Caractérisation chimique des huiles essentielles de 4 plantes aromatiques de Côte d'Ivoire : Artabotrys insignis, Artabotrys jollyanus, Beilschmiedia mannii et Dacryodes klaineana. République de Côte d'Ivoire Union -Discipline -Travail

Stéphane Gervais Gooré

▶ **To cite this version:**

Stéphane Gervais Gooré. Caractérisation chimique des huiles essentielles de 4 plantes aromatiques de Côte d'Ivoire : Artabotrys insignis, Artabotrys jollyanus, Beilschmiedia mannii et Dacryodes klaineana. République de Côte d'Ivoire Union -Discipline -Travail. Chimie analytique. Université Nangui Abrogoua (Abidjan), 2017. Français. NNT : . tel-02523002

HAL Id: tel-02523002
https://hal.science/tel-02523002

Submitted on 28 Mar 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

République de Côte d'Ivoire

Union – Discipline – Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE NANGUI ABROGOUA

Unité de Formation et de Recherche
des Sciences Fondamentales et
Appliquées
(UFR-SFA)

UMR-CNRS 6134
LSPE
Université Pascal Paoli de Corse

N° d'ordre : 378

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE NANGUI ABROGOUA

Mention : Chimie

Spécialité : Chimie des Substances Naturelles

Présentée par :

GOORE Stéphane Gervais

Sujet :

Caractérisation chimique des huiles essentielles de 4 plantes aromatiques de Côte d'Ivoire : *Artabotrys insignis*, *Artabotrys jollyanus*, *Beilschmiedia mannii* et *Dacryodes klaineana*.

Codirecteurs

M. BEKRO Yves-Alain, Professeur Titulaire (UNA)

M. TOMI Félix, Professeur (Université de Corse)

Soutenue le **15 Décembre 2017** devant le **jury** composé de :

M. BOA David, Professeur Titulaire (UNA), Président

M. BEKRO Yves-Alain, Professeur Titulaire (UNA), Codirecteur

M. KRE N'guessan Raymond, Maître de Conférences (UNA), Rapporteur

M. ATTIOUA Koffi Barthélémy, Maître de Conférences (UFHB), Rapporteur

M. KOUAME Bosson Antoine, Maître de Conférences (UNA), Examinateur

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS v
REMERCIEMENTS vi
DÉDICACE ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES SYMBOLES x
LISTE DES FIGURES xi
LISTE DES TABLEAUX xii
ANNEXES xiii
INTRODUCTION 1
CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES 3
I.1. GENERALITES SUR LES HE 4
I.1.1. Définition 4
I.1.2. Méthodes d'extraction 4
I.1.2.1. Hydrodistillation 4
I.1.2.2. Entraînement à la vapeur 4
I.1.2.3. Hydrodiffusion 5
I.1.2.4. Extraction par micro-onde 5
I.1.2.5. Extraction par les solvants organiques et par procédés mécaniques 5
I.1.2.6. Extraction au CO_2 supercritique 6
I.2. MÉTHODES D'ANALYSE 6
I.2.1. Analyses par couplages « en ligne » : voie A 8
I.2.1.1. CPG associée aux indices de rétention 8
I.2.1.2. Couplage de la CPG avec des techniques spectroscopiques 10
a. Couplage CPG-SM 10
b. Couplage CPG-SM-SM 11
c. Couplage CPG-IRTF et CPG-IRTF-SM 11
d. CPG bidimensionnelle 12
I.2.1.3. Couplage de la CLHP avec des techniques spectroscopiques 12
a. Couplages CLHP-SM et CLHP-SM-SM 12
b. Couplage CLHP-CPG-SM 13
c. Couplage CLHP-RMN ^{1}H 13
I.2.2. Analyses après purification des composés : voie B 13

I.2.3. Méthode d'identification par RMN du carbone 13, sans séparation préalable : VOIE C....14
I.2.3.1. Intérêt de la RMN ^{13}C....14
I.2.3.2. Identification des constituants en mélange....15
a. Observation des signaux....15
b. Individualisation des signaux....16
c. Attribution des signaux....17
I.2.4. Méthode d'analyse développée au laboratoire SPE....18
I.2.4.1. Principe de la méthode....18
I.2.4.2. Applications de la méthode à l'analyse de mélanges naturels....19
I.2.4.3. Etude de la variabilité chimique....21
I.2.4.4. Caractérisation de quelques plantes issues de la Côte d'Ivoire....21
I.3. PROPRIETES DES HUILES ESSENTIELLES....22
I.3.1. Activités biologiques....23
I.3.2. Activités pharmacologiques....23
I.3.3. Activité antioxydante....24
I.3.4. Toxicité....25
I.4. GÉNÉRALITÉS SUR LES PLANTES ÉTUDIÉES....25
I.4.1. *Artabotrys insignis* et *Artabotrys jollyanus*....25
I.4.1.1. *Artabotrys insignis*....25
a. Position systématique....25
b. Description botanique....25
I.4.1.2. *Artabotrys jollyanus*....26
a. Position systématique....26
b. Description botanique....26
I.4.1.3. Travaux antérieurs sur le genre *Artabotrys*....27
I.4.1.4. Usages traditionnels....32
I.4.2. *Beilschmiedia mannii*....33
I.4.2.1. Position systématique....33
I.4.2.2. Description botanique....33
I.4.2.3. Usages traditionnels....34
I.4.2.4. Travaux antérieurs réalisés sur le genre *Beilschmiedia*....35
I.4.3. *Dacryodes klaineana*....41
I.4.3.1. Position systématique....41

I.4.3.2. Description botanique 41
I.4.3.3 Usages traditionnels 42
I.4.3.4. Travaux antérieurs sur le genre *Dacryodes* 43
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES 47
II.1. MATERIEL 48
II.1.1 Matériel végétal 48
II.1.2. Matériel d'extraction et d'analyse 52
II.1.2.1. Matériel d'extraction 52
II.1.2.2. Matériel d'analyse 52
a. Analyse par CPG (Ir) 52
b. Analyse par CPG-SM 53
c. Analyse par RMN 54
d. Analyse par spectrophotométrie 54
II.2. METHODES 55
II.2.1. Extraction des HE par hydrodistillation 55
II.2.2. Analyses des HE 56
a. Préparation des échantillons d'HE 56
b. Analyse par CPG (Ir) 56
c. Analyse par CPG-SM 56
d. Analyse par RMN 57
II.2.3. Identification des constituants des HE 57
II.2.4. Analyses statistiques 58
II.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante des HE par spectrophotométrie 58
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION 60
III.1. ETUDE DE L'HE DE FEUILLES D'*ARTABOTRYS INSIGNIS* 61
III.1.1. Identification et quantification du β-élémène et du germacrène A 61
III.1.2. Composition chimique de l'HE de feuilles d'*Artabotrys insignis* 63
III.2. ETUDE DE L'HE D'*ARTABOTRYS JOLLYANUS* 66
III.2.1. HE de feuilles 66
III.2.1.1. Etude de l'échantillon F4 66
III.2.1.2. Identification des constituants à partir de données de la littérature 69
a. Identification du 7-hydroxycalamenène 69
b. Identification du cadina-1,4-diène 70
c. Identification du cadina-3,5-diène 70

III.2.1.3. Etude de la composition chimique en fonction du cycle végétatif.....71
III.2.2 Huile essentielle d'écorce de tige.....74
III.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....76
III.3. CARACTERISATION DES HE DE *BEILSCHMIEDIA MANNII*.....79
III.3.1. Etude de l'HE d'écorces de racine.....79
III.3.1.1 Composition chimique de l'HE.....79
III.3.1.2. Identification du β-barbatène.....81
III.3.2. Etude de l'HE d'écorces de tronc.....82
III.3.3. Etude de l'HE de feuilles.....84
III.3.3.1. Etude de quatre échantillons d'HE de feuilles.....84
III.3.3.1. Identification de l'aristolochène.....87
III.3.3.2. Etude de la variabilité chimique de l'HE de feuilles.....88
III.3.4. Bilan de l'analyse des HE de *Beilschmiedia mannii*.....92
III.4. CARACTERISATION DES HE DE *DACRYODES KLAINEANA*.....94
III.4.1. Etude de l'HE d'écorce de racine.....94
III.4.2. Etude de l'HE d'écorce de tronc.....96
III.4.2.1. Analyse de cinq échantillons d'HE d'écorce de tronc.....96
III.4.2.2. Identification du spirolépéchinène.....98
III.4.2.3. Etude de la variabilité chimique de l'HE d'écorce de tronc.....99
III.4.3. Etude de la variabilité chimique de l'HE de feuilles.....104
III.4.4. Bilan de l'analyse des HE de *Dacryodes klaineana*.....108
CONCLUSION.....109
REFERENCES.....113
ANNEXES.....125
PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE.....160
ABSTRACT.....171
RESUME.....172

AVANT-PROPOS

Ces travaux réalisés en convention de codirection en vue de l'obtention du Doctorat en Chimie des Substances Naturelles, est le fruit de la collaboration entre :

- le Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN) de l'Unité de Formation et de Recherches des Sciences Fondamentales et Appliquées (UFR-SFA) de l'Université Nangui Abrogoua (UNA) sous la direction du Professeur BEKRO Yves-Alain ;
- et 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 études préparatoires et les travaux d'extraction et de conditionnement des huiles essentielles ont été réalisés au sein du LCBOSN, puis les analyses chromatographiques et spectrométriques des échantillons ont été effectuées dans l'unité SPE.

REMERCIEMENTS

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

Tout particulièrement j'aimerais remercier :
Mes Directeurs :

Monsieur BEKRO Yves-Alain, Professeur Titulaire, Directeur du « Laboratoire de Chimie Bio-organique et de Substances Naturelles » de l'Université Nangui-Abrogoua (UNA), Vice-Président honoraire de l'UNA, Doyen honoraire de l'UFR-SFA. Vous avez accepté d'assurer mon encadrement depuis mon initiation à la recherche dans le cadre de mon DEA. Vous m'avez renouvelé votre confiance pour la réalisation de ma thèse. Votre engagement a permis l'aboutissement de ce travail de thèse. Votre rigueur pour le travail, maintes fois exprimée, a su me maintenir en éveil dans tous les sens du mot et éloigner le découragement qui semblait vouloir prendre place des fois. Je n'aurai de cesse de vous dire merci pour l'abnégation que vous m'avez inspirée.

Monsieur Félix TOMI, Professeur de l'Université de Corse, Directeur de l'équipe « Chimie et Biomasse » CNRS UMR- 6132. Je suis très sensible à l'honneur que vous m'avez fait en m'accueillant au sein du laboratoire « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse. Votre disponibilité et votre sollicitude ainsi que les qualités relationnelles que vous m'avez témoignées, tout au long de mon séjour, ont grandement contribué à la finalisation cette thèse.

A tous les deux, je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance. Leur expérience manifestée à travers une très grande rigueur scientifique, ainsi que leurs précieux conseils ont permis la réalisation de cette thèse. Je reste très sensible à leur grande disponibilité et à la confiance qu'ils ont bien voulu m'accorder. Qu'ils veuillent bien trouver ici l'expression de mes sincères remerciements en témoignage de toute ma gratitude.

Je remercie Monsieur BOA David (Professeur Titulaire, Université Nangui Abrogoua) pour le temps qu'il a pu consacrer à la lecture de mon manuscrit. Merci Monsieur d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse.

Je suis également très sensible à l'honneur que me font Monsieur le Docteur KRE N'Guessan Raymond (Maître de Conférences, Directeur de l'UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua) et Monsieur le Docteur ATTIOUA Koffi Barthélémy (Maître de Conférences, Université Félix Houphouët Boigny), en acceptant d'être les rapporteurs de ce travail. Je suis très heureux de bénéficier de leurs recommandations, et je tiens à leur exprimer ma sincère reconnaissance pour cette marque d'intérêt.

Je tiens à témoigner ma profonde reconnaissance à Madame MAMYRBEKOVA Janat A. épouse BEKRO, Professeur Titulaire, Directrice du pôle de recherche « Pharmacopée Africaine et Substances Naturelles », Vice-directrice du « Laboratoire Chimie Bio-organique

et de Substances Naturelles » et Responsable du DEA Chimie et Physico-chimie des substances naturelles. Votre accessibilité, votre disponibilité et votre goût pour le travail sont le témoignage de votre indéfectible engagement dans la réussite de tous les étudiants qui ont le grand honneur de vous côtoyer. Du plus profond du cœur, je vous dis merci.

Ma reconnaissance va également à l'endroit de Monsieur BIGHELLI Ange, Professeur à l'Université de Corse. J'ai été sensible pour votre rigueur scientifique, vos conseils permanents et votre bienveillance.

Que Monsieur Joseph CASANOVA (Professeur émérite, Université de corse) trouve ici l'expression de mes remerciements pour ces conseils avisés et l'aide inestimable apportée lors de la rédaction des articles valorisants cette thèse.

Mes plus vifs remerciements aux Docteurs OUATTARA Zana Adama et YAPI Acafou Thierry, « mes amis » ; vous m'avez en plus exprimé votre fraternité en devenant le canal par lequel j'ai pu être accepté au sein du laboratoire « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse pour les travaux d'analyse à un moment où ma thèse n'avait de cesse que de battre de l'aile. Merci aussi pour l'aide incontestable et précieuse pour la réalisation de mon mémoire par vos conseils et observations et surtout votre disponibilité.

Remerciements spéciaux au Docteur BOTI Jean-Brice (Maître de Conférences, Université Félix Houphouët Boigny) pour ses nombreux conseils et sa sympathie.

Je remercie également Monsieur Vincent CASTOLA (Doyen de la Faculté des Sciences) pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire « chimie et Biomasse » et sa contribution à mes travaux de recherche.

Au Docteur Mathieu PAOLI, Ingénieur de Recherche de Université de Corse affectueusement appelé « Coach Mathieu ». Merci pour la formation à la maîtrise des matériels et outils d'analyse du laboratoire. Disponible vous l'avez été ; votre grande expérience et vos nombreux conseils m'ont été très profitables. Merci également pour l'aide apportée lors de l'identification des molécules dans les échantillons. Recevez toute mon amitié, ma gratitude et ma sympathie.

Je tiens à remercier le Docteur GIBERNAU Marc, Chercheur CNRS, pour sa très grande sympathie et ses conseils. Merci d'avoir favorisé mon intégration à la vie du laboratoire SPE et la bonne ambiance continuellement semée.

Au Docteur SUTOUR Sylvain, merci pour cette ambiance à l'africaine que vous n'étiez jamais loin de créer. Merci également d'avoir apprécié cette sauce à l'arachide qui a aussi meublé mon court séjour. Plus sérieusement merci pour l'aide apportée et votre expérience manifestée pour palier bon nombre de difficultés. Toute mon amitié et ma sympathie à vous.

Je tiens également à remercier MM. NOTTON Gilles, LOUCHE Alain, POGGI Philippe de l'équipe « Système à Sources Renouvelables d'Energie » et Madame Bradesi Pascale pour leur sympathie, leur gentillesse et leur bonne humeur.

Mes remerciements vont à l'endroit de tous les enseignants-chercheurs du Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles : aux Maîtres de Conférences BENIE Anoubilé, feu ZABRI Hervé, KODJO Charles, BOSSON Antoine et BOUA Boua Benson ; aux Docteurs : N'GAMAN Christelle épse KOUASSI, KONAN Marcel, N'GUESSAN Alain Hugues, KABRAN Guy-Roger et KADJA Amani Brice.

Je remercie tous les membres et personnel du centre de recherche UMR CNRS 6134 de Vignola en particulier, GALTIE Jennifer, OUVRARD David et son épouse Sonia, PIGELET Guillaume, HÛ Gaëlle, MOTTE Fabrice pour leur gentillesse et les moments agréables qu'ils m'ont permis de passer et surtout de partager.

Que Messieurs TOMI Pierre et THIBAUDAT Yves trouvent l'expression ici de mes remerciements pour leur gentillesse, leur sollicitude et la bonne humeur qu'ils ont bien voulu me faire partager.

À Mesdames BOSQUET Marie-Christine et LUGREZI Cathy, personnels CNRS du laboratoire partis à la retraite (pendant mon séjour), mes vifs remerciements pour le soutien moral, la gentillesse et la disponibilité qu'elles ont manifestés quand le besoin s'est fait sentir.

Je remercie les camarades de l'équipe « Chimie et Biomasse » : ESSELIN Hélène, ABOUKHALID Kaoutar et GARCIA Gabriel, ainsi que ceux de l'équipe « énergies renouvelables » en physique, SI AHMED Dalia, ESPINOSA-LOPEZ Felipe Manuel pour leur soutien amical et leur très grande sympathie.

Mes remerciements vont également à l'endroit de tous les Doctorants du laboratoire Chimie Bio-organique et de Substances Naturelles tout particulièrement GUESSAN Bi Goblé Landry « Gonin ih bôh bah bah » et Kouadio Fulbert pour leur aide durant les récoltes des plantes et la réalisation des échantillons.

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

Merci et une reconnaissance infinie au Docteur OUATTARA Djakalia, Maître de Conférences à l'Université Félix Houphouët Boigny, Directeur de l'ONG CASES. Cette thèse n'aurait pu trouver son dénouement sans l'aide financière octroyée par votre organisation (CASES) pour le financement du séjour d'une durée de huit mois au sein du Laboratoire SPE.

DÉDICACE

A DIEU, le père TOUT PUISSANT

A la mémoire de mon père

A ma très chère mère

A mon épouse et à mes enfants

A mes frères et sœurs

A tous mes amis

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES SYMBOLES

ACP : Analyse en Composante Principale
AFNOR : Association Française de Normalisation
CAN : Convertisseur Analogique Numérique
CHA : Classification Hiérarchique Ascendante
CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse
CPG(Ir) : Chromatographie en Phase Gazeuse (Indice de rétention)
CPG-SM : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectroscopie de Masse
DEPT : Distortionless Enhancement by Polarization Transfer / Amélioration sans distorsion par transfert de polarisation
DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle
ET : Ecart-type
FID : Free Induction Decay / Décroissance par induction libre
HE : Huile Essentielle
Ira : Indice de rétention sur colonne apolaire BP-1
Irp : Indice de rétention sur colonne polaire BP-20
ISO : International Standardisation Organisation / Organisation Internationale de Standardisation
M : Moyenne
RMN ^{1}H : Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN ^{13}C : Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
RMN 1D : Résonance Magnétique Nucléaire monodomensionnelle
RMN 2D : Résonance Magnétique Nucléaire bidimensionnelle
TMS : Tétraméthylsylane

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Différentes voies d'analyses des mélanges naturels complexes. 8
Figure 2 : Identification des constituants d'un mélange complexe par RMN ^{13}C. 19
Figure 3 : Feuilles et tige d'*Artabotrys insignis* (Source : http://annonaceae.myspecies.info/sites/annonaceae.myspecies.info/files/IMG_2159-TC80.jpg) 26
Figure 4 : Feuilles et tige d'*Artabotrys jollyanus* (Photo prise par Gooré Stéphane, 2015) ... 27
Figure 5 : Quelques composés identifiés dans les extraits aux solvants d'espèces du genre *Artabotrys* 28
Figure 6 : Quelques composés volatils identifiés dans des espèces d'*Artabotrys* 31
Figure 7 : Feuilles de *Beilschmiedia mannii* (Photo prise par Gooré Stéphane, 2015) 34
Figure 8 : Quelques composés non-volatils isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* 37
Figure 9 : Quelques composés volatils identifiés des espèces du genre *Beilschmiedia* 40
Figure 10 : Feuilles de *Dacryodes klaineana* (Photo prise par Gooré Stéphane, 2015) 42
Figure 11 : Quelques composés non-volatils isolés des espèces du genre *Dacryodes* 44
Figure 12 : Quelques composés volatils identifiés dans des espèces du genre *Dacryodes* 46
Figure 13 : Carte indiquant les sites des différentes récoltes. 49
Figure 14 : Dispositif d'extraction des HE (Photo prise par Guessan Bi Goblé, 2015) 52
Figure 15 : Chromatographe en phase gazeuse Perkin-Elmer Clarus 500 (Photo prise par Gooré Stéphane, 2016) 53
Figure 16 : Chromatographe en phase gazeuse Perkin-Elmer Clarus autosystem XL, couplé à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass (Photo prise par Gooré Stéphane, 2016) 53
Figure 17 : Spectromètre Brücker 400 AVANCE (Photo prise par Gooré Stéphane, 2016) .. 54
Figure 18 : Spectrophotomètre Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis (Photo prise par Boué Blanchard, 2017) 55
Figure 19 : Transformation du germacrène A en β-élémène par transposition de Cope 62
Figure 20 : Pics du β-élémène et du germacrène A dans le spectre RMN de l'HE de feuilles d'*A. insignis* 62
Figure 21 : Identification des constituants de l'HE de feuilles d'*A. insignis* par RMN ^{13}C. .. 64
Figure 22 : Chromatogramme de l'échantillon F4 67
Figure 23 : Spectre RMN ^{13}C de l'échantillon F4 67
Figure 24 : Courbes d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des HE et de la vitamine C 77
Figure 25 : CI_{50} des HE des échantillons et de la vitamine C 78
Figure 26 : ACP sur 45 échantillons d'HE de feuilles de *B. mannii*. 91
Figure 27 : Dendrogramme sur 45 échantillons d'HE de feuilles de *B. mannii*. 91
Figure 28 : ACP sur 51 échantillons d'HE de troncs de *D. klaineana*. 101
Figure 29 : Dendrogramme sur 51 échantillons d'HE de troncs de *D. klaineana*. 101
Figure 30 : Principaux constituants des groupes I, II et III. 103
Figure 31 : ACP sur 30 échantillons d'HE feuilles de *D. klaineana*. 106
Figure 32 : Dendrogramme sur 30 échantillons d'HE de feuilles de *D. klaineana*. 107

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Coordonnées GPS des différents sites de récolte des plantes d'étude..... 48
Tableau II : Tableau récapitulatif des échantillons..... 51
Tableau III : Composés identifiés par RMN ^{13}C dans l'HE de feuilles d'*A. insignis*..... 63
Tableau IV : Composition chimique de l'HE de feuilles d'*A. insignis*. 65
Tableau V : Composition chimique de l'échantillon F4 d'*Artabotrys jollyanus*..... 68
Tableau VI : Structure et déplacements chimiques du 7-hydroxycalamenène..... 69
Tableau VII : Structure et déplacements chimiques du cadina-1,4-diène 70
Tableau VIII : Structure et déplacements chimiques du cadina-3,5-diène 71
Tableau IX : Evolution de la composition chimique de l'HE de feuilles d'*A. jollyanus* 72
Tableau X : Composition chimique de l'HE d'écorce de tige d'*A. jollyanus*..... 75
Tableau XI : Composés identifiés dans l'HE d'écorce de racine de *B. mannii*..... 80
Tableau XII : Structure et déplacements chimiques du β-barbatène..... 81
Tableau XIII : Composition chimique des HE d'écorce de tronc de *B. mannii*..... 83
Tableau XIV : Composés identifiés dans les HE de feuilles de *B. mannii*..... 86
Tableau XV : Structure et déplacements chimiques de l'aristolochène 88
Tableau XVI : Pourcentages moyens et écarts types des principaux constituants identifiés dans les quatre groupes. 92
Tableau XVII : Composition chimique de l'HE d'écorce de racine de *D. klaineana*..... 95
Tableau XVIII : Composés identifiés dans les HE d'écorce de troncs de *D. klaineana*..... 97
Tableau XIX : Structure et déplacements chimiques du spirolépéchinène décrits dans la littérature (Eggers *et al*., 1999) et observés dans l'échantillon n°48 d'HE de tronc de *D. klaineana*. 99
Tableau XX : Pourcentages moyens et écarts types des principaux constituants identifiés dans les trois groupes. 102
Tableau XXI : Pourcentages moyens et écarts types des principaux constituants du groupe I. 107

ANNEXES

Annexe 1 : Carte de la Côte d'Ivoire avec la zone des différentes récoltes. 126
Annexe 2 : Spectre de masse du *cis*-calamenène. 127
Annexe 3 : Spectre de masse du *trans*-calamenène. 128
Annexe 4 : Chromatogrammes de quelques échantillons d'huile essentielle de feuilles de *Beilschmiedia mannii*. 129
Annexe 5 : Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Beilschmiedia mannii*. 131
Annexe 6 : Chromatogrammes de quelques échantillons d'huile essentielle de troncs de *Dacryodes klaineana*. 141
Annexe 7 : Chromatogramme et spectre RMN ^{13}C de l'échantillon n°50 d'huile essentielle de troncs de *Dacryodes klaineana*. 143
Annexe 8 : Composition chimique de l'huile essentielle de troncs de *Dacryodes klaineana*. 144
Annexe 9 : Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Dacryodes klaineana*. 154

INTRODUCTION

Dans les pays en développement, les problèmes du médicament se posent en termes de quantité, de qualité et d'accessibilité économique. Dans le contexte socio-économique de ces pays, l'étude des plantes peut aboutir à l'obtention de réponses thérapeutiques adéquates, joignant à une efficacité scientifique prouvée, une acceptabilité culturelle optimale. Les plantes médicinales pourront alors constituer une alternative crédible aux médicaments issus de la synthèse chimique et/ou aux spécialités trop chères à produire ou à acheter dans ces pays.

Les plantes aromatiques ou plantes produisant des huiles essentielles (HE) figurent parmi les plantes utilisées en médecine traditionnelle. Ces HE sont extraites de ces plantes entières ou des divers organes qui les constituent. Elles sont la plupart du temps obtenues par entraînement à la vapeur d'eau. Elles constituent une matière première destinée à divers secteurs d'activités industrielles. En effet, leurs utilisations sont très nombreuses et variées. Les HE sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour rehausser le goût des aliments grâce à leurs propriétés organoleptiques (Sacchetti *et al*., 2005 ; Blaquière *et al*., 2006) et pour leur conservation grâce aux effets antimicrobiens et antioxydants de certains de leurs constituants (Burt, 2004 ; Lee *et al*., 2005 ; Blaquière *et al*., 2006). En raison de leurs propriétés olfactives et leurs activités biologiques et pharmacologiques, elles interviennent également dans la pharmaceutique, la cosmétique, la parfumerie, dans les produits de bien-être (aromathérapie) et les produits d'entretien. Elles apportent aussi des solutions en agriculture biologique, réduisant les effets néfastes des pesticides de synthèse comme la pollution ou le développement de résistances.

Les HE étant généralement des mélanges très complexes, leur valorisation doit nécessairement passer par la connaissance précise de leur composition chimique. Le but étant de les caractériser, de contrôler leur qualité et de mettre en évidence une éventuelle spécificité chimique. Afin d'atteindre ces différents objectifs, de nombreuses techniques analytiques sont mises au point et utilisées en fonction du résultat recherché. La démarche analytique utilisée doit alors présenter une très grande fiabilité, et nécessite généralement l'association de plusieurs techniques complémentaires. Aux techniques classiques et conventionnelles d'analyse des HE, vient s'ajouter une méthode développée par l'équipe "Chimie et Biomasse" du Laboratoire Sciences Pour l'Environnement (SPE) de l'Université Pascal Paoli de Corse (France). Elle s'appuie sur l'utilisation de la RMN du carbone 13 (RMN ^{13}C) pour l'identification des constituants d'un mélange complexe, sans séparation préalable. Cette méthode d'analyse utilise grandement l'outil informatique dans sa mise en œuvre. Son principe est basé sur la comparaison, grâce à un logiciel d'aide à l'identification, des signaux

RMN des carbones dans le spectre du mélange avec ceux de composés de référence contenus dans des bibliothèques de spectres. Elle fait suite aux travaux précurseurs de Formàcek et Kubeczka (1982a, 1982b, 2002) qui utilisaient la RMN ^{13}C pour confirmer la présence de constituants dans les mélanges naturels.

L'objectif du travail est de contribuer à la caractérisation de quelques plantes aromatiques et médicinales de Côte d'Ivoire, à travers la composition chimique de leurs HE et de mettre en évidence une homogénéité ou une variabilité chimique intraspécifique. Spécifiquement, nous nous baserons pour cela sur la méthode d'analyse et d'identification développée par l'équipe " Chimie et Biomasse " de l'Université de Corse. Le but visé étant d'identifier avec certitude le maximum de constituants des HE et de mettre en évidence une homogénéité ou une variabilité chimique intra spécifique. Pour cette étude, notre choix s'est porté sur quatre plantes aromatiques : deux Annonacées (*Artabotrys insignis* et *Artabotrys jollyanus*), une Lauracée (*Beilschmiedia mannii*) et une Burseracée (*Dacryodes klaineana*).

Dans le premier chapitre de notre travail, outre les généralités sur les HE, nous décrirons les différentes techniques conventionnelles d'analyse des mélanges naturels, en mettant en évidence leurs avantages et leurs limites. Nous insisterons tout particulièrement sur la méthode d'analyse par RMN ^{13}C employée dans l'analyse structurale des constituants chimiques.

Le deuxième chapitre sera consacré à la présentation du matériel végétal et technique utilisé ainsi que les méthodes que nous avons employées dans la réalisation de nos études.

Dans le troisième chapitre, nous présenterons les résultats que nous avons obtenus et la discussion qui en découle.

CHAPITRE I :
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. GENERALITES SUR LES HE

I.1.1. Définition

Une huile essentielle (HE) se définit, selon la pharmacopée Européenne 7ème édition, comme étant un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entrainement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entrainant pas de changement significatif de sa composition ». (Duval, 2012)

Les HE sont des extraits naturels de substances volatiles, d'odeur et de saveur généralement forte, obtenus à partir des différentes parties de certaines plantes (Belaiche, 1979 ; Wichtl et Anton, 1999). Elles sont produites par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Cseke et Kaufman, 1999) mais leur rôle n'est pas toujours bien défini.

I.1.2. Méthodes d'extraction

I.1.2.1. Hydrodistillation

C'est la méthode d'extraction la plus utilisée pour les HE. Elle consiste à mettre le matériel végétal, intact ou broyé, en contact direct avec l'eau par immersion dans un réacteur. On utilise généralement un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes (mélange eau+HE) sont condensées sur une surface froide et l'HE se sépare par différence de densité. Cette technique est utilisée au laboratoire avec un appareil de type Clevenger.

I.1.2.2. Entraînement à la vapeur

C'est le procédé le mieux couramment utilisé au niveau industriel pour l'extraction des HE, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques (Bego, 2001). A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'HE qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + HE ». Le mélange est ensuite véhiculé 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 : une phase aqueuse appelée eau florale ou hydrolat et une phase organique : l'HE. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques peut éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Lucchesi, 2005).

I.1.2.3. Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans cette technique, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais plutôt descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau + HE » dispersé dans la matière végétale. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact direct le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur (Lucchesi, 2005).

I.1.2.4. 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. 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 l'avantage de réduire le temps d'extraction (El Haib, 2011). Ce procédé, très rapide et peu consommateur d'énergie, donne un produit avec un rendement supérieur à celui du produit d'hydrodistillation traditionnelle (Bruneton, 1999), mais ses propriétés olfactives sont réputées inférieures.

I.1.2.5. Extraction par les solvants organiques et par procédés mécaniques

- ✓ Extraction par les solvants organiques

C'est une méthode utilisée lorsqu'il s'agit des organes végétaux présentant une concentration en HE relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut pas extraire par distillation (pétales de roses par exemple). Elle est basée sur le pouvoir de dissolution des solvants organiques liés à leur polarité et/leur caractére aprotique. Au cours de ce procédé, un épuisement des plantes est effectué à l'aide de plusieurs solvants de polarité différente dont

l'évaporation laisse conduit à des résidus parfois cireux, très colorés et très aromatiques appelé « concrète ». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à « l'absolue » (Duraffourd *et al*., 1990). Une des plus connues étant l'absolue de rose.

- ✓ Extraction par procédés mécaniques

Cette méthode est utilisée lorsqu'il s'agit des HE altérables par entraînement à la vapeur d'eau. Ces huiles sont extraites du péricarpe frais d'agrumes par différents modes d'extraction : dans l'industrie, les zestes sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices est récupéré par expression manuelle ou à l'aide de machines qui rompent les poches par expression et recueillent directement l'HE (Bruneton, 1999) ; ou encore après scarifications mécaniques, un entraînement de l'HE par un courant d'eau. L'essence est séparée par décantation comme précédemment (Paris et Hurabielle, 1981). Cette méthode artisanale est totalement abandonnée au bénéfice des machines utilisées pour permettre l'extraction des jus des fruits d'une part, et des essences d'autre part (Belaiche, 1979) par centrifugation.

I.1.2.6. Extraction au CO_2 supercritique

Ce procédé d'extraction à froid est une technique récente qui semble augmenter le rendement dans le cas des plantes peu riches en HE. Il utilise les fluides à l'état supercritique pour extraire les composants contenus dans les végétaux. En effet, dans des conditions particulières de température et de pression situées au-delà du point critique, les fluides à l'état supercritique acquièrent des propriétés importantes qui se caractérisent par une bonne diffusibilité dans les matières solides et un bon pouvoir solvant. Plusieurs gaz sont actuellement utilisés industriellement, mais l'intérêt s'est plutôt porté sur le dioxyde de carbone (CO_2) car, celui-ci présente d'incontestables atouts : c'est un produit naturel, inerte chimiquement, ininflammable, non toxique, facile à éliminer totalement, sélectif, aisément disponible et peu couteux (Wichtl et Anton, 1999 ; Bruneton, 1999).

I.2. MÉTHODES D'ANALYSE

Les HE obtenues des espèces végétales par les méthodes d'extractions précédemment décrites sont, pour la plupart, des mélanges très complexes constitués de plusieurs dizaines (parfois plusieurs centaines) de composés différents. Elles renferment généralement des molécules monoterpéniques, sesquiterpéniques et quelques rares fois des diterpènes. Aussi, peut-on y retrouver divers composés de la famille des phénylpropanoïdes et mêmes des composés aliphatiques (composés non terpéniques). La valorisation ou la commercialisation de ces mélanges naturels, quelle que soit leur application, nécessite alors comme étape

préalable, la détermination de leur composition chimique c'est-à-dire l'identification et la quantification de leurs constituants. Cette étape est réalisée dans le but de les caractériser, de contrôler leur qualité et aussi peut-être de mettre en évidence une possible spécificité.

En fonction du résultat recherché ou du niveau de complexité du mélange naturel à caractériser, deux voies d'analyses (Figure 1) sont à privilégier.

- La voie A : cette voie est particulièrement bien adaptée aux analyses de routine (par exemple le contrôle de la qualité) d'échantillons d'HE ou d'extraits végétaux dont les constituants ont déjà été décrits dans la littérature. Elle fait intervenir le couplage « en ligne » d'une technique chromatographique (Chromatographie en Phase gazeuse (CPG), Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP)) avec une technique spectroscopique (Spectroscopie de Masse (SM), Infra Rouge par Transformée de Fourier (IRTF), etc.). La technique chromatographique permet l'individualisation et la quantification des constituants tandis que la méthode spectroscopique abouti à leur identification par comparaison de leurs données spectrales avec celles de produits connus.
- La voie B : elle est menée en deux étapes et s'impose lorsque les constituants d'un mélange présentent des difficultés d'identification (structures complexes et/ou très proches). Ainsi, le travail d'analyse comporte une étape préalable de purification de tous les composés par différentes techniques chromatographiques (Chromatographie sur couche mince (CCM), Chromatographie sur Colonne (CC), CLHP, …). Cette dernière est suivie d'une étude spectroscopique incluant la RMN ^{1}H et la RMN ^{13}C, et au besoin la RMN bidimensionnelle (RMN 2D) en vue de leur identification. Cette voie s'apparente à celle qui est mise en œuvre pour la caractérisation structurale de molécules nouvelles (données spectrales non décrites dans la littérature).
- Une autre voie, plus récente, intermédiaire entre les deux premières, peut être également utilisée : c'est la voie C (figure 1). Elle met en œuvre la résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN ^{13}C) pour l'identification des composés en mélange sans séparation préalable ou précédée d'une étape de fractionnement réduite au minimum. Cette technique peut également être employée pour la quantification des constituants lorsque celle-ci ne peut être réalisée par les méthodes usuelles.

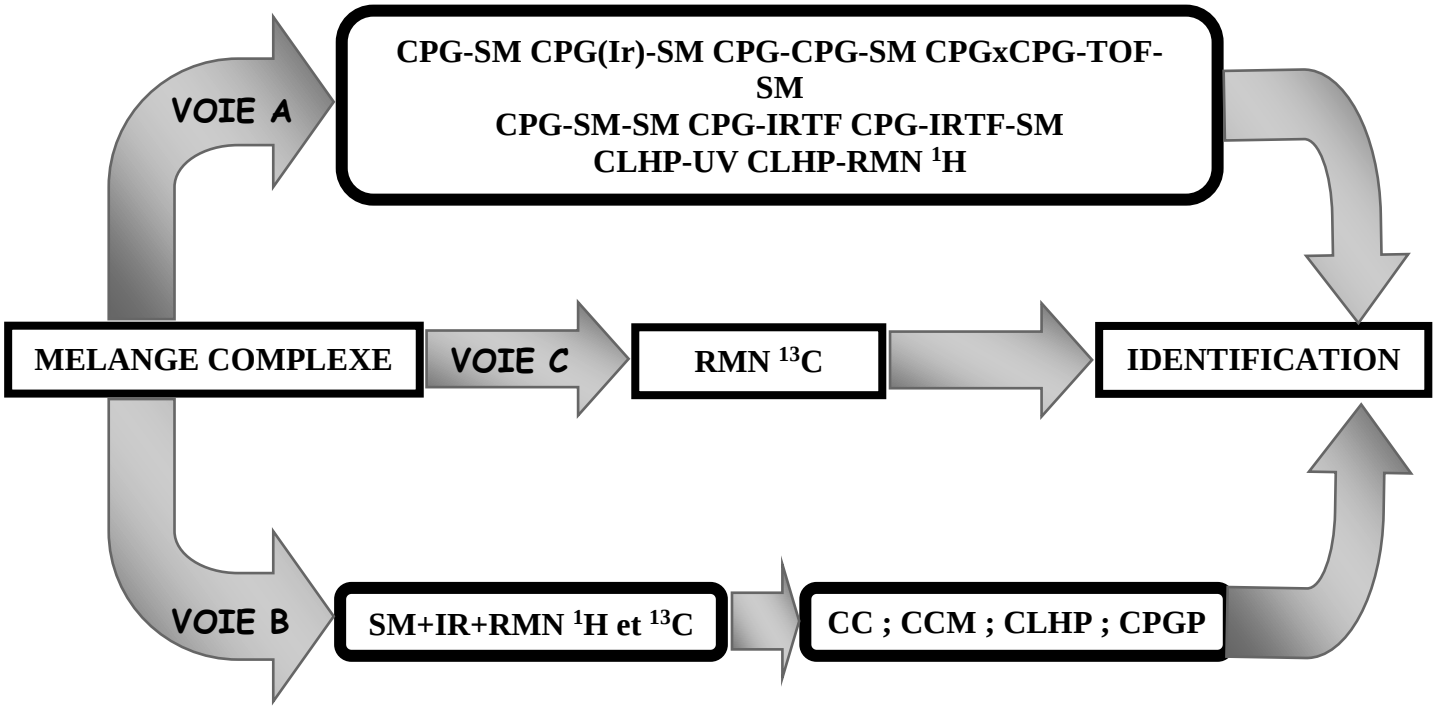


Figure 1 : Différentes voies d'analyses des mélanges naturels complexes.

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse, (Ir : Indice de rétention) ; SM : Spectrométrie de Masse ; CPG-TOF : Chromatographie en Phase Gazeuse –Time Of Flight ; CLHP : Chromatographie Liquide à Haute Performance ; RMN : Résonance Magnétique Nucléaire ; IRTF : Infrarouge par transformée de Fourier ; CCM : Chromatographie sur Couche Mince ; CC : Chromatographie sur colonne ; CPGP : Chromatographie en Phase Gazeuse Préparative.

I.2.1. Analyses par couplages « en ligne » : voie A

Il s'agit pour ce type d'analyse d'associer une ou plusieurs techniques chromatographiques, pour l'individualisation et la quantification des constituants, avec une ou plusieurs techniques spectroscopiques permettant l'identification de ces constituants par comparaison de leurs données spectrales avec celles des produits de référence. Ces derniers sont contenus dans des banques de données (généralement informatisées). Cette voie est particulièrement bien adaptée aux analyses de routine, notamment dans le cas des contrôles qualités d'échantillons d'HE ou d'extraits végétaux dont les constituants ne présentent pas de difficultés d'identification.

I.2.1.1. CPG associée aux indices de rétention

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique séparative qui s'applique principalement aux composés naturellement volatils, mais aussi à des molécules

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

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

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

- les écarts fréquemment constatés entre les indices de rétention obtenus au laboratoire avec ceux de la littérature pour un même composé, tout particulièrement pour les composés élués en fin de colonne sur colonne polaire,
- l'impossibilité d'identifier des sesquiterpènes uniquement sur la base des indices de rétention. Par exemple, Joulain (1994) remarque d'ailleurs que 230 sesquiterpènes de

même masse moléculaire se répartissent sur une plage de seulement 300 unités d'indices de rétention.

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

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

I.2.1.2. Couplage de la CPG avec des techniques spectroscopiques

a. Couplage CPG-SM

Le couplage de la CPG avec la spectrométrie de masse (CPG-SM) en mode impact électronique (IE) est la technique d'analyse de référence concernant les HE. Après individualisation par la CPG, les fractions chromatographiques sont analysées par le spectromètre de masse dans leur ordre d'élution. Chaque pic chromatographique est ainsi associé à un spectre de masse. L'identification des composés se fait par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés de référence présents dans des bibliothèques de spectres informatisées, qui sont soit commerciales (Adams, 1989, 2001, 2007 ; McLafferty *et* Stauffer, 1994 ; NIST, 1999 ; König *et al*., 2001) soit élaborées dans les laboratoires. L'utilisation des bibliothèques réalisées au sein des laboratoires donne généralement des résultats nettement plus fiables que les bibliothèques commerciales car elles contiennent des spectres de références enregistrés dans les mêmes conditions expérimentales que celles des mélanges à étudier.

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

Néanmoins, des difficultés subsistent avec ce couplage dans le cas où l'on rencontre par exemple des composés ayant des spectres de masse insuffisamment différenciés. Des

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

b. Couplage CPG-SM-SM

L'analyse spectrale peut être améliorée en utilisant la spectroscopie de masse multidimensionnelle à double analyseur (SM-SM). Cette technique est réputée pour sa sélectivité, nettement supérieure à celle du spectromètre à un seul 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 " masse sur charge (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 Rouessac, 2004).

c. Couplage CPG-IRTF et CPG-IRTF-SM

Généralement la spectrométrie Infra-rouge (IR) permet d'obtenir des informations sur les fonctions chimiques présentes dans les molécules. Elle permet également de différencier des stéréoisomères géométriques et d'identifier certaines molécules par l'examen de la partie de leur spectre dite « des empreintes digitales » (« fingerprint » en anglais). 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 de la CPG avec la spectrophotométrie IR (CPG-IRTF). Le spectre IR obtenu peut être comparé à ceux de bibliothèques informatisées. Le chromatographe peut être couplé en parallèle à la fois au détecteur IR et au spectromètre de masse (CPG-IRTF-SM). Le couplage CPG-IRFT a permis d'identifier de nombreuses molécules dont le germacrène B qui se transforme partiellement en γ-élémène par transposition de Cope sous l'effet de l'impact électronique dans les HE d'orange et de pamplemousse (Chamblee *et al*., 1997).

d. CPG bidimensionnelle

La CPG bidimensionnelle consiste à coupler deux colonnes de natures différentes pour avoir une meilleure séparation. Les éventuelles possibilités de co-élutions de différents constituants dans les mélanges sont alors réduites voire supprimer. On distingue deux méthodes de CPG bidimensionnelle : la CPG bidimensionnelle par « heart-cutting » (CPG – CPG) et la CPG bidimensionnelle intégrale (« Comprehensive CPG x CPG »). La différence entre ces deux méthodes réside dans le fait que dans la première, le mélange à analyser est injecté dans une première colonne de chromatographie (le plus souvent apolaire) puis une fraction sélectionnée est transférée dans une seconde colonne de polarité différente (le plus souvent polaire) dans le but d'améliorer sa résolution et de séparer ainsi des composés qui co-éluaient. Dans la seconde méthode, la totalité de l'échantillon passe successivement dans les deux colonnes de chromatographie ; la première colonne ayant les dimensions classiques pendant que la seconde est plus courte avec un diamètre plus faible et permet donc une seconde séparation très rapide.

La CPG bidimensionnelle peut être couplée avec la spectroscopie de masse avec détecteur à temps de vol (Time Of Flight) (CPGxCPG-TOF-SM). Ainsi, dans les mêmes conditions opératoires Wu *et al*. (2004) ont détectés 79 pics par CPG et plus de 800 pics résolus par CPGxCPG lors de l'étude de l'HE de *Pogostemon cablin* Benth (Cablin Patchouli). Comparativement la CPGxCPG-TOF-SM a permis d'identifier 394 composés contre 27 composés identifiés par CPG-SM.

I.2.1.3. Couplage de la CLHP avec des techniques spectroscopiques

a. 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).

b. 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).

c. Couplage CLHP-RMN ^{1}H

La RMN ^{1}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).

I.2.2. Analyses après purification des composés : voie B

Deux étapes constituent cette voie d'analyse : la première concerne le fractionnement d'un mélange complexe à l'aide de différentes techniques chromatographiques telles que la chromatographie sur colonne (CC), la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie sur couche mince haute performance (CCMHP), la CLHP ou la CPG préparative (CPGP). Cette étape peut parfois être précédée d'une distillation fractionnée ou d'une partition acido-basique. La seconde étape concerne l'utilisation de techniques spectroscopiques. En effet, les différents constituants séparés ou isolés (ou très majoritaires dans une fraction chromatographique) sont identifiés par comparaison de leurs données spectrales avec celles de composés de références (spectre de masse, spectre IR, spectres de RMN ^{1}H ou ^{13}C, ou éventuellement RMN bidimensionnelle (RMN-2D)). Cette méthode est assez longue dans sa mise en œuvre mais est extrêmement fiable pour l'identification des composés présents dans un mélange. Elle est aussi adaptée pour l'étude d'HE complexes, en particulier lorsque celles-ci contiennent de nombreux sesquiterpènes oxygénés. Elle s'avère

également indispensable lorsqu'il s'agit d'élucider la structure d'un composé qui n'a jamais été décrit.

La voie B (purification-identification) a été d'abord utilisée pour la caractérisation chimique d'HE avant que la voie A (couplages en ligne) soit privilégiée notamment pour sa rapidité. Elle est néanmoins toujours utilisée dans le cas d'HE très complexes.

I.2.3. Méthode d'identification par RMN du carbone 13, sans séparation préalable :

VOIE C

L'identification des composés des mélanges complexes peut être menée par une troisième voie, intermédiaire entre les deux précédentes : c'est la voie C. Le principe de cette méthode d'identification et au besoin de quantification des constituants des mélanges complexes naturels repose sur l'analyse par RMN ^{13}C du mélange, sans séparation préalable. Avec cette méthode, on évite ou au moins on réduit les longues étapes de purification des constituants contenus dans un mélange. Elle a longtemps été utilisée comme méthode de confirmation de la présence de certains composés plutôt que comme une véritable méthode d'identification. Les travaux initiaux de Formácek et Kubeczka (1982a, 1982b) ont été poursuivis et ont donné lieu à la mise au point et au développement d'une technique d'analyse et d'identification, sans séparation préalable, des constituants d'un mélange naturel par l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse. Cette méthode est basée sur l'analyse informatisée du spectre RMN ^{13}C du mélange (Corticchiato et Casanova, 1992 ; Tomi *et al*., 1995).

I.2.3.1. Intérêt de la RMN ^{13}C

Quoique son abondance isotopique naturelle faible (1,1% en proportion) et son moment gyromagnétique le rendent moins sensible que le proton (environ 5700 fois) (Günther, 1994), le carbone 13 (^{13}C) est malgré tout préféré aux autres noyaux dans le domaine de l'analyse des mélanges complexes car il présente certains avantages qui sont liés au fait que :

- l'élément carbone est présent dans toutes les molécules organiques et les différents noyaux de l'isotope de nombre de masse 13 sont presque toujours magnétiquement non équivalents. Il est alors possible d'observer dans la très grande majorité des cas, autant de raies de résonance sur le spectre de RMN ^{13}C qu'il y a de carbones dans la molécule ;

- les spectres de RMN ^{13}C peuvent être simplifiés par irradiation totale des noyaux d'hydrogène, ce qui permet de n'observer dans le spectre qu'une seule raie de résonance par carbone (Williamsion et Neuhaus, 1989) ;
- le temps de relaxation transversal T_2 (temps de relaxation spin-spin) est plus important pour le carbone que pour le proton. Ainsi, la largeur à mi-hauteur du signal de résonance étant inversement proportionnelle à T_2, il en résulte un gain dans la finesse des pics et donc en résolution ;
- le domaine de résonance du carbone s'étend sur une plage beaucoup plus large que celle du proton (240 ppm contre 14 ppm). La dispersion spectrale est ainsi améliorée et un grand nombre de raies de résonance est observable dans le spectre du mélange, évitant alors un nombre rédhibitoire de superpositions ;
- on évite la dégradation ou la transformation éventuelle des molécules thermosensibles car l'enregistrement des spectres de RMN ^{13}C est réalisé à température ambiante. L'échantillon analysé peut être récupéré et soumis à d'autres analyses car il n'est pas altéré au cours de l'analyse par RMN.

I.2.3.2. Identification des constituants en mélange

Pour identifier les constituants d'un mélange par RMN ^{13}C, on compare les déplacements chimiques des carbones du mélange avec ceux de composés de référence contenus dans une ou plusieurs bibliothèques de spectres. Avec cette méthode, les composés ne sont pas préalablement purifiés, contrairement aux précédentes techniques de couplage entre un chromatographe et un spectromètre. Pour identifier un composé au sein d'un mélange, il faut donc être à même de pouvoir observer les signaux qui lui appartiennent et de les individualiser, puis d'attribuer les déplacements chimiques à ce composé donné. Les conditions expérimentales d'enregistrement des spectres du mélange et des spectres des composés de référence doivent donc être standardisées et optimisées pour permettre une bonne reproductibilité des résultats obtenus.

a. Observation des signaux

L'observation des raies de résonance des carbones d'une molécule dans le spectre d'un mélange dépend de certains paramètres qui sont :

- la masse de produit disponible et la proportion de la molécule dans le mélange ;
- la solubilité du produit dans le solvant choisi ainsi que sa viscosité ;

- la sensibilité de l'appareil qui s'exprime par le rapport signal sur bruit (S/B) ;
- le nombre d'acquisitions dans l'enregistrement du spectre.

Pour compenser le manque de sensibilité (S/B) ou de produit, il s'avère nécessaire :

- d'augmenter le nombre d'acquisitions ; la durée d'enregistrement du spectre devient cependant beaucoup plus longue.
- d'utiliser une cryosonde (sonde à antennes refroidie) reliée à une unité cryogénique à l'hélium. Ce type de sonde permet de multiplier la sensibilité d'un facteur 4 et de diminuer la durée d'expérimentation d'un facteur 16 ;
- d'utiliser des aimants supraconducteurs à très hauts champs (23,5 Tesla pour les plus performants) pour augmenter sans conteste la sensibilité de la RMN.

b. Individualisation des signaux

L'individualisation des signaux dépend de la résolution de l'appareil de RMN qui est elle-même liée à la puissance de l'aimant et aux caractéristiques du système informatique permettant l'acquisition du signal. L'étape d'individualisation est indispensable pour parvenir à l'identification des constituants d'un mélange par RMN ^{13}C. En effet, le nombre de constituants dans les mélanges et le nombre de carbones que contient chacun d'eux sont autant de facteurs qui augmentent la probabilité de superposition des raies de résonance, contrairement aux composés purs ou la superposition des signaux de deux carbones est très peu fréquente.

De la même manière que pour la sensibilité, divers paramètres influent sur la résolution :

- le champ magnétique : plus sa valeur est élevée, plus la séparation des signaux de résonance des différents noyaux est importante. Ceci facilite grandement l'interprétation des spectres surtout dans le cas des études réalisées sur des composés ayant une masse moléculaire élevée (oligomères et protéines, par exemple), dont les spectres sont très complexes ;
- l'amélioration de la digitalisation des données par l'utilisation d'un convertisseur analogique numérique (CAN) performant, tout comme l'application d'une fonction exponentielle de Lorentz-Gauss sur le signal de décroissance libre d'induction (FID) avant la transformation de Fourier, améliorent la résolution des spectres (Williamson et Neuhaus, 1989 ; Günther, 1994 ; Hesse *et al*., 2008 ; Claridge, 1999) ;

c. Attribution des signaux

Pour identifier un composé dans un mélange par RMN ^{13}C, l'on s'appuie principalement sur l'attribution des déplacements chimiques de ses carbones. A la différence de la majorité des autres techniques spectroscopiques, il est très peu probable que deux composés de structures différentes présentent des spectres de RMN ^{13}C superposables ou insuffisamment différenciés. L'intérêt de la RMN réside donc dans sa faculté à reconnaître un noyau déterminé par rapport à son environnement dans la molécule. Ainsi, chaque molécule est définie par une série de déplacements chimiques qui lui est propre et qui constitue son spectre (une sorte d'empreinte digitale). Il faut donc s'assurer d'avoir une très bonne reproductibilité des valeurs de déplacements chimiques dans le spectre du mélange par rapport à celles présentes dans les spectres des composés de référence. Différents paramètres sont pris en compte pour atteindre cet objectif :

- la valeur du déplacement chimique (donnée en ppm par rapport à une référence interne, généralement le tétraméthylsylane (TMS)) est indépendante du champ magnétique B_0 de l'appareil utilisé, des séquences impulsionnelles, des paramètres d'acquisition des spectres mais aussi du traitement du signal ;
- les valeurs des déplacements chimiques sont susceptibles d'être influencées par la nature du solvant, la concentration de l'échantillon et la présence d'autres molécules (à cause des liaisons hydrogènes notamment). Pour minimiser la formation de ces liaisons hydrogènes il faut travailler à des concentrations plus faibles. Cela est rendu possible par l'utilisation d'aimants supraconducteurs de plus en plus puissants (500 MHz à la fin des années 70 et jusqu'à 1 GHz aujourd'hui) que l'on retrouve sur le marché.

Pour fiabiliser les identifications il est donc préférable de se référer aux valeurs des déplacements chimiques des carbones de la molécule à identifier tels qu'ils sont répertoriés dans les bibliothèques de spectres construites au laboratoire, avec des paramètres expérimentaux bien définis. Dans le cas où le composé n'est pas répertorié dans ces bibliothèques, il est possible d'utiliser des données de la littérature pour son identification dans le mélange, à condition que les paramètres d'analyse (dilution, nature du solvant, température) soient les mêmes. Un grand nombre d'exemples illustrent le succès de l'application de la RMN ^{13}C pour l'identification de constituants présents dans divers types de mélanges, dans des domaines très variés. Concernant les HE, Formácek et Kubeczka (1982, 1984, 1988) ont été les premiers à réaliser des travaux pour l'identification des principaux

constituants d'une HE par RMN ^{13}C. Pour ce faire, ils ont comparé les signaux présents sur les spectres des HE brutes avec ceux des composés de références, enregistrés dans des conditions expérimentales identiques (benzène-D6). Cette méthode a permis de confirmer la présence de composés préalablement mis en évidence par CPG-SM.

I.2.4. Méthode d'analyse développée au laboratoire SPE

I.2.4.1. Principe de la méthode

Depuis plus d'un quart de siècle, l'équipe « Chimie et Biomasse » utilise la RMN ^{13}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). Cette méthode peut éventuellement aboutir à la quantification des composés identifiés. Son principe est basé sur la comparaison des déplacements chimiques du spectre du mélange avec ceux de composés de référence contenus dans des bibliothèques de spectres (Figure 2). L'originalité de cette méthode réside dans l'informatisation du traitement des données spectroscopiques, grâce à un logiciel d'aide à l'identification spécialement élaboré au laboratoire. Les déplacements chimiques du mélange sont alors directement comparés avec ceux de composés de référence présents dans des bibliothèques de spectres (Figure 2) ; l'enregistrement des spectres de référence et des mélanges naturels se faisant dans les mêmes conditions expérimentales (nature du solvant, concentration, paramètres d'enregistrement des spectres) (Tomi *et al*., 1995 ; Bradesi *et al*., 1996 ; Tomi et Casanova, 2000 ; Bighelli et Casanova, 2009).

Pour l'identification des constituants d'un mélange, la prise en compte de trois paramètres directement accessibles par le logiciel s'avère indispensable. Ce sont :

- 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 ;
- et les variations des déplacements chimiques ($\Delta\delta$) des carbones dans le spectre du mélange par rapport aux valeurs de référence.

Aussi l'intensité des pics permet-elle éventuellement de contrôler l'appartenance du signal d'un carbone à tel ou tel composé.

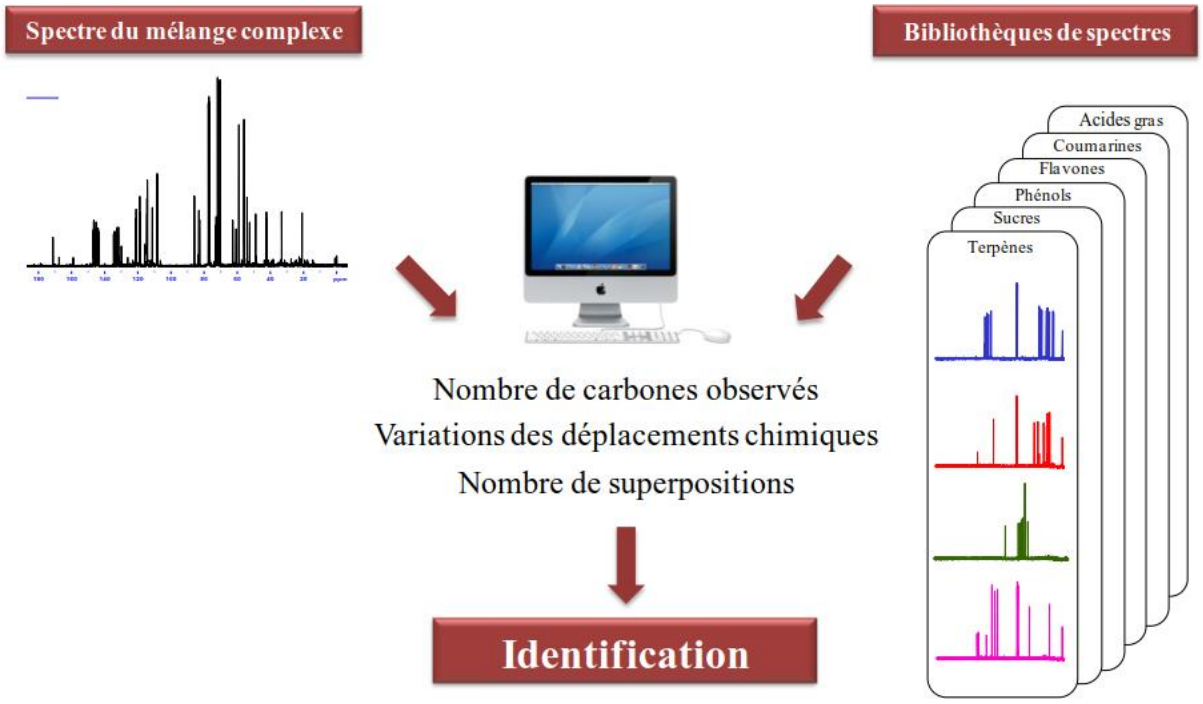


Figure 2 : Identification des constituants d'un mélange complexe par RMN ^{13}C.

I.2.4.2. Applications de la méthode à l'analyse de mélanges naturels

La méthode d'analyse développée par l'équipe « Chimie et Biomasse » a été appliquée à différentes familles de molécules (terpènes, flavonoïdes, coumarines, acides gras, sucres, phénols, etc.) selon un protocole expérimental qui est adapté à chaque famille en ce qui concerne le choix du solvant, la concentration, les paramètres d'acquisition des spectres, etc. (Tomi *et al.*, 1995 ; Bradési *et al.*, 1996 ; Tomi et Casanova, 2000 ; Bighelli et Casanova, 2009). Différentes bibliothèques de spectres ont ainsi été réalisées, à partir de produits commerciaux dans un premier temps. Par la suite, elles ont été régulièrement enrichies avec les données spectrales des composés isolés à partir de mélanges naturels ou bien préparés par hémi synthèse. A l'heure actuelle, la bibliothèque de spectres la plus importante est la bibliothèque de spectres « Terpènes » qui correspond aux composés terpéniques et qui contient plus de mille deux cent (1.200) molécules : ce sont des monoterpènes, des sesquiterpènes et des diterpènes, ainsi que des phénylpropanoïdes, que l'on identifie notamment dans les HE. D'autres bibliothèques de spectres concernant les composés linéaires, les sucres, les phénols, les lignanes, les acides gras, les coumarines, les flavonoïdes,

etc. ont été également développées. Par ailleurs, pour chaque famille de composés, une seconde bibliothèque comprenant les données spectrales publiées dans la littérature récente a été élaborée, permettant ainsi de disposer d'un très grand nombre de spectres de référence.

L'avantage de la RMN ^{13}C réside dans le fait que pour chaque molécule nouvelle isolée et caractérisée structuralement, le spectre est totalement décrit, contrairement à la description des autres spectres (spectroscopie de masse ou infra rouge) où seuls les principaux fragments ou les raies d'absorption les plus importantes sont décrits ; dans le cas de la RMN ^{1}H, divers signaux apparaissent sous forme de multiplets. De plus, les spectres étant actuellement enregistrés à partir d'une quantité minime (quelques milligrammes en général) de produit purifié, la concentration est faible et la reproductibilité des déplacements chimiques est très bonne.

L'application de la méthode d'identification des constituants des mélanges par RMN ^{13}C à différentes familles de produits naturels (HE, extraits végétaux, résines, biocombustibles) au laboratoire a permis, après enregistrement et traitement d'un très grand nombre de spectres, d'établir le bilan suivant :

- la teneur minimale des composés identifiables avec un spectromètre de routine (9,4 T) est de l'ordre de 0,3-0,4% ;
- la plupart du temps, tous les carbones des molécules identifiées sont observés, à l'exception de certains carbones (notamment les quaternaires) appartenant aux produits minoritaires ;
- le nombre de superpositions est généralement limité et n'empêche pas l'identification d'un composé ;
- les variations de déplacement chimique par rapport aux carbones de référence sont généralement inférieures à 0,05 ppm pour la très grande majorité des carbones. Il y a néanmoins quelques exceptions, en particulier avec les composés phénoliques (thymol, carvacrol…) dont certains carbones présentent d'importantes variations de déplacement chimique en raison de la concentration, la polarité et le caractère protique du milieu, mais aussi la fonctionnalisation et l'abondance des autres constituants du mélange (alcools, dérivés carbonylés) (Castola *et al*., 1997).

I.2.4.3. Etude de la variabilité chimique

Avec sa limite d'identification des composés allant jusqu'à une teneur de 0,5%, la RMN ^{13}C, combinée à la quantification par CPG(Ir), est très bien adaptée à l'étude de la variabilité chimique des HE ou des fractions volatiles des plantes aromatiques. Celle-ci s'appuie sur la prise en compte d'un grand nombre d'échantillons. Des outils statistiques, à savoir l'Analyse en Composante Principale (ACP) et la Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) (Brereton, 2003), sont fréquemment utilisés pour effectuer le traitement statistique de la matrice constituée par la composition chimique de ce grand nombre d'échantillons. Ces outils permettent alors d'avoir une vision globale des similitudes ou des différences au sein de l'ensemble des échantillons.

I.2.4.4. Caractérisation de quelques plantes issues de la Côte d'Ivoire

La méthode développée au laboratoire a été appliquée avec succès à des plantes aromatiques de Côte d'Ivoire et a permis de les caractériser par la donnée de la composition chimique. Nous énumérons quelques études réalisées :

- Kanko *et al*., (1999) ont identifié le néral, le géranial, le 1,8-cinéole et le linalol dans l'HE de *Lippia multiflora* ;
- Le 5-[(*E*)-hexylidène]-5H-furan-2-one et son isomère Z ont été identifiés dans l'HE de feuilles *d'Isolona cooperi,* ainsi que les 5- et 7-isopenténylindoles dans l'HE d'écorce de racines de la même plante (Boti *et al*., 2005). Le squelette de ces molécules avait été suggéré par la spectroscopie de masse sans toutefois préciser la position du groupement isopropyle ;
- les études menées par Boti *et al*. (2006a) sur huit échantillons d'HE de feuilles de *d'Isolona campanulata* ont mis en évidence deux types de compositions chimiques riche en sesquiterpènes : eudesm-5-èn-11-ol et (*E*)-β-caryophyllène/α-humulène ;
- l'étude de la variabilité de l'HE de *Polyalthia longifolia* (45 échantillons) a permis de montrer qu'elle présente une composition homogène dominée par le (*E*)-β-caryophyllène et l'α-zingibérène, l'allo-aromadendrène et l'α-humulène (Ouattara, 2012). L'étude détaillée de cette huile a aussi permis d'identifier un nouveau produit naturel, le 14,15-dinor-clérod-3-èn-16-al et le zingibérénol II ;
- six compositions ont été mises en évidence par l'analyse statistique de la composition des HE de feuilles de *Polyalthia oliveri* (45 échantillons) par ACP et CHA (Ouattara *et al*,. 2016) : (*E*)-β-caryophyllène/α-humulène, α-humulène/(*E*)-β-caryophyllène,

allo-aromadendrène/palustrol/lédol/α-gurjunène, germacrène B/sélina-3,7(11)-diène/sélina-4(15), 7(11)-diène, isoguaiène, δ-cadinène ;

- l'étude de cinq espèces du genre *Xylopia* a abouti à l'identification d'isomères des vinylcyclohexènes, des E et Z acétates du (3,3-diméthyl-cyclohexylidène)-éthyle et des furanoguaiadiènes qui sont des molécules qui co-éluent en CPG ou ayant des structures très proches (Yapi , 2012) ;
- les HE de cinq autres espèces ivoiriennes ont été caractérisées ; ce sont : *Cymbopogon giganteus* (Boti *et al*., 2006b), *Conyza sumatrensis* et *Microglossa pyrifolia* (Boti *et al*., 2007), *Atarbotrys oliganthus* (Ouattara *et al*., 2011) et *Pachypodanthium staudtii* (Yapi *et al*., 2012).
- deux espèces appartenant au genre *Cleistopholis* (*C. patens* et *C. glauca*) ont été étudiées à partir d'un échantillonnage important. Les HE de feuilles de *C. glauca* présentent quatre compositions (Ouattara *et al*., 2012) : germacrène D, germacrène D/(*E*)-β-caryophyllène, β-pinène/α-pinène/germacrène D/(*E*)-β-caryophyllène et myrcène/germacrène D/(*E*)-β-caryophyllène. Une variabilité chimique se traduisant par la présence de trois groupes de composition dans chaque cas a été établie concernant *C. patens* : (*E*)-β-caryophyllène/linalol, β-pinène/α-pinène et sabinène/β-phellandrène/limonène pour les feuilles et β-pinène/α-pinène, β-phellandrène/p-cymène et β-élémol pour l'écorce de tronc (Ouattara *et al*., 2013a).

Nous pouvons aussi signaler que lors de la caractérisation des espèces d'origine ivoirienne, la RMN ^{13}C a été d'un apport crucial pour l'identification de molécules délicates à analyser par les techniques conventionnelles ; en l'occurrence, des molécules thermosensibles (germacrènes A, B et C), des molécules polaires qui ne sont pas éluées en CPG comme le 10,11-dihydroxy-(2E,6E)-farnésoate de méthyle et l'acide kolavénique ainsi que certains diastéréoisomères (zingibérénols I et II).

I.3. PROPRIETES DES HUILES ESSENTIELLES

Les HE possèdent plusieurs propriétés intéressantes (Bruneton, 1999 ; Mbarek *et al*., 2007) grâce aux composés volatils qu'elles contiennent. Elles sont d'ailleurs utilisées depuis fort longtemps par des anciennes civilisations pour soigner certaines pathologies courantes. Aujourd'hui, après avoir été délaissées un tant soit peu par la médecine, le potentiel thérapeutique des HE et de leurs constituants volatils est reconsidéré et les études qui leur sont consacrées abondent dans la littérature scientifique.

I.3.1. Activités biologiques

Les HE présentent un intérêt thérapeutique certain en raison des nombreuses activités biologiques qui leurs sont reconnues (Bakkali *et al*., 2008). De par leurs propriétés antiseptiques et antimicrobiennes elles sont utilisées en phytothérapie contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens. Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques. Cependant, le thymol est très irritant, astringent et caustique. Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaires, les HE ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (Linderschmidt *et al*., 1986).

I.3.2. Activités pharmacologiques

Les actions des HE sur l'organisme sont de nombreuses. On peut citer entre autres, les actions comme :

- agent de désinfection et de détoxination : grâce à leur grande diffusibilité dans les tissus et les humeurs, les HE ont un pouvoir désinfectant indéniable. En tant qu'agent de cicatrisation, elles favorisent la régénération cellulaire. Les HE sont dotées d'un puissant pouvoir antiseptique, bactériostatique et bactéricide ;
- agent de revitalisation : les HE opèrent sur les tissus un important travail de revitalisation et de rénovation harmonisant, permettant la désintoxication de l'organisme. Les HE ont un pouvoir de pénétration susceptible de traverser le revêtement cutané et les différentes couches graisseuses de la peau pour passer très rapidement dans le sang et dans la lymphe. Les HE possèdent un pouvoir de stimulation du potentiel énergétique des cellules et des glandes ;
- agent de régulation : les HE ont le pouvoir d'harmoniser le système neurovégétatif : action stimulante, calmante ou équilibrante selon le cas.
- agent de désodorisation : les HE possèdent un étonnant pouvoir de parfumer l'air ambiant qui devient embaumé par des senteurs tout à fait naturelles qui combattent efficacement les mauvaises odeurs : tabacs, sueur, cuisine, ...

- agent défloculant : les HE transforment les déchets du métabolisme en dérivés et désagrègent les colles (mucosités visqueuse) et divers cristaux (noyaux durs) que l'organisme peut ensuite facilement éliminer ;
- agent émonctoriel : les HE favorisent le drainage et l'élimination des déchets, transpiration, respiration, digestion. Les HE spécifiques de soins de beauté sont utilisées en dermatologie pour leur action bienfaisante sur l'épiderme (http://users.skynet.be/sb020785/BI/BI002.htm).

I.3.3. Activité antioxydante

Les antioxydants peuvent être définis comme étant des substances qui présentes à faible concentration par rapport à un substrat oxydable, sont capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances. On peut citer entre autres les enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques et certaines petites molécules hydro- ou liposolubles. Cette grande variété chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (Cano *et al*., 2006).

Le stress oxydatif qui survient lors de déséquilibres entre la production de radicaux libres et d'enzymes antioxydantes, est en relation avec l'apparition de maladies telles que la maladie d'Alzheimer (Butterfieid et Lauderback, 2002), l'artériosclérose et le cancer (Béliveau R. et Gingras, 2005).

Les propriétés antioxydantes des HE sont depuis peu massivement étudiées. De nombreux travaux sur le potentiel antioxydant des HE sont reportés dans la littérature (Abdelhady et Aly, 2012 ; Boulanouar *et al*., 2013 ; Mnayer *et al*., 2014). Elles présentent d'excellentes capacités à inhiber les réactions oxydatives (Karioti et *al*., 2006). Généralement, le potentiel antioxydant des HE est étroitement lié aux composés phénoliques qu'elles contiennent (exemple du thymol, du carvacrol, …) (Stefanovits-Banyai et Tulok, 2003). Cependant l'activité antioxydante des HE est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques : le linalol, le 1,8-cinéole, le géranial/néral, le citronellal, l'isomenthone, la menthone ou le camphre et quelques monoterpènes : α-terpinène, γ-terpinène et α-terpinolène (Edris, 2007 ; Jukié et Milos, 2005 ; Da Silva, 2004).

I.3.4. Toxicité

Bien que présentant de nombreux avantages, il est important de signaler que les HE peuvent être également toxiques. La majorité des HE à de très fortes doses, ont des effets toxiques. Par leur composition chimique variable, les HE doivent être utilisées avec une très grande prudence. Par exemple, les HE de *Citrus* sont phototoxiques. Elles provoquent une décoloration de la peau lors d'une application externe suivie d'une exposition au soleil (Kehal, 2013). La présence de furocoumarines provoque ces réactions de photosensibilisation.

I.4. GÉNÉRALITÉS SUR LES PLANTES ÉTUDIÉES

I.4.1. *Artabotrys insignis* et *Artabotrys jollyanus*

Le genre *Artabotrys* appartient à la famille des Annonacées et compte plus de 100 espèces reparties à travers l'Afrique tropicale et l'est de l'Asie (Sagen *et al.*, 2003).

I.4.1.1. *Artabotrys insignis*

a. Position systématique

La position systématique de l'espèce *Artabotrys insignis* est représentée ci-dessous :

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Astérales
Famille	Annonacée
Genre	*Artabotrys*
Espèce	*insignis* Engl. & Diels

b. Description botanique

Artabotrys insignis Engler & Diels est une liane persistante ayant des feuilles oblongues de 7 à 20 cm de longueur et 3 à 10 cm de large (Figure 3). La base est cunéiforme, à l'apex acuminé. Les fleurs sont elliptiques avec des pétales jaunes. Leur longueur est d'environ 30 mm et elles groupées par 1-3 en inflorescences axillaires. Les fruits sont composés de carpelles longuement stipités et ovoïdes (http://www.plantes-botanique.org/espece_artabotrys_insignis).

Figure 3 : Feuilles et tige d'*Artabotrys insignis* (Source : http://annonaceae.myspecies.info/sites/annonaceae.myspecies.info/files/IMG_2159-TC80.jpg)

I.4.1.2. *Artabotrys jollyanus*

a. Position systématique

La classification botanique d'*Artabotrys jollyanus* est représentée ci-après :

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Astérales
Famille	Annonacée
Genre	*Artabotrys*
Espèce	*jollyanus* Pierre ex Engl. & Diels

b. Description botanique

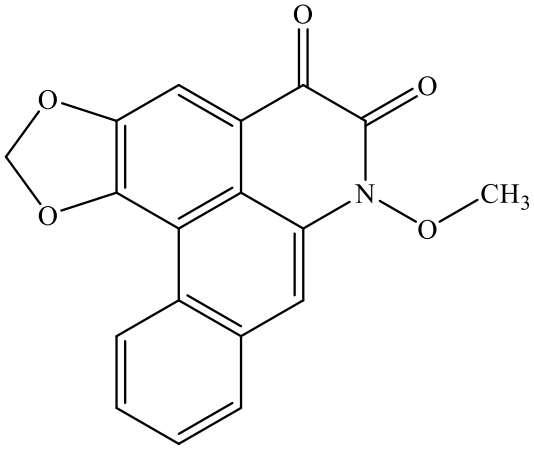
Artabtrys jollyanus Pierre est un arbuste grimpant et persistant ayant, également les feuilles oblongues elliptiques de longueur comprise entre 15 et 21 cm, de largeur comprise entre large 7 et 9 cm. La base est arrondie à cunéiforme et l'apex est acuminé (Figure 4). Les pétales des fleurs sont aussi elliptiques et de longueur 25 mm, groupées en inflorescences axillaires denses (http://www.plantes-botanique.org/espece_artabotrys_jollyanus).

Figure 4 : Feuilles et tige d'*Artabotrys jollyanus* (Photo prise par Gooré Stéphane, 2015)

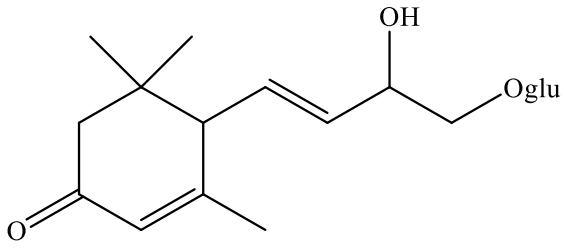
I.4.1.3. Travaux antérieurs sur le genre *Artabotrys*

Des études phytochimiques ont été réalisées sur les extraits aux solvants d'espèces du genre *Artabotrys* et plusieurs molécules ont été isolés (Figure 5) :

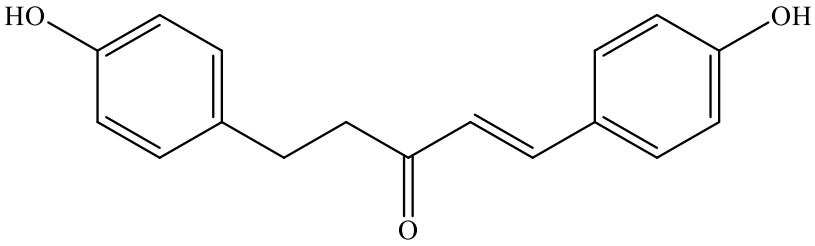
- des alcaloïdes ont été extraits d'*A. zeylacinus* (Wijeratne *et al.*, 1995 ; 1996), d'*A. lastourvillensis* (Eloumi-Ropivia *et al.*, 1985), d'*A. venustus* (Cavé *et al.*, 1986), d'*A. uncinatus* (Wu et *al.*, 1989 ; Hsieh *et al.*, 1999, 2001), d'*A. brachypetalus* (Sagen et *al*., 2003), d'*A. hexapetalus* (Zhou *et al*., 2015), d'*A. crassifolius* (Tan *et al*., 2015) ;
- des flavonoïdes ont été obtenus dans *A. odoratissimus* (Singh et Sahai, 1996) et *A. hexapetalus* (Li *et al.*,1997 ; Somanawat *et al*., 2012),
- des polyphénols ont été mis en évidence dans *A. hildebrandtii* (Andriamadio *et al*, 2015) ;
- des composés sesquiterpénoïdiques sont retrouvés dans *A. unciatus* (Zhang *et al.*, 1988), dans *A. stenopelatus* (*Fleisher et al., 1997*) et *A. hexapetalus* (Xi *et al*., 2016) ;
- des butyrolactones dans *A. hexapelatus* (Wong et Brown, 2002) et *A. odoratissimus* (Bordoloi *et al.*, 2009),
- des stéroïdes dans *A. odoratissimus* (Hasan *et al*., 1987) ;



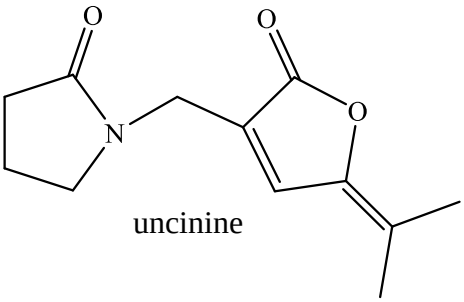
Artabotrine



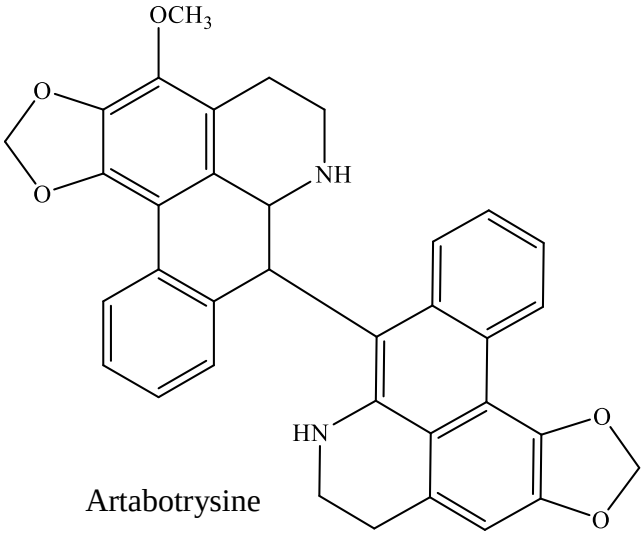
7E-9-hydroxy-4,7-mégastigmane-3-one-10-O-β-D-glucopyranoside



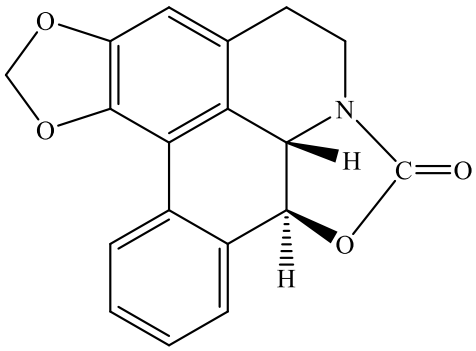
Artamenone diphenylpentanoïde



uncinine



Artabotrysine



Artabonatine A

<u>Figure 5</u> : Quelques composés identifiés dans les extraits aux solvants d'espèces du genre *Artabotrys*

Par ailleurs, concernant la composition chimique des HE, plus de quinze espèces du genre *Artabotrys* ont été étudiées et les travaux sont également reportés dans la littérature. Ainsi :

- l'HE de tige d'*A. lastourvillensis* Pell. du Gabon a été décrite par Menut *et al*. (1992) : le cypérène (25,9%) et la cypérénone (11,1%) ont été identifiés comme composés majoritaires.
- Fournier *et al* (1997) ont étudié la composition chimique des HE de cinq espèces du genre *Artabotrys* :
  - l'HE d'écorce de racines d'*A. insignis* originaire du Zaïre (actuellement République Démocratique du Congo) est dominée par l'oxyde de caryophyllène (31,4%), le δ-cadinol (10,7%), le camphène (9,4%), le caryophyllénol (8,2%) et le 1,5-époxy-salvial-4(14)-ène (8,1%), pendant que l'HE d'écorce de tige de la même plante est caractérisée par le 1,5-époxy-salvial-4(14)-ène (27,3%), le widdrol (7,5%) et le camphène (5,1%) ;
  - l'HE d'écorce de tige d'*A. pierreanus* du Zaïre est caractérisée par le cypérène (13,6%), la cypérénone (13,5%), l'oxyde de caryophyllène (9,4%) et le cadalène (6,8%) ;
  - l'oxyde de caryophyllène (22,6%), le (*E*)-β-caryophyllène (20,5%), le 1,5-époxy-salvial-4(14)-ène (12,7%), l'α-copaène-11-ol (6,3%) et le caryophyllénol (5,2%) sont les principaux composés de l'HE d'écorce de racines d'*A. rufus* du Zaïre ;
  - les constituants majoritaires de l'HE d'écorce de tige d'*A. thomsoni* du Zaïre sont : le 1,5-époxy-salvial-4(14)-ène (12,1%), le camphène (9,6%), le palustrol (7,9%), le spathulénol (6,9%) et la cypérénone (7,7%) ;
  - et l'HE d'écorce de tige d'*A. venustus* provenant de la Malaisie est représentée par le 1,5-époxy-salvial-4(14)-ène (34,5%), le camphène (10,1%) et le lédol (7,3%) ;
- deux études sont reportées sur la composition chimique de l'HE de feuilles d'*A. odoratissimus* originaire d'Inde. Un échantillon issu de la région de Calicut contient principalement le (*E*)-β-caryophyllène (17,4%), l'α-copaène (9,3%), le (*E*),(*E*)-α-farnésène (7,4%) et l'oxyde de caryophyllène (6,8%) (Jirovetz *et al.*, 1998) tandis que l'autre échantillon en provenance de la région de Sagar est caractérisé par le terpinèn-4-ol (38,6%), l'oxyde de caryophyllène (11,8%), le linalol (11,2%) et l'acétate de bornyle (10,0%) (Garg et Siddiqui, 1999). La composition de l'HE de fruits de la même plante de la région (Calcut) est qualitativement proche de celle de feuilles, mis

à part une teneur plus élevée en (*E*)-nérolidol (8,2% contre 1,9%) (Jirovetz *et al.*, 1998)

- l'HE de fleurs d'*A. hexapelatus* du Vietnam contient majoritairement l'oxyde de caryophyllène (31,5%), le (*E*)-β-caryophyllène (11,4%) et l'époxyde d'humulène II (10,0%) (Phan *et al.*, 2007) ;
- l'α-pinène (16,7%), le limonène (15,4%), le germacrène D (14,4%), le benzoate de benzyle (8,8%), le β-pinène et le (*E*)-β-caryophyllène (7,5% chacun) et le germacrène B (5,0%) sont les composés importants de l'HE de feuilles d'*A. vinhensis* du Vietnam (Dai *et al*., 2010) ;
- Ouattara *et al.* (2011) ont étudié la composition chimique des HE de différents organes d'*A. oliganthus* :
  - le δ-3-carène est le composé le plus abondant dans les HE de feuilles (60,2%) et d'écorces de tige (57,2%), ces deux huiles se distinguant par leurs proportions respectives en myrcène (10,6 et 2,8%) et β-sélinène (1,9 et 5,7%) ;
  - par contre l'HE des fruits est plutôt dominée par le myrcène (59,2%) et le δ-3-carène (16,3%).
- Les principaux composés identifiés par Thang *et al*. (2013) dans l'HE de feuilles d'*A. pallens* sont l'α-phellandrène (20,1%), l'α-gurjunène (21,9%) et le bicyclolemène (9,6%).
- Les composés majoritaires de l'HE d'*A. taynguyenensis* sont le valencène (40,1%), le δ-sélinène (8,8%) et l'α-pinène (6,7%) tandis que ceux de l'HE de tige sont le bicycloélémène (25,1%), le bicyclogermacrene (23,7%) et le spathulenol (12,8%) (Thang *et al*., 2014) ;
- Les principaux composés des HE de feuilles de certaines espèces vietnamiennes sont :
  - l'élémol (19,4%), le *cis*-β-guaiène (9,2%) et le δ-cadinène (8,4%) pour *A. petelotti ;*
  - le δ-3-carène (19,1%), l'α-gurjunène (10,7%), l'α-zingiberène (6,3%) et *l'ar*-curcumène (5,2%) pour *A. intermedius ;*
  - et le spathulénol (17,4%), l'époxyde d'aromadendrène (12,2%) et le γ-élemène (7,1%) pour *A. harmandii* (Hung *et al*., 2014).
- En fin, Yovo *et al.* (2016) ont obtenu le benzoate de benzyle (61,2%) et le (*E*)-β-caryophyllène (9.1%) comme composés majoritaires de l'HE de feuilles d'*A. velutinus* du Bénin.

Les structures de quelques molécules identifiées dans les huilles essentielles du genre *Artabotrys* sont présentées à la figure 6.

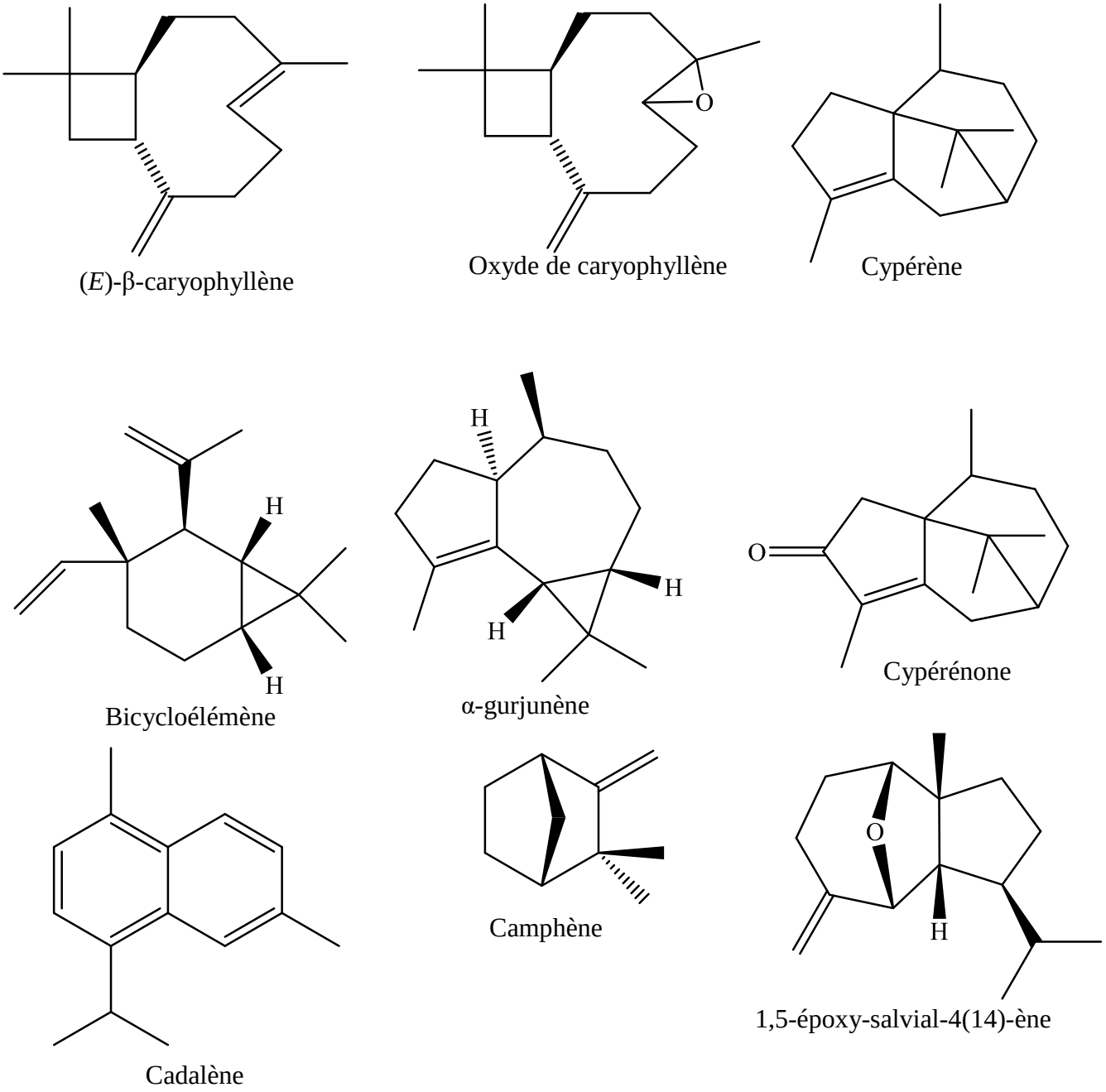


Figure 6 : Quelques composés volatils identifiés dans des espèces d'*Artabotrys*

I.4.1.4. Usages traditionnels

L'usage traditionnel d'*Artabotrys insignis* et *Artabotrys jollyanus* n'est pas indiqué dans la littérature. Néanmoins, les espèces du genre *Artabotrys* trouvent une large utilisation dans la médecine traditionnelle :

- les racines et les tiges d'*A. odoratissimus* et d'*A. pilosus* sont utilisées dans le traitement de la malaria et la scrofule (Hout *et al*., 2006 ; Bordoloi *et al*., 2009) ;
- la sève d'*A. stenopetalus* et celle d'*A. rhopalocarpus* sont utilisées comme aphrodisiaque au Cameroun et au Zaïre (Fleischer *et al*., 1997 ; Focho *et al*., 2010 ; Bele *et al*., 2011 ;) ;
- la décoction des feuilles d'*A. hexapelatus* est utilisée dans le traitement du choléra dans certaines des îles du groupe Malais. Sur l'île de Java, la décoction des feuilles d'*A. suaveolens* est également utilisée aux mêmes fins (Pardo de Tavera, 1901) ;
- la décoction des racines et des feuilles en association avec les racines d'*Uvaria* cfr. *leptocladon* Oliv. est utilisée contre les douleurs abdominales et rénales (Hedberg *et al*., 1982) ;
- dans la province de Manica au Mozambique, le macérât de racines d'*A. brachypetalus* pris oralement est utilisé dans le traitement de l'infertilité féminine, l'intoxication alimentaire, la faiblesse générale, les vers intestinaux, les morsures de serpent, les maux d'estomac et les maladies vénériennes (Bruschi *et al*., 2011) ;
- toujours au Mozambique mais dans la région de Maputo, la décoction de racines d'*A. brachypetalus* en association avec les racines de *Cardiogyne africana*, *Celosia spp*., *Ficus platyphylla* et *Senna petersiana* est utilisé pour faire du thé pour améliorer la santé des bébés (Krog *et al*., 2006) ;

De plus l'HE de fleurs d'*A. hexapelatus* est employée comme ingrédient dans l'industrie de la parfumerie et les fleurs servent aussi à parfumer le linge et confectionner des bracelets (Vidal *et al*., 1969). De même, les fleurs d'*A. odoratissimus* sont utilisées en parfumerie dans le sud de l'Inde comme source d'HE (George *et al*., 2011).

A notre connaissance, les compositions chimiques des HE de feuilles et d'écorce de tige d'*Artabotrys jollyanus* ainsi que celle de l'HE de feuilles d'*Artabotrys insignis* ne sont pas reportées dans la littérature.

I.4.2. *Beilschmiedia mannii*

- **Synonyme :** *Afrodaphne mannii, Tylostemon mannii, T. kamerunensis*.
- **Noms vernaculaires** : bitéi en Bété, micouzô chez les populations Akyés en côte d'Ivoire.

Essence d'ombre, *Beilschmiedia mannii* pousse généralement dans la forêt sempervirente primaire et secondaire. On le retrouve principalement en ripisylve et en forêt marécageuse en dehors de la forêt sempervirente. Son aire géographique s'étend de la Guinée à la République Démocratique du Congo.

I.4.2.1. Position systématique

La position systématique de l'espèce *Beilschmiedia mannii* est représentée par le schéma ci-dessous :

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracée
Genre	*Beilschmiedia*
Espèce	*mannii* (Meisn.) Benth. & Hook.f.

I.4.2.2. Description botanique

Beilschmiedia mannii est un arbuste ou arbre de petite à assez grande taille pouvant atteindre 35 m de haut ; son fût, rectiligne et cylindrique ou légèrement anguleux et sinueux, est dépourvu de branches sur une hauteur atteignant 20 m avec un diamètre atteignant 100 cm. L'écorce externe est brun-gris ou brune, souvent avec de grandes écailles et de nombreuses petites lenticelles. L'écorce interne rouge rosé à brun rosé, virant au brun-rouge par exposition, avec une forte odeur de cèdre. La cime est assez étroite, dense, de couleur vert foncé. Les jeunes rameaux et les bourgeons sont densément poilus. Les feuilles sont alternes ou presque opposées, simples et entières avec un pétiole de 0,5 à 1,5 cm de long. Le limbe est oblong-lancéolé à oblong-elliptique ou largement oblancéolé, de base obtuse à cunéiforme. L'apex est aigu à acuminé, nettement plié, papyracé à coriace, glabre, odorant lorsqu'on

l'écrase (Figure 7). Les fleurs sont bisexuées, régulières, petites, verdâtres avec un pédicelle de 1 à 3 mm de long. Les fruits sont des baies fuselées souvent légèrement oblique, de 1,5 à 5,5 cm de long et de 1,5 à 2,5 cm de large. Ils sont de couleur rouge à maturité et renferment une seule graine. (Nyunaï, 2008).

B. mannii est une plante qui peut se multiplier par graines. Elle est localement domestiquée en Côte d'ivoire.

Figure 7 : Feuilles de *Beilschmiedia mannii* (Photo prise par Gooré Stéphane, 2015)

I.4.2.3. Usages traditionnels

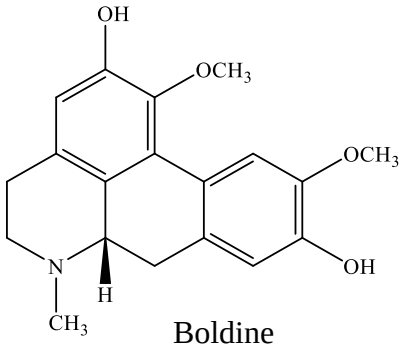
La décoction d'écorce et de feuilles est employée comme lotion pour traiter les maux de tête. Les fruits pilés sont utilisés pour traiter la toux, la bronchite, les douleurs intercostales, les rhumatismes et la dysenterie. La décoction du fruit est utilisée dans le traitement de la diarrhée chez les veaux. L'écorce pilée est consommée avec du riz pour stimuler l'appétit. Les feuilles odorantes sont pilées dans de l'eau ; et le liquide est bu après pressage à travers une mousseline. Au Liberia, les fleurs sont couramment employées pour assaisonner le riz et autres mets. Le fruit est consommé nature et en ingrédient de sauces. La graine est un aliment populaire couramment vendu sur les marchés d'Afrique occidentale. Elle est rôtie ensuite pilée avant d'être consommée ou ajoutée comme condiment et complément dans les soupes, le riz et les légumes. Elle fournit une huile comestible. *Beilschmiedia mannii* est plantée comme arbre d'ombrage pour les caféiers au Liberia (Nyunaï, 2008).

I.4.2.4. Travaux antérieurs réalisés sur le genre *Beilschmiedia*

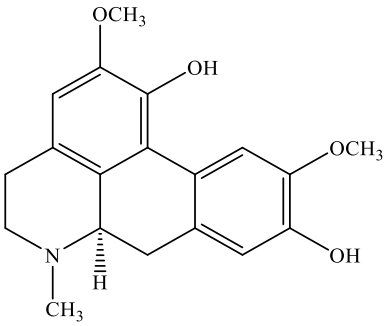
La composition chimique du genre *Beilschmiedia* est très diversifiée (Figure 8). En effet, les études phytochimiques, réalisées des extraits aux solvants, ont permis d'isoler ou de caractériser :

- des alcaloïdes de type :
  - aporphinique : le (+)-2-hydroxy-1,9,10-triméthoxyaporphine et (-)-2-hydroxy-1,9,10-triméthoxynoraporphine dans *Beilschmiedia podagrica* (Johns *et al*., 1969) ; le 2-hydroxy-9-methoxy-aporphine, la boldine, l'isoboldine, la sécoboldine, l'asimilobine, le 3-methoxy-nordomesticine dans *B. alloiophylla* (Mollataghi *et al*., 2012a) ;
  - isoquinoléinique : le liriodenine, l'oreobeiline et le 6-*épi*-oreobeiline dans *B. alloiophylla* (Mollataghi *et al*., 2012a) ;
  - phénanthrénique dans *B. glabra*, Beilschglabrines A et B (Salleh *et al*., 2016a) ;
- des flavonoïdes méthoxylés : (2S, 4R)-5,6,7-trimethoxyflavan-4-ol, (2S, 4R)-4,5,6,7-tetramethoxyflavane, beilschmineflavonoïdes A et B dans *B. zenkeri* (Lenta *et al*., 2009).
- des dérivés de l'acide endiandrique :
  - les acides beilschmiediques A, B, C dans *B. anacardiodes* (Chouna *et al.*, 2009) ; les erythrophloins A-F et la beilcyclone A dans *B. erythrophloia* (Yang *et al.*, 2009) ;
  - les tsangibeilines A, les endiandramides A et B, les acides endiandriques K et L dans *B. tsangii* (Chen *et al*., 2006) ;
- des dérivés de l'acide beilschimiedique, les acides cryptobeiliques A−D dans *B. cryptocaryoides* (Talontsi *et al*., 2013)
- des ligands des type tétrahydrofurane : beilschmines A et B (Chen *et al.*, 2006) et beilschminol A (Huang *et al*., 2011) et de type dihydrofurane : beilschmine C (Chen *et al.*, 2006) dans *B. tsangii* ;
- des neolignanes dans l'écorce de tige de *B. madang*, madangones A et B (Salleh *et al*., 2016b), le 3,4-dimethoxy-3′,4′-methylenedioxy-2,9-epoxy-6,7-cyclo-1,8-neolign-11-en-5(5H)-one ((+)-kunstlerone) dans les feuilles dans *B. kunstleri* (Mollataghi et *al*., 2011) ;
- deux benzoates de 1-phénylbutyle : tsangine A et tsangine B dans *B. tsangii* (Chen *et al.*, 2006) ;

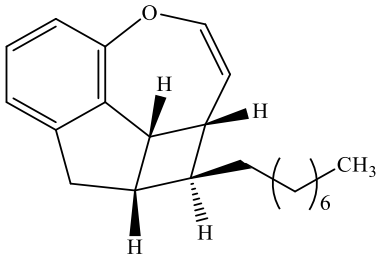
- une cétone triterpénique : la β-amyrone dans *B. alloiophylla* (Mollataghi *et al*., 2012a);
- un diènamide ((−)-kunstleramide) dans l'écorce de *B. kunstleri* (Mollataghi *et al*., 2012b).



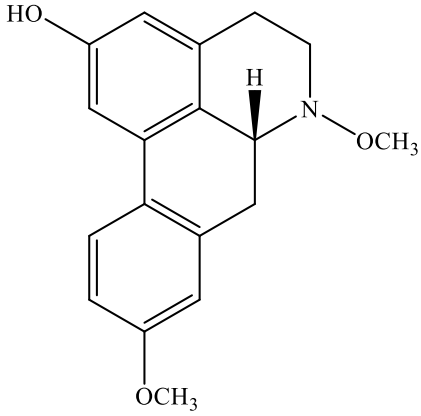
Boldine



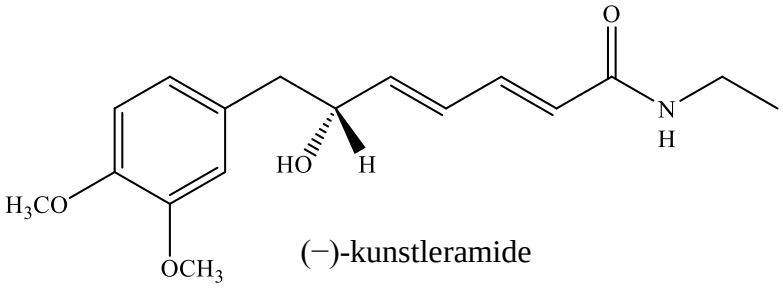
Isoboldine



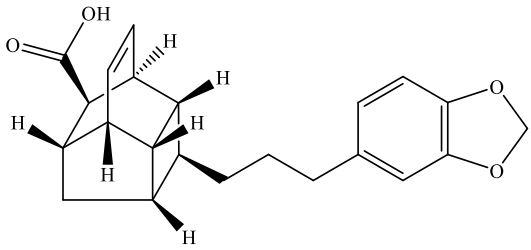
Beilschmine



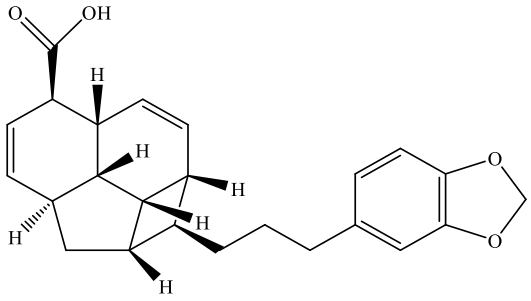
2-hydroxy-9-méthoxyaporphine



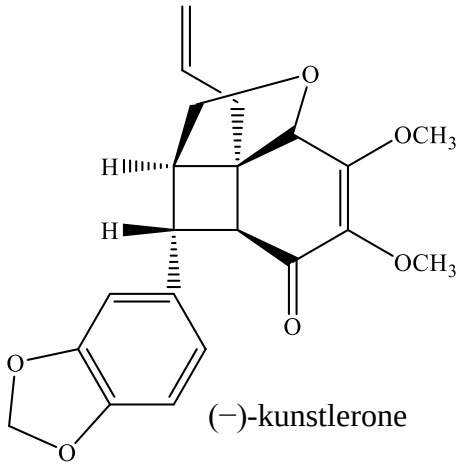
(−)-kunstleramide



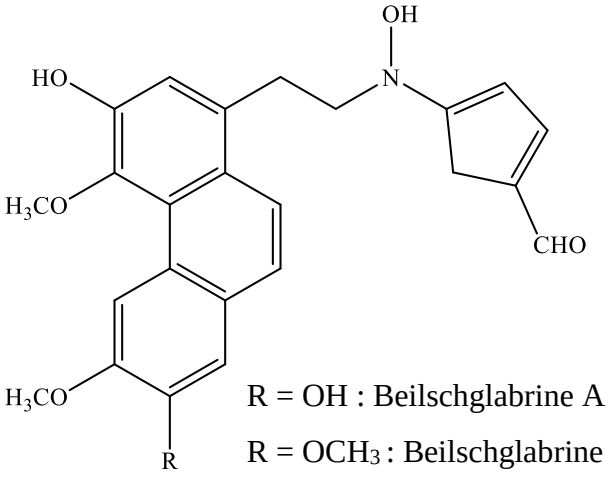
Acide endiandrique K



Tsangibeiline A



(−)-kunstlerone



R = OH : Beilschglabrine A

R = OCH_3 : Beilschglabrine B

Figure 8 : Quelques composés non-volatils isolés des espèces du genre *Beilschmiedia*

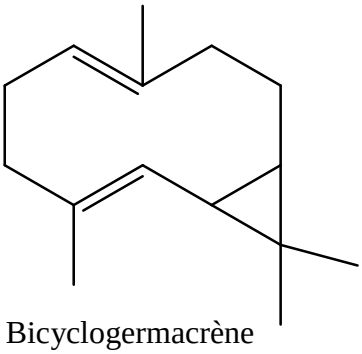
Les HE de certaines espèces du genre *Beilschmiedia* ont également été analysées au cours de nombreuses études. Nous donnons ci-dessous quelques résultats :

- les composés majoritaires de l'HE de feuilles de *Beilschmiedia miersii* et *B. tarairie* sont respectivement le germacrène D (24,8%), l'α-terpinène (10,0%), le γ-curcumène (9,6%), l'acétate de 1-octén-3-yle (8,2%), le (*E*)-β-ocimène (6,4%) et l'α-pinene (17,8%), le β-pinène (9,4%), le germacrene D (6,6%) (Scora et Scora, 2001) ;
- Setzer et Haber, (2007) ont étudié la composition chimique des HE des feuilles de cinq espèces du genre *Beilschmiedia* de Costa Rica. Les constituants principaux de ces espèces sont :
  - *B. alloiophylla* : germacrène D (18,9%), *cis*- et *trans*-β-ocimène (18,8% et 9,3%, respectivement), α-pinène (11,8%), et bicyclogermacrène (9,1%) ;
  - *B. brenesii* : germacrène D (19,3%), β-caryophyllène (13,4%), α-copaène (9,0%), α-humulène (8,1%), δ-cadinène (5,8%) et les composés carbonylés undécan-2-one (12,8%), *trans*-hex-2-enal (8,8%) et tridécan-2-one (3,8%) ;
  - *B. costaricensis* : α-Bisabolol (72,1%) ;
  - *B. tilaranensis* : germacrène D (54,9%), β-caryophyllène (14,8%), and δ-cadinène (5,1%) ;
  - *B. sp* "*chanchoblanco*" : β-caryophyllène (16,6%), bicyclogermacrène (14,1%) et α-pinène (12,1%).
- le β-pinène (10,4%), le β-caryophyllène (8,6%), l'α-pinène (7,9%) et le bicyclogermacrène (7,2%) sont les composés majoritaires de l'HE de feuilles de *B. pendula*, tandis que le β-caryophyllène (17,3%), le β-sélinène (9,1%), le bicyclogermacrène (8,9%), l'α-cadinol (5,8%) et le spathulénol (4,6%) sont les composés importants de l'HE de branches de la même plante (Chaverri et Cicció, 2010) ;
- les composés importants de l'HE de feuilles de *B. erythrophloia* de Taïwan sont : le β-caryophyllène (22,6%), l'α-humulène (21,9%), le terpinèn-4-ol (5,3%), *cis*-β-ocimène (5,1%), le sabinène (5,0%) et limonène (4,5%) (Su et Ho, 2013) ;
- Salleh *et al*., (2015) ont montré que les HE de feuilles et de tige *B. mandang* contiennent majoritairement le δ-cadinène (17,0 et 20,5%), le β-caryophyllène (10,3 et 6,7%), l'α-cubébène (11,3 et 15,6%) et l'α-cadinol (5,8 et 10,6%) ;
- Salleh *et al*., (2016c) ont également obtenu l'eugenol (45,3%) et son acétate (5,6%) comme composés principaux de *B. pulverulenta* ;

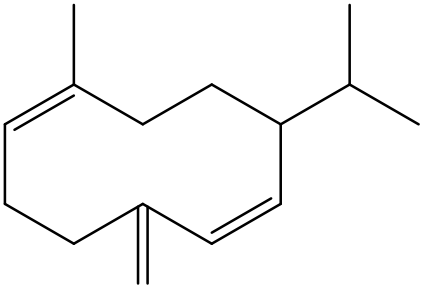
- L'étude comparative de trois espèces du genre *Beilschmiedia* par Salleh *et al*., (2016d) a permis d'identifier :
  - le β-caryophyllène (12,1%), le germacrène B (11,2%), l'α-cadinol (10,4%) dans les feuilles et le δ-cadinène (13,4%), le β-caryophyllène (13,6%), et l'α-cadinol (9,0%) dans l'écorce comme composés dominants de *B. kunstleri ;*
  - le β-eudesmol (24,1 et 17,5%), l'oxyde de caryophyllène (11,0 et 12,8%) et le β-panasinsène (10,2 et 11,6%), respectivement principaux composés des feuilles et de l'écorce de *B. maingayi* ;
  - le δ-cadinène (28,7%), le germacrène D (20,7%), le β-caryophyllène (10,4%), l'α-copaène (7,7%) comme constituants majoritaires de l'HE de feuilles de *B. penangiana* et le δ-cadinène (17,5%), le germacrène D (14,6%), le β-caryophyllène (12,6%), le germacrène B (10,7%), le viridiflorol (8,0%), le τ-muurolol (7,5%) ceux de l'HE de son écorce ;

La figure 9 donne les structures de quelques composés identifiés dans les HE de quelques espèces du genre *Beilschmiedia*.

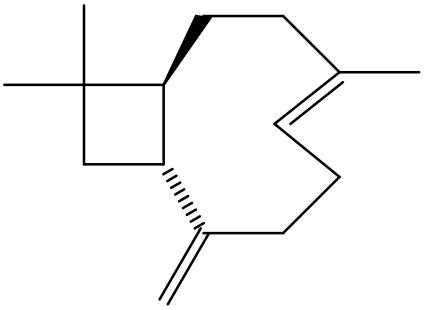
A notre connaissance, aucune étude concernant la composition chimique de l'HE de *Beilschmiedia mannii* n'est reportée dans la littérature.



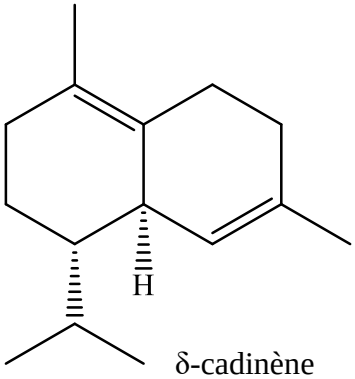
Bicyclogermacrène



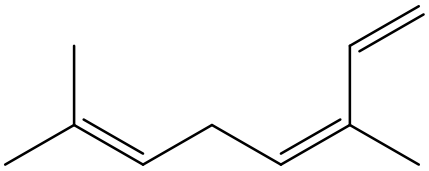
Germacrène D



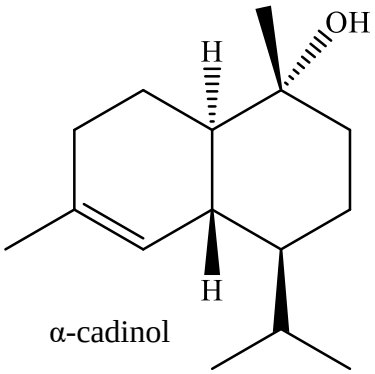
(*E*)-β-caryophyllène



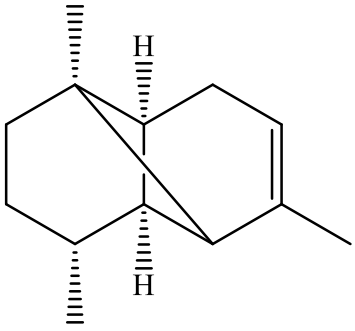
δ-cadinène



(*Z*)-β-ocimène



α-cadinol



α-copaène

<u>Figure 9</u> : Quelques composés volatils identifiés des espèces du genre *Beilschmiedia*

I.4.3. *Dacryodes klaineana*

- **Synonyme :** *Santiriopsis klaineana* Pierre, *Pachylobus klaineana* (Pierre) Engl., *Pachylobus bartéri* Engl., *Pachylobus deliciosus* (A. Chev. ex Huch. et Dalz.) Pellegr.
- **Noms vernaculaires** : Sinh (Akyé), Vi (Abbey), Krindjan (Agni), Essamé ou Essanvi (Abouré) en Côte d'Ivoire**.**

Le genre *Dacryodes* comprend environ 40 espèces présentes dans les régions tropicales d'Amérique, d'Asie et d'Afrique. En Afrique, une vingtaine appartenant toutes à la section *Pachylobus* a été recensée. C'est le Gabon qui en détient le plus grand nombre avec une dizaine d'espèces (Brink, 2008). Parmi les espèces du genre *Dacryodes* qui poussent en Côte d'Ivoire, l'on trouve *Dacryodes edulis* et *Dacryodes klaineana* qui fait l'objet de notre étude. Cette dernière pousse à l'état spontané en Côte d'Ivoire tandis que *Dacryodes edulis*, originaire de l'Afrique Centrale, a été introduite dans la forêt de Petit Yapo au Sud-Est de la Côte d'Ivoire.

I.4.3.1. Position systématique

La position systématique de l'espèce *Dacryodes klaineana* se présente comme suit :

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Sapindales
Famille	Burseracée
Genre	*Dacryodes*
Espèce	*klaineana* (Pierre) H.J.Lam

I.4.3.2. Description botanique

Dacryodes klaineana est un arbre de taille moyenne pouvant atteindre 25 m de haut et jusqu'à 60 cm de diamètre. Son fût est dépourvu de branches sur 10 m ; la partie inférieure est généralement rectiligne et légèrement anguleuse pendant que sa partie supérieure est souvent tortueuse. L'écorce externe est grise verdâtre ou noirâtre, très écailleuse, présentant des

écailles irrégulières qui laissent des marques jaunâtres après être tombées. L'écorce interne est rose-brun ou rouge-brun, avec une odeur de térébenthine, exsudant un liquide aqueux ou gommeux quand il est coupé. Les feuilles (Figure 10) sont alternes, composées, imparipennées à 3 paires de folioles, de 15 à 30 cm de long, couvertes d'une pubescence rousse lorsqu'elles sont jeunes, glabrescentes mais à poils persistants sur le pétiole, le rachis et la nervure médiane. Les inflorescences sont à panicule terminale ou parfois axillaire de 10 à 22 cm de long, couverte d'une pubescence rousse dense. Ses fleurs sont unisexuées, régulières avec des pédicelles mesurant de 2 à 4 mm de long. Les fruits sont des drupes ovoïdes d'environ 2 cm de long et 1,5 cm de large, légèrement aplaties latéralement, légèrement pointues au sommet, oranges à maturité, renfermant une pulpe charnue, odorante.

C'est un arbre à croissance lente qui fleurit au début de la saison sèche et les fruits sont mûrs en janvier-février. C'est une espèce répandue dans toutes les régions forestières depuis la Sierra-Léone jusqu'au Cameroun et au Gabon.

Figure 10 : Feuilles de *Dacryodes klaineana* (Photo prise par Gooré Stéphane, 2015)

I.4.3.3 Usages traditionnels

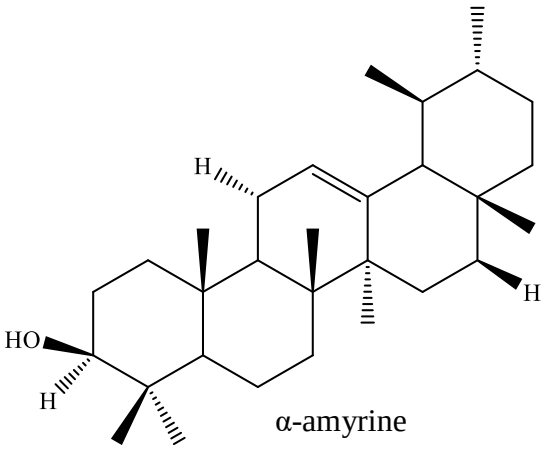
Le nom commercial du bois dont est adjouaba. Il est utilisé dans le domaine de la construction et sert également à fabriquer des mortiers, des manches de hache et des wagons. On le recommande également pour les poteaux télégraphiques, les traverses de chemin de fer, comme bois de feu et dans la fabrication de papier.

En Côte d'Ivoire, *Dacryodes klaineana* est utilisé pour traiter la tachycardie et la toux (Brink, 2008). Les Akyés utilisent les feuilles pour soulager les femmes qui souffrent de

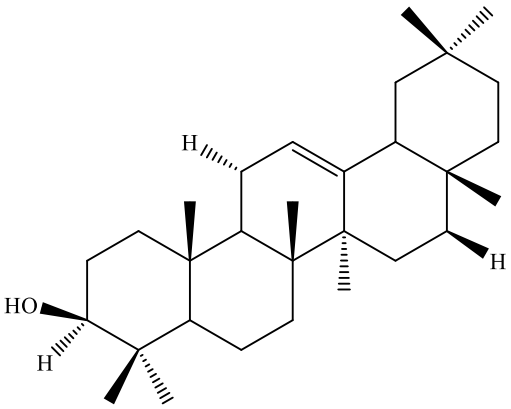
règles douloureuses : les feuilles de *Dacryodes klaineana* sont triturées avec celles de *Chlamydocola chlamydantha* et de *Musanga cecropioïdes*. La pâte obtenue, délayée dans l'eau tiède, est employée en lavements (Adjanohoun et Aké, 1979). Les fruits sont comestibles. Ils se consomment crus ou cuits. Une fois bouillie ou grillée, la pulpe donne une sorte de beurre.

I.4.3.4. Travaux antérieurs sur le genre *Dacryodes*

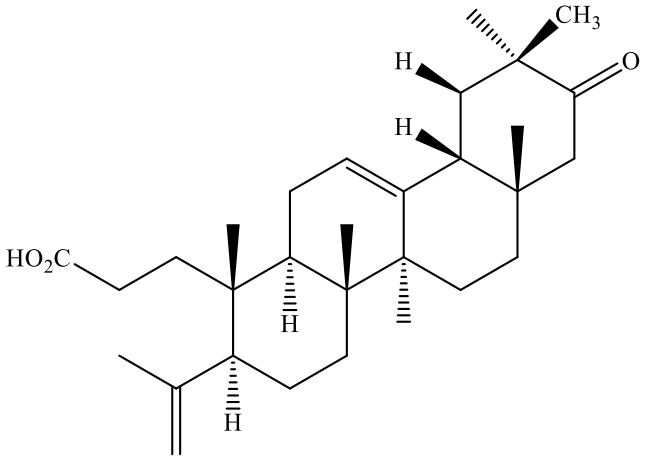
Très peu de travaux ont été réalisés sur les extraits aux solvants des espèces du genre *Dacryodes*. Les études chimiques reportées concernent majoritairement l'espèce *Dacryodes edulis*. De nombreux phytocomposés (Figure 11) ont été identifiés ou isolés. Ainsi, Atawodi *et al*., (2009) ont trouvé des polyphénols (gallate, methylgallate, catechol, acide ellagique, quercetine et quercetine rhamnoside) dans l'extrait méthanolique des fruits de *Dacryodes édulis*. D'autres auteurs rapportent la présence d'acides carboxyliques, de tanins, d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de glycosides cardiotoniques, de terpenoïdes, de saponines et de composés phénoliques dans cette espèce (Missang *et al*., 2003, Nwokonkwo, 2014). Des triterpenoïdes ont été mis en évidence dans *D. hopkinsii* (α-amyrine, β-amyrine, lupeol, tirucallol, sitosterol, stigmasterol) (Lima *et al*., 2004) et dans la résine de *D. normandii* (acide 21-oxo-3,4-*seco*-olean-4(23),12-dien-3-oïque et acide 21-oxo-3,4-*seco*-ursan-4(23),12-dien-3-oïque) (Parsons *et al*., 1991).



α-amyrine



β-amyrine



acide 21-oxo-3,4-*seco*-olean-4(23),12-dien-3-oïque

Figure 11 : Quelques composés non-volatils isolés des espèces du genre *Dacryodes*

De même, peu de travaux relatifs à la composition chimique des HE (Figure 12) des espèces du genre *Dacryodes* sont relatés dans la littérature. A notre connaissance, *D. edulis* est l'espèce du genre essentiellement concerné par la plupart des investigations. Ainsi :

- le myrcène (45,3%), le β-caryophyllène (26,4%), le terpinèn-4-ol (25,6%) et le mélange α-thujène/α-pinène (25,2%) sont respectivement les composés majoritaires des HE de fruits, de feuilles et d'écorce de tronc tandis que l'α-phellandrène est le composé important de l'HE d'écorce de racines *D. edulis* (Onocha *et al*., 1999) ;
- Jirovetz *et al*., (2005) ont étudié la composition chimique des HE des fruits de *D. edulis* et des graines de cette plante :
  - HE des fruits : l'α-pinène (22,3%), le β-pinène (13,7%), le limonène (7,2%), l'α-phellandrène (10,8%) sont les composés majoritaires ;

- HE des graines : l'α-pinène (21,5%), le β-pinène (19,7%), le limonène (27,5%) et l'α-phellandrène (12,1%) sont les constituants importants ;

- Koudou *et al.,* (2008) ont identifié comme constituants majoritaires de l'HE de résine de *D. edulis* du Gabon, le myrcène (21,76%), terpinèn-4-ol (19,79%), l'α-pinène (17,47%) et le *p*-cymène (11,29%) ;
- les constituants importants de l'HE de *D. edulis* de trois localités du Congo-Brazzaville sont des dérivés sesquiterpéniques : canidol (1-4%), β-caryophyllène (3-10%), *cis*-bergamotène (tr-11%), *trans*-bergamotène (2-11%), sesquisabinène (9-11 %), érémophylène (1-9 %), α-sélinène (2-4%) et aristolone (tr-4 %) (Silou *et al*., 2012).
- une étude sur deux autres espèces du genre est aussi reportée ; Cravo *et al*. (1992) ont étudié la composition chimique des HE de fruits de *Dacryodes buettneri* et *D. igaganga*. Les composés majoritaires de *D. buettneri* sont l'α-pinène (29,2%) et le limonène (24,3%) et ceux de *D. igaganga* sont l'α-copaène (15,5%) et l'α-humulène (13,8%).

Dacryodes klaineana n'a fait l'objet d'aucune étude relative à la composition chimique de son HE.

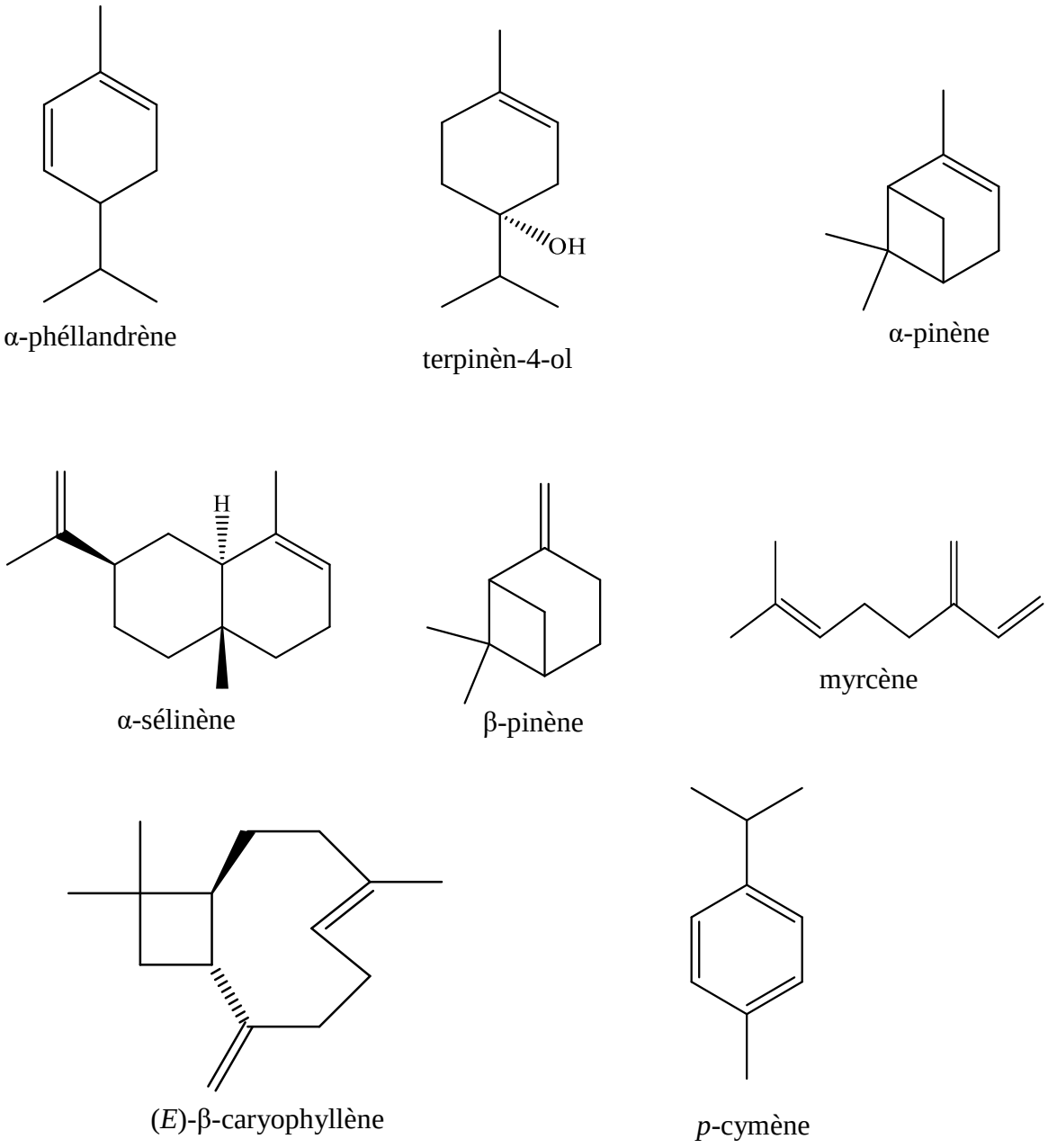


Figure 12 : Quelques composés volatils identifiés dans des espèces du genre *Dacryodes*

CHAPITRE II :
MATERIEL ET METHODES

II.1. MATERIEL

II.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal est composé de feuilles, d'écorces de tronc et d'écorces de racines des plantes sélectionnées. Ces dernières ont été identifiées conformément aux herbiers disponibles au Centre National de Floristique (CNF) de Côte d'Ivoire, sis à l'Université Félix Houphouët-Boigny par les techniciens Assi Jean et Téhé Lucien.

Les récoltes des différentes plantes ont été réalisées sur dix sites ou stations forestières dont la localisation est indiquée dans le tableau I.

Tableau I : Coordonnées GPS des différents sites de récolte des plantes d'étude

Site de récolte	District	Région	Département	Coordonnées GPS
Adiopodoumé	Abidjan	Abidjan	Abidjan	5°20'27.08" N – 4°8'0.47" O
Anyama-Adjamé	Abidjan	Abidjan	Abidjan	5°29'16.26" N – 4°1'52.43" O
Dzeudji (N'Zodghi)	Lagunes	La Mé	Alépé	5°35'42.37" N – 3°51'5.52" O
Kodioussou	Lagunes	La Mé	Alépé	5°45'45.96" N – 3°46'8.57" O
Kongofon	Lagunes	La Mé	Alépé	5°27'20.64" N – 3°51'1.47" O
Montézo	Lagunes	La Mé	Alépé	5°29'4.29" N – 3°44'9.21" O
Petit Yapo	Lagunes	La Mé	Agboville	5° 47'51" N – 4°8'21" O
Université Nangui Abrogoua	Abidjan	Abidjan	Abidjan	5°23'21.32" N – 4°1'8.78" O
Yakassé-Mé	Lagunes	La Mé	Adzopé	6°11'7.25" N – 3°38'40.50" O
Yapo-abbé	Lagunes	La Mé	Adzopé	5°43'47,6" N – 4°5'71,6" O
Les coordonnées GPS ont été obtenus à l'aide des applications gratuites de cartographie en ligne (internet) https://www.google.com/maps et coordonnées-gps.fr.				

Tous les différents sites de récolte se situent dans la zone sud-est de la côte d'Ivoire (Figure 13).

Sites de récolte

Figure 13 : Carte indiquant les sites des différentes récoltes.

Au total, cent soixante-et-un échantillons d'HE ont été obtenus à partir de différents organes des plantes sélectionnées.

- *Artabotrys insignis*

Un (1) échantillon d'HE a été obtenu à partir de feuilles de cette espèce récoltées au mois de septembre 2014, dans la forêt de Petit Yapo située dans les environs de la ville d'Agboville (axe Abidjan-Agboville).

- *Artabotrys jollyanus*

Les feuilles et les écorces de tige de cette plante ont été récoltées sur une période de 12 mois (une récolte par mois) pour l'étude de l'évolution de la composition chimique durant le cycle végétatif. Les récoltes se sont déroulées d'avril 2014 à mars 2015. Douze (12) échantillons d'HE de feuilles et douze (12) échantillons d'HE d'écorce de tige ont été ainsi obtenus à partir du même pied d'arbuste sur le site de la forêt d'Adiopodoumé situé sur la route de la localité de Dabou (axe Abidjan-Dabou).

- *Beilschmiedia mannii*

Cinquante-cinq (55) échantillons d'HE de feuilles, huit (8) échantillons d'écorce de tronc et un (1) échantillon d'écorce de racines ont été récoltés sur des pieds individuels en juillet, août et septembre 2014, sur des sites de différentes localités de la Côte d'Ivoire :

- feuilles, 8 stations : forêts d'Adiopodoumé (sur l'axe Abidjan-Dabou, échantillons n°1-3), de Montézo (axe Abidjan-Alépé, échantillon n°4), de Yapo-Abbé (axe Abidjan-Adzopé, échantillon n°5), d'Anyama-Adjamé (à la périphérie de la ville d'Anyama, échantillons n°6-12), de Dzeudji (zone d'Alépé, échantillons n°13-22), de Kodioussou (zone d'Alépé, échantillons n°23-25), de Kongofon (sur l'axe Abidjan-Alépé, échantillons n°26-37) et de Yakassé-Mé (sur l'axe Abidjan-Adzopé, échantillons n°38-45) ;
- écorce de tronc, 4 stations : forêts d'Adiopodoumé (échantillons n°1-4), de Kongofon (échantillons n°5 et 6), de Montézo (échantillons n°7) et de Yapo-abbé (échantillon n°8) ;
- écorce de racines : Un (1) échantillon d'HE a été obtenu à partir d'écorce prélevée sur un pied d'arbre dans la forêt d'Adiopodoumé.

- *Dacryodes klaineana*

Un échantillon d'écorce de racines, trente (30) échantillons de feuilles et cinquante et un (51) échantillons d'écorce de tronc ont été récoltés dans les mois de juillet, août et septembre 2014, dans différentes stations du pays.

- feuilles, 6 stations : forêts d'Adiopodoumé (sur l'axe Abidjan-Dabou, échantillons n°1-10), de Dzeudji (zone d'Alépé, échantillons n°11-21), de Kongofon (sur l'axe Abidjan-Alépé, échantillons n°22-25), de Montézo (sur l'axe Abidjan-Alépé, échantillons n°27), de Yapo-Abbé (sur l'axe Abidjan-Adzopé, échantillons n°28-30) et l'échantillon n°26 récolté sur le site de l'université Nangui Abrogoua.
- écorce de tronc, 8 stations : forêts d'Adiopodoumé (axe Abidjan-Dabou, échantillons n°1-14), de Dzeudji (zone d'Alépé, échantillons n°15-28), de Yapo Abbé (axe Abidjan-Adzopé, échantillons n°29-44) ; de Montézo (sur l'axe Abidjan-Alépé, échantillon n°46), de Kodioussou (zone d'Alépé, échantillons n°47), de Kongofon (sur l'axe Abidjan-Alépé, échantillons n°48), de Petit Yapo (axe Abidjan-Agboville, échantillons n°49-51) et l'échantillon n°45 récolté sur le site de l'université Nangui Abrogoua.

– écorce de racines : Un (1) échantillon d'HE a été obtenu à partir d'écorce prélevée sur un pied d'arbre dans la forêt d'Adiopodoumé.

Le tableau II présente le récapitulatif de notre échantillonnage.

Tableau II : Tableau récapitulatif des échantillons

Plante	Site de récolte	Nombre d'échantillons	Organe étudié	Numéro des échantillons
Artabotrys insignis	Petit Yapo	1	Feuilles	
Artabotrys jollyanus	Adiopodoumé	12 12	Feuilles Ecorce de tige	
Beilschmiedia mannii	Adiopodoumé	3 4 1	Feuilles Ecorce de tronc Ecorce de racines	n°1-3 n°1-4
	Anyama-Adjamé	7	Feuilles	n°6-12
	Dzeudji	10	Feuilles	n°13-22
	Kodioussou	3	Feuilles	n°23-25
	Kongofon	12 2	Feuilles Ecorce de tronc	n°26-37 n°5 et 6
	Montézo	1 1	Feuilles Ecorce de tronc	n°4 n°7
	Yakassé-Mé	8	Feuilles	n°38-45
	Yapo-abbé	1 1	Feuilles Ecorce de tronc	n°5 n°8
Dacryodes klaineana	Adiopodoumé	10 14 1	Feuilles Ecorce de tronc Ecorce de racines	n°1-10 n°1-14
	Dzeudji	11 14	Feuilles Ecorce de tronc	n°11-21 n°15-28
	Kodioussou	1	Ecorce de tronc	n°47
	Kongofon	4 1	Feuilles Ecorce de tronc	n°22-25 n°48
	Montézo	1 1	Feuilles Ecorce de tronc	n°27 n°46
	Petit Yapo	3	Ecorce de tronc	n°49-51
	Yapo-abbé	3 16	Feuilles Ecorce de tronc	n°28-30 n°29-44
	Université Nangui Abrogoua	1 1	Feuilles Ecorce de tronc	n°26 n°45

II.1.2. Matériel d'extraction et d'analyse

II.1.2.1. Matériel d'extraction

Les échantillons d'HE ont été obtenus par hydrodistillation à partir d'un appareil de type Clevenger associé à une cocotte de capacité 10 L (Figure 14).

Figure 14 : Dispositif d'extraction des HE (Photo prise par Guessan Bi Goblé, 2015)

II.1.2.2. Matériel d'analyse

a. Analyse par CPG (Ir)

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un appareil Perkin-Elmer Clarus 500 (Figure 15), équipé d'un injecteur diviseur, de deux colonnes (50 m × 0,22 mm d.i ; épaisseur du film : 0,25 µm), apolaire (BP-1, polyméthylsiloxane) et polaire (BP-20, polyéthylène glycol) et de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID).

Figure 15 : Chromatographe en phase gazeuse Perkin-Elmer Clarus 500 (Photo prise par Gooré Stéphane, 2016)

b. Analyse par CPG-SM

Les analyses ont été effectuées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer autosystem XL (Figure 16), doté d'un injecteur automatique et d'une colonne apolaire (Rtx-1) (60 m × 0,22 mm d.i ; épaisseur du film : 0,25 µm), couplé à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass.

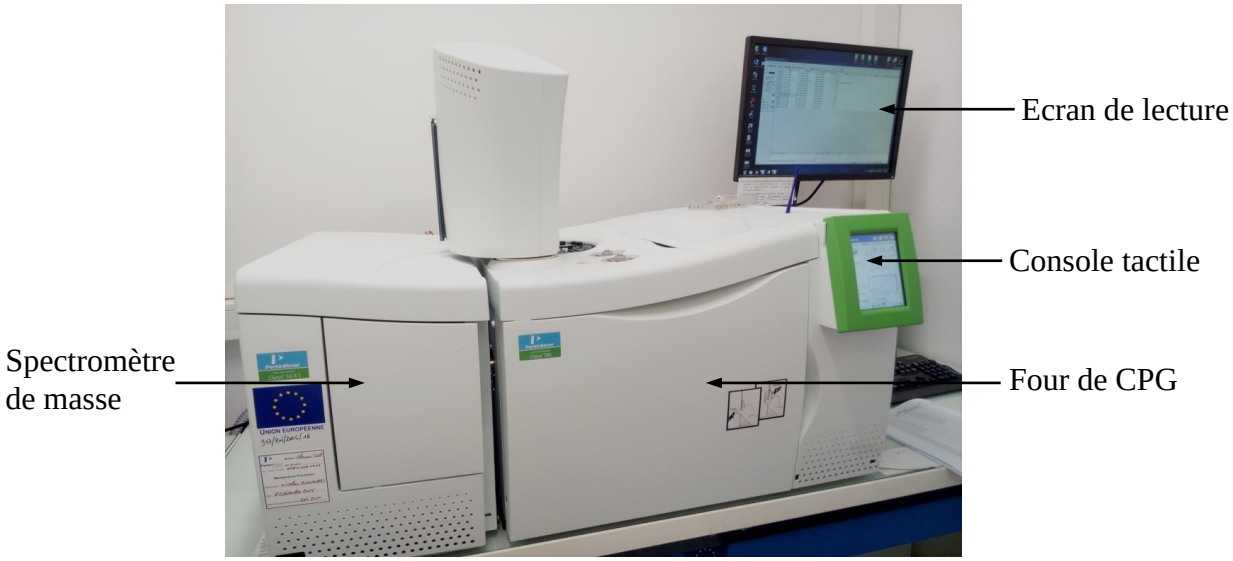


Figure 16 : Chromatographe en phase gazeuse Perkin-Elmer Clarus autosystem XL, couplé à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass (Photo prise par Gooré Stéphane, 2016)

c. Analyse par RMN

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur un spectromètre Brücker 400 AVANCE, 9,4 Tesla, opérant à 400,132 MHz pour le proton et à 100,623 MHz pour le ^{13}C (Figure 17).

Figure 17 : Spectromètre Brücker 400 AVANCE (Photo prise par Gooré Stéphane, 2016)

d. Analyse par spectrophotométrie

Les mesures d'absorbance des échantillons ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis (Figure 18), comportant 6 porte-cuves pour les lectures. Cinq (5) porte-cuves sont destinés aux échantillons à analyser tandis que le dernier réservé au blanc.

Figure 18 : Spectrophotomètre Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis (Photo prise par Boué Blanchard, 2017)

II.2. METHODES

II.2.1. Extraction des HE par hydrodistillation

La quantité d'eau utilisée dans la cocotte pour la distillation est d'environ 1,5 L. Ensuite, la quantité d'organe végétal disponible est déposé sur une grille, maintenue à environ 5 cm du fond de la cocotte, au-dessus du niveau de l'eau. La cocote est alors scélée et l'ensemble est porté à ébullition. La durée de l'extraction pour chaque échantillon est de 3 h 30 min à partir de l'obtention de la première goutte d'HE. Les feuilles et les écorces de racines sont hydrodistillées fraîches tandis que les écorces de tiges ou de tronc sont conservées à l'air libre pendant 3-4 jours avant extraction. Les HE extraites sont d'abord séchées sur du sulfate de sodium anhydre ($NaSO_4$) puis conservées dans des piluliers en verre ambré mis au congélateur, à une température voisine de 0° C jusqu'aux analyses.

Les rendements d'extraction en HE sont calculés à partir des masses des végétaux frais ou séchés (m/m) :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{\text{Masse d'HE obtenue (g)}}{\text{Masse de l'organe végétal frais ou séché (g)}} \times 100 .$$

II.2.2. Analyses des HE

a. Préparation des échantillons d'HE

Les analyses des HE en CPG(Ir) et CPG-SM sont réalisées avec une solution obtenue en diluant 40 à 50 mg d'HE dans 0,5 mL de $CHCl_3$. La préparation est faite dans des piluliers de CPG en verre transparent. Pour les analyses en RMN ^{13}C, les mêmes quantités d'échantillon sont utilisées. Le solvant utilisé est cette fois-ci le $CDCl_3$ additionné de TMS. On prélève le même volume que dans le cas précédent et le mélange est réalisé dans des tubes de RMN. Dans le cas où l'échantillon est en faible quantité la CPG(Ir) et la CPG-SM sont réalisées directement avec le $CDCl_3$.

b. Analyse par CPG (Ir)

Les conditions opératoires sont les suivantes : gaz vecteur, hydrogène (1,0 mL/min) ; pression en tête de colonne : 20 psi ; température de l'injecteur et des détecteurs : 250°C ; programmation de température : de 60°C à 220°C (80 min) à 2°C/min, puis maintenue isotherme à 220°C pendant 20 min ; injection : mode diviseur (split) avec un rapport 1/60. La quantité d'échantillon injectée est de 0,5 µL issue d'une solution contenant 50 µL d'HE dans 500 µL de $CHCl_3$ ou $CDCl_3$. Les indices de rétention (Ir) ont été déterminés par rapport aux temps de rétention (Tr) d'une série de *n*-alcanes (C_7-C_{28}) avec interpolation linéaire (logiciel " Target Compounds " de Perkin-Elmer). Les proportions relatives (en pourcentage) des constituants ont été obtenues par normalisation de surface de pic sans utiliser de facteurs de correction.

c. Analyse par CPG-SM

Le gaz vecteur est l'hélium (0,8 mL/mn) et il exerce une pression en tête de colonne de 25 psi. La température de l'injecteur est de 250°C et celle du détecteur 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60°C à 230°C, à 2°C/min, puis en un palier de 45 min à 230°C. L'injection se fait en mode split avec un rapport de division de 1/50. La quantité d'échantillon injectée est de 0,2 µL. La détection se fait par un analyseur à filtre quadripolaire. Les molécules sont généralement bombardées par un faisceau électronique de 70 eV. Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 35-350 Da.

d. Analyse par RMN

Les spectres ont été enregistrés avec une sonde de 5 mm. Le solvant est le $CDCl_3$ additionné de tétraméthylsilane (TMS). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm (δ) par rapport au TMS pris comme référence interne.

Les spectres du ^{13}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 Fourrier par une fonction exponentielle (LB = 1,0 Hz).

II.2.3. Identification des constituants des HE

Les HE sont, au préalable, analysées par CPG(Ir) pour connaître leur profil chromatographique. En fonction du profil chromatographique, les échantillons subissent ensuite une analyse par RMN ^{13}C. La CPG-SM est finalement utilisée pour identifier les composés en faibles proportions généralement inférieures au seuil de détection de la RMN ^{13}C qui est de l'ordre de 0,3 à 0,5%. L'identification des composés est alors basée sur :

- la comparaison de leurs indices de rétention en CPG, obtenus sur des colonnes polaire et apolaire (Ira et Irp), déterminés en fonction des temps de rétention d'une série de *n*-alcanes par interpolation linéaire avec ceux des composés authentiques ou des données de la littérature ;
- la correspondance de leurs données spectrales avec celles des bibliothèques de spectres de masse commerciales et du laboratoire (König *et al*., 2001 ; Adams, 2007) ;
- et la comparaison de leurs signaux dans les spectres RMN ^{13}C des HE avec ceux des spectres de référence compilés dans la bibliothèque de spectres du laboratoire à l'aide de logiciels qui y ont été développés (Ouattara *et al*., 2014).

L'identification des constituants des échantillons non analysés par RMN se fait par comparaison de leurs indices de rétention sur les deux colonnes chromatographiques avec ceux des composés identifiés par RMN et/ou par CPG-SM dans les autres échantillons.

II.2.4. Analyses statistiques

Pour l'étude de la variabilité chimique des HE, nous avons utilisé deux outils statistiques permettant d'observer les similitudes ou les différences apparaissant au sein d'un groupe d'échantillons : l'Analyse en Composante Principale (ACP) et la Classification Hiérarchique Ascendante (CHA). Ces Analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel *XL*STAT-PRO (Thierry Fahmy, France). Les CHA et dendrogrammes ont été réalisés avec des matrices de dissimilarités calculées en distance euclidienne et la méthode d'agrégation choisie systématiquement est le lien moyen.

II.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante des HE par spectrophotométrie

L'activité antioxydante de certains échantillons d'HE a été évaluée vis-à-vis du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). La méthode utilisée est celle rapportée à l'origine par Leitao *et al*. (2002) et Chen *et al*. (2004). Elle a été mise en œuvre avec quelques modifications. Son principe est basé sur le piégeage des radicaux libres par des antioxydants. La solution de DPPH est obtenue en dissolvant 4 mg de poudre dans 100 mL de méthanol (MeOH). Les HE sont dissoutes dans du méthanol pour obtenir une solution mère de 8 mg/mL. La solution mère est ensuite soumise à des doubles dilutions successives pour obtenir une gamme de concentrations allant de 8 mg/mL à 0,5 mg/mL. Les dilutions retenues pour le test sont donc : 8 mg/mL ; 4 mg/mL ; 2 mg/mL ; 1 mg/mL et 0,5 mg/mL. Le test est effectué en mélangeant 3 mL de la solution de DPPH ci-dessus avec 0,1 mL d'HE à examiner à différentes concentrations. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, la vitamine C, préparée selon la même méthode mais avec la gamme de concentrations suivante : 0,25 mg/mL ; 0,5 mg/mL ; 1 mg/mL ; 2 mg/mL et 4 mg/mL. Les tubes à essai sont, après agitation au vortex, incubés à l'obscurité et à température ambiante pendant une durée de 30 min. Les mesures d'absorbance des échantillons sont réalisées au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 517 nm (maximum du DPPH) (Wu *et al*., 2008). Le pourcentage d'inhibition (I%) du DPPH par l'échantillon est calculé en utilisant la formule suivante (Leitao *et al*., 2002) :

$$I\% = \frac{A_{controle} - A_{test}}{A_{controle}} \times 100$$

où $A_{contrôle}$ est l'absorbance du contrôle (contenant tous les réactifs sans le produit test) et A_{test} est l'absorbance de l'échantillon. Le graphique de la variation du pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration des HE est utilisé pour déterminer l'CI50 (concentration à 50%

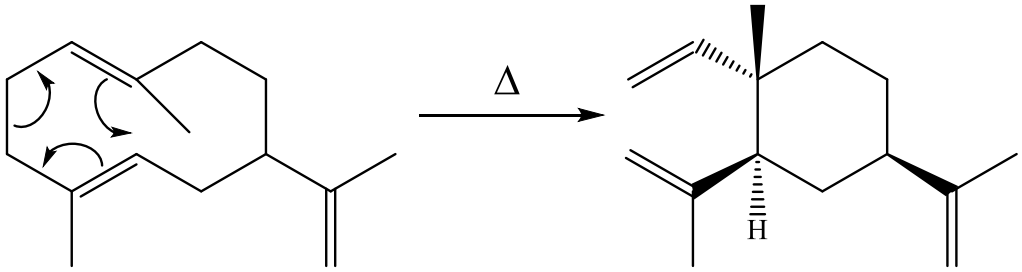
d’inhibition, qui est l’activité antioxydante des HE). Cette détermination se fait à partir du tracé d’une droite de régression. La CI50 est alors l’abscisse correspondant à 50% d’inhibition. Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence (vitamine C). Toutes les expériences ont été effectuées à trois reprises pour chaque concentration.

CHAPITRE III :
RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. ETUDE DE L'HE DE FEUILLES D'*ARTABOTRYS INSIGNIS*

III.1.1. Identification et quantification du β-élémène et du germacrène A

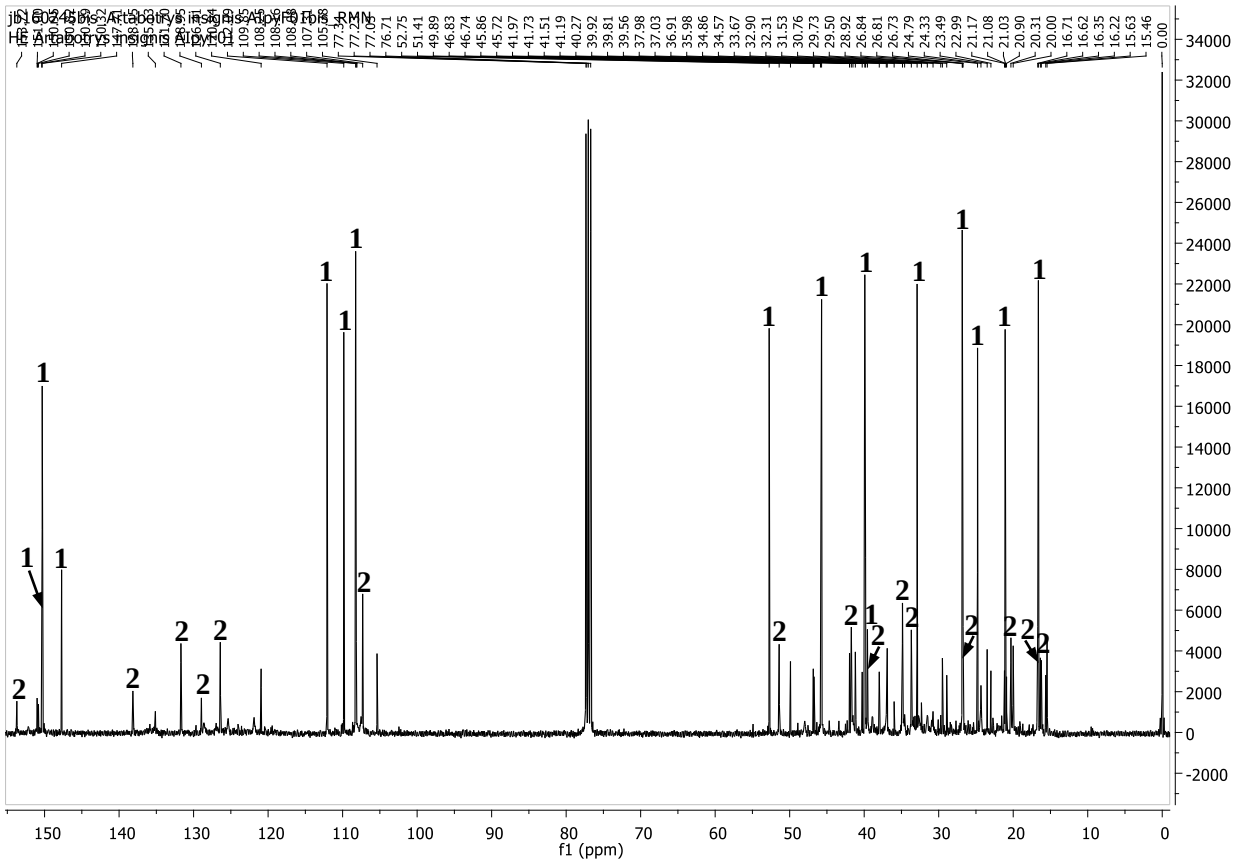
L'hydrodistillation des feuilles d'*A. insignis* a conduit à l'obtention d'une HE de couleur jaune clair avec un rendement de 0,33%. Cette HE a été analysée par CPG(Ir) (CPG(FID)), CPG-SM et RMN ^{13}C. L'analyse par CPG(FID) a permis d'estimer la teneur en β-élémène dans l'HE à 79,4 % et celle du germacrène A, à 0,5 %. Cependant, l'observation dans le spectre RMN de l'intensité moyenne des raies de résonance du β-élémène indique que sa teneur est beaucoup plus faible. De plus, nous observons la présence sur le chromatogramme d'un composé identifié par CPG-SM comme étant le *cis*-β-élémène avec une proportion de 3,9 % mais aucune raie de résonance correspondant à ce composé n'est présente sur le spectre RMN. Cette observation est due à la présence des élémènes (β-, δ- et γ-élémènes), souvent identifiés dans les HE mais qui peuvent être des artéfacts et proviennent en réalité de la transposition thermique du germacrène correspondant (transposition de Cope, transposition sigmatropique [3,3]) (Baldovini *et al*., 2001). Dans notre cas, la littérature (Adio *et al*., 2009 ; Ouattara *et al*., 2013b) indique que le germacrène A se transforme thermiquement en β-élémène, par transposition de Cope (Figure 19) dans des conditions usuelles de la CPG (température de l'injecteur autour de 250°C et programmation de température s'achevant vers 220°C). Sur le spectre RMN ^{13}C de notre échantillon, les valeurs moyennes des intensités des raies de résonance des carbones, à l'exception de celles des carbones quaternaires du germacrène A, comparées avec celles du β-élémène montrent un rapport d'environ 1/4 (Figure 20). Cela nous indique que la majorité du germacrène A présent dans notre échantillon d'HE s'est transformée en β-élémène dans l'injecteur et les colonnes capillaires. De plus, la comparaison des proportions de germacrène A sur les deux colonnes montre que la transposition est variable avec la nature de la phase stationnaire. En effet, les pourcentages reportés sur les deux colonnes sont de 0,5 % sur la colonne apolaire contre 4,8 % sur la colonne polaire. Cette constatation indique que la quantification du germacrène A et du β-élémène n'est pas possible par CPG(Ir) et nous avons choisi de réaliser celle-ci par combinaison de la CPG(FID) et de la RMN ^{13}C.



Germacrène A β-Elémène

Figure 19 : Transformation du germacrène A en β-élémène par transposition de Cope

Le spectre RMN ^{13}C de notre échantillon d'HE est représenté dans la figure 19 avec la mise en évidence des pics du β-élémène et du germacrène A.



(1) pics du β-élémène ; (2) pics du germacrène A

Figure 20 : Pics du β-élémène et du germacrène A dans le spectre RMN de l'HE de feuilles d'*A. insignis*.

III.1.2. Composition chimique de l'HE de feuilles d'*Artabotrys insignis*

Dix-huit composés représentant 94,4% de la composition relative totale de l'HE ont été identifiés (Tableau IV). Cette HE se caractérise par une très forte proportion de sesquiterpènes oléfiniques (92,8%) parmi lesquels le β-élémène (66,8%) et le germacrène A (17,1%) sont les composés majoritaires. Les autres composés notables de cette HE sont le β-sélinène (3,4%) et l'α-sélinène (3,2%). Nous avons également noté, en CPG(FID), la présence du *cis*-β-élémène (3,9%). Ce composé qui n'est pas identifié par spectroscopie RMN ^{13}C est aussi également généré à partir du germacrène A par réarrangement de Cope (Adio et *al*., 2004).

Ainsi, tous les six composés identifiés par RMN ^{13}C sont présents dans la bibliothèque de spectres « Terpènes » constituée au Laboratoire (Figure 21 et Tableau III). Pour chacun de ces composés :

- tous les signaux des carbones ont été observés, à l'exception des carbones quaternaires du sélina-4,11-diène et du sélina-11-èn-4α-ol, composés présents à des teneurs proches de 1,0 %, ce qui ne gêne en rien leur identification ;
- les variations de déplacements chimiques (Δδ) entre les signaux de ces carbones et les valeurs de référence sont faibles : inférieures ou égales à 0,03 ppm pour plus de 84% des signaux et comprises entre 0,04 et 0,08 pour les autres signaux (0,12 ppm néanmoins pour un des carbones quaternaires du β-élémène) ;
- le nombre de superpositions de signaux est limité (inférieur ou égal à 3) et n'empêche pas l'identification des constituants, chacun d'entre eux étant identifié au minimum à partir de deux tiers des signaux lui appartenant en propre.

Tableau III : Composés identifiés par RMN ^{13}C dans l'HE de feuilles d'*A. insignis*.

	Composés	RMN	Sup	Ira	Irp	HE
1	β-Elémène	15/15	3	1385	1587	66,8
2	Sélina-4,11-diène	11/15	2	1470	1667	0,8
3	β-Sélinène	15/15	3	1480	1713	3,4
4	α-Sélinène	15/15	2	1490	1718	3,2
5	Germacrène A	15/15	0	1499	1755	17,1
6	Sélina-11-èn-4α-ol	13/15	3	1 635	2 241	1,0
	Total					92,3

RMN : nombre de signaux observés dans le spectre RMN ^{13}C par rapport au nombre de pics attendus.
SUP : nombre de superpositions. L'ordre d'élution et les pourcentages sont donnés sur colonne apolaire.
Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20).

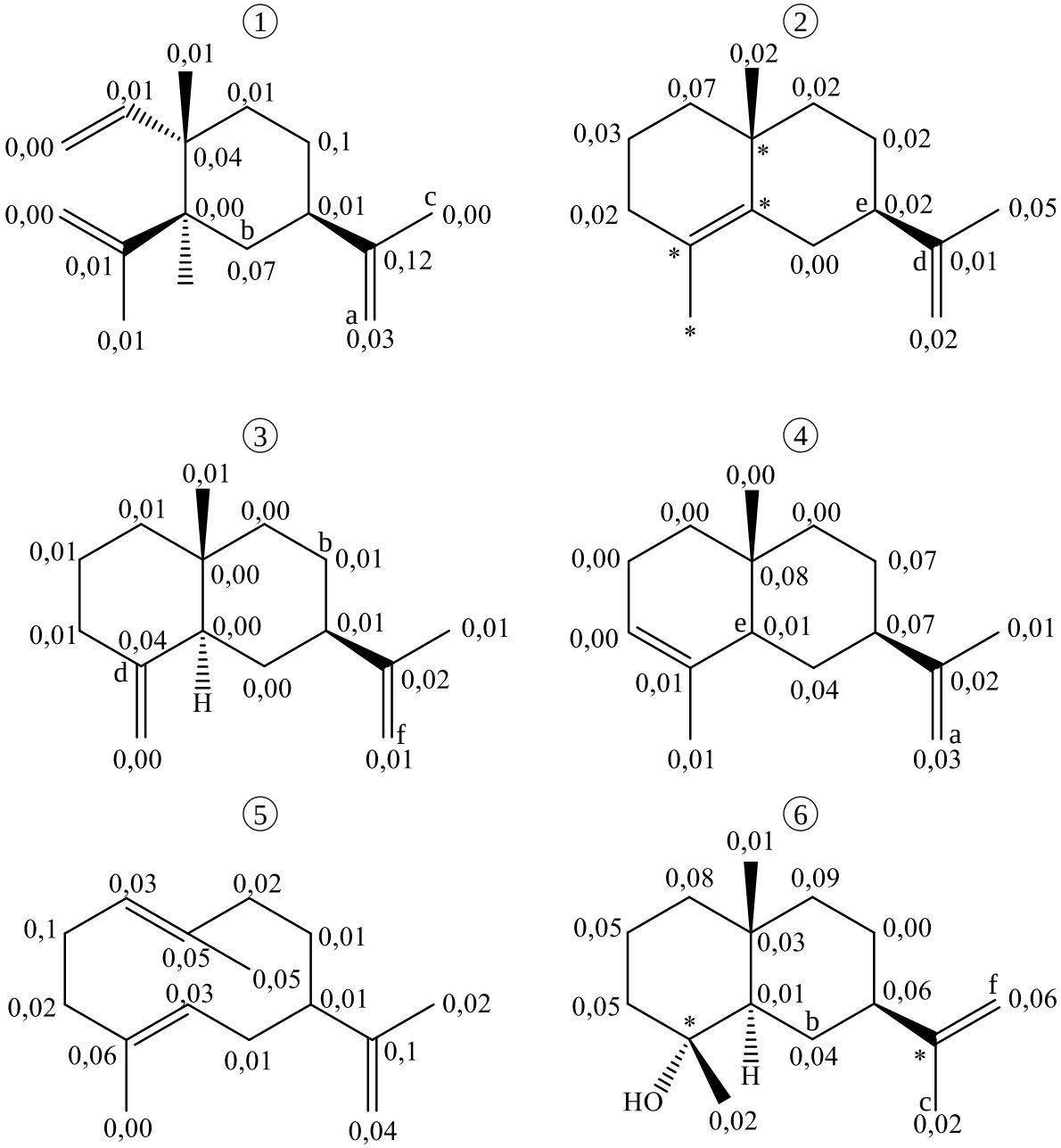


Figure 21 : Identification des constituants de l'HE de feuilles d'*A. insignis* par RMN ^{13}C.

*Les variations de déplacements chimiques par rapport aux valeurs de référence sont reportées à côté des carbones auxquels elles correspondent. Les superpositions des raies de résonance sont signalées par des lettres à proximité des carbones. * Carbone non observé sur le spectre RMN ^{13}C.*

Tableau IV : Composition chimique de l'HE de feuilles d'*A. insignis*.

	Composés	Ir^{lit}	Ira	Irp	*A. insignis*	Identification
1	α-Pinène	936	929	1015	0,2	Ir, SM
2	Camphène	950	942	1065	tr	Ir, SM
3	β-Pinène	978	969	1112	tr	Ir, SM
4	Myrcène	987	979	1160	0,1	Ir, SM
5	Limonène	1025	1019	1201	0,1	Ir, SM
6	(*Z*)-β-Ocimène	1029	1024	1233	tr	Ir, SM
7	*cis*-β-Elémène	1381	1379	1573	artefact	Ir, SM
8	β-Elémène#	1389	1385	1587	**66,8**	Ir, SM, RMN ^{13}C
9	α-Santalène*	1422	1416	1566	0,2	Ir, SM
10	(*E*)-β-Caryophyllène*	1421	1416	1593	0,4	Ir, SM
11	α-Humulène	1455	1448	1665	0,1	Ir, SM
12	Sélina-4,11-diène	1475	1470	1667	0,8	Ir, SM, RMN ^{13}C
13	Germacrène D	1479	1474	1704	0,5	Ir, SM
14	β-Sélinène	1486	1480	1713	**3,4**	Ir, SM, RMN ^{13}C
15	α-Sélinène	1494	1490	1718	**3,2**	Ir, SM, RMN ^{13}C
16	Germacrène A#	1503	1499		**17,1**	Ir, SM, RMN ^{13}C
17	δ-Cadinène	1520	1513	1 751	0,3	Ir, SM
18	Sélina-11-èn-4α-ol		1 635	2 241	1,0	Ir, SM, RMN ^{13}C
	Total				94,2	
	Rendement				0,33	
	Monoterpènes hydrocarbonés				0,4	
	Monoterpènes oxygénés				-	
	Sesquiterpènes hydrocarbonés				92,8	
	Sesquiterpènes oxygénés				1,0	

L'ordre d'élution et les pourcentages sont donnés sur colonne apolaire exceptés les composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (*) pour lesquels les pourcentages sont donnés sur colonne polaire (BP-20).
Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20).
Ir^{lit} : indices de rétention de la littérature mesurés sur colonne DB-1 (http://massfinder.com)
: composés quantifiés par RMN ^{13}C. tr : composés à l'état de trace < 0,05%.

La composition chimique de l'HE de feuilles d'*A. insignis* d'origine ivoirienne, dominée par sesquiterpènes oléfiniques, est totalement différente de celle décrite pour l'HE d'écorce de tige d'*A. insignis* du Zaïre (aujourd'hui République Démocratique du Congo), où les composés majoritaires sont des sesquiterpènes oxygénés : 1,5-époxy-salvial-4(14)-ène (27,3%) et le widdrol (7,5%) (Fournier *et al*., 1997).

III.2. ETUDE DE L'HE D'*ARTABOTRYS JOLLYANUS*

III.2.1. HE de feuilles

III.2.1.1. Etude de l'échantillon F4

L'échantillon d'HE de feuilles (F4) d'*A. jollyanus* a été analysé de façon détaillée par la combinaison de trois méthodes : CPG (Ir) (Figure 22), CPG-SM et RMN ^{13}C (Figure 23). Au total 37 composés ont été ainsi identifiés (12 monoterpènes et 25 sesquiterpènes) représentant 96,9% de la composition chimique globale de l'échantillon (Tableau V). Principalement riche en sesquiterpènes oléfiniques, cette HE est dominée par le *trans*-calamenène (15,7%), suivi de l'α-copaène (14,8%), l'α-cubébène (10,4%), le cadina-3,5-diène (10,3%) et un sesquiterpène oxygéné, le 7-hydroxycalamenène (10,1%). Les autres sesquiterpènes présents à des proportions significatives sont le (*E*)-β-caryophyllène (6,3%), le cadina-1,4-diène (6,1%), le β-cubébène (3,1%), l'α-humulène (3,0%), le δ-cadinène (1,9%), le bicyclosesquiphellandrène (1,8%) le bicyclogermacrène (1,5%) et le spathulénol (1,1%). Enfin, la fraction monoterpénique est principalement représentée par le (*Z*)-β-ocimène (3,6%). Les autres monoterpènes hydrocarbonés sont présents à des proportions faibles n'excédant pas 0,5%.

L'identification du *trans*-calamenène (composé majoritaire) a retenu notre attention. En effet, les stéréoisomères du calamenène (*cis* et *trans*) présentent des pics superposés sur les colonnes capillaires apolaire et polaire en chromatographie en phase gazeuse (Ira : 1509 ; Irp : 1829) et des spectres de masse insuffisamment différenciés (Joulain et König, 1998) (Annexe 2 et 3). De nombreux auteurs décrivent d'ailleurs l'identification du calamènene sans proposer une stéréochimie. Cependant, l'identification de l'isomère correct peut être obtenue sans difficulté par RMN ^{13}C. En effet, les séries de déplacements chimiques des deux composés ne présentent aucun signal commun (Nakashima *et al*., 2002). Ce résultat montre l'intérêt de l'utilisation de la RMN ^{13}C comme méthode d'identification des composés présentant des spectres de masse peu différenciés voire identiques comme les stéréoisomères.

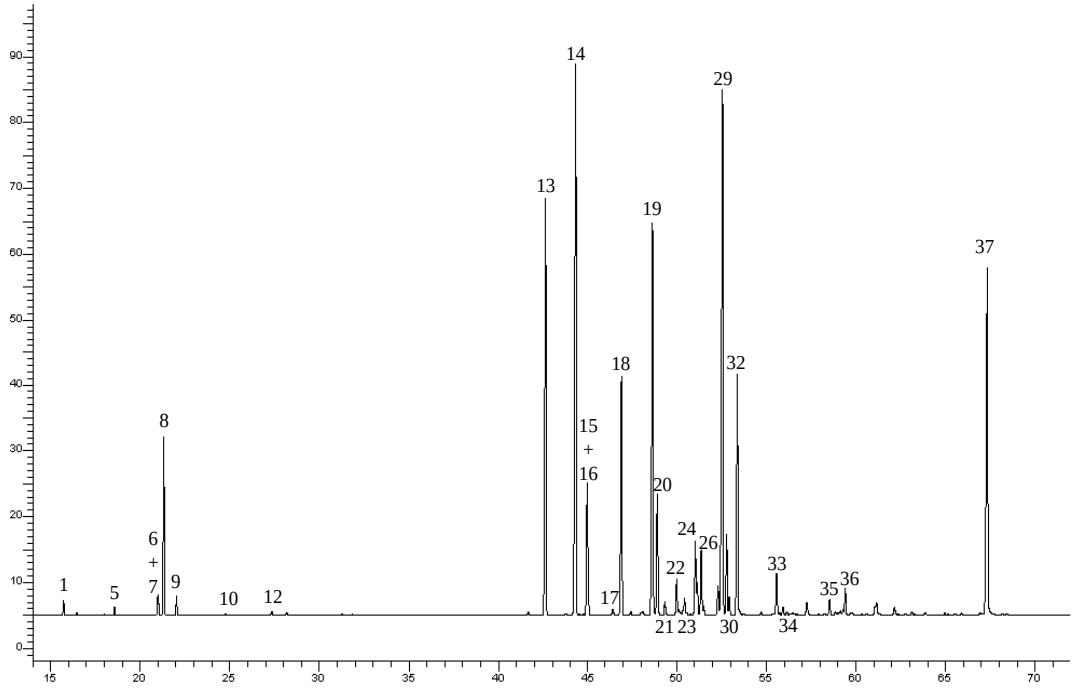


Figure 22 : Chromatogramme de l'échantillon F4

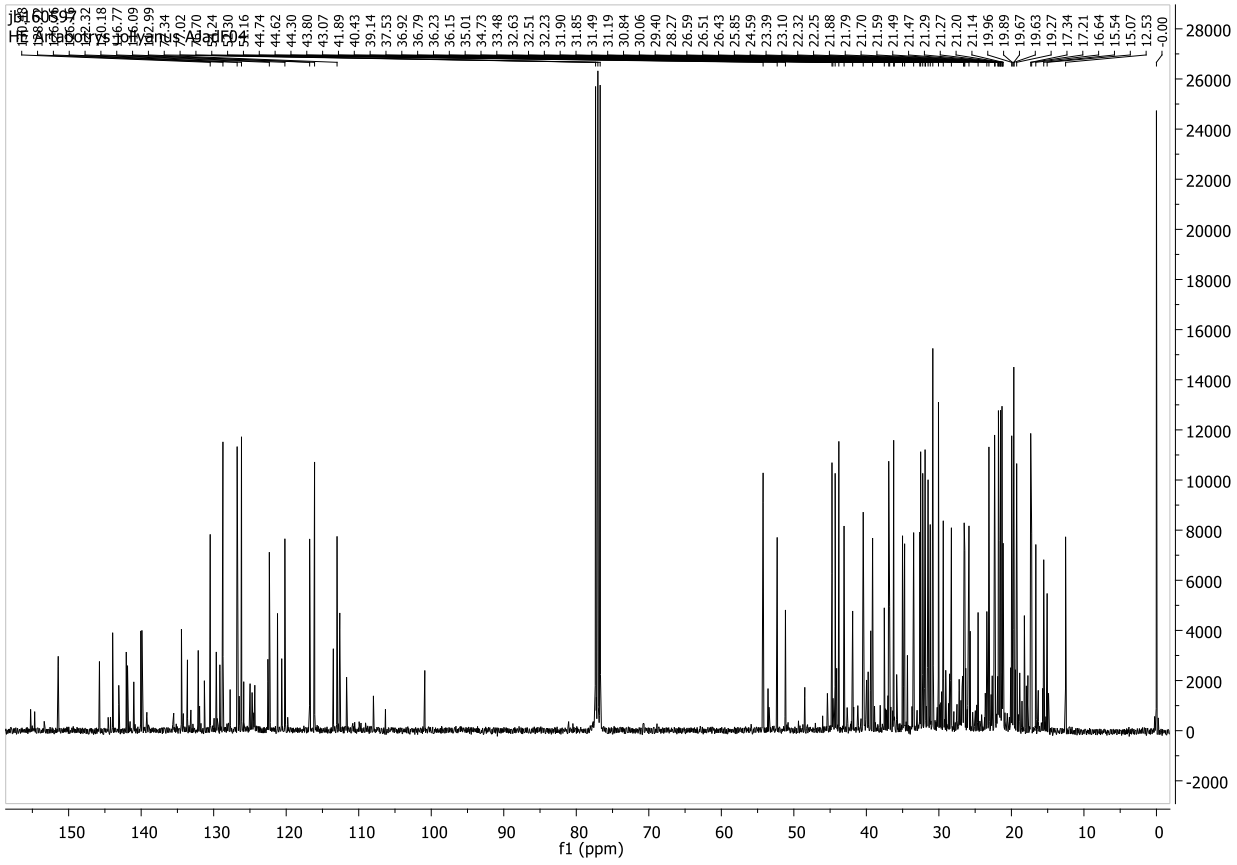


Figure 23 : Spectre RMN ^{13}C de l'échantillon F4

Tableau V : Composition chimique de l'échantillon F4 d'*Artabotrys jollyanus*.

	Composés	Ir^{lit}	Ira	Irp	*A. jollyanus*	Identification
1	α-Pinène	936	929	1 015	0,3	Ir, SM
2	Camphène	950	942	1 065	tr	Ir, SM
3	Sabinène	973	964	1 123	tr	Ir, SM
4	β-Pinène	978	969	1 112	tr	Ir, SM
5	Myrcène	987	979	1 160	0,2	Ir, SM
6	Limonène*	1 025	1 019	1 201	0,2	Ir, SM
7	β-Phellandrène*	1 023	1 019	1 211	0,4	Ir, SM
8	(*Z*)-β-Ocimène	1 029	1 024	1 233	3,6	Ir, SM, RMN ^{13}C
9	(*E*)-β-Ocimène	1 041	1 035	1 250	0,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
10	Terpinolène	1 082	1 077	1 283	tr	Ir, SM
11	Linalol	1 086	1 082	1 545	tr	Ir, SM
12	*allo*-Ocimène	1 113	1 116	1 372	0,1	Ir, SM
13	α-Cubébène	1 355	1 348	1 456	10,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
14	α-Copaène	1 379	1 375	1 490	14,8	Ir, SM, RMN ^{13}C
15	β-Cubébène*	1 390	1 385	1 535	3,1	Ir, SM
16	β-Elémène*	1 389	1 385	1 587	0,5	Ir, SM, RMN ^{13}C
17	α-Gurjunène	1 413	1 408	1 525	0,2	Ir, SM
18	(*E*)-β-Caryophyllène	1 421	1 416	1 593	6,3	Ir, SM, RMN ^{13}C
19	Cadina-3,5-diène	1 448	1 444	1 627	10,3	Ir, SM, RMN ^{13}C
20	α-Humulène	1 455	1 448	1 665	3,0	Ir, SM, RMN ^{13}C
21	*allo*-Aromadendrène	1 462	1 456	1 640	0,3	Ir, SM
22	Cadina-1(6),11-diène	-	1 466	1 655	0,8	Ir, SM
23	Germacrène D	1 479	1 474	1 704	0,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
24	Bicyclosesquiphellandrène	1 487	1 483	1 708	1,8	Ir, SM, RMN ^{13}C
25	4-*epi*-Cubébol	1 490	1 485	1 883	0,8	Ir, SM, RMN ^{13}C
26	Bicyclogermacrène	1 494	1 489	1 728	1,5	Ir, SM, RMN ^{13}C
27	α-Muurolène	1 496	1 491	1 719	0,2	Ir, SM
28	Cubébol	1 514	1 504	1 935	0,8	Ir, SM, RMN ^{13}C
29	*trans*-Calamenène	1 517	1 509	1 829	15,7	Ir, SM, RMN ^{13}C
30	δ-Cadinène*	1 520	1 513	1 751	1,9	Ir, SM, RMN ^{13}C
31	Zonarène*	1 521	1 515	1 752	0,4	Ir, SM
32	Cadina-1,4-diène	1 523	1 523	1 777	6,1	Ir, SM, RMN ^{13}C
33	Spathulenol	1 572	1 561	2 117	1,1	Ir, SM, RMN ^{13}C
34	Oxyde de caryophyllène	1 578	1 567	1 976	0,2	Ir, SM
35	*épi*-Cubénol	1 623	1 612	2 058	0,4	Ir, SM
36	Cubénol	1 630	1 628	2 051	0,7	Ir, SM
37	7-Hydroxycalamenène	1 803[c]	1 775	2 783	10,1	Ir, SM, RMN ^{13}C
	Total				96,9	
	Rendement (%)				0,40	
	Monoterpènes hydrocarbonés				5,2	
	Monoterpènes oxygénés				tr	
	Sesquiterpènes hydrocarbonés				77,7	
	Sesquiterpènes oxygénés				14,0	

L'ordre d'élution et les pourcentages sont donnés sur colonne apolaire (BP-1), exceptés les composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (*) pour lesquels les pourcentages sont donnés sur colonne polaire (BP-20). Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20).
tr = composes présents à l'état de trace (<0.05%). Ir^{lit} : indices de rétention de la littérature mesurés sur colonne DB-1 (http://massfinder.com). [c] indice mesuré sur colonne HP-5 (Azevedo *et al*., 2014).

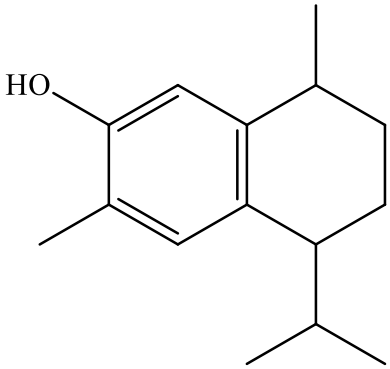
III.2.1.2. Identification des constituants à partir de données de la littérature

Trois composés à squelette bicyclo[4.4.0]décanique, absents de notre bibliothèque de spectre « terpènes » ont été identifiés à partir des données de la littérature.

a. Identification du 7-hydroxycalamenène

Les déplacements chimiques des atomes de carbone de ce composé, relevés sur le spectre RMN de notre échantillon, correspondent à ceux décrits par Cambie *et al.* (1990) (Tableau VI). Le composé étant présent dans le mélange en teneur appréciable (10,1%), nous avons repéré tous ses signaux, y compris ceux des carbones quaternaires. Le spectre RMN enregistré avec les séquences DEPT nous a permis de confirmer le nombre d'hydrogènes portés par les carbones de la molécule. De plus, l'indice de rétention sur colonne apolaire de ce sesquiterpène (Ira = 1775) reste cohérent avec celui décrit en 2014 par Azevedo *et al*. (Ira = 1803). Cet indice a été obtenu sur une colonne capillaire de type HP-5 dont la phase est légèrement plus polaire que celle utilisée au laboratoire.

Tableau VI : Structure et déplacements chimiques du 7-hydroxycalamenène

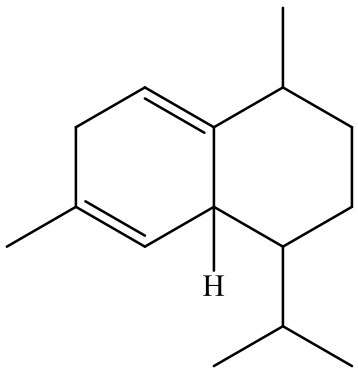
7-hydroxycalamenène	**δ_C (ppm)[a]** Cambie *et al*., 1990	**δ_C (ppm)[b]**	**DEPT[c]**
	32,6	32,64	CH
	30,8	30,87	CH_2
	21,5	21,78	CH_2
	43,0	43,08	CH
	130,5	130,46	CH
	120,6	120,71	C
	151,3	151,51	C
	113,0	112,99	CH
	132,2	132,02	C
	142,2	141,98	C
	15,5	15,58	CH_3
	22,2	22,25	CH_3
	31,8	31,86	CH
	21,2	21,28	CH_3
	17,2	17,20	CH_3

[a] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus par Cambie *et al*., 1990.
[b] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus expérimentalement.
[c] Multiplicité des atomes de carbone obtenus à partir de la séquence DEPT 135.

b. Identification du cadina-1,4-diène

Ce composé absent des bibliothèques du laboratoire a été suggéré par la CPG-SM. La comparaison des valeurs de déplacements chimiques de ses atomes de carbone (Tableau VII) avec ceux décrits dans la littérature (Joulain et König, 1998) a permis de confirmer sa présence dans notre échantillon. L'indice de rétention sur colonne apolaire BP-1 dans la littérature, Ir^{lit} = 1523 (Joulain et König, 1998) concorde avec celui que nous avons obtenu expérimentalement, Ira = 1523.

Tableau VII : Structure et déplacements chimiques du cadina-1,4-diène

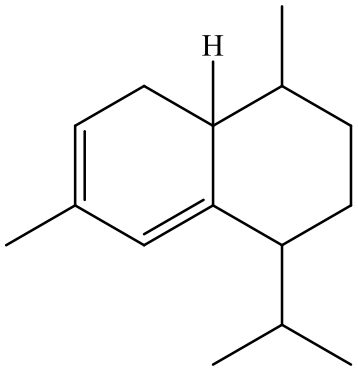
Cadina-1,4-diène	**δ_c (ppm)[a]** Joulain et König, 1998	**δ_c (ppm)[b]**	**DEPT[c]**
	37,57	37,53	CH
	23,31	23,39	CH_3
	18,16	18,22	CH_3
	36,85	36,80	CH_2
	51,19	51,15	CH
	143,07	143,06	C
	26,62	26,59	CH_2
	24,69	24,60	CH_2
	41,94	41,90	CH
	31,53	31,50	CH_2
	131,25	131,26	C
	112,60	112,61	CH
	21,43	21,48	CH_2
	112,60	112,61	CH
	15,09	15,07	CH_3

[a] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus par Joulain et König, 1998.
[b] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus expérimentalement.
[c] Multiplicité des atomes de carbone obtenus à partir de la séquence DEPT 135.

c. Identification du cadina-3,5-diène

La structure de ce composé absent des bibliothèques du laboratoire a aussi été suggérée par la spectroscopie de masse. La comparaison des valeurs de déplacements chimiques de ses atomes de carbone avec celles décrites dans la littérature (Joulain et König, 1998) a permis de confirmer sa présence dans notre échantillon (Tableau VIII). Nous observons des différences un peu plus élevées que dans les deux cas précédents car le solvant d'enregistrement n'est pas le même (C_6D_6 *vs*. $CDCl_3$ dans notre cas).

Tableau VIII : Structure et déplacements chimiques du cadina-3,5-diène

Cadina-3,5-diène	**δ_C (ppm)[a] dans le C_6D_6** Joulain et König, 1998	**δ_C (ppm)[b]**
	12,78	12,53
	21,41	21,14
	21,92	21,59
	22,08	21,87
	26,25	25,85
	26,74	26,43
	28,70	28,27
	29,68	29,39
	35,26	35,01
	39,56	39,14
	52,71	52,30
	117,28	116,76
	122,93	122,32
	129,40	129,14
	141,93	141,88

[a] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus par Joulain et König, 1998.
[b] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus expérimentalement.

III.2.1.3. Etude de la composition chimique en fonction du cycle végétatif

Nous avons étudié l'évolution de la composition chimique de l'HE de feuilles d'*A. jollyanus* sur une période de 12 mois allant d'avril 2014 (échantillon F1) au mois de mars 2015 (échantillon F12). L'ensemble des échantillons (12) d'HE a été analysé par CPG(Ir) et en fonction du profil chromatographique, un autre échantillon d'HE de feuilles (F11), en plus de l'échantillon F4, a été également analysé par RMN ^{13}C. De plus les échantillons F1 – F5 et F11 ont aussi été analysés par CPG-SM dans le but d'identifier les composés minoritaires. Ainsi, nous avons identifié au total 39 composés (14 monoterpènes, 25 sesquiterpènes) représentant de 94,5% à 97,9% de la composition chimique totale. La composition chimique des différents échantillons figure dans le tableau IX.

Tableau IX : Evolution de la composition chimique de l'HE de feuilles d'*A. jollyanus*

	Composés	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	Identification
		avr	mai	juin	juil	aoû	sept	oct	nov	dec	jan	fév	mar	
1	α-Pinène	0,3	0,4	0,2	0,3	0,4	0,4	0,6	0,3	0,5	0,3	0,6	0,2	Ir, SM
2	Camphène	tr	0,1	tr	tr	0,1	0,1	0,1	tr	0,1	tr	0,1	tr	Ir, SM
3	Sabinène	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	tr	-	Ir, SM
4	β-Pinène	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	0,1	0,1	Ir, SM
5	Myrcène	0,1	0,1	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	Ir, SM
6	α-Phellandrène	-	-	-	-	0,1	tr	0,1	tr	0,1	tr	0,1	-	Ir, SM
7	Limonène*	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,2	0,5	0,3	0,3	0,2	Ir, SM, RMN ^{13}C
8	β-Phellandrène*	0,4	0,4	0,3	0,4	0,8	0,6	0,9	0,6	0,9	0,5	0,8	0,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
9	(*Z*)-β-Ocimène	**5,5**	**5,3**	**5,3**	3,6	4,7	3,4	4,6	3,4	**5,5**	3,5	4,6	2,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
10	(*E*)-β-Ocimène	0,6	0,5	0,6	0,4	0,5	0,4	0,5	0,4	0,6	0,3	0,5	0,2	Ir, SM, RMN ^{13}C
11	γ-Terpinène	tr	tr	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	Ir, SM
12	Terpinolène	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	0,1	tr	tr	tr	Ir, SM
13	Linalol	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	-	Ir, SM
14	*Allo*-Ocimène	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Ir, SM
15	α-Cubébène	**10,7**	**9,2**	**10,6**	**10,4**	**10,7**	**11,0**	**8,8**	**9,7**	**14,5**	**12,9**	**8,8**	**10,2**	Ir, SM, RMN ^{13}C
16	α-Copaène	**14,7**	**12,4**	**14,8**	**14,8**	**15,7**	**16,4**	**12,7**	**14,3**	**20,4**	**18,8**	**12,3**	**14,6**	Ir, SM, RMN ^{13}C
17	β-Cubébène*	2,7	2,1	3,2	3,1	3,1	3,2	2,7	3,1	2,5	1,4	3,2	2,3	Ir, SM
18	β-Elémène*	0,6	0,8	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	Ir, SM, RMN ^{13}C
19	α-Gurjunène	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	Ir, SM
20	(*E*)-β-Caryophyllène	**8,0**	**7,9**	**7,1**	**6,3**	**6,6**	**6,6**	**6,8**	**6,7**	**7,7**	**7,1**	**6,5**	**5,7**	Ir, SM, RMN ^{13}C
21	Cadina-3,5-diène	**7,3**	4,6	**9,2**	**10,3**	**10,2**	**10,6**	**9,3**	**10,8**	**7,6**	**8,0**	**11,0**	0,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
22	α-Humulène	3,5	3,6	3,2	3,0	3,1	3,0	3,4	3,2	3,2	3,1	3,3	2,9	Ir, SM, RMN ^{13}C
23	*Allo*-Aromadendrène	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
24	Cadina-1(6),11-diène	1,1	1,1	0,8	0,8	0,8	0,7	1,0	0,9	0,9	1,2	0,9	0,7	Ir, SM, RMN ^{13}C
25	Germacrène D	0,4	0,6	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,5	0,1	Ir, SM, RMN ^{13}C
26	Bicyclosesquiphellandrène	1,8	1,8	1,8	1,8	1,9	1,8	2,0	2,0	1,9	2,0	2,0	2,0	Ir, SM, RMN ^{13}C
27	4-*épi*-Cubébol	0,6	0,7	0,8	0,8	0,6	0,7	0,8	0,8	0,4	0,1	0,9	0,8	Ir, SM, RMN ^{13}C
28	Bicyclogermacrène	1,3	0,8	1,5	1,5	1,2	1,5	1,5	1,6	0,7	1,0	2,2	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
29	α-Muurolène	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Ir, SM
30	Cubébol	0,6	0,7	0,8	0,8	0,7	0,8	0,8	0,8	0,4	0,2	0,9	0,8	Ir, SM, RMN ^{13}C
31	*trans*-Calamenène	**18,6**	**22,4**	**16,4**	**15,7**	**16,5**	**16,3**	**16,6**	**16,4**	**17,8**	**18,7**	**14,7**	**27,6**	Ir, SM, RMN ^{13}C
32	δ-Cadinène*	2,5	3,0	1,9	1,9	1,8	1,7	2,2	2,0	2,1	2,7	2,0	2,6	Ir, SM, RMN ^{13}C
33	Zonarène*	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,3	0,5	0,4	0,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
34	Cadina-1,4-diène	**6,0**	**5,2**	**6,0**	**6,1**	**5,8**	**5,8**	**5,6**	**6,1**	**4,5**	**6,0**	**6,4**	2,9	Ir, SM, RMN ^{13}C
35	Spathulénol	1,4	1,9	1,1	1,1	1,0	0,9	1,3	1,1	1,0	0,8	0,8	2,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
36	Oxyde de caryophyllène	0,3	0,5	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,1	1,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
37	*épi*-Cubénol	0,4	0,5	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3	0,2	0,4	0,4	0,5	Ir, SM, RMN ^{13}C
38	Cubénol	0,6	0,7	0,6	0,7	0,6	0,5	0,7	0,7	0,3	0,5	0,8	0,7	Ir, SM, RMN ^{13}C
39	7-Hydroxycalamenène	4,8	**6,5**	**7,6**	**10,1**	**7,0**	**7,9**	**10,4**	**9,1**	1,3	4,9	**10,5**	**10,4**	Ir, SM, RMN ^{13}C
	Total	**96,6**	**95,6**	**97,2**	**96,9**	**97,1**	**97,4**	**96,8**	**97,2**	**97,9**	**97,4**	**97,4**	**94,5**	
	Rendement (%)	0,39	0,26	0,48	0,40	0,42	0,60	0,45	0,52	0,28	0,32	0,39	0,32	

Ordre d'élution et pourcentages sont donnés sur colonne apolaire (BP-1), exceptés les composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (*) pour lesquels les pourcentages sont donnés sur colonne polaire (BP-20).

Les rendements varient sensiblement de 0,26% à 0,60% (valeur moyenne = 0,40%). Trois domaines peuvent être distingués. Un rendement plus élevé a été observé en septembre (0,60%), pendant la saison sèche. Des rendements acceptables (0,39-0,52%, 7 échantillons d'huile sur 12) se sont produits entre juin et novembre et les rendements les plus faibles (0,26-

0,32%, 4 échantillons sur 12) ont été obtenus en mai d'une part et pendant la période décembre-mars, d'autre part.

Les taux de composés sesquiterpéniques et monoterpéniques restent constants (environ 90% pour les sesquiterpènes et 7% pour les monoterpènes) dans tous les échantillons d'HE. La composition de l'HE est toujours dominée par les hydrocarbures sesquiterpéniques, bien que la teneur des principaux composants varie sensiblement. Par exemple, le *trans*-calamenène (valeur moyenne = 18,1%) représente 15,7 à 17,7% pour 9 échantillons d'huile sur 12 (14,7%, 22,4% et 27,6% pour les trois derniers échantillons). Parallèlement, l'α-copaène (valeur moyenne = 15,2%) présente des proportions plus variables (12,3-12,7%, 3 échantillons, 14,3-14,8%, 5 échantillons, 15,7-20,4%, 4 échantillons). La teneur en 7-hydroxycalamenène (valeur moyenne = 7,5%) varie d'un facteur 8 de 1,3% à 10,5%. La teneur de quatre échantillons (6,5-7,9%) est très proche de la valeur moyenne tandis que cinq échantillons affichent des teneurs plus élevées (9,1 à 10,5%) tandis que deux échantillons présentent des teneurs plus faibles (4,8 et 4,9%) et le dernier échantillon 1,3 % seulement. Enfin, la teneur en cadina-3,5-diène variait de 7,3% à 11,0% pour 10 échantillons alors qu'elle n'était que de 4,6% pour un échantillon et de 0,4 % pour la dernière. De même, la teneur en cadina-1,4-diène varie de 5,2% à 6,4% pour 10 échantillons, alors qu'elle ne vaut que 4,5% et de 2,9% pour les deux derniers. Par contre, pour l'α-cubébène (valeur moyenne = 10,6%), nous observons des valeurs relativement constante (proches de 10%) avec une valeur minimale de 8,8% retrouvée pour deux échantillons et néanmoins une teneur maximale de 14,5% pour un échantillon.

Nous remarquons que la somme des pourcentages du cadina-1,4-diène, du cadina-3,5-diène, du *trans*-calamenène et du 7-hydroxycalamenène reste pratiquement constante dans tous les échantillons (environ 39%). En effet, le *trans*-calamenène peut être obtenu par déshydrogénation du cadina-1,4-diène et du cadina-3,5-diène. Ensuite, le 7-hydroxycalamenène est probablement synthétisé par hydroxylation du *trans*-calamenène. Ces résultats sont en accord avec la voie proposée pour la biosynthèse du thymol à partir du γ-terpinène via *p*-cymène (Poulose et Croteau, 1978).

La composition chimique de l'HE de feuilles d'*A. jollyanus*, dominée par des sesquiterpènes, diffère de celle de l'HE de feuilles d'*A. oliganthus* de Côte d'Ivoire, plutôt dominée par des monoterpènes, δ-3-carène (60,2%) et myrcène (10,6 %) (Ouattara *et al*., 2011). Cette composition est également différente de celle des HE d'écorce d'*A. lastourvillensis* Pell. provenant du Gabon : cypérène (25,9 %) et cypérénone (11,1 %) (Menut *et al*., 1992) et d'*A. velutinus* récolté au Benin : benzoate de benzyle (61,2%) et (*E*)-β-

caryophyllène (9,1%) (Yovo *et al*., 2016). Elle diffère aussi de celles des HE isolées d'*Artabotrys* poussant dans d'autres régions du monde. En effet, les compositions des HE de certaines espèces vietnamiennes sont majoritairement dominées par divers sesquiterpènes. Par exemple l'huile de feuilles d'*A. petelotti* Merr. est dominée par l'élémol (19,4%), le *cis*-β-guaiène (9,2%) et le δ-cadinène (8,4%) ; l'huile de feuilles d'*A. intermedius* Hassk. contient principalement le δ-3-carène (19,1%), l'α-gurjunène (10,7%) et l'α-zingiberène (6,3%) ; l'huile de feuilles d'*A. harmandii* Finet & Gagnep. a pour composés majoritaires le spathulénol (17,4%), l'époxyde d'aromadendrène (12,2%), le γ-élémène (7,1%), le β-élémène (5,0%), le bicyclogermacrène (5,0%) (Hung *et al*., 2014) et l'huile de feuilles d'*A. taynguyenensis*, le valencène (40,1%), le δ-sélinène (8,8%), l'α-pinène (6,7%), l'α-muurolène (5,1%), l'α-panasinène (5,1%) (Thang *et al*., 2014). L'huile de fleurs d'*A. hexapetalus* vietnamien contient principalement de l'oxyde de caryophyllène (31,5%), le β-caryophyllène (11,4%), l'époxyde d'humulène (10,0%) et l'α-copaène (8,1%) (Phan *et al*., 2007).

III.2.2 Huile essentielle d'écorce de tige

Nous avons analysé 12 échantillons d'HE d'écorce de tige (T1 à T12), provenant du même lot que les échantillons de feuilles (F1 à F12) récoltés dans la forêt d'Adiopodoumé. Ces HE sont obtenues avec un rendement faible mais homogène (0,04% à 0,06%) pour neuf échantillons. Des valeurs un peu plus élevées sont atteintes pour trois échantillons, avec la valeur maximale de 0,13% pour l'échantillon T6 qui correspond, comme pour les feuilles, à l'échantillon collecté durant le mois de septembre, pendant la saison sèche. Les 12 échantillons ont été analysés par CPG(Ir) ; neuf échantillons ont été analysés par CPG-SM dont deux (T3 et T12) par RMN ^{13}C en fonction du profil chromatographique. Par la combinaison de ces trois techniques habituelles, Nous avons identifié 52 composés au total, représentant de 88,0 à 92,2% de la composition chimique globale des échantillons.

Parmi ces 52 composés, nous dénombrons dix-neuf (19) monoterpènes dont quatre (4) oxygénés et trente-trois (33) sesquiterpènes dont neuf (9) oxygénés (Tableau X).

Tableau X : Composition chimique de l'HE d'écorce de tige d'*A. jollyanus*

	Composés	Ira	Irp	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
				avr	mai	juin	juil	aou	sept	oct	nov	dec	jan	fév	mar
1	α-Pinène	929	1 015	1,7	0,9	0,5	1,0	0,3	1,1	1,9	1,6	3,1	2,5	2,3	2,1
2	Camphène	942	1 065	0,4	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,6	0,5	0,5	0,5
3	Sabinène	964	1 122	tr	tr	tr	-	-	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
4	β-Pinène	969	1 111	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1
5	Myrcène	979	1 160	1,0	0,1	0,1	0,1	1,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1
6	α-Phellandrène	995	1 165	-	-	tr	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	-
7	δ-3-Carène	1 004	1 148	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
8	*p*-Cymène	1 010	1 272	0,1	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
9	Limonène*	1 019	1 201	0,3	0,2	0,3	0,3	0,1	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
10	β-Phellandrène*	1 019	1 211	0,7	0,4	0,8	0,7	0,2	0,9	0,9	0,8	0,6	0,8	0,9	0,5
11	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 233	1,9	1,5	2,7	1,4	0,3	1,0	1,5	1,5	1,4	2,3	2,2	1,2
12	(*E*)-β-Ocimène	1 035	1 250	0,2	0,3	0,4	0,2	tr	0,1	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2
13	γ-Terpinène	1 047	1 245	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
14	Terpinolène	1 077	1 283	-	tr	0,1	-	-	-	tr	-	tr	tr	tr	tr
15	Linalol	1 082	1 545	0,4	0,3	0,1	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2
16	*allo*-Ocimène	1 116	1 372	0,1	tr	0,1	tr	-	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1	tr
17	Terpinèn-4-ol	1 160	1 601	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	α-Terpinéol	1 170	1 696	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	0,1	tr	0,1
19	Thymol	1 267	2 181	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	α-Cubébène	1 348	1 456	4,4	5,0	5,3	5,1	4,9	5,8	4,9	4,2	4,4	5,5	5,3	5,2
21	α-Copaène	1 375	1 490	7,0	8,3	8,3	8,5	8,0	10,4	7,9	6,7	8,2	9,2	8,0	8,8
22	β-Cubébène*	1 385	1 535	1,2	1,1	1,4	1,1	1,4	0,9	1,3	1,0	0,7	1,3	1,6	1,0
23	β-Elémène*	1 385	1 587	2,0	3,0	1,2	1,2	1,8	0,6	1,5	1,4	1,8	1,8	1,7	1,7
24	Cypérène	1 398	1 523	1,7	2,6	1,2	2,1	2,1	2,3	2,1	2,1	3,9	2,5	2,0	2,6
25	α-Gurjunène	1 408	1 525	0,1	0,1	0,1	tr	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
26	(*E*)-β-Caryophyllène	1 416	1 593	4,2	5,8	3,2	3,8	4,4	2,6	4,1	3,4	5,1	5,2	4,6	4,9
27	β-Copaène	1 424	1 587	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2
28	Aromadendrène	1 435	1 602	0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,5	0,2	0,1	0,4
29	Cadina-3,5-diène	1 444	1 627	0,2	1,8	0,4	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,7	1,8	1,7	0,9
30	α-Humulène	1 448	1 665	2,0	2,6	1,9	1,9	2,3	1,5	2,0	1,7	2,1	2,5	2,3	2,2
31	*allo*-Aromadendrène	1 456	1 640	0,2	0,3	0,4	0,4	0,5	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3
32	Cadina-1(6),4-diène	1 466	1 655	0,5	1,2	0,4	0,5	0,7	0,5	0,6	0,5	1,1	1,2	0,8	1,3
33	Germacrène D	1 474	1 704	0,2	1,5	0,1	0,1	0,4	-	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2
34	β-Sélinène	1 479	1 713	0,8	1,2	0,4	0,8	0,6	0,7	0,7	0,6	1,3	0,8	0,4	1,2
35	Bicyclosesquiphellandrène	1 483	1 708	1,7	1,8	1,7	1,8	1,9	1,2	1,8	1,7	1,6	2,0	1,8	1,8
36	4-*épi*-Cubébol	1 485	1 883	1,4	1,0	2,2	1,3	1,3	1,5	1,2	1,6	0,9	0,9	1,4	0,9
37	Lédène*	1 489	1 690	0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,4
38	α-Sélinène*	1 489	1 718	0,8	1,3	0,4	0,8	0,6	0,7	0,7	0,6	1,4	0,8	0,4	1,2
39	Bicyclogermacrène*	1 489	1 728	-	0,7	-	-	-	-	-	-	0,3	0,3	0,3	0,1
40	α-Muurolène	1 491	1 719	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4
41	Cubébol	1 504	1 935	1,4	1,2	2,1	1,2	1,2	1,4	1,2	1,6	0,8	0,9	1,4	0,8
42	*trans*-Calamenène	1 509	1 829	21,2	19,4	22,6	23,8	26,0	27,6	22,6	18,9	21,8	21,6	19,6	20,4
43	δ-Cadinène	1 513	1 751	2,5	3,3	2,1	2,7	2,7	2,6	2,5	1,9	3,0	3,1	2,4	3,0
44	Zonarène	1 515	1 751	0,5	0,7	0,3	0,5	0,5	0,4	0,5	0,4	0,6	0,6	0,5	0,7
45	Cadina-1,4-diène	1 523	1 777	2,0	5,1	3,0	1,6	1,8	1,2	2,4	2,3	3,4	4,5	4,8	4,3
46	Spathulénol	1 561	2 117	3,2	2,5	1,9	2,1	3,8	1,8	3,4	2,9	3,3	2,6	3,4	2,4
47	Oxyde de caryophyllène	1 567	1 976	1,4	0,8	1,1	1,5	1,5	1,9	1,5	0,9	1,3	0,8	0,6	1,0
48	*épi*-Cubénol	1 612	2 058	1,6	0,7	1,0	1,6	1,4	1,2	1,3	1,4	1,5	1,2	1,2	1,7
49	τ-Cadinol*	1 624	2 163	0,3	0,4	0,2	0,4	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2
50	τ-Muurolol*	1 624	2 179	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3
51	Cubénol	1 628	2 051	1,6	0,7	1,3	1,6	1,6	1,2	1,4	1,4	1,4	1,3	1,4	1,4
52	7-Hydroxycalamenène	1 775	2 783	16,1	8,7	19,9	16,1	13,0	16,0	15,4	25,1	9,2	10,1	15,1	12,6
	Total			88,6	88,8	90,1	88,0	88,9	90,0	89,1	89,9	89,0	92,2	92,0	89,8
	Rendement (%)			0,06	0,04	0,09	0,06	0,06	0,13	0,04	0,05	0,08	0,06	0,05	0,06

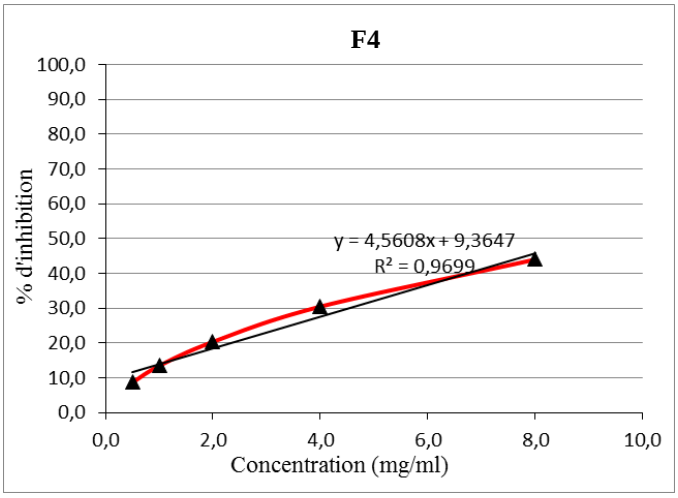
L'ordre d'élution et les pourcentages sont donnés sur colonne apolaire (BP-1), exceptés les composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (*) pour lesquels les pourcentages sont donnés sur colonne polaire (BP-20). Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20). tr = composes présents à l'état de trace (<0.05%).

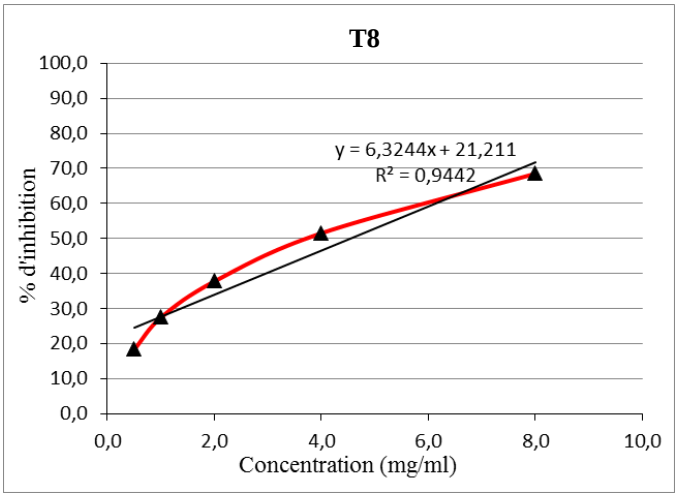
Les HE provenant des écorces de tiges d'*A. jollyanus* sont obtenues avec un rendement beaucoup plus faible que celles des feuilles. Comme avec les feuilles, l'HE d'écorce de tige est dominée par des sesquiterpènes (environ 84% de la composition totale des échantillons). Le *trans*-calamenène est le composé majoritaire dans tous les échantillons excepté l'échantillon T8 où son dérivé hydroxylé, le 7-hydroxycalamenène (25,1%) est plus important. Ce dernier présente d'ailleurs la seconde teneur la plus importante dans tous les autres échantillons. Les valeurs moyennes pour ces deux composés majoritaires (22,1% pour le *trans*-calamenène et 14,8% pour le 7-hydroxycalamenène) sont supérieures à celles des HE de feuilles (respectivement 18,1% et 7,5%). Les HE d'écorces de tige se distinguent également de celles des feuilles au niveau des constituants secondaires. En effet, nous retrouvons dans ces huiles des proportions beaucoup plus faibles que celles trouvées dans les feuilles pour les sesquiterpènes. Par exemple, l'α-copaène et l'α-cubébène ont des valeurs moyennes de 8,3% et 5,0% contre respectivement 15,2% et 10,6% pour les feuilles. De même, le cadina-1,4-diène présente des teneurs relativement variables (1,2 à 5,1%) mais toujours inférieures à celles des feuilles sauf pour les lots T2–F2 et T12–F12. En effet, le lot T2–F2 présente quasiment la même teneur (5,1%–5,2%) tandis que pour le lot T12–F12, la teneur dans l'écorce de tige (4,3%) est plus grande que celles des feuilles (2,9%). Quant au cadina-3,5-diène, il est faiblement représenté dans les HE d'écorce de tige (valeur moyenne = 0,7%) alors que nous le retrouvons dans 11 échantillons de feuilles avec des teneurs allant de 4,6% à 11,0% (seul l'échantillon F12 a une teneur faible de 0,4%). Parmi les treize composés retrouvés dans l'écorce de tige et absents des feuilles, dix présentent des teneurs très faibles n'excédant pas 0,5% à l'exception de l'α et du β-sélinène qui dépassent 1% (1,3%). Le cypérène a, quant à lui, des teneurs appréciables allant de 1,2% à 3,9% dans les différents échantillons.

Concernant les monoterpènes, seuls l'α-pinène et le (*Z*)-β-ocimène excèdent des teneurs de 1%. Nous observons même une teneur de 3,1% pour l'α-pinène dans l'échantillon T9 alors que sa teneur reste toujours inférieure à 0,6% dans les feuilles.

III.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'HE de feuilles et celle des écorces de tige d'*A. jollyanus* a été évaluée par spectrophotométrie. Nous avons choisi un échantillon de chaque lot en tenant compte de la teneur en 7-hydroxycalamenène : l'échantillon F4 d'HE de feuilles et l'échantillon T8 d'écorces de tige. L'absorbance du DPPH est mesurée à 517 nm. L'inhibition du DPPH (Figure 24) en fonction de la concentration des échantillons a été mesurée.





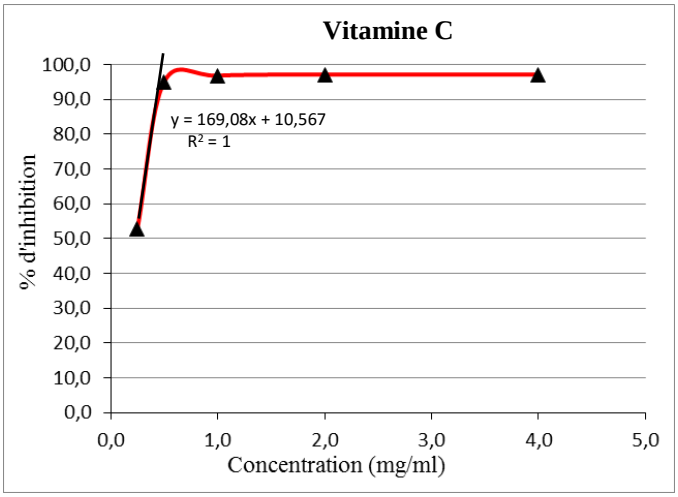


Figure 24 : Courbes d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des HE et de la vitamine C

Les CI_{50} (Figure 25) des échantillons d'étude ont été déterminées à partir des courbes de régression linéaire dont les équations figurent sur les courbes.

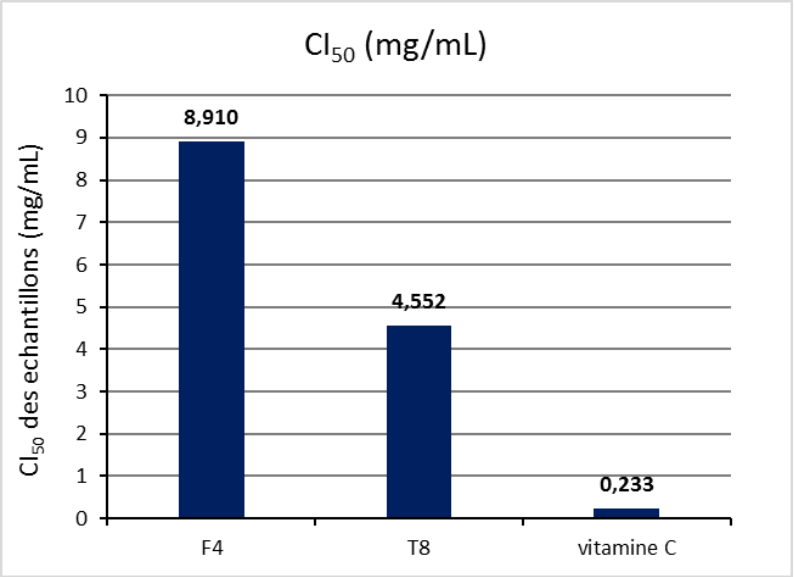


Figure 25 : CI_{50} des HE des échantillons et de la vitamine C

L'analyse des résultats des CI_{50} (Figure 24) montrent que les HE extraites présentent une activité antioxydante beaucoup plus faible que celle de la vitamine C (Figure 25). En effet, La CI_{50} est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer de 50% la concentration de radicaux libres (Molyneux, 2004). Plus, la valeur de la CI_{50} est faible, plus l'activité antioxydante de l'échantillon est élevée. La CI_{50} de l'échantillon T8 est deux fois plus petite que celle de l'échantillon F4. Ce résultat pourrait s'expliquer par la teneur en 7-hydroxycalamenène de l'échantillon T8 (25,1%) qui est plus élevée que celle de l'échantillon F4 (10,1%). En effet l'activité antioxydante des dérivés phénoliques comme le thymol est bien connue et de plus, l'activité de ce sesquiterpène a été montrée par Azevedo *et al*. (2013) dans les HE de *Croton cajucara* Benth.

III.3. CARACTERISATION DES HE DE *BEILSCHMIEDIA MANNII*

III.3.1. Etude de l'HE d'écorces de racine

III.3.1.1 Composition chimique de l'HE

L'échantillon d'HE d'écorce de racine de *B. mannii* a été analysé par CPG(Ir) et RMN ^{13}C. Nous avons identifié, par combinaison des deux techniques, 44 composés représentant 89,8% de la composition chimique totale. Parmi ces 44 composés, nous dénombrons 11 monoterpènes dont un oxygéné et 33 sesquiterpènes dont huit oxygénés (Tableau XI). La composition chimique de cette HE est donc dominée par des sesquiterpènes, 85,9% contre 3,9% pour la fraction monoterpénique. Les principaux composés sont : le (*E*)-nérolidol (25,5%), le *cis*-α-bergamotène (15,3%), le β-barbatène (8,2%), le β-bisabolène (7,6%) et l'α-barbatène (6,4%). Tous les autres composés identifiés sont présents à des teneurs inférieures à 3,1% chacun. L'acétate de bornyle (1,0%) domine la fraction monoterpénique. Les composés non identifiés ont tous des teneurs faibles (1,4% maximum et généralement moins de 1%). Au cours de ces analyses, le β-barbatène, absent de la bibliothèque de spectres « Terpènes » a été identifié à partir des données de la littérature. Son identification est décrite dans le paragraphe III.3.1.2.

Tableau XI : Composés identifiés dans l'HE d'écorce de racine de *B. mannii*.

	Composés	Ira	Irp	HE	Identification
1	α-Pinène	929	1 012	0,5	Ir, RMN ^{13}C
2	Camphène	942	1 061	0,8	Ir, RMN ^{13}C
3	β-Pinène	969	1 109	0,2	Ir
4	Myrcène	979	1 158	0,5	Ir, RMN ^{13}C
5	δ-3-Carène	1 004	1 146	0,1	Ir
6	*p*-Cymène	1 010	1 268	0,1	Ir
7	Limonène*	1 019	1 199	0,4	Ir
8	β-Phellandrène*	1 019	1 208	0,1	Ir
9	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 230	0,1	Ir
10	(*E*)-β-Ocimène	1 035	1 247	0,1	Ir
11	Acétate de bornyle	1 267	1 575	1,0	Ir, RMN ^{13}C
12	α-Cubébène	1 348	1 452	0,2	Ir
13	α-Copaène	1 375	1 486	1,5	Ir, RMN ^{13}C
14	α-Cédrène	1 381	1 504	1,3	Ir, RMN ^{13}C
15	Cypérène	1 398	1 519	0,2	Ir
16	α-Barbatène	1 406	1 568	6,4	Ir
17	*cis*-α-Bergamotène	1 410	1 563	15,3	Ir, RMN ^{13}C
18	(*E*)-β-Caryophyllène	1 416	1 589	0,7	Ir
19	Thujopsène	1 426	1 613	2,3	Ir, RMN ^{13}C
20	*trans*-α-Bergamotène	1 431	1 578	1,1	Ir, RMN ^{13}C
21	β-Barbatène	1 439	1 638	8,2	Ir, RMN ^{13}C
22	Sesquisabinène*	1 445	1 649	0,4	Ir
23	(*E*)-β-Farnésène*	1 445	1 660	3,0	Ir, RMN ^{13}C
24	γ-Muurolène*	1 468	1 679	0,1	Ir
25	*ar*-Curcumène*	1 468	1 765	0,3	Ir
26	γ-Curcumène	1 470	1 683	0,5	Ir
27	*trans*-β-Bergamotène	1 477	1 675	0,5	Ir
28	β-Sélinène	1 479	1 710	0,3	Ir
29	(*Z*),(*E*)-α-Farnésène	1 480	1 720	0,5	Ir
30	α-Muurolène*	1 491	1 715	0,4	Ir
31	(*Z*)-α-Bisabolène*	1 491	1 720	1,9	Ir, RMN ^{13}C
32	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1 495	1 742	0,1	Ir
33	β-Bisabolène*	1 499	1 720	7,6	Ir, RMN ^{13}C
34	β-Curcumène*	1 499	1 732	0,7	Ir, RMN ^{13}C
35	δ-Cadinène	1 513	1 748	1,4	Ir, RMN ^{13}C
36	(*E*)-α-Bisabolène	1 530	1 765	1,0	Ir, RMN ^{13}C
37	*trans*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1 538	1 990	0,6	Ir, RMN ^{13}C
38	(*E*)-Nérolidol	1 546	2 036	25,5	Ir, RMN ^{13}C
39	*cis*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1 573	2 091	0,9	Ir, RMN ^{13}C
40	*épi*-Cubénol*	1 612	2 054	0,3	Ir
41	α-Acorénol*	1 612	2 123	0,4	Ir
42	β-Bisabolol	1 651	2 141	1,4	Ir, RMN ^{13}C
43	α-Bisabolol	1 664	2 205	0,2	Ir

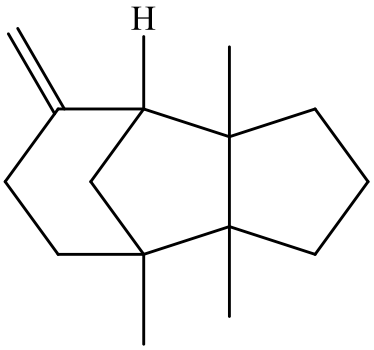
44	*épi*-α-Bisabolol	1 666	2 207	0,7	Ir, RMN ^{13}C
	Total			89,8	
	Rendement			0,08	
	Monoterpènes hydrocarbonés			2,9	
	Monoterpènes oxygénés			1,0	
	Sesquiterpènes hydrocarbonés			55,9	
	Sesquiterpènes oxygénés			30,0	

L'ordre d'élution et les pourcentages sont donnés sur colonne apolaire, excepté pour les composés suivis d'un astérisque (colonne polaire).
Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20).

III.3.1.2. Identification du β-barbatène

Ce sesquiterpène hydrocarboné a été identifié en comparant ses signaux dans le spectre RMN ^{13}C de notre échantillon avec ceux décrits par Fäldt *et al*., en 1999 (Tableau XII). Le composé présentant une teneur élevée (8,2%), tous ses signaux, y compris les carbones quaternaires ont été repérés. Une séparation par chromatographie n'a donc pas été necessaire. Nous notons aussi que la valeur de l'indice de rétention sur colonne apolaire (Ira = 1439) de ce sesquiterpène correspond à la valeur d'indice (Ira = 1438) décrite pour le β-barbatène par Rapior *et al*., (2003) sur le même type de colonne.

Tableau XII : Structure et déplacements chimiques du β-barbatène

β-barbatène	**δ_C (ppm)[a]** Fäldt *et al*., 1999	**δ_C (ppm)[b]**
	37,0	37,07
	27,5	27,52
	35,5	35,54
	54,1	54,14
	43,0	43,08
	38,0	38,06
	28,7	28,74
	152,0	151,94
	56,0	56,01
	55,4	55,42
	46,8	46,84
	27,5	27,49
	23,3	23,35
	24,8	24,76
	107,5	107,53

[a] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus par Fäldt et *al*., 1999.
[b] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus expérimentalement.

III.3.2. Etude de l'HE d'écorces de tronc

Les écorces de tronc (n°1 à 8) proviennent de huit arbres différents et ont été récoltées dans quatre stations : Adiopodoumé (n°1 à 4), Kongofon (n°5 et 6), Montézo (n°7) et Yapo abbé (n°8). Les échantillons d'HE d'écorce de tronc ont été analysés par CPG(Ir), CPG-SM et RMN ^{13}C. Au total, sur l'ensemble des échantillons, 63 composés représentant de 88,3% à 95,4% de la composition chimique globale des échantillons sont identifiés (Tableau XIII). Parmi ceux-ci, nous dénombrons 16 monoterpènes, dont 15 oléfiniques, 47 sesquiterpènes dont 34 oléfiniques.

L'identification par RMN ^{13}C s'est déroulée en tenant compte des paramètres habituels, à savoir le nombre de pics observés par rapport au nombre de pics attendus, le contrôle des variations chimiques ($\Delta\delta$) de chacun des carbones d'un composé et enfin, le nombre de superpositions.

Les échantillons d'HE d'écorces de tronc sont dominés par des composés divers et se distinguent également au niveau des composés secondaires. Les composés majoritaires sont : le (*E*)-nérolidol (43,3%), le *cis*-α-bergamotène (13,1%) et le myrcène (13,1%) pour l'échantillon n°1 ; le *cis*-α-bergamotène (24,9 et 23,0%) et le myrcène (7,0 et 8,0%) respectivement pour les échantillons n°2 et 3. L'échantillon n°4 est aussi dominé par le même couple *cis*-α-bergamotène/myrcène mais à la différence des deux précédents, il présente une plus grande teneur en myrcène (21,8%) qu'en *cis*-α-bergamotène (18,1%). Les échantillons n°5 et 7 présentent des compositions chimiques assez similaires à la seule différence notable que nous observons la présence du *cis*-α-bergamotène (11,2%) dans l'échantillon n°7 alors qu'il est pratiquement absent dans le n°5 (0,8%). Ces deux échantillons présentent comme composés majoritaires le δ-3-carène (55,0 et 31,2%) et le (*E*)-nérolidol (10,0 et 21,4%). Les composés principaux de l'échantillon n°6 sont le (*E*)-nérolidol (33,7%) et le *trans*-α-bergamotène (7,2%). L'échantillon n°8 présente quant à lui une composition totalement différente des autres échantillons. Ses composés principaux sont le β-bisabolène (38,3%), le *cis*-α-bergamotène (7,9%) et le *trans*-α-bergamotène (7,9%) avec une teneur appréciable en α-copaène (5,5%) supérieure à celle de tous les autres échantillons (0,1 à 2,7%). Les autres composés présents avec des teneurs notables sont : le (*E*)-β-caryophyllène (6,1% dans n°6 et 5,1% dans n°4), le β-phellandrène (6,2% dans n°3 et 4,8% dans n°5) et le β-bisabolol (5,9% dans n°2 et 5,1% dans n°3).

Tableau XIII : Composition chimique des HE d'écorce de tronc de *B. mannii*

	Composés	Ira	Irp	1	2	3	4	5	6	7	8
1	α-Pinène	929	1 013	0,5	0,6	0,3	3,1	0,6	0,1	0,6	0,4
2	Camphène	942	1 062	0,5	0,7	0,1	2,3	-	-	0,1	0,1
3	β-Pinène	969	1 110	0,3	0,2	0,2	0,9	0,1	0,1	0,1	0,1
4	Myrcène	979	1 159	13,1	7,0	8,0	21,8	6,6	5,1	4,9	2,2
5	α-Phellandrène	995	1 165	-	-	1,3	0,1	7,9	-	4,9	-
6	δ-3-Carène	1 004	1 147	-	-	0,2	0,1	55,0	-	31,2	0,2
7	α-Terpinène	1 008	1 179	tr	tr	0,1	-	-	-	-	Tr
8	*p*-Cymène	1 010	1 269	-	-	0,1	0,6	1,9	-	0,8	-
9	Limonène*	1 019	1 201	0,7	0,7	1,0	1,9	2,1	0,4	1,2	0,3
10	β-Phellandrène*	1 019	1 211	0,4	0,3	6,2	3,3	4,8	0,2	2,6	0,1
11	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 233	0,3	0,8	1,8	3,0	0,2	2,8	0,1	0,7
12	(*E*)-β-Ocimène	1 035	1 250	0,1	0,4	0,8	0,8	0,3	1,6	0,2	0,3
13	γ-Terpinène	1 047	1 245	tr	0,1	0,2	-	0,1	-	0,1	0,1
14	Terpinolène	1 077	1 283	tr	0,1	0,3	-	0,4	-	0,2	-
15	Linalol	1 082	1 545	-	-	-	-	-	0,1	-	-
16	*allo*-Ocimène	1 116	1 372	-	0,1	0,2	0,1	-	0,2	-	0,1
17	α-Cubébène	1 348	1 456	0,1	0,2	-	0,2	-	-	-	0,1
18	Cyclosativène	1 365	1 475	0,3	0,2	0,1	0,4	-	-	0,1	0,1
19	α-Copaène	1 375	1 487	1,0	2,4	2,7	1,8	0,1	1,2	0,9	5,5
20	α-Funébrène	1 381	1 505	-	0,4	0,1	0,1	-	-	tr	-
21	β-Elémène	1 385	1 584	0,1	-	-	0,6	0,1	1,4	-	0,3
22	Cypérène	1 397	1 520	-	0,4	-	-	-	-	-	0,1
23	α-Barbatène	1 406	1 568	0,2	1,8	0,3	0,3	-	-	-	-
24	*cis*-α-Bergamotène	1 410	1 564	13,1	24,9	23,0	18,1	0,8	2,7	11,2	7,9
25	α-Santalène*	1 415	1 566	0,5	1,5	1,1	0,9	0,1	2,3	1,0	2,4
26	(*E*)-β-Caryophyllène*	1 415	1 590	0,8	2,2	2,0	5,1	0,2	6,1	0,8	0,5
27	β-Copaène	1 424	1 584	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-
28	Thujopsène	1 426	1 614	-	0,7	-	-	-	-	-	-
29	*trans*-α-Bergamotène	1 431	1 579	0,9	2,7	3,7	2,1	0,2	7,2	2,0	7,9
30	β-Barbatène	1 437	1 638	0,5	2,6	0,6	0,6	-	-	0,2	-
31	Sesquisabinène*	1 445	1 654	0,3	0,3	0,4	0,3	-	-	-	-
32	(*E*)-β-Farnésène*	1 445	1 661	1,1	2,4	1,2	1,0	-	1,7	0,9	1,8
33	α-Humulène	1 448	1 661	-	0,7	3,2	1,0	-	2,0	-	0,4
34	Ishwarane	1 460	1 637	-	-	-	-	-	3,2	-	-
35	γ-Muurolène*	1 468	1 681	0,1	0,2	0,3	0,1	-	-	0,1	-
36	*ar*-Curcumène*	1 468	1 767	0,3	-	-	2,6	-	-	0,5	-
37	γ-Curcumène	1 470	1 684	0,8	1,6	1,4	-	-	-	0,5	-
38	*trans*-β-Bergamotène	1 477	1 678	0,4	1,0	1,1	0,9	-	-	0,7	3,2
39	Germacrène D	0	0	-	-	-	-	-	3,2	-	-
40	β-Sélinène	1 479	1 711	0,5	1,4	0,8	1,0	0,4	2,8	-	0,3
41	α-Sélinène	1 488	1 716	0,3	0,9	0,6	0,7	0,1	1,3	-	0,4
42	(*Z*)-α-Bisabolène	1 491	1 720	0,8	1,5	0,9	0,6	-	-	0,3	1,8
43	β-Bisabolène*	1 499	1 720	4,0	4,0	1,5	1,4	0,3	2,1	0,7	38,3
44	β-Curcumène*	1 499	1 734	1,0	1,9	2,1	0,1	-	-	0,9	1,6
45	γ-Cadinène	1 504	1 749	0,3	0,7	1,0	-	-	0,3	-	0,5
46	*trans*-Calamenène	1 507	1 826	-	-	-	0,7	-	-	-	-
47	7-*épi*-α-Sélinène	1 510	1 754	-	0,5	-	-	-	-	-	-
48	δ-Cadinène*	1 512	1 749	0,7	1,6	1,9	0,9	0,3	1,8	0,9	3,4
49	β-Sesquiphellandrène*	1 512	1 762	0,2	0,4	0,4	-	-	-	-	0,3
50	(*E*)-α-Bisabolène	1 530	1 766	0,5	0,8	-	0,1	-	-	-	-
51	*trans*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1 538	1 992	0,9	1,8	1,8	1,1	-	-	0,1	0,4

52	(*E*)-Nérolidol	1 546	2 035	43,3	2,1	1,6	1,2	10,0	33,7	21,4	0,9
53	Oxyde de caryophyllène	1 566	1 973	-	0,3	0,5	2,3	-	1,4	0,2	0,2
54	*cis*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1 573	2 093	1,7	3,2	2,9	1,6	-	0,2	0,1	0,4
55	Lédol	1 591	2 019	-	-	0,5	-	-	0,1	-	-
56	Oxyde d'humulène II	1 591	2 031	-	-	0,8	0,4	-	0,6	-	0,2
57	*épi*-cubénol*	1 612	2 055	0,2	0,7	0,4	0,3	-	0,2	0,2	0,4
58	α-Acorénol*	1 612	2 125	0,7	1,6	1,1	0,8	-	0,2	0,1	0,3
59	τ-Cadinol*	1 622	2 161	-	-	0,5	-	-	-	-	-
60	τ-Muurolol*	1 622	2 176	-	-	0,5	-	-	-	-	-
61	β-Bisabolol	1 651	2 143	2,2	5,9	5,1	2,5	-	1,1	0,3	2,4
62	α-Bisabolol	1 664	2 206	0,3	0,7	0,7	0,3	-	0,2	0,1	0,6
63	*épi* α-Bisabolol	1 666	2 209	1,0	2,6	2,2	0,9	-	0,6	0,2	1,6
	Total			95,1	89,9	89,8	91,0	92,6	88,2	91,4	88,8
	Rendement (%)			0,05	0,02	0,02	0,07	0,05	0,03	0,10	0,01
	Monoterpènes hydrocarbonés			15,9	11,0	20,8	38,0	80,0	10,5	47,0	4,6
	Monoterpènes oxygénés			0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
	Sesquiterpènes hydrocarbonés			28,9	60,0	50,4	41,6	2,6	39,3	21,7	76,8
	Sesquiterpènes oxygénés			50,3	18,9	18,6	11,4	10,0	38,3	22,7	7,4

L'ordre d'élution et les pourcentages sont donnés sur colonne apolaire (BP-1) exceptés les composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (*) pour lesquels les pourcentages sont donnés sur colonne polaire (BP-20).
Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20).
tr = composés présents à l'état de trace (<0.05%).

III.3.3. Etude de l'HE de feuilles

Pour cette étude, quarante-cinq échantillons de feuilles ont été recueillis sur des arbres individuels de *Beilschmiedia mannii* poussant à l'état sauvage dans huit forêts de Côte d'Ivoire. Nous allons d'abord décrire l'analyse de quatre échantillons d'HE présentant différents profils chromatographiques et ensuite présenter l'étude de la variabilité chimique des 45 échantillons d'huile, à l'aide des outils statistiques (Analyse en Composante Principale et Classification Hiérarchique Ascendante).

III.3.3.1. Etude de quatre échantillons d'HE de feuilles

Quatre échantillons d'HE de feuilles de *Beilschmiedia mannii* (n°4, 24, 27 et 28) ont été analysés par CPG(Ir) (Annexe 4), CPG-SM et RMN ^{13}C. Au total 62 composés ont été identifiés sur l'ensemble des échantillons et représentent de 85,7 à 97,0% de la composition globale (Tableau XIV).

Comme avec les écorces de troncs, nous observons que la composition chimique des quatre d'HE de feuilles varie considérablement d'un échantillon à l'autre. En effet, l'échantillon n°4 est caractérisé par une forte teneur en monoterpènes oléfiniques (88,1%) tandis que l'échantillon n°24 présente un profil plutôt riche en sesquiterpènes (81,2%). Les échantillons n°27 et n°28 présentent des proportions équivalentes en monoterpènes et en

sesquiterpènes (42,52% contre 47,3% pour le n°27 et 49,9% contre 38,6% pour le n°28). Les principaux composés sont : le δ-3-carène (53,0%), α-phellandrène (11,4%), le myrcène (10,6%) et le β-phellandrène (5,6%) pour l'échantillon n°4, le β-bisabolène (44,1%) et l'α-copaène (8,4%) pour l'échantillon n°24, le (*E*)-β-ocimène (25,6%), le sélina-4(15),7(11)-diène (11,7%) et le sélina-3,7(11)-diène (8,3%) pour l'échantillon n°27, l'α-pinène (31,0%), le β-sélinène (18,7%), le β-pinène (7,2%) et le β-barbatène (5,2%) pour l'échantillon n°27. Nous retrouvons aussi le germacrène B à une teneur de 4,5% uniquement dans l'échantillon 27 et absent des trois autres. Les autres composants présents avec des quantités appréciables sont : le (*E*)-β-caryophyllène (1,4 – 4,4%), le (*Z*)-β-ocimène (0,4 – 4,8%), l'α-humulène (0 – 4,4%) et l'α-barbatène (0 – 3,4%).

Tableau XIV : Composés identifiés dans les HE de feuilles de *B. mannii*.

	Composés	Ira	Irp	4	24	27	28	Identification
1	α-Thujène	920	1016	0,7	-	-	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
2	α-Pinène	929	1015	1,2	2,3	3,0	31,0	Ir, SM, RMN ^{13}C
3	Camphène	942	1065	-	0,1	0,2	0,3	Ir, SM
4	β-Pinène	969	1111	0,4	1,5	1,8	7,2	Ir, SM, RMN ^{13}C
5	Myrcène	979	1160	10,6	0,3	1,0	1,5	Ir, SM, RMN ^{13}C
6	α-Phellandrène	995	1165	11,4	tr	0,5	0,1	Ir, SM, RMN ^{13}C
7	δ-3-Carène	1004	1148	53,0	0,6	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ^{13}C
8	*m*-Cymène	1007	1267	0,9	-	-	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
9	α-Terpinène	1008	1181	-	-	tr	-	Ir, SM
10	*p*-Cymène	1010	1272	0,9	-	0,2	0,2	Ir, SM
11	Limonène*	1019	1201	2,0	-	0,6	1,5	Ir, SM, RMN ^{13}C
12	β-Phellandrène*	1019	1211	5,6	0,4	3,7	0,1	Ir, SM, RMN ^{13}C
13	(*Z*)-β-Ocimène	1024	1233	0,4	4,3	4,7	4,8	Ir, SM, RMN ^{13}C
14	(*E*)-β-Ocimène	1035	1250	0,4	1,7	25,6	2,5	Ir, SM, RMN ^{13}C
15	γ-Terpinène	1047	1245	0,1	-	tr	0,1	Ir, SM
16	Nonan-2-one	1068	1388	-	tr	-	tr	Ir, SM
17	Terpinolène	1077	1283	0,5	-	-	-	Ir, SM
18	Linalol	1082	1545	0,1	0,1	1,0	0,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
19	*allo*-Ocimène	1116	1372	-	-	0,1	0,1	Ir, SM
20	δ-Elémène	1333	1467	-	-	0,2	-	Ir, SM
21	α-Cubébène	1348	1456	-	0,2	0,1	-	Ir, SM
22	Cyclocopacamphène	1366	1475	-	0,6	0,5	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
23	α-Ylangène	1369	1476	-	0,2	0,5	-	Ir, SM
24	α-Copaène	1375	1490	0,8	8,4	4,6	0,3	Ir, SM, RMN ^{13}C
25	Funébrène	1381	1505	-	-	-	0,5	Ir, SM, RMN ^{13}C
26	β-Elémène	1385	1587	-	-	0,3	-	Ir, SM
27	Cypérène	1398	1523	-	0,3	-	-	Ir, SM
28	α-Barbatène	1406	1568	-	-	-	3,4	Ir, SM
29	*cis* α-Bergamotène	1410	1564	0,2	0,5	0,3	-	Ir, SM
30	α-Santalène	1415	1566	0,1	-	-	0,1	Ir, SM
31	(*E*)-β-Caryophyllène	1416	1593	4,4	2,9	1,4	1,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
32	β-Copaène	1424	1587	-	-	0,2	-	Ir, SM
33	Thujopsène	1426	1614	-	-	-	1,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
34	*trans* α-Bergamotène	1431	1582	0,2	0,6	0,3	-	Ir, SM
35	Aromadendrène	1435	1602	-	-	0,1	-	Ir, SM
36	β-Barbatène	1439	1642	-	-	-	5,2	Ir, SM, RMN ^{13}C
37	(*E*)-β-Farnésène	1445	1664	-	1,5	0,7	2,2	Ir, SM, RMN ^{13}C
38	α-Humulène	1448	1665	0,5	4,4	1,1	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
39	*allo*-Aromadendrène	1456	1640	-	0,3	0,1	-	Ir, SM
40	γ-Muurolène	1468	1681	-	1,3	1,6	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
41	Germacrène D	1474	1704	-	-	0,5	-	Ir, SM
42	*trans*-β-Bergamotène	1477	1678	-	0,7	-	-	Ir, SM
43	Aristolochène	1479	1697	-	1,8	-	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
44	β-Sélinène	1479	1713	-	-	1,5	18,7	Ir, SM, RMN ^{13}C
45	Lédène	1489	1690	-	1,9	-	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
46	α-Sélinène	1489	1718	-	-	1,2	4,7	Ir, SM, RMN ^{13}C
47	Bicyclogermacrène	1489	1728	-	0,9	-	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
48	α-Muurolène	1491	1718	0,1	1,5	0,5	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
49	(*Z*)-α-Bisabolène	1491	1721	-	-	0,3	-	Ir, SM
50	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1495	1745	-	-	0,1	-	Ir, SM
51	β-Bisabolène	1499	1721	0,1	44,1	1,8	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
52	γ-Cadinène	1504	1751	-	0,7	0,8	0,1	Ir, SM, RMN ^{13}C

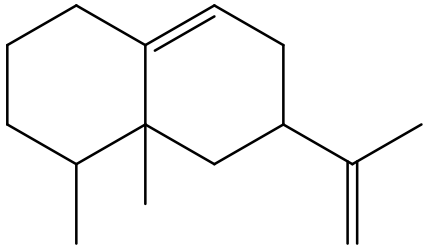
53	*trans*-Calamenène	1509	1829	-	0,3	-	-	Ir, SM
54	δ-Cadinène	1513	1751	0,3	3,3	3,3	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
55	β-Sesquiphellandrène	1513	1762	-	0,2	-	-	Ir, SM
56	Sélina-4(15),7(11)-diène	1528	1774	-	-	11,7	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
57	Sélina-3,7(11)-diène	1537	1774	-	-	8,3	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
58	(*E*)-Nérolidol	1546	2036	0,1	2,8	0,3	0,2	Ir, SM, RMN ^{13}C
59	Germacrène B			-	-	4,5	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
60	Oxyde de caryophyllène	1567	1976	0,1	0,8	0,2	0,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
61	Oxyde d'humulène II	1591	2031	-	1,2	-	-	Ir, SM, RMN ^{13}C
62	(*E*)-Phytol	2097	2605	-	-	0,3	-	Ir, SM
	Total			95,1	92,7	89,8	88,5	
	Rendement			0,08	0,10	0,05	0,03	
	Monoterpènes hydrocarbonés			88,1	11,2	41,5	49,5	
	Monoterpènes oxygénés			0,1	0,1	1,0	0,4	
	Sesquiterpènes hydrocarbonés			6,7	76,6	46,5	38,0	
	Sesquiterpènes oxygénés			0,2	4,8	0,8	0,6	

L'ordre d'élution et les pourcentages sont donnés sur colonne apolaire (BP-1) exceptés les composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (*) pour lesquels les pourcentages sont donnés sur colonne polaire (BP-20).
Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20).
tr = composés présents à l'état de trace (<0.05%).

III.3.3.1. Identification de l'aristolochène

Ce sesquiterpène hydrocarboné a été identifié en comparant la série de déplacements chimiques de ses atomes de carbone dans le spectre RMN ^{13}C de l'échantillon n°24, où sa teneur est de 1,8%, avec ceux décrits par Joulain et König (1998) et Blay *et al*. (2006) (Tableau XV). Malgré la faible teneur du composé dans le mélange, nous avons repéré tous ses signaux, y compris les carbones quaternaires.

Tableau XV : Structure et déplacements chimiques de l'aristolochène

Aristolochène	**δ_C (ppm)[a]** Joulain et König (1998)	**δ_C (ppm)[b]** Blay *et al*., (2006)	**δ_c (ppm)[c]**
	150,66	150,7	150,60
	144,50	144,5	144,46
	118,75	118,7	118,77
	108,28	108,3	108,31
	44,19	44,1	44,18
	43,32	43,2	43,29
	38,79	38,7	38,77
	37,79	37,7	37,78
	32,58	32,5	32,58
	31,84	31,6	31,33
	31,15	31,3	31,15
	27,84	27,8	27,84
	20,86	20,9	20,87
	18,10	18,1	18,09
	15,68	15,7	15,69

[a] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus par Joulain et König, 1998.
[b] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus par Blay et *al*., 2006.
[c] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus expérimentalement.

III.3.3.2. Etude de la variabilité chimique de l'HE de feuilles

Pour mettre en évidence une éventuelle variabilité de la composition chimique de l'HE de feuilles de cette espèce, 45 échantillons ont été analysés par CPG(Ir) et CPG-SM. Par rapport à leur profil chromatographique, 30 échantillons ont été également analysés par RMN ^{13}C suivant la même méthode. La composition des 45 échantillons d'HE de feuilles incluant celle des 4 échantillons précédemment décrits est reportée dans l'annexe 5. Sur l'ensemble de ces 45 échantillons, nous avons identifié 94 composés représentant 85,7% à 97,4% de la composition totale.

La teneur des composés majoritaires varie considérablement d'un échantillon à l'autre : (*E*)-β-ocimène (0,2-54,0%), δ-3-carène (tr-53,0%), myrcène (0,3-51,6%), le (*E*)-β-farnésène (0-45,7%), le β-bisabolène (0-44,1%), (*E*)-β-caryophyllène (0,2-43,0%), α-pinène (0,1-38,4%), le β-sélinène (0-37,1%), le *trans*-α-bergamotène (0-28,4%), l'α-copaène (0,1-28,0%). D'autres composés sont présents à des teneurs appréciables : le (*Z*)-β-ocimène (0,2-21,5%), le (*E*),(*E*)-α-farnésène (0-20,6%), l'ishwarane (0-20,3%) et l'α-humulène (0-18,8%). Enfin, plusieurs composés sont présents à des teneurs non négligeables mais de manière plus

ponctuelle : le β-phellandrène (0-12,6%), l'α-phellandrène (0-11,6%), le α-sélinène (0-10,6%), le β-pinène (tr-8,3%), le δ-cadinène (0-7,9%) et l'oxyde de caryophyllène (0-5,5%).

Pour obtenir une description statistique de notre échantillonnage, les compositions chimiques des 45 échantillons d'HE provenant des différentes stations de récolte ont été soumises à deux analyses statistiques : l'Analyse en Composante Principale (ACP) et la Classification Hiérarchique Ascendante (CHA).

Quoique la représentation graphique des échantillons sur le plan défini par les deux premières composantes principales de l'ACP (graphe ACP, Figure 26) décrive seulement 43,1% de la variance totale, l'analyse du dendrogramme (Figure 27) issu de la CHA nous permet de dégager globalement quatre groupes de compositions chimiques (**groupes I**, **II**, **III** et **IV**) avec un indice de dissimilarité relativement élevé (de l'ordre de 4800 points).

Sur la base des composés majoritaires, les différents groupes peuvent être définis par la séparation monoterpènes/sesquiterpènes. Les groupes **I**, **II** et **IV** seront alors nommés « monoterpènes majoritaires » car ils sont dominés par des composés monoterpéniques ; le groupe **III** est dénommé « sesquiterpènes majoritaires » car représenté par des sesquiterpènes.

Ainsi pour les groupes « monoterpènes majoritaires » :

- **le groupe I** est caractérisé par le δ-3-carène (M = 49,4% ; ET = 5,7%), l'α-phellandrène (M = 10,0% ; ET = 2,2%) et le myrcène (M = 9,3% ; ET = 2,5%). Il s'agit du groupe le plus homogène et comprend 5 échantillons (n°4, 23, 25, 26 et 44). Ce résultat est confirmé par le graphe de l'ACP où ce groupe est représenté distinctivement (ellipsoïde de couleur verte) à l'écart des trois autres qui sont plutôt disparates et difficilement localisables sur une représentation bidimensionnelle (deux composantes).
- **le groupe II** est numériquement le plus important et contient 16 échantillons (n°6, 7, 10, 13, 15, 18, 20, 22, 27, 31, 34, 35, 39-41 et 43). Il est caractérisé par le (*E*)-β-ocimène (M = 30,0% ; ET = 9,7%). Plusieurs composés apparaissent ponctuellement avec des teneurs élevées : le *trans*-α-bergamotène (jusqu'à 28,4%), l'α-pinène (jusqu'à 26,0%), le (*Z*)-β-ocimène (jusqu'à 21,5%), le myrcène (jusqu'à 21,0%), le (*E*),(*E*)-α-farnésène (jusqu'à 20,6%), le (*E*)-β-caryophyllène (jusqu'à 20,6%) et l'α-copaène (jusqu'à 18,8%).
- **le groupe IV** comprend 15 échantillons et comme le groupe I, il est dominé par des monoterpènes oléfiniques qui permettent de le diviser en sous-groupes.

- **le sous-groupe 1** (6 échantillons : n°12, 14, 28, 29, 38 et 45) est caractérisé par l'α-pinène (M = 26,3% ; ET = 10,6%) avec également des composés présents avec des teneurs non négligeables : le β-sélinène (jusqu'à 32,9%), l'ishwarane (jusqu'à 20,3%), le (*E*) et le (*Z*)-β-ocimène (jusqu'à 18,7 et 15,6% respectivement) et le myrcène (jusqu'à 13,7%).
- **le sous-groupe 2** (8 échantillons : n°1, 2, 3, 8, 9, 11, 19 et 21) qui est représenté quant à lui par le myrcène (M = 32,0% ; ET = 10,0%). Le (*E*),(*E*)-α-farnésène, le β-sélinène, le (*E*)-β-caryophyllène, le *trans*-α-bergamotène, l'α-pinène et le β-phellandrène atteignent ponctuellement des teneurs importantes (jusqu'à 45,7%, 37,1%, 21,9%, 19,5%, 18,0% et 12,6% respectivement).

Il est à remarquer que l'échantillon n°17 qui apparait sur le dendrogramme dans le sous-groupe 2 n'appartient pas à ce sous-groupe. Il présente en fait une composition atypique dominée par le (*E*)-β-farnésène (43,6%) suivi de l'α-copaène (9,9%) et du (*E*)-β-ocimène (8,8%).

– Pour **le groupe III** (« sesquiterpènes majoritaires »), il est plus délicat de définir des caractéristiques communes pour tous les échantillons ; néanmoins nous pouvons proposer une structure en 3 sous-groupes :
  - **le sous-groupe 1** (2 échantillons : n°24 et 37) est caractérisé par le β-bisabolène (M = 36,0% ; ET = 11,5%). Le (*E*)-β-caryophyllène apparait à une teneur élevée (25,1%) dans l'échantillon n°37 ;
  - **le sous-groupe 2** (3 échantillons : n°16, 30 et 33) est dominé par le (*E*)-β-caryophyllène (M = 30,7% ; ET = 11,5%) suivi de l'α-humulène (M = 13,5% ; ET = 4,7%). Des teneurs appréciables sont observées pour le (*E*)-β-ocimène (12,0% dans l'échantillon n°33) et l'α-copaène (10,2% dans l'échantillon n°30) ;
  - **le sous-groupe 3** (4 échantillons : n°5, 32, 36 et 42) est représenté quant à lui par l'α-copaène (M = 18,7% ; ET = 7,6%). Nous observons ponctuellement la présence de trois composés à des teneurs importantes : l'α-gurjunène (10,8% dans l'échantillon n°36), l'α-pinène et le (*E*)-β-caryophyllène (respectivement 19,8% et 17,3% dans l'échantillon n°42) ;

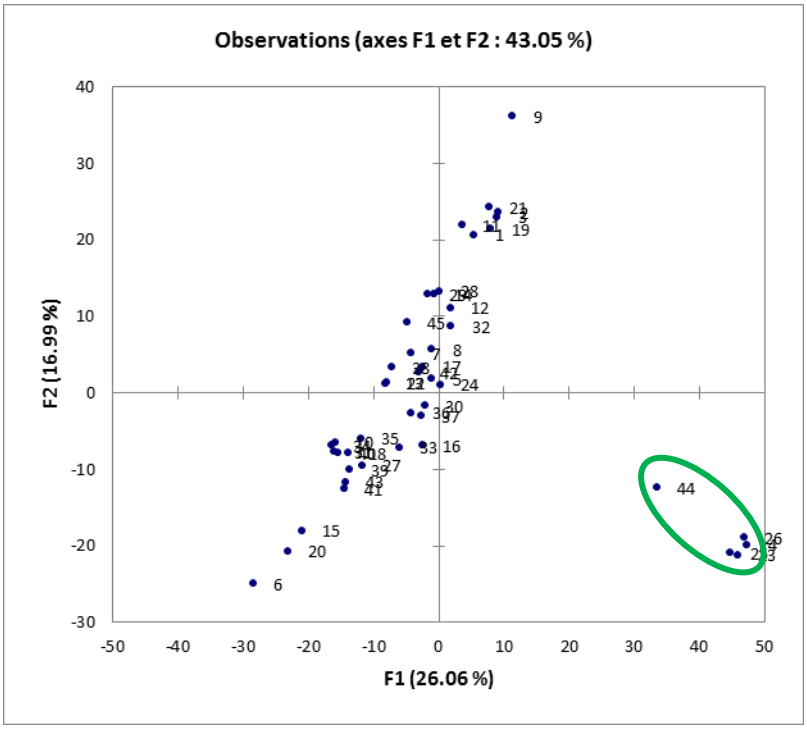


Figure 26 : ACP sur 45 échantillons d'HE de feuilles de *B. mannii*.

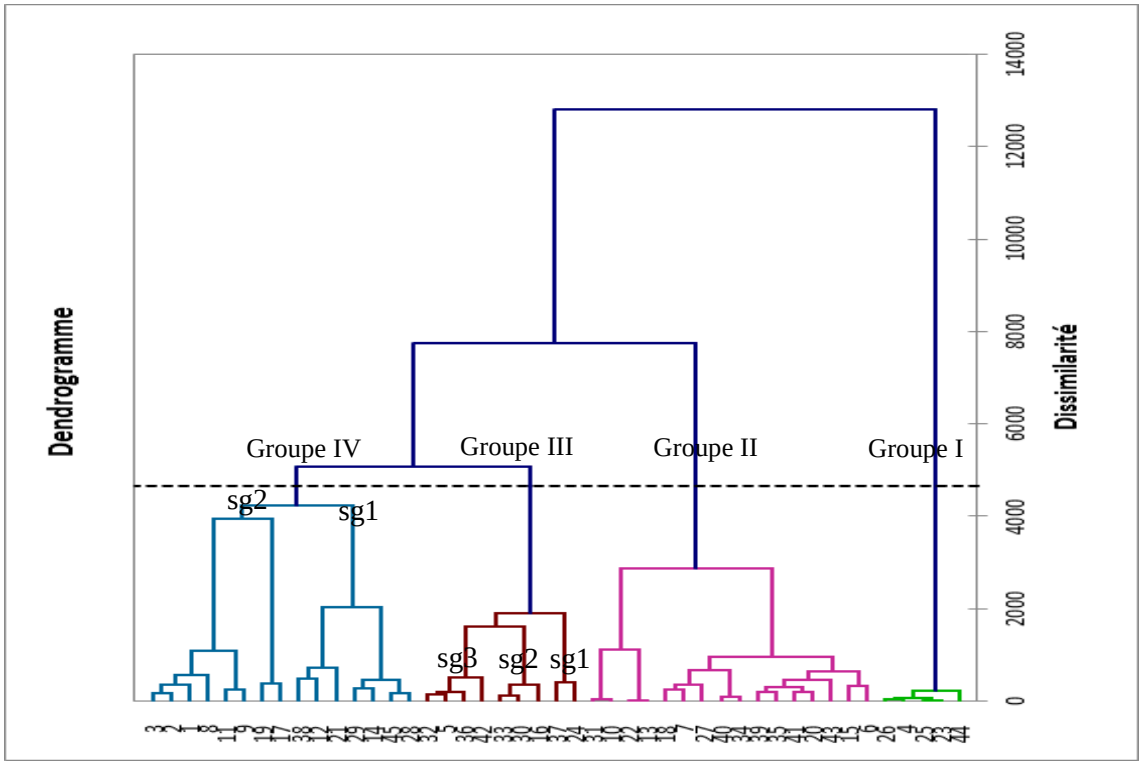


Figure 27 : Dendrogramme sur 45 échantillons d'HE de feuilles de *B. mannii*.

Le tableau XVI représente les pourcentages moyens (M) et les écarts-types (ET) des constituants principaux des différents groupes.

Tableau XVI : Pourcentages moyens et écarts types des principaux constituants identifiés dans les quatre groupes.

	Groupe I		**Groupe II**		**Groupe III**						**Groupe IV**			
					sg 1		**sg 2**		**sg 3**		**sg 1**		**sg 2**	
	M	ET	M	ET	M	ET	M	ET	M	ET	M	ET	M	ET
α-pinène	1,5	1,8	4,9	7,1	1,6	1,1	1,6	1,1	7,9	8,3	**26,3**	**10,6**	4,6	6,8
myrcène	**9,3**	**2,5**	5,5	6,5	0,3	0,0	1,1	0,3	2,2	3,3	4,5	5,6	**32,0**	**10,0**
α-phellandrène	**10,0**	**2,2**	0,1	0,1	0,0	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0	0,1	0,1	0,2	0,4
δ-3-carène	**49,4**	**5,7**	0,4	0,5	0,3	0,4	0,8	1,1	0,0	0,0	0,4	0,5	0,2	0,3
(*E*)-β-ocimène	1,4	2,0	**30,0**	**9,7**	2,6	1,2	7,0	4,4	3,3	3,7	7,7	6,1	3,3	4,3
α-copaène	0,6	0,6	6,1	5,3	7,4	1,4	6,3	3,6	**18,7**	**7,6**	2,2	1,9	3,1	3,1
(*E*)-β-caryophyllène	3,5	1,8	6,4	7,7	14,0	15,7	**30,7**	**11,5**	7,2	7,0	1,1	0,4	6,5	8,1
α-humulène	0,7	0,7	0,9	1,3	4,0	0,6	**13,7**	**4,5**	2,7	2,8	0,2	0,3	2,1	2,9
β-bisabolène	0,1	0,1	1,2	1,0	**36,0**	**11,5**	1,3	0,6	3,6	1,6	0,3	0,6	0,6	0,8
sg = sous-groupe ; M = moyenne ; ET = écart-type														

III.3.4. Bilan de l'analyse des HE de *Beilschmiedia mannii*

Les HE de *B. mannii* que nous avons analysées présentent plusieurs types de profils chimiques et sont caractérisées par la présence de composés plus ou moins divers. Les composés majoritaires sont soit des monoterpènes, δ-3-carène, myrcène, α-pinène, (*E*)-β-ocimène, soit des sesquiterpènes, (*E*)-nérolidol, le *cis*-α-bergamotène, (*E*)-β-caryophyllène, α-copaène. Nous remarquons néanmoins que certains composés qui caractérisent les HE d'écorces de tronc et de racines, en l'occurrence, le (*E*)-nérolidol (jusqu'à 43,3%) et le *cis*-α-bergamotène (jusqu'à 24,9%) restent présent dans les feuilles mais à des teneurs très faibles (jusqu'à 3,3% et 4,6% respectivement). L'analyse statistique (ACP et CHA) entreprise sur la composition chimique de 45 échantillons d'HE de feuilles de *B. mannii* collectés sur différentes stations de la Côte d'Ivoire montre plusieurs groupes de composition chimique. Ainsi, l'HE de feuilles de *B. mannii* présente une variabilité chimique et les différentes compositions sont retrouvées indépendamment des sites de récolte. La variabilité n'est donc pas liée aux conditions pédoclimatiques.

La composition chimique des HE des trois organes de *B. mannii*, décrite ici pour la première fois, se distingue de celle d'autres espèces du genre *Beilschmiedia*. En effet, les composés majoritaires de ces HE tels que le δ-3-carène (groupe I des HE de feuilles), le

myrcène (sous-groupe 1 du groupe IV des HE de feuilles), le (*E*)-nérolidol (écorces de tronc et de racine) sont absents ou présents en très faibles proportions dans les HE des autres espèces étudiées : *B. tarairie* et *B. miersii* (Scora et Scora, 2001), *B. pulverulenta* (Salleh *et al*., 2016c), *B. maingayi* (Salleh *et al*., 2016d). De même le germacrène D qui caractérise les HE de plusieurs espèces du genre, *B. alloiophylla*, *B. brenesii*, *B. tilaranensis* (Setzer et Haber, 2007), de *B. penangiana* (Salleh *et al*., 2016d), *B. tarairie* et *B. miersii* (Scora et Scora, 2001), est pratiquement absent des HE de *B. mannii*. Cependant certains composés qui dominent les HE de *B. mannii* sont néanmoins retrouvés dans les HE provenant de certaines espèces. Ainsi :

- le (*E*)-β-caryophyllène, composé majoritaire du sous-groupe 2 du groupe III est également l'un des constituants importants de l'HE de feuilles de *B. brenesii*, de *B. tilaranensis*, de *B. sp* « *chanchoblanco* » (Setzer et Haber, 2007), de *B. kunstleri* et de *B. penangiana* (Salleh *et al*., 2016d).
- l'α-pinène, composé principal du sous-groupe 1 du groupe IV, est l'un des composés majoritaires de l'HE de feuilles de *B. tarairie* (Scora et Scora, 2001), de *B. sp* « *chanchoblanco* » (Setzer et Haber, 2007) et de *B. pendula* (Chaverri et Ciccio, 2010).

III.4. CARACTERISATION DES HE DE *DACRYODES KLAINEANA*

L'objectif de ce travail est de caractériser d'une part, les HE d'écorces de racine, d'écorces de tronc et des feuilles de *Dacryodes klaineana* et d'autre part, de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique des HE d'écorces de tronc et des feuilles. Pour ce faire, nous avons analysé trente (30) échantillons d'HE de feuilles, cinquante-et-un (51) échantillons d'HE d'écorce de tronc et un (1) échantillon d'HE d'écorce de racine, obtenus à partir d'un échantillonnage effectué en juillet, août et septembre 2014 dans différentes stations dans le sud de la Côte d'ivoire.

III.4.1. Etude de l'HE d'écorce de racine

L'échantillon d'HE d'écorce de racine de *D. klaineana* a été analysé par RMN ^{13}C, CPG(Ir) et CPG-SM. Au total, 27 composés ont été identifiés, représentant 97,3% de la composition chimique totale (Tableau XVII). L'HE est principalement riche en composés monoterpéniques (95,1%), la fraction sesquiterpénique ne représentant que 2,3%. Les deux composés majoritaires sont : le β-pinène (48,5%) et l'α-pinène (25,9%). Tous les autres composés identifiés sont présents à des teneurs inférieures à 4,2% chacun. Les monoterpènes hydrocarbonés ayant une teneur appréciable sont le terpinolène (4,1%), le limonène (3,0%), le camphène (2,0%) et le β-phéllandrène (1,8%). Quelques monoterpènes oxygénés sont également présents en l'occurrence l'α-terpinéol (2,0%) et le terpinèn-4-ol (1,4%). L'α-gurjunène (1,1%) domine la fraction sesquiterpénique. Les composés non identifiés ont tous des teneurs très faibles (généralement moins de 0,2%).

Tableau XVII : Composition chimique de l'HE d'écorce de racine de *D. klaineana*.

	Composés	Ira	Irp	HE	Identification
1	α-Thujène	920	1 011	1,0	Ir, SM, RMN ^{13}C
2	α-Pinène	928	1 011	25,9	Ir, SM, RMN ^{13}C
3	Camphène	941	1 059	2,0	Ir, SM, RMN ^{13}C
4	Sabinène	963	1 118	1,0	Ir, SM, RMN ^{13}C
5	β-Pinène	969	1 108	48,5	Ir, SM, RMN ^{13}C
6	Myrcène	978	1 155	0,8	Ir, SM, RMN ^{13}C
7	α-Phellandrène	994	1 160	0,1	Ir, SM
8	δ-3-Carène	1 003	1 143	0,3	Ir, SM
9	β-Terpinène	1 007	1 175	0,2	Ir, SM
10	*p*-Cymène	1 009	1 266	1,0	Ir, SM, RMN ^{13}C
11	Limonène*	1 019	1 196	3,0	Ir, SM, RMN ^{13}C
12	β-Phéllandrène*	1 019	1 206	1,8	Ir, SM, RMN ^{13}C
13	(*E*)-β-Ocimène	1 034	1 244	0,1	Ir, SM
14	γ-Terpinène	1 046	1 239	0,3	Ir, SM
15	*p*-Cymenène	1 070	1 432	0,2	Ir, SM
16	Terpinolène	1 076	1 277	4,1	Ir, SM, RMN ^{13}C
17	*trans*-Pinocarvéol	1 121	1 647	0,2	Ir, SM
18	p-cymène-8-ol	1 157	1 840	0,4	Ir, SM
19	Terpinèn-4-ol	1 159	1 593	1,4	Ir, SM, RMN ^{13}C
20	Myrténal	1 167	1 621	0,1	Ir, SM
21	α-terpineol	1 170	1 688	2,0	Ir, SM, RMN ^{13}C
22	Acétate de bornyle	1 267	1 572	0,6	Ir, SM, RMN ^{13}C
23	Cypérène	1 397	1 516	0,3	Ir, SM
24	α-Gurjunene	1 407	1 519	1,1	Ir, SM, RMN ^{13}C
25	(*E*)-β-Caryophyllène	1 414	1 586	0,2	Ir, SM
26	Rotundène	1 455	1 626	0,3	Ir, SM
27	(*E*)-Nérolidol	1 546	2 029	0,4	Ir, SM
	Total			97,3	
	Rendement			0,17	
	Monoterpènes hydrocarbonés			90,4	
	Monoterpènes oxygénés			4,7	
	Sesquiterpènes hydrocarbonés			1,9	
	Sesquiterpènes oxygénés			0,4	

L'ordre d'élution et les pourcentages sont donnés sur colonne apolaire, excepté pour les composés suivis d'un astérisque (colonne polaire).
Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20).

III.4.2. Etude de l'HE d'écorce de tronc

Nous avons analysé 51 échantillons d'HE provenant d'écorces prélevées sur les troncs de pieds d'arbre individuel. Les HE sont obtenues par hydrodistillation pendant 3 heures et 30 min avec un appareil de type Clevenger. Les rendements sont compris entre 0,02 et 0,13 % par rapport à la masse de végétal frais.

Nous présenterons, dans un premier temps, la composition chimique de cinq échantillons, choisis en fonction de leur profil chromatographique. Dans un second temps, nous présenterons les résultats de l'étude sur l'ensemble de l'échantillonnage de l'HE d'écorce de tronc de *Dacryodes klaineana*.

III.4.2.1. Analyse de cinq échantillons d'HE d'écorce de tronc

Nous avons analysé cinq (5) échantillons d'HE d'écorce de tronc de *D. klaineana* (échantillons n°1, 2, 28, 48 et 50). Par la combinaison des trois techniques habituelles (CPG(Ir), CPG-SM et RMN ^{13}C (Annexe 6 et 7)) nous avons identifié au total 63 composés représentant respectivement 92,7%, 96,4%, 96,1%, 85,3% et 83,4% de la composition chimique des échantillons (Tableau XVIII).

L'échantillon n°50 présente une composition atypique qui diffère radicalement des autres et possède comme composés majoritaires le (*E*)-β-ocimène (46,8%), le β-élémène (14,5%) et le (*E*),(*E*)-α-farnésène (6,9%). A l'exception de cet échantillon, toutes les autres HE sont composées majoritairement de monoterpènes (68,4 – 92,9%) contre (3,2 – 24,4%) pour les sesquiterpènes. L'α-pinène est toujours le composé dominant (27,9 – 38,8%) dans ces quatre échantillons. Le second composé important est le β-pinène (14,7 – 22,3%) dans trois échantillons (n°48, 28 et 2) et le myrcène (17,9%) dans le dernier (n°1). Le limonène est présent dans deux échantillons (n°28 et 48) à des teneurs très significatives (respectivement 13,8% et 11,8%) et pratiquement absent dans les deux autres (0,9% pour le n°1 et 2,9% pour le n°2). Le terpinolène est présent dans l'échantillon n°28 à 11,4% et dans les trois autres à une teneur n'excédant pas 0,7%.

Plusieurs sesquiterpènes sont présents à des teneurs appréciables mais de manière plus ponctuelle : le cypérène (jusqu'à 5,1%, échantillon n°48), le rotundène (jusqu'à 4,2%, échantillon n°48), l'α-sélinène (jusqu'à 4,2% échantillon n°50), le β-sélinène (jusqu'à 4,7% échantillon n°50) et le τ-cadinol (jusqu'à 5,1% échantillon n°1). Enfin, l'α-gurjunène est présent uniquement dans l'échantillon n°1 avec une teneur de 3,1%.

Tableau XVIII : Composés identifiés dans les HE d'écorce de troncs de *D. klaineana*.

	Composés	Ira	Irp	1	2	28	48	50
1	α-Thujène	921	1017	0,5	0,9	1,6	0,4	-
2	α-Pinène	929	1 017	**36,3**	**38,8**	**35,5**	**27,9**	-
3	α-Fenchène	940	1 055	tr	0,1	0,1	tr	-
4	Camphène	942	1 065	0,2	0,6	0,7	0,4	-
5	Thuja-2,4(10)-diène	945	1 128	0,1	-	0,1	tr	-
6	Sabinène	964	1 123	0,2	0,5	0,3	0,1	-
7	β-Pinène	969	1 113	**5,5**	**22,3**	**20,1**	**14,7**	-
8	Myrcène	979	1 161	**17,9**	**1,1**	**1,9**	**1,6**	0,3
9	α-Phellandrène	995	1 166	-	0,1	0,2	**8,2**	-
10	δ-3-Carène	1 003	1 148	0,1	-	-	-	-
11	α-Terpinène	1 007	1 182	-	0,4	0,3	0,2	-
12	*p*-Cymène	1 010	1 272	**1,0**	0,5	0,9	**2,3**	-
13	Limonène	1 019	1 201	0,9	**2,7**	**13,8**	**11,8**	tr
14	β-Phellandrène	1 019	1 211	0,6	1,3	0,6	**3,1**	-
15	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 233	0,4	0,1	-	-	**1,1**
16	(*E*)-β-Ocimène	1 035	1 250	**2,9**	**1,5**	tr	-	**46,8**
17	γ-Terpinène	1 047	1 245	tr	0,9	0,4	0,3	-
18	*p*-Cymenène	1 017	1 439	0,1	0,1	**1,0**	tr	-
19	Terpinolène	1 077	1 283	0,1	0,7	**11,4**	0,5	-
20	Linalol	1 082	1 545	-	0,1	-	-	-
21	Fenchol	1 096	1 581	-	0,1	0,1	0,1	-
22	*trans*-Pinocarvéol	1 121	1 655	0,3	0,2	0,2	-	-
23	*p*-Cymèn-8-ol	1 157	1 849	0,1	-	1,0	-	-
24	Terpinèn-4-ol	1 160	1 601	0,4	1,0	0,8	0,3	-
25	Myrtenal	1 167	1 628	0,3	0,2	0,3	-	-
26	α-Terpinéol	1 170	1 696	0,5	2,3	**1,4**	**1,0**	-
27	Verbénone	1 178	1 707	-	-	0,2	-	-
28	α-Cubébène	1 348	1 456	0,4	0,1	-	0,1	-
29	Cyclosativène	1 366	1 479	0,2	-	-	0,1	-
30	α-Ylangène	1 369	1 481	-	0,2	-	-	-
31	α-Copaène	1 375	1 490	**1,2**	**2,1**	0,1	0,5	0,4
32	β-Elémène	1 385	1 587	0,4	0,5	-	-	**14,5**
33	Cypérène	1 398	1 523	0,2	0,1	**1,2**	**5,1**	-
34	α-Gurjunène	1 408	1 525	**3,1**	-	-	-	-
35	*cis*-α-Bergamotène	1 409	1 566	-	1,1	-	-	**1,2**
36	α-Santalène	1 415	1 568	0,1	-	-	-	0,8
37	(*E*)-β-Caryophyllène	1 416	1 593	0,7	1,0	0,1	-	**1,7**
38	β-Copaène	1 424	1 587	0,1	-	-	-	0,6
39	Aromadendrène	1 435	1 602	**1,1**	-	-	-	-
40	Spirolepechinène	1 444	1 643	-	-	-	**2,0**	-
41	α-Humulène	1 448	1 665	0,8	0,4	-	-	-
42	Rotundène	1 455	1 634	-	-	0,9	**4,2**	-
43	*allo*-Aromadendrène	1 456	1 640	**1,7**	0,6	0,1	-	-
44	γ-Muurolène	1 468	1 683	0,1	0,1	-	-	-
45	Germacrène D	1 474	1 704	-	0,6	-	-	-
46	γ-Humulène	1 475	1 718	-	**2,1**	-	-	-
47	β-Sélinène	1 479	1 713	0,4	**2,3**	-	-	**4,7**
48	α-Sélinène	1 489	1 720	-	**1,6**	-	-	**4,2**

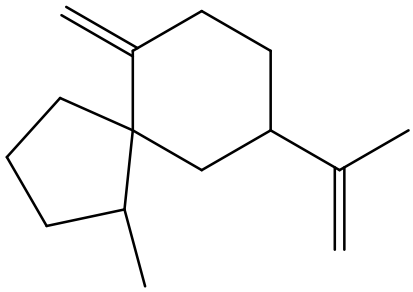
49	α-Muurolène	1 491	1 720	0,2	-	-	-	-
50	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1 495	1 745	-	-	-	-	**6,9**
51	γ-Cadinène	1 503	1 755	**2,6**	**1,7**	0,1	-	-
52	*trans*-Calamenène	1 507	1 829	**1,4**	-	0,1	-	-
53	δ-Cadinène	1 513	1 752	0,7	**1,4**	0,2	-	-
54	(*E*)-Nérolidol	1 546	2 037	0,8	-	-	-	-
55	Spathulénol	1 561	2 117	0,7	-	0,1	-	-
56	Oxyde de caryophyllène	1 566	1 978	0,3	0,1	-	-	0,2
57	Lédol	1 589	2 021	0,5	-	-	-	-
58	Oxyde d'humulène II	1 590	2 031	0,3	-	-	0,1	-
59	1,10-di-*épi*-Cubénol	1 599	2 054	0,3	0,3	-	-	-
60	τ-Cadinol	1 622	2 165	**5,1**	**3,9**	0,3	-	-
61	β-Eudesmol	1 631	2 224	0,5	-	-	-	-
62	α-Cadinol	1 635	2 226	0,2	-	-	-	-
63	α-Eudesmol	1 636	2 215	0,3	-	-	-	-
	Total			92,8	96,7	96,1	85,0	83,4
	Rendement			0,03	0,02	0,05	0,02	0,02
	Monoterpènes hydrocarbonés			66,8	72,6	88,9	71,5	48,2
	Monoterpènes oxygénés			1,6	3,9	4,0	1,4	-
	Sesquiterpènes hydrocarbonés			15,4	15,9	2,8	12,0	35,0
	Sesquiterpènes oxygénés			9,0	4,3	0,4	0,1	0,2

L'ordre d'élution et les pourcentages sont donnés sur colonne apolaire, excepté pour les composés suivis d'un astérisque (colonne polaire). Ira et Irp : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20). Gras : composés identifiés par RMN ^{13}C. tr : composés à l'état de trace < 0,05%.

III.4.2.2. Identification du spirolépéchinène

Les déplacements chimiques des atomes de carbone (Tableau XIX) de ce composé, relevés sur le spectre RMN de l'échantillon n°48, correspondent à ceux décrits par Eggers *et al.* (1999). Malgré la teneur relativement faible du composé (2,0%), nous avons repéré tous ses signaux, y compris ceux des carbones quaternaires. La séquence DEPT 135 réalisée sur le mélange a permis de confirmée la multiplicité de tous les atomes de carbone de la molécule. De plus l'indice de rétention sur colonne apolaire de ce sesquiterpène (Ira = 1444), reste cohérent avec celui décrit par Zhao, (2014) (Ira = 1450), obtenu sur une colonne capillaire de type HP-5 MS.

Tableau XIX : Structure et déplacements chimiques du spirolépéchinène décrits dans la littérature (Eggers *et al.*, 1999) et observés dans l'échantillon n°48 d'HE de tronc de *D. klaineana*.

Spirolépéchinène	**δ_c (ppm)[a]** Eggers *et al.*, 1999	**δ_c (ppm)[b]**	**DEPT[c]**
	39,7	39,23	CH
	32,6	32,21	CH_2
	21,4	21,00	CH_2
	37,2	36,74	CH_2
	50,1	49,69	C
	154,7	154,27	C
	35,5	35,14	CH_2
	33,8	33,40	CH_2
	41,5	41,10	CH
	35,6	35,15	CH_2
	150,9	150,48	C
	108,8	108,44	CH_2
	21,4	21,02	CH_3
	104,6	104,21	CH_2
	14,6	14,29	CH_3

[a] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus par Eggers et *al.*, 1999.
[b] Déplacements chimiques des atomes de carbone obtenus expérimentalement.
[c] Multiplicité des atomes de carbone obtenus à partir de la séquence DEPT 135.

III.4.2.3. Etude de la variabilité chimique de l'HE d'écorce de tronc

Les analyses qualitative et quantitative des échantillons d'HE ont été réalisées par CPG(Ir), CPG-SM et RMN ^{13}C. Les 51 échantillons (y compris les 5 échantillons précédemment décrits) d'HE ont été analysés dans un premier temps par CPG(Ir). En fonction de leur profil chromatographique, 31 échantillons ont été analysés par CPG-SM et 24 par RMN ^{13}C. Les constituants des autres échantillons sont trouvés soit par comparaison de leurs indices de rétention sur les deux colonnes avec ceux des composés identifiés par RMN ^{13}C soit à partir de leur spectre de masse obtenu par la spectroscopie de masse. Au total sur l'ensemble des 51 échantillons, ce sont 86 constituants représentant 83,30 à 99,05% de la composition chimique globale de chaque échantillon d'HE qui sont identifiés (Annexe 8).

Qualitativement, à l'exception de l'échantillon n°50, la composition chimique des 50 autres échantillons d'HE d'écorce de tronc est homogène. Elle est caractérisée par une très forte teneur de monoterpènes oléfiniques, dominée principalement par le couple α-pinène (28,8-76,2%) / β-pinène (2,0-46,3%) suivi du limonène (0,9-13,8%) et du *p*-cymène (0,1-21,4%). Le terpinolène (0-19,2%) est présent à des teneurs appréciables dans certains

échantillons. Parmi les composés oxygénés, nous retrouvons le τ-cadinol (0-9,7%), l'α-terpinéol (0-8,5%), le terpinèn-4-ol (0-4,3%) ainsi que le linalol (0,1-3,8%).

Afin d'obtenir une description statistique de notre échantillonnage, nous avons soumis les résultats à une analyse statistique par ACP (Figure 28) et par CHA (Figure 29). La représentation graphique des échantillons sur le plan défini par les deux premières composantes principales de l'ACP, décrit 50,06 et 23,78% de la variance totale du nuage de points et montre que les échantillons sont repartis en trois groupes d'inégale importance. Ce résultat est confirmé par le dendrogramme de la CHA que nous avons mis en œuvre en parallèle à l'ACP. Les pourcentages moyens (M) ainsi que les écart-types (ET) des constituants dans chacun des trois groupes sont rassemblés dans le tableau XX et la figure 30. Ces trois groupes sont dominés par les deux mêmes constituants (α-pinène et β-pinène) et ne se différencient que par les proportions moyennes de ceux-ci.

- Le **groupe I** qui est constitué de 23 échantillons (n°1, 6, 10, 12, 15 à 17, 20, 22, 26, 27, 33, 34, 37 à 40, 42, 43, 45, 46, 49 et 51), est caractérisé par l'α-pinène (M = 54,2% ; ET = 12,9%) ;
- Le **groupe II** constitué de 19 échantillons (n°2 à 5, 7 à 9, 13, 14, 18, 19, 24, 29 à 32, 36, 41 et 44), est dominé par le couple α-pinène (M = 44,5% ; ET = 6,0%) / β-pinène (M = 26,2% ; ET = 8,3%) ;
- Les huit (8) échantillons (n°11, 21, 23, 25, 28, 35, 47 et 48) du **groupe III** sont également dominés par le couple α-pinène (M = 23,4%, ET = 10,2%) / β-pinène (M = 15,0% ; ET = 9,8%) mais avec des valeurs plus faibles que celles du groupe II. Nous notons également la présence du limonène dans les échantillons de ce groupe avec une teneur appréciable (M = 9,6% ; ET = 3,6%) ce qui n'est pas le cas du groupe II (M = 2,9% ; ET = 2,4%) ;
- L'échantillon n°50 présente une composition atypique dominée par le (*E*)-β-ocimène (46,8%) suivi du β-élémène (14,5%). Cet échantillon n'appartient à aucun des trois groupes. Ce constat est confirmé par l'ACP et par l'examen du dendrogramme.

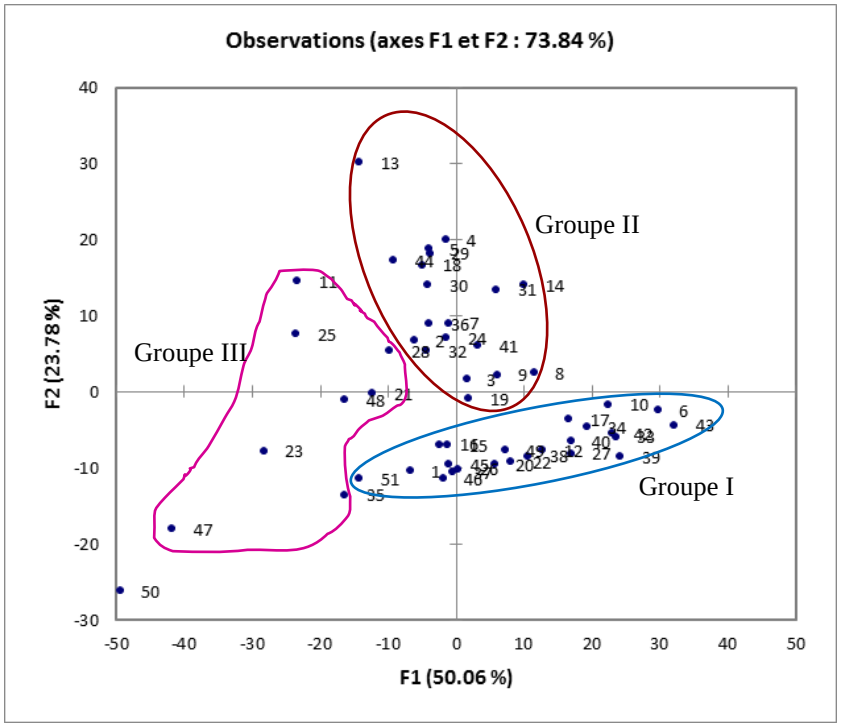


Figure 28 : ACP sur 51 échantillons d'HE de troncs de *D. klaineana*.

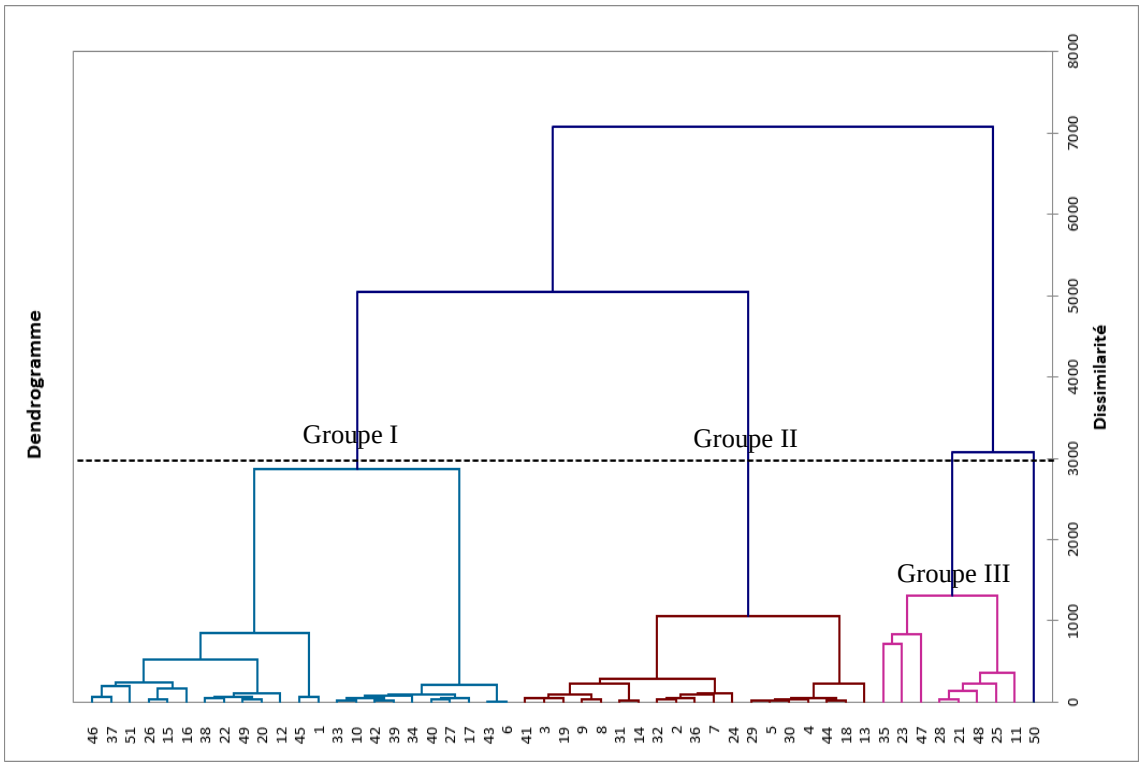


Figure 29 : Dendrogramme sur 51 échantillons d'HE de troncs de *D. klaineana*.

Tableau XX : Pourcentages moyens et écarts types des principaux constituants identifiés dans les trois groupes.

	Groupe I		**Groupe II**		**Groupe III**	
	M	ET	M	ET	M	ET
α-Thujène	1,7	1,5	1,8	1,3	2,1	2,8
α-Pinène	**54,2**	**12,9**	**44,5**	**6,0**	**23,4**	**10,2**
β-Pinène	6,6	2,0	**26,2**	**8,3**	**15,0**	**9,8**
p-Cymène	2,5	2,8	1,4	1,2	6,4	7,3
Limonène	3,0	2,7	2,9	2,4	**9,6**	**3,6**
Terpinolène	1,7	3,6	0,8	1,0	4,9	7,0
Terpinèn-4-ol	1,8	2,2	1,4	1,3	3,4	5,3
α-Terpinéol	1,3	1,0	2,2	1,8	2,0	1,4
τ-Cadinol	2,3	2,5	1,5	2,0	0,2	0,2
M = moyenne ; ET = écart-type						

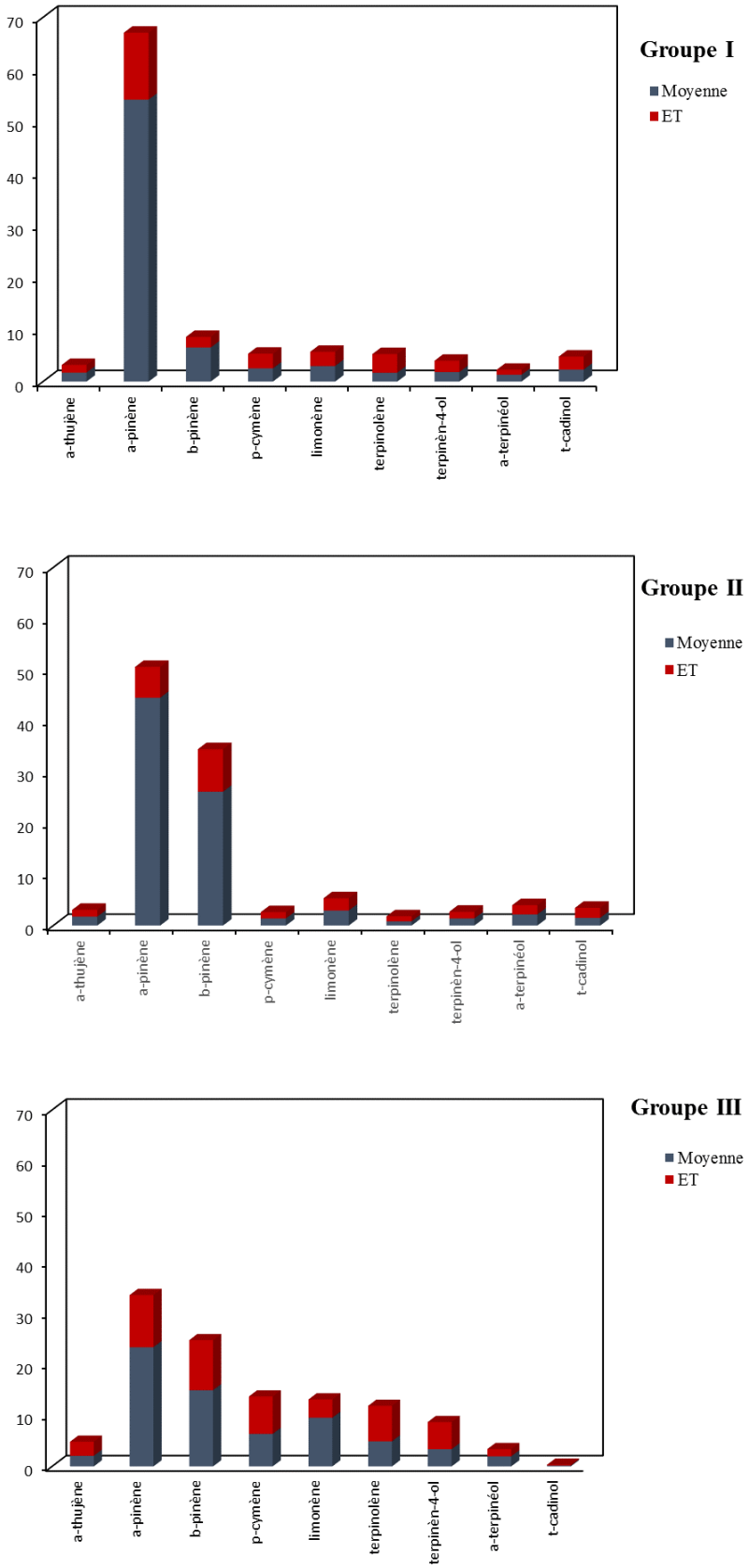


Figure 30 : Principaux constituants des groupes I, II et III.

III.4.3. Etude de la variabilité chimique de l'HE de feuilles

L'étude de la variabilité chimique de l'HE de feuilles de *Dacryodes klaineana* a été réalisée à partir de trente (30) échantillons d'HE obtenus sur des pieds individuels appartenant aux mêmes lots que les écorces de tronc et récoltés pendant les mois de mai à juillet 2014 dans 6 stations en Côte d'ivoire. Tous les 30 échantillons d'HE ont été analysés par CPG(Ir) et en fonction du profil chromatographique, 21 échantillons ont aussi été analysés par RMN ^{13}C. Les échantillons ont également été tous analysés en plus par CPG-SM afin d'identifier les composés minoritaires présents à des teneurs faibles en dessous du seuil de détection de la RMN. Ainsi, nous avons identifié au total 64 composés (25 monoterpènes, 39 sesquiterpènes) représentant de 81,1% à 97,3% de la composition totale (Annexe 9). Les HE de feuilles de *D. klaineana* présentent une composition chimique extrêmement variable indifféremment dominée, soit par des monoterpènes soit par des sesquiterpènes. La teneur des composés majoritaires varie considérablement d'un échantillon à l'autre : (*E*)-β-ocimène (0-52,8%), myrcène (0-52,9%), terpinolène (0-40,8%), α-humulène (0-39,9%), (*E*)-β-caryophyllène (0,2-35,0%), *trans*-α-bergamotène (0-28,4%). Certains composés apparaissent ponctuellement à des teneurs importantes dans certains échantillons : jusqu'à 62,0% pour le (*E*)-β-farnésène, jusqu'à 50,8% pour l'isodaucène, jusqu'à 38,8% pour le (*Z*)-β-ocimène, jusqu'à 30,4% pour l'α-pinène, jusqu'à 30,0% pour le *cis*-α-bergamotène, jusqu'à 22,9% pour l'α-copaène, jusqu'à 22,3% pour le (*E*),(*E*)-α-farnésène et jusqu'à 21,5% pour le *p*-cymène. Enfin, divers autres composés sont présents à des teneurs non négligeables : l'α-phellandrène (0-14,3%), le germacrène D (0-13,5%), le β-pinène (0-12,5%), le δ-cadinène (0-11,9%) et le β-bisabolène (0-11,0%).

Afin d'obtenir une description statistique de notre échantillonnage et de pouvoir mettre en évidence une variabilité chimique intraspécifique de l'HE de feuilles de *D. klaineana*, trente (30) échantillons d'HE provenant des différents sites de récolte ont été soumis à une analyse en composantes principales (ACP) ainsi qu'à une classification hiérarchique ascendante (CHA). La représentation graphique des échantillons sur le plan factoriel de l'ACP, généré par les composantes principales I et II qui décrivent seulement 36,3% de la variance totale de la population (respectivement 20,9% et 15,3%), suggère une répartition des échantillons assez diffuse dans laquelle trois groupes peuvent néanmoins être distingués (Figure 31). L'utilisation de la classification hiérarchique ascendante propose la même répartition des échantillons en trois groupes de composition chimique avec un indice de dissimilarité élevé (de l'ordre de 5800 points) (Figure 32) :

– les sept échantillons du **groupe I** (n°5, 8, 12, 16, 21, 29, 30) présentent une composition chimique dominée par le terpinolène (M = 30,8% ; ET = 11,1%). Ce groupe est le plus homogène avec le (*E*)-β-caryophyllène (M = 13,7% ; ET = 10,7%) comme composé secondaire. La proportion de ce composé varie néanmoins drastiquement d'un échantillon à l'autre, ce qui se traduit par l'observation de l'ET important. L'α-humulène apparait ponctuellement avec une teneur de 25,0% dans l'échantillon n°30.

Les groupes **II** et **III** ont des structures beaucoup moins homogènes et se définissent surtout par l'absence du terpinolène et par la présence ponctuelle avec des teneurs importantes d'une ou plusieurs molécules. Ainsi :

– le **groupe II** (n°3, 14, 17-19, 23 et 25) présente des échantillons dominés soit par le myrcène, soit par le *trans*-α-bergamotène ou soit par l'isodaucène. Plusieurs composés apparaissent ponctuellement avec des teneurs élevées : le *cis*-α-bergamotène (30,0%) dans l'échantillon n°17, l'α-copaène (22,9%) dans l'échantillon n°3, le *trans*-β-bergamotène (18,7%) dans l'échantillon n°25. Des teneurs appréciables sont aussi observées pour le (*E*)-β-ocimène (17,0%) et le (*E*),(*E*)-α-farnésène (11,1%) dans l'échantillon n°19, l'α-humulène (16,4%) dans l'échantillon n°23, le δ-cadinène (11,9%) dans l'échantillon n°3
– le **groupe III**, qui regroupe 16 échantillons, a une structure très hétérogène. En effet, plusieurs composés caractérisent les échantillons de ce groupe. Par exemple nous pouvons citer le (*E*)-β-ocimène qui est le composé majoritaire des échantillons n°1, 2, 6, 7 et 27. Les échantillons n°4, 9 et 28 sont quant à eux dominés par l'α-humulène. Nous notons la présence du (*Z*)-β-ocimène comme composé principal des échantillons n°10 et 26. Plusieurs échantillons présentent des compositions atypiques, en l'occurrence les échantillons n°11, 13, 15, 20, 22 et 24. Leurs composés importants sont : l'*allo*-aromadendrène (46,2%) pour l'échantillon n°11, l'α-ylangène (15,1%) et le β-bisabolène (11,0%) pour l'échantillon n°13, l'α-pinène (30,4%) et le β-pinène (12,5%) dans l'échantillon n°15, le (*E*)-β-farnésène (62,0%) dans l'échantillon n°20, le *p*-cymène (21,5%), le (*E*)-β-caryophyllène (15,9%) et l'α-phellandrène (14,3%) dans l'échantillon n°22 et enfin le (*E*)-β-caryophyllène (33,4%) et l'α-phellandrène (13,0%) pour l'échantillon n°24.

  Des teneurs appréciables sont également observées ponctuellement pour de nombreux composés tels que : le (*E*),(*E*)-α-farnésène (22,3%) dans l'échantillon n°7 ; l'α-

terpinéol (18,6%) dans l'échantillon n°9 ; l'α-phellandrène (14,3%) dans l'échantillon n°22 ; le germacrène D (13,5%) dans l'échantillon n°27 ; le γ-terpinène (12,1%) aussi dans l'échantillon n°9 ; le bicyclogermacrène avec une teneur de 11,1% dans l'échantillon n°26 et le β-ylangène (10,3%) dans l'échantillon n°13.

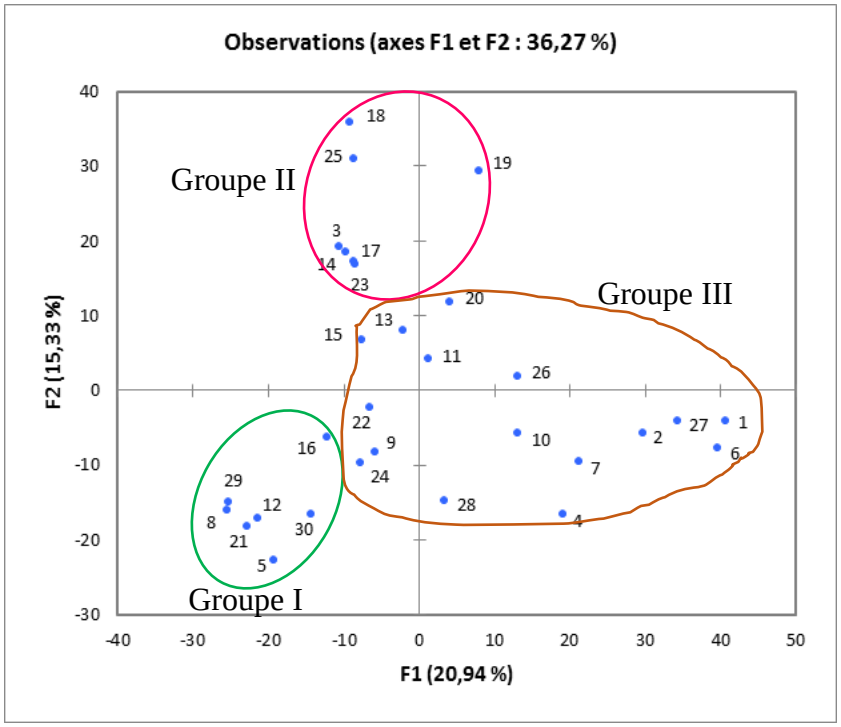


Figure 31 : ACP sur 30 échantillons d'HE feuilles de *D. klaineana*.

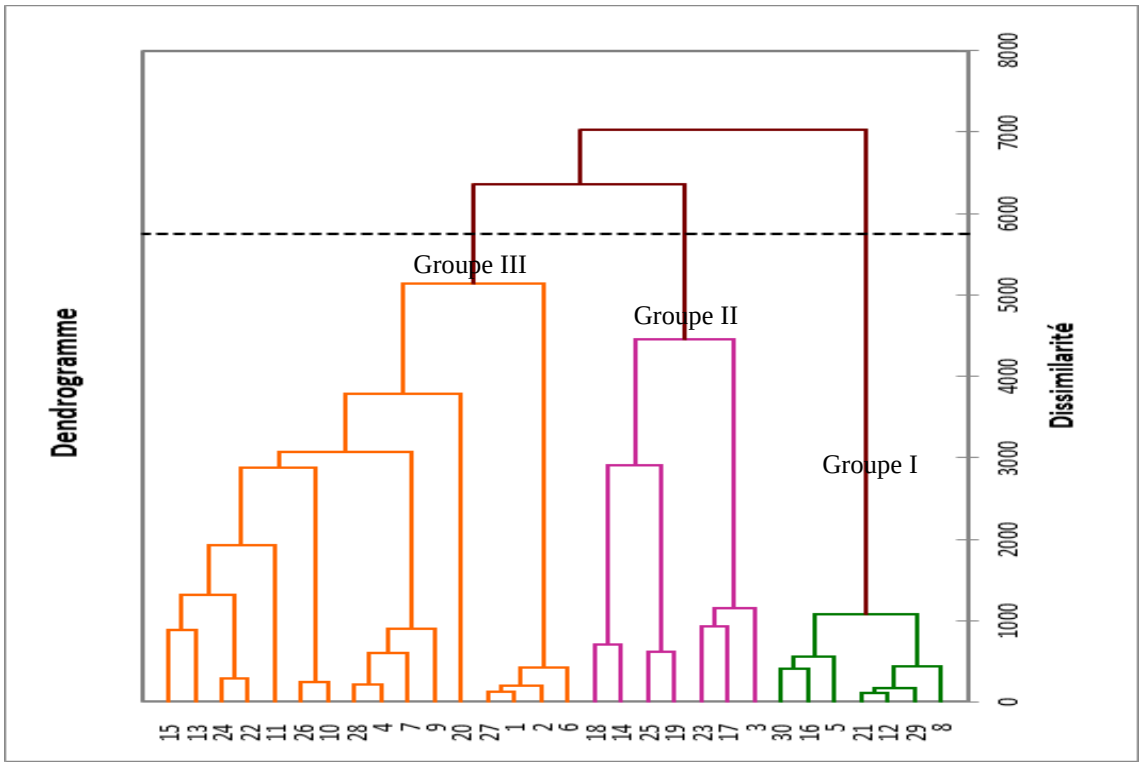


Figure 32 : Dendrogramme sur 30 échantillons d'HE de feuilles de *D. klaineana*.

Le tableau XXI représente les pourcentages moyens (M) et les écarts-types (ET) des constituants principaux identifiés dans le groupe I.

Tableau XXI : Pourcentages moyens et écarts types des principaux constituants du groupe I.

	Groupe I	
Composés	M	ET
Limonène	5,8	1,0
Terpinolène	**30,8**	**11,1**
(*E*)-β-Caryophyllène	**13,7**	**10,7**
M = moyenne ; ET = écart-type		

La valeur élevée de l'ET observée pour le (*E*)-β-caryophyllène s'explique par le fait que les proportions de ce composé varient drastiquement d'un échantillon à l'autre dans ce groupe.

III.4.4. Bilan de l'analyse des HE de *Dacryodes klaineana*

Au terme de cette étude, réalisée sur les HE provenant de feuilles, d'écorce de tronc et d'écorce de racine de *Dacryodes klaineana*, nous pouvons dégager certaines remarques. La composition chimique des HE des différents organes de *D. klaineana* montrent des différences. L'HE d'écorce de racine présente une composition proche de celle des écorces de tronc. Ces deux HE sont riches en monoterpènes et sont exclusivement dominées par l'α-pinène et/ou le β-pinène. La composition chimique de l'HE d'écorce de tronc ne dépend pas du site de récolte. Elle diffère seulement quantitativement quoique des différences soient observées au niveau des composés secondaires et des composés minoritaires. Par contre, l'HE de feuilles montre une très grande variabilité dans sa composition chimique. Cette variabilité qui est également indépendante du site de récolte est d'ordre qualitatif et quantitatif. La composition chimique présente divers profils dominés soit par des monoterpènes : (*E*)-β-ocimène, (*Z*)-β-ocimène, terpinolène soit par des sesquiterpènes dont les plus importants sont le (*E*)-β-caryophyllène, l'α-humulène, l'isodaucène et le *trans*-α-bergamotène.

Les HE de *Dacryodes klaineana* n'ont jamais fait l'objet d'étude chimique. Cependant nous avons comparé leur composition chimique à celle des HE de quelques espèces du genre *Dacryodes* décrites dans la littérature. En effet, l'α-pinène ou le β-pinène, deux (2) composés majoritaires de l'HE d'écorces de tronc et de racine de *D. klaineana* ont été détectés dans les HE de fruits et de graines de *D. edulis* du Cameroun (Jirovetz *et al*., 2005), de résine de *D. edulis* du Gabon (Koudou *et al*., 2008), de fruits de *D. buettneri* du Gabon (Cravo *et al*., 1992). De même, le myrcène, composé important de certains de nos échantillons d'HE de feuilles, apparaît dans les HE de fruits de *D. edulis* (Onocha *et al*., 1999) et de résine de *D. edulis* du Gabon (Koudou *et al*., 2008). Divers sesquiterpènes (α-copaène, (*E*)-β-caryophyllène, α-humulène) présents dans nos échantillons de feuilles ont également été retrouvés dans l'HE fruits de *D. igaganga* (Cravo *et al*., 1992). L'étude des HE de feuilles provenant de diverses localités du Congo-Brazzaville (Silou *et al*., 2012) a mis en évidence une très grande variabilité de leur composition chimique ; ce résultat se rapproche de celui obtenu au terme de l'analyse des HE de feuilles de *D. klaineana*.

CONCLUSION

Ce travail de thèse représente une contribution à la valorisation des plantes issues du patrimoine floristique ivoirien. Il a été réalisé dans le cadre d'une convention de codirection entre le Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles de l'Université Nangui Abrogoua et l'équipe "Chimie et Biomasse" du Laboratoire "Science pour l'environnement" associé au CNRS (UMR 6134) de l'Université Pascal Paoli de Corse.

Les investigations ont porté sur la caractérisation des HE issues de différents organes de quatre plantes aromatiques dont deux Annonacées (*Artabotrys insignis* et *Artabotrys jollyanus*), une Lauracée (*Beilschmiedia mannii*) et une Burseracée (*Dacryodes klaineana*), poussant spontanément dans les forêts ivoiriennes. Nous avons adossé notre démarche scientifique sur deux stratégies d'analyse :

- ✓ le couplage individualisation-identification (CPG-SM) faisant intervenir une technique chromatographique (CPG) avec une technique spectroscopique (SM) ;
- ✓ et la méthode d'analyse basée sur la RMN ^{13}C pour identifier les constituants d'un mélange complexe sans séparation préalable.

∗ Les résultats obtenus à partir de l'étude de l'HE de feuilles d'*Artabotrys insignis,* ont permis l'identification et la quantification d'un composé thermosensible majoritaire, le germacrène A.

∗ La caractérisation des HE isolées à partir des feuilles et des écorces de tige d'*Artabotrys jollyanus* a été établie. En effet, l'analyse combinée des diverses techniques chromatographiques et spectroscopiques d'un échantillon d'HE de feuilles a montré que celle-ci est exclusivement dominée par des sesquiterpènes. Ce résultat est également le même pour l'HE d'écorce de tige. Ces deux HE sont proches au regard de leur composition chimique respective. L'analyse de l'évolution de la composition chimique des HE des deux organes durant le cycle végétatif a mis en évidence une homogénéité qualitative de ces HE avec quelques différences quantitatives. L'évaluation de l'activité antioxydante de deux échantillons d'HE a aussi permis de constater leur potentiel antioxydant faible, comparativement à celui de la vitamine C.

∗ La caractérisation des HE extraites de différents organes de *Beilschmiedia mannii* a également été élaborée. Nous avons décrit dans un premier temps, la composition chimique de l'HE d'écorce de racines, laquelle est riche en sesquiterpènes. Les composés majoritaires sont le (*E*)-nérolidol (25,5%), le *cis*-α-bergamotène (15,3%), le β-barbatène (8,2%) et le β-bisabolène (7,6%). Par ailleurs, nous avons déterminé les différents constituants de divers échantillons d'HE d'écorce de tronc. Ces HE présentent divers profils dont les composés dominants sont soit des monoterpènes (δ-3-carène,

myrcène) soit des sesquiterpènes ((*E*)-nérolidol, *cis*-α-bergamotène et β-bisabolène). Enfin, nous avons révélé et démontré une grande variabilité chimique aussi bien qualitative que quantitative de l'HE de feuilles au moyen de l'ACP et de la CHA réalisées sur 45 échantillons. Sept (7) groupes de composition chimique ont été ainsi mis en évidence et les composés qui les caractérisent sont :

- le δ-3-carène, l'α-phellandrène et le myrcène ;
- le (*E*)-β-ocimène ;
- le β-bisabolène ;
- le (*E*)-β-caryophyllène et α-humulène ;
- l'α-copaène ;
- l'α-pinène.
- le myrcène.

Pour parachever le travail, des investigations ont été menées sur les HE provenant d'écorces de racines, d'écorces de troncs et de feuilles de *Dacryodes klaineana*. Nous avons observé des similitudes dans la composition chimique des HE d'écorces de racine et de tronc. Ces HE sont riches en composés monoterpéniques, mais dominé par l'α- et/ou le β-pinène. Par contre, l'HE de feuilles présente une composition extrêmement variable. L'étude statistique par ACP et CHA sur un ensemble de 51 échantillons d'HE de troncs a permis de montrer trois groupes homogènes de composition chimique. Le premier groupe est dominé par l'α-pinène, le second par le couple α-/β-pinène et le troisième groupe est caractérisé par l'association α-pinène/β-pinène/limonène. Une étude similaire menée sur un ensemble de 30 échantillons d'HE de feuilles, a mis en évidence une grande variabilité à la fois quantitative et qualitative. Sur la base des composés majoritaires qui sont soit des monoterpènes oléfiniques : terpinolène, myrcène, (*Z*) et (*E*)-β-ocimènes, soit des sesquiterpènes oléfiniques : (*E*)-β-caryophyllène, *trans*-α-bergamotène, isodaucène et α-humulène, il est possible de créer trois groupes mais il est ardu de caractériser ces groupes par un ou plusieurs composés chimiques. Cette dernière étude souligne la difficulté à caractériser cette HE et la nécessité d'un échantillonnage plus large avant de pouvoir envisager leur valorisation.

Dans le but de définir des chemotypes et de confirmer certaines compositions chimiques qui n'ont été observées que pour un nombre limité d'échantillons, nos perspectives, nous orientent vers une poursuite et un renforcement des études de la variabilité chimique des

HE de feuilles et d'écorces de tige d'*A. insignis* et d'*A. jollyanus*. En outre, l'analyse d'un plus grand nombre d'échantillons d'HE de feuilles de *B. mannii* et de *D. klaineana* ainsi que celui d'HE d'écorce de tronc de *B. mannii* permettra de confirmer l'existence de certains groupes de compositions chimiques trouvés au cours de notre étude. L'évaluation des potentiels biologique et pharmacologique des HE des différentes plantes étudiées s'avère un complément indispensable pour apporter une valeur ajoutée à leur processus de valorisation.

REFERENCES

Abdelhady M.I., Aly H.A.H. (2012). Antioxidant antimicrobial activities of *Callistemon comboynensis* essential oil. *Free Radicals and Antioxidants* **2** (1): 37-41.

Adams R.P. (1989). *Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy*. Academic Press: San Diego. 780 pp.

Adams R.P. (2001). *Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Illinois, USA. Allured Publishing Corporation: Carol Stream. 798 pp.

Adams R.P. (2007). *Identification of essential oils components by gas Chromatography/mass Spectroscopy*. 4th Edition. Illinois, USA. Allured Publishing Corporation: Carol Stream. 804 pp.

Adio A.M., Paul C., Tesso H., Kloth P., König W.A. (2004). Absolute configuration of helminthogermacrene. *Tetrahedron*: *Asymmetry* **15**: 1631-1635.

Adjanohoun E. et Aké Assi L. (1979). *Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire*. Abidjan, Côte d'Ivoire. Ministère de la recherche scientifique. Centre National de Floristique, 359 pp.

Andriamadio J.H., Rasoanaivo L.H., Benedec D., Vlase L., Gheldiu A.M., Duma M., Toiu A., Raharisololalao A., Oniga I. (2015). HPLC/MS analysis of polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of *Artabotrys hildebrandtii* O. Hffm. Extracts. *Natural Product Research* **29** (23): 2188-2196.

Atawodi S.E., Atawodi J.C., Idakwo P., Pfundstein B., Haubner R., Wurtele G., Spiegelhalder B., Bartsch H., Owen R.W. (2009). Evaluation of the polyphenol composition and antioxidant activity of african variety of *Dacryodes edulis* (G.Don) H.J Lam Fruit. *Journal of Medicinal Food* **12** (6): 1321-1325.

Azevedo M.M.B., Chaves F.C.M., Almeida C.A., Bizzo H.R., Duarte R.S., Campos-Takaki G.M., Alviano C.S., Alviano D.S. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of 7-hydroxy-calamenene rich essential oils from *Croton cajucara* Benth. *Molecules* **18**: 1128-1137.

Azevedo M.M.B., Almeida C.A., Chaves F.C.M., Campos-Talaki G.M., Rozental S., Bizzo H.R., Alviano C.S., Alviano D.S. (2014). Effects of 7-hydroxycalamene isolated from *Croton cajucara* essential oil of growth, lipid content and ultrastructural analysis aspects of *Rhizotus oryzae*. *Planta Medica* **80**: 550-556.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology* **46**: 446-475.

Baldovini N., Tomi F., Casanova J. (2001). Identification and quantitative determination of furanodiene, a heat-sensitive compound, in essential oil by ^{13}C-NMR. *Phytochemical Analysis* **12**: 58-63.

Bego P. (2001). Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles. Collection aromathérapie pratique et familiale. Ed. MDB Paris. p. 2-3.

Belaiche P. (1979). *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme*. Maloine S.A. Editeur. 201 pp.

Bele M.Y., Focho D.A., Egbe E.A., Chuyong B.G. (2011). Ethnobotanical survey of the uses of Annonaceae around Mount Cameroon. *African Journal of Plant Science* **5** (4): 237-247.

Béliveau R. et Gingras D. (**2005**). *Les aliments contre le cancer*. Édition du Trécarré. Outremont. 213 pp.

Bielicka-Daszkiewicz K., Debicka M., Voelkel A. (2004). Comparison of three derivatization ways in the separation of phenol and hydroquinone from water samples. *Journal of chromatography A* **1052** (1-2): 233-236.

Bighelli A., Casanova J. (2009). Analytical Methodes for Cymbopogon Oils. *In*: *Essential Oil-Bearing Grasses, The genus Cymbopogon*. Taylor & Francis : London. p. 195- 215.

Blaquière C., Ferrari V. et Girod-Quilain I. (2006). Les Arômes Alimentaires : Les Bases de la Réglementation Européenne. *Industries Alimentaires et Agricoles* **123** (6). 26 pp.

Blay G., Cardona L., Collado A.M., Garcia B., Pedro J.R. (2006). Rearrangement of 4,5-Epoxy-9-trimethylsilyldecalines. Application to the synthesis of the natural Eremophilane (–)-Aristolochene. *Journal of Organic Chemistry* **71**: 4929-4936.

Bordoloi P.K., Bhuyan P.D., Boruah P., Bordoloi M., Rao P.G. (2009). A long chain alkylated α-methylene-γ-butyrolactones from *Artabotrys odoratissimus* fruit. *Phytochemistry Letters* **2:** 22-24.

Boti J.B., Koukoua G., N'Guessan Y.T., Muselli A., Bernardini A.F., Casanova J. (2005). Composition of leaf, stem bark and root bark oils from *Isolona cooperi* investigated by GC(RI), GC-MS and ^{13}C NMR spectroscopy. *Phytochemical Analysis* **16**: 357-363.

Boti J.B., Yao A.P., Koukoua G., N'Guessan Y.T., Casanova J. (2006a). Components and chemical variability of *Isolona campanulata* Engler & Diels leaf oil. *Flavour and Fragrance Journal* **21**: 166-170.

Boti J.B., Muselli A., Tomi F., Koukoua G., N'Guessan Y.T., Costa J., Casanova J. (2006b). Combined analysis of *Cymbopogon* giganteus Chiov. leaf oil from Ivory Coast by GC(RI), GC/MS and ^{13}C-NMR. *C R Chimie* **9**: 164-168.

Boti J.B., Yao A.P., Tomi F., Koukoua G., N'Guessan Y.T., Casanova J. (2007). Chemical variability of *Conyza sumatrensis* and *Microglossa pyrifolia* from Côte d'Ivoire. *Flavour and Fragrance Journal* **22**: 27-31.

Boulanouar B., Abdelaziz G., Aazza S., Gaga C., Miguel M.G. (**2013**). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products* **46**: 85-96.

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 1, **41**: 15-24 ; Partie II, **41**: 41-50.

Brereton R.G. (2003). *Chemometrics: data analysis for the laboratory and chemical plant*. Wiley interscience. New York. 504 pp.

Brink M. (2008). *Dacryodes klaineana* (Pierre) H.J.Lam. *In*: Louppe, D., Oteng-Amoako, A.A. & Brink, M. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. Consulté le 12 août 2016.

Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3ème édition, Ed. Tec et doc. Paris. 1120 pp.

Bruschi P., Morganti M., Mancini M., Signorini M.A. (2011). Traditional healers and laypeople: A qualitative and quantitative approach to local knowledge on medicinal plants in Muda (Mozambique). *Journal of Ethnopharmacology* **138** (2): 543-563.

Burt S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A Review. *International Journal of Food Microbiology* **94**: 223-253.

Butterfieid D., Lauderback C. (**2002**). Lipidperoxidation and proteinoxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid beta-peptide associated free radical oxidative stress. *Free Radical and Biological Medecine* **32**: 1050-1060.

Cambie R.C., Lal A.R., Ahmad F. (1990). Sesquiterpenes from *Heritiera ornithocephala*. *Phytochemistry* **29**: 2329-2331.

Cano N., Fiaccadori E., Tesinsky P., Toigo G., Druml W., Kuhlmann M., Mann H., Hörl W.H. (**2006**). ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Adult renal failure. *Clinical Nutrition* **25**: 295-310.

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 Applied Spectroscopy* **42**: 90-94.

Cavaleiro C., Rezzi S., Salgueiro L., Bighelli A., Casanova J., Proença da Cunha A. (2001). Intraspecific chemical variability of the leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* var. *turbinata* from Portugal. *Biochemical Systematics and Ecology* **29**: 1175-1183.

Cavé A., Cassels B.K., Hocquemiller R., Leboeuf M., Rasamizafy S., Roblot F., Davoust D., Deverre J.R., Khan K.C., Hadi A.H.A. (1986). Artavenustine, a catecholic berbine from *Artabotrys venustus*. *Journal of Natural Products* **49**: 602-607.

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.

Chaverri C., Cicció J.F. (2010). Essential oils from *Beilschmiedia pendula* (Sw.) Hemsl. (Lauraceae) from Costa Rica. *Journal of Essential Oil Research* **22** (3): 259-262.

Chen C.N., Weng M.S., Wu C.L., Lin J.K. (2004). Comparison of radical scavenging activity, cytotoxic effects and apoptosis induction in human melanoma cells by taiwanese propolis from different sources. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medecine* **1** (2): 175-185.

Chen J.J., Chou E.T., Duh C.Y., Yang S.Z., Chen I.S. (2006). New cytotoxic tetrahydrofuran- and dihydrofuran-type lignans from the stem of Beilschmiedia tsangii. *Planta Medica* **72**: e98-e101.

Chouna J.R., Nkeng-Efouet P.A., Lenta B.N., Devkota K.P., Neumann B., Stammler H.G., Kimbu S.F., Sewald N. (2009). Antibacterial endiandric acid derivatives from *Beilschmiedia anacardioides*. *Phytochemistry* **70** (5): 684-688.

Claridge T.D.W. (1999). *High-Resolution NMR techniques in organic chemistry*. Tetrahedron organic chemistry series (Volume 19). Elsevier: Oxford. 381 pp.

Corticchiato M., Casanova J. (1992). Analyse des mélanges complexes par RMN du Carbone-13 : Application aux HE. *Analusis* **20**: 51-58.

Cravo L., Périneau F., Delmas M., Bessiere J.M. (1992). Volatiles of the fruit of *Dacryodes buettneri* H. J. Lam and *D. igaganga* Aubrev. et Pellegr. (Burseraceae). *Journal of Essential Oil Research* **4** (1): 95-96.

Cseke L.J. and Kaufman P.B. (1999). How and why these compounds are synthesized by plants. *In*: P.B. Kaufman, L.J. Cseke, S. Warber, J.A. Duke et H.L. Brielmann (eds.). *Natural Products from Plants*. CRC Press, Boca Raton, FL. p. 37-90.

Da Silva J.A.T. (2004). Mining the essential oils of the *Anthemideae*. *African Journal of Biotechnology* **3**(12): 706-720.

Dai D.N., Hoi T.M., Thang T.D., Dung N.X. (2010). Chemical constituents of essential oil from *Artabotrys vinhensis* of Vietnam. *Journal of Science and Technology Vietnam* **48** (12): 946-950.

Decouzon M., Geribaldi S., Rouillard M., Sturla J.M. (1990). A new look at the spectroscopic properties of dihydrocarveol stereoisomers. *Flavour and Fagrance Journal* **5**: 147-152.

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.

Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J.C. (1990). *Cahiers de phytothérapie clinique. Examens de laboratoires galéniques. Eléments thérapeutiques synergiques*. 2ème édition, Ed. Masson. Paris. 87 pp.

Duval L. (2012). *Les Huiles Essentielles à l'officine*. Thèse de doctorat. Université de Rouen, France. 153 pp.

Edris A.E. (**2007**). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytotherapy Research* **21**: 308-323.

Eggers M.D., Sinnwell V., Stahl-Biskup E. (1999). (–)-Spirolepechinene, a spirosesquiterpene from *Lepechinia bullata* (Lamiaceae). *Phytochemistry* **51**: 987-990.

El Haib A. (2011). *Valorisation des terpènes naturels issus de plantes Marocaines par transformations catalytiques*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, France. 158 pp.

Eloumi-Ropivia J., Beliveau J., Simon D.Z. (1985). Isolation of new alkaloïd from *Artabotrys lastourvillensis*. *Journal of Natural Products* **48**: 460-462.

Fäldt J., Jonsell M., Nordlander G., Borg-Karlson A.K. (1999). Volatiles of bracket fungi *Fomitopsis pinicola* and *Fomes fomentarius* and their functions as insect attractants. *Journal of Chemical Ecology* **25** (3): 567-590.

Fleisher T.C., Waigh R.D., Waterman P.G. (1997). Pogostol O-Methyl Ether and Artabotrol: Two Novel Sesquiterpenes from the Stem Bark of *Artabotrys stenopetalus*. *Journal of Natural Products* **60**: 1054-1056.

Focho D.A., Egbe E.A., Chuyong G.B., Fongod A.G.N., Fonge B.A., Ndam W.T., Youssoufa B.M. (2010). An ethnobotanical investigation of the Annonaceae on Mount Cameroon. *Journal of Medicinal Plants Research* **4** (20): 2148-2158.

Formácek V., Kubeczka K.-H. (1982a). *Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy*. John Wiley: Chichester. 373 pp.

Formácek V., Kubeczka K.-H. (1982b). ^{13}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. p. 177-181.

Formácek V., Kubeczka K.-H. (2002). *Essential oils analysis by capillary gaz chromatography and ^{13}C NMR spectroscopy*. 2nd edition. New-York. John Wiley and Sons. Inc. 461 pp.

Fournier G., Hadjiakhoondi A., Roblot F., Leboeuf M., Cavé A. (1997). Essential oils of Annonaceae. Part VI. Volatile constituents of the essential oils from five *Artabotrys* species. *Journal of Essential Oil Research* **9**: 145-149.

Garg S.C., Siddiqui N. (1999). Chemical composition of the essential oil of *Artabotrys odoratissimus*. *Indian Journal of Chemistry* **38B**: 1229-1230.

George P., Arekar C., Subhashini D. (2011). Biodiversity survey of trees and ornamental plants in Karunya University, Coimbatore, India. *International Journal of Biodiversity and Conservation* **3** (9): 431-443.

Günther H. (1994). *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*. Elsevier Masson: Paris. 557 pp.

Hasan C.M., Shahnaz S., Muhammad I. (1987). Chemistry in the annonaceae, XXIII. 24-Methylene-lanosta-7,9(11)-dien-3β-ol from *Artabotrys odoratissimus* stem bark. *Journal of Natural Products* **50**: 762-763.

Hedberg I., Hedberg O., Madati P.J., Mshigeni K.E., Mshiu E.N., Samuelsson G. (1982). Inventory of plants used in traditional medicine in Tanzania. I. Plants of the families *Acanthaceae-Cucurbitaceae*. *Journal of Ethnopharmacology* **6** (1): 29-60.

Hesse M., Meier H., Zeeh B. (2008). *Spectroscopic methods in organic chemistry* (2nd Ed.). Thieme: New-York. 453 pp.

Hout S., Chea A., Bun S.S., Elias R., Gasquet M., Timon-David P., Balansard G., Azas N. (2006). Screening of selected indigenous plants of Cambodia for antiplasmodial activity. *Journal of Ethnopharmacology* **107** (1): 12-18.

Hsieh T.J., Chen C.Y., Kuo R.Y., Chang F.R., Wu Y.C. (1999). Two new alkaloids from *Artabotrys uncinatus*. *Journal of Natural Products* **62**: 1992-1193.

Hsieh T.J., Chang F.R., Chia Y.C., Chen C.Y., Lin H.C., Chiu H.F., Wu C. (2001). The alkaloids of *Artabotrys uncinatus*. *Journal of Natural Products* **64**: 1157-1161.

Huang Y.T., Chang H.S., Wang G.J., Cheng M.J., Chen C.H., Yang Y.J., Chen I.S. (2011). Anti-inflammatory endiandric acid analogues from the roots of *Beilschmiedia tsangii*. *Journal of Natural Products* **74**: 1875-1880.

Hung N.H., Dai D.N., Dung D.M., Giang T.T.B., Thang T.D., Ogunwande I.A. (2014). Chemical composition of essential oils of *Artabotrys petelotii* Merr., *Artabotrys intermedius* Hassk., and *Artabotrys harmandii* Finet & Gagnep. (Annonaceae) from Vietnam. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **17** (6): 1105-1111.

Jirovetz L., Buchbauer G., Puschmann C., Fleischhacker W. (1998). Analysis of the essential oils of *Artabotrys odoratissimus* fruits and leaves from South-India. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **1**: 2-3.

Jirovetz L., Buchbauer G., Ngassoum M.B., Parmentier M. (2005). Chemical composition and olfactory characterization of essential oils of fruits and seeds of African pear (*Dacryodes edulis* (G. Don) H. J. Lam) from Cameroon. *Flavour and Fragrance Journal* **20**: 215-218.

Johns S.R., Lamberton J.A., Sioumis A.A., Tweeddale H.J. (1969). New aporphine alkaloids from *Beilschmiedia podagrica*. *Australian Journal of Chemistry* **22** (6): 1277-1281.

Joulain D. (1994). Methods for analyzing essential oils. Modern analysis methodologies: use and abuse. *Perfurmer & Flavorist* **19**: 5-17.

Joulain D., König W.A. (1998). *The atlas of spectra data of sesquiterpene hydrocarbons*. E.B.-Verlag Hamburg. 661 pp.

Jukié M., Milos M. (**2005**). Catalytic oxidation and antioxidant properties of Thyme essential oils (*Thymus vulgarae* L.). *Croatica Acta* **78** (1): 105-110.

Kanko C., Koukoua G., N'Guessan Y.T., Lota M.L., Tomi F., Casanova J. (1999). Composition and intraspecific variability of the leaf oil of *Lippia multiflora* Mold. from Ivory Coast. *Journal of Essential Oil Research* **11**: 153-158.

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.

Kehal F. (**2013**). *Utilisation de l'huile essentielle de Citrus limon comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraîche*. Magister en sciences. Université de Constantine 1, Algérie. 124 pp.

König W.A., Hochmult D.H., Joulain D. (2001). Terpenoids and related constituents of essential oils. Library of MassFinder 2.1. Institute of Organic Chemistry: Hamburg.

Koudou J., Edou P., Obame L.C., Bassole I.H., Figueredo G., Agnaniet H., Chalchat J.C., Traore A.S. (2008). Volatile components, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oil of *Dacryodes edulis* G. Don from Gabon. *Journal of Applied Sciences* **8** (19): 3532-3535.

Kováts E. (1965). Gas chromatographic characterisation of organic substances in the retention index system. *Advances in Chromatography* **1**: 229-247.

Krog M., Falcao M.P., Olsen C.S. (2006). *Medicinal plant markets and trade in Maputo, Mozambique*. Forest and Landscape working papers no. 16-2006. Horsholm, Denmark : Danish Centre for Forest, Landscape and Planning, KVL. 39 pp.

Kubeczka KH, Formácek V. (**1984**). Application of direct carbone-13 NMR spectroscopy in the analysis of volatiles. *In : Analysis of volatiles : Methods-applications*. Schreier P. Ed. New York. Walter de Gruyter. p. 219-230.

Lange G., Schultze W. (1988). Differentiation of isopulegol isomers by chemical ionization mass spectrometry. *In : Bioflavour'87*. Schreier P. Ed. Berlin. Walter de Gruyter and Co. p. 115-122.

Lee S.J., Umano K., Shibamoto T. and Lee K.G. (2005). Identification of Volatile Components in Basil (*Ocimum basilicum* L.) and Thyme Leaves (*Thymus vulgaris* L.) and Their Antioxidant Properties. *Food Chemistry* **91** (1): 131-137.

Leitao G.G., Leitao S.G., Vilegas W. (2002). Quick preparative separation of natural naphtopyranones with antioxidant activity by highspeed counter-current chromatography. *Zeitschrift für Naturforschung C* **57** : 1051-1055.

Lenta B.N., Tantangmo F., Devkota K.P., Wansi J.D., Chouna J.R., Soh R.C.F., Neumann B., Stammler H.G., Tsamo E., Sewald N. (2009). Bioactive constituents of the stem bark of *Beilschmiedia zenkeri*. *Journal of Natural Products* **72**: 2130-2134.

Li T.M., Li W.K., Yu J.G. (1997). Flavonoids from *Artabotrys hexapelatus*. *Phytochemistry* **45**: 831-833.

Lima M.d.P., Braga P.A.d.C., Macedo M.L., Silva M.F.d.G.F., Ferreira A.G., Fernandes J.B., Vieira P.C. (2004). Phytochemistry of *Trattinnickia burserifolia*, *T. rhoifolia* and *Dacryodes hopkinsii*: chemosystematic implications. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **15** (3): 385-394.

Linderschmidt R.C., Trylka A.F., Goad M.E., Witschi H.P. (1986). The effects of dietary butylated hydroxytoluene on liver and colon tumor development in mice. *Toxicology* **38**: 151-160.

Lucchesi M.E. (2005). *Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : Conception et application à l'extraction des HE*. Thèse de doctorat. Université de la Reunion. 147 pp.

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. *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research* **40** (6): 839-847.

Mc Lafferty F.W. and 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.

Menut C., Lamaty G., Bessière J.M., Mve-Mba C.E., Affane-Nguema J.P. (1992). Aromatic plants of tropical central Africa. VI. The essential oil of *Artabotrys lastourvillensis* Pell. from Gabon. *Journal of Essential Oil Research* **4**: 305-307.

Missang C.E., Guyot S., Renard C.M.G.C. (2003). Flavonols and anthocyanins of bush butter, *Dacryodes edulis* (G. Don) H.J. Lam, Fruit. Changes in their composition during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 7475-7480.

Mnayer D., Fabiano-Tixier A.S., Petitcolas E., Hamieh T., Nehme N., Ferrant C., Fernandez X., Chemat F. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essentials oils from the *Alliaceae* family. *Molecules* **19**: 20034-20053.

Mollataghi A., Hadi A.H.A., Awang K., Mohamad J., Litaudon M., Mukhtar M.R. (2011). (+)-Kunstlerone, a new antioxidant neolignan from the leaves of *Beilschmiedia kunstleri* Gamble. *Molecules* **16**: 6582-6590.

Mollataghi A., Coudiere E., Hadi A.H.A., Mukhtar M.R., Awang K., Litaudon M., Athar A. (2012a). Anti-acetylcholinesterase, anti-α-glucosidase, anti-leishmanial and anti-fungal activities of chemical constituents of *Beilschmiedia* species. *Fitoterapia* **83**: 298-302.

Mollataghi A., Hadi A.H.A., Cheah S.C. (2012b). (-)-Kunstleramide, a new antioxidant and cytotoxic dienamide from the bark of *Beilschmiedia kunstleri* Gamble. *Molecules* **17**: 4197-4208.

Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal Sciences of Technology* **26** (2): 211-219.

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.

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.

National Institute of Standards and Technology. (**1999)**. PC version 1.7 of *The NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library,* The Perkin Elmer Corporation.

Nakashima K., Imoto M., Sono M., Tori M., Nagashima F., Asakawa Y. (2002). Total synthesis of (-)-(7S,10R)-calamenene and (-)-(7S,10R)-2-hydroxycalamenene by use of a ring-closing metathesis reaction. A comparison of the *cis*- and *trans*-isomers. *Molecules* **7**: 517-527.

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 5-aminosalicylic acid. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **40**: 1268-1272.

Nwokonkwo D.C. (2014). The phytochemical study and antibacterial activities of the seed extract of *Dacryodes edulis* (African Native Pear). *American Journal Of Scientific And Industrial Research* **5** (1): 7-12.

Nyunaï N. (2008). *Beilschmiedia mannii* (Meisn.) Benth. & Hook.f. In: Louppe, D., Oteng-Amoako, A.A. & Brink, M. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. Consulté le 12 août 2016.

Onocha P.A., Ekundayo O., Oyelola O., Laakso I. (1999). Essential oils of *Dacryodes edulis* (G. Don) H. J. Lam (African pear). *Flavour and Fragrance Journal* **14**: 135-139

Ouattara Z.A., Boti J.B., Ahibo C.A., Tomi F., Bighelli A. (2011). *Artabotrys oliganthus* Engl. & Diels from Ivory Coast : Composition of leaf, stem bark and fruit oils. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **14**: 95-100.

Ouattara Z.A. (2012). *Contribution de la RMN ^{13}C à la caractérisation des HE de cinq annonacées acclimatées en Côte d'Ivoire*. Thèse de doctorat. Université de Corse-Pascal Paoli, France – Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire. 236 pp.

Ouattara Z.A., Boti J.B., Ahibo A.C., Tomi F., Casanova J., Bighelli A. (2012). Chemical composition of the leaf oil of *Cleistopholis glauca* Pierre ex Engler & Diels from Côte d'Ivoire. *Journal of Essential Oil Research* **24** (5) : 471-474.

Ouattara Z.A., Boti J.B., Attioua K.B., Ahibo A.C., Casanova J., Tomi F., Bighelli A. (2013a). Chemical variability of *Cleistopholis patens* (Benth.) Engl. et Diels leaf oil from Ivory Coast. *Chemistry and Biodiversity* **10**: 2053-2060.

Ouattara Z.A., Boti J.B., Ahibo A.C., Casanova J., Tomi F., Bighelli A. (2013b). Analysis of *Cleistopholis patens* leaf and trunk bark oils using combined GC-flame ionisation detection, GC-retention index, GC-MS and ^{13}C-NMR. *Phytochemical Analysis* **24**: 574-580.

Ouattara Z.A., Boti J.B., Ahibo A.C., Sutour S., Casanova J., Tomi F., Bighelli A. (**2014**). The key role of 13C NMR analysis in the identification of individual components of *Polyalthia longifolia* leaf oil. *Flavor 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.

Paolini J., Costa J., Bernardini A.F. (2005). Analysis of the essential oil from aerial parts of *Eupatorium cannabinum* subsp. corsicum (L.) by gas chromatography with electron impact and chemical ionisation mass spectrometry. *Journal of chromatography A* **1076**: 170-178.

Pardo de Tavera T.H. (1901). *The Medicinal Plants of the Philippines*. P. Blakiston's Son & Co, Philadelphia. 281 pp.

Paris M. et Hurabielle M. (1981). *Abrégé de matière médicale (pharmacognosie)*. Ed. Masson. Paris. 339 pp.

Parsons I.C., Gray A.I., Lavaud C., Massiot G., Waterman P.G. (1991). Seco ring-a triterpene acids from the resin of *Dacryodes normandii*. *Phytochemistry* **30** (4): 1221-1223.

Phan G.M., Phan S.T., König W.A. (2007). Chemical composition of the flower essential oil of *Artabotrys hexapelatus* (L.f.) Bhandare of Vietnam. *Journal of Essent Oil Research* **19**: 523-524.

Poulose A.J., Croteau R. (1978). Biosynthesis of aromatics monoterpenes-Conversion of γ-terpinene to *p*-cymene and thymol in *Thymus vulgaris* L. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **187**: 307-314.

Prosen H., Koçar D. (2008). Different sample preparation methods combined with LC-MS/MS and LC-UV for determination of some furocoumarin compounds in products containing citruses. *Flavour and Fragrance Journal* **23**: 263–271.

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.

Rapior S., Fons F., Bessiere J.M. (2003). Volatile flavor constituents of *Lepista nebularis* (Clouded clitocybe). *Cryptogamie mycologie* **24** (2): 159-166.

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. et Rouessac A. (2004). *Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes*. 6ème Ed. Dunod : Liège. 303 pp.

Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M. and Bruni R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry* **91** (4): 621-632.

Sagen A.L., Sahpaz S., Mavi S., Hostettmann K. (2003). Isoquinoline alkaloids from *Artabotrys Brachypetalus*. *Biochemical Systematics and Ecology* **31**: 1447-1449.

Salleh W.M.N.H.W., Ahmad F., Yen K.H. (2015). Chemical compositions and biological activities of the essential oils of *Beilschmiedia madang* Blume (Lauraceae). *Archives of Pharmacal Research* **38** (4): 485-493.

Salleh W.M.N.H.W., Ahmad F., Yen K.H., Zulkifli R.M., Chen J.J., Nahar L., Wansi J.D., Sarker S.D. (2016a). Beilschglabrines A and B: Two new bioactive phenanthrene alkaloids from the stem bark of *Beilschmiedia glabra*. *Phytochemistry Letters* **16**: 192-196.

Salleh W.M.N.H.W., Ahmad F., Yen K.H., Zulkifli R.M., Sarker S.D. (2016b). Madangones A and B: Two new neolignans from the stem bark of *Beilschmiedia madang* and their bioactivities. *Phytochemistry Letters* **15**: 168–173

Salleh W.M.N.H.W., Ahmad F., Yen K.H., Zulkifli R.M. (2016c). Chemical composition and biological activities of essential oil of *Beilschmiedia pulverulenta*. *Pharmaceutical Biology* **54** (2): 322-330.

Salleh W.M.N.H.W., Ahmad F., Yen K.H., Zulkifli R.M. (2016d). Comparative study of the essential oils of three *Beilschmiedia* species and their biological activities. *International Journal of Food Science and Technology* **51** : 240-249.

Schultze W., Lange G., Schmaus G. (1992). Isobutane and ammoniac chemical ionization mass spectrometry of sesquiterpene hydrocarbons. *Flavour and Fragrance Journal* **7**: 55-64.

Scora R.W., Scora P.E. (2001). Essential leaf oil of *Persea* subgenus *Eriodaphne* and closely related *Perseoid* genera**.** *Journal of Essential Oil Research* **13**: 37-42.

Setzer W.N., Haber W.A. (2007). Leaf essential oil composition of five species of *Beilschmiedia* from Monteverde, Costa Rica. *Natural Product Communications* **2** (1): 79-83.

Silou T., Loumouamou A.N., Goténi S., Bopoundza C., Makany A.R., Figuérédo G., Chalchat J.C. (2012). Variability of essential oils from the leaves of the safou tree *Dacryodes edulis* (G. Don) H.J. LAM in Congo-Brazzaville. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **15** (1): 108-115.

Singh A.P., Sahai M. (1996). Isolation of flavonol glycosides from the leaves of *Artabotrys odoratissimus*. *Planta Medica* **62** (2): 192.

Somanawat J., Talangsri N., Deepolngam S., Kaewamatawong R. (2012). Flavonoid and megastigmane glycosides from *Artabotrys hexapetalus* leaves. *Biochemical Systematics and Ecology* **44**: 124-127.

Stefanovits-Banyai E., Tulok M. H. (**2003**). Antioxidant effect various rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) clones. *Acta Biologicals Szegediensis* **47** (1-4): 111-113.

Su Y.C., Ho C.L. (2013). Composition and in-vitro cytotoxic activities of the leaf essential oil of *Beilschmiedia erythrophloia* from Taiwan. *Natural product communications* **8** (1): 143-144.

Talontsi F.M., Lamshöft M., Bauer J.O., Razakarivony A.A., Andriamihaja B., Strohmann C., Spiteller M. (2013). Antibacterial and antiplasmodial constituents of *Beilschmiedia cryptocaryoides*. *Journal of Natural Products* **76**: 97-102.

Tan K.K., Khoo T.J., Rajagopal M., Wiart C. (2015). Antibacterial alkaloids from *Artabotrys crassifolius* Hook.f. & Thomson. *Natural Product Research* **29** (24): 2346-2349.

Thang T.D., Dai D.N., Hoi T.M., Ogunwande I.A. (2013). Chemical compositions of the leaf essential oils of some Annonaceae from Vietnam. *Journal of Essential Oil Research* **25** (2): 85-91.

Thang T.D., Dai D.N., Thanh B.V., Dung D.M., Ogunwande I.A. (2014). Study on the chemical constituents of essential oils of two Annonaceae plants from Vietnam: *Miliusa sinensis* and *Artabotrys taynguyenensis*. *American Journal of Essential Oils and Natural Products* **1** (4): 24-28.

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 Magnatic Resonance Analysis* **1**: 25-34.

Tomi F., Casanova J. (2000). Contribution de la RMN du carbone-13 à l'analyse des HE. *Annales des Falsifications de l'Expertise Chimique et Toxicologique* (France) **93**: 313-330.

Van Den Dool H. and Kratz P.D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of chromatography* **11**: 463-471.

Vernin G., Petitjean M., Poite J.C., Metzger J., Fraisse D., Suon K.N. (1986). Mass spectra and kováts indices databank of volatile aroma compounds, Chap. VII *In : Computer Aids to Chemistry*. G. Vernin and M. Chanon (Eds.). Chichester, England: Ellis Horwood Publisher. p. 294-333.

Vernin G., Boniface C., Metzger J., Guiglione C., Hammound A., Suon K.N., Fraisse D., Parkanyi C. (1988). GC-MS-SPECMA bank analysis of *Juniperus communis* needles and berries. *Phytochemistry* **27** (4): 1061-1064.

Vidal J.E., Martel G., Lewitz S. (1969). XII. Notes ethnobotaniques sur quelques plantes en usage au Cambodge. *In : Bulletin de l'Ecole française d'Exrême-Orient*. Tome 55. Paris : Ecole française d'Exrême-Orient. p. 171-232.

Wichtl M. et Anton R. (1999). *Plantes Thérapeutiques. Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Editions Tec & Doc - Editions médicales internationales. Paris - Cachan. 636 pp.

Wijeratne E.M.K., Gunatilaka A.A.L., Kingston D.G.I., Haltiwanger R.C., Eggleston D.S. (1995). Artabotrine: A Novel bioactive alkaloid from *Artabotrys zeylanicus*. *Tetrahedron* **51**: 7877-7882.

Wijeratne E.M.K., Hatanaka Y., Kikuchi T., Tezuka Y., Gunatilaka A.A.L. (1996). A dioxoaporphine and other alkaloids of two annonaceous plants of Sri Lanka. *Phytochemistry* **42**: 1703-1706.

Williamson M., Neuhaus D. (1989). *The nuclear overhauser effect in structural and conformational analysis*. New York : VCH Publishers. 522 pp.

Wong H.F., Brown G.D. (2002). β-Methoxy-γ-methylene-α,β-unsaturated-γ-butyrolactones from *Artabotrys hexapelatus*. *Phytochemistry* **59**: 99-104.

Wu J., Lu X., Tang W., Kong H., Zhou S., Xu G. (2004). Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectroscopy in the analysis of volatile oil of traditional Chinese medicines. *Journal of Chromatography A* **1034**: 199-205.

Wu J.H., Huang C.Y., Tung Y.T., Chang S.T. (2008). Online RP-HPLC-DPPH screening method for detection of radical-scavenging phytochemicals from flowers of *Acacia confusa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**: 328-332.

Wu Y.C., Chen C.H., Yang T.H., Lu S.T., McPhail D.R., McPhail A.T., Lee K.H. (1989). Cytotoxic aporphines from *Artabotrys uncinatus* and the structure and stereochemistry of artacinatine. *Phytochemistry* **28**: 2191-2195.

Xi F.M., Ma S.G., Liu Y.B., Li L., Yu S.S. (2016). Artaboterpenoids A and B, bisabolene-derived sesquiterpenoids from *Artabotrys hexapetalus*. *Organic Letters* **18** (14): 3374-3377.

Yang P.S., Cheng M.J., Peng. C.F., Chen J.J., Chen I.S. (2009). Endiandric acid analogues from the roots of *Beilschmiedia erythrophloia*. *Journal of Natural Products* **72**: 52-58.

Yapi A.T. (2012). *Contribution de la RMN ^{13}C à l'analyse d'huiles essentielles de cinq espèces du genre Xylopia de Côte d'Ivoire : Caractérisation de nouvelles molécules*. Thèse de doctorat. Université de Corse-Pascal Paoli, France – Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire. 190 pp.

Yapi A.T., Boti J.B., Tonzibo Z.F., Ahibo C.A., Tomi F., Bighelli A. (2012). *Pachypodanthium Staudtii* Engl & Diels from Côte d'Ivoire: Composition of Leaf, Stem Bark and Roots Oils. *European Journal of Scientific Research* **69** (1): 137-142.

Yovo M., Alitonou G.A., Yedomonhan H., Tchobo F., Dedome O., Sessou P., Avlessi F., Menut C., Sohounhloué D. (2016). First report on chemical composition and antimicrobial activity of *Artabotrys velutinus* Scott-Elliot extracts against some clinical strains in Benin. *American Journal of Applied Chemistry* **4** (3): 71-76.

Zhang L., Zhou W.S., Xu X.X. (1988). A new sesquiterpene peroxide (yingzhaosu C) and sesquiterpenol (yingzhaosu D) from *Artabotrys unciatus* (L.) Meer. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* (8): 523-524.

Zhao T. (2014). *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques et médicinales oubliées ou sous-utilisées de Midi-Pyrénées (France) et Chongqing (Chine)*. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse – Université de Toulouse, France. 174 pp.

Zhou Q., Fu Y.H., Li X.B., Chen G.Y., Wu S.Y., Song X.P., Liu Y.P., Han C.R. (2015). Bioactive benzylisoquinoline alkaloids from *Artabotrys hexapetalus*. *Phytochemistry Letters* **11**: 296-300.

WEBOGRAPHIE

http://annonaceae.myspecies.info/sites/annonaceae.myspecies.info/files/IMG_2159-TC80.jpg consulté le 16 septembre 2017.

http://massfinder.com/wiki/Terpenoids Library. Hochmuth D. Terpenoids Library Website.

http://users.skynet.be/sb020785/BI/BI002.htm consulté le 12 avril 2017.

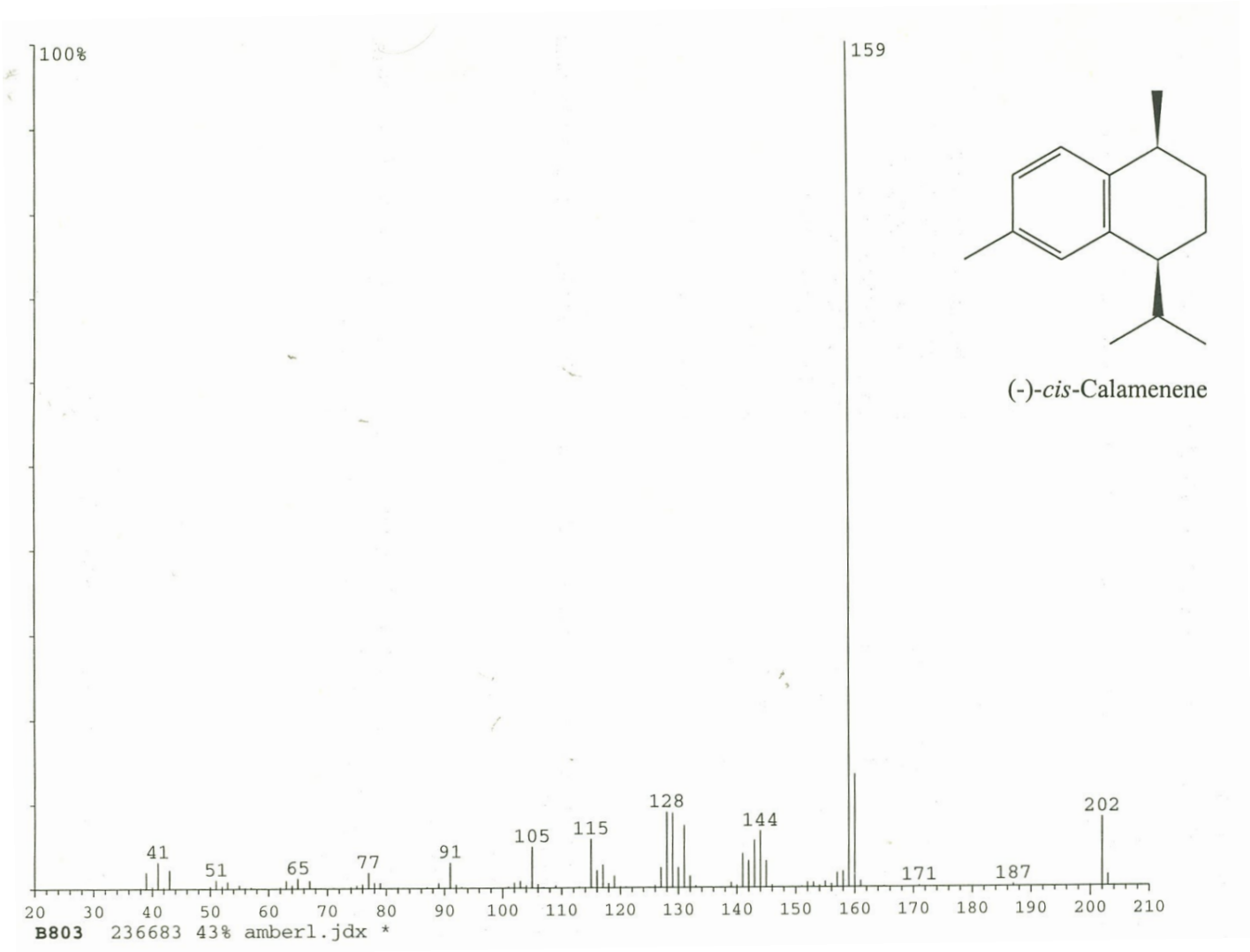
http://www.plantes-botanique.org/espece_artabotrys_insignis consulté le 12 août 2016.

http://www.plantes-botanique.org/espece_artabotrys_jollyanus consulté le 12 aout 2016.

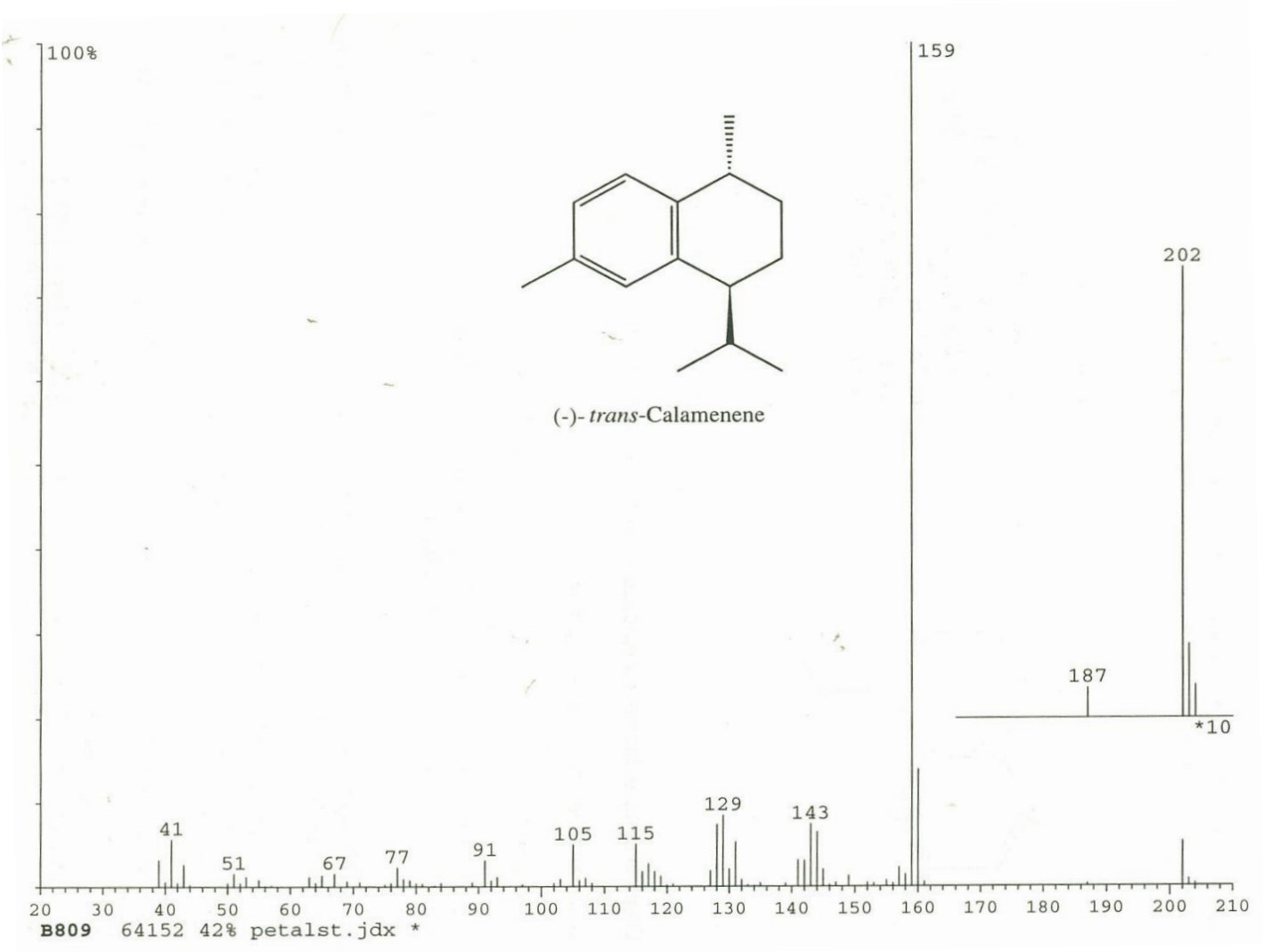
ANNEXES

<u>Annexe 1</u> : Carte de la Côte d'Ivoire avec la zone des différentes récoltes.

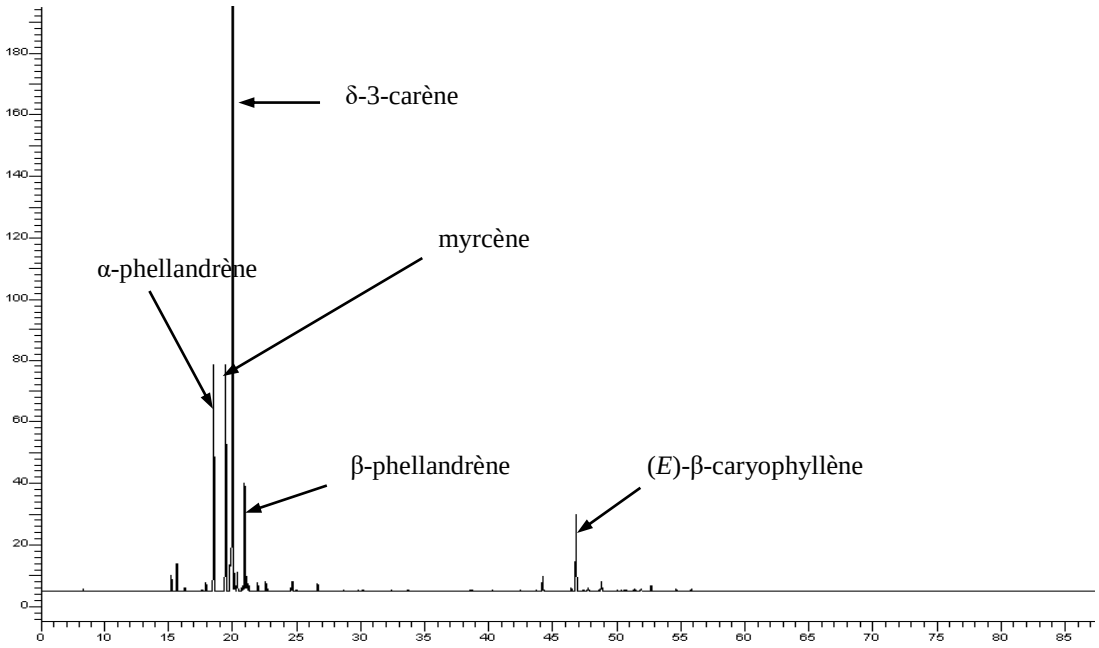
Annexe 2 : Spectre de masse du *cis*-calamenène.



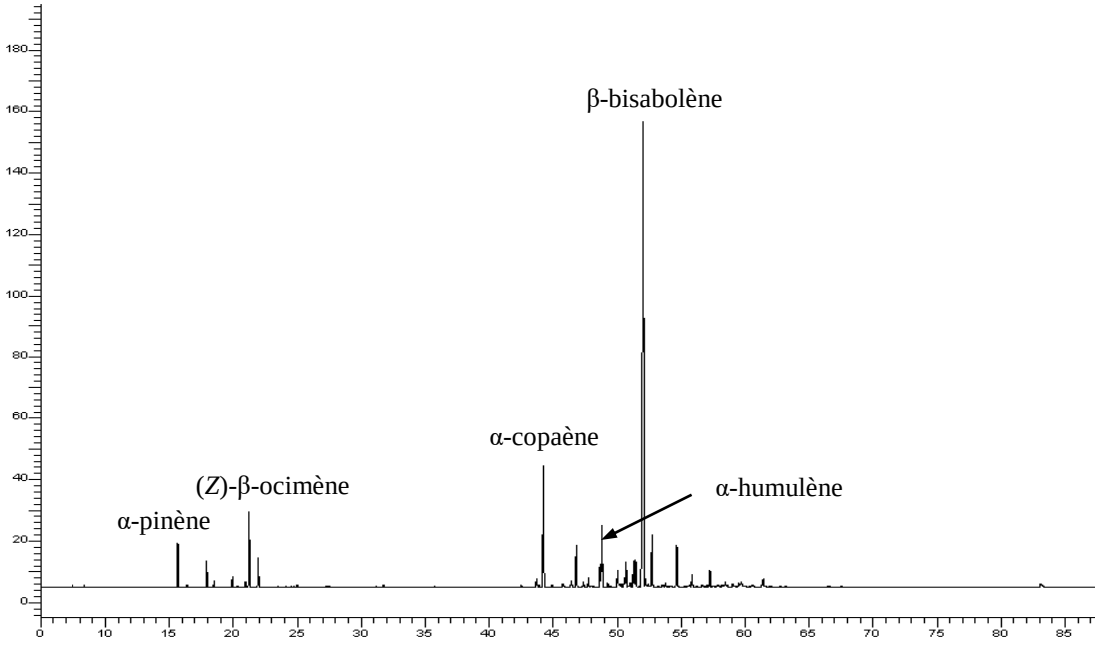
<u>Annexe 3</u> : Spectre de masse du *trans*-calamenène.



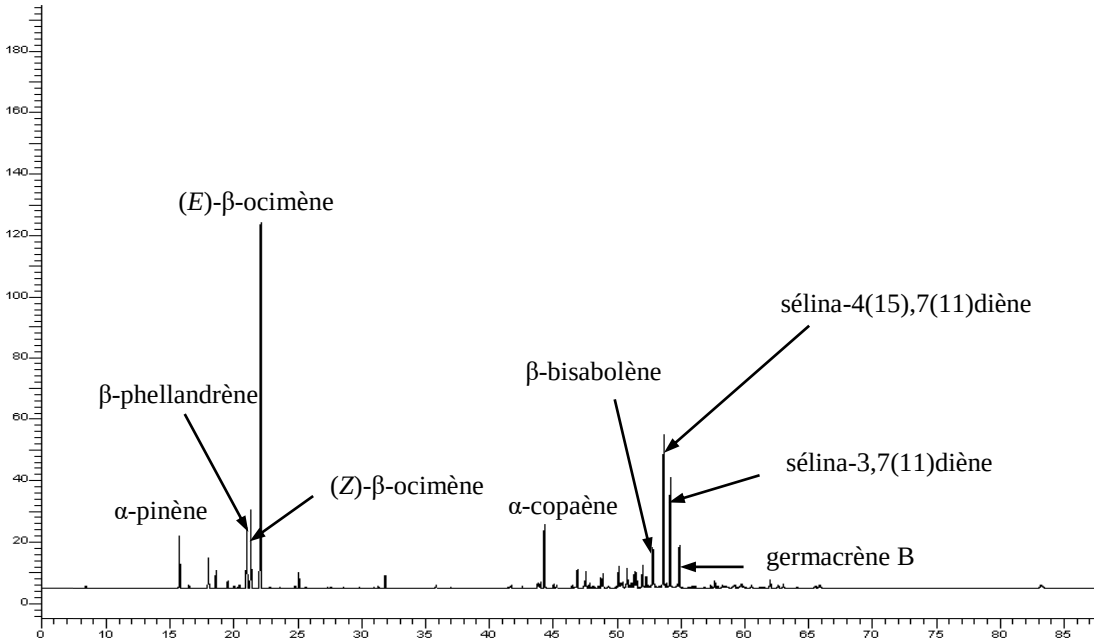
<u>Annexe 4</u> : Chromatogrammes de quelques échantillons d'huile essentielle de feuilles de *Beilschmiedia mannii*.



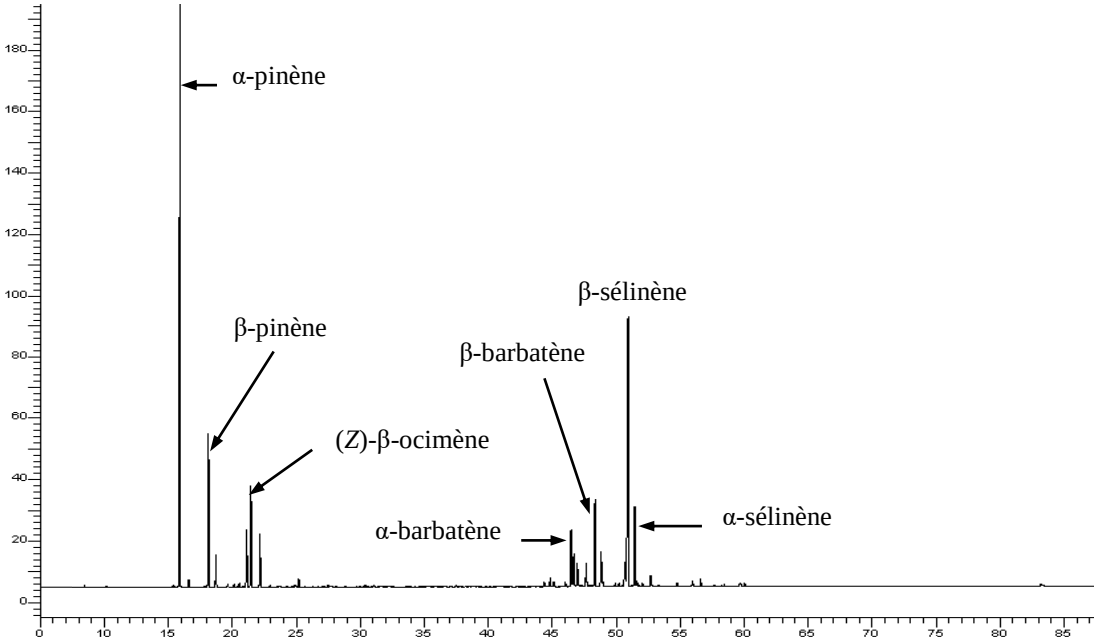
Echantillon n°4



Echantillon n°24



Echantillon n°27



Echantillon n°28

<u>Annexe 5</u> : Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Beilschmiedia mannii*.

	Composés	Ira	Irp	Adiopodoumé			Mo	YA	Anyama-Adjamé				
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	α-Thujène	920	1016	-	-	-	0,7	-	-	-	-	-	-
2	α-Pinène	929	1015	18,0	0,7	2,6	1,2	4,0	5,4	5,3	0,1	12,6	2,6
3	α-Fenchène	941	1054	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Camphène	942	1065	0,3	0,4	0,2	-	1,2	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1
5	Sabinène	964	1121	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
6	β-Pinène	969	1111	4,4	0,6	2,0	0,4	2,2	3,6	1,2	tr	3,6	0,7
7	Myrcène	979	1160	24,7	32,6	37,8	10,6	0,6	0,5	21,0	22,3	51,6	11,3
8	α-Phellandrène	995	1165	-	0,5	1,0	11,4	-	-	-	-	-	-
9	δ-3-Carène	1004	1148	-	0,2	0,3	53,0	-	-	1,1	1,0	0,2	0,9
10	*m*-Cymène	1007	1267	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-
11	α-Terpinène	1008	1181	-	tr	0,1	-	0,1	tr	-	-	tr	-
12	p-Cymène	1010	1272	0,1	0,4	0,6	0,9	0,4	-	0,2	-	0,2	tr
13	Limonène	1019	1201	1,2	1,8	2,2	2,0	1,1	0,9	0,5	0,4	2,3	0,3
14	β-Phellandrène	1019	1211	0,7	6,0	12,6	5,6	-	0,3	0,4	0,1	2,0	0,1
15	1,8-Cinéole	1019	1211	-	-	-	-	2,9	-	-	-	-	-
16	(*Z*)-β-Ocimène	1024	1233	1,2	0,8	4,9	0,4	1,1	4,1	4,5	11,6	0,6	4,5
17	(*E*)-β-Ocimène	1035	1250	0,5	0,4	2,5	0,4	1,0	54,0	19,9	11,2	1,0	35,4
18	γ-Terpinène	1047	1245	tr	0,1	0,2	0,1	0,5	0,1	-	0,1	0,1	-
19	Nonan-2-one	1068	1388	-	0,1	0,2	-	0,3	0,1	0,2	-	-	-
20	Terpinolène	1077	1283	-	0,2	0,3	0,5	0,4	-	-	0,2	-	-
21	Linalol	1082	1545	0,3	0,9	0,3	0,1	0,4	0,1	2,3	0,3	0,4	1,1
22	*allo*-Ocimène	1116	1372	-	-	0,1	-	-	0,1	0,1	0,2	-	0,1
23	Terpinèn-4-ol	1160	1601	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-
24	α-Terpinéol	1170	1696	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	δ-Elémène	1333	1467	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
26	α-Cubébène	1348	1456	0,1	0,2	0,1	-	0,1	0,1	0,1	-	-	-
27	Cyclocopacamphène	1366	1475	-	-	-	-	1,1	-	0,9	-	-	-
28	Cyclosativène	1366	1475	0,4	0,3	0,4	-	-	0,6	-	-	0,1	-
29	α-Ylangène	1369	1476	0,1	0,1	0,1	-	0,3	0,1	0,2	-	-	-
30	α-Copaène	1375	1490	3,9	10,2	2,4	0,8	28,0	3,0	6,2	0,8	0,8	1,0
31	Daucène	1378	1489	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Funébrène	1381	1505	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	β-Elémène	1385	1587	0,3	1,5	0,7	-	0,5	-	-	-	-	1,0
34	Cypérène	1398	1523	0,1	-	-	-	0,4	-	0,7	-	-	-
35	α-Barbatène	1406	1568	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	α-Gurjunène	1408	1525	-	1,3	-	-	6,2	-	-	-	-	-
37	*cis*-α-Bergamotène	1410	1564	-	0,2	0,1	0,2	1,5	4,6	0,6	0,1	-	0,2
38	α-Santalène	1415	1566	-	-	-	0,1	0,5	-	0,2	-	-	0,1
39	(*E*)-β-Caryophyllène	1416	1593	13,5	3,1	11,2	4,4	3,9	11,3	0,9	21,9	0,8	1,0
40	β-Copaène	1424	1587	0,2	0,2	0,2	-	0,5	0,3	-	-	-	-
41	Thujopsène	1426	1614	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	γ-Elémène	1426	1634	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
43	*trans*-α-Bergamotène	1431	1582	0,1	0,2	0,1	0,2	1,9	0,3	1,3	0,2	17,5	26,0
44	α-Guaiène	1433	1587	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Aromadendrène	1435	1602	-	-	-	-	0,7	-	-	-	-	-
46	Sélina-5,11-diène	1438	1610	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	β-Barbatène	1439	1642	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	Sesquisabinène	1445	1654	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
49	(*E*)-β-Farnésène	1445	1664	-	-	-	-	0,3	-	0,9	-	-	1,4
50	α-Humulène	1448	1665	5,8	1,8	1,4	0,5	6,8	-	1,2	7,3	-	0,4
51	*allo*-Aromadendrène	1456	1640	-	0,4	-	-	0,7	-	-	-	-	-
52	Ishwarane	1460	1638	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	Sélina-4,11-diène	1468	1670	1,3	1,7	0,8	-	-	-	-	-	-	-

	Composés	Ira	Irp	Adiopodoumé			Mo	YA	Anyama-Adjamé				
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
54	γ-Muurolène	1468	1681	0,4	0,7	0,1	-	1,8	-	0,6	-	-	0,4
55	*ar*-Curcumène	1468	1767	-	-	-	-	0,4	-	5,4	-	-	-
56	γ-Curcumène	1470	1684	-	-	-	-	-	-	-	2,5	-	-
57	Germacrène D	1474	1704	-	0,1	0,2	-	0,8	-	-	-	-	0,2
58	*trans*-β-Bergamotène	1477	1678	-	-	-	-	0,4	-	0,1	-	-	0,6
59	Aristolochène	1479	1697	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	β-Sélinène	1479	1713	8,2	12,3	4,7	-	1,2	-	1,1	0,2	-	0,5
61	(*Z*),(*E*)-α-Farnésène	1480	1721	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	4-*épi*-Cubébol	1485	1883	-	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-
63	Lédène	1489	1690	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	α-Sélinène	1489	1718	6,5	9,4	3,7	-	1,0	-	0,8	-	-	-
65	Bicyclogermacrène	1489	1728	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	α-Muurolène	1491	1718	0,2	0,2	0,2	0,1	1,6	-	0,6	-	-	-
67	(*Z*)-α-Bisabolène	1491	1721	0,2	0,2	0,1	-	-	-	1,2	-	-	-
68	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1495	1745	-	-	-	-	-	-	0,1	7,2	-	0,1
69	β-Bisabolène	1499	1721	0,7	0,4	0,4	0,1	3,5	-	2,5	-	-	-
70	β-Curcumène	1499	1734	-	-	-	-	0,1	-	1,8	-	-	-
71	γ-Cadinène	1504	1751	0,1	0,2	-	-	0,4	0,1	-	-	-	-
72	*trans*-Calamenène	1509	1829	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
73	7-*épi*-α-Sélinène	1511	1756	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	δ-Cadinène	1513	1751	1,2	3,5	0,8	0,3	7,9	1,1	2,3	-	-	-
75	β-Sesquiphellandrène	1513	1762	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	Sélina-4(15),7(11)-diène	1528	1774	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77	(*E*)-α-Bisabolène	1530	1766	0,1	-	-	-	0,6	-	0,4	0,1	-	1,4
78	β-Elémol	1530	2074	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	Sélina-3,7(11)-diène	1537	1774	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	*trans*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1538	1992	-	-	-	-	-	-	0,2	0,1	-	-
81	(*E*)-Nérolidol	1546	2036	0,8	0,3	0,3	0,1	0,1	1,3	0,4	2,5	0,2	0,4
82	Germacrène B	1549	1822	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
83	Palustrol	1558	1919	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	Spathunénol	1561	2117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	Oxyde de caryophyllène	1567	1976	1,3	0,3	0,8	0,1	0,5	0,5	0,7	1,2	0,1	0,3
86	*cis*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1573	2093	-	-	-	-	-	-	0,2	0,1	-	-
87	Lédol	1591	2020	0,4	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-
88	Oxyde d'humulène II	1591	2031	-	-	-	-	0,8	-	0,6	0,3	-	-
89	*épi*-Cubénol	1612	2055	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90	Intermédéol	1638	2224	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
91	β-Bisabolol	1651	2143	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
92	α-Bisabolol	1664	2206	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
93	*épi*-α-Bisabolol	1666	2209	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
94	(*E*)-Phytol	2097	2605	0,1	-	-	-	2,0	-	0,7	-	-	0,2
	TOTAL			**97,4**	**95,2**	**97,1**	**95,0**	**93,4**	**93,0**	**89,4**	**92,1**	**94,6**	**92,6**

Mo : Montezo ; YA : Yapo abbé

	Composés	Ira	Irp	Anya-Adja		Dzeudji							
				11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	α-Thujène	920	1016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	α-Pinène	929	1015	1,6	13,6	0,3	38,4	0,9	1,0	3,7	2,7	0,8	0,1
3	α-Fenchène	941	1054	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Camphène	942	1065	0,1	0,1	0,2	0,3	tr	0,1	0,1	0,3	tr	0,1
5	Sabinène	964	1121	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
6	β-Pinène	969	1111	1,1	3,5	0,2	8,3	0,7	0,5	0,9	1,4	1,0	tr
7	Myrcène	979	1160	37,4	1,1	8,6	9,2	0,3	0,8	0,3	11,5	24,0	0,3
8	α-Phellandrène	995	1165	-	-	-	0,2	-	0,3	tr	0,2	-	tr
9	δ-3-Carène	1004	1148	tr	tr	0,1	1,3	0,3	2,0	0,3	1,4	0,2	0,1
10	*m*-Cymène	1007	1267	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	α-Terpinène	1008	1181	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	tr
12	p-Cymène	1010	1272	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	0,2	0,1	tr	0,4	tr
13	Limonène	1019	1201	1,7	0,3	0,4	0,5	0,2	0,3	0,1	0,4	1,7	0,1
14	β-Phellandrène	1019	1211	1,0	0,5	0,3	0,6	1,0	0,6	0,1	0,4	0,8	-
15	1,8-Cinéole	1019	1211	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	(*Z*)-β-Ocimène	1024	1233	5,9	3,0	21,5	1,3	4,5	8,4	0,7	19,5	0,8	16,9
17	(*E*)-β-Ocimène	1035	1250	8,8	1,5	15,7	7,5	39,2	4,3	8,0	31,4	0,2	40,9
18	γ-Terpinène	1047	1245	0,1	tr	tr	0,1	0,1	tr	tr	0,1	-	tr
19	Nonan-2-one	1068	1388	-	-	0,2	-	0,3	0,2	0,2	0,1	-	0,1
20	Terpinolène	1077	1283	-	-	-	0,1	-	-	-	0,2	-	-
21	Linalol	1082	1545	0,1	0,3	0,7	0,3	2,5	0,3	0,1	0,4	0,3	0,1
22	*allo*-Ocimène	1116	1372	0,1	0,1	0,5	tr	-	0,2	-	0,4	-	0,4
23	Terpinèn-4-ol	1160	1601	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	α-Terpinéol	1170	1696	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
25	δ-Elémène	1333	1467	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	α-Cubébène	1348	1456	0,1	0,1	-	-	0,2	tr	0,4	0,1	-	0,1
27	Cyclocopacamphène	1366	1475	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Cyclosativène	1366	1475	0,4	0,2	-	-	-	0,1	1,5	0,1	-	0,6
29	α-Ylangène	1369	1476	-	-	-	-	-	-	0,3	0,7	-	0,1
30	α-Copaène	1375	1490	1,8	2,7	0,2	0,5	18,8	3,1	9,9	4,7	0,9	8,0
31	Daucène	1378	1489	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Funébrène	1381	1505	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	β-Elémène	1385	1587	0,1	0,3	-	-	0,2	0,1	-	-	-	-
34	Cypérène	1398	1523	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
35	α-Barbatène	1406	1568	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	α-Gurjunène	1408	1525	0,7	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-
37	*cis*-α-Bergamotène	1410	1564	-	tr	-	-	0,5	0,5	0,2	0,1	0,3	0,1
38	α-Santalène	1415	1566	-	-	-	-	0,2	0,4	0,2	0,3	0,1	-
39	(*E*)-β-Caryophyllène	1416	1593	0,6	1,1	0,5	1,1	2,3	43,0	3,6	1,0	0,4	12,6
40	β-Copaène	1424	1587	0,3	0,1	-	-	-	-	1,0	0,1	-	-
41	Thujopsène	1426	1614	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	γ-Elémène	1426	1634	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-
43	*trans*-α-Bergamotène	1431	1582	19,5	0,1	22,4	0,0	0,6	0,5	0,2	0,4	0,9	0,1
44	α-Guaiène	1433	1587	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Aromadendrène	1435	1602	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	Sélina-5,11-diène	1438	1610	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	β-Barbatène	1439	1642	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	Sesquisabinène	1445	1654	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	(*E*)-β-Farnésène	1445	1664	1,2	7,1	1,3	-	0,6	0,2	43,6	-	45,7	0,3
50	α-Humulène	1448	1665	-	-	-	0,6	0,6	18,8	-	0,3	-	1,7
51	*allo*-Aromadendrène	1456	1640	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-
52	Ishwarane	1460	1638	0,6	20,3	-	15,3	-	0,6	0,2	-	-	-
53	Sélina-4,11-diène	1468	1670	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Composés	Ira	Irp	Anya-Adja		Dzeudji							
				11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
54	γ-Muurolène	1468	1681	0,2	-	-	-	1,6	0,3	0,8	2,5	-	0,7
55	*ar*-Curcumène	1468	1767	0,2	-	-	-	-	0,3	2,1	-	-	0,8
56	γ-Curcumène	1470	1684	-	-	-	-	-	-	1,6	-	-	1,6
57	Germacrène D	1474	1704	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	*trans*-β-Bergamotène	1477	1678	0,4	-	0,6	-	0,2	0,1	-	-	0,1	-
59	Aristolochène	1479	1697	-	2,0	-	1,5	-	-	-	-	-	-
60	β-Sélinène	1479	1713	0,5	19,2	0,1	-	0,5	0,5	1,3	0,2	1,0	0,6
61	(*Z*),(*E*)-α-Farnésène	1480	1721	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	4-*épi*-Cubébol	1485	1883	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	Lédène	1489	1690	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	α-Sélinène	1489	1718	0,4	5,1	-	0,8	0,4	0,4	1,0	-	0,5	0,4
65	Bicyclogermacrène	1489	1728	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	α-Muurolène	1491	1718	-	-	-	-	0,9	0,2	1,2	1,0	-	0,6
67	(*Z*)-α-Bisabolène	1491	1721	-	-	-	-	0,5	0,3	0,4	0,5	-	0,2
68	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1495	1745	8,0	-	20,5	-	1,3	0,1	0,1	0,2	-	tr
69	β-Bisabolène	1499	1721	1,1	-	1,1	-	1,6	0,8	2,4	3,4	2,3	0,2
70	β-Curcumène	1499	1734	-	-	-	-	-	-	1,4	-	-	1,3
71	γ-Cadinène	1504	1751	-	0,1	-	-	0,5	0,1	-	1,4	0,6	0,2
72	*trans*-Calamenène	1509	1829	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
73	7-*épi*-α-Sélinène	1511	1756	-	1,4	-	0,6	-	-	-	-	-	-
74	δ-Cadinène	1513	1751	0,8	0,7	-	0,2	6,6	1,2	3,9	4,8	0,6	3,2
75	β-Sesquiphellandrène	1513	1762	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	Sélina-4(15),7(11)-diène	1528	1774	-	-	-	-	-	-	-	-	2,2	-
77	(*E*)-α-Bisabolène	1530	1766	-	-	-	-	0,3	0,2	-	0,7	0,2	-
78	β-Elémol	1530	2074	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-
79	Sélina-3,7(11)-diène	1537	1774	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	-
80	*trans*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1538	1992	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
81	(*E*)-Nérolidol	1546	2036	0,4	-	-	-	0,3	0,2	0,9	0,2	0,9	0,2
82	Germacrène B	1549	1822	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-
83	Palustrol	1558	1919	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	Spathunénol	1561	2117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	Oxyde de caryophyllène	1567	1976	-	0,2	-	0,1	0,9	3,1	0,6	0,1	0,4	1,7
86	*cis*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1573	2093	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
87	Lédol	1591	2020	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
88	Oxyde d'humulène II	1591	2031	-	0,1	-	-	0,3	1,1	-	-	-	0,2
89	*épi*-Cubénol	1612	2055	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90	Intermédéol	1638	2224	-	0,8	-	0,6	-	-	-	-	-	-
91	β-Bisabolol	1651	2143	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
92	α-Bisabolol	1664	2206	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
93	*épi*-α-Bisabolol	1666	2209	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
94	(*E*)-Phytol	2097	2605	-	-	0,2	-	-	-	-	-	0,7	-
	TOTAL			**95,5**	**85,8**	**95,5**	**89,6**	**90,5**	**95,8**	**93,4**	**93,2**	**90,0**	**95,0**

Anya-Adja : Anyama-Adjamé

	Composés	Ira	Irp	Dzeudji		Kodioussou			Kongofon				
				21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	α-Thujène	920	1016	-	-	0,7	-	0,6	0,6	-	-	-	-
2	α-Pinène	929	1015	0,5	0,4	0,6	2,3	0,5	0,6	3,0	31,0	30,4	2,9
3	α-Fenchène	941	1054	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-	-	-
4	Camphène	942	1065	tr	0,2	-	0,1	-	-	0,2	0,3	0,3	0,1
5	Sabinène	964	1121	-	-	0,2	-	0,2	tr	-	-	-	-
6	β-Pinène	969	1111	0,7	0,2	0,1	1,5	0,1	0,1	1,8	7,2	7,2	1,2
7	Myrcène	979	1160	25,5	8,2	7,9	0,3	7,2	7,8	1,0	1,5	13,7	1,3
8	α-Phellandrène	995	1165	-	-	11,1	tr	9,6	11,6	0,5	0,1	-	-
9	δ-3-Carène	1004	1148	0,1	-	51,8	0,6	50,7	52,2	0,1	0,1	0,7	0,2
10	*m*-Cymène	1007	1267	-	-	0,6	-	0,8	0,7	-	-	-	-
11	α-Terpinène	1008	1181	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
12	p-Cymène	1010	1272	0,1	-	0,6	-	0,9	0,7	0,2	0,2	-	0,1
13	Limonène	1019	1201	1,4	0,5	-	-	0,3	1,8	0,6	1,5	0,5	-
14	β-Phellandrène	1019	1211	0,9	0,2	1,9	0,4	1,8	4,8	3,7	0,1	0,6	-
15	1,8-Cinéole	1019	1211	-	-	4,7	-	4,6	-	-	-	-	-
16	(*Z*)-β-Ocimène	1024	1233	4,1	21,4	0,7	4,3	0,6	0,2	4,7	4,8	15,6	1,4
17	(*E*)-β-Ocimène	1035	1250	1,9	15,2	0,6	1,7	0,5	0,4	25,6	2,5	7,2	4,6
18	γ-Terpinène	1047	1245	0,1	-	0,1	-	0,4	0,1	tr	0,1	0,1	-
19	Nonan-2-one	1068	1388	tr	0,3	-	tr	-	-	-	tr	-	-
20	Terpinolène	1077	1283	-	-	0,5	-	0,5	0,5	-	-	-	-
21	Linalol	1082	1545	0,1	0,7	0,1	0,1	-	0,2	1,0	0,4	0,7	0,3
22	*allo*-Ocimène	1116	1372	0,1	0,4	-	-	-	-	0,1	0,1	0,3	-
23	Terpinèn-4-ol	1160	1601	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
24	α-Terpinéol	1170	1696	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	δ-Elémène	1333	1467	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	0,2
26	α-Cubébène	1348	1456	0,1	-	-	0,2	-	-	0,1	-	0,1	0,3
27	Cyclocopacamphène	1366	1475	-	-	-	0,6	-	-	0,5	-	0,1	1,3
28	Cyclosativène	1366	1475	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	α-Ylangène	1369	1476	0,1	-	-	0,2	-	-	0,5	-	0,2	0,3
30	α-Copaène	1375	1490	4,0	0,1	0,1	8,4	0,2	0,3	4,6	0,3	1,7	10,2
31	Daucène	1378	1489	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Funébrène	1381	1505	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-
33	β-Elémène	1385	1587	0,1	-	0,5	-	0,3	0,1	0,3	-	0,3	1,1
34	Cypérène	1398	1523	-	-	-	0,3	-	-	-	-	0,1	-
35	α-Barbatène	1406	1568	-	-	-	-	-	-	-	3,4	-	-
36	α-Gurjunène	1408	1525	0,5	-	-	-	-	0,3	-	-	-	1,1
37	*cis*-α-Bergamotène	1410	1564	-	-	-	0,5	-	-	0,3	-	-	0,4
38	α-Santalène	1415	1566	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-
39	(*E*)-β-Caryophyllène	1416	1593	0,8	0,3	3,9	2,9	4,0	0,2	1,4	1,4	1,1	20,3
40	β-Copaène	1424	1587	0,2	-	-	-	-	-	0,2	-	-	0,7
41	Thujopsène	1426	1614	-	-	-	-	-	-	-	1,4	-	-
42	γ-Elémène	1426	1634	-	-	-	-	0,9	-	-	-	1,0	-
43	*trans*-α-Bergamotène	1431	1582	0,2	22,6	-	0,6	-	-	0,3	-	0,1	0,6
44	α-Guaiène	1433	1587	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Aromadendrène	1435	1602	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-
46	Sélina-5,11-diène	1438	1610	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	β-Barbatène	1439	1642	-	-	-	-	-	-	-	5,2	-	-
48	Sesquisabinène	1445	1654	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	(*E*)-β-Farnésène	1445	1664	0,1	1,3	-	1,5	-	-	0,7	2,2	-	0,5
50	α-Humulène	1448	1665	0,2	-	0,5	4,4	0,6	-	1,1	-	-	10,1
51	*allo*-Aromadendrène	1456	1640	-	-	-	0,3	-	-	0,1	-	-	0,2
52	Ishwarane	1460	1638	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
53	Sélina-4,11-diène	1468	1670	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Composés	Ira	Irp	Dzeudji		Kodioussou			Kongofon				
				21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
54	γ-Muurolène	1468	1681	-	-	-	1,3	-	-	1,6	-	1,2	1,4
55	*ar*-Curcumène	1468	1767	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,9
56	γ-Curcumène	1470	1684	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0
57	Germacrène D	1474	1704	-	-	1,8	-	0,6	-	0,5	-	-	0,2
58	*trans*-β-Bergamotène	1477	1678	-	0,6	-	0,7	-	-	-	-	-	0,2
59	Aristolochène	1479	1697	-	-	-	1,8	-	-	-	-	-	-
60	β-Sélinène	1479	1713	37,1	-	-	-	-	7,5	1,5	18,7	0,7	1,7
61	(*Z*),(*E*)-α-Farnésène	1480	1721	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
62	4-*épi*-Cubébol	1485	1883	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	Lédène	1489	1690	-	-	-	1,9	-	-	-	-	-	-
64	α-Sélinène	1489	1718	9,9	-	-	-	-	2,0	1,2	4,7	0,5	1,1
65	Bicyclogermacrène	1489	1728	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-
66	α-Muurolène	1491	1718	-	-	-	1,5	-	-	0,5	-	-	1,6
67	(*Z*)-α-Bisabolène	1491	1721	-	0,1	-	-	-	-	0,3	-	-	-
68	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1495	1745	0,2	20,6	-	-	-	-	0,1	-	-	0,1
69	β-Bisabolène	1499	1721	-	1,2	-	44,1	-	-	1,8	-	0,7	1,2
70	β-Curcumène	1499	1734	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6
71	γ-Cadinène	1504	1751	0,1	-	-	0,7	-	-	0,8	0,1	0,6	0,7
72	*trans*-Calamenène	1509	1829	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	0,3
73	7-*épi*-α-Sélinène	1511	1756	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	δ-Cadinène	1513	1751	1,4	-	-	3,3	-	0,1	3,3	-	1,5	3,6
75	β-Sesquiphellandrène	1513	1762	-	-	-	0,2	-	-	-	-	0,3	-
76	Sélina-4(15),7(11)-diène	1528	1774	-	-	-	-	-	-	11,7	-	2,7	1,2
77	(*E*)-α-Bisabolène	1530	1766	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
78	β-Elémol	1530	2074	-	-	3,3	-	4,3	-	-	-	-	-
79	Sélina-3,7(11)-diène	1537	1774	-	-	-	-	-	-	8,3	-	1,7	0,7
80	*trans*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1538	1992	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3
81	(*E*)-Nérolidol	1546	2036	0,3	0,3	-	2,8	0,2	0,2	0,3	0,2	0,4	3,2
82	Germacrène B	1549	1822	-	-	-	-	2,3	-	4,5	-	2,2	0,4
83	Palustrol	1558	1919	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	Spathunénol	1561	2117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	Oxyde de caryophyllène	1567	1976	0,2	-	-	0,8	-	-	0,2	0,4	-	4,6
86	*cis*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1573	2093	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
87	Lédol	1591	2020	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
88	Oxyde d'humulène II	1591	2031	-	-	-	1,2	-	-	-	-	-	1,8
89	*épi*-Cubénol	1612	2055	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90	Intermédéol	1638	2224	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
91	β-Bisabolol	1651	2143	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
92	α-Bisabolol	1664	2206	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
93	*épi*-α-Bisabolol	1666	2209	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
94	(*E*)-Phytol	2097	2605	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	0,5
	TOTAL			**91,2**	**95,4**	**92,2**	**92,8**	**93,0**	**93,5**	**89,9**	**88,5**	**94,8**	**91,5**

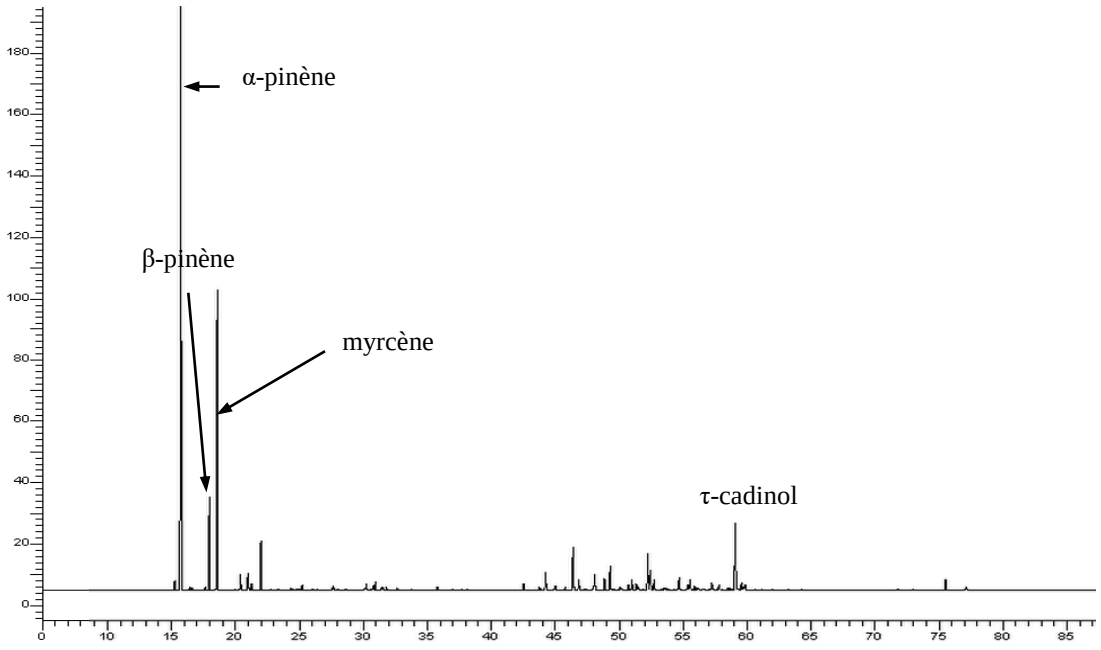
	Composés	Ira	Irp	Kongofon							Yakassémé		
				31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
1	α-Thujène	920	1016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	α-Pinène	929	1015	0,4	7,0	1,0	26,0	1,8	0,9	0,8	12,7	5,9	18,0
3	α-Fenchène	941	1054	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr	-
4	Camphène	942	1065	0,2	0,2	0,1	0,3	tr	0,2	0,3	0,1	0,2	0,5
5	Sabinène	964	1121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	β-Pinène	969	1111	0,2	6,7	0,6	4,8	1,3	0,7	0,5	3,1	7,5	3,7
7	Myrcène	979	1160	6,8	7,1	1,1	1,6	15,2	0,3	0,3	0,6	0,7	0,9
8	α-Phellandrène	995	1165	-	-	0,4	0,3	tr	-	-	tr	0,2	0,1
9	δ-3-Carène	1004	1148	-	-	0,2	0,2	0,7	-	-	0,3	1,1	0,5
10	*m*-Cymène	1007	1267	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	α-Terpinène	1008	1181	-	-	tr	-	-	-	tr	tr	tr	-
12	p-Cymène	1010	1272	-	0,6	0,4	0,4	tr	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
13	Limonène	1019	1201	0,4	1,1	0,5	0,7	0,3	0,3	0,2	0,3	0,6	0,5
14	β-Phellandrène	1019	1211	0,2	-	5,2	4,2	0,3	1,8	0,9	0,5	0,4	0,9
15	1,8-Cinéole	1019	1211	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-	-
16	(*Z*)-β-Ocimène	1024	1233	3,5	0,2	1,2	2,6	3,0	4,5	6,8	3,6	2,7	7,6
17	(*E*)-β-Ocimène	1035	1250	32,9	-	12,0	31,5	29,7	8,4	3,5	18,7	28,9	28,2
18	γ-Terpinène	1047	1245	-	-	0,1	0,1	tr	tr	0,1	0,1	0,1	0,1
19	Nonan-2-one	1068	1388	0,2	0,2	-	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	0,3
20	Terpinolène	1077	1283	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Linalol	1082	1545	0,9	0,3	-	0,2	0,6	2,1	0,8	0,1	0,6	0,1
22	*allo*-Ocimène	1116	1372	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
23	Terpinèn-4-ol	1160	1601	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	α-Terpinéol	1170	1696	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1
25	δ-Elémène	1333	1467	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	α-Cubébène	1348	1456	0,1	0,3	0,2	-	0,1	0,2	-	0,1	0,2	0,1
27	Cyclocopacamphène	1366	1475	-	4,3	1,3	0,3	1,1	2,2	0,4	-	-	-
28	Cyclosativène	1366	1475	-	-	-	-	-	-	-	0,4	1,0	1,0
29	α-Ylangène	1369	1476	0,3	0,7	0,3	0,1	0,2	0,4	0,1	0,1	0,2	0,2
30	α-Copaène	1375	1490	0,6	20,9	5,6	7,9	6,5	16,0	6,5	2,1	5,1	14,5
31	Daucène	1378	1489	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Funébrène	1381	1505	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	β-Elémène	1385	1587	tr	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	tr	0,2	0,4	tr
34	Cypérène	1398	1523	-	0,5	0,2	0,1	-	-	0,1	-	0,2	-
35	α-Barbatène	1406	1568	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	α-Gurjunène	1408	1525	0,9	-	-	1,2	-	10,8	1,0	-	-	-
37	*cis*-α-Bergamotène	1410	1564	-	0,7	0,6	0,5	0,1	0,4	0,3	0,1	0,1	0,4
38	α-Santalène	1415	1566	0,3	0,5	0,2	0,2	0,1	0,2	-	0,2	0,1	0,4
39	(*E*)-β-Caryophyllène	1416	1593	0,5	1,6	28,6	0,9	16,0	5,9	25,1	1,3	10,9	1,3
40	β-Copaène	1424	1587	0,3	1,5	0,7	0,1	0,4	1,1	0,2	0,2	0,6	-
41	Thujopsène	1426	1614	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	γ-Elémène	1426	1634	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	*trans*-α-Bergamotène	1431	1582	28,4	1,3	0,9	0,6	0,3	0,8	0,4	0,1	0,2	0,5
44	α-Guaiène	1433	1587	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Aromadendrène	1435	1602	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-
46	Sélina-5,11-diène	1438	1610	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	β-Barbatène	1439	1642	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	Sesquisabinène	1445	1654	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	(*E*)-β-Farnésène	1445	1664	1,7	-	-	0,2	-	0,3	1,2	-	-	-
50	α-Humulène	1448	1665	0,5	1,0	12,4	0,4	4,8	0,9	3,5	0,4	-	-
51	*allo*-Aromadendrène	1456	1640	-	0,3	-	0,2	-	0,6	0,2	-	-	-
52	Ishwarane	1460	1638	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	Sélina-4,11-diène	1468	1670	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Composés	Ira	Irp	Kongofon							Yakassémé		
				31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
54	γ-Muurolène	1468	1681	2,4	2,4	0,8	0,7	0,5	1,5	0,6	-	-	1,0
55	*ar*-Curcumène	1468	1767	-	-	-	-	-	0,2	1,6	-	-	-
56	γ-Curcumène	1470	1684	-	-	-	-	-	-	1,1	-	-	-
57	Germacrène D	1474	1704	0,6	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
58	*trans*-β-Bergamotène	1477	1678	0,8	0,2	0,3	0,2	-	-	0,4	-	-	-
59	Aristolochène	1479	1697	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	β-Sélinène	1479	1713	-	4,7	1,2	0,4	1,6	1,5	0,3	32,9	9,2	1,7
61	(*Z*),(*E*)-α-Farnésène	1480	1721	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	4-*épi*-Cubébol	1485	1883	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	Lédène	1489	1690	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	α-Sélinène	1489	1718	-	3,5	1,0	0,3	1,3	1,5	0,4	10,6	6,9	0,9
65	Bicyclogermacrène	1489	1728	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	α-Muurolène	1491	1718	1,0	2,6	0,7	-	0,8	1,9	0,6	-	-	-
67	(*Z*)-α-Bisabolène	1491	1721	-	0,4	0,3	-	0,7	1,1	0,8	-	-	-
68	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1495	1745	-	-	tr	-	0,1	0,1	tr	-	-	-
69	β-Bisabolène	1499	1721	2,1	4,9	2,0	-	1,3	4,8	27,8	-	0,5	2,2
70	β-Curcumène	1499	1734	-	-	-	-	-	-	1,1	-	-	-
71	γ-Cadinène	1504	1751	1,0	0,7	0,4	0,2	0,2	0,6	0,1	0,2	0,2	-
72	*trans*-Calamenène	1509	1829	-	0,9	0,2	-	0,1	0,9	-	-	-	-
73	7-*épi*-α-Sélinène	1511	1756	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	δ-Cadinène	1513	1751	3,6	1,8	2,2	2,7	2,0	6,5	2,7	0,8	2,1	4,3
75	β-Sesquiphellandrène	1513	1762	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
76	Sélina-4(15),7(11)-diène	1528	1774	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77	(*E*)-α-Bisabolène	1530	1766	-	-	0,3	-	0,2	0,7	0,2	-	-	-
78	β-Elémol	1530	2074	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
79	Sélina-3,7(11)-diène	1537	1774	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	*trans*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1538	1992	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-
81	(*E*)-Nérolidol	1546	2036	0,5	1,0	0,2	0,1	0,1	0,3	0,3	0,2	0,4	0,3
82	Germacrène B	1549	1822	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
83	Palustrol	1558	1919	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-
84	Spathunénol	1561	2117	-	0,2	-	-	-	0,2	-	-	-	-
85	Oxyde de caryophyllène	1567	1976	-	2,7	5,5	0,5	2,4	2,3	3,1	0,3	2,1	0,4
86	*cis*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1573	2093	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-
87	Lédol	1591	2020	-	-	-	-	-	1,4	0,1	-	-	-
88	Oxyde d'humulène II	1591	2031	-	1,2	2,0	-	0,7	0,3	0,3	-	0,2	-
89	*épi*-Cubénol	1612	2055	-	0,7	-	0,1	-	0,8	-	-	-	-
90	Intermédéol	1638	2224	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	-
91	β-Bisabolol	1651	2143	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-
92	α-Bisabolol	1664	2206	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-
93	*épi*-α-Bisabolol	1666	2209	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-
94	(*E*)-Phytol	2097	2605	-	1,3	1,2	1,0	-	2,1	0,8	0,5	0,7	0,4
	TOTAL			**91,3**	**87,5**	**92,0**	**92,1**	**95,6**	**89,6**	**96,7**	**91,0**	**91,4**	**91,3**

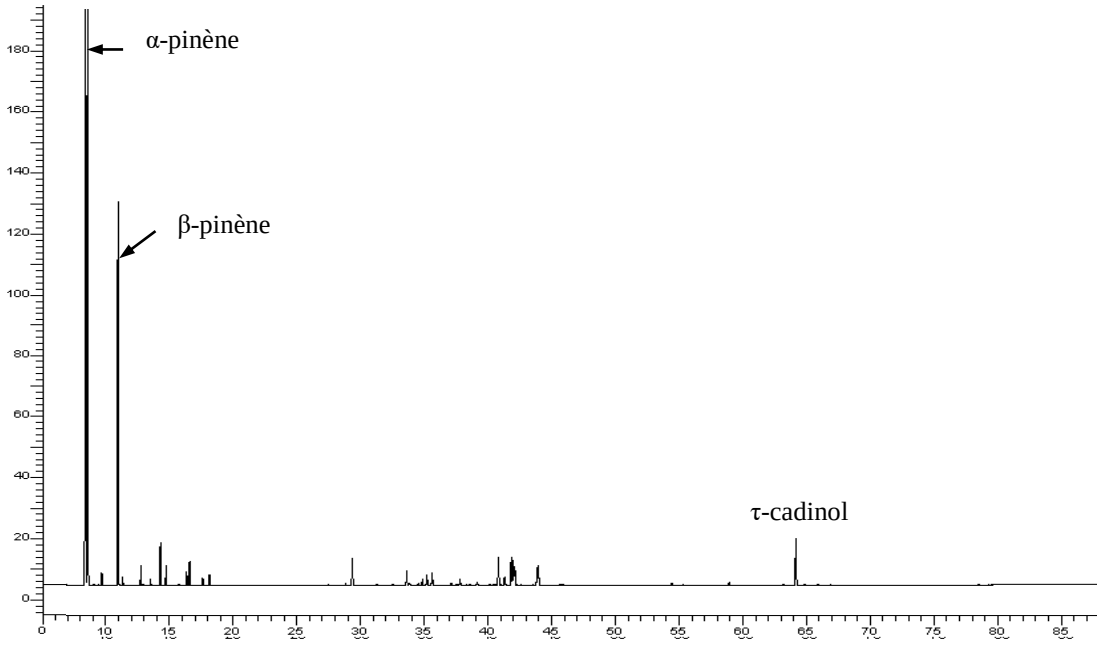
	Composés	Ira	Irp	Yakassémé				
				41	42	43	44	45
1	α-Thujène	920	1016	-	-	-	0,3	-
2	α-Pinène	929	1015	4,9	19,8	0,8	4,6	31,5
3	α-Fenchène	941	1054	-	tr	-	0,1	tr
4	Camphène	942	1065	0,1	0,7	0,3	0,1	0,6
5	Sabinène	964	1121	-	-	-	-	-
6	β-Pinène	969	1111	1,0	4,3	0,4	1,0	6,6
7	Myrcène	979	1160	0,5	0,6	0,3	13,1	1,0
8	α-Phellandrène	995	1165	0,1	-	-	6,4	-
9	δ-3-Carène	1004	1148	0,7	0,1	tr	39,3	-
10	*m*-Cymène	1007	1267	-	-	-	0,8	-
11	α-Terpinène	1008	1181	-	-	tr	-	-
12	p-Cymène	1010	1272	-	0,2	0,1	1,2	0,1
13	Limonène	1019	1201	0,2	0,6	0,2	1,8	0,5
14	β-Phellandrène	1019	1211	0,2	0,1	0,2	3,8	0,9
15	1,8-Cinéole	1019	1211	-	-	-	-	-
16	(*Z*)-β-Ocimène	1024	1233	13,1	3,3	6,7	1,5	3,1
17	(*E*)-β-Ocimène	1035	1250	24,4	3,7	26,3	5,0	8,9
18	γ-Terpinène	1047	1245	-	tr	0,1	0,1	0,1
19	Nonan-2-one	1068	1388	0,1	0,4	0,1	-	0,2
20	Terpinolène	1077	1283	-	-	-	0,3	-
21	Linalol	1082	1545	0,2	0,3	0,2	0,1	0,2
22	*allo*-Ocimène	1116	1372	0,3	0,1	0,1	-	0,1
23	Terpinèn-4-ol	1160	1601	-	-	-	-	-
24	α-Terpinéol	1170	1696	-	-	-	-	-
25	δ-Elémène	1333	1467	-	-	-	-	-
26	α-Cubébène	1348	1456	0,1	0,1	-	-	-
27	Cyclocopacamphène	1366	1475	-	-	-	-	-
28	Cyclosativène	1366	1475	0,5	-	0,1	-	0,4
29	α-Ylangène	1369	1476	0,1	-	-	-	0,1
30	α-Copaène	1375	1490	12,0	10,0	4,7	1,6	5,7
31	Daucène	1378	1489	-	-	-	-	-
32	Funébrène	1381	1505	-	-	-	-	-
33	β-Elémène	1385	1587	0,1	0,2	tr	tr	0,1
34	Cypérène	1398	1523	-	0,1	-	-	-
35	α-Barbatène	1406	1568	-	-	-	-	-
36	α-Gurjunène	1408	1525	-	2,4	-	-	-
37	*cis*-α-Bergamotène	1410	1564	0,1	0,5	0,1	-	0,2
38	α-Santalène	1415	1566	-	-	-	-	0,1
39	(*E*)-β-Caryophyllène	1416	1593	20,6	17,3	21,3	4,8	0,4
40	β-Copaène	1424	1587	0,2	0,2	-	-	0,1
41	Thujopsène	1426	1614	-	-	-	-	-
42	γ-Elémène	1426	1634	-	-	-	-	-
43	*trans*-α-Bergamotène	1431	1582	0,2	0,6	0,2	0,1	9,2
44	α-Guaiène	1433	1587	-	-	-	-	-
45	Aromadendrène	1435	1602	-	-	-	-	-
46	Sélina-5,11-diène	1438	1610	-	-	-	-	-
47	β-Barbatène	1439	1642	-	-	-	-	-
48	Sesquisabinène	1445	1654	-	-	-	-	-
49	(*E*)-β-Farnésène	1445	1664	-	0,6	21,5	3,3	8,0
50	α-Humulène	1448	1665	2,7	2,3	1,2	2,0	-
51	*allo*-Aromadendrène	1456	1640	0,3	0,3	-	-	-
52	Ishwarane	1460	1638	-	-	-	-	-
53	Sélina-4,11-diène	1468	1670	-	-	-	-	-

	Composés	Ira	Irp	Yakassémé				
				41	42	43	44	45
54	γ-Muurolène	1468	1681	0,8	0,9	0,3	-	-
55	*ar*-Curcumène	1468	1767	-	6,8	-	0,7	-
56	γ-Curcumène	1470	1684	-	0,6	-	0,8	-
57	Germacrène D	1474	1704	0,3	-	-	-	-
58	*trans*-β-Bergamotène	1477	1678	-	0,1	-	-	-
59	Aristolochène	1479	1697	-	-	-	-	-
60	β-Sélinène	1479	1713	0,9	0,6	0,3	-	9,0
61	(*Z*),(*E*)-α-Farnésène	1480	1721	-	-	-	-	-
62	4-*épi*-Cubébol	1485	1883	-	-	-	-	-
63	Lédène	1489	1690	-	-	-	-	-
64	α-Sélinène	1489	1718	0,6	0,4	-	-	2,5
65	Bicyclogermacrène	1489	1728	-	-	-	-	-
66	α-Muurolène	1491	1718	0,7	0,7	-	-	-
67	(*Z*)-α-Bisabolène	1491	1721	0,3	0,5	-	-	-
68	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1495	1745	-	0,1	-	-	tr
69	β-Bisabolène	1499	1721	1,0	1,4	-	0,3	1,4
70	β-Curcumène	1499	1734	-	1,3	-	0,7	-
71	γ-Cadinène	1504	1751	0,3	0,4	-	-	1,9
72	*trans*-Calamenène	1509	1829	-	-	-	-	-
73	7-*épi*-α-Sélinène	1511	1756	-	-	-	-	-
74	δ-Cadinène	1513	1751	4,3	2,9	-	0,6	-
75	β-Sesquiphellandrène	1513	1762	-	-	-	-	-
76	Sélina-4(15),7(11)-diène	1528	1774	-	-	-	-	-
77	(*E*)-α-Bisabolène	1530	1766	-	0,2	-	-	0,2
78	β-Elémol	1530	2074	-	-	-	-	-
79	Sélina-3,7(11)-diène	1537	1774	-	-	-	-	-
80	*trans*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1538	1992	-	-	-	-	-
81	(*E*)-Nérolidol	1546	2036	0,6	0,4	0,5	0,3	0,5
82	Germacrène B	1549	1822	-	-	-	-	-
83	Palustrol	1558	1919	-	-	-	-	-
84	Spathunénol	1561	2117	-	-	-	-	-
85	Oxyde de caryophyllène	1567	1976	2,1	5,2	3,0	0,4	0,2
86	*cis*-hydrate de 7-*épi*-Sesquisabinène	1573	2093	-	-	-	-	-
87	Lédol	1591	2020	-	0,2	-	-	-
88	Oxyde d'humulène II	1591	2031	0,3	0,6	0,3	0,1	-
89	*épi*-Cubénol	1612	2055	-	-	-	-	-
90	Intermédéol	1638	2224	-	-	-	-	-
91	β-Bisabolol	1651	2143	-	-	-	-	-
92	α-Bisabolol	1664	2206	-	-	-	-	-
93	*épi*-α-Bisabolol	1666	2209	-	-	-	-	-
94	(*E*)-Phytol	2097	2605	-	0,7	-	-	0,4
	TOTAL			**94,8**	**92,8**	**89,3**	**95,3**	**94,1**

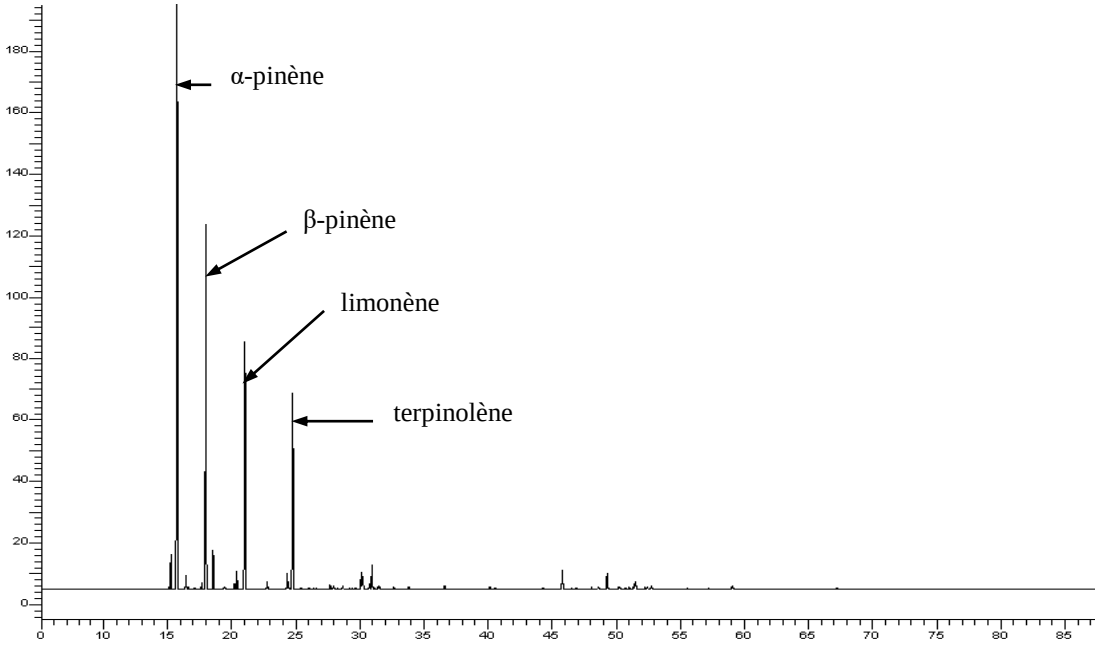
<u>Annexe 6</u> : Chromatogrammes de quelques échantillons d'huile essentielle de troncs de *Dacryodes klaineana*.



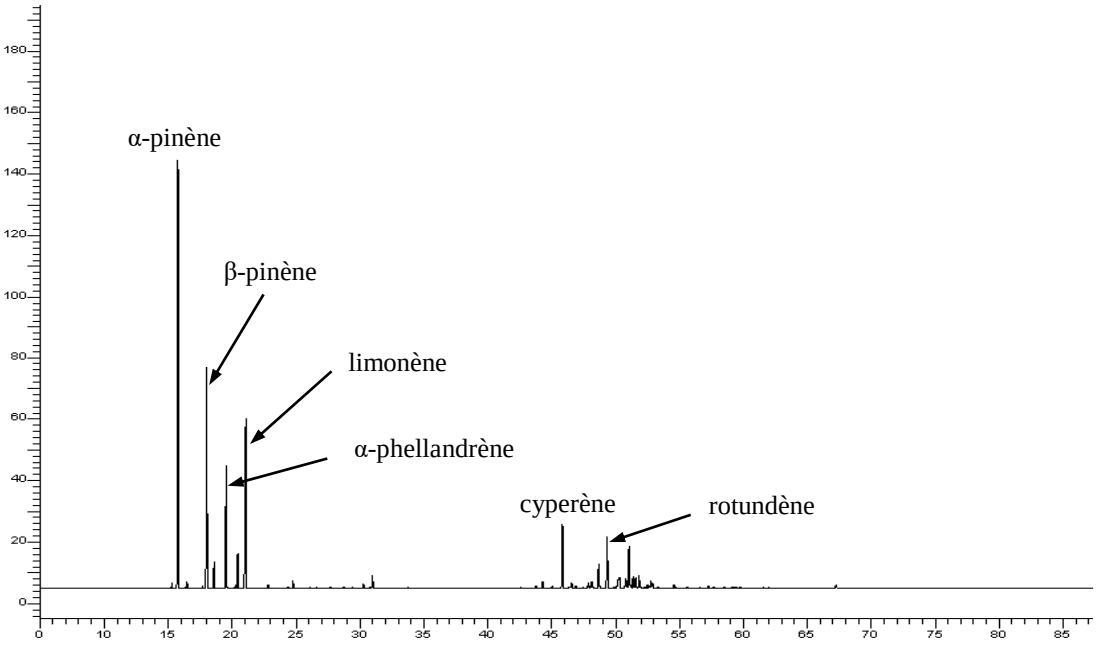
Echantillon n°1



Echantillon n°2

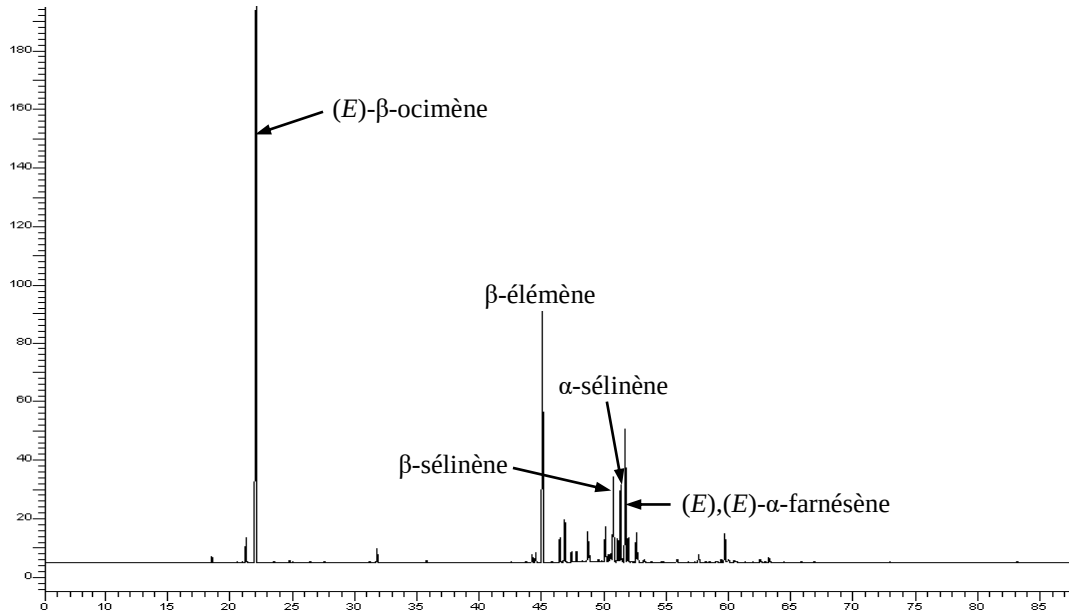


Echantillon n°28

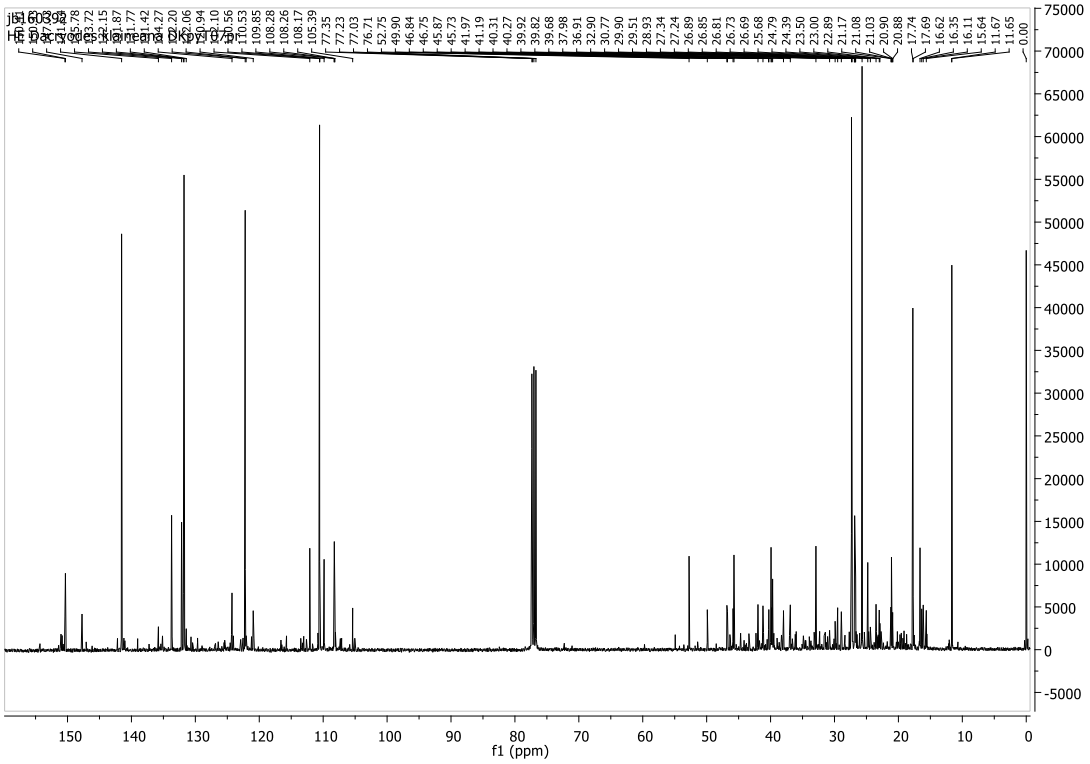


Echantillon n°48

<u>Annexe 7</u> : Chromatogramme et spectre RMN ^{13}C de l'échantillon n°50 d'huile essentielle de troncs de *Dacryodes klaineana*.



Chromatogramme



Spectre RMN ^{13}C

Annexe 8 : Composition chimique de l'huile essentielle de troncs de *Dacryodes klaineana*.

	Composés	Ira	Irp	Adiopodoumé									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	α-Thujène	921	1017	0,5	0,9	4,5	0,8	2,8	1,9	1,3	1,5	0,5	0,9
2	α-Pinène	929	1 017	36,3	38,8	46,4	44,6	42,2	74,5	45,3	56,2	50,3	66,6
3	α-Fenchène	940	1 055	tr	0,1	tr	tr	0,1	tr	0,1	tr	tr	tr
4	Camphène	942	1 065	0,2	0,6	2,7	0,8	0,8	0,5	0,8	0,4	0,5	1,1
5	Thuja-2,4(10)-diène	945	1 128	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Sabinène	964	1 123	0,2	0,5	6,0	0,2	2,0	0,7	0,6	0,5	0,2	0,2
7	β-Pinène	969	1 113	5,5	22,3	16,6	35,1	34,2	10,2	25,3	16,3	16,5	11,4
8	Myrcène	979	1 161	17,9	1,1	2,0	0,3	3,5	0,5	0,4	0,9	0,5	0,2
9	α-Phellandrène	995	1 166	-	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
10	δ-3-Carène	1 003	1 148	0,1	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
11	α-Terpinène	1 007	1 182	-	0,4	1,8	0,2	0,8	0,4	0,4	0,5	0,2	0,2
12	p-Cymène	1 010	1 272	1,0	0,5	2,4	0,4	1,0	0,5	0,8	0,5	0,2	0,2
13	Sylvestrène	1 016	1 199	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Limonène	1 019	1 201	0,9	2,7	1,4	2,8	1,5	1,2	1,8	2,6	1,8	2,3
15	β-Phellandrène	1 019	1 211	0,6	1,3	1,5	1,4	1,2	0,9	1,1	1,6	1,5	1,3
16	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 233	0,4	0,1	tr	tr	-	0,1	0,4	tr	0,1	tr
17	(*E*)-β-Ocimène	1 035	1 250	2,9	1,5	0,1	0,1	0,1	1,3	8,2	0,3	0,1	0,1
18	γ-Terpinène	1 047	1 245	tr	0,9	3,4	0,4	1,6	0,9	0,7	1,0	0,4	0,4
19	p-Cymenène	1 017	1 439	0,1	0,1	tr	tr	tr	tr	-	tr	-	-
20	Terpinolène	1 077	1 283	0,1	0,7	0,9	0,4	0,6	0,4	0,6	0,7	0,4	0,3
21	Linalol	1 082	1 545	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-
22	Fenchol	1 096	1 581	-	0,1	-	0,1	0,1	-	0,1	tr	-	-
23	*trans*-Pinocarvéol	1 121	1 655	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	-	0,1	-	-	-
24	Pinovarvone	1 137	1 569	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	p-Cymèn-8-ol	1 157	1 849	0,1	-	-	tr	-	tr	tr	-	-	-
26	Terpinèn-4-ol	1 160	1 601	0,4	1,0	4,8	0,5	1,9	0,8	0,8	0,6	0,3	0,2
27	Myrtenal	1 167	1 628	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-
28	α-Terpinéol	1 170	1 696	0,5	2,3	0,7	1,2	1,2	0,9	1,1	0,6	0,7	0,2
29	Myrténol	1 177	1 790	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	Verbenone	1 178	1 707	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	*trans*-Carvéol	1 195	1 833	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Thymol	1 267	2 181	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	-	-
33	α-Cubébène	1 348	1 456	0,4	0,1	0,1	0,2	-	tr	0,1	0,2	0,1	0,1
34	Cyclosativène	1 366	1 479	0,2	-	-	0,2	-	-	0,1	-	0,1	-
35	α-Ylangène	1 369	1 481	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	0,2
36	α-Copaène	1 375	1 490	1,2	2,1	1,1	0,6	0,4	0,1	0,4	0,4	0,6	0,2
37	β-Cubébène	1 385	1 535	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	β-Elémène	1 385	1 587	0,4	0,5	tr	0,1	0,1	-	0,2	0,5	0,3	0,2
39	Cypérène	1 398	1 523	0,2	0,1	tr	0,1	0,6	-	0,1	0,9	-	-
40	α-Gurjunène	1 408	1 525	3,1	-	-	-	-	0,1	0,3	0,2	-	-
41	*cis*-α-Bergamotène	1 409	1 566	-	1,1	-	-	-	-	-	-	0,2	-
42	β-Ylangène	1 414	1 570	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	α-Santalène	1 415	1 568	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
44	(*E*)-β-Caryophyllène	1 416	1 593	0,7	1,0	0,1	0,6	0,1	0,5	0,3	0,6	0,7	0,2
45	β-Copaène	1 424	1 587	0,1	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
46	γ-Elémène	1 426	1 636	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	*trans*-α-Bergamotène	1 431	1 582	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	α-Guaiène	1 432	1 587	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-
49	Aromadendrène	1 435	1 602	1,1	-	-	-	-	-	-	0,6	0,5	-
50	Spirolépechinène	1 444	1 643	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Composés	Ira	Irp	Adiopodoumé									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
51	(*E*)-β-Farnésène	1 444	1 664	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	α-Humulène	1 448	1 665	0,8	0,4	tr	0,8	-	0,7	0,1	0,2	0,2	0,1
53	Rotundène	1 455	1 634	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	0,1
54	*allo*-Aromadendrène	1 456	1 640	1,7	0,6	tr	0,4	-	-	0,5	0,6	2,5	0,4
55	Ishwarane	1 459	1 640	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	γ-Muurolène	1 468	1 683	0,1	0,1	tr	0,2	-	-	0,1	0,2	-	0,5
57	Germacrène D	1 474	1 704	-	0,6	-	-	-	0,1	0,1	0,9	-	0,5
58	γ-Humulène	1 475	1 718	-	2,1	-	-	-	-	-	-	-	2,2
59	β-Sélinène	1 479	1 713	0,4	2,3	-	0,1	-	0,7	0,2	-	-	0,4
60	Lédène	1 489	1 690	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	α-Sélinène	1 489	1 720	-	1,6	-	0,2	-	0,4	0,2	-	0,5	0,3
62	Isodaucene	1 490	1 727	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	α-Muurolène	1 491	1 720	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1 495	1 745	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	α-Bulnésène	1 496	1 711	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-
66	β-Bisabolène	1 498	1 722	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	γ-Cadinène	1 503	1 755	2,6	1,7	-	0,6	-	-	1,6	0,3	1,6	1,8
68	*trans*-Calamenène	1 507	1 829	1,4	-	-	0,2	-	-	0,2	0,4	0,3	0,2
69	δ-Cadinène	1 513	1 752	0,7	1,4	0,5	0,6	0,3	0,1	0,4	0,5	0,7	0,9
70	α-Calacorène	1 526	1 911	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	Sélina-4(15),7(11)-diène	1 527	1 775	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	β-Elémol	1 532	2 078	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
73	Sélina-3,7(11)-diène	1 536	1 775	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	(*E*)-Nérolidol	1 546	2 037	0,8	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-
75	Germacrène B			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	Spathulénol	1 561	2 117	0,7	-	-	-	0,1	-	-	0,2	-	-
77	Oxyde de caryophyllène	1 566	1 978	0,3	0,1	-	0,1	-	tr	-	-	0,1	-
78	Viridiflorol	1 578	2 078	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	Lédol	1 589	2 021	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	Oxyde d'humulène II	1 590	2 031	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81	1,10-di-*épi*-Cubénol	1 599	2 054	0,3	0,3	-	0,2	-	-	0,3	-	0,2	0,2
82	τ-Cadinol	1 622	2 165	5,1	3,9	tr	2,1	-	-	3,6	0,5	5,2	3,5
83	τ-Muurolol	1 622	2 179	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	β-Eudesmol	1 631	2 224	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	α-Cadinol	1 635	2 226	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
86	α-Eudesmol	1 636	2 215	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TOTAL			**92,7**	**96,4**	**97,9**	**97,5**	**97,3**	**98,7**	**98,6**	**92,4**	**89,6**	**97,9**

	Composés	Ira	Irp	Adiopodoumé				Dzeudji					
				11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	α-Thujène	921	1017	1,7	0,8	1,6	0,5	3,8	2,9	3,9	1,6	1,4	1,6
2	α-Pinène	929	1 017	22,6	55,7	32,9	55,6	43,1	41,5	60,9	41,2	46,3	49,0
3	α-Fenchène	940	1 055	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	0,1
4	Camphène	942	1 065	1,0	0,3	1,0	1,0	0,5	0,3	0,4	1,2	2,1	0,7
5	Thuja-2,4(10)-diène	945	1 128	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-	0,1	0,2
6	Sabinène	964	1 123	1,0	0,2	0,4	0,2	3,6	1,2	1,7	0,3	0,7	1,4
7	β-Pinène	969	1 113	30,2	6,1	46,3	28,1	8,4	7,4	10,0	32,1	13,7	4,8
8	Myrcène	979	1 161	0,9	0,5	0,1	0,4	0,7	1,5	6,2	0,2	0,6	0,2
9	α-Phellandrène	995	1 166	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	-	tr
10	δ-3-Carène	1 003	1 148	-	-	-	-	-	0,1	-	tr	-	0,1
11	α-Terpinène	1 007	1 182	0,8	0,3	0,3	0,2	2,5	0,6	0,8	1,2	-	0,2
12	p-Cymène	1 010	1 272	1,5	0,3	0,3	0,1	6,0	3,2	1,5	3,9	3,7	3,2
13	Sylvestrène	1 016	1 199	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Limonène	1 019	1 201	6,6	1,4	2,5	2,1	1,9	5,5	1,1	3,3	5,9	1,5
15	β-Phellandrène	1 019	1 211	0,9	1,0	1,8	1,4	1,3	0,7	1,4	1,3	-	0,5
16	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 233	-	0,3	tr	0,1	tr	tr	0,2	-	-	-
17	(*E*)-β-Ocimène	1 035	1 250	0,1	0,2	tr	tr	0,1	tr	0,3	-	-	-
18	γ-Terpinène	1 047	1 245	1,2	0,5	0,6	0,3	4,1	1,2	1,7	1,5	tr	0,5
19	p-Cymenène	1 017	1 439	1,4	-	-	-	0,3	0,8	0,1	0,1	1,9	0,4
20	Terpinolène	1 077	1 283	19,2	0,4	0,6	0,5	3,3	15,0	0,7	0,7	tr	0,4
21	Linalol	1 082	1 545	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-	-	0,1
22	Fenchol	1 096	1 581	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	-	0,2
23	*trans*-Pinocarvéol	1 121	1 655	0,4	-	-	-	0,2	0,2	0,1	0,1	0,9	0,5
24	Pinovarvone	1 137	1 569	-	-	-	-	tr	-	-	-	0,3	0,3
25	p-Cymèn-8-ol	1 157	1 849	1,9	-	-	-	0,1	1,5	-	0,1	2,0	0,3
26	Terpinèn-4-ol	1 160	1 601	1,9	0,4	0,5	0,2	6,9	3,4	1,5	1,0	1,6	4,0
27	Myrtenal	1 167	1 628	0,4	-	-	-	0,1	0,1	0,1	tr	1,0	0,5
28	α-Terpinéol	1 170	1 696	1,7	0,8	1,7	1,4	1,5	1,5	0,6	3,6	2,8	4,9
29	Myrténol	1 177	1 790	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,3
30	Verbenone	1 178	1 707	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	0,6
31	*trans*-Carvéol	1 195	1 833	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,3
32	Thymol	1 267	2 181	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
33	α-Cubébène	1 348	1 456	-	0,1	tr	tr	0,1	0,1	0,1	-	-	0,5
34	Cyclosativène	1 366	1 479	-	tr	-	-	0,2	-	-	-	-	0,9
35	α-Ylangène	1 369	1 481	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
36	α-Copaène	1 375	1 490	tr	0,2	0,1	0,1	0,6	0,3	0,4	0,1	0,1	1,6
37	β-Cubébène	1 385	1 535	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	β-Elémène	1 385	1 587	-	0,1	0,1	0,0	0,2	0,1	0,1	0,1	-	-
39	Cypérène	1 398	1 523	-	tr	0,2	tr	-	0,2	0,8	0,7	0,4	0,1
40	α-Gurjunène	1 408	1 525	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	*cis*-α-Bergamotène	1 409	1 566	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	β-Ylangène	1 414	1 570	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	α-Santalène	1 415	1 568	-	-	-	-	0,2	0,1	-	-	-	-
44	(*E*)-β-Caryophyllène	1 416	1 593	-	3,1	0,5	0,5	0,3	0,6	0,2	0,2	0,2	-
45	β-Copaène	1 424	1 587	-	-	tr	-	1,0	-	-	tr	-	0,4
46	γ-Elémène	1 426	1 636	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	*trans*-α-Bergamotène	1 431	1 582	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	α-Guaiène	1 432	1 587	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	Aromadendrène	1 435	1 602	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	Spirolépechinène	1 444	1 643	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Composés	Ira	Irp	Adiopodoumé				Dzeudji					
				11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
51	(*E*)-β-Farnésène	1 444	1 664	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-
52	α-Humulène	1 448	1 665	-	6,4	0,2	0,8	0,1	0,1	-	-	-	-
53	Rotundène	1 455	1 634	-	0,2	0,1	0,1	-	-	0,6	0,5	-	-
54	*allo*-Aromadendrène	1 456	1 640	-	0,9	0,3	0,3	0,6	0,1	-	-	0,2	0,4
55	Ishwarane	1 459	1 640	-	-	-	-	-	0,2	-	-	0,1	0,1
56	γ-Muurolène	1 468	1 683	-	0,1	0,1	-	0,1	0,4	tr	0,1	0,1	1,1
57	Germacrène D	1 474	1 704	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
58	γ-Humulène	1 475	1 718	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
59	β-Sélinène	1 479	1 713	-	1,2	1,2	-	1,2	-	0,1	0,1	0,1	0,6
60	Lédène	1 489	1 690	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	α-Sélinène	1 489	1 720	-	1,1	0,8	0,1	0,7	-	0,1	-	-	-
62	Isodaucene	1 490	1 727	-	-	-	-	-	-	-	-	2,2	-
63	α-Muurolène	1 491	1 720	-	-	-	-	0,3	0,3	-	-	-	-
64	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1 495	1 745	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	α-Bulnésène	1 496	1 711	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	β-Bisabolène	1 498	1 722	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	γ-Cadinène	1 503	1 755	-	3,0	1,0	1,1	0,7	0,6	-	1,6	-	2,3
68	*trans*-Calamenène	1 507	1 829	-	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-	0,4
69	δ-Cadinène	1 513	1 752	-	0,9	0,4	0,3	0,3	0,7	0,2	-	-	1,2
70	α-Calacorène	1 526	1 911	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	Sélina-4(15),7(11)-diène	1 527	1 775	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	β-Elémol	1 532	2 078	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
73	Sélina-3,7(11)-diène	1 536	1 775	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	(*E*)-Nérolidol	1 546	2 037	-	-	-	0,1	-	0,1	tr	-	-	-
75	Germacrène B			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	Spathulénol	1 561	2 117	-	-	-	-	-	tr	-	-	0,1	0,1
77	Oxyde de caryophyllène	1 566	1 978	-	0,1	tr	-	tr	0,1	-	-	0,1	0,1
78	Viridiflorol	1 578	2 078	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	Lédol	1 589	2 021	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	Oxyde d'humulène II	1 590	2 031	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
81	1,10-di-*épi*-Cubénol	1 599	2 054	-	0,7	0,2	0,2	0,1	0,1	-	0,2	-	0,3
82	τ-Cadinol	1 622	2 165	-	8,9	2,4	2,9	1,5	1,0	tr	-	-	4,1
83	τ-Muurolol	1 622	2 179	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3
84	β-Eudesmol	1 631	2 224	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	α-Cadinol	1 635	2 226	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5
86	α-Eudesmol	1 636	2 215	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TOTAL			97,1	97,0	98,9	99,1	97,0	94,3	97,1	97,5	90,2	91,9

	Composés	Ira	Irp	Dzeudji								Yapo abbé	
				21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	α-Thujène	921	1017	1,0	0,8	0,3	0,7	2,5	6,3	1,7	1,6	1,1	1,7
2	α-Pinène	929	1 017	32,3	51,8	16,1	43,9	22,2	44,8	60,8	35,5	42,4	41,6
3	α-Fenchène	940	1 055	0,1	0,1	tr	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
4	Camphène	942	1 065	0,8	0,3	0,3	1,1	1,2	0,4	0,4	0,7	0,9	1,1
5	Thuja-2,4(10)-diène	945	1 128	0,2	0,2	0,1	0,3	0,1	0,2	0,3	0,1	-	-
6	Sabinène	964	1 123	0,2	0,5	0,3	0,3	1,7	3,7	0,5	0,3	0,2	1,1
7	β-Pinène	969	1 113	14,8	4,9	9,4	21,8	24,6	5,7	5,6	20,1	33,8	29,5
8	Myrcène	979	1 161	1,3	0,6	0,2	1,1	0,1	0,5	0,2	1,9	7,6	3,7
9	α-Phellandrène	995	1 166	0,1	-	-	-	-	-	0,1	0,2	tr	0,1
10	δ-3-Carène	1 003	1 148	0,1	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
11	α-Terpinène	1 007	1 182	0,2	-	-	-	-	0,1	0,2	0,3	0,1	0,6
12	p-Cymène	1 010	1 272	2,0	1,6	2,1	1,7	8,1	11,7	4,2	0,9	1,0	1,0
13	Sylvestrène	1 016	1 199	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Limonène	1 019	1 201	13,8	11,2	8,8	11,9	10,0	1,6	1,6	13,8	1,7	2,3
15	β-Phellandrène	1 019	1 211	0,4	0,3	0,2	0,3	0,7	0,8	0,6	0,6	1,0	1,4
16	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 233	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1
17	(*E*)-β-Ocimène	1 035	1 250	-	-	-	-	-	-	-	tr	1,2	0,8
18	γ-Terpinène	1 047	1 245	0,4	0,2	-	0,2	0,3	0,7	0,5	0,4	0,3	1,3
19	p-Cymenène	1 017	1 439	2,1	0,5	0,8	0,3	0,6	0,4	0,6	1,0	-	tr
20	Terpinolène	1 077	1 283	5,9	0,5	-	0,2	0,3	0,3	0,5	11,4	0,3	0,9
21	Linalol	1 082	1 545	-	0,1	-	0,2	-	-	0,1	-	-	-
22	Fenchol	1 096	1 581	0,2	-	-	-	0,4	-	0,2	0,1	0,1	-
23	*trans*-Pinocarvéol	1 121	1 655	0,8	0,5	0,8	0,7	1,2	0,6	0,7	0,2	0,1	-
24	Pinovarvone	1 137	1 569	0,6	-	1,5	0,8	1,1	-	0,7	-	-	-
25	p-Cymèn-8-ol	1 157	1 849	1,8	0,4	0,4	0,2	0,3	0,4	0,3	1,0	tr	tr
26	Terpinèn-4-ol	1 160	1 601	1,6	1,3	1,2	0,8	4,7	7,9	3,3	0,8	0,5	1,4
27	Myrtenal	1 167	1 628	1,0	0,7	1,6	1,2	1,7	0,6	0,8	0,3	0,1	0,1
28	α-Terpinéol	1 170	1 696	3,6	1,5	1,7	1,1	4,8	1,9	2,5	1,4	2,1	1,9
29	Myrténol	1 177	1 790	0,5	-	0,5	-	0,9	0,2	-	-	-	-
30	Verbenone	1 178	1 707	1,0	0,8	-	-	-	0,6	0,7	0,2	-	-
31	*trans*-Carvéol	1 195	1 833	0,4	0,4	0,3	-	-	0,5	0,5	-	-	-
32	Thymol	1 267	2 181	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	α-Cubébène	1 348	1 456	-	-	0,2	-	-	-	0,1	-	tr	-
34	Cyclosativène	1 366	1 479	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
35	α-Ylangène	1 369	1 481	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	α-Copaène	1 375	1 490	0,1	0,4	0,8	0,3	0,3	-	0,8	0,1	0,1	0,3
37	β-Cubébène	1 385	1 535	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	β-Elémène	1 385	1 587	-	0,2	0,5	0,1	0,2	-	0,2	-	tr	0,1
39	Cypérène	1 398	1 523	2,3	-	-	-	-	0,5	-	1,2	1,8	0,1
40	α-Gurjunène	1 408	1 525	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	*cis*-α-Bergamotène	1 409	1 566	-	-	25,7	0,1	-	-	-	-	-	-
42	β-Ylangène	1 414	1 570	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	α-Santalène	1 415	1 568	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	0,1
44	(*E*)-β-Caryophyllène	1 416	1 593	-	0,3	0,4	0,3	0,3	-	-	0,1	-	0,1
45	β-Copaène	1 424	1 587	-	-	0,3	-	0,5	0,2	1,1	-	-	-
46	γ-Elémène	1 426	1 636	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	*trans*-α-Bergamotène	1 431	1 582	-	-	1,8	1,3	0,6	-	-	-	-	-
48	α-Guaiène	1 432	1 587	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	Aromadendrène	1 435	1 602	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-
50	Spirolépechinène	1 444	1 643	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Composés	Ira	Irp	Dzeudji								Yapo abbé	
				21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
51	(*E*)-β-Farnésène	1 444	1 664	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-
52	α-Humulène	1 448	1 665	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	0,2
53	Rotundène	1 455	1 634	1,9	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-
54	*allo*-Aromadendrène	1 456	1 640	0,3	0,6	-	0,4	-	0,3	0,1	0,1	-	-
55	Ishwarane	1 459	1 640	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-
56	γ-Muurolène	1 468	1 683	-	-	1,5	0,1	-	-	0,3	-	-	-
57	Germacrène D	1 474	1 704	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	γ-Humulène	1 475	1 718	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	β-Sélinène	1 479	1 713	-	3,9	1,8	-	0,1	0,4	0,3	-	0,2	-
60	Lédène	1 489	1 690	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	α-Sélinène	1 489	1 720	-	1,7	-	-	-	0,2	0,2	-	0,2	-
62	Isodaucene	1 490	1 727	-	-	-	1,9	-	-	-	-	-	-
63	α-Muurolène	1 491	1 720	0,8	-	0,9	-	-	-	0,4	-	-	0,1
64	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1 495	1 745	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	α-Bulnésène	1 496	1 711	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	β-Bisabolène	1 498	1 722	-	-	1,7	-	-	-	-	-	-	-
67	γ-Cadinène	1 503	1 755	0,2	2,4	-	-	0,1	-	0,3	0,1	-	2,5
68	*trans*-Calamenène	1 507	1 829	-	0,2	0,6	-	-	-	-	0,1	-	-
69	δ-Cadinène	1 513	1 752	0,2	0,4	0,8	-	0,2	-	0,3	0,2	-	0,3
70	α-Calacorène	1 526	1 911	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	Sélina-4(15),7(11)-diène	1 527	1 775	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	β-Elémol	1 532	2 078	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
73	Sélina-3,7(11)-diène	1 536	1 775	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	(*E*)-Nérolidol	1 546	2 037	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-
75	Germacrène B			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	Spathulénol	1 561	2 117	0,1	-	-	-	-	0,2	-	0,1	-	-
77	Oxyde de caryophyllène	1 566	1 978	0,1	0,1	0,3	-	0,1	0,1	0,1	-	-	-
78	Viridiflorol	1 578	2 078	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	Lédol	1 589	2 021	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	Oxyde d'humulène II	1 590	2 031	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81	1,10-di-*épi*-Cubénol	1 599	2 054	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	0,3
82	τ-Cadinol	1 622	2 165	0,4	3,9	0,3	-	0,2	-	0,3	0,3	-	2,2
83	τ-Muurolol	1 622	2 179	-	-	0,2	-	0,1	-	0,1	-	-	-
84	β-Eudesmol	1 631	2 224	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	α-Cadinol	1 635	2 226	-	0,1	0,4	-	0,2	-	-	-	-	-
86	α-Eudesmol	1 636	2 215	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TOTAL			**93,4**	**94,0**	**85,2**	**93,4**	**90,4**	**92,1**	**93,2**	**96,1**	**97,4**	**97,0**

	Composés	Ira	Irp	Yapo abbé									
				31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
1	α-Thujène	921	1017	0,6	2,1	1,7	0,8	0,5	5,5	0,4	2,5	0,5	0,3
2	α-Pinène	929	1 017	51,7	40,2	67,2	63,4	27,6	41,6	41,8	54,5	67,8	60,9
3	α-Fenchène	940	1 055	0,1	0,2	tr	0,1	tr	0,1	tr	tr	0,1	0,1
4	Camphène	942	1 065	1,1	1,1	0,2	0,4	0,3	0,9	0,2	0,2	0,3	0,4
5	Thuja-2,4(10)-diène	945	1 128	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,5	-
6	Sabinène	964	1 123	0,1	0,6	0,2	0,4	0,3	1,9	0,1	1,2	0,2	0,1
7	β-Pinène	969	1 113	27,6	20,2	6,9	8,0	3,8	24,4	4,0	5,4	4,3	7,0
8	Myrcène	979	1 161	0,6	0,5	0,4	0,8	0,7	0,4	0,1	0,2	0,1	0,6
9	α-Phellandrène	995	1 166	0,1	0,2	0,1	0,1	19,8	0,1	tr	0,1	-	0,1
10	δ-3-Carène	1 003	1 148	tr	-	0,1	-	tr	-	-	0,1	-	tr
11	α-Terpinène	1 007	1 182	0,1	1,3	0,3	0,3	0,3	0,7	0,1	0,4	-	0,1
12	p-Cymène	1 010	1 272	0,4	1,2	0,7	0,8	12,7	3,1	0,4	2,3	1,6	0,5
13	Sylvestrène	1 016	1 199	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Limonène	1 019	1 201	3,3	3,0	1,8	3,6	3,5	1,8	0,9	7,0	2,5	7,5
15	β-Phellandrène	1 019	1 211	1,1	1,2	0,8	0,8	4,9	1,3	0,4	0,4	0,2	-
16	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 233	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	0,3
17	(*E*)-β-Ocimène	1 035	1 250	tr	-	-	0,1	-	0,3	-	-	-	1,2
18	γ-Terpinène	1 047	1 245	0,1	2,3	0,6	0,4	0,4	1,8	0,2	1,0	tr	0,2
19	p-Cymenène	1 017	1 439	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,1	0,3	1,8	tr
20	Terpinolène	1 077	1 283	4,6	1,6	3,8	9,8	0,6	0,8	0,3	0,4	0,3	0,6
21	Linalol	1 082	1 545	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-
22	Fenchol	1 096	1 581	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
23	*trans*-Pinocarvéol	1 121	1 655	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,7	-
24	Pinovarvone	1 137	1 569	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,6	-
25	p-Cymèn-8-ol	1 157	1 849	0,4	tr	0,2	0,6	-	0,1	tr	0,2	0,9	tr
26	Terpinèn-4-ol	1 160	1 601	0,3	3,1	0,5	0,9	0,5	4,1	0,4	2,2	0,5	0,4
27	Myrtenal	1 167	1 628	0,1	tr	tr	0,1	-	0,2	0,1	0,5	0,7	0,1
28	α-Terpinéol	1 170	1 696	2,2	8,5	0,8	1,9	0,6	3,8	1,3	1,3	0,8	2,3
29	Myrténol	1 177	1 790	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	Verbenone	1 178	1 707	-	-	-	-	-	-	-	0,6	0,9	-
31	*trans*-Carvéol	1 195	1 833	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,4	-
32	Thymol	1 267	2 181	-	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-
33	α-Cubébène	1 348	1 456	-	-	0,1	-	0,3	tr	0,7	0,1	-	-
34	Cyclosativène	1 366	1 479	-	-	0,2	-	-	0,1	0,1	-	-	-
35	α-Ylangène	1 369	1 481	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-
36	α-Copaène	1 375	1 490	0,2	0,2	0,4	-	5,4	0,2	2,1	0,2	-	0,4
37	β-Cubébène	1 385	1 535	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-
38	β-Elémène	1 385	1 587	0,1	0,1	0,1	-	0,3	0,1	0,5	0,2	0,1	0,1
39	Cypérène	1 398	1 523	0,1	0,3	0,2	-	-	tr	1,4	3,0	1,7	-
40	α-Gurjunène	1 408	1 525	-	-	-	-	-	-	-	0,5	1,6	-
41	*cis*-α-Bergamotène	1 409	1 566	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	β-Ylangène	1 414	1 570	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	α-Santalène	1 415	1 568	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-
44	(*E*)-β-Caryophyllène	1 416	1 593	0,1	0,1	0,2	0,3	0,5	0,5	2,9	0,4	0,4	1,2
45	β-Copaène	1 424	1 587	-	-	0,1	-	0,1	-	0,9	2,1	-	0,9
46	γ-Elémène	1 426	1 636	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	*trans*-α-Bergamotène	1 431	1 582	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	α-Guaiène	1 432	1 587	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	Aromadendrène	1 435	1 602	-	-	-	-	-	-	0,2	0,1	0,5	-
50	Spirolépechinène	1 444	1 643	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Composés	Ira	Irp	Yapo abbé									
				31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
51	(*E*)-β-Farnésène	1 444	1 664	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	α-Humulène	1 448	1 665	-	0,1	-	-	-	0,1	0,7	-	0,6	2,1
53	Rotundène	1 455	1 634	-	0,1	-	-	-	-	1,2	2,4	0,1	-
54	*allo*-Aromadendrène	1 456	1 640	-	0,3	-	-	-	-	0,7	0,0	0,4	0,3
55	Ishwarane	1 459	1 640	-	-	-	-	-	-	0,8	0,5	0,3	-
56	γ-Muurolène	1 468	1 683	-	-	-	-	0,2	-	4,7	-	-	-
57	Germacrène D	1 474	1 704	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	γ-Humulène	1 475	1 718	-	-	-	1,6	2,3	-	-	-	-	-
59	β-Sélinène	1 479	1 713	-	0,1	-	-	0,3	1,3	-	-	0,5	1,4
60	Lédène	1 489	1 690	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	α-Sélinène	1 489	1 720	-	0,1	0,2	-	0,3	0,7	-	-	0,3	0,8
62	Isodaucene	1 490	1 727	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	α-Muurolène	1 491	1 720	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1 495	1 745	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	α-Bulnésène	1 496	1 711	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	β-Bisabolène	1 498	1 722	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	γ-Cadinène	1 503	1 755	-	-	2,3	-	0,2	-	3,9	-	0,1	1,0
68	*trans*-Calamenène	1 507	1 829	-	-	-	-	-	-	1,8	-	-	-
69	δ-Cadinène	1 513	1 752	-	0,3	0,6	-	3,1	0,1	5,9	-	0,2	0,6
70	α-Calacorène	1 526	1 911	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-
71	Sélina-4(15),7(11)-diène	1 527	1 775	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	β-Elémol	1 532	2 078	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
73	Sélina-3,7(11)-diène	1 536	1 775	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	(*E*)-Nérolidol	1 546	2 037	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75	Germacrène B			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	Spathulénol	1 561	2 117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77	Oxyde de caryophyllène	1 566	1 978	-	-	-	-	0,1	0,1	0,4	0,1	0,2	0,2
78	Viridiflorol	1 578	2 078	-	-	-	-	0,2	-	-	0,2	-	-
79	Lédol	1 589	2 021	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
80	Oxyde d'humulène II	1 590	2 031	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-
81	1,10-di-*épi*-Cubénol	1 599	2 054	-	0,4	0,4	-	-	-	0,3	-	-	0,2
82	τ-Cadinol	1 622	2 165	-	5,8	5,5	tr	-	tr	4,9	0,2	-	3,5
83	τ-Muurolol	1 622	2 179	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	0,2
84	β-Eudesmol	1 631	2 224	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	α-Cadinol	1 635	2 226	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
86	α-Eudesmol	1 636	2 215	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TOTAL			**94,9**	**96,5**	**96,9**	**95,4**	**90,1**	**96,5**	**87,4**	**92,1**	**93,1**	**95,4**

	Composés	Ira	Irp	Yapo abbé				Una	Mo	Kd	Ko	Petit yapo		
				41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51
1	α-Thujène	921	1017	2,7	0,8	0,8	1,5	2,5	0,2	8,6	0,4	0,6	-	1,9
2	α-Pinène	929	1 017	48,3	67,1	76,2	36,6	42,1	41,2	3,0	27,9	50,6	-	28,8
3	α-Fenchène	940	1 055	0,1	tr	tr	0,1	tr	tr	-	tr	0,1	-	0,1
4	Camphène	942	1 065	0,8	0,3	0,3	0,8	0,2	0,3	0,1	0,4	1,5	-	1,8
5	Thuja-2,4(10)-diène	945	1 128	-	-	-	0,1	-	-	-	tr	0,9	-	0,8
6	Sabinène	964	1 123	1,1	0,2	0,1	0,7	1,2	0,1	9,5	0,1	0,3	-	1,5
7	β-Pinène	969	1 113	20,8	7,2	7,8	32,8	5,8	3,9	2,0	14,7	6,4	-	4,8
8	Myrcène	979	1 161	0,1	0,2	0,3	0,5	24,6	0,7	0,9	1,6	tr	0,3	1,1
9	α-Phellandrène	995	1 166	tr	0,1	0,1	0,1	0,7	-	0,2	8,2	-	-	tr
10	δ-3-Carène	1 003	1 148	-	tr	-	-	3,2	1,1	0,1	-	-	-	-
11	α-Terpinène	1 007	1 182	0,2	0,3	0,2	0,6	0,9	-	0,9	0,2	0,2	-	0,2
12	p-Cymène	1 010	1 272	3,0	0,4	0,3	1,2	1,5	7,6	21,4	2,3	2,2	-	4,8
13	Sylvestrène	1 016	1 199	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Limonène	1 019	1 201	1,6	6,3	1,1	2,0	0,9	1,6	8,1	11,8	4,4	tr	1,1
15	β-Phellandrène	1 019	1 211	0,4	0,9	0,6	1,2	1,3	0,4	1,5	3,1	-	-	0,6
16	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 233	-	tr	-	-	0,6	0,1	-	-	-	1,1	-
17	(*E*)-β-Ocimène	1 035	1 250	-	-	tr	0,1	0,1	0,2	-	-	-	46,8	-
18	γ-Terpinène	1 047	1 245	0,5	0,7	0,4	1,1	1,4	-	4,7	0,3	0,3	-	0,8
19	p-Cymenène	1 017	1 439	0,3	0,1	0,1	0,1	tr	0,2	0,7	tr	1,1	-	0,7
20	Terpinolène	1 077	1 283	0,3	0,7	0,4	0,8	0,5	-	1,5	0,5	0,2	-	0,3
21	Linalol	1 082	1 545	0,1	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
22	Fenchol	1 096	1 581	0,1	0,1	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-
23	*trans*-Pinocarvéol	1 121	1 655	1,0	0,1	-	0,4	0,1	0,1	-	-	1,1	-	2,1
24	Pinovarvone	1 137	1 569	-	-	-	0,4	-	-	-	-	0,7	-	1,4
25	p-Cymèn-8-ol	1 157	1 849	0,3	-	-	0,1	tr	0,1	-	-	0,2	-	0,6
26	Terpinèn-4-ol	1 160	1 601	1,8	0,8	0,3	1,7	1,7	0,1	16,1	0,3	0,4	-	4,0
27	Myrtenal	1 167	1 628	1,1	0,2	tr	0,4	tr	0,1	-	-	1,4	-	2,1
28	α-Terpinéol	1 170	1 696	1,3	1,8	1,1	3,0	0,7	0,9	1,0	1,0	0,4	-	1,0
29	Myrténol	1 177	1 790	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	1,1
30	Verbenone	1 178	1 707	-	-	-	0,2	-	-	-	-	1,0	-	2,9
31	*trans*-Carvéol	1 195	1 833	-	-	-	0,1	-	-	-	-	0,4	-	0,9
32	Thymol	1 267	2 181	-	-	2,1	0,7	-	-	-	-	-	-	-
33	α-Cubébène	1 348	1 456	0,1	-	-	-	-	tr	-	0,1	0,2	-	0,2
34	Cyclosativène	1 366	1 479	0,2	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	0,9
35	α-Ylangène	1 369	1 481	0,1	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	0,1
36	α-Copaène	1 375	1 490	0,7	0,3	1,6	-	0,2	0,6	0,3	0,5	0,7	0,4	2,4
37	β-Cubébène	1 385	1 535	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	β-Elémène	1 385	1 587	0,1	0,2	-	0,1	0,1	0,3	0,4	-	0,4	14,5	1,3
39	Cypérène	1 398	1 523	0,1	0,1	-	-	-	1,1	1,2	5,1	-	-	-
40	α-Gurjunène	1 408	1 525	-	-	1,3	0,1	-	0,1	-	-	-	-	-
41	*cis*-α-Bergamotène	1 409	1 566	-	-	-	-	0,2	0,3	-	-	0,7	1,2	0,8
42	β-Ylangène	1 414	1 570	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	α-Santalène	1 415	1 568	-	0,5	-	-	0,2	0,8	-	-	0,7	0,8	-
44	(*E*)-β-Caryophyllène	1 416	1 593	0,3	0,5	-	0,4	0,6	1,1	0,8	-	0,7	1,7	0,5
45	β-Copaène	1 424	1 587	0,1	0,5	-	-	-	-	-	-	-	0,6	3,0
46	γ-Elémène	1 426	1 636	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-
47	*trans*-α-Bergamotène	1 431	1 582	-	-	0,2	-	-	0,2	0,2	-	-	-	-
48	α-Guaiène	1 432	1 587	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	Aromadendrène	1 435	1 602	-	-	0,2	0,9	-	1,1	0,3	-	0,8	-	-
50	Spirolépechinène	1 444	1 643	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-

	Composés	Ira	Irp	Yapo abbé				Una	Mo	Kd	Ko	Petit yapo		
				41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51
51	(*E*)-β-Farnésène			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	α-Humulène			0,1	0,1	-	-	0,1	0,4	-	-	0,2	-	-
53	Rotundène			-	-	-	-	-	-	-	4,2	-	-	-
54	*allo*-Aromadendrène			-	0,2	0,2	0,8	0,4	1,3	-	-	1,1	-	-
55	Ishwarane			-	-	-	-	-	0,7	0,2	-	-	-	-
56	γ-Muurolène			-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-
57	Germacrène D			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	γ-Humulène			0,3	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
59	β-Sélinène			0,1	0,2	-	0,4	0,1	1,1	1,5	-	0,3	4,7	4,8
60	Lédène			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	α-Sélinène			-	-	-	-	0,2	0,8	0,8	-	0,3	4,2	1,9
62	Isodaucene			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	α-Muurolène			2,6	0,3	-	-	-	-	0,3	-	-	-	1,0
64	(*E*),(*E*)-α-Farnésène			-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	6,9	-
65	α-Bulnésène			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	β-Bisabolène			-	0,3	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-
67	γ-Cadinène			0,2	0,1	-	-	1,2	2,2	0,3	-	2,2	-	0,1
68	*trans*-Calamenène			-	-	-	-	0,1	-	-	-	1,6	-	-
69	δ-Cadinène			0,4	0,5	0,8	0,2	0,4	0,5	0,9	-	0,9	-	0,5
70	α-Calacorène			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	Sélina-4(15),7(11)-diène			-	-	-	-	-	3,4	-	-	1,0	-	-
72	β-Elémol			-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-
73	Sélina-3,7(11)-diène			-	-	-	-	-	2,0	-	-	0,4	-	-
74	(*E*)-Nérolidol			0,4	0,1	-	-	0,2	0,4	0,3	-	-	-	-
75	Germacrène B			-	-	-	-	-	1,3	-	-	-	-	-
76	Spathulénol			-	-	-	0,4	-	0,3	-	-	0,2	-	-
77	Oxyde de caryophyllène			0,2	0,1	-	-	-	0,8	0,5	-	0,2	0,2	0,3
78	Viridiflorol			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	Lédol			-	-	-	0,3	-	0,4	-	-	-	-	-
80	Oxyde d'humulène II			-	-	-	-	-	0,2	-	0,1	-	-	-
81	1,10-di-*épi*-Cubénol			-	-	-	-	0,2	0,2	-	-	0,2	-	-
82	τ-Cadinol			0,2	0,3	-	-	3,9	4,3	0,3	-	2,1	-	-
83	τ-Muurolol			0,3	0,1	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-
84	β-Eudesmol			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	α-Cadinol			-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-
86	α-Eudesmol			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TOTAL			**92,6**	**92,6**	**97,6**	**90,5**	**98,0**	**86,3**	**90,9**	**85,3**	**89,7**	**83,4**	**83,3**

Una : Université Nangui Abrogoua ; Mo : Montezo ; Kd : Kodioussou ; Ko : Kongofon

Annexe 9 : Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Dacryodes klaineana*.

	Composés	Ira	Irp	Adiopodoumé									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	α-Thujène	920	1 011	-	-	-	-	-	-	-	-	2,3	-
2	α-Pinène	928	1 011	0,1	0,1	0,1	0,7	0,5	0,1	-	1,5	0,4	-
3	Camphène	941	1 059	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-
4	Sabinène	962	1 118	-	-	-	-	-	-	-	-	4,8	-
5	β-Pinène	968	1 108	tr	tr	0,1	0,5	0,1	tr	-	0,2	0,1	-
6	Myrcène	978	1 155	0,7	0,1	52,9	0,1	0,6	0,1	1,7	0,6	tr	0,9
7	α-Phellandrène	994	1 160	-	-	-	-	0,2	-	-	0,2	1,0	-
8	δ-3-Carène	1 003	1 143	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	α-Terpinène	1 007	1 175	-	-	-	tr	tr	-	-	tr	7,4	-
10	*p*-Cymène	1 009	1 266	-	-	-	tr	0,1	-	-	0,1	2,3	-
11	Limonène	1 019	1 196	tr	0,1	-	0,1	4,2	0,1	0,1	6,9	0,4	tr
12	β-Phellandrène	1 019	1 206	-	-	-	tr	-	-	-	-	1,9	-
13	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 227	1,3	1,0	0,9	0,9	tr	1,1	0,9	-	-	38,8
14	(*E*)-β-Ocimène	1 034	1 244	52,8	40,1	1,4	27,8	tr	50,9	28,6	0,1	0,1	17,2
15	γ-Terpinène	1 046	1 240	-	-	-	tr	tr	-	-	0,1	12,1	-
16	*p*-Cymenène	1 070	1 432	-	-	-	-	0,3	-	-	0,5	0,1	-
17	Terpinolène	1 077	1 278	-	-	0,1	tr	27,8	-	-	43,2	2,9	-
18	Linalol	1 082	1 539	0,1	0,1	-	0,1	-	-	-	-	0,1	tr
19	*allo*-Ocimène	1 116	1 366	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9
20	Citronellal	1 130	1 473	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	*p*-cymène-8-ol	1 157	1 840	-	-	-	-	0,8	-	-	1,5	-	-
22	Terpinèn-4-ol	1 159	1 594	-	-	-	-	-	-	-	-	18,6	-
23	Myrtenal	1 167	1 621	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	α-Terpinéol	1 170	1 688	-	-	-	tr	-	-	-	-	0,8	-
25	Citronellol	1 208	1 756	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	δ-Elémène	1 334	1 462	-	-	0,1	-	-	-	-	-	0,1	-
27	α-Cubebène	1 347	1 449	0,1	tr	0,4	0,3	0,1	0,1	-	-	tr	0,1
28	α-Ylangène	1 370	1 474	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	0,1
29	α-Copaène	1 375	1 482	0,3	0,3	22,9	0,5	0,2	0,2	0,2	-	0,1	0,2
30	β-élémène	1 386	1 580	0,5	0,6	0,4	-	0,8	0,4	0,4	0,1	0,2	0,3
31	α-gurjunène	1 407	1 520	-	0,8	-	-	-	-	-	17,0	-	-
32	*cis*-α-bergamotène	1 409	1 558	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
33	β-Ylangène	1 415	1 563	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	0,1
34	(*E*)-β-Caryophyllène	1 414	1 586	2,4	11,0	0,8	23,9	35,0	9,1	11,3	1,5	12,3	22,7
35	β-Copaène	1 426	1 580	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	0,2

	Composés	Ira	Irp	Adiopodoumé									
				1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
36	γ-Elémène	1 426	1 627	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	*trans*-α-Bergamotène	1 432	1 576	-	-	-	0,1	-	-	-	0,3	0,2	-
38	Aromadendrène	1 436	1 596	-	3,0	0,1	-	-	-	-	-	-	-
39	(*E*)-β-Farnésène	1 445	1 656	-	0,8	-	-	-	-	-	1,1	-	-
40	α-Humulène	1 450	1 660	-	2,3	0,1	32,5	6,6	1,8	21,4	-	26,8	4,1
41	*allo*-aromadendrène	1 459	1 637	1,4	2,0	-	-	-	-	-	0,3	-	-
42	γ-Muurolène	1 470	1 676	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	0,7
43	Germacrène D	1 474	1 696	4,0	0,6	0,3	-	0,6	4,2	0,3	0,1	0,2	4,7
44	*trans*-β-Bergamotène	1 478	1 673	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	β-Sélinène	1 480	1 707	-	4,8	-	-	7,7	-	-	-	0,1	-
46	α-Sélinène	1 489	1 712	-	2,6	-	-	4,4	-	-	-	0,1	-
47	Lédène	1 490	1 683	3,6	3,0	0,3	-	-	-	-	-	-	-
48	Bicyclogermacrène	1 490	1 721	7,6	8,3	0,4	-	-	-	-	-	-	-
49	α-Muurolène	1 493	1 712	-	0,2	0,3	-	-	0,4	-	-	-	0,6
50	Isodaucene	1 493	1 720	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1 497	1 739	0,2	0,2	0,2	-	-	22,0	22,3	13,4	-	-
52	β-Bisabolene	1 501	1 715	-	0,9	-	0,6	-	-	-	1,0	0,7	-
53	γ-Cadinène	1 504	1 744	0,2	0,1	-	-	-	0,3	-	-	-	0,4
54	*trans*-Calamenène	1 508	1 819	-	0,1	-	0,6	0,4	0,1	0,2	-	0,1	0,1
55	δ-Cadinène	1 513	1 744	1,2	0,3	11,9	0,1	0,3	1,3	0,2	-	0,1	1,9
56	Germacrène B	1 550	1 814	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	Palustrol	1 558	1 914	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-
58	Spathunénol	1 562	2 108	2,4	3,7	-	0,1	0,1	-	0,1	-	-	tr
59	Oxyde de caryophyllène	1 568	1 968	-	0,5	-	1,7	1,9	0,1	2,1	-	0,4	0,7
60	Globulol	1 572	2 060	2,4	1,9	-	-	-	0,9	-	-	-	-
61	Viridiflorol	1 580	2 068	1,4	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-
62	Rosifoliol	1 588	2 090	0,5	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-
63	Oxyde d'humulène II	1 593	2 024	-	-	-	2,0	0,3	0,1	3,5	-	0,6	0,1
64	α-Cadinol	1 637	2 215	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TOTAL			**83,6**	**91,6**	**93,7**	**92,6**	**93,0**	**94,0**	**93,3**	**90,4**	**97,3**	**94,8**

	Composés	Ira	Irp	Dzeudji										
				11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	α-Thujène	920	1 011	2,1	0,1	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-
2	α-Pinène	928	1 011	4,6	2,5	-	0,5	30,4	0,5	0,2	0,4	0,1	2,2	0,7
3	Camphène	941	1 059	0,3	tr	-	tr	3,5	-	-	-	-	-	0,1
4	Sabinène	962	1 118	0,2	tr	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-
5	β-Pinène	968	1 108	1,7	0,4	-	0,2	12,5	0,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2
6	Myrcène	978	1 155	0,8	0,3	tr	0,6	-	0,3	32,5	0,7	0,4	0,1	0,4
7	α-Phellandrène	994	1 160	tr	0,2	-	tr	-	tr	-	-	-	-	0,2
8	δ-3-Carène	1 003	1 143	tr	0,1	0,7	-	tr	-	-	-	-	-	-
9	α-Terpinène	1 007	1 175	1,4	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
10	*p*-Cymène	1 009	1 266	5,7	0,3	0,1	0,1	2,5	0,3	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
11	Limonène	1 019	1 196	0,6	6,2	0,1	1,4	2,4	5,4	0,5	0,1	0,1	0,2	4,8
12	β-Phellandrène	1 019	1 206	0,5	-	-	-	0,9	-	0,2	-	-	-	-
13	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 227	0,3	tr	0,1	13,2	tr	-	0,8	2,5	0,8	0,5	-
14	(*E*)-β-Ocimène	1 034	1 244	7,6	0,1	3,5	1,1	-	-	0,1	0,2	17,0	9,5	-
15	γ-Terpinène	1 046	1 240	1,8	0,1	-	-	0,1	-	-	-	-	-	0,1
16	*p*-Cymenène	1 070	1 432	0,2	0,6	-	0,3	0,1	1,2	-	-	-	-	0,5
17	Terpinolène	1 077	1 278	0,6	32,3	-	5,7	0,2	13,3	0,7	-	-	-	38,0
18	Linalol	1 082	1 539	-	-	-	-	0,2	-	tr	0,1	0,1	-	0,1
19	*allo*-Ocimène	1 116	1 366	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-
20	Citronellal	1 130	1 473	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	*p*-cymène-8-ol	1 157	1 840	-	2,3	-	0,6	0,2	4,3	0,1	-	-	-	1,1
22	Terpinèn-4-ol	1 159	1 594	0,9	-	0,2	-	1,5	-	-	-	-	-	-
23	Myrtenal	1 167	1 621	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
24	α-Terpinéol	1 170	1 688	0,3	-	-	-	2,4	-	-	-	-	-	-
25	Citronellol	1 208	1 756	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	δ-Elémène	1 334	1 462	0,6	-	0,6	1,1	4,0	-	-	0,6	0,5	-	-
27	α-Cubebène	1 347	1 449	-	0,6	-	tr	0,3	0,9	-	-	-	-	0,4
28	α-Ylangène	1 370	1 474	-	-	15,1	-	0,1	-	-	-	-	-	-
29	α-Copaène	1 375	1 482	1,6	5,3	0,8	0,2	3,6	10,3	0,1	0,3	0,2	0,3	5,4
30	β-élémène	1 386	1 580	1,2	0,4	1,2	1,0	1,5	0,9	0,2	1,2	1,0	0,4	-
31	α-gurjunène	1 407	1 520	-	-	-	-	-	-	3,2	-	-	-	-
32	*cis*-α-bergamotène	1 409	1 558	-	-	7,4	0,5	0,1	-	30,0	1,2	1,8	-	-
33	β-Ylangène	1 415	1 563	0,7	-	10,3	0,2	0,3	0,2	-	0,6	-	-	-
34	(*E*)-β-Caryophyllène	1 414	1 586	3,5	16,9	3,5	3,7	2,7	10,7	0,2	1,9	1,5	2,1	12,3
35	β-Copaène	1 426	1 580	2,7	-	2,4	-	2,9	-	0,5	-	-	0,2	-

	Composés	Ira	Irp	Dzeudji										
				11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
36	γ-Elémène	1 426	1 627	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	*trans*-α-Bergamotène	1 432	1 576	-	-	3,0	1,2	-	-	1,8	33,9	47,3	-	-
38	Aromadendrène	1 436	1 596	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
39	(*E*)-β-Farnésène	1 445	1 656	-	-	9,9	2,8	-	-	0,9	2,7	3,0	62,0	-
40	α-Humulène	1 450	1 660	0,8	2,9	-	-	0,7	2,3	-	-	-	-	2,3
41	*allo*-aromadendrène	1 459	1 637	46,2	0,5	-	-	0,2	1,0	-	-	-	-	-
42	γ-Muurolène	1 470	1 676	-	0,4	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-
43	Germacrène D	1 474	1 696	1,0	4,2	0,8	-	3,0	9,6	-	0,6	-	-	4,5
44	*trans*-β-Bergamotène	1 478	1 673	0,1	-	-	0,6	0,4	-	-	-	-	-	-
45	β-Sélinène	1 480	1 707	1,7	0,5	-	-	0,4	-	-	0,3	-	-	-
46	α-Sélinène	1 489	1 712	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	Lédène	1 490	1 683	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	Bicyclogermacrène	1 490	1 721	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	α-Muurolène	1 493	1 712	0,7	1,4	0,9	-	-	1,6	-	-	-	0,3	0,6
50	Isodaucene	1 493	1 720	-	-	-	50,8	-	-	-	37,0	-	-	-
51	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1 497	1 739	-	-	3,3	-	-	4,1	10,3	-	11,1	3,9	12,4
52	β-Bisabolene	1 501	1 715	0,2	0,1	11,0	2,6	-	-	2,0	2,1	1,8	0,5	-
53	γ-Cadinène	1 504	1 744	0,1	0,2	0,3	-	-	0,3	-	0,3	-	-	-
54	*trans*-Calamenène	1 508	1 819	0,2	0,2	0,3	-	-	0,8	-	0,1	-	-	-
55	δ-Cadinène	1 513	1 744	1,5	6,5	1,1	-	0,4	5,6	-	-	-	-	5,8
56	Germacrène B	1 550	1 814	-	-	2,0	-	0,4	-	-	-	-	-	-
57	Palustrol	1 558	1 914	-	-	-	-	2,2	-	-	-	-	-	-
58	Spathunénol	1 562	2 108	0,2	0,1	-	-	0,1	0,1	-	0,2	tr	-	0,1
59	Oxyde de caryophyllène	1 568	1 968	0,9	1,7	1,0	0,1	1,9	5,1	0,3	1,7	0,5	2,4	-
60	Globulol	1 572	2 060	-	-	-	0,7	-	-	-	-	-	-	-
61	Viridiflorol	1 580	2 068	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	Rosifoliol	1 588	2 090	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	Oxyde d'humulène II	1 593	2 024	-	-	-	0,1	-	1,1	-	-	-	-	-
64	α-Cadinol	1 637	2 215	-	-	-	-	-	0,3	-	-	0,4	-	-
	TOTAL			**94,6**	**87,5**	**81,1**	**89,6**	**82,9**	**81,2**	**84,8**	**89,0**	**87,8**	**85,1**	**90,2**

	Composés	Ira	Irp	Kongofon				Una	Mo	Yapo abbé		
				22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	α-Thujène	920	1 011	-	-	-	-	-	0,1	-	-	1,4
2	α-Pinène	928	1 011	1,5	0,2	0,9	19,1	-	0,4	1,0	8,2	-
3	Camphène	941	1 059	0,1	-	-	0,1	-	-	-	0,1	-
4	Sabinène	962	1 118	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
5	β-Pinène	968	1 108	0,1	tr	tr	2,4	tr	0,1	0,2	1,5	0,2
6	Myrcène	978	1 155	0,1	25,6	0,2	tr	0,8	0,2	0,3	0,6	0,2
7	α-Phellandrène	994	1 160	14,3	-	13,0	-	-	0,1	-	0,2	0,3
8	δ-3-Carène	1 003	1 143	0,1	-	tr	-	-	0,1	-	-	-
9	α-Terpinène	1 007	1 175	2,3	-	0,1	-	-	3,5	-	0,1	0,1
10	*p*-Cymène	1 009	1 266	21,5	0,2	8,6	0,3	-	1,7	0,1	0,2	1,8
11	Limonène	1 019	1 196	2,0	0,8	8,6	1,3	tr	0,1	0,9	6,9	6,0
12	β-Phellandrène	1 019	1 206	3,7	0,1	2,6	0,1	-	0,2	-	-	-
13	(*Z*)-β-Ocimène	1 024	1 227	-	0,1	-	-	38,4	0,9	0,4	0,1	-
14	(*E*)-β-Ocimène	1 034	1 244	tr	0,3	-	-	15,6	45,9	10,2	0,1	-
15	γ-Terpinène	1 046	1 240	2,3	-	-	-	-	2,4	-	0,1	0,1
16	*p*-Cymenène	1 070	1 432	1,2	0,1	0,4	-	-	0,1	0,1	0,6	0,6
17	Terpinolène	1 077	1 278	0,3	0,6	0,3	0,3	-	-	2,4	40,8	20,0
18	Linalol	1 082	1 539	0,3	0,1	0,2	-	0,1	0,1	-	-	-
19	*allo*-Ocimène	1 116	1 366	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-
20	Citronellal	1 130	1 473	-	-	1,4	-	-	-	-	-	-
21	*p*-cymène-8-ol	1 157	1 840	0,3	0,5	0,2	-	-	-	0,6	2,3	4,0
22	Terpinèn-4-ol	1 159	1 594	0,4	tr	0,1	0,3	-	-	-	0,1	0,2
23	Myrtenal	1 167	1 621	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	α-Terpinéol	1 170	1 688	0,2	tr	0,1	1,0	-	tr	tr	0,3	0,1
25	Citronellol	1 208	1 756	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-
26	δ-Elémène	1 334	1 462	-	-	-	-	-	1,0	0,4	0,3	-
27	α-Cubebène	1 347	1 449	0,1	-	0,7	-	-	0,1	tr	0,1	-
28	α-Ylangène	1 370	1 474	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
29	α-Copaène	1 375	1 482	0,4	0,2	6,9	0,1	0,1	0,3	1,4	1,0	0,1
30	β-élémène	1 386	1 580	0,2	-	0,3	-	0,1	0,5	0,8	0,6	0,2
31	α-gurjunène	1 407	1 520	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	*cis*-α-bergamotène	1 409	1 558	0,2	0,4	-	-	-	-	-	1,9	-
33	β-Ylangène	1 415	1 563	-	1,0	-	-	-	0,4	-	-	-
34	(*E*)-β-Caryophyllène	1 414	1 586	15,9	9,1	33,4	-	5,8	3,8	17,8	5,5	14,0
35	β-Copaène	1 426	1 580	0,2	-	-	-	-	0,5	3,6	2,3	-

	Composés	Ira	Irp	Kongofon				Una	Mo	Yapo abbé		
				22	23	24	25	26	27	28	29	30
36	γ-Elémène	1 426	1 627	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-
37	*trans*-α-Bergamotène	1 432	1 576	-	20,6	-	38,9	-	-	-	-	-
38	Aromadendrène	1 436	1 596	-	tr	-	-	2,6	-	-	-	-
39	(*E*)-β-Farnésène	1 445	1 656	-	-	-	0,3	-	-	-	2,0	-
40	α-Humulène	1 450	1 660	3,2	16,4	6,3	-	0,8	-	39,9	-	25,0
41	*allo*-aromadendrène	1 459	1 637	0,2	-	-	1,8	1,6	-	-	-	-
42	γ-Muurolène	1 470	1 676	0,7	-	0,3	-	-	1,6	0,5	1,0	-
43	Germacrène D	1 474	1 696	0,6	-	-	-	0,8	13,5	0,5	3,5	0,1
44	*trans*-β-Bergamotène	1 478	1 673	-	10,4	-	18,7	-	-	-	-	-
45	β-Sélinène	1 480	1 707	0,2	-	0,1	-	-	-	0,5	0,2	0,9
46	α-Sélinène	1 489	1 712	0,3	0,1	-	-	-	-	0,4	-	0,4
47	Lédène	1 490	1 683	-	-	-	-	3,5	-	-	-	-
48	Bicyclogermacrène	1 490	1 721	-	-	-	-	11,1	-	-	-	-
49	α-Muurolène	1 493	1 712	0,6	0,1	0,3	-	-	-	0,9	1,1	-
50	Isodaucene	1 493	1 720	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	(*E*),(*E*)-α-Farnésène	1 497	1 739	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	β-Bisabolene	1 501	1 715	0,1	0,4	-	0,3	-	-	-	1,9	-
53	γ-Cadinène	1 504	1 744	-	0,1	0,1	-	-	0,9	0,2	0,5	-
54	*trans*-Calamenène	1 508	1 819	0,2	tr	1,7	-	-	-	0,1	-	-
55	δ-Cadinène	1 513	1 744	1,5	-	1,5	-	0,3	3,7	0,7	2,2	0,3
56	Germacrène B	1 550	1 814	-	0,1	-	-	-	2,3	-	-	-
57	Palustrol	1 558	1 914	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	Spathunénol	1 562	2 108	0,2	-	-	-	3,8	0,1	-	0,1	-
59	Oxyde de caryophyllène	1 568	1 968	4,9	2,0	4,4	-	0,1	0,3	3,1	0,5	3,4
60	Globulol	1 572	2 060	0,2	-	-	-	1,9	-	-	-	-
61	Viridiflorol	1 580	2 068	-	-	-	-	1,3	-	-	-	-
62	Rosifoliol	1 588	2 090	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-
63	Oxyde d'humulène II	1 593	2 024	0,9	2,7	0,6	-	-	-	5,3	-	2,9
64	α-Cadinol	1 637	2 215	0,7	-	-	-	-	1,2	-	0,7	-
	TOTAL			**82,3**	**92,2**	**93,5**	**85,0**	**90,0**	**87,0**	**92,3**	**87,6**	**82,3**

PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

Natural Product Research
Formerly Natural Product Letters

ISSN: 1478-6419 (Print) 1478-6427 (Online) Journal homepage: http://www.tandfonline.com/loi/gnpl20

Chemical composition of Ivorian Artabotrys insignis leaf oil. Combined analysis including ^{13}C NMR, to quantify germacrene A and β-elemene

Stéphane G. Gooré, Zana A. Ouattara, Thierry A. Yapi, Yves-Alain Békro, Pierre Tomi, Mathieu Paoli & Félix Tomi

To cite this article: Stéphane G. Gooré, Zana A. Ouattara, Thierry A. Yapi, Yves-Alain Békro, Pierre Tomi, Mathieu Paoli & Félix Tomi (2017): Chemical composition of Ivorian Artabotrys insignis leaf oil. Combined analysis including ^{13}C NMR, to quantify germacrene A and β-elemene, Natural Product Research, DOI: 10.1080/14786419.2017.1292269

To link to this article: http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1292269

View supplementary material

Published online: 20 Feb 2017.

Submit your article to this journal

View related articles

View Crossmark data

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=gnpl20

Download by: [University of Newcastle, Australia] **Date:** 21 February 2017, At: 02:31

NATURAL PRODUCT RESEARCH, 2017
http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1292269

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

SHORT COMMUNICATION

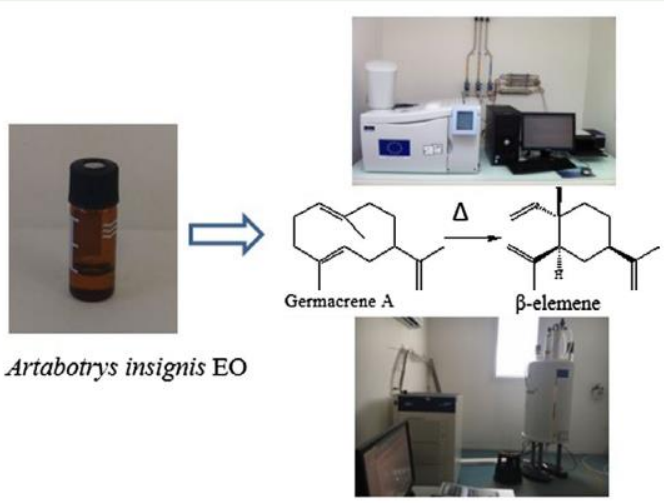
Chemical composition of Ivorian *Artabotrys insignis* leaf oil. Combined analysis including ^{13}C NMR, to quantify germacrene A and β-elemene

Stéphane G. Gooré[a,c], Zana A. Ouattara[a], Thierry A. Yapi[b], Yves-Alain Békro[a], Pierre Tomi[c], Mathieu Paoli[c] and Félix Tomi[c]

[a]Laboratoire de Chimie BioOrganique et de Substances Naturelles, UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire; [b]Laboratoire de Chimie Organique Biologique, UFR-SSMT, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire; [c]Equipe Chimie et Biomasse, Université de Corse-CNRS, UMR 6134 SPE, Ajaccio, France

ABSTRACT

The chemical composition of leaf essential oil from *Artabotrys insignis* Engler & Diels collected from Cote d'Ivoire was determined by GC(FID), GC-MS and ^{13}C NMR. The main compounds were β-elemene (66.8%) and germacrene A (17.1%). The true content of germacrene A/β-elemene was obtained by combining GC(FID) and ^{13}C NMR data.



ARTICLE HISTORY
Received 28 November 2016
Accepted 28 January 2017

KEYWORDS
Artabotrys insignis; annonaceae; Côte d'Ivoire; essential oil; ^{13}C NMR

1. Introduction

Generally distributed in tropical and subtropical regions, mainly found in tropical Africa and East Asia (Sagen et al. 2003), the genus *Artabotrys* is one of the most diverse of the family

CONTACT Félix Tomi felix.tomi@univ-corse.fr
Supplemental data for this article can be accessed at http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1292269.

© 2017 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

Annonaceae comprising more than 100 species. They are either climbing and evergreen shrubs or woody lianas, with alternate simple entire leaves. Five species grow wild in dense rain forests in Côte d'Ivoire, namely *Artabotrys hispidus*, *A. insignis*, *A. jollyanus*, *A. oliganthus* and *A. velutinus*.

Artabotrys insignis Engler & Diels is a persistent liana with oblong leaves [length: 7–20 cm, width: 3–10 cm], its limb presents a cuneiform base and an acuminated apex. The flowers with yellow petals are elliptical [length: 30 mm], grouped by 1–3 in axillary inflorescences. The fruits are composed of ovoid carpels and long stipitate (http://www.plantes-botanique.org).

A number of important works on the phytochemistry of the genus has already been undertaken, highlighting the presence of alkaloids in *A. uncinatus* (Hsieh et al. 1999), *A. crassifolius* (Tan et al. 2014, 2015), *A. odoratissimus* (Kabir 2010) or polyphenols (Andriamadio et al. 2015). More than 15 species have been investigated concerning the chemical composition of essential oils (Ouattara et al. 2011).

In the course of ongoing work on the chemical characterisation of essential oils from Côte d'Ivoire (Ouattara et al. 2011, 2013; Yapi et al. 2012, 2013), we investigated the chemical composition of the essential oil isolated from leaves of *A. insignis* by combining chromatographic [GC(FID), GC(RI)] and spectroscopic techniques (GC-MS, ^{13}C NMR).

2. Results and discussion

Eighteen compounds representing 94.4% of the total relative composition of the essential oil were identified (Table 1). The major components of that oil were mainly sesquiterpene hydrocarbons: β-elemene (80%), β- and α-selinenes (3.4 and 3.2%), respectively. However, a discrepancy appeared concerning the ratio germacrene A/β-elemene. Germacrene A has also been identified in the sample by GC-MS and GC(RI), and according to GC(FID) it accounted

Table 1. Chemical composition of *Artabotrys insignis* leaf oil.

	Components	RI_{lit}	RI_a	RI_p	Percentage	Identification
1	α-Pinene	936	929	1015	0.2	RI, MS
2	Camphene	950	942	1065	tr	RI, MS
3	β-Pinene	978	969	1112	tr	RI, MS
4	Myrcene	987	979	1160	0.1	RI, MS
5	Limonene	1025	1019	1201	0.1	RI, MS
6	(*Z*)-β-Ocimene	1029	1024	1233	tr	RI, MS
7	*cis*-β-Elemene	1381	1379	1573	artefact	RI, MS
8	β-Elemene#	1389	1385	1587	66.8	RI, MS, ^{13}C NMR
9	α-Santalene*	1422	1416	1566	0.2	RI, MS
10	(*E*)-β-Caryophyllene*	1421	1416	1593	0.4	RI, MS
11	α-Humulene	1455	1448	1665	0.1	RI, MS
12	Selina-4,11-diene	1475	1470	1667	0.8	RI, MS, ^{13}C NMR
13	Germacrene D	1479	1474	1704	0.5	RI, MS, ^{13}C NMR
14	β-Selinene	1486	1480	1713	3.4	RI, MS, ^{13}C NMR
15	α-Selinene	1494	1490	1718	3.2	RI, MS, ^{13}C NMR
16	Germacrene A#	1503	1499	ND	17.1	RI, MS, ^{13}C NMR
17	δ-Cadinene	1520	1513	1751	0.3	RI, MS
18	Selina-11-en-4α-ol	–	1635	2241	1.0	RI, MS, ^{13}C NMR
Total identified					94.2	

Notes: Order of elution and contents determined on the apolar column (BP-1), except for compounds with indicated with an asterisk

*percentages (polar column BP-20); RI_{lit}, literature indices; RI_a, Ri_p, retention indices measured on apolar and polar columns, respectively.; #content determined by combination of GC(FID) and ^{13}C NMR data; tr = trace (<0.05%); ND: non determined.

for only 0.5% of the whole composition. However, according to the relative intensities of its signals in the ^{13}C NMR spectrum, with respect to those of other components, the content of germacrene A was obviously underevaluated by GC(FID). The intensities of its ^{13}C NMR signals were three times lower than those of β-elemene. Germacrenes were known to undergo thermal rearrangement through a [3.3]-sigmatropic reaction (Cope rearrangement). A more accurate quantification was obtained by comparing the contents of the germacrene form and the corresponding elemene calculated by GC(FID) with the relative intensities of the signals of both molecules in the ^{13}C NMR spectrum of the mixture, recorded at room temperature avoiding thermal rearrangement (Ouattara et al. 2013). The corrected percentages of β-elemene (66.8%) and germacrene A (17.1%) were introduced in table 1. We noticed the presence of cis-β-elemene on GC (3.9%), which was not identified by ^{13}C NMR. This compound was an artefact generated from germacrene A by thermal rearrangement (Adio et al. 2004).

This chemical composition of the leaf essential oil, dominated by olefinic sesquiterpenes, differed from:

- those of *A. oliganthus* oils from Cote d'Ivoire (Ouattara et al. 2011), characterised by a high amount of monoterpenes. Leaf and fruit oils were dominated by δ-3-carene (60.2/10.6%) and myrcene (16.3/59.2%) and stem bark oil by δ-3-carene (57.2%);
- root and trunk bark oils of the *A. insignis* from Zaire (currently named Democratic Republic of Congo) (Fournier et al. 1999) dominated by oxygenated sesquiterpenes such as caryophyllene oxide (31.4%), δ-cadinol (10.7%), caryophyllenol (8.2%) and 1,5-epoxy-salvial-4(14)-ene (8.1%) for root oil and 1,5-epoxy-salvial-4(14)-ene (27.3%), widdrol (7.5%) for stem bark oil;
- leaf oil *of A. velutinus* from Benin dominated by benzyl benzoate (61.2%) (Yovo et al. 2016).
- bark oil of *A. lastourvillensis* from Gabon characterised by cyperene (25.9%) and cyperenone (11.1%) (Menut et al. 1992).

For the first time, the composition of the leaf essential oil of *A. insignis* growing wild in Côte d'Ivoire was described and exhibited an original composition dominated by the association β-elemene/germacrene A. ^{13}C NMR spectroscopy was very useful for the determination of the relative percentages of both major components.

Acknowledgements

The authors are grateful to the CASES, (NGO) for financial support.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

References

Adio AM, Paul C, Tesso H, Kloth P, König WA. 2004. Absolute configuration of helminthogermacrene. Tetrahedron: Asymmetry. 15:1631–1635.

Andriamadio JH, Rasoanaivo LH, Benedec D, Vlase L, Gheldiu AM, Duma M, Toiu A, Raharisololalao A , Oniga I. 2015. HPLC/MS analysis of polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of Artabotrys hildebrandtii O. Hffm. extracts. Nat Prod Res. 29:2188–2196.

Fournier G, Leboeuf M, Cavé A. 1999. Annonaceae essential oils: a review. J Essent Oil Res. 11:131–142.
Hsieh TJ, Chen CY, Kuo RY, Chang FR, Wu YC. 1999. Two new alkaloids from *Artabotrys uncinatus*. J Nat Prod. 62:1192–1193. [cited Aug 2016]. Available from: http://www.plantes-botanique.org
Kabir KE. 2010. Larvicidal effect of an alkaloidal fraction of *Artabotrys odoratissimus* (Annonaceae) bark against the filarial mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Int J Trop Insect Sci. 30:167–169.
Menut C, Lamaty G, Bessière JM, Mve-Mba CE, Affane-Nguema JP. 1992. Aromatic plants of tropical Central Africa. VI. The essential oil of *Artabotrys lastourvillensis* Pell, from Gabon. J Essent Oil Res. 4:305–307.
Ouattara ZA, Boti JB, Ahibo CA, Casanova J, Tomi F, Bighelli A. 2011. *Artabotrys oliganthus* engl. & diels from ivory coast: Composition of leaf, stem bark and fruit Oils. J Essent Oil Bear Pl. 14:1–4.
Ouattara ZA, Boti JB, Ahibo AC, Casanova J, Tomi F, Bighelli A. 2013. Analysis of cleistopholis patens leaf and trunk bark oils using combined GC- flame ionisation detection, GC-retention index, GC-MS and 13 C-NMR. Phytochem Anal. 24:574–580.
Sagen AL, Sahpaz S, Mavi S, Hostettmann K. 2003. Isoquinoline alkaloids from Artabotrys brachypetalus. Biochem Syst Ecol. 31:1447–1449.
Tan KK, Wiart C. 2014. Botanical descriptions, ethnomedicinal and non-medicinal uses of the genus Artabotrys R.BR. Int J Current Pharm Res. 6:34–40.
Tan KK, Khoo TJ, Rajagopal M, Wiart C. 2015. Antibacterial alkaloids from *Artabotrys crassifolius* Hook.f. & Thomson. Nat Prod Res. 29:2346–2349.
Yapi TA, Boti JB, Attioua BK, Ahibo AC, Bighelli A, Casanova J, Tomi F. 2012. Three new natural compounds from the root bark essential oil from xylopia aethiopic a. Phytochem Anal. 23:651–656.
Yapi TA, Boti JB, Ahibo AC, Bighelli A, Casanova J, Tomi F. 2013. Combined analysis of Xylopia rubescens Oliv. leaf oil using gas chromatography with flame ionization detection, gas chromatography with mass spectrometry and 13 C nuclear magnetic resonance: structure elucidation of new compounds. Flavour Frag J. 28:373–379.
Yovo M, Alitonou GA, Yedomonhan H, Tchobo F, Dedome O, Sessou P, Avlessi F, Menut C, Sohounhloué D. 2016. First report on chemical composition and antimicrobial activity of *Artabotrys velutinus* Scott-Elliot extracts against some clinical strains in Benin. Am J Applied Chem. 4:71–76.

Revista Brasileira de Farmacognosia 27 (2017) 414–418

Brazilian Journal of Pharmacognosy
REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA
www.elsevier.com/locate/bjp

Original Article

Chemical composition of the leaf oil of *Artabotrys jollyanus* from Côte d'Ivoire

Stéphane G. Gooré[a,c], Zana A. Ouattara[a], Acafou T. Yapi[b], Yves-Alain Békro[a], Ange Bighelli[c], Mathieu Paoli[c], Felix Tomi[c,*]

[a] *Laboratoire de Chimie BioOrganique et de Substances Naturelles, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire*
[b] *Laboratoire de Chimie Organique Biologique, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire*
[c] *Université de Corse-Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 6134, Equipe Chimie et Biomasse, Ajaccio, France*

ARTICLE INFO

Article history:
Received 29 September 2016
Accepted 3 April 2017
Available online 2 May 2017

Keywords:
7-Hydroxycalamenene
Essential oil
Côte d'Ivoire
^{13}C NMR
Sesquiterpenes

ABSTRACT

One oil sample isolated from leaves of *Artabotrys jollyanus* Pierre, Annonaceae, from Côte d'Ivoire has been analyzed by GC(RI), GC-MS and ^{13}C NMR. In total, thirty-seven compounds accounting for 96.9% of the relative composition have been identified. The composition of the essential oil was dominated by *trans*-calamenene (15.7%), α-copaene (14.8%), α-cubebene (10.4%), cadina-3,5-diene (10.3%), (*E*)-β-caryophyllene (6.3%) and cadina-1,4-diene (6.1%). ^{13}C NMR spectroscopy was very useful in the identification of *trans*-calamenene, 7-hydroxycalamenene, cadina-3,5-diene and cadina-1,4-diene. Moreover, monitoring the evolution of the leaf essential oil composition and the yield on a 12-month period (one sample per month) was achieved. The twelve essential oil samples exhibited a chemical homogeneity but the yield varied from sample to sample (0.26–0.60%).

© 2017 Sociedade Brasileira de Farmacognosia. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Introduction

Generally distributed in tropical and subtropical regions, mainly in tropical Africa and Eastern Asia, the genus *Artabotrys*, family Annonaceae, contains more than 100 species (Sagen et al., 2003). In Côte d'Ivoire, five species grow wild in dense rain forests, namely *Artabotrys hispidus* Sprague & Hutch., *A. insignis* Engler & Diels, *A. jollyanus* Pierre, *A. oliganthus* Engler & Diels and *A. velutinus* Sc. Elliot. They are either climbing and evergreen shrubs or woody lianas.

Artabotrys jollyanus is a climbing shrub with persistent elliptic oblong leaves, 15–21 cm in length, 7–9 cm width. The limb base is rounded to cuneate and its apex acuminate. Flower petals are elliptical (25 mm in length), grouped in dense axillary inflorescences (http://www.plantes-botanique.org).

Ethnomedicinal uses of species of the genus *Artabotrys* have been reviewed (Tan and Wiart, 2014). Numerous papers reported on the phytochemistry of this genus and highlighted the presence of alkaloids in *A. uncinatus* (Lam.) Merr. (Hsieh et al., 1999), *A. crassifolius* Hook. f. & Thomson (Tan et al., 2015), *A. hexapetalus* (L. f.) Bhandare (Zhou et al., 2015), *A. odoratissimus* R.Br. (Kabir, 2010), or polyphenols in *A. hildebrandtii* O. Hffm. (Andriamadioa et al., 2015), *A. hexapetalus* (Li et al., 1997; Somanawat et al., 2012). Concerning the chemical composition of essential oils more than fifteen species have been investigated (Hung et al., 2014) and sesquiterpenes were often the major components (Menut et al., 1992; Fournier et al., 1999; Thang et al., 2014). To our knowledge no investigations have been undertaken to date on the chemical composition of *A. jollyanus* essential oil.

In continuation of our on-going work related to the characterization of aromatic and medicinal Annonaceae from Côte d'Ivoire (Yapi et al., 2012, 2013, 2014; Ouattara et al., 2011; Ouattara et al., 2013, 2014) the chemical composition of the essential oil isolated from leaves of *A. jollyanus* has been investigated by combination of chromatographic [GC-FID, GC(RI)] and spectroscopic techniques (MS, ^{13}C NMR). Firstly, we report the detailed leaf essential oil composition of a selected sample. Secondly, the temporal variation of leaf oil composition was studied by analyzing eleven other leaf samples collected along the vegetative cycle.

Materials and methods

Plant material

Leaves from *Artabotrys jollyanus* Pierre, Annonaceae, have been harvested (April 2014 - March 2015) in the Adiopodoumé forest

* Corresponding author.
E-mail: tomi_f@univ-corse.fr (F. Tomi).

http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2017.04.001
0102-695X/© 2017 Sociedade Brasileira de Farmacognosia. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Fig. 1. Locality of harvest of leaves of *A. jollyanus* from Côte d'Ivoire.

on Abidjan-Dabou axis (southern Côte d'Ivoire, 5°19′50.074″ N, 4°7′41.109″ O, Fig. 1). The plant species was identified by M. Assi Jean, technician at the Herbarium of the Centre National of Floristique (Félix Houphouët-Boigny University, Abidjan-Cocody/Côte d'Ivoire) where voucher specimen was deposited with number LAA 7650.

Essential oil isolation

Essential oil (EO) samples were obtained by hydrodistillation from the fresh leaves (300 g) with a Clevenger-type apparatus for a period of 3.5 h; the essential oils (S1-S12) were dried over anhydrous sodium sulphate (Na_2SO_4), and then stored in a freezer until analysis. The yields, calculated on the fresh weight basis (w/w), were comprised between 0.26% and 0.60%. All oil samples were light yellow coloured.

Gas chromatography (GC) analyses

Analyses were performed on a Clarus 500 PerkinElmer (PerkinElmer, Courtaboeuf, France) system equipped with a FID and two fused-silica capillary columns (50 m × 0.22 mm, film thickness 0.25 μm), BP-1 (polydimethylsiloxane) and BP-20 (polyethylene glycol). The oven temperature was programmed from 60 °C to 220 °C at 2 °C/min and then held isothermal at 220 °C for 20 min; injector temperature: 250 °C; detector temperature: 250 °C; carrier gas: helium (0.8 ml/min); split: 1/60; injected volume: 0.5 μl. The relative proportions of the oil constituents were expressed as percentages obtained by peak-area normalization, without using correction factors. Retention indices (RI) were determined relative to the retention times of a series of *n*-alkanes (C7-C28) with linear interpolation (Target Compounds software from Perkin Elmer).

Gas chromatography–mass spectroscopy (GC/MS) analyses

The essential oils were analyzed with a Perkin-Elmer TurboMass detector (quadrupole), directly coupled to a Perkin-Elmer Autosystem equipped with a fused-silica capillary column (50 m × 0.22 mm i.d., film thickness 0.25 μm), BP-1 (dimethylpolysiloxane). Carrier gas, helium at 0.8 ml/min; split, 1/60; injection volume, 0.5 μl; injector temperature, 250 °C; oven temperature programmed from 60 °C to 220 °C at 2 °C/min and then held isothermal (20 min); Ion source temperature, 250 °C; energy ionization, 70 eV; electron ionization mass spectra were acquired over the mass range 40–400 Da.

^{13}C NMR analyses

^{13}C NMR analysis were performed on a Bruker AVANCE 400 Fourier Transform spectrometer operating at 100.63 MHz for ^{13}C, equipped with a 5 mm probe, in deuterated chloroform ($CDCl_3$), with all shifts referred to internal tetramethylsilane (TMS). ^{13}C NMR spectra were recorded with the following parameters: pulse width (PW), 5 μs (flip angle 45°); acquisition time, 2.7 s for 128 K data table with a spectral width (SW) of 25,000 Hz (250 ppm); digital resolution 0.183 Hz/pt. The number of accumulated scans was 2500 for each sample (about 50 mg of essential oil in 0.5 ml of $CDCl_3$).

Identification of individual components

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 with linear interpolation with those of authentic compounds or literature data; (b) on computer matching with laboratory-made and commercial mass spectral libraries (König et al., 2001; Adams, 2007; US National Institute of Standards and Technology, 1999); and (c) on comparison of the signals in the ^{13}C NMR spectra of essential oils with those of reference spectra compiled in the laboratory spectral library with the help of laboratory-developed software (Ouattara et al., 2014). Indeed the ^{13}C NMR spectrum of a molecule may be considered as its fingerprint. In other words, two compounds, such as sesquiterpenes, exhibit always enough chemical shift values of their carbons sufficiently differentiated to allow their identification. Therefore, taking into account various parameters (the number of observed signals, the number of overlapped signals, the difference of chemical shift measured in the mixture and in the reference spectra) the identification of an individual component of a complex mixture is possible without individualization of the compound (Bighelli and Casanova, 2010).

Results and discussion

Detailed analysis of a leaf oil sample (S4) from *A. jollyanus* has been carried out by GC(RI), GC–MS and ^{13}C NMR. In total, 37 compounds (12 monoterpenes, 5.2% and 25 sesquiterpenes 91.7%) that accounted for 96.9% of the whole composition, have been identified in the sample (Table 1, Fig. 2). The major components were sesquiterpenes, particularly sesquiterpene hydrocarbons. It could be highlighted that the five main components accounted only for 10–16% each: *trans*-calamenene (15.7%), α-copaene (14.8%), α-cubebene (10.4%), cadina-3,5-diene (10.3%) and 7-hydroxycalamenene (10.1%). Other sesquiterpenes present at significant levels were (*E*)-β-caryophyllene (6.3%), cadina-1,4-diene (6.1%), β-cubebene (3.1%), α-humulene (3.0%), δ-cadinene (1.9%) bicyclosesquiphellandrene (1.8%), bicyclogermacrene (1.5%) and spathulenol (1.1%). Finally, the monoterpene fraction was mostly represented by (*Z*)-β-ocimene (3.6%). The other hydrocarbon monoterpenes were present at very low levels not exceeding 0.5%.

Identification of some components needed special attention:

- Calamenene stereoisomers (*cis* or *trans*) display overlapped peaks on apolar and polar capillary chromatography columns (RIa: 1509; RIp: 1829) and insufficiently differentiated mass spectra (Joulain and König, 1998). Therefore, identification of the correct isomer was achieved by ^{13}C NMR analysis, the spectra of both compounds being fully differentiated (Nakashima et al., 2002).
- Cadina-1,4-diene (6.1%) and cadina-3,5-diene (10.3%) were suggested by MS and then confirmed by comparison of their ^{13}C NMR

Table 1
Chemical composition of *Artabotrys jollyanus* leaf oil.

	Components[a]	RI[lit b]	RIa	RIp	*A. jollyanus*	Identification
1	α-Pinene	936	929	1015	0.3	RI, MS
2	Camphene	950	942	1065	tr	RI, MS
3	Sabinene	973	964	1123	tr	RI, MS
4	β-Pinene	978	969	1112	tr	RI, MS
5	Myrcene	987	979	1160	0.2	RI, MS
6	Limonene	1025	1019	1201	0.2	RI, MS
7	β-Phellandrene	1023	1019	1211	0.4	RI, MS
8	(*Z*)-β-Ocimene	1029	1024	1233	3.6	RI, MS, ^{13}C NMR
9	(*E*)-β-Ocimene	1041	1035	1250	0.4	RI, MS, ^{13}C NMR
10	Terpinolene	1082	1077	1283	tr	RI, MS
11	Linalool	1086	1082	1545	tr	RI, MS
12	*allo*-Ocimene	1113	1116	1372	0.1	RI, MS
13	α-Cubebene	1355	1348	1456	10.4	RI, MS, ^{13}C NMR
14	α-Copaene	1379	1375	1490	14.8	RI, MS, ^{13}C NMR
15	β-cubebene*	1390	1385	1535	3.1	RI, MS
16	β-Elemene*	1389	1385	1587	0.5	RI, MS, ^{13}C NMR
17	α-Gurjunene	1413	1408	1525	0.2	RI, MS
18	(*E*)-β-Caryophyllene	1421	1416	1593	6.3	RI, MS, ^{13}C NMR
19	Cadina-3,5-diene	1448	1444	1627	10.3	RI, MS, ^{13}C NMR
20	α-Humulene	1455	1448	1665	3.0	RI, MS, ^{13}C NMR
21	*allo*-Aromadendrene	1462	1456	1640	0.3	RI, MS
22	Cadina-1(6),11-diene	-	1466	1655	0.8	RI, MS, ^{13}C NMR
23	Germacrene D	1479	1474	1704	0.4	RI, MS, ^{13}C NMR
24	Bicyclosesquiphellandrene	1487	1483	1708	1.8	RI, MS, ^{13}C NMR
25	4-*epi*-Cubebol	1490	1485	1883	0.8	RI, MS, ^{13}C NMR
26	Bicyclogermacrene	1494	1489	1728	1.5	RI, MS, ^{13}C NMR
27	α-Muurolene	1496	1491	1719	0.2	RI, MS
28	Cubebol	1514	1504	1935	0.8	RI, MS, ^{13}C NMR
29	*trans*-Calamenene	1517	1509	1829	15.7	RI, MS, ^{13}C NMR
30	δ-Cadinene	1520	1513	1751	1.9	RI, MS, ^{13}C NMR
31	Zonarene	1521	1515	1752	0.4	RI, MS
32	Cadina-1,4-diene	1523	1523	1777	6.1	RI, MS, ^{13}C NMR
33	Spathulenol	1572	1561	2117	1.1	RI, MS, ^{13}C NMR
34	Caryophyllene oxide	1578	1567	1976	0.2	RI, MS
35	*epi*-Cubenol	1623	1612	2058	0.4	RI, MS
36	Cubenol	1630	1628	2051	0.7	RI, MS
37	7-Hydroxycalamenene	1803[c]	1775	2783	10.1	RI, MS, ^{13}C NMR
	Total				96.9	
	Monoterpene hydrocarbons				5.2	
	Oxygenated monoterpenes				tr	
	Sesquiterpenes hydrocarbons				77.7	
	Oxygenated sesquiterpenes				14.0	

[a] Order of elution and contents determined on the apolar column (BP-1), except for compounds with an asterisk, percentages on polar column (BP 20). RIa, RIp = retention indices measured on apolar (BP1) and polar (BP 20) column; tr = trace level (<0.05%).
[b] Literature indices on a DB-1 (http://massfinder.com by Hochmuth, 2017).
[c] Indice on a HP-5 column (Azevedo et al., 2014).

chemical shifts with those reported in the literature (Joulain and König, 1998);
- 7-Hydroxycalamenene (10.1%). The MS spectrum of this compound was not compiled in MS libraries at our disposal and in our home-made MS library. The compound was identified by comparison of its ^{13}C NMR chemical shifts with those reported in the literature (Cambie et al., 1990).

The chemical composition of *A. jollyanus* leaf oil differed from that of Ivoirian *A. oliganthus* leaf oil, dominated by monoterpenes (δ-3-carene, 60.2%, myrcene, 10.6%) (Ouattara et al., 2011). It differed from those of bark oils from Gabonese *Artabotrys lastourvillensis* Pell (cyperene, 25.9%; cyperenone, 11.1%) (Menut et al., 1992) and from Beninese *Artabotrys velutinus* (benzyl benzoate, 61.2%; (*E*)-β-caryophyllene, 9.1%) (Yovo et al., 2016). It differed also from those of EOs isolated from *Artabotrys* species grown in other areas of the world. For instance, the compositions of Vietnamese species were mostly dominated by various sesquiterpenes: *A. petelotti* Merr. leaf oil (elemol, 19.4%, *cis*-β-guaiene, 9.2%, δ-cadinene, 8.4%); *A. intermedius* Hassk. leaf oil (δ-3-carene, 19.1%; α-gurjunene; 10.7%; α-zingiberene, 6.3%); *A. harmandii* Finet & Gagnep. (spathulenol, 17.4%; aromadendrene epoxide, 12.2%; γ-elemene, 7.1%; β-elemene, 5.0%; bicyclogermacrene, 5.0%) (Hung et al., 2014); *A. taynguyenensis* Ban leaf oil (valencene, 40.1%; δ-selinene, 8.8%; α-pinene, 6.7%; α-muurolene, 5.1%; α-panasinsene, 5.1%) (Thang et al., 2014). The flower oil of Vietnamese *A. hexapetalus* contained mainly caryophyllene oxide, 31.5%; β-caryophyllene, 11.4%; humulene epoxide, 10.0% and α-copaene, 8.1% (Phan et al., 2007).

The monitoring of the temporal evolution of the yield and the chemical composition of the leaf EO from *A. jollyanus* has been achieved over a period of 12 months, from April 2014 to March 2015 (Table 2). Yields varied substantially from 0.26% to 0.60% (mean value = 0.40%). Three domains may be distinguished. Higher yield has been observed in September (0.60%), during the dry period. Acceptable yields (0.39–0.52%, 7 oil samples out of 12) occurred in the period June-November and lowest yields (0.26–0.32%, 4 samples out of 12) have been obtained in May on the one hand and during the period December-March on the other hand.

The composition of the EO was always dominated by sesquiterpene hydrocarbons although the contents of the main components varied also substantially. For instance, *trans*-calamenene (mean value = 18.1%) accounted for 15.7–17.7% for 9 oil samples out of 12 (14.7%, 22.4% and 27.6% for the last three samples). In parallel,

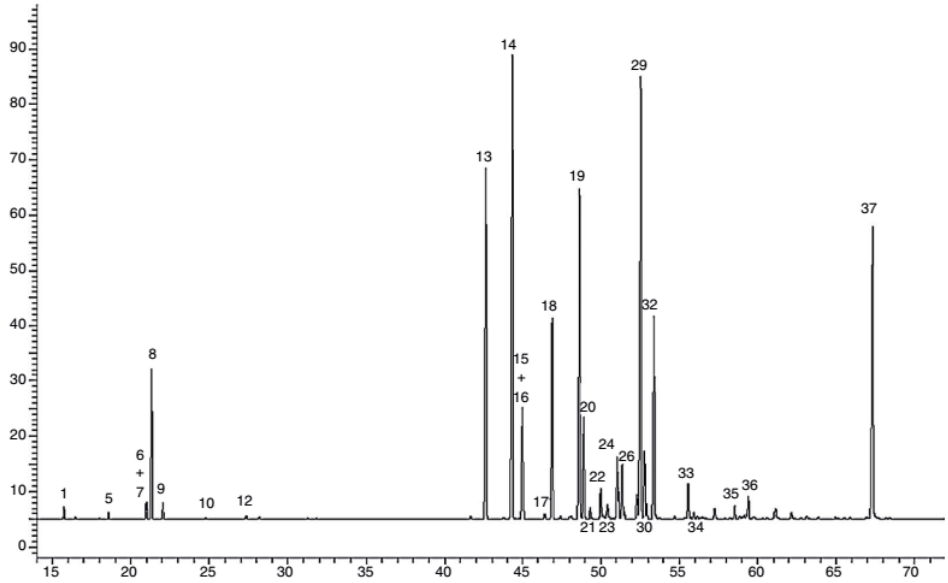


Fig. 2. Gas chromatogram on apolar column (BP-1) of leaf sample of *Artabotrys jollyanus* essential oil.

Table 2
Chemical composition of *Artabotrys jollyanus* leaf oil: main components of twelve samples.

Sample	S1	S2	S3	S4[a]	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12
Month	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sept	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar
Components												
(*Z*)-β-Ocimene	5.5	5.3	5.3	3.6	4.7	3.4	4.6	3.4	5.5	3.5	4.6	2.4
α-Cubebene	10.7	9.2	10.6	10.4	10.7	11.0	8.8	9.7	14.5	12.9	8.8	10.2
α-Copaene	14.7	12.4	14.8	14.8	15.7	16.4	12.7	14.3	20.4	18.8	12.3	14.6
β-Cubebene	2.7	2.1	3.2	3.1	3.1	3.2	2.7	3.1	2.5	1.4	3.2	2.3
(*E*)-β-Caryophyllene	8.0	7.9	7.1	6.3	6.6	6.6	6.8	6.7	7.7	7.1	6.5	5.7
Cadina-3,5-diene	7.3	4.6	9.2	10.3	10.2	10.6	9.3	10.8	7.6	8.0	11.0	0.4
α-Humulene	3.5	3.6	3.2	3.0	3.1	3.0	3.4	3.2	3.2	3.1	3.3	2.9
trans-Calamenene	18.6	22.4	16.4	15.7	16.5	16.3	16.6	16.4	17.8	18.7	14.7	27.6
Cadina-1,4-diene	6.0	5.2	6.0	6.1	5.8	5.8	5.6	6.1	4.5	6.0	6.4	2.9
Spathulenol	1.4	1.9	1.1	1.1	1.0	0.9	1.3	1.1	1.0	0.8	0.8	2.4
7-Hydroxycalamenene	4.8	6.5	7.6	10.1	7.0	7.9	10.4	9.1	1.3	4.9	10.5	10.4
Yield	0.39	0.26	0.48	0.40	0.42	0.60	0.45	0.52	0.28	0.32	0.39	0.32

[a] S4 is previously described in Table 1

α-copaene (mean value = 15.2%) displayed more diverse contents (12.3–12.7%, 3 samples; 14.3–14.8%, 5 samples; 15.7–20.4%, 4 samples). The content of 7-hydroxycalamenene (mean value = 7.5%) seemed to vary drastically from 1.3% to 10.5%. In fact, the contents of four samples (6.5–7.9%) were very close to the mean value, five samples displayed higher contents (9.1–10.5%), two samples exhibited lower contents (4.8 and 4.9%) and the last sample accounted for 1.3% only. Finally, the content of cadina-3,5-diene varied from 7.3% to 11.0% for ten samples, while it was only 4.6% for one sample and 0.4% for the last one. Similarly, the content of cadina-1,4-diene varied from 5.2% to 6.4% for ten samples, while it was only 4.5% and 2.9% for the two last ones.

It is noticeable that the sum of percentages of cadina-1,4-diene, cadina-3,5-diene, *trans*-calamenene and 7-hydroxy-calamenene were constant in all samples and close to 39%. Indeed, *trans*-calamenene may be obtained by deshydrogenation of cadina-1,4-diene and cadina-3,5-diene. Then, 7-hydroxy-calamenene was synthetized by hydroxylation of *trans*-calamenene. These results are in agreement with the proposed pathway for the biosynthesis of thymol from γ-terpinene *via* p-cymene (Poulose and Croteau, 1978).

Conclusion

The chemical composition of *A. jollyanus* leaf essential oil was reported for the first time. The essential oil from Ivoirian species exhibited original composition dominated by hydrocarbon sesquiterpenes, mostly *trans*-calamenene, α-copaene, β-cubebene, cadina-3,5-diene, accompanied by 7-hydroxycalamenene. The composition of the EO remained dominated by the same sesquiterpenes during its phenological cycle of the plant, although the content of some components varied substantially.

Authors' contributions

SGG (Ph.D. Student) contributed in collecting plant sample, running the laboratory work. ZAO and ATY contributed in collecting plant sample and supervised the laboratory work. YAB designed the study. AB and FT drafted the paper and contributed to critical reading of the manuscript. MP contributed to critical reading of the manuscript. All the authors have read the final version of the manuscript and approved the submission.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgments

The authors are grateful to the CASES, (NGO) for financial support. They are indebted to Dr M. Gibernau for botanical advices.

References

Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th ed. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL, USA.

Andriamadioa, J.H., Rasoanaivo, L.H., Benedec, D., Vlase, L., Gheldiu, A.M., Duma, M., Toiu, A., Raharisololalao, A., Oniga, I., 2015. HPLC/MS analysis of polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of *Artabotrys hildebrandtii* O Hffm. extracts. Nat. Prod. Res. 29, 2188–2196.

Azevedo, M.M.B., Almeida, C.A., Chaves, F.C.M., Campos-Talaki, G.M., Rozental, S., Bizzo, H.R., Alviano, C.S., Alviano, D.S., 2014. Effects of 7-hydroxycalamene isolated from *Croton cajucara* essential oil of growth, lipid content and ultrastructural analysis aspects of *Rhizotus oryzae*. Planta Med. 80, 550–556.

Bighelli, A., Casanova, J., 2010. Essential oil-bearing grasses, the genus *Cymbopogon*. A. Akhila ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Cambie, R.C., Lal, A.R., Ahmad, F., 1990. Sesquiterpenes from *Heritiera ornithocephala*. Phytochemistry 29, 2329–2331.

Fournier, G., Leboeuf, M., Cavé, A., 1999. Annonaceae essential oils: a review. J. Essent. Oil Res. 11, 131–142.

Hsieh, T.J., Chen, C.Y., Kuo, R.Y., Chang, F.R., Wu, Y.C., 1999. Two new alkaloids from *Artabotrys uncinatus*. J. Nat. Prod. 62, 1192–1193.

Hung, N.H., Dai, D.N., Dung, D.M., Giang, T.T.B., Thang, T.D., Ogunwande, I.A., 2014. Chemical composition of essential oils of *Artabotrys petelotii* Merr., *Artabotrys intermedius* Hassk., and *Artabotrys harmandii* Finet & Gagnep. (Annonaceae) from Vietnam. J. Essent. Oil Bear. Pl. 17, 1105–1111.

Hochmuth, D., http://massfinder.com/wiki/Terpenoids Library. Terpenoids Library Website.
http://www.plantes-botanique.org, accessed Aug 2016.

Joulain, D., König, W.A., 1998. The atlas of spectra data of sesquiterpene hydrocarbons. E.B. -Verlag Hamburg.

Kabir, K.E., 2010. Larvicidal effect of an alkaloidal fraction of *Artabotrys odoratissimus* (Annonaceae) bark against the filarial mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Int. J. Trop. Insect Sci. 30, 167–169.

König, W.A., Hochmuth, D.H., Joulain, D., 2001. Terpenoids and related constituents of essential oils, Library of Massfinder 2.1. University of Hamburg.

Li, T.M., Li, W.K., Yu, J.G., 1997. Flavonoids from *Artabotrys hexapetalus*. Phytochemistry 45, 831–833.

Menut, C., Lamaty, G., Bessiere, J.-M., Mve-Mba, C.E., Affane-Nguema, J.-P., 1992. Aromatic plants of tropical central Africa, VI. The essential oil of *Artabotrys lastourvillensis* Pell, from Gabon. J. Essent. Oil. Res. 4, 305–307.

Nakashima, K., Imoto, M., Sono, M., Tori, M., Nagashima, F., Asakawa, Y., 2002. Total synthesis of (−)-(7*S*,10*R*)-calamenene and (-)-(7*S*,10*R*)-2-hydroxycalamenene by use of a ring-closing metathesis reaction. A comparison of the *cis*- and *trans*-isomers. Molecules 7, 517–527.

Ouattara, Z.A., Boti, J.B., Ahibo, A.C., Tomi, F., Bighelli, A., 2011. *Artabotrys oliganthus* Engl. & Diels from Ivory Coast: composition of leaf, stem bark and fruit oils. J. Essent. Oil Bear. Pl. 14, 95–100.

Ouattara, Z.A., Boti, J.B., Ahibo, A.C., Tomi, F., Casanova, J., Bighelli, A., 2013. Combined analysis of the root bark oil of *Cleistopholis glauca* by chromatographic and spectroscopic techniques. Nat. Prod. Commun. 8, 1773–1776.

Ouattara, Z.A., Boti, J.B., Ahibo, A.C., Sutour, S., Casanova, J., Tomi, F., Bighelli, A., 2014. The key role of ^{13}C NMR analysis in the identification of individual components of *Polyalthia longifolia* leaf oil. Flav. Fragr. J. 29, 371–379.

Phan, G.M., Phan, S.T., König, W.A., 2007. Chemical composition of the flower essential oil of *Artabotrys hexapetalus* (L. f.) Bhandare of Vietnam. J. Essent. Oil Res. 19, 523–524.

Poulose, A.J., Croteau, R., 1978. Biosynthesis of aromatics monoterpenes-Conversion of γ-terpinene to p-cymene and thymol in *Thymus vulgaris* L. Arch. Biochem. Biophys. 187, 307–314.

Sagen, A.L., Sahpaz, S., Mavi, S., Hostettmann, K., 2003. Isoquinoline alkaloids from Artabotrys Brachypetalus. Biochem. Syst. Ecol. 31, 1447–1449.

Somanawat, J., Talangsri, N., Deepolngam, S., Kaewamatawong, R., 2012. Flavonoid and megastigmane glycosides from *Artabotrys hexapetalus* leaves. Biochem. Syst. Ecol. 44, 124–127.

Tan, K.K., Wiart, C., 2014. Botanical descriptions, ethnomedicinal and non-medicinal uses of the genus *Artabotrys* R.BR. Int. J. Curr. Pharm. Res. 6, 34–40.

Tan, K.K., Khoo, T.J., Rajagopal, M., Wiart, C., 2015. Antibacterial alkaloids from *Artabotrys crassifolius* Hook.f. & Thomson. Nat. Prod. Res. 29, 2346–2349.

Thang, T.D., Dai, D.N., Thanh, B.V., Dung, D.M., Ogunwande, I.A., 2014. Study on the chemical constituents of essential oils of two Annonaceae plants from Vietnam: *Miliusa sinensis* and *Artabotrys taynguyenensis*. Am. J. Essent. Oil. Nat. Prod. 1, 24–28.

US National Institute of Standards and Technology, 1999. PC Version 1.7 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library, Norwalk, CT, USA.

Yapi, A.T., Boti, J.B., Attioua, B.K., Ahibo, C.A., Bighelli, A., Casanova, J., Tomi, F., 2012. Three new natural compounds from the root bark essential oil from *Xylopia aethiopica*. Phytochem. Anal. 23, 651–656.

Yapi, A.T., Boti, J.B., Ahibo, C.A., Bighelli, A., Casanova, J., Tomi, F., 2013. Combined analysis of *Xylopia rubescens* Oliv. leaf oil by GC-FID, GC-MS and 13C NMR: structure elucidation of new compounds. Flavour Frag. J. 28, 373–379.

Yapi, A.T., Boti, J.B., Tonzibo, Z.F., Ahibo, C.A., Bighelli, A., Casanova, J., Tomi, F., 2014. Chemical Variability of *Xylopia quintasii* Engler & Diels Leaf Oil from Côte d'Ivoire. Chem. Biodivers. 11, 332–339.

Yovo, M., Alitonou, G.A., Yedomonhan, H., Tchobo, F., Dedome, O., Sessou, P., Avlessi, F., Menu, C., Sohounhloué, D., 2016. First report on chemical composition and antimicrobial activity of *Artabotrys velutinus* Scott-Elliot extracts against some clinical strains in Benin. Am. J. Appl. Chem. 4, 71–76.

Zhou, Q., Fu, Y.H., Li, X.B., Chen, G.Y., Wu, S.Y., Song, X.P., Liu, Y.P., Han, C.R., 2015. Bioactive benzylisoquinoline alkaloids from *Artabotrys hexapetalus*. Phytochem. Lett. 11, 296–300.

ABSTRACT

Chemical characterization of essential oils of 4 aromatic plants from Côte d'Ivoire : *Artabotrys insignis, Artabotrys jollyanus, Beilschmiedia mannii* and *Dacryodes klaineana*

This work is the result of the collaboration between the Laboratory of Bio-Organic Chemistry and Natural Substances (LCBOSN) of the University Nangui Abrogoua and the team "Chemistry and Biomass" of the Joint Research Unit of the University of Corsica associated with the CNRS (UMR 6134) "Sciences for the environment" (SPE). Its objective was a contribution to the valorization of the aromatic plants from Côte d'Ivoire. It consisted of the characterization of four ivorian plants through the chemical composition of their essential oils. For this purpose, various chromatographic and spectroscopic techniques have been implemented, in particular the ^{13}C NMR of the mixtures, a method elaborated and developed by the team "Chemistry and Biomass".

The potentialities of this method allowed the identification and quantification of a major thermosensitive compound, germacrene A in the essential oil of leaves of *Artabotrys insignis*.

Moreover, monitoring the evolution of the chemical composition of the EOs of *Artabotrys jollyanus* leaves and stem bark over a 12-month period revealed a qualitative homogeneity of these EOs which were dominated by sesquiterpenes (more than 80% of the chemical composition). These EOs showed low antioxidant potency towards DPPH.

Then, the characterization of the EOs extracted from different organs of *Beilschmiedia mannii* was carried out. The EO of root bark was rich in sesquiterpenes with (*E*)-nerolidol, *cis*-α-bergamotene and β-barbatene as major components. The study of 8 samples of EO from trunk bark showed various chromatographic profiles dominated by either monoterpenes (δ-3-carene, myrcene) or sesquiterpenes ((*E*)-nerolidol, *cis*-α-bergamotene and β-bisabolene). By the means of statistical analysis (PCA and hierarchical clustering), the leaves EOs showed a high qualitative and quantitative chemical variability. Seven groups of chemical composition were thus highlighted. The specific compounds of these different groups were: δ-3-carene, α-phellandrene and myrcene; (*E*)-β-ocimene; β-bisabolene; (*E*)-β-caryophyllene and α-humulene; α-copaene; α-pinene; myrcene.

Finally, we investigated the EOs extracted from root bark, trunk bark and leaves of *Dacryodes klaineana*. We observed similarities in the chemical composition of the EOs of root and trunk bark. These EOs, rich in monoterpenic compounds, were dominated by α- and/or β-pinene. The statistical survey, led on 51 trunk barks EO samples showed three homogeneous groups of chemical composition. The first group was dominated by α-pinene, the second by α- and β-pinene and the third group was characterized by the association α-pinene/β-pinene/limonene. On the other hand, the leaves EO has been extremely variable in its chemical composition. The statistical study carried out on 30 samples of this EO showed a great quantitative and qualitative variability. It has been possible to highlight three groups on the basis of the major components which were either olefinic monoterpenes: terpinolene, myrcene, (*Z*) and (*E*)-β-ocimenes, or olefinic sesquiterpenes: (*E*)-β-caryophyllene, *trans*-α-bergamotene, isodaucene and α-humulene. Nevertheless, these groups were so difficult to characterize by the means of one or more chemical compounds. This final study underlined the difficulty of characterizing this EO and the need for a wider sampling before considering the valorization.

Key words: Côte d'Ivoire, *Artabotrys insignis*, *Artabotrys jollyanus*, *Beilschmiedia mannii*, *Dacryodes klaineana*, essential oil, GC(RI), GC-MS, ^{13}C NMR, Chemical variability.

RESUME

Caractérisation chimique des huiles essentielles de 4 plantes aromatiques de Côte d'Ivoire : *Artabotrys insignis, Artabotrys jollyanus, Beilschmiedia mannii* et *Dacryodes klaineana*

Ce travail est issu de la collaboration entre le Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN) de l'Université Nangui Abrogoua et l'équipe "Chimie et Biomasse" de l'Unité Mixte de Recherches de l'Université de Corse associée au CNRS (UMR 6134) "Sciences pour l'environnement" (SPE). Son objectif est une contribution à la valorisation des plantes aromatiques de Côte d'ivoire. Il a consisté à la caractérisation de quatre plantes de Côte d'Ivoire à travers la composition chimique de leurs huiles essentielles. Différentes techniques chromatographiques et spectroscopiques ont été mises en œuvre, en particulier la RMN ^{13}C des mélanges, méthode mise au point et développée par l'équipe « Chimie et Biomasse ».

Les potentialités de cette méthode ont permis l'identification et la quantification d'un composé thermosensible majoritaire, le germacrène A dans l'huile essentielle de feuilles d'*Artabotrys insignis*.

Par ailleurs, le suivi de l'évolution de la composition chimique des HE de feuilles et d'écorces de tige d'*Artabotrys jollyanus* sur une période de 12 mois a révélé une homogénéité qualitative de ces HE qui sont dominées par des sesquiterpènes (plus de 80% de la composition chimique). Ces HE ont montré un faible pouvoir antioxydant vis-à-vis du DPPH.

Ensuite, la caractérisation des HE extraites de différents organes de *Beilschmiedia mannii* a été réalisée. L'HE d'écorce de racines s'est révélée riche en sesquiterpènes avec comme composés majoritaires, le (*E*)-nérolidol, le *cis*-α-bergamotène et le β-barbatène. L'étude de 8 échantillons d'HE d'écorces de tronc a montré divers profils chromatographiques dominés soit des monoterpènes (δ-3-carène, myrcène) soit des sesquiterpènes ((*E*)-nérolidol, *cis*-α-bergamotène et β-bisabolène). Une grande variabilité chimique qualitative et quantitative de l'HE de feuilles a été prouvée au moyen de l'ACP et de la CHA réalisées sur 45 échantillons. Sept groupes de composition chimique ont été ainsi mis en évidence. Les composés qui les caractérisent sont : le δ-3-carène, l'α-phellandrène et le myrcène ; le (*E*)-β-ocimène ; le β-bisabolène ; le (*E*)-β-caryophyllène et α-humulène ; l'α-copaène ; l'α-pinène ; le myrcène.

Enfin, nous avons menés des investigations sur les HE extraites d'écorce de racine, d'écorce de tronc et de feuilles de *Dacryodes klaineana*. Des similitudes ont été observées dans la composition chimique des HE d'écorces de racine et de tronc. Ces HE, riches en composés monoterpéniques, sont dominés par l'α- et/ou le β-pinène. L'étude statistique sur un ensemble de 51 échantillons d'HE d'écorces de troncs montre trois groupes homogènes de composition chimique. Le premier groupe est dominé par l'α-pinène, le second par le couple α-/β-pinène et le troisième groupe est caractérisé par l'association α-pinène/β-pinène/limonène. L'HE de feuilles, par contre, s'est montrée extrêmement variable dans sa composition chimique. L'étude statistique menée sur 30 échantillons de cette HE a mis en évidence une grande variabilité à la fois quantitative et qualitative. Il a été possible de dégager trois groupes sur la base des composés majoritaires qui sont soit des monoterpènes oléfiniques : terpinolène, myrcène, (Z) et (*E*)-β-ocimènes, soit des sesquiterpènes oléfiniques : (*E*)-β-caryophyllène, *trans*-α-bergamotène, isodaucène et α-humulène. Ces groupes sont néanmoins difficilement caractérisables par un ou plusieurs composés chimiques. Cette dernière étude souligne la difficulté à caractériser cette HE et la nécessité d'un échantillonnage plus large avant de pouvoir envisager la valorisation.

Mots clés : Côte d'Ivoire, *Artabotrys insignis*, *Artabotrys jollyanus*, *Beilschmiedia mannii*, *Dacryodes klaineana*, huile essentielle, CPG(Ir), CPG-SM, RMN ^{13}C, Variabilité chimique