry*. 239 (1): 70-76.
- Berghe V.A., Vlietinck A.J. (1991). Screening Methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Methods in Plant Biochemistry*. 6 : 47-68.
- Bernadet M. (2000). Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles, Editions Dangles : 384 pages.
- Bezanger B.L., Pinkas M., Torck M., Troutin F. (1990). Plantes médicinales des régions tempérées. Maloine edition: 384 pages.
- Bielicka-Daszkiwicz K., D'bicka M., Voelkel A. (2004). Comparison of three derivatization ways in the separation of phenol and hydroquinone from water samples. *Journal of Chromatography A*. 1052: 233-236.
- Bighelli A., Casanova J. (2009). Analytical Methodes for Cymbopogon Oils in Essential Oil-Bearing Grasses, The genus Cymbopogon. Taylor and Francis: London. 195- 221.
- Bilia A.R., Flamini G., Taglioli V., Morelli I., Vincieri F.F. (2002). GC-MS analysis of essential oil of some commercial Fennel teas. *Food Chemistry*. 76: 307-310
- Block E., Ahmed S., Jain M.K., Creceley R.W., Apitz-Castro R., Cruz M.R. (1984). (E, Z)-Ajoene: A potent antithrombotic agent from garlic. *Journal of the American Chemical Society*. 106: 8295-8296.
- Blois M. (1958). Antioxydant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181: 1199-1200.

- Booth N.L., Dejan N., Richard B., Geller S.E. (2004). Confusion regarding anticoagulant coumarins in dietary supplements. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 76: 511-516.
- Boua B.B., Kouassi K.C., Mamyrbekova-Békro J.A., Kouamé B.A., Békro Y.A. (2013). Études chimique et pharmacologique de deux plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle à Assoumoukro (Côte d'Ivoire). *European Journal of Scientific Research*. 97 : 448-462.
- Bouakaz I. (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista microcephala*. Mémoire de magister. Université El Hadj Lakhdar, Batna. 124 pages.
- Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N. S., Abrini J. (2006). Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et Environnement*. 324-327.
- Bourgaud F., Hehn A., Larbat R., Doerper S., Gontier E., Kellner S., Matern U. (2006). Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unraveled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochemistry Reviews*: 5 (2), 293-308.
- Bradesi P., Bighelli A., Tomi F., Casanova J. (1996). L'analyse des mélanges complexes par RMN du carbone-13. *Canadian Journal of Applied Spectroscopy*. Partie I, 41 : 15-24 ; Partie II, 41 : 41-50.
- Brahimi N., Cherafa S., Essalhi H. (2020). Profil de résistance aux antibiotiques et capacité de formation de biofilm chez des bactéries isolées du milieu hospitalier. Master, Université 8 Mai 1945 Guelma (Algérie). 101 pages.
- Braun N.A., Meier M., Kohlenberg B., Hammerschmidt F.J. (2001).  $\delta$ -Terpinyl acetate. A new natural component from the essential leaf oil of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae). *Journal of Essential Oil Research*. 13: 95-97.
- Broadhurst R.B., Jones W.T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29: 788-794.
- Brophy J.J., Goldsack R.J., Forster P.I. (1994). Essential oil of *Bouchardatia neurococca* (Rutaceae) Leaves. *Journal of Essential Oil Research*. 6 (5): 505-506.
- Brophy J.J., Goldsack R.J., Forster P.I. (2004). Composition of the leaf oils of the Australian species of *Euodia* and *Melicope* (Rutaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 16 (4) : 286-293.
- Bruneton J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. (2ème éd), Paris Lavoisier. Technique et documentation. 915 pages.

- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. (3ème éd.) Paris : Editions médicales internationales, Lavoisier. Technique et documentation. 1120 pages.
- Bruneton J. (2016). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. (5ème éd.) Paris : Editions médicales internationales, Lavoisier. Technique et documentation. 1487 pages.
- Burgar MI, Karba D, Kikelj D. (1979).  $^{13}\text{C}$  NMR Analysis of the essential oils of *Dalmatian Sage* (*Salvia officinalis*). *Farmaceutski Vestnik*. 30: 253-261.
- Burkill H.M. (2000). The Useful Plants of West Tropical Africa. Royal Botanic Gardens, Kew. 119: 125-126.
- Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223-253.
- Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokmen A., Akpulat H.A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *Millefolium Afan*. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 87: 215-220.
- Castola V., Mazzoni V., Corticchiato M., Bighelli A., Casanova J. (1997). Hydrogen bonding effect on Carbon-13 NMR chemical shifts of naturally occurring phenols. *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*. 42: 90-94.
- Cazaussus A., Pes R., Sellier N., Tabet J.C. (1988). GC-MS and GC-MS-MS analysis of a complex essential oil. *Chromatographia*. 25: 865-869.
- Chamblee T.S., Karelitz R.L., Radford T., Clark B.C. (1997). Identification of sesquiterpenes in Citrus essential oils by cryofocusing GC/FT-IR. *Journal of Essential Oil Research*. 9: 127-132.
- Chang Y.S., Chen I.S., Hsieh W.C., Ou J.C. (2003). The Catalogue of Medicinal Plant Resources in Taiwan, 1st ed.; Committee on Chinese Medicine and Pharmacy, Department of Health, Executive Yuan: Taipei, Taiwan. 405 pages.
- Chen Y.C., Lee H.Z., Chen H.C., Wen C.L., Kuo Y.H., Wang G.J. (2013). Anti-inflammatory components from the root of *Solanum elaeagnifolium* International Journal of Molecular Sciences. 14 (6): 12581-12592.
- Cheng S-S., Lin C-Y., Chung M.-J., Chang, S-T. (2012). Chemical Composition and Antitermitic Activity against *Coptotermes formosanus* Shiraki of *Cryptomeria japonica* Leaf Essential Oil. *Chemistry & Biodiversity*. 9(2), 352-358.

- Chericoni S., Flamini G., Campeol E., Cioni P.L, Morelli I. (2004). GC-MS analyses of the essential oil from the aerial parts of *Artemisia verlotiorum*: variability during the year. *Biochemical Systematics and Ecology*. 32: 423-429.
- Coleman W.M., Gordon B.M., Lawrence B.M. (1989). Examinations of the matrix isolation fourier transform infrared spectra of organic compounds: part XII. *Applied Spectroscopy*. 43 : 298-304.
- Corado T., Carmela S. (2001). Antifeedant constituents from *Zanthoxylum gillettii*. *Fitoterapia*. 72 : 538-543.
- Corticchiato M., Casanova J. (1992). Analyse des mélanges complexes par RMN du Carbone-13 : Application aux huiles essentielles. *Analisis*. 20 : 51-58.
- Dahham S.S., Tabana Y.M., Iqbal M.A., Ahamed M.B.K., Ezzat M.O., Majid A.S.A., Majid A.M.S.A. (2015). The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene  $\beta$ -Caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. *Molecules*. 20 (7) :11808-11829.
- Danho F.R. N., Djah F.M., Moussa K., Yao L.K. (2014). Inventaire préliminaire des plantes envahissantes de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*. 22 (2): 3439-3445.
- Dallüge J., Beens J., Brinkman U.A.T. (2003). Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool. *Journal of Chromatography A*. 1000 :69-108.
- Davidian J.C., Cathala N., Gosti F., Fourcroy P. (2007). Le Soufre dans le sol et rôles dans la physiologie de la plante. *Académie d'Agriculture de France*. 1 : 1-2.
- De Hoffmann E., Charette J., Stroobant V. (1999). *Spectrométrie de masse*. (2<sup>e</sup> éd.). Librairie Dunod, Paris. 309 pages.
- De Sousa A.C., Alviano D.S., Blank A.F., Alves P.B., Alviano C.S., Gattass C.R. (2004). *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 56: 677-681.
- Decouzon M., Geribaldi S., Rouillard M., Sturla J.M. (1990). A new look at the spectroscopic properties of dihydrocarveol stereoisomers. *Flavour and Fragrance Journal*. 5: 147-152.
- Deiana M., Rosa A., Casu V., Cottiglia F., Bonsignore L. (2003). *Journal of American Oil-Chemists-Society*. 80: 65-70.

- Delmi M., Rapin C.H., Bengoa J.M., Delmas P.D., Vasey H., Bonjour J.P. (1990). Dietary supplementation in elderly patients with fractured neck of the femur. *Lancet*. 1 :1013-1016.
- Desjobert J.M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. Bernardini A.F. (1997). Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*. 25 (6): 13-16.
- Dewick P.M. (1995). The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*. 12 : 579-607.
- Dif M.M., Benchiha H., Mehdadi Z., Benali-Toumi F., Benyahia M., Bouterfas K. (2015). Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie*. 13(5) : 324-319.
- Dima M. (2014). Eco-extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. 142 pages.
- Domingo J.L., Marquès M. (2021). The effects of some essential and toxic metals/metalloids in COVID-19: A review. *Food and Chemical Toxicology*. 152: 112-161.
- Dordevic S., Petrovic S., Dobric S., Milenkovic M., Vucicevic D., Zizic S., Kukic J. (2007). Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 109 : 458-463.
- Dosso M., Faye-Kette H. (2000). Contrôle de qualité de l'antibiogramme en pratique courante : Expérience du laboratoire de bactériologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. *Le bactériologiste international*. 53 pages.
- Dugo P., Mondello L., Dugo L., Stancanelli R., Dugo G. (2000). LC-MS for the identification of oxygen heterocyclic compounds in citrus essential oils. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 24 : 147-154.
- Ekoumou C. (2003). Phytochimie et pharmacologie de *Maerena crassifolia* Forsk. (Caparidacée). Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Bamako (Mali). 168 pages.
- Essien E.E., Isiaka A.O., William N.S., Olusegun E. (2012). Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxicity studies on *Solanum erianthum* and *Solanum macranthum* essential oil. *Biological pharmaceutical*. 50: 474-480.
- Fabian D., Sabol M., Domaracké K., Bujněková D. (2006). Essential oils, their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicology in Vitro*. 20: 1435-1445.

- Fatope M.O., Marwah R.G., Al Hadhrami N.M., Onifade A.K., Williams J.R. (2008). Identification of the chemotypes of *Ocimum forskolei* and *Ocimum basilicum* by NMR spectroscopy. *Chemistry & Biodiversity*. 5: 2457-2463.
- Fernandes E S., Giselle F. P, Rodrigo M., Fernanda M. da C., Juliano F., Maria M. C., Luiz F. P., João B. C. (2007). Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. *European Journal of Pharmacology*. 569: 228-236.
- Ferreira M.J.P., Costantin M.B., Sartorelli P., Rodrigues G.V., Limberger R., Henriques A.T., Kato M.J., Emerenciano V.P. (2001). Computer-Aided Method for identification of components in essential oils by  $^{13}\text{C}$  NMR Spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*. 447 : 125-134.
- Figueredo G. (2007). Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de Doctorat. Université Blaise Pascal. 218 pages.
- Fish F., Meshal I.A., Waterman P.G. (1978). Alkaloid of *Oricia suaveolens*. *Planta Medica*. 33: 228–231.
- Fleeger J., Flipse I. (1964). Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. *Journal of Dairy Science*. 47(5): 535-538.
- Fleuriet A. (1982). Expression et régulation du métabolisme des dérivés hydroxycinnamiques au cours de la croissance, de la maturation et de la réaction aux blessures du fruit de la tomate (cerise). Thèse Doctorat d'Etat. Université de Montpellier 2 (France). 269 pages.
- Formáček V, Kubeczka KH. (1982a). Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy. Wiley: Chichester. 373 pages.
- Formáček V., Kubeczka K.H. (1982b).  $^{13}\text{C}$  NMR analysis of essential oils, in aromatic plants: Basic and applied aspects. Margaris N, Koedam A, Vokou D. Ed., Martinus Nijhoff Publishers: La Haye. 177-181.
- Formacek, Kubeczka. (2002). Juniper berry oil, Essential oils analysis by capillary gaz chromatography and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy. Wiley, 2<sup>nd</sup> edition: New-York. 125 pages.

- Fouotsa H, Mbaveng AT, Mbazona CD, Nkengfack AE, Choudhary IM, Meyer JJM, Lall N, Kuete V. (2013). Antibacterial constituents of three Cameroonian medicinal plants: *Garcinia nobilis*, *Oricia suaveolens* and *Balsamocitrus camerunensis*. BMC Complementary and Alternative Medicine. 13 (81) : 1-10.
- France-Ida J. (1996). Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. Info-essence. 3 : 5-6.
- Franchomme P. (1981). L'aromatologie à visée anti-infectueuse. Phytomedicine. 1: 25-47.
- Francis X.T., Auxilia A., Senthamil S.M., (2013). Antibacterial and phytochemical screening of *Solanum erianthum* D. Don. Journal of Natural Product and Plant Resources. 3 (2) :131-133.
- Gamet-Payrastre L., Manenti S., Gratacap M.P., Tulliez J., Chap H., Payrastre B. (1999). Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. General Pharmacology, 32: 279-286.
- Gamisans J., Gruber M. (1979). La végétation du Niolu (Corse). Ecologia Mediterranea 4 : 141-156.
- Garnero J. (1996). Huiles essentielles. Dossier : K 345. Base documentaire : Constantes physico-chimiques. 90 pages.
- Gelhin, A., Guyon C., Nicod L. (2006). Glyphosphate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of vitamine C and E. Environmental Toxicology and Pharmacology. 22 : 27-34.
- Georgievskii B.P., Komissarenko N.F. Dmitrou C.E. (1990). Les composés bioactifs des plantes médicinales. Édition Naouka. 336 pages.
- Ghanmi M., Satrani B., Aafi, A. (2010). Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental). Phytothérapie. 8 : 295-301.
- Gong W.L., Yan J., Zhao L.X., Li C., Huang Z.L., Tanq B.Z., Zhu M.Q. (2016). Single-wavelength-controlled in situ dynamic super-resolution fluorescence imaging for block copolymer nanostructures via blue-light-switchable FRAP. Photochemical and Photobiological Sciences. 15 (11): 1433-1441.
- Gray A.I., Waterman P.G. (1978). Coumarins in the Rutaceae. Phytochemistry. 17 : 845- 864.

- Guessennd N., Oussou K.R., Koffi K., Dosso M. (2005). Détermination de l'activité antibactérienne des substances naturelles issues de plantes de la pharmacopée de Côte d'Ivoire. Fiche technique. Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. 18 pages.
- Guette C. (2007). Les alcaloïdes : lutte contre le cancer. *Oncopharmacologie*. 1-96.
- Guignard J.L., Cosson.L., Henri. (1985). Abrégé de phytochimie. Edition Masson : 224 pages.
- Guinoiseau G. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat. Université de Corse (France). 148 pages.
- Günther H. (1993). La spectroscopie de RMN. Principes de base, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone-13 en chimie. Masson: Paris. 557 pages
- Harborne J. (1988). « The Flavonoids ». Chapman and hall Ltd: 539 pages.
- Harborne J., William C. (1995). Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Product Report*. 12 : 639 pages.
- Hariri E.B., Sallé G., Andary C. (1991). Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album* L.). *Protoplasma*. 162 (1): 20-26.
- Hartmann T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years' research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. 68 : 2831-2846.
- Hartemann P. (2021). Les métaux et la santé. *Hegel*. 3 (3) : 244-250.
- Haslam E. (1994). Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid Metabolism. *Natural Product Reports*. 11: 41-66.
- Havsteen B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*. 96: 67-202.
- Heilerová L., Bučková M., Tarapčík P., Silhár S. Labuda J. (2003). Comparison of antioxydative activity data for aqueous extracts of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.), Oregano (*Origanum vulgare* L.), Thyme (*Thymus vulgaris* L.), and Agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) obtained by conventional methods and the DNA-based biosensor. *Czech Journal Food Science*. 21 (2): 78-84.
- Heilmer D., Vigndini P., Dini M. G., Vincieri F. F. Romani A. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food chemistry*. 99 : 464-469.

- Henintsoa R. (2001). Contribution à l'étude phytochimique de *Datura Stramonium* Linné. Mémoire de Recherche. Université Fianarantsoa, Antananarivo (Madagascar). 68 pages.
- Herzi N. (2013). Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse (France). 185 pages.
- Hesse M., Meier H., Zeeh B. (1997). Méthodes spectroscopiques pour la chimie organique. Masson : Paris. 417 pages.
- Hinneburg I., Dorman, H. J. D. et Hiltunen R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food chemistry*. 97 (1): 122-129.
- Hostettmann K., Potterat O., Wolfender JL.: 1998. The potential of Higher Plants as a Source of New Drugs. *Chimia*. 52: 10-17.
- Jafri M. A., Javed K., Singh S. (2001). Evaluation of the gastric antiulcerogenic effect of large cardamom (fruits of *Amomum subulatum* Roxb), *J. Ethnopharmacol.* 75: 89-94.
- Jang H.-I., Rhee K.-J., Eom Y.-B. (2020). Antibacterial and antibiofilm effects of  $\alpha$ -humulene against *Bacteroides fragilis*. *Canadian Journal of Microbiology*. 66 (6) : 389-399.
- Jean-Jacques M., Annie F., Chrystian J. L. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes. 192 pages.
- Jennings W., Shibamoto T. (1980). Qualitative analysis of flavour and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography. Academic Press, New York. 480 pages.
- Joulain D. (1994). Methods for analyzing essential oils. *Modern analysis methodologies: use and abuse. Perfumer & Flavorist*. 19: 5-17.
- Joseph S.K., Ying Jun Z. (2019). The Genus *Solanum*: An ethnopharmacological, phytochemical and biological properties review. *Natural Products and Bioprospecting*. 9 :77-137.
- Jukić M., Milos M. (2005). Catalytic oxidation and antioxidant properties of the thym essential oils (*Thymus vulgareae* L.), *Croatica acta*. 78 (1) : 105-110.
- Kabran G. R., Ambeu N. C., Mamyrbékova-Békro J. A., Békro Y-A. (2011) CCM d'extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein en Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research* .63(4) : 592-603.

- Kabran G.R.M. (2014). Étude chimique et cytotoxique de dix plantes de côte d'ivoire, utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein. Thèse de Doctorat. Université Nangui Abrogoua (Côte d'Ivoire). 265 pages.
- Kadja A.B. (2014). Sept plantes africaines utilisées comme cure-dents : compositions minérale, phénolique et activités biologiques. Thèse de Doctorat. Université Nangui Abrogoua (Côte d'Ivoire). 125 pages.
- Kamagate M., Bamba K.D., Die-Kacou H., Ake-Assi L., Yavo J., Daubret P., Haramburu F. (2015). Pharmacovigilance of medicinal plants: Contribution of the herbalists in Abidjan. *International Journal of Phytopharmacology*. 6: 66–75.
- Kanti.B.P., Syed I.R. (2009). Plant as dietary antioxidant in human health and disease. *Oxidative in medicine and cellular longevity*. 5 (2) :270-278.
- Kao M.T. (1990). Handbook of medicinal plants in Taiwan. 5th ed.; SMC Publishing Inc.: Taipei, Taiwan. 372 pages.
- Karioti A., Vrahimi-Hadjilouca T., Droushiotis D., Rancic A., Hadjipavlou-Litina D., Skaltsa H. (2006). Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Planta Medica*. 72: 1330-1334.
- Karlsson M.F., Birgersson G., Prado A.M.C., Bosa F., Bengtsson M., Witzgall P. (2009). Plant odor analysis of potato: Response of Guatemalan moth to above-and below-ground potato volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57:5903-5909.
- Keawsa-Ard S., Liawruangrath B., Liawruangrath S., Teerawutgulrag A. Pyne S.G. (2012). Chemical constituents and antioxidant and biological activities of the essential oil from leaves of *Solanum spirale*. *Natural Product Communications: An International Journal for Communications and Reviews*. 7 (7): 955-958.
- Khadri A., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Neffati M., Smiti S., Araújo M.E.M. (2008). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC-mass spectrometry and <sup>13</sup>C NMR. *Food chemistry*. 109: 630-637.
- Khanbabaee K., Van Ree T. (2001). Tannins, classification and definition. *The Royal Society of Chemistry*. 18(6): 641-649.

- Koffi, A. K., Ahuia, A. C. R., Ekou, L., Tchirioua, E., Koné, M. w. (2018). Activité antioxydante de quelques plantes utilisées dans la région de Tiassalé (Côte d'Ivoire) dans le maintien de la santé de la peau. *European Scientific Journal*. 14 (30) : 338-352.
- Konan K. (2010). Etude chimique et évaluation de l'activité antioxydante de quatre plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse unique de Doctorat. Université d'Abobo-Adjamé (Côte d'Ivoire). 112 pages.
- Koné W.M., Kamanzi A.K., Terreaux C., Hostettman K., Traoré D., et Dosso M. (2004). Traditionnal medicine in North Côte d'Ivoire: Screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 93 (1): 43-49.
- Kong Y., Fu Y.J., Zu Y.G., Chang F.R., Chen Y.H., Liu X.L. (2010). Cajanuslactone, a new coumarin with anti-bacterial activity from pigeon pea [*Cajanuscajan* (L.) Millsp.] leaves. *Food Chemistry*. 121 (4): 1150-1155.
- König W.A., Hochmuth D.H., Joulain D. (2001). Terpenoids and related constituents of essential oils. Library of MassFinder 2.1. Institute of Organic Chemistry: Hamburg.
- Kouamé F.P.B.K. (2012). Valorisation de quatre plantes médicinales ivoiriennes : étude phytochimique, Thèse de Doctorat. Université de Nantes (France), Université de Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire). 200 pages.
- Kováts E. (1965). Gas chromatographic characterisation of organic substances in the retention index system. *Advances in Chromatography*. 1 : 229-247.
- Krief S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal. Thèse de Doctorat. Muséum national d'histoire naturelle. 346 pages.
- Kumar, P., Sharma, B., Bakshi, N. (2009). Biological activity of alkaloids from *Solanum dulcamara* L. *Natural Product Research*. 23 (8): 719-723.
- Ladiguina E.Y., Safronitch L.N., Otriachenkova V.E., Balandina I.A., Grinkevitch N.I. (1983). Analyse chimique des plantes médicinales. Edition Moskva, Vischaya Chkola : 347 pages.
- Lagnika L. (2005). Etude phytochimique et activité antipaludique de substances naturelles issues de plantes Béninoises. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur de Strasbourg (France), Université. Abomey-Calavi (Bénin). 268 pages.
- Lakshmidēvi. N., Ramya Urs S.K. (2016). *Solanum erianthum*; analysis of phytochemical composition. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 3 (4): 290-293.

- Lamari A., Badoc A., Deffeux G. (1994). Biogénèse des Monoterpènes II – La chaîne isoprénique. Bulletin de la Société de Pharmacie Bordeaux. 133 : 79-99.
- Lange G., Schultze W. (1988). Differentiation of isopulegol isomers by chemical ionization mass spectrometry, in Bioflavour'87. P. Schreier Ed., W de Gruyter & Co.: Berlin: New-York. 115-122.
- Laraoui H. (2007). Etude Phytchimique de l'Extrait Chloroformique de *Bupleurum atlanticum*. Mémoires de Master. Université El Hadj Lakhdar, Batna (Algérie). 127pages.
- Laurent J. (2017). Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de Doctorat. Université Paul Sabatier Toulouse III (France). 219 pages.
- Latha P.S., Kannabiran K., (2006). Antimicrobial activity and phytochemicals of *Solanum trilobatum* Linn. African Journal of Biotechnology. 5 (23): 2402-2404.
- Lazurevskii G., Terntieva I., Shamshurine A. (1966). Prakticheskie raboty po Khimii prirodnykh soedinenii (traduit du russe) ; Moscou. 335 pages.
- Le Quéré J.L. (1992). Le couplage CPG/IRTF dans l'analyse des arômes. Analisis Magazine. 20 : 46-49.
- Lebreton P. (1982). Tannins ou alcaloïdes : deux tactiques phytochimiques de dissuasion des herbivores. Revue d'Ecologie (Terre et Vie). 36 : 539-572.
- Lee K.H., Huang E.S., Pagana J.S., Geissman T.A. (1971). Cytotoxicity of Sesquiterpenes lactones. Cancer Research. 31: 1649-1654.
- Liang Y.Z., Xie P., Chan K. (2004). Quality control of herbal medicines. Journal of Chromatography B. 812: 53-70.
- Lis-Balchin M.L. (2000). The genus Lavandula. Taylor and Francis. 37 (40): 155-200.
- LuYan-Y., Luo J.G., Kong L.Y. (2011). Chemical constituents from *Solanum torvum*. Chinese Journal of Natural Medicines. 9 (1) :30-32.
- Mabry T.J., Ulubelen A. (1980). Chemistry and utilization of phenylpropanoids including flavonoids, coumarins and lignans. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 28: 188-196.
- Mahanta B. P., Bora P. K., Kemprai P., Borah G., Lal M., Haldar S. (2021). Thermolabile essential oils, aromas and flavours: Degradation pathways, effect of thermal processing and alteration of sensory quality. Food Research International. 145: 1-18.

- Maia J.G.S., Andradeb E.H., Das Graças M., Zoghbib B. (2004). Aroma volatiles from two fruit varieties of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *Food Chemistry*. 85 : 195-197.
- Mainebau P. (1994). *La nouvelle Aromathérapie*. 2è édition Jakin, Paris. 635 pages.
- Mamyrbékova-Békro J.A., Boua B.B., Kouassi K.C., Békro Y.A. (2013). Sur l'analyse qualitative et pharmacologique de 2 plantes antihypertensives utilisées à N'gramanssabo en Côte d'Ivoire. *Nature & Technologie* : 2-12.
- Manallah A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Mémoire. Université Ferhat Abbas- Sétif (Algérie). 87 pages.
- Manuel M.J. (2004). *Illicium, Pimpinella and Foeniculum* (1st ed). CRC Press. 248 pages.
- Marie R.A.A., Amani B.K., Nathalie K.G., N'guessan J.K., Mamyrbékova-Békro J.A., Yves-Alain B. (2016). Bio-guided phytochemical survey, antibacterial and analgesic activities of ethanolic decoctions of a Mimosaceae from Côte d'Ivoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 18 (2): 569-577.
- Marriott P., Shellie R., Fergus J., Ong R., Morrison P. (2000). High resolution essential oil analysis by using comprehensive gas chromatographic methodology. *Flavour Fragrance Journal*. 15: 225-239.
- Masada Y. (1976). *Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry*, John Wiley & sons, New York. 334 pages.
- Maurice M.I. (2014). *Handbook of African Medicinal Plants*. Second Edition, CRC Press. 508 pages
- Mbarek L.A., Mouse H.A., Elabbadi N., Bensalah M., Gamouh A., Aboufatima R., Benharref A., Chait A., Kamal M., Dalal A., Zyad A. (2007). Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. Anti-tumor effect of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 40: 839-847.
- Mc Lafferty F.W., Stauffer D.B. (1994). *Wiley registry of mass spectral data*. 6th ed., Mass spectrometry library search system BenchTop/PBM, version 3.10d. Palisade Co., Newfield.
- Medina-Medrano J.R., Mares-Quñones M.D., Valiente-Banuet J.I., Vázquez-Sánchez M., Álvarez-Bernal D., Villar-Luna E. (2017). Determination and quantification of phenolic compounds in methanolic extracts of *Solanum ferrugineum* (Solanaceae) fruits by HPLC-DAD and HPLC/ESI-MS/TOF. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 40 (17). 900-906.

- Middleton E.J.R., Kaldasami C. (1994). The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. In: J. B. Harborne, Ed., The Flavonoids. Advances in research since 1986. Chapman and Hall, London. 676 pages.
- Mims C., Playfair J., Roitt I., Wakelin D., William R. (1993). Antimicrobials and chemotherapy. Medical Microbiology Review. 35 : 1-34.
- Mondello L., Casilli A., Tranchida P.Q., Dugo P., Dugo G. (2005). Comprehensive two-dimensional GC for the analysis of Citrus essential oils. Flavour and Fragrance Journal. 20: 136-140.
- Mondello L., Dugo P., Bartle K.D. (1995). Automated HPLC-HRGC: A powerful method for essential oil analysis. Part V. Identification of terpenes hydrocarbons of Bergamot, Lemon, Mandarin, Sweet Orange, Bitter Orange, Grapefruit, Clementine and Mexican Lime Oils by Coupled HPLC-HRGC-MS (ITD). Flavour and Fragrance Journal. 10: 33-42.
- Monti D., Chetoni P., Burgalassi S., Najjarro M., Sætton M.F., Boldrini E. (2002). Effect of different terpene-containing essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin. International Journal of Pharmaceutics. 237 : 209-214.
- Monyn E.D. (2018). Valorisation de *Hydrocotyle bonariensis* Comm. ex Lam. (Araliaceae) : enquêtes ethnobotaniques, activités biologiques et composition chimique des extraits et de l'huile essentielle des feuilles. Thèse de Doctorat. Université Nangui Abrogoua (Côte d'Ivoire). 237 pages.
- Mossion A (2007). Étude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques : Influence des paramètres physico-chimiques de l'eau. Toulouse : Institut National Polytechnique de Toulouse. 213 pages.
- Moussa D. (2020). Impact de la décoction et de la macération sur les teneurs en phytophénols et le potentiel antioxydant des feuilles de 10 plantes consommées en Côte d'Ivoire comme légumes-feuilles. Thèse de Doctorat. Université Nangui Abrogoua (Côte d'Ivoire). 163 pages.
- Munari F., Dugo G., Cotroneo A. (1990). Automated On-line HPLC-HRGC with gradient elution and multiple GC transfer applied to the characterization of Citrus essential oils. Journal of High Resolution Chromatography. 13: 56-61.

- Mustafa K., Bektas T. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three salvia species from Turkish flora. *Bio-ressources Technology*. 99 : 4096-4104.
- Nacira A., Yousra B. (2017). Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du Cyprés Vert (*Cupressus sempervirens* L.). *Algerian Journal of Natural Products*. 5 (2) : 455-462.
- N'dri S. K., Bosson A.K., Amoassi M. B., Mamyrbékova-Békro J.A., Koffi K. M., Nemlin J., Pirat J. L., Békro Y. A. (2011). Etude chromatographique et activité anti-oxydante de l'huile essentielle de *Afraegle paniculata* (Rutaceae). *European Journals of scientific Research*. 63 (4) : 482-488.
- Nguemtchouin M.M.G. (2012). Formulation d'insecticides en poudre par adsorption des huiles essentielles de *Xylopia aethiopica* et de *Ocimum gratissimum* sur des argiles camerounaises modifiées. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier. 263 pages.
- N'gaman K.C.C. (2013). Étude phytochimique et effet d'extraits de *Gmelina arborea* Roxb. (Verbenaceae) de Côte d'Ivoire sur la stabilité osmotique d'érythrocytes. Thèse de Doctorat. Université Nangui Abrogoua, Abidjan (Côte d'Ivoire). 152 pages.
- N'guessan H.A., Dago D.C.E., Mamyrbekova-Bekro J.A., Bekro Y.A. (2011). CCM d'extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle en Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*. 66 (4): 575-587.
- N'guessan K., Kadja B., Zirihi N., Traoré D. Aké-Assi L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences et Nature* 6 : 1-15.
- N'guessan P.A. (2021). Composition phytochimique d'extraits polaires végétaux par CPG-SM après dérivation : Cas de quatre (4) plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat. Université Nangui Abrogoua, Abidjan (Côte d'Ivoire). 150 pages.
- Nassira A. (2014). Micronutrition aspects théoriques et pratiques. Thèse de doctorat. Université Mohammed V, Rabat, Maroc. 296 pages.
- Nkhili E. (2004). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat. Spécialité : Sciences des Aliments. Université Cadi Ayyad. Marrakech, Université D'Avignon et des Pays de Vaucluse école doctorale 306 – SPSA, Montpellier : 378 pages.
- Nouga A.B., Ndom J.C., Mpondo E.M., Nyobe J.C.N., Njoya A., Meva'a L.M., Wansi J.D. (2015). New furoquinoline alkaloid and flavanone glycoside derivatives from the leaves of *Oricia suaveolens* and *Oricia renieri* (Rutaceae). *Natural Product Research*. 30 (3): 305-310.

- Novais M.H., Santos I., Mendes S., Pinto-Gomes C. (2004) Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*. 93: 183-195.
- Novak P., Tepeš P., Fistrić I., Bratoš I., Gabelica V. (2006). The application of LC-NMR and LC-MS for separation and rapid structure elucidation of an unknown impurity in 5aminosalicylic acid. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 40: 1268-1272.
- Núñez C.V., Roque N.F. (1999). Sesquiterpenes from the stem bark of *Guarea guidonia* (L.) sleumer (Meliaceae). *Journal of Essential Oil Research*. 11: 439-440.
- Ogunwande I.A., Avoseh N.O., Flamini G., Hassan A.S., Ogunmoye A.O., Ogunsanwo A.O., Yusuf K.O., Kelechi A.O., Tihamiyu Z.A., Tabowei G.O. (2013). Essential oils from the leaves of six medicinal plants of Nigeria. *Natural Product Communications*. 8: 243-248.
- Okamura H., Mimura A., Yakou Y., Niwano M., Takahara Y. (1993). Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochemistry*. 33 : 557-561.
- Oricia Pierre. (1897). *Bulletin Mensuel de la Société Linnéenne Paris*. 2 :1288 pages.
- Ouattara L.H., Kabran G.R.M., Guessennnd N.K., Konan K.F., Mamyrbekova-Bekro J.A., Bekro Y-A. (2016). Activités antibactériennes in vitro des extraits d'écorces de racines de *Mezoneuron benthamianum* et de tiges de *Paullinia pinnata* : 2 plantes de la pharmacopée Ivoirienne. *Revue CAMES – Série Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*. 18 (1) : 31-40
- Ouattara Z.A., Boti J.B., Ahibo A.C., Sutour S., Casanova J., Tomi F., Bighelli A. (2014). The key role of <sup>13</sup>C NMR analysis in the identification of individual components of *Polyalthia longifolia* leaf oil. *Flavour and Fragrance Journal*. 29: 371-379.
- Ouattara Z.A., Boti J.B., Ahibo C.A., Bekro Y.A., Casanova J., Tomi F., Bighelli A. (2016). Composition and chemical variability of ivoirian *Polyalthia oliveri* leaf oil. *Chemistry and Biodiversity*. 13 : 293-298.
- OOAS. (2019). Organisation Ouest Africaine de la Santé. *Bulletin d'Informations Epidemiologique*. 7 pages.
- Pal A., Squitti R., Picozza M., Pawar A., Rongioletti M., Dutta A.K., Sahoo S., Goswami K., Sharma P., Prasad R. (2020). Zinc and COVID-19: Basis of Current Clinical Trials. *Biological Trace Element Research*. 199: 2882-2892.

- Paolini J., Costa J., Bernardini A.F. (2007). Analysis of the essential oil from roots of *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* (L.) by GC, GC-MS and <sup>13</sup>CNMR. Phytochemical analysis. 18 : 235-244.
- Paré J. (1997). Procédé assisté par micro-ondes. Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles. 4: 4.
- Patra M., Bhowmick N., Bandopadhyay B., Sharma A. (2004). Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environmental and Experimental Botany. 52: 199-223.
- Pauli A. (2001). Antimicrobial properties of essential oil constituents. International Journal of Aromatherapy. 11: 126-133.
- Peng S., Li H., Yang D., Bai B., Zhu L., Liu Q., Shen J., Zhao Z. (2016). Solanerioside A, an unusual 14,15-dinor-cyclophytane glucoside from the leaves of *Solanum erianthum*. Natural Product Research. 31: 810-816.
- Pengelly A. (2004). The constituents of Medicinal Plants: An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine. 2nd Edn, CABI publishing, Wallingford. 184 pages.
- Persidis A. (1999). Antibacterial and antifungal drug discovery. Nature biotechnology. 17: 1141-1142.
- Pham T.M. D., Agata M.P., Pier L.C., Chau V.M., Le-Mai H., Alessandra B. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of *Clausena indica* (Dalz) Oliv. (Rutaceae): Essential oil from Vietnam. Natural Product Communications. 4 (6): 869-872
- Phillips J.B., Beens J. (1999). Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a hyphenated method with strong coupling between the two dimensions. Journal of Chromatography A. 856: 331-347.
- Pinto F.C. L.P., Uchoa D.E. A., Silveira E.R., Pessoa O. D.L., Braz-Filho R.S.F.M., Theodoro P.N.E.T., Espíndola L.S. (2011). Glicoalcaloïdes antifúngicos, flavonoïdes e outros constituintes químicos de *Solanum asperum*. Química Nova. 34 (2) : 284-288.
- PNLCA. (2019). Programme National de Lutte contre le Cancer. Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique. Copie du cancer en Côte d'Ivoire.
- PNPMT. (2014). Politique Nationale de Promotion de la Médecine Traditionnelle. Ministère de la Santé et de la Lutte contre le Sida de Côte d'Ivoire. Rapport. 35 pages.

- Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C., Roura S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Food Science and Technology*. 36 (7): 679-684.
- Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. 4: 25-39.
- Prosen H., Koçar D. (2008). Different sample preparation methods combined with LCMS/MS and LC-UV for determination of some furocoumarin compounds in products containing citrus. *Flavour and Fragrance Journal*. 23: 263-271.
- Psotová J., Lasovský J., Vicar J. (2003). Metal-chelating properties, electrochemical Behavior, scavenging and cytoprotective activities of six Natural Phenolics. *Biomedical Papers*. 147 (2): 147-153.
- Pusecker K., Albert K., Bayer E. (1999). Investigation of hop and beer bitter acids by coupling of highperformance liquid chromatography to nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Chromatography A*. 836: 245-252.
- Radhika M., Ramakrishnaiah H., Krishna V., Naveen K.N. (2012). Chemical Composition of the Essential Oil from the Fruits of *Solanum érianthum*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 15(3): 387-391.
- Radulovic N., Stojanovic G., Palic R. (2006). Composition and antimicrobial activity of *Equisetum arvense* L. essential oil. *Phytotherapy Research*. 20: 85-88.
- Rezzi S., Bighelli A., Castola V., Casanova J. (2002). Direct identification and quantitative determination of acidic and neutral diterpenes using <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy. *Applied Spectroscopy*. 56 : 312-317.
- Richter G. (1993). *Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie*. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire Romandes. 322-323.
- Rojas-Escudero E., Alarcón-Jiménez A.L., Elizalde-Galván P., Rojo-Callejas F. (2004). Optimization of carbohydrate silylation for gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1027: 117-120.
- Rouessac F., Rouessac A. (2004). *Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales Modernes (6<sup>ème</sup> Ed.)*. Dunod : Liège. 303 pages.

- Sabulal B., Dan M.J.A.J., Kurup R., Pradeep N.S., Valsamma R.K., George V. (2006). Caryophyllene-rich rhizome oil of *Zingiber nimmonii* from South India: Chemical characterization and antimicrobial activity. *Phytochemistry*. 67: 2469-2473.
- Sam G.H., Adu F., Annan K. (2013). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diarrhoea and skin ulcer in the Brong Ahafo region of Ghana. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7: 3280-3285.
- Saty P., Maharjan S., Setzer W.N. (2015). Volatile constituents from the leaves, fruits (Berries), stems and roots of *Solanum xanthocarpum* from Nepal. *Natural Product Communications*. 10: 361-364.
- Schultze W., Lange G., Schmaus G. (1992). Isobutane and ammoniac chemical ionization mass spectrometry of sesquiterpene hydrocarbons. *Flavour and Fragrance Journal*. 7: 55-64.
- Senatore F., Arnold N.A., Piozzi F. (2004). Chemical composition of the essential oil of *Salvia multicaulis* Vahl. var. *simplicifolia* Boiss. growing wild in Lebanon. *Journal of Chromatography A*. 1052: 237-240.
- Shuai-Cheng W., Zhi-Qiang Y., Fei L., Wen-Jing P., Shao-Qi Q., Qian L., Xiang-Bin S., Kui Z., Jian-Zhong S. (2019). Antibacterial effect and mode of action of Flavonoids from Licorice against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*. 10: 1-43.
- Siani A.C., Ramos M.F., Menezes-de-Lima O.J.R., Ribeiro-Dos-Santos R., Fernandez-Ferreira E., Soares R. O., Rosas E. C., Susunaga G. S., Guimaraes A. C., Zoghbi M. G., Henriques M. G. (1999). Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *Journal of Ethnopharmacology*. 66: 57-69.
- Silva T.M.S., Camara C.A., Freire.K.R.L., Silva T.G., Agra M.F., Bhattacharyya J. (2008). Steroidal glycoalkaloids and molluscicidal activity of *Solanum asperum* Rich.fruits. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 19 (5): 1048-1052.
- Singh A.P., Luthria D., Wilson T., Vorsa N., Singh, V., Banuelos G.S., Pasakdee S. (2009). Polyphenols content and antioxidant capacity of eggplant pulp. *Food Chemistry*. 114: 955 - 961.
- Singleton V.L., Ortofer R., Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Packer L (ed) *Methods in enzymology* Orlando Academic Press. 299: 152-178.

- Songa S.M., Marriott P., Kotsosb A., Drummerb O.H., Wynne P. (2004). Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry (GC/GC-TOFMS) for drug screening and confirmation. *Forensic Science International* 143: 87-101.
- Stefanovits-Banyai E., Tulok M.H. (2003). Antioxidant effect various rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Clones. *Acta Biologica zegediensis*. 47: 111-113.
- Steinberg K.M., Satyal P., Setzer W.N. (2017). Bark Essential Oils of *Zanthoxylum clavaherculis* and *Ptelea trifoliata*: Enantiomeric Distribution of Monoterpenoids. *Natural Product Communications*. 12 (6): 961-963.
- Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., Stöckigt D. (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic-electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of Chromatography A*. 967: 85-113.
- Sujatha V., Subramanian D. P. (2013). Antioxidant profile and GC-MS analysis of *solanum erianthum* leaves and stem a comparison. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5: 652-658.
- Taherpour A., Khodaei M.M., Ameen B.A.H., Ghaitouli M., Mahdizadeh N., Amjadian H.R., Larijani K. (2017). Chemical composition analysis of the essential oil of *Solanum nigrum* L. by HS/SPME method and calculation of the biochemical coefficients of the components. *Arabian Journal of Chemistry*. 10:2372-2375.
- Takao T., Kitatami F., Watanabe N., Yagi A. Sakata K. (1994). A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 58: 1780-1783.
- Tanoh S. K., N'gaman-Kouassi C. C., Boa D., Mamyrbekova-Békro J. A., Békro Y-A. (2019). Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et hydroacétoniques des organes de quatre plantes de Côte d'Ivoire médicinales. *Revue Nature et Technologie*. 11 (2) : 28-34.
- Tantaoui-Elaraki A., Ferhout H., Errifi A. (1993). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus Broussonettii*, *T. zygis* and *T. satureioides*. *Journal of Essential Oil Research*. 5: 45-53.
- Teixérera da S.J.B. (2004). Mining the essential oils of anthemideal. *African Journal of biotechnology*. 706-720.
- Teuscher E.A.R. (2005). *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiment et huiles essentielles*. Paris, Lavoisier Technique et Documentation. 522 pages.

- Tomi F., Casanova J. (2000). Contribution de la RMN du carbone-13 à l'analyse des huiles essentielles. *Annales Fals et Expertise Chimie*. 93 : 313-330.
- Tomi F., Bradesi P., Bighelli A., Casanova J. (1995). Computer-aided identification on individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance Analysis*. 1: 25-34.
- Tranchida P.Q., Dugo P., Dugo G., Mondello L. (2004). Comprehensive two-dimensional chromatography in food analysis. *Journal of Chromatography A*. 1054: 3-16.
- Trébissou J.N.D., Bla K., Yapo A.F., Yapi H.F., Djaman A. (2014). Therapeuticsurvey on traditional treatment of buruli ulcer in Côte d'Ivoire. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 4:52-56.
- Ultée A., Slump R.A., Steging G., Smid E.J. (2000). Antimicrobial activity of carvacrol towards *Bacillus cereus* on rice. *Journal of food protection*. 63(5): 620-624.
- Umberto Q. (2012). *CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants\_ Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms, and Etymology*. Volume 5 Set CRC Press. 3960 pages.
- Unlu M., Daferera D., Donmez E., Polissiou M., Tepe B., Sokmen A. (2002). Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*. 83 : 117-121.
- Valnet J., Duraffourd C.H., Duraffourd P., Cilapraz J. (1978). L'aromatogramme : nouveaux résultats et essais d'interprétation sur 268 cas cliniques. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*. 12 : 43-52.
- Van D.D.H., Kratz P.D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*. 11 : 463-471.
- Vaquette J., Cave A., Fournet A., Bouquet A. (1975). Triterpène et alcaloïde des racines de *Orcia gabonensis* Pierre. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*. 9 : 304-307.
- Vendeuvre C., Bertoncini F., Duval L., Duplan J.L, Thiébaud D., Hennion M.C. (2004). Comparison of conventional gas chromatography and comprehensive two- dimensional gas chromatography for the detailed analysis of petrochemical samples. *Journal of Chromatography A*. 1056: 155-162.

- Vernin G., Boniface C., Metzger J., Guiglione C., Hammound A., Suon K.N., Fraisse D., Parkanyl C. (1988). GC-MS-SPECMA bank analysis of *Juniperus communis* needles and berries. *Phytochemistry*. 27 :1061-1064.
- Vernin G., Petitjean M., Poite J.C., Metzger J., Fraisse D., Suon K.N. (1986). Mass spectra and Kováts indices data bank of volatile aroma compounds, Chap.VII in *Computer Aids to Chemistry*, Vernin G and Chanon M Ed.: Chichester. 294-333.
- Von Angerer E., Kager M., Maucher A. (1994). Antitumor activity of coumarin in prostate and mammary cancer models. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 120:14-16.
- Wagner H., Bladt S. (1996). *Plant drug analysis in thin layer chromatography*. Springer Verlag Berlin EdAtlas 2<sup>nd</sup> edition. 384 pages.
- Wansi J.D., Lallemand M.C., Mesaik M.A., Wandji J., Dako D.C., Choudhary M.I., Devkota K.P., Gaboriaud-Kolar N.S.N. (2008). Oxidative burst inhibitory and cytotoxic Indoloquinazoline and Furoquinoline alkaloids from *Oricia suaveolens*. *Journal of Natural Products*. 71 (11): 1942-1945.
- Wanzi J., Nwozo O., Mbaze L., Devkota K. M., Suzye M., Fomum Z., Sewald N. (2009). Amides from the stem bark of *Fagara macrophylla*. *Planta Medica*. 75 (5): 517-521.
- Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D., Surburg H. (2000c). Constituents of Haitian Vetiver Oil. *Flavour and Fragrance Journal*. 15: 395-412.
- Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D. (1996). New Sesquiterpene Ethers from Vetiver Oil. *Liebigs Annalen*. 7: 1195-1199.
- Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D. (1997a). New cis-Eudesm-6-ene Derivatives from Vetiver Oil. *Liebigs Annalen*. 7: 1783-1787.
- Weyerstahl P., Schlicht V. (1997b). Synthesis of rac-Bisabola-3(15),10-dien-7-ol. *Liebigs Annalen*. 8: 1789-1790.
- Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D. (2000a). 1,7-Cyclogermacra-1(10),4-dien-15-al, a Sesquiterpene with a Novel Skeleton, and Other Sesquiterpenes from Haitian Vetiver Oil. *Flavour and Fragrance Journal*. 15: 61-83.
- Weyerstahl P., Marschall H., Splittgerber U., Wolf D. (2000b). Analysis of the Polar Fraction of Haitian Vetiver Oil. *Flavour and Fragrance Journal*. 15 : 153-173.

- Wichtl M., Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2<sup>ème</sup> édition Technique et Documentation. 692 pages.
- Williamson M., Neuhaus D. (1989). The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis, VCH: New York. 522 pages
- Wolfender J.L., Hostettmann K. (1996). Importance of LC/MS in plant analysis. Spectroscopy Europe. 8: 7-12.
- Xu D.P., Li Y., Meng X., Zhou T., Zhou Y., Zheng J., Zhang J.J., Li H.B. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. International Journal of Molecular Sciences.18 (1): 1-32.
- Yadav R., Rathi M., Pednekar A., Rewachandani Y. (2016). A detailed review on solanaceae family. European journal of pharmaceutical and medical research. 3 (1): 369-378.
- Yapi A., Boti J.B., Ahibo A.C., Bighelli A., Casanova J., Tomi F. (2013). Combined analysis of *Xylopiya rubescens* Oliv. Leaf oil using gas chromatography with flame ionization detection, gas chromatography with mass spectrometry and <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance: structure elucidation of new compounds. Flavour and Fragrance Journal. 28 (6): 73-79.
- Yusuf Y. (2006). Catechin in food. Trends Food Sciences Technologies. 17: 64-71.
- Zadra M., Piana M., Brum T., Boligon A., Freitas R., Machado M., Athayde M. (2012). Antioxidant activity and phytochemical composition of the leaves of *Solanum guaraniticum* A. St.-Hil. Molecules. 17(11) : 12560-12574.
- Zana A.O. (2015). Contribution de la RMN <sup>13</sup>C à la caractérisation des huiles essentielles de cinq Annonacées acclimatées en Côte d'Ivoire. Thèse en Convention de Cotutelle Internationale, Université de Corse-Pascal Paoli (France), Université de Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire). 256 pages.
- Zemali D., Ouahrani M. R. (2014). Phytochemical Study of Selected Medicinal plant, *Solanum Nigrum*, the Algerian Desert. International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy. 20: 25-30.
- Zenk M., Jueng M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. Phytochemistry. 68 : 2757- 2772.
- Zerroug A. (2011). Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk.). Master en microbiologie. Université Ferhat Abbas-Setif (Algérie). 77 pages.

## WEBOGRAPHIE

**Anonyme 1** : <http://info-covid19.gouv.ci>. Consulté le 08/07/2021 à 7h 26.

**Anonyme 2** : <https://studylibfr.com/doc/4990607.pdf>. Consulté le 27/01/2018 à 10h 19

**Anonyme 3** : <https://fra.wiki/wiki/Solanaceae> consulté le 15/01/2022 à 18h 43

**Anonyme 4** : <https://www.mi-aime-a-ou.com/Solanaceae.php?page=2> consulté le 16/01/2022 à 19h 13

**Anonyme 5**: <https://fr.wikipedia.org/wiki/Solanum> consulté le 16/01/2022 à 1 9h 23

**Anonyme 6**: <http://tropical.thefers.info/viewtropical.php?id=Solanum+rugorum>. Consulté le 06/12/2018 à 9h 25.

**Anonyme 7** :

[www.prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&g=pe&p=Solanum+erianthum+D.Don](http://www.prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&g=pe&p=Solanum+erianthum+D.Don).  
Consulté le 05/12/2018 à 7h 23.

**Anonyme 8**: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/120139>. Consulté le 06/12/2018 à 12h13

**Anonyme 9** : <http://plantes->

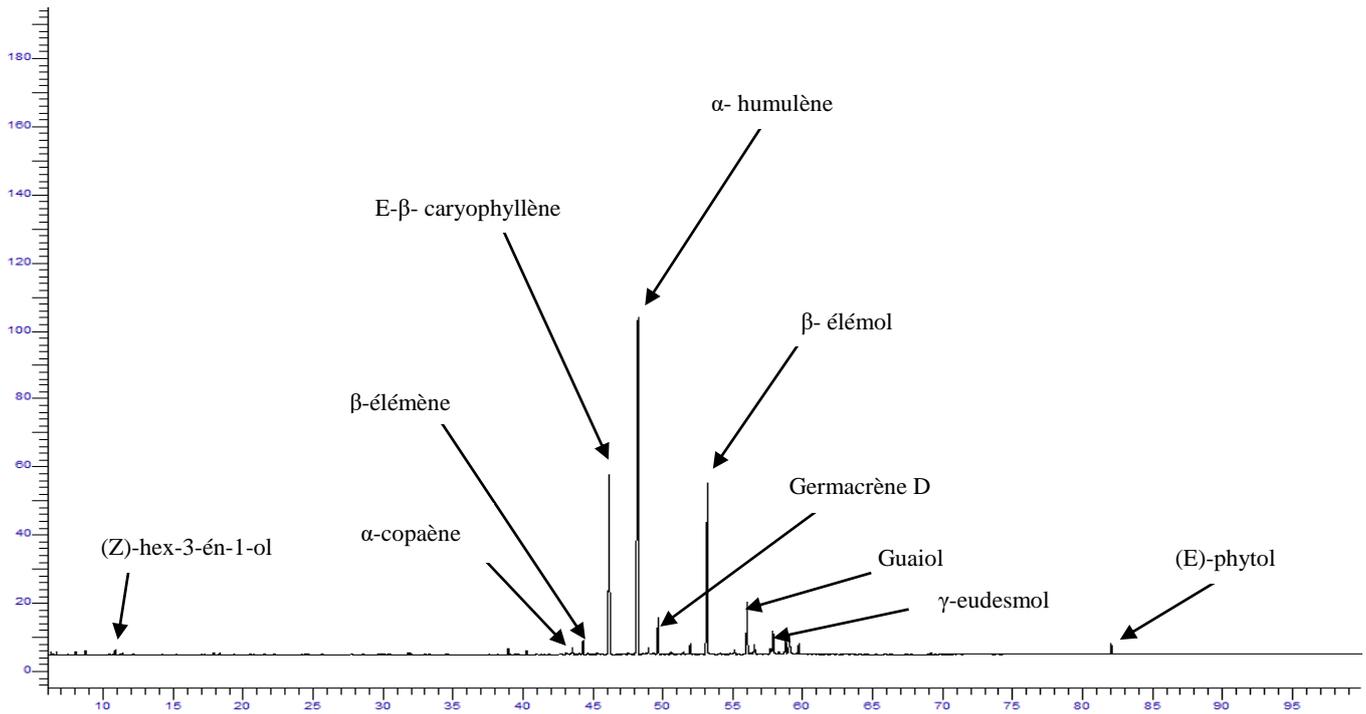
[rizieresguyane.cirad.fr/dicotyledones/solanaceae/solanum\\_rugosum](http://rizieresguyane.cirad.fr/dicotyledones/solanaceae/solanum_rugosum). Consulté le 27/05/2020 à 21h33.

**Anonyme 10**: <https://www.vidal.fr/sante/nutrition/corps-aliments/sels-mineraux-oligoelements.html>. Consulté le 18/01/2022 à 4h 55.

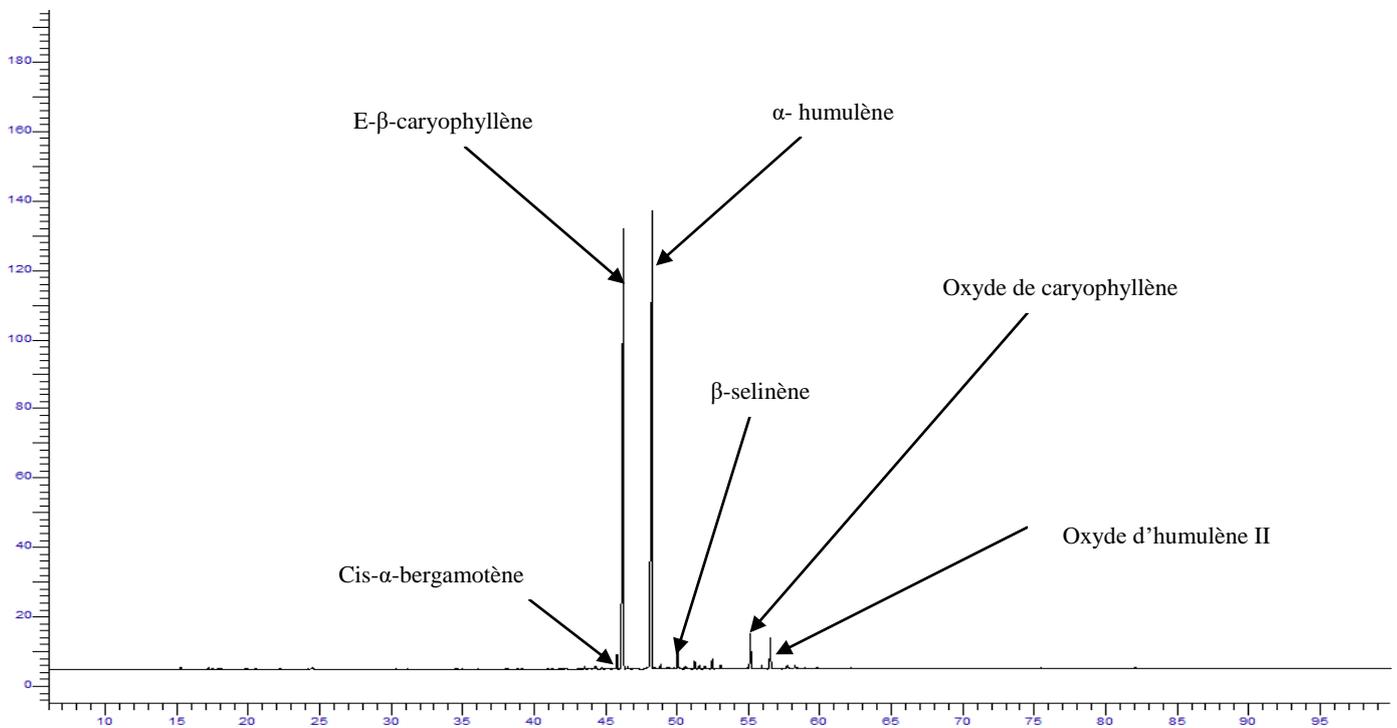
**Anonyme 11**: <https://publications.msss.gouv.qc.ca/msss/fichiers/guide-garderie/chap7-staphylococcus-sarm.pdf>. Consulté le 24 /03/ 2021 à 14h 33.

**Anonyme 12**: <https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/infections/infections-bact%C3%A9riennes-bact%C3%A9ries-gram-positives/infections-%C3%A0-staphylococcus-aureus>. Consulté le 24 /03/ 2021 à 14h 45.

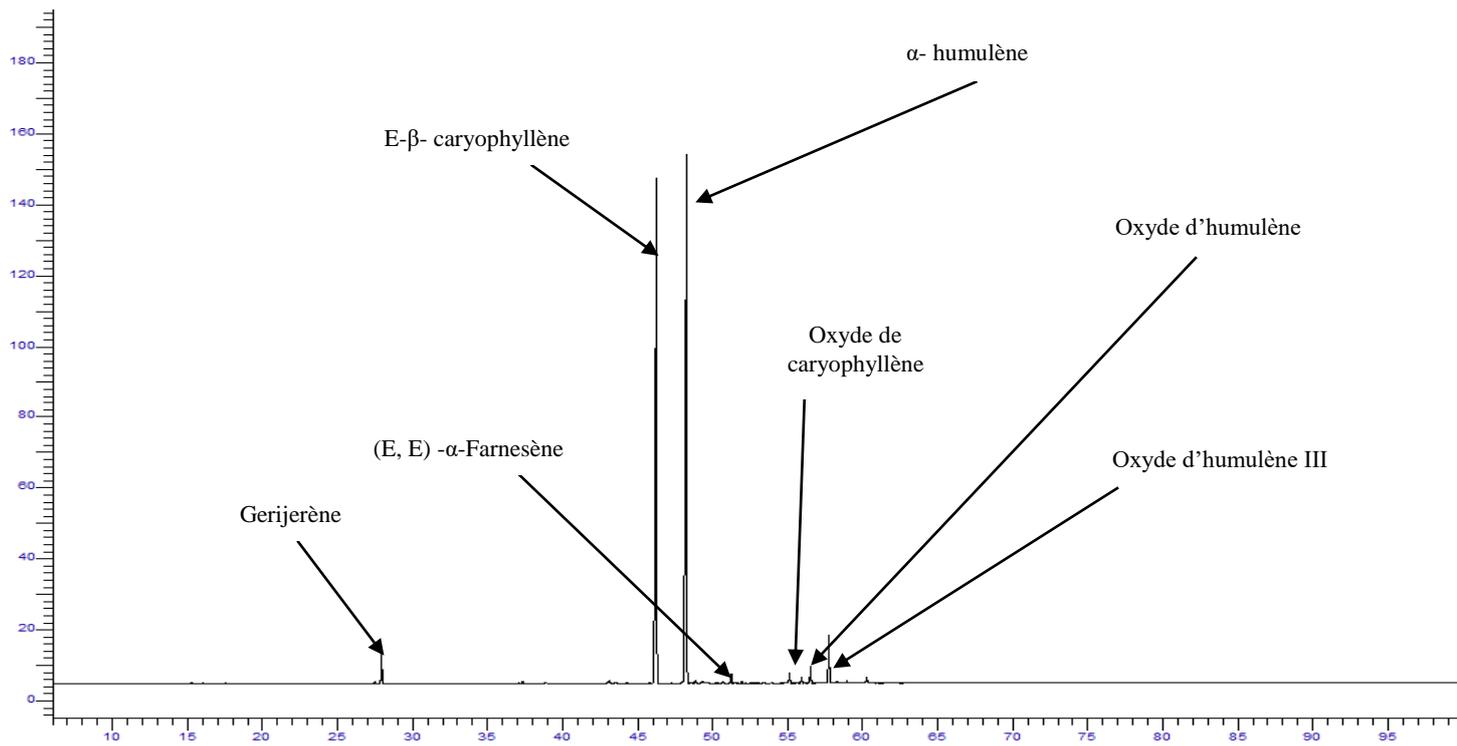
## ANNEXES



**Annexe 1: Chromatogramme de la CPG (Ir) sur colonne apolaire de HE des feuilles de *Solanum erianthum***

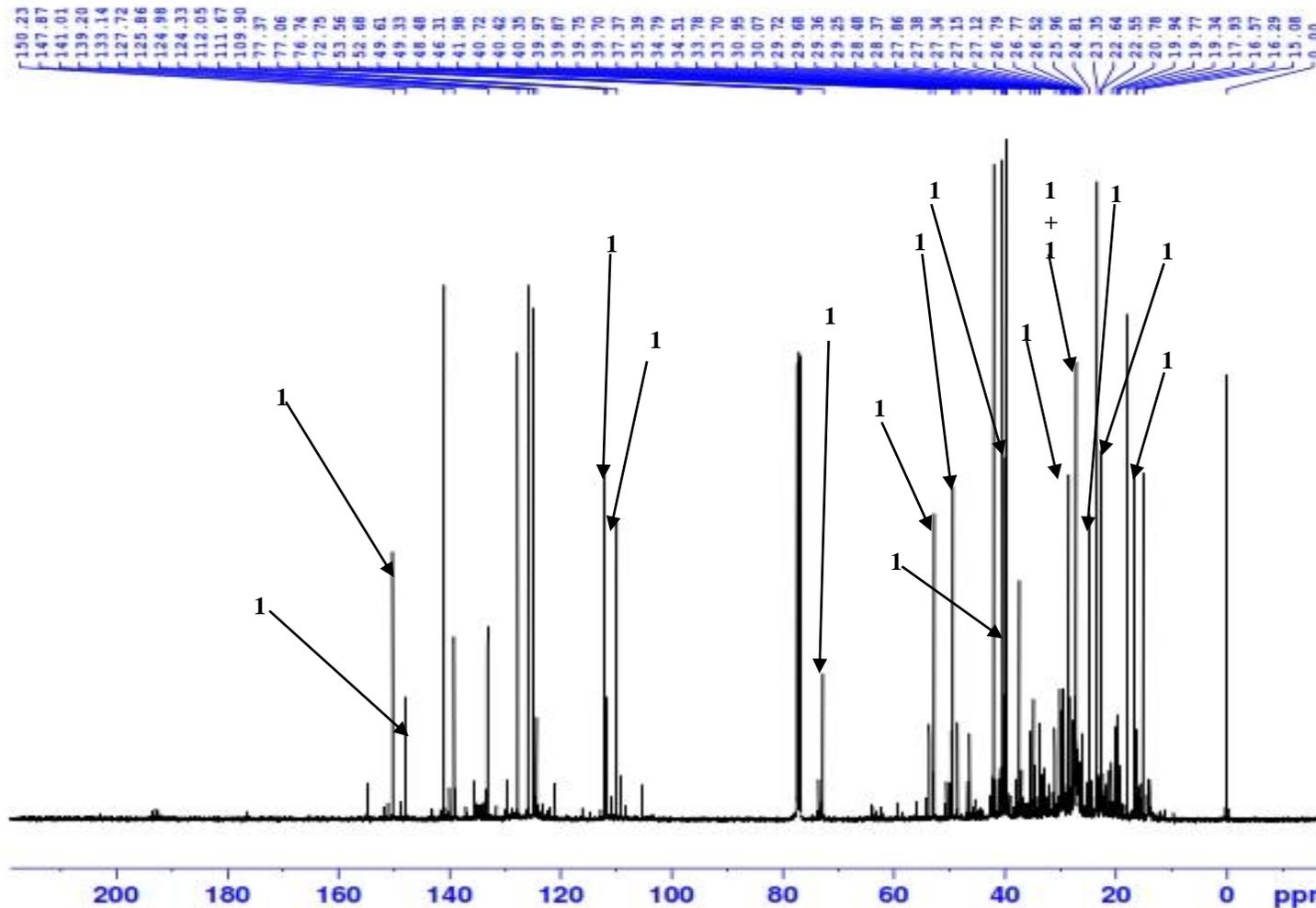


**Annexe 2: Chromatogramme de la CPG (Ir) sur colonne apolaire de HE des écorces de tronc de *Oricia suaveolens***



**Annexe 3: Chromatogramme de la CPG (Ir) sur colonne apolaire de HE des écorces de racines de *Orcia suaveolens***

SE Feuilles C13



Current Data Parameters  
NAME jbl71343A  
EXPNO 2  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20180106  
Time 20.21  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zgpg45  
TD 131072  
SOLVENT cdcl3  
NS 4000  
DS 2  
SWH 23980.814 Hz  
FIDRES 0.182959 Hz  
AQ 2.7328513 sec  
RG 26008  
DW 20.850 usec  
DE 10.00 usec  
TE 297.4 K  
D1 0.10000000 sec  
D11 0.03000000 sec  
TD0 8

----- CHANNEL f1 -----  
NUC1 13C  
P1 8.50 usec  
PL1 -2.00 dB  
PL1W 62.10471725 W  
SFO1 100.6228298 MHz

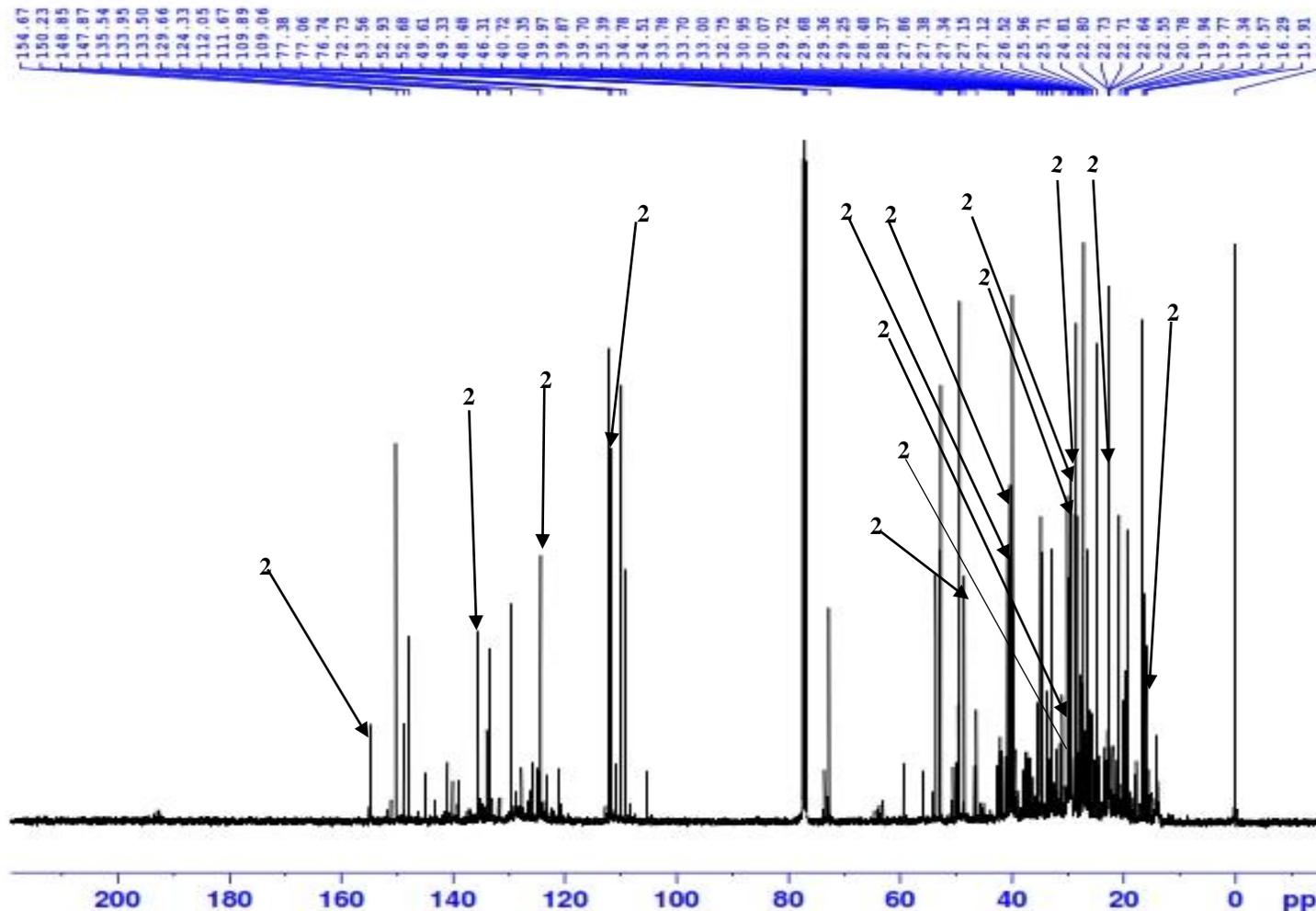
----- CHANNEL f2 -----  
CFDPRG[2] waltz16  
NUC2 1H  
PCPD2 80.00 usec  
PL2 0 dB  
PL12 15.00 dB  
PL13 15.00 dB  
PL2W 16.57845116 W  
PL12W 0.52425665 W  
PL13W 0.52425665 W  
SFO2 400.1316005 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 100.6127680 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

Annexe 4: Spectre RMN <sup>13</sup>C de l'huile essentielle de feuilles de *Solanum erianthum*

(1) Pics de β-élémol

SR Feuilles C13



```
Current Data Parameters
NAME          jbl71344A
EXPNO         2
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20180107
Time          13.20
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm DUL 13C-1
PULPROG       zgpg45
ID            131072
SOLVENT       CDCl3
NS            3000
DS            2
SWH           23980.814 Hz
FIDRES        0.182959 Hz
AQ            2.7328513 sec
RG            26008
DM            20.850 usec
DE            10.00 usec
TE            297.3 K
D1            0.10000000 sec
d11           0.03000000 sec
TD0           6

----- CHANNEL f1 -----
NUC1           13C
P1             8.50 usec
PL1            -2.00 dB
PL1W           62.10471725 W
SFO1           100.6228298 MHz

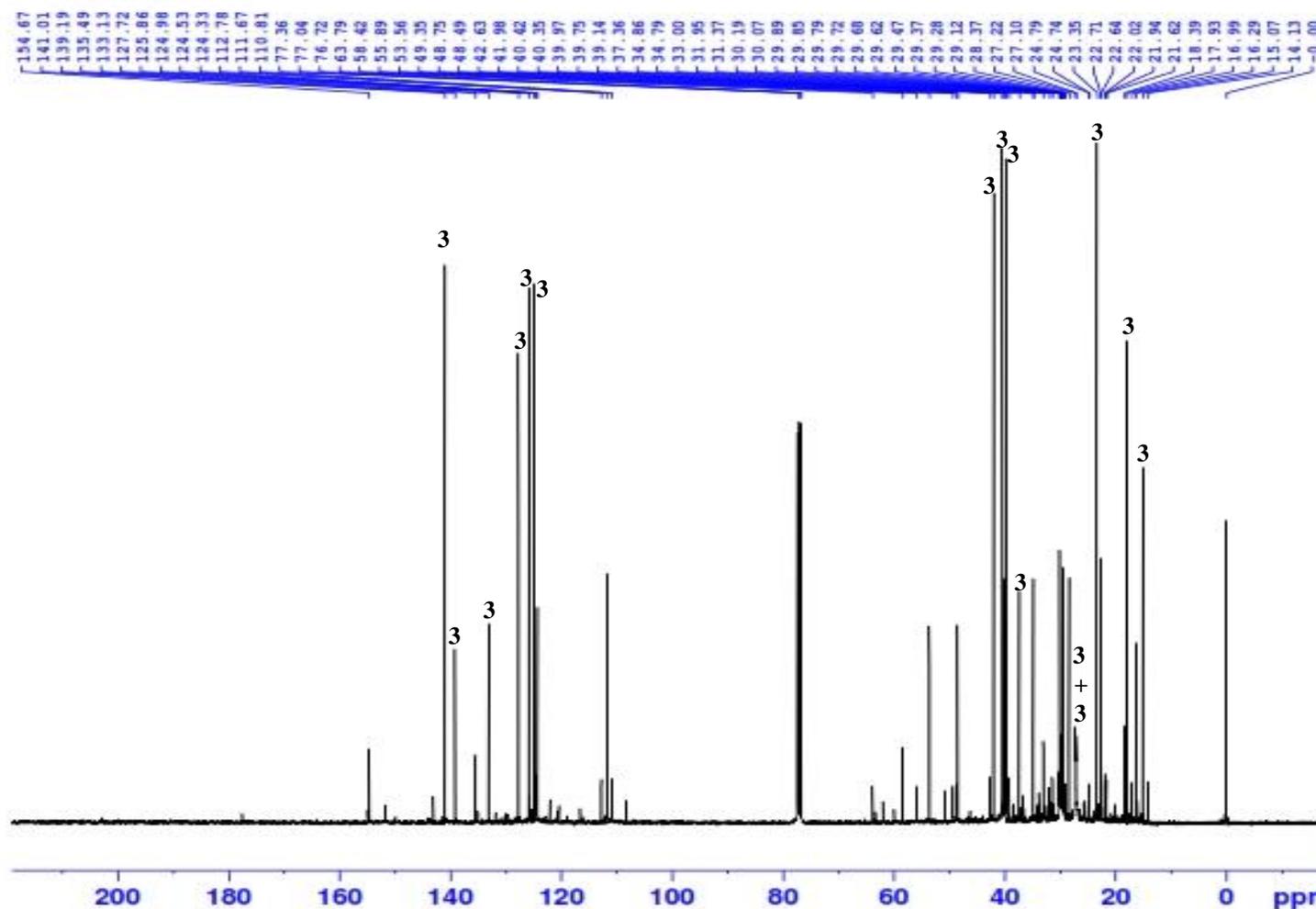
----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG[2]     waltz16
NUC2           1H
PCPD2         80.00 usec
PL2            0 dB
PL12           15.00 dB
PL13           15.00 dB
PL2W           16.57845116 W
PL12W          0.52425665 W
PL13W          0.52425665 W
SFO2           400.1316005 MHz

F2 - Processing parameters
SI             65536
SF            100.6127680 MHz
WDW            EM
SSB            0
LB             1.00 Hz
GB            0
PC             1.40
```

Annexe 5: Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  de l'huile essentielle de feuilles *Solanum rugosum*

(2) Pics de (E)- $\beta$ -caryophyllène

OS Ecorces Tronc C13



Current Data Parameters  
NAME jbi71341A  
EXPNO 2  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20180107  
Time 8.41  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zgpg45  
TD 131072  
SOLVENT CDCl3  
NS 3000  
DS 2  
SWH 23980.814 Hz  
FIDRES 0.182959 Hz  
AQ 2.7328513 sec  
RG 26008  
DM 20.850 usec  
DE 10.00 usec  
TE 297.2 K  
D1 0.10000000 sec  
D11 0.03000000 sec  
TD0 6

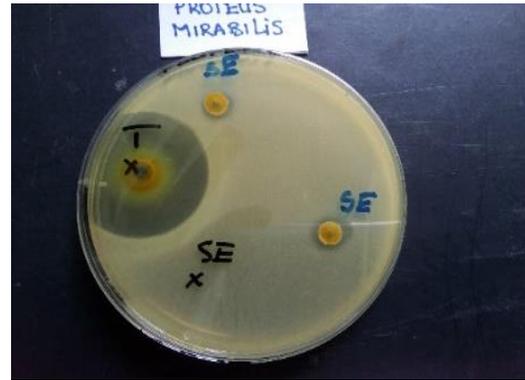
----- CHANNEL f1 -----  
NUC1 13C  
P1 8.50 usec  
PL1 -2.00 dB  
PL1W 62.10471725 W  
SFO1 100.6228298 MHz

----- CHANNEL f2 -----  
CPDPRG2 waltz16  
NUC2 1H  
PCPD2 80.00 usec  
PL2 0 dB  
PL12 15.00 dB  
PL13 15.00 dB  
PL2W 16.57845116 W  
PL12W 0.52425665 W  
PL13W 0.52425665 W  
SFO2 400.1316005 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 100.6127691 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

Annexe 6: Spectre RMN <sup>13</sup>C de l'huile essentielle des écorces de tronc de *Oricia suaveolens*

(3) Pics de α-humulène



**Annexe 7: Inhibition de l'HE des feuilles de *S. erianthum* sur *Staphylococcus epidermidis* et *Proteus mirabilis***



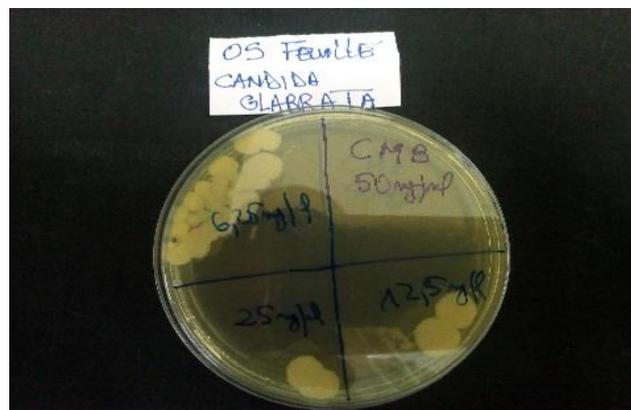
**Annexe 8: Inhibition de l'HE des feuilles de *S. rugosum* sur *Pseudomonas aeruginosa***



**Annexe 9: Inhibition de l'HE des feuilles de *O. suaveolens* sur *Escherichia coli***

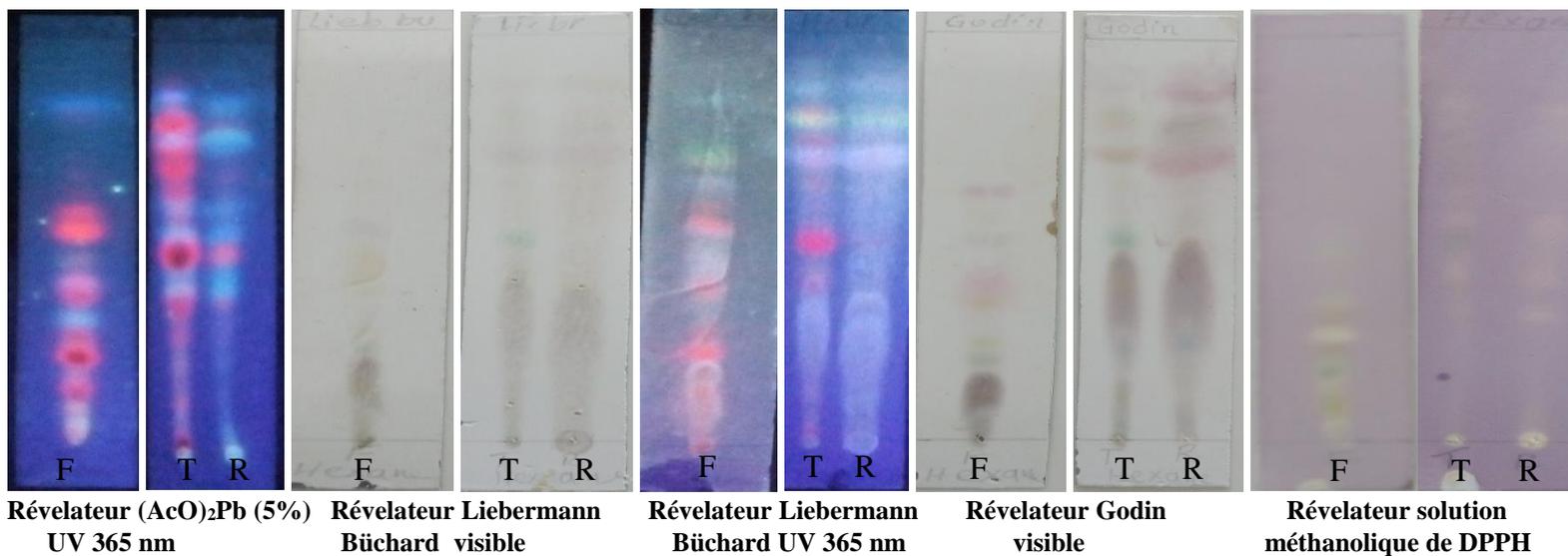
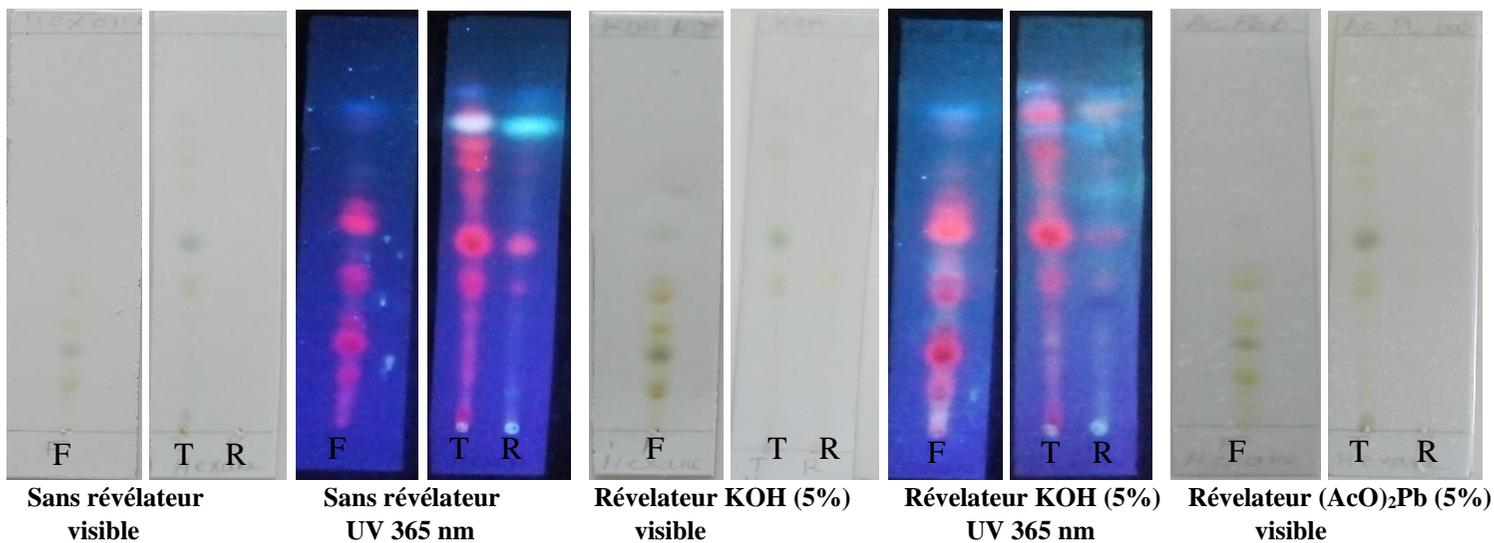


**Annexe 10: Détermination de la CMB de l'HE des feuilles de *S. rugosum* sur *Bacillus subtilis***



**Annexe 11 : Détermination de la CMF de l'HE des feuilles de *O. suaveolens* sur *Candida glabrata***

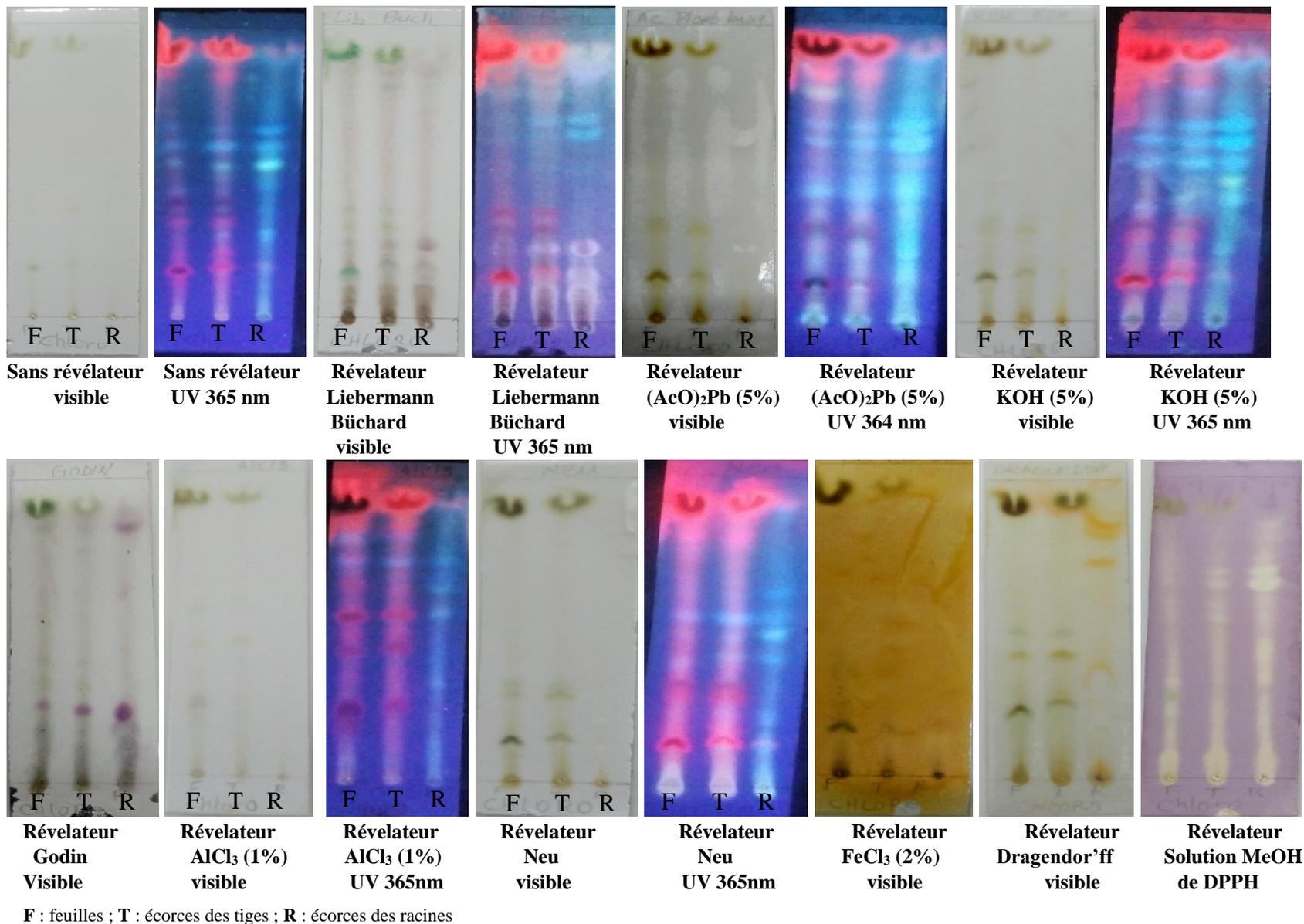
• **EXTRAITS HEXANIQUES : Développés** (Hexane /Acétate d'éthyle (5,5/1,5 ; v/v) ; Hexane /Acétate d'éthyle (5/3 ; v/v))



F : feuilles ; T : écorces des tiges ; R : écorces des racines

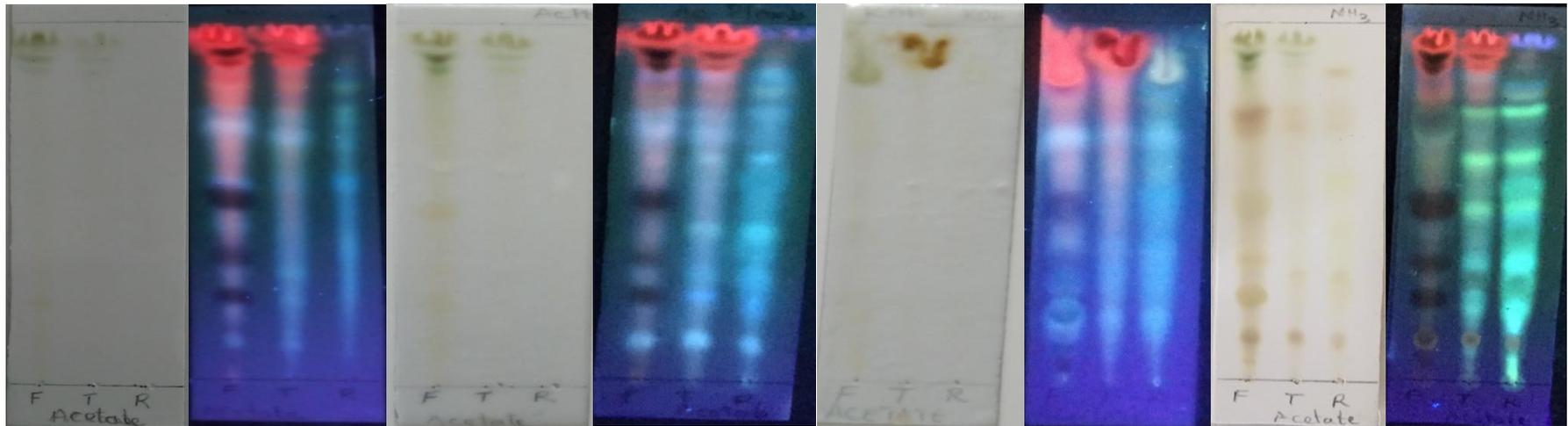
**Annexe 12: Chromatogrammes des extraits hexaniques de *S. rugosum***

• **EXTRAITS CHLORFORMIQUES : Développant (CHCl<sub>3</sub>/EtOH/NH<sub>3</sub> (5/1/0,1 ; v/v/v))**

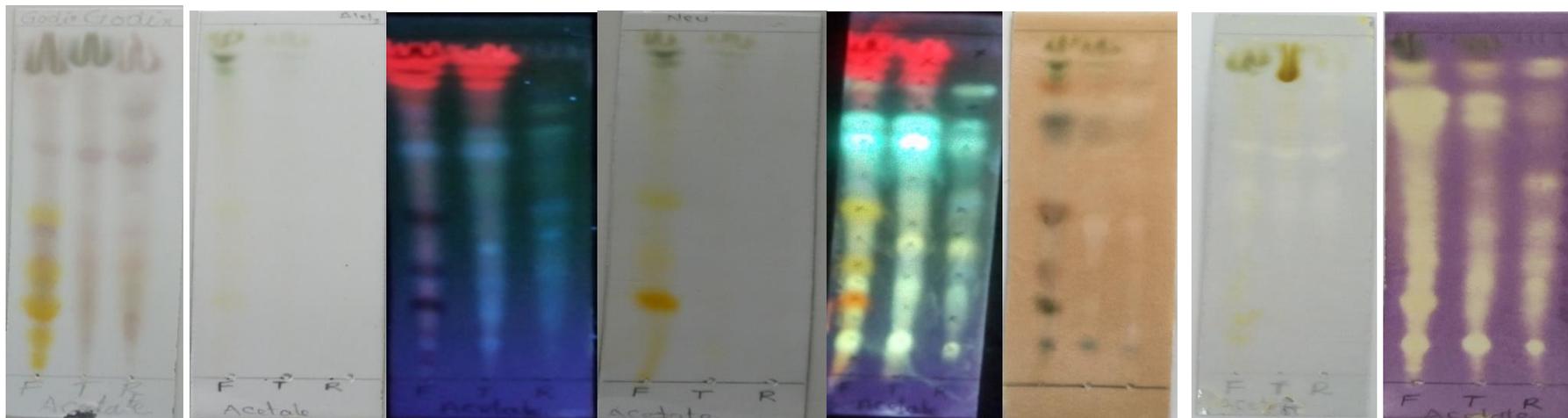


**Annexe 13: Chromatogrammes des extraits chloroformiques de *S. rugosum***

- **EXTRAITS ACÉTATE ÉTHYLIQUES : Développant** (AcOH / CHCl<sub>3</sub> / EtOH/ H<sub>2</sub>O/ AcOEt (1,25/ 3 / 0,25/ 0,25/ 2 ; v/v/v/v/v))



**Sans révélateur visible**      **Sans révélateur UV 365 nm**      **Révélateur (AcO)<sub>2</sub>Pb (5%) visible**      **Révélateur (AcO)<sub>2</sub>Pb (5%) UV 364 nm**      **Révélateur KOH (5%) visible**      **Révélateur KOH (5%) UV 365 nm**      **Révélateur vapeur de NH<sub>3</sub> visible**      **Révélateur vapeur de NH<sub>3</sub> UV 365 nm**

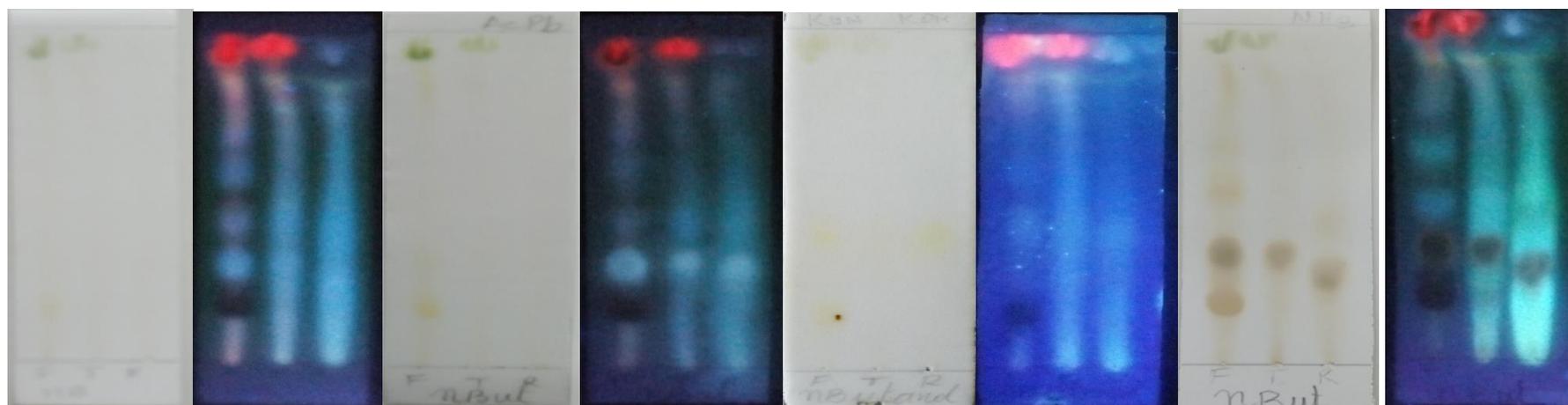


**Révélateur Godin visible**      **Révélateur AlCl<sub>3</sub> (1%) visible**      **Révélateur AlCl<sub>3</sub> (1%) UV 365nm**      **Révélateur Neu visible**      **Révélateur Neu UV 365nm**      **Révélateur FeCl<sub>3</sub> (2%) visible**      **Révélateur Dragendorff visible**      **Révélateur Solution MeOH de DPPH visible**

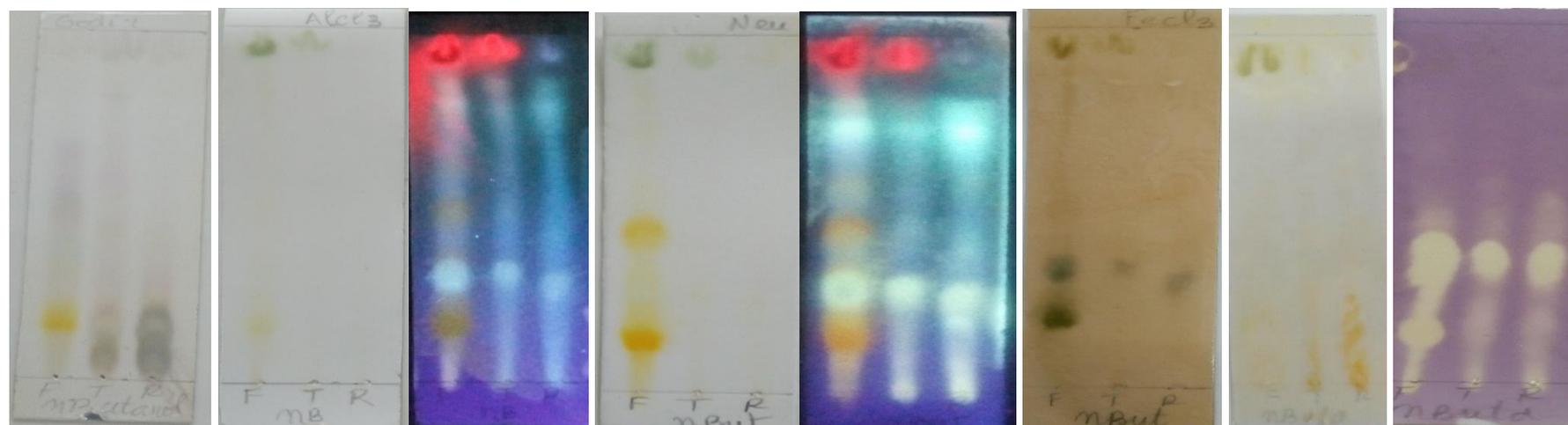
F : feuilles ; T : écorces des tiges ; R : écorces des racines

**Annexe 14: Chromatogrammes des extraits acétate éthyliques de *S. rugosum***

➤ **EXTRAITS n-BUTANOLIQUES : Développant (AcOH / CHCl<sub>3</sub> / EtOH/ H<sub>2</sub>O/ AcOEt (4 / 3,75 / 0,5/ 0,5/ 4 ; v/v/v/v/v))**



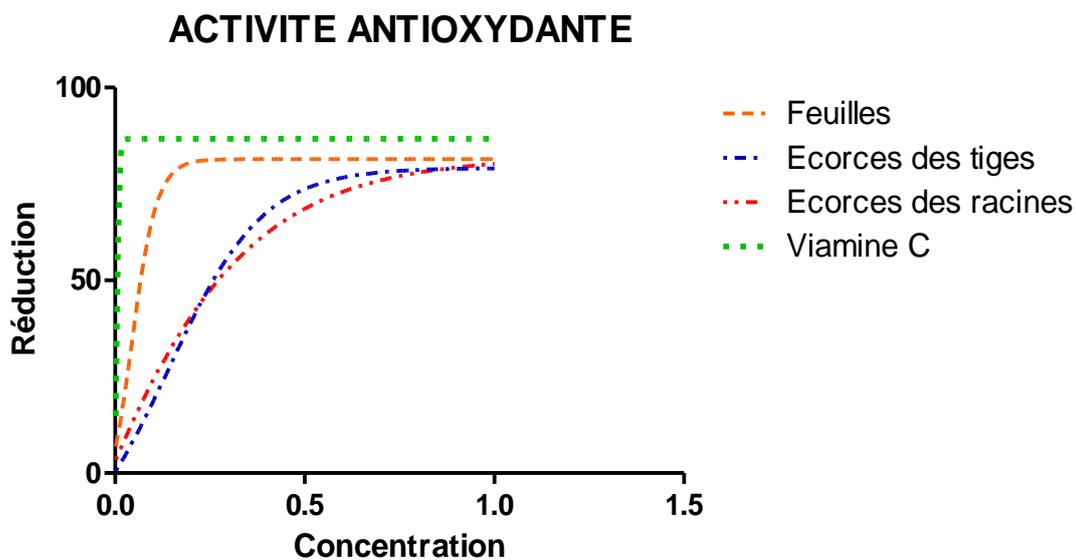
<b>Sans révélateur visible</b>	<b>Sans révélateur UV 365 nm</b>	<b>Révélateur (AcO)<sub>2</sub>Pb (5%) visible</b>	<b>Révélateur (AcO)<sub>2</sub>Pb (5%) UV 364 nm</b>	<b>Révélateur KOH (5%) visible</b>	<b>Révélateur KOH (5%) UV 365 nm</b>	<b>Révélateur vapeur de NH<sub>3</sub> visible</b>	<b>Révélateur vapeur de NH<sub>3</sub> UV 365 nm</b>
--------------------------------	----------------------------------	--	--	------------------------------------	--------------------------------------	--	--



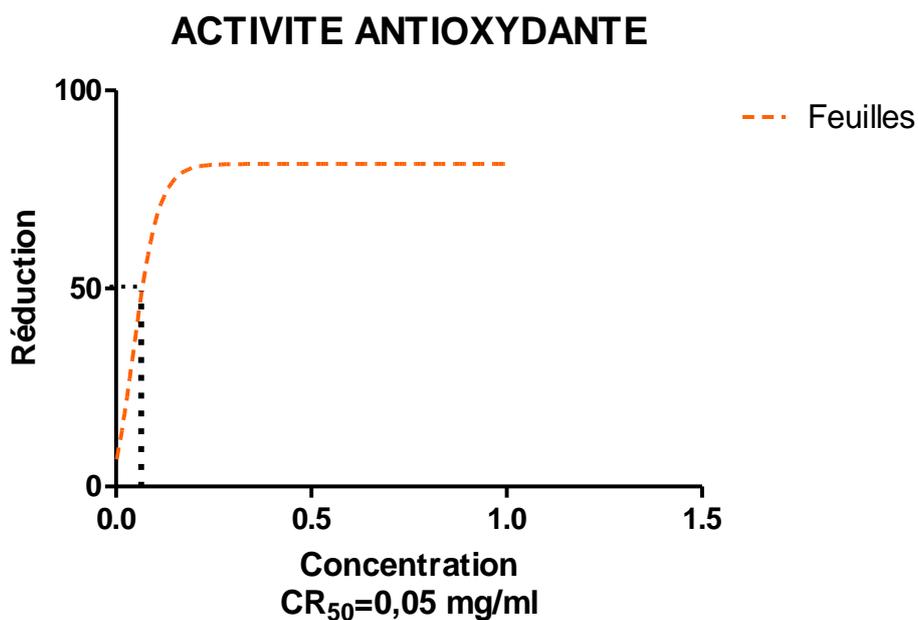
<b>Révélateur Godin visible</b>	<b>Révélateur AlCl<sub>3</sub> (1%) visible</b>	<b>Révélateur AlCl<sub>3</sub> (1%) UV 365nm</b>	<b>Révélateur Neu visible</b>	<b>Révélateur Neu UV 365nm</b>	<b>Révélateur FeCl<sub>3</sub> (2%) visible</b>	<b>Révélateur Dragendorff visible</b>	<b>Révélateur Solution MeOH de DPPH</b>
---------------------------------	---	--	-------------------------------	--------------------------------	---	---------------------------------------	---

F : feuilles ; T : écorces des tiges ; R : écorces des racines

**Annexe 15 : Chromatogrammes des extraits n-butanoliques de *S. rugosum***

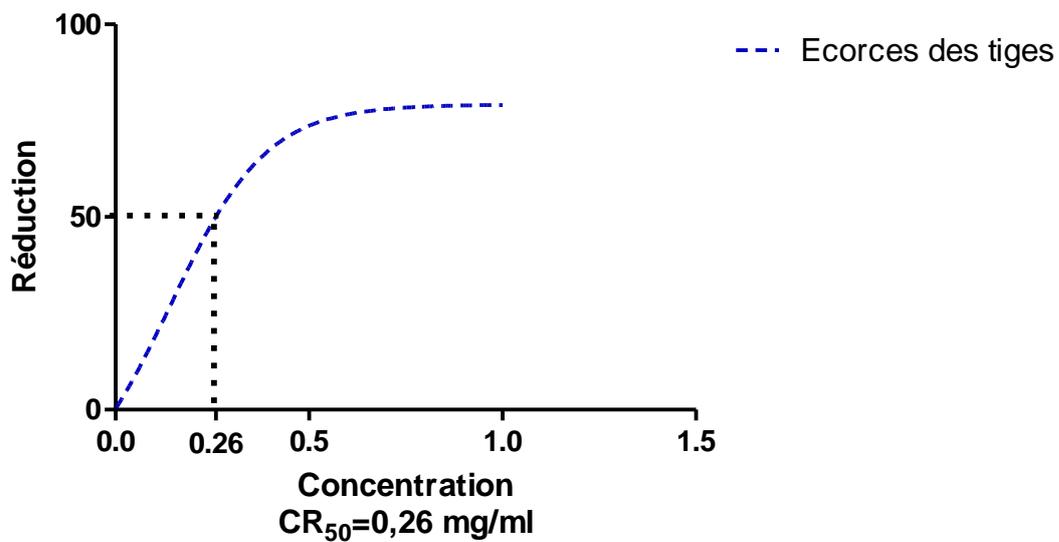


Annexe 16: Courbe de réduction du radical DPPH des extraits de *Solanum rugosum* et de la vitamine C



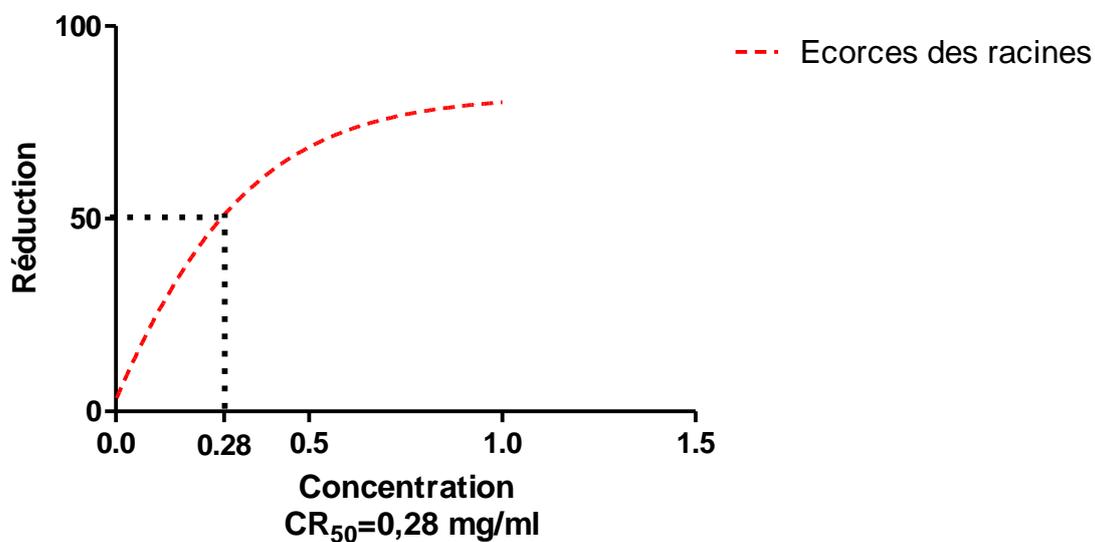
Annexe 17: Détermination de la CR<sub>50</sub> des extraits de feuilles de *Solanum rugosum*

### ACTIVITE ANTIOXYDANTE

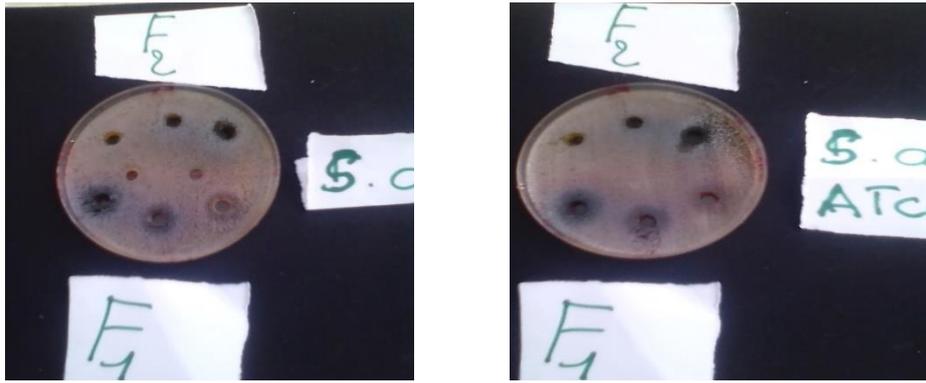


Annexe 18: Détermination de la CR<sub>50</sub> des extraits d'écorces de tiges de *Solanum rugosum*

### ACTIVITE ANTIOXYDANTE



Annexe 19: Détermination de la CR<sub>50</sub> des extraits d'écorces de racines de *Solanum rugosum*



**Annexe 20: Inhibition des feuilles sur *Staphylococcus aureus***



**Annexe 21: Détermination de la CMB des Feuilles sur *P. aeruginosa* ATCC**



**Annexe 22: Détermination de la CMB des Feuilles sur *Staphylococcus aureus***

## **Annexe 23 : Préparation des réactifs**

### ***Réactif de Godin (universel)***

Il est préparé en mélangeant des volumes égaux d'une solution éthanolique de vanilline à 1 % (v/v) avec une solution d'acide perchlorique à 3 % (v/v). Les chromatoplaques sont giclées avec ce réactif, puis avec une solution éthanolique de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 10 % (v/v). Elles sont ensuite chauffées à 100° C jusqu'à ce qu'apparaissent des taches de couleurs diverses dans le visible. Dans le visible : bleues (stéroïls, triterpènes et coumarines) ; violet (stéroïls et polyterpènes) ; rose jaune et orange (flavonoïdes) ; vert (triterpènes).

### ***Réactif de Libermann-Bürchard***

C'est un mélange de trois solvants : EtOH, (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O et H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Pour réaliser ce test, on prépare une première solution composée d'un mélange à volume égal de (5 mL) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré et de (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O. À cette solution, on rajoute 50 mL d'éthanol absolu. La préparation est effectuée à froid. Après pulvérisation, la plaque chromatographique est chauffée à 100°C pendant une dizaine de minutes. Ce test permet la mise en évidence des triterpènes de types oléanane, ursane, lupane ainsi que des stéroïdes.

Selon le type de composé testé, on observe des taches de colorations diverses à la lumière UV à 365 nm :

- Coloration rouge pour les triterpènes de type oléanane et ursane ;
- Coloration jaune orangée pour les triterpènes de type lupane ;
- Coloration jaune /jaune-vert pour les stéroïdes.

### ***Réactif de Neu***

C'est un mélange de deux solutions : une solution méthanolique de diphenylboryloxyéthylamine (solution 1) et une autre solution éthanolique de polyéthylène glycol à 5%, m/v (solution 2).

On dissout 1,5 g de diphenylboryloxyéthylamine et 2,5g de polyéthylène glycol respectivement dans 50 mL de MeOH et 50 mL de EtOH. Le mélange des solutions est conservé à 4°C. La réaction est positive lorsqu'on observe après pulvérisation, une fluorescence de différentes couleurs à 365 nm.

Après pulvérisation et séchage, les flavonoïdes sont révélés sous forme de tâches jaune et marron immédiatement ou après 15 min dans le visible. Sous observation à l'UV à 365 nm, on note l'apparition d'intenses fluorescences orange, rouge, jaune, bleue et verte caractéristiques des flavonoïdes.

### ***Réactif de l'acétate de plomb basique***

L'acétate de plomb basique ( $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ ) à 5%, (m/v) est obtenue en dissolvant 5 g d'acétate de plomb basique dans 100 ml d' $\text{H}_2\text{O}$ . Les coumarines se révèlent en jaune au visible et en vert et bleu à l'UV après pulvérisation de la chromatoplaque avec ce révélateur.

### ***Réactif de chlorure de fer(III) ( $\text{FeCl}_3$ )***

1g de  $\text{FeCl}_3$  dans 50 mL d' $\text{H}_2\text{O}$ . Pour la détection des tanins, une solution de  $\text{FeCl}_3$  2% (m/v) est vaporisée sur la plaque chromatographique. Sous visualisation dans le visible, les tanins apparaissent sous forme de spots gris.

### ***Réactif de KOH***

La solution méthanolique de KOH (5%, m/v) (1g de KOH dissout dans 20ml de MeOH) est vaporisée sur la plaque. Les coumarines apparaissent sous forme de taches jaunes dans le visible. Sous UV à 366nm, la coloration jaune s'intensifie ou se diversifie en bleu et vert. Les colorations vertes et bleues sous UV attestent la présence des coumarines.

### ***Réactif d'ammoniac***

Soumettre la plaque chromatographique à la vapeur d'ammoniac (25%) pendant 10 mn.

**Coumarines** : les spots des plaques chromatographiques sont visualisés avant et après révélation aux vapeurs d'ammoniac. Selon les différentes colorations observées nous pouvons identifier plusieurs types de coumarines.

**Flavonoïdes** : Dans le visible et sous UV à 366 nm les colorations vertes correspondent aux flavonoïdes.

**Anthocyanes** : Sous UV à 366 nm, les colorations bleues ou violettes indiquent la présence.

### ***Réactif de Chlorure d'aluminium***

Le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$  à 1% (m/v) est préparé en prélevant 0,5g d' $\text{AlCl}_3$  dans 100ml d'EtOH et conservé à 4°C. La plaque est pulvérisée avec la solution d' $\text{AlCl}_3$  et séchée. L'observation est faite sous UV à 365 nm. Une fluorescence allant du bleu au brun observée atteste la présence des flavonoïdes. Dans le visible, on observe des spots jaunes.

### ***Réactif de Dragendorff***

Le réactif de Dragendorff se prépare à partir des solutions **1** et **2** suivantes :

1. 0,85 g de nitrate de bismuth dans 40 mL d'acide acétique.

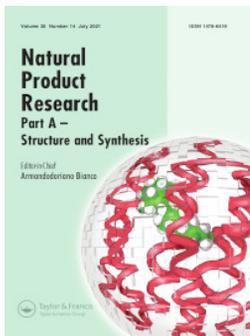
2. 8 g d'iodure de potassium dans 20 mL d'eau.

Mélanger les solutions **1** et **2** : (5 mL de **1** et 5 mL de **2**) et y ajouter (100 mL d'eau + 20 mL d'acide acétique) et laisser au repos pendant 72h. Après pulvérisation, toutes les colorations orange ou rouge observées dans le visible correspondent aux alcaloïdes.

### ***Réactif de DPPH***

La solution de DPPH de pulvérisation est obtenue en effectuant un mélange de 2 mg de DPPH solide dans 1 ml de méthanol.

## PUBLICATIONS ISSUES DE LA THÈSE



## Chemical characterisation of essential oils of leaves of two Solanaceae: *Solanum rugosum* and *Solanum erianthum* from Côte d'Ivoire

Toffe Alexis Kouao, Bosson Antoine Kouame, Zana A. Ouattara, Janat Akhanovna Mamyrbekova-Bekro, Ange Bighelli, Felix Tomi & Yves-Alain Bekro

To cite this article: Toffe Alexis Kouao, Bosson Antoine Kouame, Zana A. Ouattara, Janat Akhanovna Mamyrbekova-Bekro, Ange Bighelli, Felix Tomi & Yves-Alain Bekro (2021) Chemical characterisation of essential oils of leaves of two Solanaceae: *Solanum rugosum* and *Solanum erianthum* from Côte d'Ivoire, *Natural Product Research*, 35:14, 2420-2423, DOI: [10.1080/14786419.2019.1672064](https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1672064)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1672064>

 View supplementary material 

 Published online: 03 Oct 2019.

 Submit your article to this journal 

 Article views: 72

 View related articles 

 View Crossmark data 

 Citing articles: 1 View citing articles 

SHORT COMMUNICATION



## Chemical characterisation of essential oils of leaves of two Solanaceae: *Solanum rugosum* and *Solanum erianthum* from Côte d'Ivoire

Toffe Alexis Kouao<sup>a</sup>, Bosson Antoine Kouame<sup>a</sup>, Zana A. Ouattara<sup>a</sup>, Janat Akhanovna Mamyrbekova-Bekro<sup>a</sup>, Ange Bighelli<sup>b</sup>, Felix Tomi<sup>b</sup> and Yves-Alain Bekro<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratoire de Chimie BioOrganique et de Substances Naturelles, UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire; <sup>b</sup>UMR 6134 SPE, Equipe Chimie et Biomasse, Université de Corse-CNRS, Ajaccio, France

### ABSTRACT

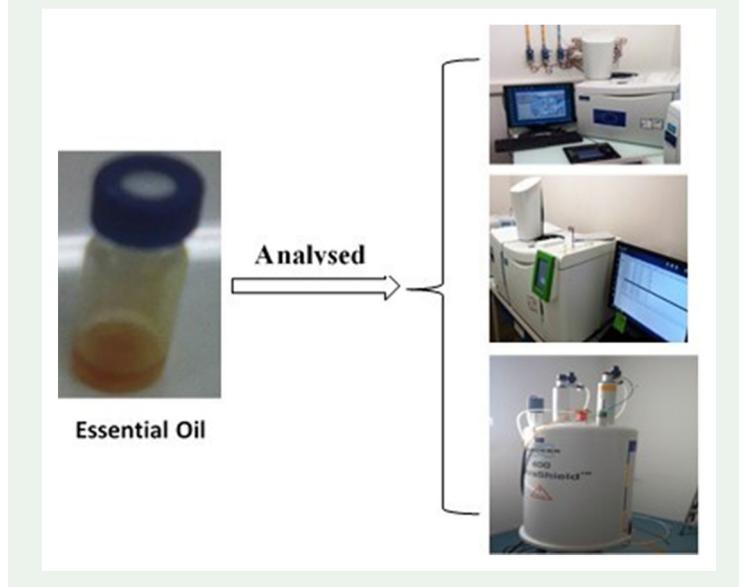
This study made it possible to characterise by GC (in combination with retention indices), GC-MS and <sup>13</sup>C NMR, the chemical composition of the essential oils from *Solanum rugosum* and *Solanum erianthum*, two Solanaceae of the Ivorian flora. The two essential oils were characterised by a very high proportion of sesquiterpenes. Specifically, the essential oil of *S. rugosum* was dominated by (E)- $\beta$ -caryophyllene (33.7%),  $\beta$ -elemol (19.8%) and germacrene D (14.4%), while that of *S. erianthum* was mainly composed of  $\alpha$ -humulene (38.6%),  $\beta$ -elemol (17.8%) and (E)- $\beta$ -caryophyllene (16.7%). The chemical composition of *Solanum rugosum* is described here for the first time.

### ARTICLE HISTORY

Received 24 June 2019  
Accepted 8 September 2019

### KEYWORDS

Essential oil composition; *Solanum rugosum*; *Solanum erianthum*; hydrodistillation; GC-MS; <sup>13</sup>C NMR



CONTACT Bosson Antoine Kouame  [abossonk@gmail.com](mailto:abossonk@gmail.com)

 Supplemental data for this article can be accessed at <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1672064>.

© 2019 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

## 1. Introduction

*Solanum rugosum* Dunal and *Solanum erianthum* D. Don are two species of Solanaceae growing wild in Côte d'Ivoire on the edge of forests. Both of these herbs are used in traditional medicine in the treatment of wounds, ulcers, haemorrhoids, etc. (Sam et al. 2013; Trébissou et al. 2014; Kamagate et al. 2015). The literature reports studies on the phytochemistry of *Solanum* genus (Aliero et al. 2006; Karlsson et al. 2009; Barbosa et al. 2012; Essien et al. 2012; Keawsa-Ard et al. 2012; Radhika et al. 2012; Ogunwande et al. 2013; Satyal et al. 2015; Peng et al. 2017).

In the course of our on-going work on the characterisation of aromatic plants of Côte d'Ivoire through the chemical composition of their essential oils, the aim of the present work was to determine the composition of essential oils of two Solanaceae: *Solanum rugosum* and *Solanum erianthum*, growing wild in Côte d'Ivoire.

## 2. Results and discussion

*S. rugosum* and *S. erianthum* gave oils with yield of 0.02% and 0.03% (w/w, vs. fresh material), respectively. The oil obtained from *S. rugosum* analysed by GC(RI), GC-MS and <sup>13</sup>C NMR, led to the identification of 22 compounds accounting for 93.5% to the global composition (Supplementary material Table S1). The essential oil phyto-compounds were dominated by sesquiterpenes (86.9%) followed by a low rate of presence of oxygenated monoterpenes (2.9%) and diterpenes (2.5%). The major components were: (E)- $\beta$ -caryophyllene (33.7%),  $\beta$ -elemol (19.8%) and germacrene D (14.4%). Some constituents were present in appreciable amount: guaiol (4.4%), (E)-phytol (2.5%),  $\alpha$ -humulene (2.5%),  $\gamma$ -eudesmol (2.2%),  $\alpha$ -eudesmol (2.4%) and linalool (2.0%).

The combination of GC(RI), GC-MS and <sup>13</sup>C NMR applied to *S. erianthum* oil allowed to identification of nineteen compounds accounting for 93.8% of the total composition (Supplementary material Table S1). *S. erianthum* produced a sesquiterpene-rich oil (91.7%). Diterpenes were poorly represented (1%) as well as non-terpenic linear compounds (0.6%). The main components were  $\alpha$ -humulene (38.6%),  $\beta$ -elemol (17.8%); (E)- $\beta$ -caryophyllene (16.7%). Besides these compounds, other were present in relatively appreciable content: guaiol (4.4%), germacrene D (3.1%),  $\gamma$ -eudesmol (2.3%) and  $\alpha$ -eudesmol (2.2%).

Despite the fact that these two oils were dominated by sesquiterpenes, 86.9% in *S. rugosum* oil and 91.7% in *S. erianthum* oil, several differences concerning the major compounds were present; (i)  $\alpha$ -humulene (38.6%, predominant compound in *S. erianthum* and only 2.5% in *S. rugosum*), (ii) (E)- $\beta$ -caryophyllene (33.7% in *S. rugosum* vs. 16.7% in *S. erianthum*) and (iii) germacrene D (14.4% in *S. rugosum* vs 3.1% in *S. erianthum*).  $\beta$ -elemol (around 19%) and guaiol (4.4%) were reported in both oils in the same proportion. Monoterpenes were poorly represented in *S. rugosum* oil (2.9%), and absent in *S. erianthum*. (E)-phytol, a usual diterpene, was detected in *S. rugosum* (2.5%) and in *S. erianthum* (1%).

The chemical composition of essential oils of Ivorian species of *S. rugosum* and *S. erianthum*, investigated in this study differed drastically from those of oils extracted from several species of the *Solanum* genus. Indeed, the leaf oil from

Nigerian *S. erianthum* exhibited a high amount of monoterpenes (86.3%) such as  $\alpha$ -terpinolene (17.8%),  $\alpha$ -phellandrene (17.5%) and *p*-cymene (15.7%) (Essien et al. 2012). The chemical composition of *S. torvum* leaf oil which was rich in phenylpropanoids [(Z)-asarone, 30.1%, (E)-asarone, 36.4%]. The oil of *S. torvum* were composed of various compounds including  $\beta$ -vetivenene (55.4%) and 1,10-di-*epi*-cubenol (25.6%), for stems; dillapiole (55.3%), methyl salicylate (19.5%) and santalolone (16.1%), in fruits; dillapiole (48%), cyclocolorenone (12.6%) and nerol (12%), in roots (Barbosa et al. 2012). The oils obtained from the unripe berries of *S. pseudocapsicum* and leaves of *S. xanthocarpum* were represented by alkanes (decane, 41.06% and undecane 29.26%) (Aliero et al. 2006) and (heptacosane 20.0%) (Satyal et al. 2015), respectively. *S. xanthocarpum* oils, exhibited terpenic and non terpenic compounds in fruit oil (benzyl benzoate, 21.7% and (E,E)-geranylinalool, 12.6%); root oil (solavetivone, 22.9%; palmitic acid, 21.0% and linoleic acid, 8.2%) and stem oil (palmitic acid, 28.9%; heptacosane, 12.8% and linoleic acid, 10.1%) (Satyal et al. 2015), absent from our oils. Finally, the essential oils of the leaves from *S. spirale* (Keawsa-Ard et al. 2012) and *S. macranthum* (Essien et al. 2012) were dominated by diterpenes [(E)-phytol, 48.10% and 29.0%, respectively]. However,  $\alpha$ -humulene and (E)- $\beta$ -caryophyllene, main components in the oil of Ivorian species of *S. erianthum* (38.6 and 16.7%, respectively) were the major compounds of Nigerian *S. erianthum* oil, 46.6% and 20.6%, respectively (Ogunwande et al. 2013).

### 3. Conclusion

This study allowed to describe for the first time the chemical composition of (i) *S. rugosum* and (ii) *S. erianthum* from Côte d'Ivoire. Both essential oils were sesquiterpene-rich oils: (E)- $\beta$ -caryophyllene,  $\beta$ -elemol and germacrene D in *S. rugosum*; and  $\alpha$ -humulene,  $\beta$ -elemol and (E)- $\beta$ -caryophyllene in *S. erianthum*.

### Acknowledgements

The authors thank the team 'Chimie-Biomasse' of 'Université de Corse Pascal Paoli', UMR-CNRS 6134 SPE (France) for technical assistance.

### Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author.

### References

- Aliero AA, Griesson DS, Afolayan AJ. 2006. Chemical composition of the essential oil from *Solanum pseudocapsicum*. Pak J Biol Sci. 9:1175–1177.
- Barbosa QPS, Camara C, Silva T, Ramos C. 2012. Chemical constituents of essential oils from *Solanum torvum* leaves, stems, fruits, and roots. Chem Nat Compd. 48(4):698–699.
- Essien EE, Ogunwande IA, Setzer WN, Ekundayo O. 2012. Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxicity studies on *Solanum erianthum* and *Solanum macranthum* essential oil. Biol Pharm. 50(4):474–480.

- Kamagate M, Bamba KD, Die-Kacou H, Ake-Assi L, Yavo J, Daubret P, Haramburu F. 2015. Pharmacovigilance of medicinal plants: contribution of the herbalists in Abidjan. *Int J Phytopharmacol.* 6:66–75.
- Karlsson MF, Birgersson G, Prado AMC, Bosa F, Bengtsson M, Witzgall P. 2009. Plant odor analysis of potato: response of Guatemalan moth to above-and below-ground potato volatiles. *J Agric Food Chem.* 57(13):5903–5909.
- Keawsa-Ard S, Liawruangrath B, Liawruangrath S, Teerawutgulrag A, Pyne SG. 2012. Chemical constituents and antioxidant and biological activities of the essential oil from leaves of *Solanum spirale*. *Nat Prod Commun.* 7(7):955–958.
- Ogunwande IA, Avoseh NO, Flamini G, Hassan AS, Ogunmoye AO, Ogunsanwo AO, Yusuf KO, Kelechi AO, Tiamiyu ZA, Tabowei GO. 2013. Essential oils from the leaves of six medicinal plants of Nigeria. *Nat Prod Commun.* 8(2):243–248.
- Peng S, Li H, Yang D, Bai B, Zhu L, Liu Q, Shen J, Zhao Z. 2017. Solaneroside A, an unusual 14,15-dinor-cyclophytane glucoside from the leaves of *Solanum erianthum*. *Nat Prod Res.* 31(7):810–816.
- Radhika M, Ramakrishnaiah H, Krishna V, Naveen KN. 2012. Chemical composition of the essential oil from the fruits of *Solanum erianthum*. *J Essent Oil Bear Plants.* 15:387–391.
- Sam GH, Adu F, Annan K. 2013. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diarrhoea and skin ulcer in the Brong Ahafo region of Ghana. *J Med Plants Res.* 7: 3280–3285.
- Satyal P, Maharjan S, Setzer WN. 2015. Volatile constituents from the leaves, fruits (berries), stems and roots of *Solanum xanthocarpum* from Nepal. *Nat Prod Commun.* 10(2):361–364.
- Trébissou JND, Bla K, Yapo AF, Yapi HF, Djaman A. 2014. Therapeuticsurvey on traditional treatment of Buruli ulcer in Côte d'Ivoire. *J Microbiol. Biotechnol. Res.* 4:52–56.

## SUPPLEMENTARY MATERIAL

### Chemical characterisation of essential oils of leaves of two Solanaceae: *Solanum rugosum* and *Solanum erianthum* from Côte d'Ivoire.

Toffe Alexis Kouao<sup>a</sup>, Bosson Antoine Kouame\*<sup>a</sup>, Zana A. Ouattara<sup>a</sup>, Janat Akhanovna Mamyrbekova-Bekro<sup>a</sup>, Ange Bighelli<sup>b</sup>, Felix Tomi<sup>b</sup> and Yves-Alain Bekro<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratoire de Chimie BioOrganique et de Substances Naturelles, UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire, <sup>b</sup>UMR 6134 SPE, Equipe Chimie et Biomasse, Université de Corse-CNRS, Route des Sanguinaires, 20000 Ajaccio, France.

\*Corresponding author. Email : abossonk@gmail.com

**Abstract:** This study made it possible to characterise by GC (in combination with retention indices), GC-MS and <sup>13</sup>C NMR, the chemical composition of the essential oils from *Solanum rugosum* and *Solanum erianthum*, two Solanaceae of the Ivorian flora. The two essential oils were characterised by a very high proportion of sesquiterpenes. Specifically, the essential oil of *S. rugosum* was dominated by (E)-β-caryophyllene (33.7%), β-elemol (19.8%) and germacrene D (14.4%), while that of *S. erianthum* was mainly composed of α-humulene (38.6%), β-elemol (17.8%) and (E)-β-caryophyllene (16.7%). The chemical composition of *Solanum rugosum* is described here for the first time.

**Keywords:** Essential oil composition; *Solanum rugosum*; *Solanum erianthum*; hydrodistillation; GC-MS; <sup>13</sup>C NMR

## **Experimental**

### ***Plant material***

Leaves of *S. rugosum* and *S. erianthum* were harvested in the Abidjan district respectively at Abobo and Adjamé in the period from July to September 2017 and then dried under permanent cooling at a temperature of 18°C for three days. The identification was made by the botanists of Université Nangui Abrogoua and CNF (Centre National de Floristique) of Université Félix Houphouët-Boigny with references LAA 10504 and LAA 10503.

### ***Hydrodistillation***

The extraction of the essential oils was made from a Clevenger type apparatus during 4 hours. Each oil was dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and then conserved in refrigerator (4°C).

### ***Gas chromatography (GC) analyses***

The extracted essential oils were analysed by means of a gas chromatograph (Perkin-Elmer type Clarus 500), equipped with a divider injector, with two columns of apolar and polar silica of 50 x 0.22 mm. internal diameter, 0.25 µm thick of the film, respectively lined with polydimethylsiloxane (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OSi) n and polyethylene glycol, and two flame ionization detectors. The operating conditions are as follows: the carrier gas is hydrogen; the pressure at the top of the column is 20 psi; the temperature of the injector and detectors is 250 ° C. The temperature programming is 60 ° up to 220 ° C at a rate of 2 ° C / min, with a bearing of 20 min at 220 ° C; the injection was done by divider mode with a 1/60 ratio. The quantity of sample injected is 0.5 µL from a solution containing 50 µl of HE in 350 µl of CDCl<sub>3</sub>.

### ***Gas chromatography coupled with mass spectroscopy (GC-MS)***

The analyses were carried out using a Perkin Elmer autosystem XL chromatograph, equipped with an automatic injector and an apolar column (Rtx-1) (internal diameter: 60 mx 0.22 mm, film thickness 0, 25 µm), coupled to a Perkin Elmer TurboMass mass detector. The carrier gas is hydrogen (1 mL / min) and exerts a column pressure at 25 psi. The temperature of the injector is 250 ° C and that of the detector 280 ° C. The programming of the temperature consists of an elevation of 60 ° C to 230 ° C, at 2 ° C / min, then a 45-minute plateau at 230 ° C. The injection was done by split mode with a division ratio of 1/50. The quantity of sample injected is 0.2 µL. The mass spectra are obtained by means of a quadrupole filter detector and the ionization is made by electronic impact by an electron beam of 70 eV.

### ***Nuclear Magnetic Resonance (NMR) analyses***

The NMR spectra were carried out using a Bruker 400 AVANCE spectrometer operating at 100.623 MHz for the  $^{13}\text{C}$ . The spectra were recorded with a 5 mm probe. The solvent is  $\text{CDCl}_3$  supplemented with tetramethylsilane (TMS). The chemical shifts are given in ppm ( $\delta$ ) with respect to the TMS taken as internal reference.

### ***Identification of individual constituents***

Component identification was based on: (a) comparison of their GC retention indices (RI) on polar and apolar columns determined relative to the retention times of a series of *n*-alkanes (C7-C28) with linear interpolation (Target Compounds software from Perkin Elmer) with those of authentic compounds or literature data (König et al. 2001), (b) on computer matching with a laboratory-made and commercial mass spectral libraries and comparison of spectra with literature data (McLafferty and Stauffer 1994; Adams 2001), (c) on comparison of the signals in the  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of essential oils with those of reference spectra compiled in the laboratory spectral library with the help of laboratory-developed software (Tomi et al. 1995; Rezzi et al. 2002; Ouattara et al. 2014). In the investigated samples, individual components were identified by  $^{13}\text{C}$ -NMR at contents as low as 0.4 - 0.5%.

### **References**

- Adams RP. 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing Co, Carol Stream.
- König WA, Hochmuth D H, Joulain D. 2001. Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils, Library of MassFinder 2.1. Institute of Organic Chemistry, Hamburg.
- McLafferty W, Stauffer DB. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. Mass Spectrometry Library Search System Bench-Top/PBM, Version 3.10d. Palisade, Newfield.
- Ouattara ZA, Boti JB, Ahibo AC, Sutour S, Casanova J, Tomi F, Bighelli A. 2014. The key role of  $^{13}\text{C}$  NMR analysis in the identification of individual components of *Polyalthia longifolia* leaf oil. Flavour and Fragrance Journal. 29: 371-379.
- Rezzi S, Bighelli A, Castola V, Casanova J. 2002. Direct identification and quantitative determination of acidic and neutral diterpenes using  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy. Applied Spectroscopy. 56: 312-317.

Tomi F, Bradesi P, Bighelli A, Casanova J. 1995. Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance Analysis*. 1: 25-34.

**Table S1.** Chemical composition of *S. rugosum* and *S. erianthum* leaf essential oil

N°	Compounds	RIa	RIp	% <sup>a</sup> <i>S.rugosum</i>	% <sup>a</sup> <i>S.erianthum</i>	Identification
1	Hexanal	771	1088	-	0.3	RI, MS
2	(Z)-Hex-3-en-1-ol	833	1386	-	0.3	RI, MS
3	Linalool	1083	1549	2.0	-	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
4	$\alpha$ -Terpineol	1171	1698	0.3	-	RI, MS
5	Safranal	1173	1648	0.2	-	RI, MS
6	Geraniol	1233	1849	0.4	-	RI, MS
7	(E)- $\beta$ -Damascenone	1361	1823	0.4	-	RI, MS
8	$\beta$ -Elemene	1386	1592	1.3	1.1	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
9	(E)- $\beta$ -Caryophyllene	1417	1599	33.7	16.7	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
10	$\alpha$ -Humulene	1448	1669	2.5	38.6	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
11	$\beta$ -Ionone	1462	1939	0.8	0.5	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
12	Germacrene D	1474	1710	14.4	3.1	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
13	Bicyclogermacrene	1488	1733	1.7	0.2	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
14	$\gamma$ -Cadinene	1504	1746	0.2	-	RI, MS
15	$\delta$ -Cadinene	1512	1757	0.5	0.9	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
16	$\beta$ -Elemol	1534	2081	19.8	17.8	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
17	Caryophyllene oxide	1567	1980	0.7	0.4	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
18	Guaiol	1583	2089	4.4	4.4	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
19	Humulene oxide II	1592	2037	-	1.0	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
20	$\gamma$ -Eudesmol	1616	2167	2.2	2.3	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
21	$\tau$ -Cadinol	1623	2158	-	0.3	RI, MS
22	$\beta$ -Eudesmol	1632	2219	1.9	1.7	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
23	$\alpha$ -Eudesmol	1637	2228	2.4	2.2	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
24	$\alpha$ -Cadinol	1639	2230	0.3	-	RI, MS
25	Bulnesol	1650	2201	0.9	1.0	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
26	(E)-Phytol	2098	2612	2.5	1.0	RI, MS, <sup>13</sup> C NMR
	Total			93.5	93.8	
	Oxygenated monoterpenes			2.9	-	
	Sesquiterpenes hydrocarbons			54.3	60.6	
	Oxygenated sesquiterpenes			32.6	31.1	
	Diterpenes			2.5	1.0	
	Other			1.2	1.1	

The order of elution and the percentages are given on apolar column (BP-1)

RIa and RIp: retention indices measured on apolar (BP-1) and polar (BP-20) columns, respectively.



ISSN: 0975-833X

Available online at <http://www.ijournalcra.com>

International Journal of Current Research  
Vol. 12, Issue, 08, pp.13333-13339, August, 2020

DOI: <https://doi.org/10.24941/ijcr.39481.08.2020>

INTERNATIONAL JOURNAL  
OF CURRENT RESEARCH

## RESEARCH ARTICLE

### PHYTOCHEMICAL ANALYSIS, EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *SOLANUM RUGOSUM* DUNAL FROM CÔTE D'IVOIRE

KOUAO Toffe Alexis, \*KOUAME Bosson Antoine, ATSAIN Marie Rosine, KOUASSI Kouadio Christian, MAMYRBEKOVA-BEKRO Janat Akhanovna and BEKRO Yves-Alain

Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles, UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua

#### ARTICLE INFO

##### Article History:

Received 05<sup>th</sup> May, 2020

Received in revised form

27<sup>th</sup> June, 2020

Accepted 14<sup>th</sup> July, 2020

Published online 30<sup>th</sup> August, 2020

##### Key Words:

Phytochemistry, antioxidant, antibacterial, *Solanum rugosum*, Côte d'Ivoire.

#### ABSTRACT

This research is mainly focused on *Solanum rugosum* which is a well-known Solanaceae found in Côte d'Ivoire. The goal of the study was to investigate the chemical composition of the crude extract; total phenolic, flavonoid compounds, antioxidant and antibacterial activities of *S. rugosum* from Côte d'Ivoire. It was found that Ca, K, P, Cl, S, Si, Pb, Na, Fe, Al, Cu, Zn, Va, Se and Mg are the major minerals imbedded in the plant. The phytochemical screening using thin layer chromatography (TLC) carried out on the extracts of the leaves, stem bark and the roots bark has highlighted the presence of various classes of secondary phytochemicals (coumarins, flavonoids, alkaloids, sterols, tannins and terpenes). The crude hydromethanolic extracts has shown a specific potential by reducing iron and trapping DPPH free radical mainly in the leaves of *S. rugosum*. The extracts of the leaves showed a significant action against *Staphylococcus aureus* ATCC, *Staphylococcus aureus* 348 C / 19 CNRa and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC.

Copyright © 2020, KOUAO Toffe Alexis et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: KOUAO Toffe Alexis, KOUAME Bosson Antoine, ATSAIN Marie Rosine, KOUASSI Kouadio Christian et al. 2020. "Phytochemical analysis, evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of *Solanum rugosum* Dunal from Côte d'Ivoire", *International Journal of Current Research*, 12, (08), 13333-13339.

## INTRODUCTION

Côte d'Ivoire, due to its geographical location, has an abundant, rich and varied flora in which many medicinal species are found (Abderrahim, 2011). The efficiency of the plants are largely due to their content in secondary metabolites. *Solanum rugosum* is largely spreaded in Côte d'Ivoire, generally it grows in the brush and can easily be found at the edge of the forests. *Solanum rugosum* is a shrub or small tree with spreading branches of 1 to 5 meters high. The stem is yellowish brown, cylindrical felting with a short bole up to 10 cm in diameter. The flowers are hermaphrodite yellowish white in colour and the leaves are short-petiole, simple, alternate, with stipules. The fruits are spherical in diameter, varying between 9 and 11 mm and generally coloured in green (Anonymous 1; Agra et al., 2009). This plant is used in folk medicine and the leaves are used in the treatment of skin wounds and are inedible (Kamagate et al., 2015). The powder of the leaves obtained after grinding and drying for two weeks in the shade is commonly used to treat buruli ulcer, haemorrhoids (Trebiissou et al., 2014) and also as contraceptive in Côte d'Ivoire (field survey). Compounds isolated from the fruits of *Solanum rugosum* have shown good antifungal activity (Pinto et al., 2011) and molluscicide (Silva et al., 2008).

Regarding the chemical composition of *Solanum rugosum*; some glycoalkaloids (solanonin and solamarginine) were isolated from the fruits, whereas in the leaves are rich in flavonoids (tiliroside, 7-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl, kaempferol-3-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1-6)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl], proline (amino acid) and eicosanoic acid (Pinto et al., 2011). The essential oil extracted from the leaves was mainly dominated by (E)- $\beta$ -caryophyllene (33.7%),  $\beta$ -elemol (19.8%) and gemacrene D (14.4%) (Kouao et al., 2019). The aim of the present work was a scientific contribution in order to evaluate the chemical composition of *Solanum rugosum*, its antioxidant potential and antibacterial activity, as very few studies have been undertaken on this species.

## MATERIALS AND METHODS

**Plant material:** The plant material consists of leaves, stem bark and root bark of *Solanum rugosum* harvested in the month of July 2018 in the district of Abidjan. The identification was made by the botanists of Université Nangui Abrogoua and CNF (Centre National de Floristique) of Université Félix Houphouët-Boigny with references LAA 10504.

### Methods

**Mineral analysis by X-ray Fluorescence Spectrometry (XRF):** The dry material was incinerated in an electric

\*Corresponding author: KOUAME Bosson Antoine  
Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles,  
UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua.

ovenbranded Nabertherm More thanheart at 350 ° C. The ash obtained (4g) was intimately mixed with 1 g of binder powder to make a pellet. It was then analysed with an X-ray fluorescence spectrometer (AMETEK spectro Xepos. ED2000) coupled a computer which makes it possible to process the data using a specific software (Oxford Xpert ease Windows).

**Preparation of the different extracts:** 10 g of powder from each organ were macerated in 125 ml of MeOH (80%) with continuous stirring for 24 h. After filtration through Büchner, the macerations obtained were combined and then evaporated with a rotary evaporator. The crude hydromethanolic extracts were subsequently used for the dosage, antioxidant, biological activity and for the preparation of all the selective extracts (4 × 25 ml of hexane, chloroform, ethyl acetate and n-butanol). Afterwards, the different organic fractions were concentrated with a rotary evaporator under a reduced pressure and then used for all the phytochemical tests.

**Qualitative Test:** The phytochemical screening carried out by thin layer chromatography (TLC) of the selective extracts was carried out to reveal their chemical composition. The eluents used were; Hexane extract: Hexane / AcOEt (5.5 / 1.5; v / v) for the leaves and Hexane / AcOEt (5/3; v / v) for the bark of stems and roots. For the chloroformic extract, it was used: CHCl<sub>3</sub> / EtOH / NH<sub>3</sub> (5/1 / 0.1; v / v / v); Ethyl acetate extract: AcOH / CHCl<sub>3</sub> / EtOH / H<sub>2</sub>O / AcOEt (1.25 / 3 / 0.25 / 0.25 / 2; v / v / v / v / v), finally for n-butanol extract: AcOH / CHCl<sub>3</sub> / EtOH / H<sub>2</sub>O / AcOEt (4 / 3.75 / 0.5 / 0.5 / 4; v / v / v / v / v). Godin (sterols, terpenes and flavonoids); AlCl<sub>3</sub> 1% m/v (flavonoids); KOH 5% m/v (coumarins, anthracenes); FeCl<sub>3</sub> 2% m/v (tannins, phenolic acids); Liebermann-Bürchard (sterols and terpenes); basic lead acetate 5% m/v (coumarins); NH<sub>3</sub> (coumarins, anthocyanins, flavonoids); Neu (flavonoids), Dragendorff (alkaloids) were the reagents used to identify the different compounds. The interpretation of the obtained results was possible based on previous works carried out by Kabran, 2014; Konan, 2010; N'gaman, 2013; N'guessan, *et al.*, 2011; Lagnika, 2005; Ekoumou, 2003; Georgievskii, *et al.*, 1990.

**Determination of total polyphenols:** The total phenolic content was determined according to the Folin-Ciocalteu colorimetric method (Singleton *et al.*, 1999; Heilerová *et al.*, 2003) modified by Konan, 2010. To 1 ml of each extract, were added 1.5 ml of Na<sub>2</sub>CO (17%, m / v) and 0.5 ml of Folin-Ciocalteu reagent (0.5N). The whole solution was incubated at 37 ° C for 30 min and the absorbance read at 760 nm. The quantification of the total polyphenols was made according to a linear calibration line obtained by using a standard extract of gallic acid at different concentrations (0 to 1000 µg / ml).

The total phenolic content (Q) was calculated according to the following formula:

$$Q = (V \times C \times d) / m \text{ (en } \mu\text{g EAG/g SM)}$$

V: final volume of the extract (ml), C: concentration of the extract (µg / ml), d: dilution, m: mass of dry matter of the hydrolysed plant material (g)

**Determination of total flavonoids:** The determination of total flavonoids was carried out according to a modified method of Hariri *et al.*, (1991). In fact; 2 ml of each extract were mixed with 100 µl of Neu reagent and read at 404 nm using Quercetol

as standard. The percentage of total flavonoids was calculated in quercetol equivalent according to the following formula:

$$F (\%) = (0,05 \times A_{ext} / A_q) \times 100 \times d / C_{ext}$$

A<sub>ext</sub>: absorption of the extract, A<sub>q</sub>: absorption of quercetol, C<sub>ext</sub>: concentration of the extract (mg / ml), d: dilution

### Dosage of tannins

#### Hydrolysable tannins

In this part, the method of Dif *et al.*, 2015 was used; to 1 ml of maceration (0.4 g in 20 ml MeOH 80%), 3.5 ml of a solution of FeCl<sub>3</sub> (0.01 M in 0.001 M HCl) were added, the absorbance was read at 660 nm and the content of hydrolyzable tannins was expressed in percentage (%).

**Condensed tannins:** The determination of condensed tannins was carried out by the FeCl<sub>3</sub> method (Broadhurst and Jones, 1978; Heilmüller *et al.*, 2006). To 400 µl of each samples (0.5 mg / ml) were added 1.5 ml of the vanillin solution (4% in MeOH) and 0.8 ml of concentrated HCl. The mixture was then incubated for 15 min and the absorbance read at 500 nm. The concentrations of the condensed tannins were deduced from the calibration curve established with catechin (0-150 µg / ml); and were expressed in micrograms of catechin equivalent per milligram (µgETC/mg).

#### Evaluation the antioxidant activity by DPPH and FRAP assay

**DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical) Test:** The method used is the one of Blois (1958) with slight modifications; a mixture of ethanolic extract (1 ml) of concentrations (1 mg / ml to 0.001953 mg / ml) and 2 ml of DPPH (0.03 mg / ml) was measured at 517 nm after 30 min of incubation. The positive reference control used was ascorbic acid (vitamin C); the percentage of reduction of DPPH (PR) and the effective half-concentration (EC<sub>50</sub>) were calculated respectively according to equations (1) and (2).

$$\% \text{ reduction (PR)} = \left(1 - \frac{\text{Absorbance extract}}{\text{Absorbance contrôle}}\right) \times 100 \quad (1)$$

$$EC_{50,t} = \frac{CR_{50,t}}{[DPPH]_{t=0}} \quad (2)$$

**Test FRAP (Ferric reducing antioxidant power):** The reducing power of the samples was determined according to the FRAP method (sodium acetate (300 mM, pH = 3,6), 10 mM of TPTZ solution (2, 4,6-Tri (2-pyridyl) -s-triazine) was prepared in 40 mM HCl and FeCl<sub>3</sub> (20 mM) in a volume ratio (10: 1: 1, v / v / v) freshly prepared at 37 ° C in a water bath. 100 µl of Trolox (0,187 mM; 0,375 mM; 0,75 mM and 1,5 mM) and samples prepared at a concentration of 0,25 mg / ml were added to 3 ml of FRAP reagent. The absorbance was read at 593 nm after 4 min and the results were expressed in mM equivalent Trolox (Benzie, 1996; Gong *et al.*, 2016).

#### Antibacterial activities

**Sterility test:** The different extracts to be tested were seeded using a sterile swab on a Muller Hinton agar (MH) and subsequently incubated at 37 ° C for 24 h.

**Bacterial strains:** The strains of *Staphylococcus aureus* coded ATCC 29213 and 348C / 19 CNRa, those of *Escherichia coli* ATCC 25922 and 353UB / 19 CNRa of *Klebsiella oxytoca* 343UB / 19 CNRa and finally the strains of *Pseudomonas aeruginosa* coded ATCC 27853 and 692Ma / 19 CNRa, of Pasteur Institute of Côte d'Ivoire were used in these investigations.

**Preparation of the bacterial inoculums:** A well-isolated colony of a bacterial culture of 18 to 24 h was collected and then homogenized in 2 ml of a sterile glucose solution.

**Inoculum count:** The bacterial inoculum was homogenized and then diluted. Thus, 4 decimal dilutions from 10<sup>-1</sup> to 10<sup>-4</sup> were obtained. The initial bacterial inoculum and the four dilutions were inoculated, using a loop calibrated at 2 µl in a 5 cm long streak on an HD agar.

**Preparation of the concentration range of the extracts:** Sterile hydroalcoholic solutions of the extracts of the leaves, stem bark and root bark (200 mg / ml) were prepared. From the concentrations prepared; 5 different concentrations 100; 50; 25; 1.5; 6.25 mg / ml were obtained by a 2-fold dilution for each solution.

**Efficiency test:** The efficiency test of the extracts was carried out on 3 concentrations (200; 50 and 25 mg / ml) of the prepared solution. They were placed in wells on the top of the agars previously seeded with the different bacterial strains. A sterile distilled water solution was used as negative control. However, the antibiotics used in the treatment of pathologies linked to the tested bacteria such as; Ampicillin + Clavulanic acid (AMC), Cefotaxime (CTX), Aztreonam (ATM), Imipenem (IPM), Cefoxitin (FOX) were used as positive controls.

**Antibacterial test:** The antibacterial tests were performed according to the method of dilution in a liquid medium in sterile microplates for the determination of the antibacterial parameters of the extracts; namely the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC). 100 µl of the different concentrations of plant extract (6.25; 12.5; 25; 50; 100; 200 mg / ml) to be tested were distributed in the wells of a sterile microplate from the highest concentration to the lowest (Dosso and Faye-Kette, 2000; Koné *et al.*, 2004) as well as sterile distilled water used as control (Tc). To these amounts were added 100 µl of the bacterial inoculum. The microplate was incubated at 37 ° C for 24 h. The MIC therefore corresponds to the concentration of the first experimental well in which no disorder was visually observed. MBC corresponded to the lowest concentration of extract for which there was at most 0.01% of surviving bacteria.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Quantification of macroelements and oligo-elements:** Through the elementary chemical analysis carried out using the X-ray fluorescence spectrometer, it has been possible to quantify the mineral elements.

Table 1 summarizes the content of major elements contained in the various organs of *Solanum rugosum*, thus the stem bark contains (70.72%) followed by the leaves (70.55%) and the roots bark (66.76%). The most abundant mineral elements

were calcium and potassium respectively (15.22% and 32.66%) in the leaves, (37.18% and 24%) in the stem bark and for the roots bark (32.06%) and 21.61%). The microelements contained in *Solanum rugosum* are listed in Table 1. Root bark (3.46%) and stem bark (1.06%) had a higher proportion than the leaves (0.89%). Macro elements are essential for life, furthermore; Calcium, for instance, enters in the structure and constitution of the skeleton and the teeth (Delmi *et al.*, 1990), moreover it regulates the heart rate just like potassium (Nassira, 2014).

We noted the absence of lead in the stems and the roots barks, however; the leaves have 1.41%. This presence of lead in the leaves can come from the pollution of the nearby environment or can be explained by the fact that plants can absorb lead from the roots, but also from the aerial organs, or by the intermediary of both. The amount of lead present in various organs of a plant depends on the transport from the outside of the roots to the inside, then on its translocation from the roots to the leaves (Patra *et al.*, 2004). *Camellia sinensis* and *Gmelina arborea* have equal amounts of Fe and Mg, their content in the leaves of *Solanum rugosum* were also important. Indeed, for the leaves of *C. sinensis* and *G. arborea*; Fe and Mg were respectively (0.3% and 2.07% of mass) and (0.2% and 2% of mass) (Mossion, 2007; N'gaman, 2013) compared to those of *S. rugosum* (0.35% and 4.95% of mass). In addition to their importance as minerals in plant growth, Fe and Mg are widely used as coenzymes and are also important in the diet and health (Davidian *et al.*, 2007; Mossion, 2007; N'gaman, 2013).

**Phytochemical screening:** Phytochemical screening has made it possible to show the presence of tannins, coumarins, anthracenes, flavonoids, anthocyanins, alkaloids, sterols and terpenes in the selective extracts of the leaves, stem bark and in the root bark of the plant (Table 2). The presence of these identified secondary metabolites could justify the traditional uses of the plant and the pharmacological properties attributed. In Brazil, the work of some authors summarized in the Public Scientific Initiation book has shown the presence of alkaloids, flavonoids, terpenes, sterols, tannins and the absence of coumarins in the fruits, leaves and in the stems of *Solanum rugosum* (Anonymous 2).

However; the work of Pinto *et al.*, (2011) shows the presence of flavonoids and terpenoids in the leaves of *Solanum asperum*. We found out that some coumarins, flavonoids, tannins, terpenes, sterols and alkaloids have been detected in *Solanum* genus according to the studies performed by Singh *et al.*, 2009; LuYan *et al.*, 2011; Pinto *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2013 and Francis *et al.*, 2013.

**Determination of total phenolic:** The total phenolic compounds (Figure 1) contained in the extracts were determined from the equation of the calibration line established using different concentrations of the standard (gallic acid). The contents obtained are expressed in micrograms equivalent of gallic acid per gram of extract (µg EAG / g). Interestingly, all the studied extracts are rich in phenolic compounds, however; the leaves and the stem bark contain a significant content compared to the root bark.

**Table 1: Macroelements and oligo-elements content (in % of mass) in the organs of *S. rugosum***

Macroelements (%)										
	Ca	P	K	Cl	S	Mg	Si	Pb	Na	Total
Leaves	15.22	5.68	32.66	6.77	1.65	4.95	2.05	1.41	0.16	70.55
Stem bark	37.18	2.10	24	1.96	1.38	2.67	1.32	-	0.11	70.72
Root bark	32.06	2.37	21.61	1.96	1.94	5.33	1.15	-	0.34	66.76
Oligo-elements (%)										
	Fe	Al	Cu	Zn	Se	Va	Total			
Leaves	0.30	-	0.31	0.28	-	-	0.89			
Stem bark	0.35	0.36	0.17	0.10	-	0.11	1.09			
Root bark	1.06	0.89	0.60	0.22	0.69	-	3.46			

**Table 2: Phytochemical screening of *S. rugosum* by TLC**

Phytocompounds	<i>Solanum rugosum</i>											
	Leaves				Stem bark				Root bark			
	Hx	Chl	Ea	Bu	Hx	Chl	Ea	Bu	Hx	Chl	Ea	Bu
Alkaloids	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Anthocyanins	-	+	+	+	-	+	+	+	-	++	+	+
Anthracenes	+	+	-	-	++	+	-	-	+	-	-	-
Coumarins	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	+++	+++	++
Flavonoids	-	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	-	+++	+++	++
Phenol acids	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
Sterols	++	++	-	-	+	++	-	-	++	++	-	-
Tannins	-	+	++	+	-	+	+	+	-	+	+	+
Terpens	++	++	-	-	++	++	-	-	++	++	-	-

-: Absence; +: weak presence; ++: average presence; +++: strong presence Hx: Hexane; Chl: Chloroform; Ea: Ethyl acetate; Bu: n-Butanol.

**Table 3: Inhibition zone diameter of extracts and reference antibiotics.**

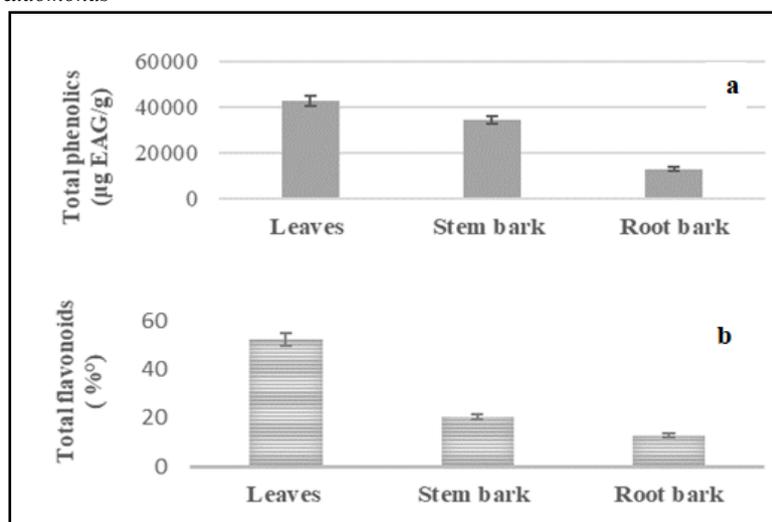
Inhibition zone diameter (mm)	Extracts at 200mg/ml											
	Leaves			Stem bark			Root bark			Antibiotics		
	Leaves	Stem bark	Root bark	FOX	AMC	CTX	ATM	IPM				
<i>S. aureus</i> ATCC	9±0	0	0	20	-	-	-	-				
<i>S. aureus</i>	9±0	0	0	6	-	-	-	-				
<i>E. coli</i> ATCC	0	0	0	-	21	28	32	-				
<i>E. coli</i>	0	0	0	-	0	0	0	-				
<i>K. oxytoca</i>	0	0	0	-	6	8	0	-				
<i>P. aeruginosa</i> ATCC	9.33±0	0	0	-	-	-	-	27				
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	-	-	-	-	10				

*S*: *Staphylococcus*; *E*: *Escherichia coli*; *K*: *Klebsiella*; *P*: *Pseudomonas*; AMC: Ampicillin + clavulanic acid; CTX: Cefotaxime; ATM: Aztreonam; IPM: Imipenem; FOX: Cefoxitin

**Table 4: Antibacterial parameters of *S. rugosum* leaves**

Strains	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MBC/MIC	Interpretation
<i>S. aureus</i> ATCC	25	25	1	Bactericide
<i>Aureus</i>	25	50	2	Bactericide
<i>P. aeruginosa</i> ATCC	50	100	2	Bactericide

*S*: *Staphylococcus*; *P*: *Pseudomonas*

**Figure 1. Content of total phenolics (a) and flavonoids (b) in the various organs of *S. rugosum***

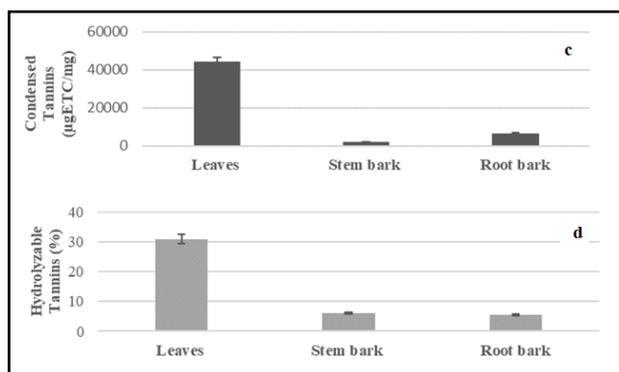


Figure 2: Content of condensed (c) and hydrolyzable (d) tannins in *S. rugosum*

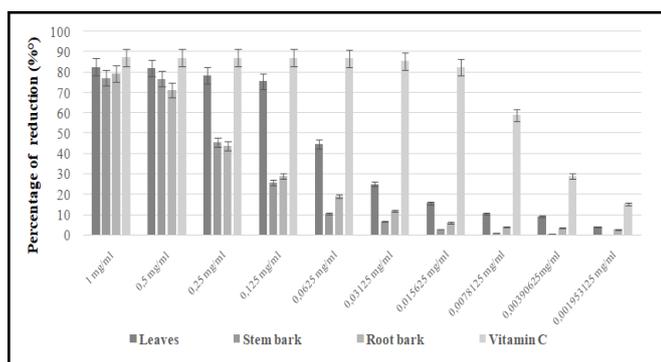


Figure 3: DPPH reduction percentages of extracts and vitamin C

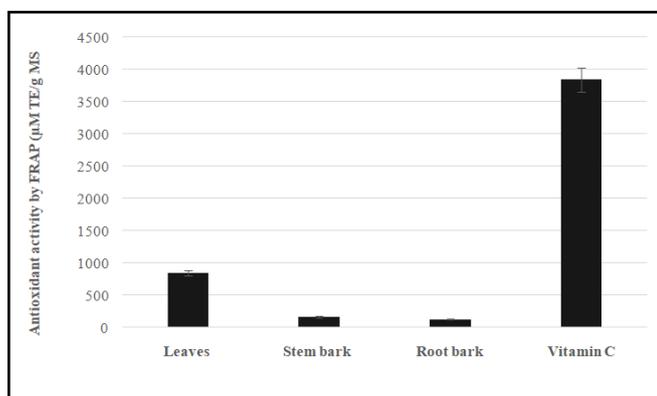


Figure 4: FRAP antioxidant profiles (µM TE / g MS) of extracts and vitamin C

**Determination of total flavonoids:** The results of the quantitative analysis of flavonoids in the organs of *S. rugosum*, showed the notable presence of flavonoids in variable proportions (Figure 1). The contents of total flavonoids were also higher in the leaves than in the bark of stems and the roots. This result is in accordance with the chromatograms of the selective extracts obtained from the crude hydromethanolic extracts. It appears that several molecular fingerprints of flavonoids had been detected in the chloroform, ethyl acetate and n-butanol extracts. The findings are in accordance with those of Gelhin *et al.*, 2006; they concluded that, plants synthesize more flavonoids for their protection when they are exposed to environmental aggressions, such as geographic and climatic conditions. The studied plant was harvested in the district of Abidjan which is regularly under variable climatic conditions throughout the year.

**Dosage of tannins:** The contents of hydrolyzable and condensed tannins were determined in the *S. rugosum* organs; the amount of condensed tannins was determined in µg EC / mg of extract from the catechin calibration line while the content of hydrolyzable tannins was expressed in percentage. The results obtained are illustrated in the histograms (Figure 2). The extracts are mostly rich in condensed tannins than hydrolysable tannins and the leaves have remarkable contents than the other organs.

#### Antioxidant evaluation

**DPPH test:** The percentage of reduction of the samples reflects their capacity to reduce the DPPH<sup>•</sup> radical; Figure 3 shows us that all extracts have a smaller reduction percentage than that of vitamin C taken as a reference. The percentage of reduction in DPPH<sup>•</sup> varies according to the concentration and according to the plant organs. The leaves have a better capacity to reduce DPPH<sup>•</sup> radical compared to the other organs. This observed anti-free radical action could be explained by the presence of the identified bioactive compounds. The works of Lakshmidevi *et al.*, (2016); Sujatha *et al.*, (2013) show that the antioxidant activity of the leaves and stems of *S. erianthum* are essentially due to their phytochemical constituents, in our case; the leaves have shown better activity compared to the stems.

**FRAP test:** The antioxidant activity of *S. rugosum* extracts was evaluated using the FRAP method. It is based on the ability of the extracts to reduce ferric iron Fe<sup>3+</sup> to ferrous iron Fe<sup>2+</sup>. The results obtained show that all the extracts have dose-dependent activity and their capacity to reduce iron was different. The reducing power of the extract of the leaves (841.899 µM TE / g DM) is much greater than that of the stem bark (167.382 µM TE / g DM) and the one of the root bark (126.939 µM TE / g DM). The high activity of the leaves extract was due to its high content in phenolic compounds. All the extracts have a weak activity compared to vitamin C (3840 µM TE / g DM) used as a reference (Figure 4).

**Antibacterial activity:** The sterility test made it possible to show that all the crude hydroalcoholic extracts obtained from *S. rugosum* were sterile because no germ was observed on the various dishes after 24 h of incubation. Only the methanolic extract of the leaves showed an inhibitory effect against the bacterial strains of *Staphylococcus aureus* coded ATCC 29213 and 348C / 19 CNRa and of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 at 200 mg / ml with an inhibition diameter ranged from 9 ± 0 to 9.33 ± 0 mm. Indeed, according to Ponce *et al.*, (2003), a bacterium is said to be resistant to an extract when its inhibition diameter on this extract is ≤ 8mm and sensitive if this diameter is between 9 and 14 mm, more; it is said to be very sensitive when it is between 15 and 19 mm and extremely sensitive for all diameter greater than 20 mm. Compared to other bacterial strains, our extracts have been shown to be ineffective (Table 3). The antibiotics tested gave some inhibitory diameters ranged from 0 to 32 mm with regard to the different bacterial strains. These results confirm the phenotypes of the strains tested. After 24 h of incubation at 37 ° C, we observed a trend of a progressive decrease in the growth of the bacteria in the wells and the microplates while increasing the concentrations of the tested extracts. The antibacterial parameters obtained for each bacterial strain are detailed in Table 4. MBC / MIC reported made it possible to specify the mode of action of the substances. If this ratio was less or equal to 2, the substance was said to be bactericidal and

strictly greater than 2, the concerned substance is bacteriostatic. According to these results, we can say that the extract from the leaves of *S. rugosum* is bactericidal against the strains tested. Thus, compared to the growth control, the tests in liquid medium of the analysed extracts have revealed a decreasing variation in the density of the bacteria in the experimental wells which is linked to an increase in the concentration of the extracts. Additionally; the determination of MIC, MBC and MBC / MIC, demonstrated the antibacterial activity of the extract of the leaves (Table 4) with a MBC / MIC ratio  $\leq 2$ . These biological activities were due to the action of the chemical compounds present in the leaves. This could justify the traditional use of the leaves in the treatment of skin wounds for which the strains of *Staphylococcus aureus* were the main cause.

## Conclusion

The present report is the first study of the secondary metabolite found in *Solanum rugosum*, furthermore, it was possible to determine the total phenolic, total flavonoids content, antioxidant and antibacterial activity of *Solanum rugosum* species from Côte d'Ivoire. The phytochemical screening carried out revealed the richness of our plant in secondary metabolites, mainly in flavonoids, alkaloids, tannins, sterols, terpenes and coumarins. The antioxidant power of the leaves extracts was important compared to the other organs of the plant. This result was confirmed by two methods: the reduction of iron and the trapping of free radical using DPPH test; it comes out that *Staphylococcus aureus* was sensitive to extracts from the leaves at 200mg / ml.

**Conflict of interest:** None

## REFERENCES

- Abderrahim E. 2011. Development of natural terpenes from Moroccan plants by catalytic transformations. Doctoral thesis from the University of Toulouse: 195
- Agra M.F., Kiriaki N.S., Berger L.R. 2009. Flora of Paraíba, Brasil: *Solanum* L. (Solanaceae). Acta Botânica Brasileira, 23:826-842.
- Anonymous 1 [http://plants.paddies.guyane.cirad.fr/dicotyledones/solanaceae/solanum\\_rugosum](http://plants.paddies.guyane.cirad.fr/dicotyledones/solanaceae/solanum_rugosum) accessed 05/27/2020 at 9:33 p.m.
- Anonymous 2. [http://www.saolucas.edu.br/repositorio/I\\_Scientific\\_communication\\_on\\_health\\_and\\_the\\_environment\\_.pdf](http://www.saolucas.edu.br/repositorio/I_Scientific_communication_on_health_and_the_environment_.pdf) accessed 07/12/2018 at 3:26 p.m.
- Benzie I. F. F. et Strain J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay. Analytical biochemistry, 239: 70-76.
- Blois M. (1958) antioxidant determinations by the use of a stable free radical, nature, 181: 1199-1200.
- Broadhurst R. B. et Jones W. T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. Journal of the science of food and agriculture, 29: 788-794.
- Chen Y.C., Lee H. Z., Chen H. C., Wen C. L., Kuo Y.H., Wang G. J. (2013). Anti-inflammatory components from the root of *solanum erianthum* International Journal of Molecular Sciences, 14: 12581-12592.
- Davidian JC, Cathala N, Gosti F & Fourcroy P (2007). Sulfur in the soil and roles in plant physiology. French Academy of Agriculture, 1: 1-2.
- Delmi M., Rapin C.H., Bengoa J.M., Delmas P.D., Vasey H., Bonjour J.P. (1990); Dietary supplementation in elderly patients with fractured neck of the femur. Lancet, 1:1013-1016.
- Dif M. M., Benchiha H., Mehdadi Z., Benali-Toumi F., Benyahia M. et Bouterfas K. (2015). Quantitative study of polyphenols in the various organs of the *Papaver rhoeas* L species. Phytotherapy, 13: 324-319.
- Dosso M, Faye-kette H. 2000. Quality control of the antibiogram in current practice: Experience of the bacteriology laboratory of the Pasteur Institute of Côte d'Ivoire. The international bacteriologist, special issue, 53.
- Ekoumou C. (2003). Phytochemistry and pharmacology of *Maerena crassifolia* forsk. (Capparidaceae). Doctoral thesis in pharmacy, University of Bamako (Mali), 168.
- Falleh H., Ksouri R., Abdely C. (2006). Antioxidant activity and polyphenol content in the various organs of the wild artichoke *Cynara cardunculus*. Arid Regions Institute, Arid Regions Review, Tunisia, 344.
- Francis X.T., Auxilia A et Senthamil S.M., (2013). Antibacterial and phytochemical screening of *Solanum erianthum* D. Don J. Nat. Prod. Plant Resour, 3:131-133.
- Gelhin A., Guyon C., Nicod L. (2006). Glyphosphate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of vitamin C and E. Environ Toxicol. Pharmacol. 22: 27-34.
- Georgievskii B. P., Komissarenko N.F. & Dmitrou C. E. (1990). Bioactive compounds in medicinal plants, Nauka edition:336.
- Gong W. L., Yan J., Zhao L. X., Li C., Huang Z. L., Tanq B. Z. et Zhu M. Q. (2016). Single-wavelength-controlled in situ dynamic super-resolution fluorescence imaging for block copolymer nanostructures via blue-light-switchable FRAP. Photochemical and photobiological Sciences, 15: 1433-1441.
- Hariri E.B., Sallé G. et Andary C. (1991). Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album* L.). Protoplasma, 162 : 20-26.
- Heilerová L., Bučková M., Tarapčík P., Silhár S. et Labuda J. (2003). Comparison of antioxidant activity data for aqueous extracts of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.), Oregano (*Origanum vulgare* L.), Thyme (*Thymus vulgaris* L.) and Agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) obtained by conventional methods and the DNA-based biosensor. Czech Journal Food Science 21 : 78-84.
- Heilmer D., Vignini P., Dini M. G., Vincieri F. F. et Romani A. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. Food chemistry, 99: 464-469.
- Kabran G. R. M. (2014). Chemical and cytotoxic study of ten plants from the Ivory Coast, used in the traditional treatment of breast cancer, Doctoral Thesis. Nagui Abrogoua University: 265.
- Kamagate M., Bamba K. D., Die-Kacou H., Ake-Assi L., Yavo J.C Daubret P., Haramburu F. (2015). Pharmacovigilance of Medicinal Plants: Contribution of the Herbalists in Abidjan, International Journal of Phytopharmacology, 6 : 66-75.
- Konan K.M. (2010). Chemical study and evaluation of the antioxidant activity of four medicinal plants from Côte d'Ivoire. Unique Doctoral Thesis, University of Abobo-Adjamé (Côte d'Ivoire) : 112.
- Koné, W., Atindehou, K. K., Tereaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D., & Dosso, M. (2004). Traditional medicine in North Côte d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for

- antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology, 93: 43-49.
- Kouao, T. A., Kouame, B. A., Ouattara, Z. A., Mamyrbekova-Bekro, J. A., Bighelli, A., Tomi, F., & Bekro, Y.-A. (2019). Chemical characterisation of essential oils of leaves of two Solanaceae: *Solanum rugosum* and *Solanum erianthum* from Côte d'Ivoire. Natural Product Research, 1-4.
- Lagnika L. (2005). Phytochemical Study and Antimalarial Activity of Natural Substances from Beninese Plants. Doctoral thesis, Université Louis Pasteur de Strasbourg Université. Abomey-Calavi, Benin: 268.
- Lakshmi Devi. N., Ramya Urs S. K. (2016). *Solanum erianthum*; analysis of phytochemical composition. European journal of pharmaceutical and medical research, 3: 290-293.
- Lu Yan-Y., Luo J.G., Kong L.Y. (2011). Chemical constituents from *Solanum torvum*. Chinese Journal of Natural Medicines 9:30-32.
- Mossion A (2007). Study of the mineral and organic composition of tea liquors and their organoleptic characteristics: Influence of the physico-chemical parameters of water. Toulouse: National Polytechnic Institute of Toulouse; 213.
- N'gaman K. C. C. (2013). Phytochemical study and effect of extracts of *Gmelina arborea* Roxb. (Verbenaceae) from Côte d'Ivoire on the osmotic stability of erythrocytes. Doctoral thesis, Nangui Abrogoua University, Abidjan, 152.
- N'guessan H. A., Dago D. C.E., Mamyrbekova-Bekro J. A., Bekro Y. A. (2011) CCM of Selective extracts from 10 Plants Used in the Traditional Treatment of Arterial Hypertension in Côte d'Ivoire, European Journal of Scientific Research, 66:575-587.
- Nassira A. (2014). Micronutrition theoretical and practical aspects. Doctoral thesis. Mohammed V, University, Rabat, Morocco, 296.
- Patra M., Bhowmick N., Bandopadhyay B., Sharma A., 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environmental and Experimental Botany, 52: 199-223.
- Pinto F. C. L.P., Uchoa D.E. A., Silveira E. R., Pessoa O D.L., Braz-Filho R. S. F. M., Theodoro P. N. E. T., Espíndola L. S. (2011). Antifungal glycoalkaloids, flavonoids and other chemical constituents of *Solanum asperum* Rich (Solanaceae). Quim Nova, 34: 284-288.
- Pinto F.C. L., Torres M. C.M., Silveira E.R., Pessoa O. D. L., Braz-Filho R., Guedes M.L., Silva. (2013). Chemical constituents of *Solanum buddleifolium* Sendtn. Quim Nova, 36: 1111-1115.
- Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT - Food Science and Technology, 36: 679-684.
- Silva T.M.S., Camara C.A., Freire.K.R.L., Silva T.G., Agra M.F., Bhattacharyya J. (2008). Steroidal glycoalkaloids and molluscicidal activity of *Solanum asperum* Rich. fruits. Journal of the Brazilian Chemical Society, 19: 1048-1052.
- Singh A. P., Luthria D., Wilson T., Vorsa N., Singh, V., Banuelos G. S., Pasakdee S. (2009). Polyphenols content and antioxidant capacity of eggplant pulp. Food Chemistry, 114: 955-961.
- Singleton V.L., Ortofer R. et Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Packer L (ed) Methods in enzymology Orlando Academic Press, 152-178.
- Sujatha V., Subramanian D. P. (2013). Antioxidant profile and GC-MS analysis of *Solanum erianthum* leaves and stem a comparison. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5: 652-658.
- Trébissou J.N.D., Bla, K.B., Yapo A.F., Yapi H.F., Djaman A.J. (2014). Therapeutic survey on traditional treatment of Buruli ulcer in Côte d'Ivoire. J. Microbiol. Biotechnol. ,4: 52-56.

\*\*\*\*\*

## RÉSUMÉ

Ce présent travail a porté sur les études chimique et biologique de trois plantes médicinales de la flore ivoirienne. Ce sont deux Solanaceae (*Solanum erianthum* et *Solanum rugosum*), et une Rutaceae (*Oricia suaveolens*). Deux volets ont constitué l'étude desdites plantes. Le premier a porté sur la caractérisation chimique, à l'évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles extraites et le second à consister à l'étude phytochimique (analyses qualitative et quantitative), biologiques des extraits de plante de *Solanum rugosum*.

Les huiles essentielles extraites des plantes d'études sont constituées majoritairement de sesquiterpènes dont  $\alpha$ -humulène et (E)- $\beta$ -caryophyllène sont les plus représentatifs. L'action bactériostatique des huiles des feuilles de *Solanum rugosum* et *Oricia suaveolens* a été observée sur les souches bactériennes et champignons.

Quant aux extraits de plante de *Solanum rugosum*, l'analyse minérale a révélé qu'elle contienne les minéraux K, P, Cl, S, Si, Na, Fe, Al, Cu, Zn, V, Se, Mg et Ca. Les analyses chimiques effectuées par chromatographie (CCM) et spectrophotométrie (dosages) ont permis de faire une estimation quantitative et qualitative des métabolites secondaires (stérols, terpènes, alcaloïdes, flavonoïdes, coumarines, tanins, ...) contenus dans les différents organes. L'activité antioxydante des extraits de plantes par le test au DPPH et au FRAP a montré que ces extraits sont plus ou moins actifs. L'évaluation biologique a révélé que les feuilles manifestent une action bactéricide sur *Staphylococcus aureus*. Cette activité antibactérienne serait due à la coprésence des métabolites secondaires contenus dans la plante.

**Mots-clés :** Plantes médicinales, huiles essentielles, phytochimie, activité biologique, Côte d'Ivoire.

## ABSTRACT

This present work focused on the chemical and biological studies of three medicinal plants of the Ivorian flora. These were two Solanaceae (*Solanum erianthum* and *Solanum rugosum*), and one Rutaceae (*Oricia suaveolens*). Two parts were made up of the study of said plants. The first concerned the chemical characterization, the evaluation of the biological activity of the essential oils extracted and the second consisted of the phytochemical study (qualitative and quantitative analyzes), biological activity of the plant extracts of *Solanum rugosum*.

The essential oils extracted from study plants consist mainly of sesquiterpens, of which  $\alpha$ -humulene and (E) - $\beta$ -caryophyllene were very high proportion. The bacteriostatic action of oils from the leaves of *Solanum rugosum* and *Oricia suaveolens* has been observed on bacterial and fungal strains.

As for the plant extracts of *Solanum rugosum*, mineral analysis revealed that it contains the minerals K, P, Cl, S, Si, Na, Fe, Al, Cu, Zn, V, Se, Mg and Ca. Chemical analyzes carried out by chromatography (TLC) and spectrophotometry (assays) made it possible to make a quantitative and qualitative estimate of the secondary metabolites (sterols, terpenes, alkaloids, flavonoids, coumarins, tannins, etc.) contained in the various organs.

The antioxidant activity of plant extracts by the DPPH and FRAP test showed that these extracts were more or less active. Biological activity evaluation revealed that the leaves show a bactericidal action on *Staphylococcus aureus*. This antibacterial activity was thought to be due to the co-presence of secondary metabolites contained in the plant.

**Keywords:** Medicinal plants, essential oils, phytochemistry, biological activity, Côte d'Ivoire.