

VALORISATION CHIMIQUE DE QUELQUES ESPÈCES AROMATIQUES ET MÉDICINALES DU CONGO

(*Ageratum conyzoides* L, *Chromolaena odorata* King et Robinson
Hyptis suaveolens Poit et *Lippia multiflora* Moldenke).

BISSANGOU M.F. et OUAMBA J.M.

Laboratoire d'Études Physico-Chimiques
Faculté des Sciences - Université Marien NGOUABI
B.P. 69, Brazzaville (CONGO)

RESUME

Dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques et médicinales, nous avons mené une étude chimique de quatre espèces qui entrent dans la composition de plusieurs remèdes traditionnels au Congo : *Ageratum conyzoides* L (ASTERACEAE), *Chromolaena odorata* King et Robinson (ASTEREACEAE), *Hyptis suaveolens* Poit (LAMIACEAEA) et *Lippia multiflora* Moldenke (VERBENACEAE). Les résultats de l'extraction par hydrodistillation et de l'analyse chimique des huiles essentielles de ces espèces par CPG et éventuellement par la technique de couplage CPG/SM sont présentés et discutés.

Mots clés : *Ageratum conyzoides* L, *Chromolaena odorata* King et Robinson, *Hyptis suaveolens* Poit et *Lippia multiflora* Moldenke, Huile essentielle, Composition chimique.

INTRODUCTION

Les espèces *Ageratum conyzoides* L, *Chromolaena odorata* King et Robinson, *Hyptis suaveolens* Poit et *Lippia multiflora* Moldenke occupent en Afrique une bonne place dans les thérapeutiques traditionnels.

Le suc des feuilles fraîches écrasées de *Ageratum conyzoides* est utilisé dans le traitement des maux d'yeux. Certaines tribus d'Afrique (Agnis et Ashantis) l'utilisent contre les douleurs gastro-intestinales [1].

L'espèce *Chromolaena odorata* est utilisée en infusion contre les menaces d'avortement et également pour traiter la malposition utérine. Le suc des feuilles fraîches passe pour cicatriser les blessures [2].

L'espèce *Hyptis suaveolens* est utilisée sous plusieurs formes : tisane, infusé, décocté, cataplasme réalisé à partir des feuilles. Le décocté aqueux des feuilles est administré per os pour soigner l'asthme au Congo [3], les ictères, les hyperthermies, les abcès du sein, les hémorroïdes, les candidoses bucco-anales et les oedèmes généralisées au Bénin [4] ; les feuilles sont couramment consommées en boisson théiforme comme antimigraineux, euphérique, béchique, excitant et fluidifiant des sécrétions bronchiques au Sénégal [5,6]. *Hyptis suaveolens* est aussi utilisé pour ses propriétés bactéricides et insectifuges [7,8].

L'espèce *Lippia multiflora* est d'utilisation fréquente en Afrique sous forme de tisane, comme antipyrétique, contre la toux et les rhumes [1,3].

En vue de justifier l'utilisation traditionnelle de ces espèces ou de définir d'autres domaines d'application de leurs extraits dans le cadre d'une stratégie globale de valorisation des richesses naturelles végétales, nous avons entrepris d'identifier les constituants chimiques de leurs huiles essentielles.

Pour chaque espèce, une étude de la variation individuelle du rendement et de la composition chimique de l'huile essentielle a été réalisée en fonction du lieu et de la période de récolte.

MATERIELS ET METHODES

Matériel végétal

Les échantillons de *Ageratum conyzoides*, *Chromolaena odorata* et *Hyptis suaveolens* ont été récoltés dans le jardin du Rectorat de l'Université Marien NGOUABI (Brazzaville, Congo), ceux de *Lippia multiflora* spontané proviennent des différentes localités au Congo et ceux de *Lippia multiflora* cultivé du champ expérimental mis en place pour les besoins de cette étude. L'identification de chaque espèce étudiée a été faite par le Docteur J.M. MOUTSAMBOTE et un échantillon de chaque espèce déposé dans l'herbier national au Centre d'Etudes des Ressources Végétales (C.E.R.V.E.) à Brazzaville.

Analyse chimique

Les échantillons d'huile essentielle sont analysés par CPG à l'aide d'un

chromatographe DELSI 330, couplé à un enregistreur-intégrateur ENICA 21, équipé de deux colonnes de polarités différentes (Carbowas 20 M et OV 101).

L'analyse est effectuée en injectant 1 µl d'une solution d'huile essentielle à 10% dans le pentane. L'analyse préliminaire des essences est réalisée par calcul des indices de rétention de leurs constituants et par la méthode d'enrichissement [9-12].

L'identification des constituants est confirmée par couplage CPG/SM. L'appareil utilisé est un modèle HEWLETT-PACKARD de type 5970 ; équipé d'une colonne capillaire greffée de type OV 101 et d'un détecteur sélectif quadripolaire de type 5970 dans lequel le potentiel d'ionisation est fixé à 70 eV. Les spectres de masse obtenus sont analysés et comparés à ceux donnés dans la littérature [12-14].

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Espèce *Ageratum conyzoides* L.

Nous avons réalisé sur l'espèce une étude de la variation saisonnière de la teneur en huile essentielle et de la composition chimique dans le but de déterminer la période de récolte la plus favorable à l'extraction de l'huile essentielle de bonne qualité ou constituée des composés majoritaires aux taux les plus élevés.

La teneur en huile essentielle varie de façon aléatoire entre 0,11 et 0,58% pour les feuilles et entre 0,03 et 0,18% pour les racines, avec cependant une nette baisse de rendement entre les mois de Mars et Mai, et de fort rendement entre Juin et Février.

Les essences des feuilles et celles des racines sont qualitativement et quantitativement comparables. Elles se composent essentiellement de deux constituants : - le caryophyllène (1,2 à 25,1%) et le précocène (163,0 à 92,9%).

Les pourcentages des deux constituants largement majoritaires dans les feuilles et les racines est illustrée par la figure 1.

Etant donné que la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles est la même que celle des racines, et que le rendement d'extraction des feuilles est trois fois plus élevé que celui des racines, il est évident qu'il serait plus rentable d'extraire l'huile essentielle des feuilles plutôt que des racines entre Juin et Février.

Comparé à quelques échantillons d'essences d'*Ageratum conyzoides* d'origines diverses, l'échantillon du Congo se rapproche par sa composition chimique des variétés

camerounaise [15] et nigériane [16], et indienne [17] on constate à l'analyse de ces résultats, que le caryophyllène et les chromènes (figure 2) sont les constituants majeurs de toutes ces essences.

Les chromènes ont déjà été identifiés dans des espèces de la famille des Cypéraceae telle que *Remirea*, des Rutaceae, des Liliaceae, etc. Mais la grande majorité des chromènes viennent de la famille des Astéraceae [18, 19].

Une analyse assez récente de la composition chimique d'une essence de *Ageratum houstonianum* (Astéraceae) par MENUT et Coll [15] donne encore pour principaux constituants : le caryophyllène (27,5%), le précocène I (32,0%) et le précocène II (24,0%).

2. Espèce *Chromolaena odorata* L..

Nous avons analysé les extraits d'un échantillon de forêt et avons étudié la variation de la teneur en huile essentielle et de la composition chimique de l'espèce congolaise de savane en fonction de la période de récolte, afin de déterminer la période la plus favorable à l'extraction de l'huile essentielle.

Le rendement des extractions varie entre 0,03 et 0,17%, les teneurs les plus faibles se situant entre Avril et Mai.

Les pourcentages des constituants majoritaires des huiles essentielles de forêt [20] et de savane sont donnés dans le tableau I.

On constate :

- la teneur en produits aromatiques représentés par le p-cymène et l'acétate de thymyle, présents à des taux élevés dans l'échantillon de forêt (22,2% et 15,8%) sont absents dans l'échantillon de savane ;
- l'oxyde de caryophyllène absent dans l'échantillon de forêt est présent dans l'échantillon de savane à des taux allant jusqu'à 22,4%, alors que le -caryophyllène, 9,8% dans l'échantillon de forêt voit son taux varié entre 5,1 et 20,3% dans l'échantillon de savane;
- l'intervalle de variation de la teneur en geigérène est peu étendu (0,3 à 4,4%) au contraire celui du prégeigérène s'étend de 1,0 à 33,3%. Le geigérène et le prégeigérène sont deux hydrocarbures peu fréquents dans les huiles essentielles, identifiés pour la première fois dans l'essence de *Geigeria parviflora* et signalés plus tard dans l'essence de *Ruta graveolens* (Rutacées) et de quelques espèces du genre *Pimpinella* (Umbellifères).

Comparée à des espèces de *Chromolaena odorata* des diverses origines africaines, la composition chimique de l'espèce congolaise de savane se rapproche de celle de l'espèce du Cameroun [20] et diffère de celle de l'espèce du Nigéria [21] qui présente des taux élevés en pinène (19,3%), limonène (10,2%) et en camphre (15,5%) et de celle de l'espèce du Vietnam [22] plutôt riche en géigérène (42,5%) et cubébène (12,5%).

Selon JONES et SUTHERLAND [23], le prégeigérène dériverait de l'hédicaryol par perte d'un groupe hydroxyisoprophyle. Le geigérène serait un artefact résultant du prégeigérène par transposition thermique.

Ces hypothèses expliquent les faibles teneurs du geigérène par rapport à celle du prégeigérène dans la plupart des échantillons de savane étudiés. La dégradation se ferait en ce moment là en cours d'hydrodistillation ou pendant la CPG.

Une extraction par solvant de la plante et une séparation par chromatographie liquide/solide permettrait de savoir si les deux composés sont présents dans la plante ou si le geigérène est bien un artefact du prégeigérène.

3. Espèce *Hyptis suaveolens* Poit.

Comme le montre le tableau II, les essences de *Hyptis suaveolens* analysées sont de deux types : un type à dominance sesquiterpénique riche en -caryophyllène (21,2%) associé à l' -sélinène (9,4%) et un type à dominance monoterpénique qui se distingue du premier par une teneur élevée de sabinène (25,3%) accompagné de terpinolène (10,1%). On note également dans les deux types, la présence, à des teneurs variables, des diterpènes (0,4 à 6,1%) parmi lesquels les abiétadiènes et l'arabiétatriène.

Il convient de noter qu'une analyse assez récente des données de la littérature [2] montrent que les essences volatiles de *Hyptis suaveolens* d'origines géographiques diverses (Philippines, Inde, Brésil, Tanzanie, Vénézuéla, Nigéria, Madagascar et Côte d'Ivoire) et d'autres espèces du même genre (*H. spicigera*, *H. pectinata*, *H. spp.*, *H. goyazensis*, *H. mutabilis*, *H. brevipes*) ont fait l'objet de plusieurs travaux.

Des composés particuliers tels que les diterpènes et les stérols ont déjà été identifiés dans l'espèce *Hyptis suaveolens*. Parmi les diterpènes on rencontre des structures abiétane comme l'abiétadiène, l'abiétatriène, l'acide suavéolique, le suavéolol et des structures à squelette labdane.

Dans l'ensemble les essences de *H. suaveolens* se singularisent de toutes les autres espèces du même genre.

4. Espèce *Lippia multiflora* Moldenke.

Une mise au point bibliographique sur les essences de différentes espèces africaines de *Lippia* et les essences d'espèces d'autres origines, complétée par les données de l'analyse chimique des échantillons de *Lippia multiflora* du Congo [2, 24] permet de distinguer quatre (4) types de compositions chimiques comme le montre le tableau III.

Alors que les échantillons des huiles essentielles des feuilles de *L. multiflora* du Congo présentent les trois types de composition chimique I, II et III, et que ceux des huiles des tiges sont toutes du type II, les essences des sommités fleuries sont riches en ipsénone, une cétone identifiée pour la première fois dans le règne végétal, et en une cétone très lourde, produit de condensation de deux molécules de cistagétone par réaction du Diels-Alder.

Compte tenu de la teneur élevée de ce produit dans certains échantillons d'huiles essentielles de tiges, nous avons pensé que ce composé relativement lourd n'est pas contenu dans la plante, et n'est pas directement obtenu au cours de l'hydrodistillation, mais qu'il se forme par polymérisation au cours du stockage de l'huile essentielle.

Ce point est en voie d'être élucidé.

A l'issue de ce travail d'identification des constituants des huiles essentielles de *L. multiflora*, nous avons proposé le schéma des filiations biosynthétiques des différentes structures rencontrées dans les différentes variétés de *L. multiflora* (figure 3).

On constate que d'après cette figure :

- une seule voie S conduit aux sesquiterpènes ;
- deux (2) voies principales peuvent être distinguées pour les monoterpènes : la voie A, conduisant aux monoterpènes acycliques et la voie B, conduisant aux monoterpènes cycliques, avec trois (3) sous-divisions MC_1 , MC_2 et MC_3 qualifiées respectivement de voie du "limonène", voie du "terpinène" et de voie du "pinène".

Les types de compositions chimiques définies sur la base des constituants majoritaires peuvent être associés aux voies de biosynthèse ainsi définies : Voie A pour type I, Voie B- MC_1 pour type II, Voie B- MC_2 pour type III et Voie S pour type IV. Ce qui a conduit à envisager la classification générale de toutes les espèces du genre *Lippia* par filiations biogénétiques comme indiqué sur la figure 5.

CONCLUSION

Les résultats obtenus témoignent de l'importance de la richesse des plantes aromatiques et médicinales, et rendent aussi attractive l'utilisation des extraits de ces plantes. L'investigation de la flore congolaise en particulier et africaine en général, dont toutes les potentialités n'ont pas encore été exploitées, mérite d'être poursuivie.

Plusieurs des composés majoritaires identifiés atteignent dans certains échantillons des proportions qui sont susceptibles de justifier une exploitation industrielle comme arômes alimentaires, constituants de compositions parfumantes ou cosmétiques, intermédiaires de synthèse, recettes médicinales ou pesticides naturels.

Au regard des résultats de l'extraction et de l'analyse chimique des extraits complétés par des données ethnobotaniques, des possibilités d'approvisionnement, d'acclimatation et/ou de domestication, et de l'évaluation des propriétés pharmacologiques des extraits, les domaines d'exploitation ou de valorisation éventuelle des espèces ou de leurs extraits peuvent être définis.

Il serait par exemple plus intéressant d'amorcer très vite l'étape de production d'extraits, de formulation et de conditionnement de produits et de médicaments au niveau d'une unité pilote d'abord, puis artisanale ou industrielle ensuite. C'est le cas de l'extrait de *Lippia multiflora* qui a déjà fait l'objet d'un essai de formulation comme insecticide.

Références Bibliographiques

1. KERHARO, J. et BOUQUET, A. "Plantes médicinales et toxiques de la Côte d'Ivoire et de la Haute Volta". Vigot Frères, Paris, 1950, p. 212.
2. BISSANGO M.F., "Contribution à l'étude des composés organiques volatils extraits des plantes aromatiques d'Afrique subsaharienne. Thèse de Doctorat d'Université, Université de Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc, 1993.
3. ADJANOHOUN E.J., AHYI A.M.R., AKE ASSI, BANIAKINA J., CHIBON P. et coll., "Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Congo", Rapport présenté par l'ACCT, 1988.

4. ADJANOHOON E.J., ADJAKIDJE V. et coll. "Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Bénin", Rapport présenté par l'ACCT, 1989.
5. IWU M.M.n EZEGWU C.O. et OKUNGI C.O., *Int J. Crude Drug Res.*, 28, 73 (1990).
6. EZZEDINE A., FALL A.B.K., LO I. "Activité antibactérienne des feuilles et fines tiges d'*Hyptis suaveolens* Poit (LAMIACEE)", *Bull. Méd. Trad. Pharm.*, vol 4(2), 129 (1990)
7. KERHARO J. et ADAM J.G. - "La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques". Ed. Vigot Frères, Paris, 1974.
8. ADJANOHOON E.J. et coll. "Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo", Rapport présenté par l'ACCT, 1986.
9. HUMPHREY A. M., *Analyst* 109, 1343 (1984)
10. JENNINGS W., SHIBAMOTO T., "Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography", Academic Press, Inc, N.Y., 1980.
11. TRANCHANT J., "Manuel de chromatographie en phase gazeuse", E. Masson et Cie, Paris 1964.
12. NASADA Y., *Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry*", John Wiley and Sons, Inc, N.Y. 1976.
13. VON SIDOW E. ANJOU K. KARLSSON G., *Arch of mass spectra data* 1, 392 (1970).
14. ADAMS R.P., "Identification of essential oils by ion trap mass spectrometry", Academic Press, San Diego, 1989.
15. a) LAMATY, G., MENUT, C., BESSIERE, J.M., AMVAM-ZOLLO, P.H. et KUIATE, J.R., *Flavour Fr. J.*, 1993, 8,1.
b) MENSAH, M., SARPONG, K., BASER, K.H.C. et OZEK, K. J. *Ess. Oil Res.* 1993, 5, 113.

16. EKUNDAYO, O., INTO, L. et RAIMO, H., Flavour Fr. J., 1991, 6,117.
17. RUDLOFF, E. et SOOD, V.K., Perfumery and Essential Oils Record, 1969, 60, 303.
18. PROKSCH, P. et RODRIGUEZ, E., Phytochem., 1988, 22(11), 2335.
19. ALLAN, R.D., CARREL, R.L. et WELLS, R.J., Tetrahedron lett., 1969, 53, 4673.
20. OUAMBA J.M., SILOU Th., LAMATY G., AMVAM-ZOLLO P.H., MENUT C., KUIATE J.R. BESSIERE J.M. (1992) - "Aromatic Plants of Tropical Central Africa, IV. Essential oils of *Eupatorium odoratum* L. From Cameroon and Congo". J. Ess. Oils Res. 4, 101-105.
21. INYA-AGHA, S.I., Int. J. Crude Drug Res., 1987, 25, 49.
22. DUNG, N.X., BIEN, L.K. et LECLERCG, P.A., Ess. Oil Res., 1992, 4, 309.
23. TEISEIRE P.J. (1991) - "Chimie des substances dorantes". Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
24. OUAMBA J.M., SILOU Th., LAMATY G., MENUT C., BESSIERE J . M . (1990) - "2-methyl-6-methylene-7-octen-4-one, a constituent of *Lippia multiflora* essential oils". Phytochemistry, vol 29, n° 2, 521-522.

Tableau I : Pourcentages des constituants majoritaires des huiles essentielles des feuilles de *Chromolaena odorata* King et Robinson.

Constituants	Echantillon de forêt	Echantillon de savane
p-Cymène	22,2	-
Acétate de thymyle	15,8	-
-Caryophyllène	9,8	5,1 - 20,3
Oxyde de -caryophyllène	-	5,2 - 22,4
Géigérène	4,2	0,3 - 4,4
Prégéigérène	14,8	1,0 - 33,3

Tableau II : Pourcentages des constituants majoritaires des huiles essentielles des feuilles de *Hyptis suaveolens* Poit.

Constituants	Type I	Type II
- Caryophyllène	21,2	15,1
- Sélinène	9,4	2,0
Sabinène	0,1	10,1
Terpinolène	-	25,3

TABLEAU III : CLASSIFICATION CHIMIOTAXONOMIQUE DES ESPECES DU GENRE *LIPPIA*.

TYPE	COMPOSES MAJORITAIRES [ESPECES DE <i>LIPPIA</i>] (*)
TYPE I : « à monoterpènes acycliques »	a) Linalol ou acétate de linalyle [<i>L. Adoensis</i> A, <i>L. grandifolia</i> , <i>L. schimperi</i> , <i>L. grisebachiana</i>] b) Ipsénone, myrcène, tagétones [<i>L. dauensis</i> , <i>L. multiflora</i> A (Feuilles du Congo)] c) myrcénone, ociménone [<i>L. javanica</i>] d) citral [<i>L. Citriodora</i> , <i>L. Rugosa</i> A (Cameroun)] e) myrcénone [<i>L. javanica</i> , <i>L. multiflora</i> D (Centrafrique)]
Type II « à composés cycliques aromatiques »	f) p-cymène, thymol + acétate de thymyle [<i>L. multiflora</i> B (Feuilles et Tiges du Congo), <i>L. organoides</i>] g) thymol, carvacrol [<i>L. grata</i>] h) carvacrol [<i>L. halleri</i>]
Type III « à composés cycliques non aromatiques »	i) carvone [<i>L. carviadora</i> , <i>L. adoensis</i> B] j) 1,8-cinéole [<i>L. somalensis</i>] k) 1,8-cinéole + trans-hydrate de sabinène [<i>L. ukambensis</i>] l) 1,8-cinéole + camphre [<i>L. alba</i>] m) camphre + trans-hydrate de sabinène [<i>L. ukambensis</i>] n) p-cymène + limonène + pipériténone [<i>L. wimji</i> , <i>L. alba</i> , <i>L. multiflora</i> C (Feuilles du Congo, Togo)]
Type IV « à sesquiterpènes »	o) β -cubébène [<i>L. carviadora</i> var. minor] p) β -caryophyllène [<i>L. alnifolia</i> , <i>L. aristata</i>] q) β -caryophyllène, germacrène D [<i>L. Chevalieri</i> , <i>L. Savoryi</i> et <i>L. Rugosa</i> B (Burkina Faso)]

(*) Données bibliographiques en dehors des espèces du Burkina Faso, du Centrafrique, du Congo et du Togo analysées [7. 11].

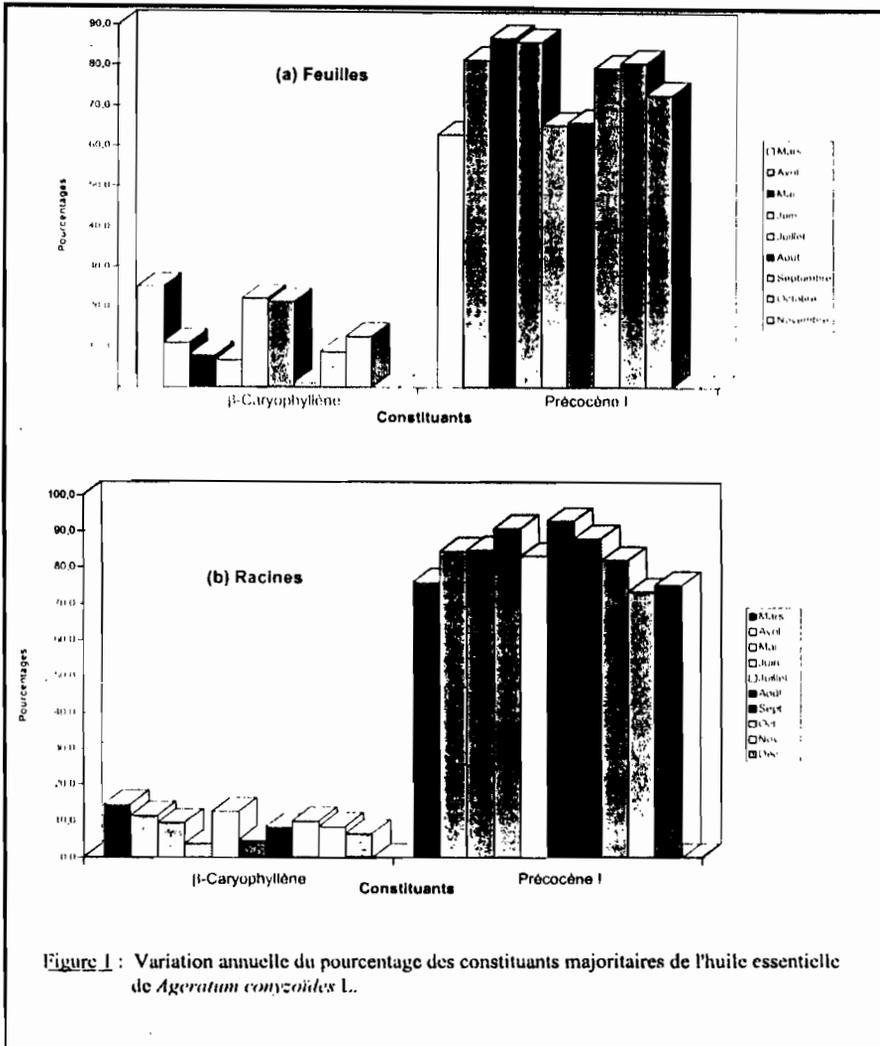
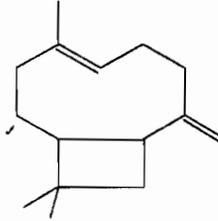
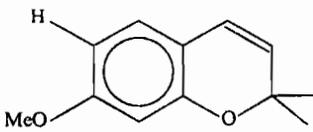


Figure 1 : Variation annuelle du pourcentage des constituants majoritaires de l'huile essentielle de *Ageratum conyzoides* L.

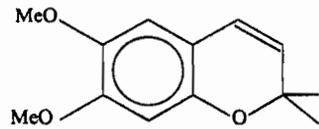
a) β -Caryophyllène



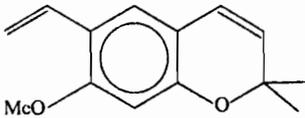
b) Chromènes



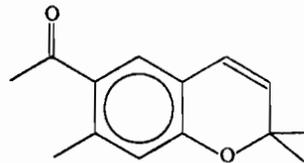
Précocène I
(6-déméthoxyagératochromène)



Précocène II
(agératochromène)



(6-vinyl-7-méthoxy-2,2-diméthylchromène)



(déméthoxyencécaline)

Figure 2 : Structures des composés majoritaires identifiés dans les essences de *Ageratum conyzoides* L.

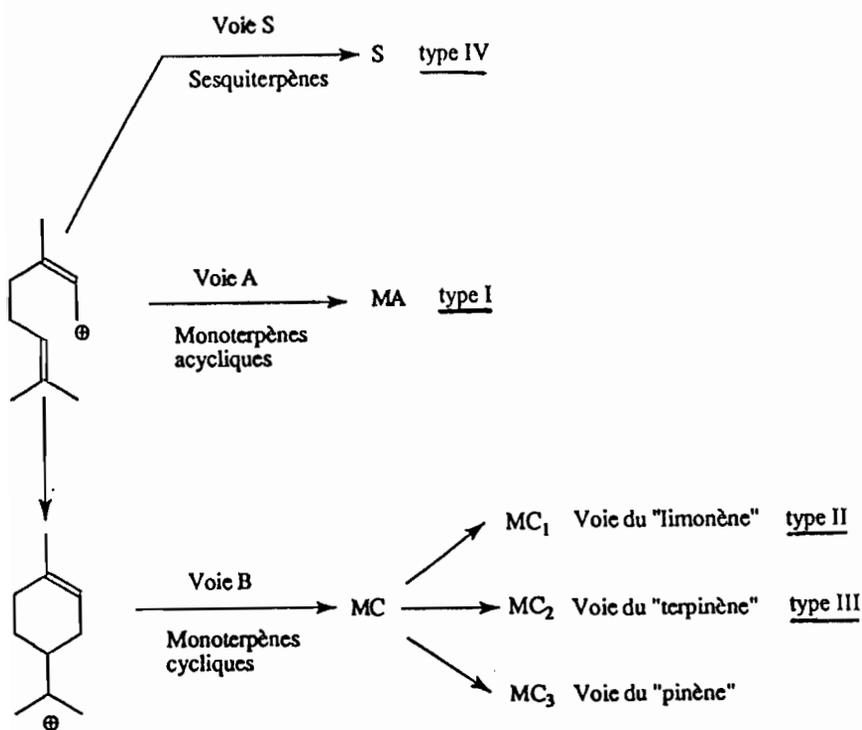


Figure 3 : Schéma des filiations biosynthétiques

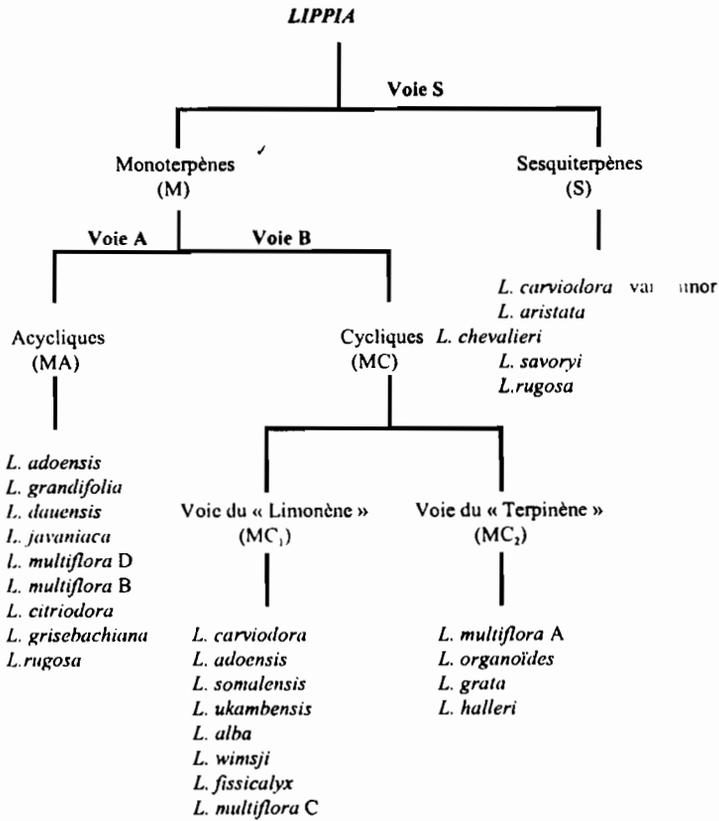


Figure 4 : Classification générale des espèces du genre *Lippia* par filiations biogénétiques