

UNIVERSITÉ FÉLIX HOUPHOUËT BOIGNY - ABIDJAN-COCODY

Et

UNIVERSITÉ DE LIÈGE - GEMBLoux AGRO-BIO TECH

Thèse en Cotutelle Internationale

Présentée par **TANO H Amenan Evelyne**

pour l'obtention du grade de :

Docteur de l'Université Félix Houphouët-Boigny en Chimie Organique et
Substances Naturelles et

Docteur de l'Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech en Sciences
agronomiques et Ingénierie biologique

**Etude phytochimique et biologique de
trois plantes du genre *Zanthoxylum***

Soutenue publiquement Mars 2021

Jury :

Felix Zanahi TONZIBO, Professeur Titulaire

Marie-Laure FAUCONNIER, Professeur
Michel FREDERICH, Professeur Ordinaire
Jean-Brice BOTI, Maîtres de Conférences

Gustave Sahouo BEDI, Professeur Titulaire

Philippe LEBAILLY, Professeur Ordinaire

Université Félix Houphouët
Boigny, Côte d'Ivoire
Université de Liège, Belgique
Université de Liège, Belgique
Université Félix Houphouët
Boigny, Côte d'Ivoire

Ecole Normale Supérieure,
Côte d'Ivoire

Université de Liège, Belgique

Promoteur

Promotrice
Rapporteur
Rapporteur

Examineur

Président

Dédicace

À la mémoire de mon père disparu trop tôt.

*Je dédie cet évènement marquant de ma vie comme preuve de reconnaissance
de la part d'une fille qui a toujours prié pour le repos de son âme.*

Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !

À ma très chère mère

*Que ce mot de cinq lettres soit le don le plus précieux que je puisse t'offrir
<< Merci >> pour les conseils et ta bienveillance qui m'ont permis
d'affronter les obstacles de la vie.*

À ma mère adoptive

*Quoique je fasse, ou que je dise, je ne saurai te remercier comme il se doit.
Merci de veiller chaque jour sur la famille.*

À mes frères et sœurs

Puisse Dieu vous donner santé, bonheur, courage et surtout réussite.

À tous mes parents et bienfaiteurs

Que la lumière divine guide vos pas.

Avant-propos

Ce travail réalisé en cotutelle, est le fruit de la collaboration entre la faculté de l'UFR des Sciences des Structures et de la Matière et Technologie (UFR SSMT) de l'Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan et la faculté d'Agronomie Gembloux Agro Bio-Tech, de l'Université de Liège Belgique.

Il s'est déroulé sous la direction et supervision du **Professeur TONZIBO Zanahi Felix** du laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière (LCRM) de l'Université Félix Houphouët Boigny et du **Professeur FAUCONNIER Marie-Laure** du laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles de Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège.

Ce travail a bénéficié d'une bourse d'étude du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique de Côte d'Ivoire et de l'appui des équipes de recherche du laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles de Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège.

Résumé

Le genre *Zanthoxylum* (Rutaceae) regroupe des plantes connues pour leurs utilisations en médecine traditionnelle à travers le monde. En Côte d'Ivoire, neuf espèces ont été identifiées (*Zanthoxylum atchoum*, *Z. leprieurii*, *Z. macrophilum*, *Z. mezoneurispinosum*, *Z. parvifolium*, *Z. psammophilum*, *Z. ruscifolium*, *Z. gelletii* et *Z. zanthoxyloides*). Le genre *Zanthoxylum* comprend des plantes possédant plusieurs propriétés biologiques intéressantes (antioxydant, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antifongique, antibactérienne, antitumoral et antimicrobienne etc.).

La présente recherche porte sur trois espèces de *Zanthoxylum* recensées en Côte d'Ivoire : *Z. leprieurii*, *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum*. Elle a pour but de valoriser ces plantes à travers leurs métabolites secondaires volatils et non volatils. La première espèce *Z. leprieurii* est beaucoup utilisée en médecine traditionnelle compte tenu de ses nombreuses propriétés biologiques. Cependant, à ce jour, pour les deux dernières espèces endémiques à la Côte d'Ivoire aucune utilisation traditionnelle n'est connue. L'insuffisance de connaissance surtout sur *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum*, a conduit à la réalisation d'une étude phytochimique pour la détermination d'activités biologiques des constituants de divers organes (les feuilles, les écorces du tronc, les racines et les fruits) de ces plantes.

Les analyses de la composition chimique des huiles essentielles et les propriétés biologiques des différents organes ont été réalisées.

À partir d'une hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger, les huiles essentielles ont été extraites et ensuite analysées par une chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).

Pour l'espèce *Z. leprieurii*, une étude de l'effet de la saison sur la composition chimique des divers organes des huiles essentielles a été réalisée. L'analyse statistique des résultats obtenus a permis de distinguer trois classes. La première classe représentant la composition des HE des fruits est caractérisée par les monoterpènes dominés par le β -myrcène et le citronellol. La deuxième classe est celle de la composition chimique des HE des écorces avec une abondance en tridécan-2-one. La troisième classe est celle de la composition chimique des HE des feuilles dominées par le tridécan-2-one, le (*E*)- β -caryophyllène et le dendrolasin.

Chez *Z. psammophilum*, les composés chimiques identifiés dans l'HE des écorces sont essentiellement caractérisés par les composés non-terpéniques et dominés par le tridécan-2-one. Cependant, les huiles essentielles des feuilles et des racines sont caractérisées par les méthylcétones et les sesquiterpènes respectivement.

Les caractéristiques principales des huiles essentielles isolées de *Z. mezoneurispinosum* sont les monoterpènes dominés par l' α -pinène dans les parties aériennes, tandis que la partie souterraine est caractérisée par les sesquiterpènes dominés par le γ -élémane et le cyclosativène.

Les huiles essentielles extraites des trois plantes ont des activités biologiques satisfaisantes. Ce sont les activités antioxydantes, anti-inflammatoires, insecticides et anti plasmodiales.

De plus l'étude phytochimique des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* réalisée par chromatographie sur colonne, chromatographie liquide à haute pression (CLHP) et par la résonance magnétique nucléaire (RMN) a permis d'isoler au total huit composés. Ils sont constitués de quatre alcaloïdes (1-hydroxy-3,4-diméthoxy-N-méthylacridone, chélérythrine, skimmianine et xanthoxoline), un triterpène (lupéol), un dérivé de l'acide cinnamique (méthyl 4-coumarate), un dérivé de l'acide carboxylique (acide (E)-4-isobutylamino-4-but-énoïque) et un flavonoïde (4'-méthoxy-5,7-dihydroxyflavone ou acacétine). Les différents résultats indiquent que ces plantes peuvent être utiles à l'homme. En effet, une meilleure connaissance de la composition chimique des différentes huiles essentielles, de leurs activités biologiques et les composés isolés des feuilles de *Z. mezoneurispinosum*, peut favoriser une plus grande utilisation dans la parfumerie, l'alimentation, la cosmétique, la médecine, etc.

Mots clés : Côte d'Ivoire, *Zanthoxylum leprieurii*, *Zanthoxylum psammophilum*, *Zanthoxylum mezoneurispinosum*.

Abstract

The genus *Zanthoxylum* (Rutaceae) includes plants known for their uses in traditional medicine around the world. In Côte d'Ivoire, nine species have been identified (*Zanthoxylum atchoum*, *Z. leprieurii*, *Z. macrophilum*, *Z. mezoneurispinosum*, *Z. parvifolium*, *Z. psammophilum*, *Z. rusbescens*, *Z. gelletii* and *Z. zantoxylodes*). *Zanthoxylum* genus contains several plant exhibiting biological properties (antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, antifungal, antitumor and antimicrobial etc.).

The present research focuses on three species of *Zanthoxylum* harvested in Côte d'Ivoire: *Z. leprieurii*, *Z. psammophilum* and *Z. mezoneurispinosum*. Its goal is to valorize these plants through their volatile and non-volatile secondary metabolites. The first species *Z. leprieurii* is extensively used in traditional medicine because of its numerous biological properties. However, to date, no traditional use is known for the last two species endemic to Côte d'Ivoire. The lack of knowledge, especially on *Z. psammophilum* and *Z. mezoneurispinosum*, led to the realization of a phytochemical study for the determination and confirmation of biological activities of the constituents of various organs (leaves, trunk bark, roots and fruits) of these plants.

The analyses of the chemical composition of essential oils and the biological properties of the various organs were realized.

From a hydrodistillation with a Clevenger-type apparatus, the essential oils are extracted and analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS).

For the *Z. leprieurii* species, a study of the effect of the season on the chemical composition of the various organs of the essential oils was carried out. The statistical analysis of the results obtained made it possible to group the chemical compositions into three classes. The first class is characterized by constituents from fruits dominated by β -myrcene and citronellol. The second class was composed by compounds extracted from bark with an abundance of tridecan-2-one. The last class includes tridecan-2-one, (*E*) β -caryophyllene and dendrolasin which are derived from essential oils extracted from the leaves.

In *Z. psammophilum*, the chemical compounds extracted from the essential oil of the bark are mainly characterized by methylketones and dominated by tridecan-2-one. However, essential oils from the leaves and roots are represented by methylketone and sesquiterpenes respectively.

The main characteristics of essential oils isolated from *Z. mezoneurispinosum* are monoterpenes (α -pinene) in the aerial parts, while the underground part has an abundance of sesquiterpenes (γ -elemene and cyclosativene).

The essential oils extracted from the three plants have satisfactory biological activities. These are antioxidant, anti-inflammatory, insecticidal and anti-plasmodial activities.

In addition, the phytochemical study of the leaves of *Z. mezoneurispinosum* carried out by column chromatography, high pressure liquid chromatography (HPLC) and nuclear magnetic resonance (NMR) allowed the isolation of a total of eight compounds. They consist of four alkaloids (1-hydroxy-3,4-diméthoxy-N-méthylacridone, chelerythrin, skimmianine and xanthoxoline), one triterpene (lupeol), a cinnamic acid derivative (methyl 4-coumarate), a carboxylic acid derivative ((E)-4-isobutylamino-4-butenic acid) and a flavonoid (4'-methoxy-5,7-dihydroxyflavone or acacetin). The different results indicate that these plants can be useful to human. Indeed, a better knowledge of the chemical composition of the different essential oils, their biological activities and their isolated compounds, can promote greater use in perfumery, food, cosmetics, medicine, etc.

Keywords: Côte d'Ivoire, *Zanthoxylum leprieurii*, *Zanthoxylum psammophilum*, *Zanthoxylum mezoneurispinosum*.

Remerciements

Je voudrais avant, tout témoigner mon profond respect et toute ma gratitude au laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière (LCRM) de l'Unité de Formation et de Recherche des Sciences et des Structures de la Matière et de Technologie (UFR SSMT) de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan et à la faculté d'Agronomie, Gembloux Agro Bio-Tech, de l'Université de Liège Belgique, pour m'avoir accueillie dans leurs laboratoires respectifs.

*J'adresse ma profonde reconnaissance à Monsieur **TONZIBO** Zanahi Felix, Professeur Titulaire de Chimie des substances naturelles. Vous m'avez initiée à la recherche scientifique depuis le Master 2. Vous avez par la suite renouvelé la confiance placée en ma modeste personne à travers l'encadrement de cette thèse, en sélectionnant avec soin ce sujet. Je vous remercie pour les nombreuses discussions scientifiques, que nous avons partagées tout au long de l'élaboration de cette thèse. J'ai été particulièrement sensible à votre grande expérience, votre rigueur dans le travail, vos conseils avisés et à la disponibilité que vous n'avez cessé de manifester tout au long de cette étude. Mes mots ne suffiront jamais pour vous traduire ma profonde gratitude.*

*Je prie Madame **FAUCONNIER** Marie-Laure, Professeur Ordinaire de Chimie des Molécules Naturelles de Gembloux Agro-Bio-Tech, Université de Liège (Belgique) de trouver ici l'expression de mes sincères remerciements pour la bienveillance avec laquelle elle a guidé mes travaux, pour son soutien, ainsi que pour les précieux conseils qu'elle m'a prodigués. Qu'elle reçoive ici l'expression de ma profonde gratitude, pour l'intérêt et le suivi qu'elle a bien voulu accorder aux travaux réalisés lors de mon séjour doctoral au sein de son équipe. Sa grande expérience, son implication personnelle et ses précieux conseils ont permis le bon déroulement et l'aboutissement de ces travaux.*

*J'exprime ma respectueuse considération et mon infinie reconnaissance à Monsieur **LEBAILLY** Philippe, Professeur Ordinaire de Modélisation et développement à Gembloux Agro-Bio-Tech, Université de Liège (Belgique), qui, malgré ses nombreuses charges, a accepté de juger ce travail et d'en être le Président du jury. Qu'il soit vivement remercié pour sa contribution et ses remarques hautement scientifiques, qui vont permettre d'améliorer considérablement ce travail.*

*Je suis très sensible à l'honneur que me fait Monsieur **FREDERICH** Michel, Professeur Ordinaire de Pharmacognosie de l'Université de Liège (Belgique) en acceptant d'être un rapporteur de ce travail. Votre rigueur scientifique, votre grande expérience ont contribué au perfectionnement de cette thèse. Soyez-en vivement remercié !*

*Mes vifs remerciements vont aussi à l'endroit de Monsieur **BOTI** Jean-Brice, Maître de Conférences de Chimie Organique de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan (Côte d'Ivoire), également rapporteur de cette thèse. Votre haute qualité scientifique, vos pertinentes remarques et vos recommandations appropriées ont eu un réel impact sur la forme et le contenu de ce mémoire de thèse. Également, merci*

de m'avoir donné le courage d'avancer dans mes recherches, notamment en me remotivant lorsque j'en éprouvais le besoin.

Je remercie respectueusement Monsieur **BEDI** Sahouo Gustave, Professeur Titulaire à l'École Normale Supérieure (ENS) Abidjan, Président de la SOACHIM (Côte d'Ivoire) pour avoir aimablement accepté de se consacrer à la lecture de mon manuscrit et d'en être l'examineur.

Que Messieurs **YAPI** Acafou Thierry, Maître de Conférences et **KABRAN** Faustin, Maître-Assistant de Chimie organique à l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan, reçoivent ici ma sincère reconnaissance, pour leurs appuis sans faille, qui me furent d'une grande aide, pour le bon déroulement de ce travail.

Mes remerciements vont également à l'endroit des Professeurs Titulaires ; **ADJOU** Ané, Doyen de l'UFR SSMT, **OUATTARA** Laciné directeur du laboratoire LCRM, **BAMBA** El-Hadji Sawaliho, **SISSOUMA** Drissa, des Maîtres de Conférences ; **OKPEKON** Timothée, **YAO** Philomène, **BEDE** Lucie, **GBA** Benjamine, **KONÉ** Soleymane, **BAMBA** Fanté, **KANKO** Coffi, **COULIBALI** Sioménan, **KONÉ** Mawa, et des Maîtres-Assistants ; **KOUA** Oi Koua, **ASSI** Mathias, **BOKA** Robert, **KOFFI** Murielle, **KASSI** Brise, **AKPA** Jacques, **DIOMANDE** Didier et **WOGNIN** Leon, Enseignants-chercheurs au LCRM ex LCOSN pour leur soutien moral et leurs conseils.

La réalisation de cette thèse a été rendue possible grâce aux financements assurés par différents organismes rattachés aux deux Universités.

Je remercie le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique de Côte d'Ivoire de m'avoir attribué une bourse qui m'a permis d'effectuer un stage de cotutelle à l'Université de Liège de Belgique particulièrement à sa faculté d'Agronomie Gembloux Agro Bio-Tech. C'est de tout cœur que j'exprime ma sincère gratitude à M. **BALLO** Daouda, Maître-Assistant au LCRM, qui n'a ménagé aucun effort pour l'obtention de ladite bourse.

Grand merci à l'Université de Liège de Belgique particulièrement à sa faculté d'Agronomie Gembloux Agro Bio-Tech, pour sa franche collaboration et son accueil au sein de son laboratoire et aussi pour le financement de l'Agence exécutive "Éducation, audiovisuel et culture" (EACEA) à travers le projet EOHUB 600873-EPP-I-2018-IES-EPPKA2-KA.

Je tiens à remercier aussi les membres de l'équipe du laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles de la faculté d'Agronomie Gembloux Agro Bio-Tech de l'Université de Liège Belgique, en particulier les Docteurs **DAVIN** Marie et **LEDOUX** Alison, les ingénieurs **KENNE** Thierry, **MARTIN** Henry, **SERGEANT** Saskia, les doctorants **GENVA** Manon, **SAIVES** Matthew, **JOSSELIN** Laurie, **WERRIE** Pierre-Yves, **MAES** Chloé et **BURGEON** Clément, les techniciens **TRISMAN** Dany, **BERTRAND** Thomas, **MICHELS** Franck pour leur aide dans les traitements et les analyses chimiques des échantillons.

J'exprime aussi mes vifs remerciements à tous les membres du Service Social et de la bibliothèque de Gembloux Agro Bio-Tech, spécialement à Mesdames **DECAMP** Françoise, **PISCART** Fabienne et **TRAUTES** Sarah, pour l'appui social et financier, ainsi que pour l'accueil à Gembloux.

*Que Messieurs **KOBENAN** Lazare Assie, Père **BOU** Thia Marius, **IPOU** Ipou Joseph, **KOUAME** Kan Jean, **KOFFI** N'da serge, **TOSSA** Félicien et **N'GUESSAN** Bernard, reçoivent ici ma sincère reconnaissance, pour leurs aides matérielles, morales, spirituelles et leurs conseils bienveillants.*

*Je remercie également mes camarades du laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière (LCRM) ex LCOSN de l'Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan, Messieurs **CAMARA** Étienne, **KONÉ** Aboudramane, **KAMBIRE** Didjour Albert, Assistants, **BOUE** Blanchard, **BITCHI** Boni, **DIBI** Jacques, **KOFFI** Téki Évanes, **KALO** Nabitou, les doctorants **GNAHORÉ** Toussaint, **SIGNO** Kouassi, **DEGNY** Anne Lise, **NÉA** Fatimata, **NIKIÉMA** Diakaridja, **KOUAME** Koffi Michel, **M'TAMON** Diane et les Masters II pour leurs soutiens et encouragements.*

Mes sincères remerciements à la Direction générale de la SODEFOR pour l'autorisation qui m'a été accordée pour le prélèvement des organes des plantes endémiques dans les différentes Forêts Classées.

*Je remercie également Messieurs **TÉRÉ** Henry, feu **ASSI** Jean et **KOUAME** Julien pour l'aide qu'ils m'ont apportée pour l'identification et la récolte du matériel végétal.*

*Enfin, je ne saurais oublier tous les liens d'amitié qui se sont formés durant ces trois années de thèse à Gembloux, pour leur accueil chaleureux. Je veux nommer **KOUASSI** Alfred, **ZIE** Madinatou, **ATTIKORA** Affi, **TRAORÉ** Bintou, **TOURÉ** Fanta, **KAMBIRÉ** Joseph, **YAO** Ange Parfait, **YAPO** Rosaire, **YITEMBE** Hangoue Aymeric Reggiani, **FINGU** Mabola Junior Corneille, **HOUNDEHIN** Seveho Joseph, **ZIDI** Kahina, **THIAM** Aboulaye, **SANGARE** Hamala et **DETHIE** Ngom.*

Que tous ceux qui d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réalisation de cette thèse, de près ou de loin trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude.

Merci à tous

Table des matieres

Dédicace	iii
Avant-propos	iv
Résumé	v
Abstract.....	vii
Remerciements	ix
Table des matieres	xii
Liste des Figures	xvii
Liste des Tableaux	xxii
Liste des Abreviations, acronymes	xxiv
Préambule	1
Partie 1 Introduction générale.....	1
Chapitre 1. Le Genre <i>Zanthoxylum</i> : Synthèse bibliographique	1
1. GENRE <i>ZANTHOXYLUM</i>	7
1.1. Généralités.....	7
1.2. Caractères botaniques	7
1.3. Distribution.....	7
1.4. Usages et propriétés	8
1.5. Métabolites secondaires et quelques propriétés	10
1.5.1. Les alcaloïdes	11
1.5.2. Les flavonoïdes.....	12
1.5.3. Les amides	13
1.5.4. Les coumarines	14
1.5.5. Les triterpénoïdes	14
2. <i>ZANTHOXYLUM LEPRIEURII</i> GUILL & PERR.	15
2.1. Distribution.....	15
2.2. Description botanique.....	16
2.3. Utilisations traditionnelles.....	17
2.4. Étude chimique et biologique.....	18
3. <i>ZANTHOXYLUM MEZONEURISPINOSUM</i> (AKE ASSI) ET <i>ZANTHOXYLUM</i> <i>PSAMMOPHILUM</i> (AKE ASSI WATER).....	20
3.1. Distribution.....	20
3.1.1. <i>Zanthoxylum mezoneurispinosum</i> (Ake Assi).	20
3.1.2. <i>Zanthoxylum psammophilum</i> Ake Assi.	23
4. GÉNÉRALITÉS SUR LES HUILES ESSENTIELLES (HE).....	26
4.1. Définition des huiles essentielles	26
4.2. Fonctions de l'huile essentielle dans la plante	26
4.3. Composition chimique des huiles essentielles	27
4.4. Facteurs influençant la composition chimique et le rendement à l'extraction des HE	32

4.5. Généralités sur les méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	32
4.5.1. L'hydrodistillation.....	32
4.5.2. L'entraînement à la vapeur d'eau	33
4.5.3. L'hydrodiffusion	33
4.6. Autres techniques d'extraction des substances volatiles	33
4.6.1. L'extraction par CO ₂	33
4.6.2. Extraction assistée par micro-ondes	34
4.7. Quelques généralités sur les méthodes d'analyse des huiles essentielles	35
4.7.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	35
4.7.2. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM).....	36
4.7.3. Méthode d'analyse par RMN ¹³ C sans séparation préalable	37
Chapitre 2. Matériels et Méthodes.....	41
1. MATÉRIEL.....	43
1.1. Matériel végétal.....	43
1.1.1. <i>Zanthoxylum lepreurii</i>	43
1.1.2. <i>Zanthoxylum mezoneurispinosum</i>	43
1.1.3. <i>Zanthoxylum psammophilum</i>	43
1.2. Matériel d'extraction.....	44
1.2.1. Matériel d'extraction des huiles essentielles (substances volatiles)	44
1.3. Matériel biologique	44
2. MÉTHODES	45
2.1. Extraction par l'hydrodistillation.....	45
2.2. Calcul du rendement.....	45
2.3. Méthodes chromatographiques.....	45
2.3.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	45
2.3.2. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	47
2.3.3. Chromatographie sur colonne de gel de silice (CC).....	47
2.3.4. Chromatographie liquide haute performance (CLHP)	47
2.3.5. Chromatographie liquide haute performance analytique préparative.....	48
2.4. Extractions et de purifications des métabolites secondaires	48
2.4.1. Extractions.....	48
2.4.2. Fractionnement et de purification des composés isolés de l'extrait	50
2.5. Méthodes d'analyse de détermination structurale.....	50
2.5.1. Spectrométrie de masse (SM).....	50
2.5.2. Spectrométrie Infra-Rouge (IR)	51
2.5.3. Analyses des composés par résonance magnétique nucléaire (RMN)	51
2.6. Screening phytochimique.....	51

2.7. Analyse des dosages de composés bioactifs.....	52
2.7.1. Dosage des polyphénols totaux	52
2.7.2. Dosage des alcaloïdes totaux	53
2.7.3. Dosage des flavonoïdes totaux	53
2.7.4. Dosage des tanins totaux	54
2.8. Analyses des activités biologiques	54
2.8.1. Activités antioxydantes.....	54
2.8.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	56
2.8.3. Activité insecticide	58
2.8.4. Évaluation de l'activité anti plasmodiale <i>in vitro</i>	61
3. ANALYSES STATISTIQUES	62
Partie 2. Résultats et discussion.....	65
Chapitre 3. Rendements et composition des huiles essentielles des trois especes....	67
1. RENDEMENTS DES HUILES ESSENTIELLES.....	69
1.1. <i>Zanthoxylum leprieurii</i>	69
1.2. <i>Zanthoxylum mezoneurispinosum</i>	70
1.3. <i>Zanthoxylum psammophilum</i>	70
2. COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES	70
2.1. <i>Zanthoxylum leprieurii</i>	70
2.1.1. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles	70
2.1.2. Composition chimique de l'huile essentielle des écorces du tronc ...	73
2.1.3. Composition chimique de l'huile essentielle des tiges de <i>Z. leprieurii</i>	77
2.1.4. Étude de l'impact de la période de la récolte sur le rendement et la	80
composition chimique de l'huile essentielle de <i>Z. leprieurii</i>	
2.2. Composition chimique des HE de <i>Z. psammophilum</i>	115
2.2.1. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles	115
2.2.2. Composition chimique de l'huile essentielle des écorces du tronc .	118
2.2.3. Impact de la période de récolte sur la composition chimique des	121
écorces	
2.2.4. Composition chimique de l'HE des racines de <i>Z. psammophilum</i> ..	124
2.3. Composition chimique des huiles essentielles de <i>Z. mezoneurispinosum</i>	127
2.3.1. Composition chimique de l'HE des feuilles de <i>Z. mezoneurispinosum</i>	128
récolté à Grand-Lahou	
2.3.2. Composition chimique des HE des écorces du tronc de <i>Z.</i>	131
<i>mezoneurispinosum</i> récoltées à Grand-Lahou	
2.3.3. Composition chimique des HE des écorces de racines de Grand-Lahou	134
.....	
2.3.4. Composition chimique des HE des feuilles de <i>Z. mezoneurispinosum</i>	137
récoltées dans la forêt du Banco d'Abidjan	
3. CONCLUSION PARTIELLE SUR LES HE DES TROIS ESPÈCES DE <i>ZANTHOXYLUM</i> . 141	

Chapitre 4. Evaluation des propriétés biologiques des HE des trois espèces	143
1. PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DES HE DE <i>Z. LEPRIEURII</i> , <i>Z. MEZONEURISPINOSUM</i> ET <i>Z. PSAMMOPHILUM</i>	145
1.1. Activités antioxydantes des différentes HE.....	145
1.1.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1- picrylhydrazyl)	145
1.1.2. Évaluation du pouvoir réducteur de fer (FRAP)	149
1.2. Activités anti-inflammatoires des différentes HE	152
1.2.1. Activité inhibitrice de la lipoxgénase des différentes HE	152
1.2.2. Inhibition de la dénaturation de l'albumine de l'HE de <i>Z. lepieurii</i>	153
1.3. Activités insecticides des différentes HE.....	154
1.3.1. Effet répulsif sur papier filtre de <i>Sitophilus granarius</i> par les HE et Talisma UL.....	154
1.3.2. Détermination des taux de mortalité de <i>Sitophilus granarius</i> par les HE et Talisma UL.....	156
1.4. Activité antiplasmodiale des HE.....	161
2. CONCLUSION PARTIELLE SUR LES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES RÉALISÉES	162
Chapitre 5. Etude des métabolites secondaires non volatils	163
1. SCREENING PHYTOCHIMIQUE	165
2. DOSAGE DE LA TENEUR EN ALCALOÏDES TOTAUX, FLAVONOÏDES, POLYPHÉNOLS ET TANINS DES PLANTES PAR COLORIMÉTRIE	167
2.1. Dosage des alcaloïdes totaux (AT).....	167
2.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FT).....	168
2.3. Dosage des polyphénols totaux (PPT).....	169
2.4. Dosage des tanins totaux (TT).....	170
3. EXTRACTION ET PURIFICATION	171
3.1. Extraction	172
3.2. Fractionnement de l'extrait MFD des feuilles de <i>Z. mezoneurispinosum</i>	172
3.3. Détermination des structures des composés isolés de l'extrait MFD des feuilles de <i>Z. mezoneurispinosum</i>	173
3.3.1. Élucidation structurale du composé MFD1	173
3.3.2. Élucidation structurale du composé MFD2	178
3.3.3. Élucidation structurale du composé MFD3	183
3.3.4. Élucidation structurale du composé MFD4	188
3.3.5. Élucidation structurale du composé MFD5	192
3.3.6. Élucidation structurale du composé MFD6	196
3.3.7. Élucidation structurale du composé MFD7	201
3.3.8. Élucidation structurale du composé MFD8	204
4. CONCLUSION PARTIELLE SUR L'ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE	209

Partie 3. Conclusion générale et Perspectives	211
CONCLUSION GÉNÉRALE	213
PERSPECTIVES	216
Références bibliographiques.....	217
ANNEXES	247
ANNEXE 1 : DONNÉES DE L'ANALYSE STATISTIQUE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HE DE <i>Z. LEPRIEURII</i>	249
ANNEXE 2 : LES DROITES DE RÉGRESSIONS DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES	251
ANNEXE 3 : SPECTRE IR DES COMPOSÉS	253
ANNEXE 4 : CORRÉLATION COSY ET HMBC DU LUPÉOL	254
ANNEXE 5 : CORRÉLATION COSY ET HMBC DU 1-HYDROXY-3,4 DIMETHOXY-N- MÉTHYLACRIDONE	255
ANNEXE 6 : CORRÉLATION COSY ET HMBC DE L'ACIDE (E)- 4- (ISOBUTYLAMINO)-4-OXO-BUT-ÉNOÏQUE.....	256
ANNEXE 7 : CORRÉLATION COSY ET HMBC DU MÉTHYL 4-COUMARATE	257
ANNEXE 8 : CORRÉLATION COSY ET HMBC DE LA CHÉLÉRYTHRINE.....	258
ANNEXE 9 : CORRÉLATION COSY ET HMBC DE L'ACACÉTINE	259
ANNEXE 10 : CORRÉLATION COSY ET HMBC DE LA XANTHAXOLINE.....	260
ANNEXE 11 : CORRÉLATION HMBC DE LA SKIMMIANINE.....	261
ANNEXE 12 : STRUCTURES DES COMPOSÉS ISOLÉS DANS LES FEUILLES DE <i>ZANTHOXYLUM MEZONEURISPINOSUM</i>	262
ANNEXE 13 : PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES	265
PUBLICATIONS.....	265

Liste des Figures

Figure 1 : Structure de quelques composés de HE du genre <i>Zanthoxylum</i>	10
Figure 2 : Structure d'un alcaloïde de type benzo[c]phenanthridine.....	11
Figure 3: Structure d'un alcaloïde de type indole.....	12
Figure 4 : Structure d'un alcaloïde de type anthranilique	12
Figure 5: Structure des flavonoïdes.....	13
Figure 6: Structure des amides	13
Figure 7: Structure de la coumarine	14
Figure 8: Structure des triterpènes.....	15
Figure 9 : Aire de répartition de <i>Zanthoxylum leprieurii</i> en Afrique	16
Figure 10 : Photos de <i>Z. leprieurii</i> ; (A) Feuilles, (B) Ecorce, (C) Fruits	17
Figure 11 : Aire de répartition de <i>Z. Mezoneurispinosum</i> et <i>Z. psammophilum</i> espèces endémiques de Côte d'Ivoire	20
Figure 12: Photos de <i>Zanthoxylum mezoneurispinosum</i> ; Feuilles (A) ; Écorces (B) ; Racines (C), forêt classée du Banco d'Abidjan, source Tanoh E.....	22
Figure 13: Structure de l'akeassimezorine isolé de <i>Zanthoxylum mezoneurispinosum</i>	23
Figure 14: Photos de <i>Zanthoxylum psammophilum</i> ; Feuilles (A) ; Écorces (B) ; Racines(C), forêt petit Yapo d'Agboville, source Tanoh E.	24
Figure 15: Les structures des nouveaux composés isolés de <i>Zanthoxylum</i>	25
Figure 16 : Représentation du motif isoprène, de l'IPP et du DMAPP	27
Figure 17 : Biosynthèse des terpénoïdes	29
Figure 18: Biosynthèse des phénylpropanoïdes	31
Figure 19: Photo extraction supercritique CO ₂	34
Figure 20: Hydrodistillation assistée par micro-ondes	35
Figure 21 : Montage du Clevenger.....	44
Figure 22 : Appareil CPG/SM.....	46
Figure 23: Schéma d'extraction des feuilles de <i>Z. mezoneurispinosum</i>	49
Figure 24 : Schéma de la purification des fractions de l'extrait MFD	50
Figure 25: Schéma Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Molyneux, 2004).....	55
Figure 26 : <i>Sitophilus granarius</i>	58
Figure 27 : Taux de mortalité de <i>Sitophilus granarius</i> sur les grains traités par les HE.....	59
Figure 28: Le test de répulsion des huiles essentielles	60
Figure 29: Rendements en HE des feuilles de <i>Z. leprieurii</i> en fonction de la période de récolte.	81
Figure 30: Profil chromatographique de l'HE des feuilles du mois de septembre de <i>Z. leprieurii</i> d'Adzopé.....	82

Figure 31: Proportion des différentes familles de composés extraites des HE dans des feuilles	88
Figure 32: Comparaison des composés chimiques majoritaires de l'HE des feuilles de <i>Z. leprieurii</i> suivant les mois	89
Figure 33: Rendements en HE des écorces de <i>Z. leprieurii</i> en fonction de la période de récolte.	90
Figure 34: Profil chromatographique de l'HE des écorces du tronc du mois de mai de <i>Z. leprieurii</i>	91
Figure 35 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des écorces	96
Figure 36: Comparaison des composés chimiques majoritaires de l'HE des écorces de <i>Z. leprieurii</i> suivant les mois	97
Figure 37: Rendements en HE des fruits de <i>Z. leprieurii</i> en fonction de la période de récolte.	98
Figure 38: Profil chromatographique de l'HE des fruits du mois de juillet de <i>Z. leprieurii</i>	99
Figure 39 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des écorces	103
Figure 40: Comparaison des composés chimiques majoritaires de l'HE des fruits de <i>Z. leprieurii</i> suivant les mois	103
Figure 41: Graphique de l'ACP des 19 échantillons d'HE de feuilles, d'écorces du tronc et de fruits de <i>Z. leprieurii</i> , de Côte d'Ivoire.....	106
Figure 42: Dendrogramme des 19 échantillons des HE de feuilles, d'écorces de tronc et de fruits de <i>Z. leprieurii</i>	109
Figure 43: Représentation des individus de <i>Z. leprieurii</i>	112
Figure 44: Comparaison des classes de composés chimiques des HE de <i>Z. leprieurii</i>	113
Figure 45: Évolution de la teneur des composés chimiques majoritaires pendant la période de récolte.....	114
Figure 46 : Profil chromatographique de l'HE des feuilles de <i>Z. psammophilum</i> ..	115
Figure 47 : Proportion des différentes familles de composés extraits de l'HE des feuilles	118
Figure 48 : Profil chromatographique de l'HE des écorces de <i>Z. psammophilum</i> .	119
Figure 49 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des écorces	120
Figure 50 : Comparaison des teneurs en undécane-2-one et en tridécan-2-one des feuilles et des écorces du tronc de <i>Z. psammophilum</i> récoltées à Agboville et à Adiaké.....	121
Figure 51: Évolution de la teneur de undécane-2-one et du tridécan-2-one de <i>Z. psammophilum</i> selon les différents mois	122
Figure 52 : Profil chromatographique de l'HE des racines de <i>Z. psammophilum</i> ..	125

Figure 53: Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des racines.....	127
Figure 54 : Profil chromatographique de l'HE des feuilles de <i>Z. mezoneurispinosum</i> du Banco d'Abidjan.....	128
Figure 55 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des feuilles	129
Figure 56: Profil chromatographique de l'HE des écorces du tronc	131
Figure 57 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des écorces	132
Figure 58: Profil chromatographique de l'HE des racines de <i>Z. mezoneurispinosum</i>	134
Figure 59 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des racines.....	136
Figure 60 : Composés majoritaires des HE de <i>Z. leprieurii</i> , <i>Z. psammophilum</i> et <i>Z. mezoneurispinosum</i>	140
Figure 61: Courbe d'évolution de l'activité antiradicalaire de l'HE des feuilles, écorces et des fruits de <i>Z. leprieurii</i> et du trolox	145
Figure 62: Courbe d'évolution l'activité antiradicalaire de l'HE des feuilles, écorces et des racines de <i>Z. psammophilum</i> et du trolox.....	146
Figure 63: Courbe d'évolution de l'activité antiradicalaire de l'HE des feuilles, écorces et des racines de <i>Z. mezoneurispinosum</i> et du trolox	146
Figure 64: Réduction du Fer par HE des feuilles, des écorces et des fruits de <i>Z. leprieurii</i> et le trolox.....	150
Figure 65: Réduction du Fer par HE des feuilles, des écorces et des racines de <i>Z. psammophilum</i> et le trolox.	150
Figure 66: Réduction du Fer par HE des feuilles, des écorces et des racines de <i>Z. mezoneurispinosum</i> et le trolox.	151
Figure 67: Courbe de la mortalité de <i>Sitophilus granarius</i> traités par les huiles essentielles et le Talisma	155
Figure 68: Toxicité de l'insecticide chimique Talisma UL sur <i>Sitophilus granarius</i>	158
Figure 69: Toxicité de l'HE de l'écorce de <i>Z. psammophilum</i> sur <i>Sitophilus granarius</i>	159
Figure 70: Toxicité de l'HE de feuilles de <i>Z. leprieurii</i> sur <i>Sitophilus granarius</i> ...	159
Figure 71: Toxicité de l'HE d'écorce de <i>Z. leprieurii</i> sur <i>Sitophilus granarius</i>	160
Figure 72: Toxicité de l'HE de fruits de <i>Z. leprieurii</i> sur <i>Sitophilus granarius</i>	160
Figure 73: Teneurs en composés alcaloïdiques dans les extraits de <i>Z. mezoneurispinosum</i> et <i>Z. psammophilum</i>	168
Figure 74: Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits de <i>Z. mezoneurispinosum</i> et <i>Z. psammophilum</i>	169

Figure 75: Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits de <i>Z. mezoneurispinosum</i> et <i>Z. psammophilum</i>	170
Figure 76: Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits de <i>Z. mezoneurispinosum</i> et <i>Z. psammophilum</i>	171
Figure 77 : Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, DMSO-d ₆) de MFD1.....	174
Figure 78 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, DMSO-d ₆) de MFD1.....	175
Figure 79: Schéma des corrélations Cosy et HMBC des protons du composés MFD1	176
Figure 80: Structure du lupéol.....	177
Figure 81 : Spectre de masse du composé MFD2	179
Figure 82 : Spectre infra-rouge du composé MFD.....	179
Figure 83 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD ₃ OD) de MFD2	181
Figure 84: Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, CD ₃ OD) de MFD2.....	181
Figure 85: Schéma des corrélations Cosy et HMBC des protons du composés MFD2	182
Figure 86: Structure du 1-hydroxy-3,4-diméthoxy-N-méthylacridone	182
Figure 87 : Spectre de masse du composé MFD3	184
Figure 88: Spectre infra-rouge du composé MFD3.....	184
Figure 89 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD ₃ OD) de MFD3	185
Figure 90: Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, CD ₃ OD) de MFD3	185
Figure 91: Chaînon 1 de la molécule MFD3	186
Figure 92: Chaînon 2 de la molécule MFD3	186
Figure 93: Schéma des corrélations Cosy et HMBC des protons du composés MFD3	187
Figure 94: Structure de l'Acide (E)- 4- (isobutylamino)-4-oxo-but-énoïque	187
Figure 95 : Réaction de synthèse de l'Acide (E)- 4- (isobutylamino)-4-oxo-but-énoïque	188
Figure 96: Spectre RMN ^1H (600 MHz, DMSO-d ₆) de MFD4.....	189
Figure 97: Spectre ^{13}C -RMN (600 MHz, DMSO-d ₆) de MFD4.....	190
Figure 98: Schéma des corrélations COSY et HMBC des protons du composés MFD4	191
Figure 99: Schéma du coumarate de-4- méthyl.....	191
Figure 100 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, DMSO-d ₆) de MFD5.....	193
Figure 101 : Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, DMSO-d ₆) de MFD5.....	194
Figure 102 : Schéma des corrélations HMBC des protons du composé MFD5	195
Figure 103 : structure de la chélérythrine.....	195
Figure 104 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD ₃ OD) de MFD6.....	197
Figure 105 : Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, CD ₃ OD) de MFD6.....	198
Figure 106 : Schéma des corrélations COSY et HMBC des protons du composés MFD6	199
Figure 107: Structure de 4'-méthoxy-5,7-dihydroxyflavone (acacétine)	200

Figure 108: Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de MFD7	201
Figure 109: Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, CD_3OD) de MFD7	202
Figure 110 : Schéma des corrélations HMBC des protons du composé MFD7	203
Figure 111: Structure de la skimmianine.....	203
Figure 112: Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de MFD8.....	205
Figure 113: Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, CD_3OD) de MFD8.....	206
Figure 114 : Schéma des corrélations HMBC des protons du composé MFD8.....	207
Figure 115 : Structure de la xanthoxoline	207

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Réactifs spécifiques et réactions de caractérisation du criblage Phytochimique.....	52
Tableau 2: Pourcentages de répulsion selon le classement de Mc Donald et al. (1970).	61
Tableau 3 : Rendements en HE de <i>Z. leprieurii</i> de certains pays (Tchabong et al., 2018 ; Oyedeji et al., 2008 ; Tiné et al., 2020)	69
Tableau 4: Composition de l'huile essentielle des feuilles de <i>Z. leprieurii</i> récoltées à San-pédro (SP) et à Adzopé (AD)	71
Tableau 5: Composition de l'huile essentielle des écorces du tronc de <i>Z. leprieurii</i> récoltées à San-pédro (SP) et à Adzopé (AD)	75
Tableau 6: Composition chimique de l'HE des tiges de <i>Z. leprieurii</i>	78
Tableau 7: Données météorologiques enregistrées pendant la période de collecte des organes de <i>Z. leprieurii</i>	80
Tableau 8: Variation de la composition chimique de l'HE des feuilles de <i>Z.</i> <i>leprieurii</i> d'Adzopé au cours des mois.....	83
Tableau 9: Variation de la composition chimique de l'HE des écorces de tronc de <i>Z.</i> <i>leprieurii</i> d'Adzopé au cours des mois.....	92
Tableau 10 : Variation de la composition chimique de l'HE des fruits de <i>Z. leprieurii</i> d'Adzopé au cours des mois.....	100
Tableau 11: Test de sphéricité de Bartlett	104
Tableau 12: Test de Lambda de Wilks de <i>Z. leprieurii</i>	111
Tableau 13 : Composition chimique de l'HE des feuilles de <i>Z. psammophilum</i>	116
Tableau 14 : Composition chimique de l'HE des écorces de <i>Z. psammophilum</i>	119
Tableau 15: Composition chimique de l'HE des écorces du tronc de <i>Z.</i> <i>psammophilum</i> récoltées à Agboville.....	123
Tableau 16: Composition chimique de l'HE des racines de <i>Z. psammophilum</i> d'Agboville.....	125
Tableau 17 : Composition chimique de l'HE des feuilles de <i>Z. mezoneurispinosum</i>	130
Tableau 18: Composition chimique de l'HE des écorces de <i>Z. mezoneurispinosum</i>	133
Tableau 19: Composition chimique de l'HE des racines de <i>Z. mezoneurispinosum</i>	135
Tableau 20: Composition chimique de l'HE des feuilles de <i>Z. mezoneurispinosum</i> échantillonnée au Banco.....	138
Tableau 21: Résultats de l'activité antiradicalaire (DPPH) de l'HE des différents organes de <i>Z. leprieurii</i> , <i>Z. psammophilum</i> et <i>Z. mezoneurispinosum</i>	147
Tableau 22: Activité inhibitrice de la lipoxgénase des HEs de <i>Z. leprieurii</i> , <i>Z.</i> <i>psammophilum</i> et <i>Z. mezoneurispinosum</i> , les données en triplicat.	153

Tableau 23: Activité inhibitrice de la dénaturation de l'albumine de l'HE de <i>Z. leprieurii</i>	153
Tableau 24: Pourcentage de répulsion des HE de <i>Z. psammophilum</i> , <i>Z. leprieurii</i> et de l'insecticide chimique (Talisma UL)	155
Tableau 25 : Classement des organes suivant les pourcentages de répulsion de <i>Sitophilus granarius</i> après 2 h de traitement aux HE et Talisma	156
Tableau 26: Pourcentage d'inhibition de l'activité antiplasmodiale des HE de <i>Z. leprieurii</i> , <i>Z. psammophilum</i> et <i>Z. mezoneurispinosum</i>	161
Tableau 27 : Familles chimiques caractérisées dans les broyats (extraits bruts).....	165
Tableau 28: Familles chimiques caractérisés dans les extraits aux solvants	166
Tableau 29: Extraction des feuilles de <i>Z. mezoneurispinosum</i>	172
Tableau 30 : Déplacements chimique en RMN 1D et 2D (600 MHz, DMSO-d ₆) du lupéol	177
Tableau 31: Déplacements chimique en RMN 1D et 2D (600 MHz) dans le CD ₃ OD de 1-hydroxy-3,4-diméthoxy-N-méthylacridone.....	183
Tableau 32: Déplacements chimique en RMN 1D et 2D (400 MHz) dans méthanol-d ₄ (CD ₃ OD) l'Acide (E)- 4- (isobutylamino)-4-oxo-but-énoïque.....	188
Tableau 33 : Déplacements chimique RMN 1D et 2D du composé MDF4 (DMSO-d ₆).....	192
Tableau 34 : Déplacements chimique RMN 1D et 2D du composé MDF5 (DMSO-d ₆).....	196
Tableau 35 : Déplacements chimique RMN 1D et 2D du composé MDF6 (CD ₃ OD)	200
Tableau 36 : Déplacements chimique RMN 1D et 2D du composé MDF7 (CD ₃ OD)	204
Tableau 37 : Déplacements chimique RMN 1D et 2D du composé MDF68 (CD ₃ OD)	208
Tableau 38 : Composition chimique de l'HE des feuilles, des écorces et des fruits de <i>Z. leprieurii</i>	249

Liste des Abreviations, acronymes

°C	Degré celsius
µg /mL	Microgramme par millilitre
ACN	Acétonitrile
AcOEt	Acétate d'éthyle
ACP	Analyse en composantes principales
AFD	Analyse Factorielle Discriminante
CAH	Classification ascendante hiérarchique
CC	Chromatographie sur colonne ouverte
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
CNF	Centre National de Floristique
CO₂	Dioxyde de carbone
COSY	Correlated Spectroscopy
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
DCM	Dichlorométhane
DPPH	1,1-diphényl-2-picryl- hydrazyl
DMSO-d₆	Diméthylsulfoxyde deutéré
EA/g	Équivalent atropine par gramme
EAG /g	Équivalent acide gallique par gramme
EI	Impact électronique
EQ/g	Équivalent quercétine par gramme
ESI-SM/SM	Electrospray Ionization
eV	Électron volt
Fe³⁺	Ion ferrique
Fe²⁺	Ion ferreux
FID	Free Induction Decay
FRAP	Pouvoir antioxydant réducteur du fer

H₃PO₄	Acide orthophosphorique
HE	Huile essentielle
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity 2,3JC-H
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Connectivity (Corrilation)
IC₅₀	Concentration d'inhibition à 50%
IR	Infrarouge
<i>J</i> (Hz)	Constante de couplage exprimé en Hz
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium
m/z	Masse par charge
MeOH	Méthanol
CD₃OD	Méthanol deutéré
mg	Milligramme
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
NH₄OH	Ammoniaque
NIST	Institut national de standard et de technologie
Ppm	Partie par million
Q-TOF	Spectrométrie de masse avec tandem quadripôle temps de vol
RMN ¹³C	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone-13
RMN ¹H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
SM	Spectrométrie de masse
TSM	Triméthylsilane
Z.	<i>Zanthoxylum</i>

Préambule

La nature, de par la diversité de ses composantes, offre à l'Homme un règne végétal vivant aux énormes potentialités pour son alimentation, son hygiène et sa santé. Depuis longtemps, les produits tels que les parfums, les huiles essentielles et les médicaments proviennent des plantes médicinales en général et des plantes aromatiques en particulier. Ainsi, dans des régions dépourvues de centres de santé, la pharmacopée traditionnelle a toujours constitué pour les populations la principale voie d'accès aux soins. Dans certaines régions d'Afrique, notamment en Afrique de l'Ouest, plus de 80% de la population ont recours exclusivement aux plantes comme sources de traitement médicamenteux (**Hasna Aamri, 2018**).

Malgré l'utilisation des plantes et l'essor croissant de la médecine traditionnelle, de nombreuses inconnues persistent : les plantes ont encore de multiples ressources à nous apprendre, tant au plan chimique que pharmacologique en raison de leur grande diversité dans la nature.

C'est pourquoi, certains pays comme la Côte d'Ivoire ont mis en place un programme national de valorisation des plantes médicinales. Ainsi, des programmes de recherches ont été initiés en vue d'approfondir les connaissances sur les plantes dont l'efficacité biologique est reconnue. Des plans de repérage et d'échantillonnage ont été définis en relation avec les botanistes afin de valoriser et de préserver cette flore riche et diversifiée.

Parmi ces plantes à usage thérapeutiques, les espèces appartenant à la famille des Rutaceae suscitent un grand intérêt à leurs valorisations. En effet, de nombreuses espèces de Rutaceae sont utilisées en médecine traditionnelle, en parfumerie, en cosmétique et dans l'alimentation. La famille des Rutaceae comprend 1600 espèces réparties en 160 genres. Elles ont une distribution cosmopolite, avec une grande concentration dans les régions tempérées et tropicales, notamment en Australie.

En Côte d'Ivoire, 9 espèces de cette famille appartenant au genre *Zanthoxylum* sont répertoriées et utilisées en médecine traditionnelle par une partie de la population (**Adou et al., 2019**). Aussi, pour une utilisation plus rationnelle des plantes médicinales, des recherches contemporaines s'investissent dans l'identification de nouveaux composés chimiques d'origine naturelle. À cet effet, la connaissance de la composition chimique des huiles essentielles et des extraits de plantes utilisées en médecine traditionnelle est une étape essentielle à la connaissance des plantes. Elle permet d'évaluer leur(s) propriété(s) thérapeutique(s).

Dans la même optique, la présente étude a pour objectif général, la recherche des molécules à visée thérapeutiques dans les plantes médicinales utilisées issues de la Pharmacopée Ivoirienne. Pour sa réalisation, elle s'inscrit dans le cadre d'une collaboration inter-universitaire qui associe les compétences du Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan et celles du Laboratoire de Molécules Naturelle de l'Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech.

Ce travail est essentiellement consacré à l'étude phytochimique de trois plantes médicinales de Côte d'Ivoire à savoir *Zanthoxylum leprieurii* Guill & Perr, *Z. mezoneurispinosum* (Aké Assi) et *Z. psammophilum* (Aké Assi).

De manière spécifique, il s'agit d'une part, d'établir le profil chimique des huiles essentielles et de tester les activités biologiques des HE de trois espèces végétales appartenant au genre *Zanthoxylum* et d'autre part, de rechercher de nouveaux métabolites secondaires de ces espèces végétales. L'étude procède d'abord par l'application de méthodes d'extraction, d'isolement, de purification, d'analyse des fractions et enfin, évaluer les activités biologiques des composés isolés.

Pour ces espèces, l'état actuel des connaissances ne mentionne aucune étude chimique sur la composition des huiles essentielles, à notre connaissance. Toutefois, des travaux antérieurs ont été réalisés au Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan sur les substances non-volatiles des racines de deux de ces espèces (**Yao Kouassi et al., 2014a ; Yao Kouassi et al., 2014b**).

Pour la restitution de nos résultats, ce document est scindé en cinq chapitres qui sont composés d'une introduction et suivis d'une conclusion et des perspectives.

Ainsi, le premier chapitre est consacré à la synthèse bibliographique sur les plantes étudiées appartenant au genre *Zanthoxylum*.

Le deuxième chapitre porte sur la partie expérimentale avec une présentation des techniques d'extractions et techniques d'analyse utilisées.

Le troisième chapitre présente les résultats de rendements et compositions des huiles essentielles des trois espèces.

Le quatrième chapitre concerne les résultats de l'évaluation des propriétés biologiques des huiles essentielles des trois espèces.

Le dernier et cinquième chapitre discute les résultats de l'étude des métabolites secondaires non volatiles.

Partie 1

Introduction générale

Chapitre 1.

**Le Genre *Zanthoxylum* : Synthèse
bibliographique**

1. Genre *Zanthoxylum*

1.1. Généralités

La famille des Rutaceae comprend 150 genres et près de 900 espèces. Beaucoup sont des sources d'huiles essentielles utilisées en parfumerie et en médecine. Parmi les plantes issues de cette famille, le Genre *Zanthoxylum* est le plus exploité et le plus répandu (Waheed et al., 2011). Le genre *Zanthoxylum* comprend environ 250 espèces d'arbres et d'arbustes persistants ou caducs, originaire des régions chaudes et tropicales du monde. Le nom du genre *Zanthoxylum* est dérivé du grec *xanthos* signifiant jaune et de *xylon* qui signifie bois. En effet certaines espèces du genre possèdent un colorant jaune dans leurs racines.

Classification

Règne	Plantae
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Zanthoxylum</i>

1.2. Caractères botaniques

Les différentes espèces du genre *Zanthoxylum* se présentent souvent sous la forme d'arbres, d'arbustes (dressés, traînants) ou comme des lianes forestières. Elles présentent des liens très étroits entre elles : ce sont en effet, des espèces dioïques, monoïques ou polygames, dont la plupart sont aromatiques avec des troncs et des branches épineux (Aké-Assi et Jérémie, 2009). Une caractéristique commune à la plupart des espèces appartenant à ce genre est la merveilleuse capacité de produire des gommés et des huiles volatiles. Les feuilles caduques ou persistantes sont composées, pennées ou unifoliées. Les inflorescences sont des panicules terminaux ou des fascicules axillaires. Les périanthes des fleurs sont constitués de 4 à 9 segments différenciés ou non. Les fleurs sont constituées de 3 à 8 étamines. Les fruits rarement capsulés sont formés par 1 à 5 follicules connés ou distincts. Ils comptent 1 à 2 graines par follicule et sont de couleur noire brillant ou rouge. À maturité, elles restent souvent attachées aux carpelles par un funicule.

1.3. Distribution

Le genre *Zanthoxylum* est originaire des zones subtropicales (Waheed et al., 2011). L'Amérique tropicale en rassemble le plus grand nombre d'espèces. Le continent africain compte environ 35 espèces, dont environ cinq (5) sont endémiques de Madagascar et une endémique de Côte d'Ivoire.

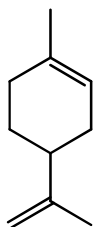
1.4. Usages et propriétés

Les organes foliaires, écorces, fruits, racines et le bois du genre *Zanthoxylum* sont beaucoup utilisés en raison de leur application dans le domaine médical, alimentaire, industriel et cosmétique (Singh et al., 2011 ; Ngassoum et al., 2003 ; Seidemann J., 2005). Ces nombreuses utilisations sont rencontrées presque dans tout le monde entier, notamment dans des pays comme la Chine, le Canada, les USA, le Cameroun, le Sénégal, le Japon, l’Ethiopie, etc.

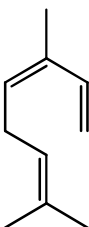
Par exemple en Asie, précisément en Inde et au Japon, les organes de l’espèce *Z. armatum* sont utilisés pour traiter les maladies de la peau, l’asthme, le cancer, le diabète, le choléra et la toux (Ranawat et al., 2010 ; Khare., 2007). *Z. lepreurii* et *Z. zanthoxyloides* sont couramment utilisées en Afrique (Sénégal, Cameroun, Nigeria et au Gabon) pour soigner la drépanocytose, le paludisme, la diarrhée, des maux de dents et la dysenterie (Kassim et al., 2009 ; Ngane et al., 2000 ; Tine et al., 2017). Les fruits du *Zanthoxylum* et leurs péricarpes sont utilisés comme une épice poivrée dans les préparations sucrées et salées. Les graines riches en huile sont souvent utilisées comme engrais ou combustible. Les graines sont également utilisées pour favoriser la digestion et comme agent antibactérien topique pour le traitement des plaies infectées. Les guérisseurs traditionnels ont utilisé différentes espèces du *Zanthoxylum* dans le traitement d'un large éventail de troubles, tels que les maladies urinaires et vénériennes, les rhumatismes et les lumbagos (Elujoba et al., 1985).

L’analyse de la composition chimique des huiles essentielles extraites des organes du genre *Zanthoxylum* a permis de montrer que ceux-ci sont composés de monoterpènes, de sesquiterpènes, de diterpènes et de méthylcétones. Les structures de ces composés sont représentées sur la figure 1 (Brophy et al., 2000 ; Setzer et al., 2005 ; Oyediji et al., 2008 ; Negi et al., 2011 ; Bisht et al., 2011). Beaucoup de ces composés extraits ont été associés à différentes activités biologiques, telles que des propriétés anti-oxydantes, inhibitrices de la lipoxygénase, antibactérienne, antileishmaniques, antimicrobienne, anti protozoaires, insecticide et antifongique (Gong et al., 2009 ; Barrera et al., 2011 ; Bhattacharya et al., 2011 ; Negi et al., 2012 ; Wong et al., 2015 ; Qi et al., 2015 ; Alam et al., 2019).

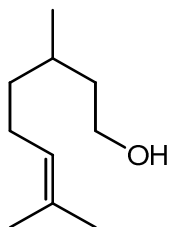
Monoterpènes



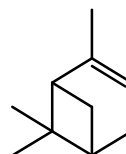
Limonène



(*E*)-β-ocimène

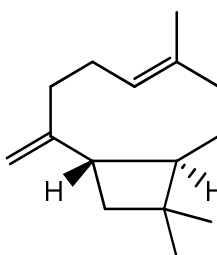


Citonellol

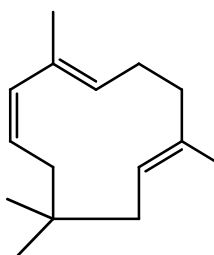


α-pinène

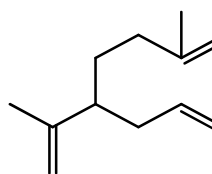
Sesquiterpènes



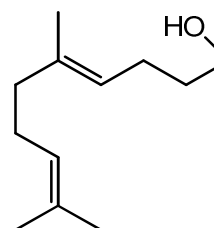
β-caryophyllène



α-humulène

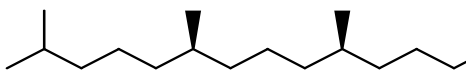


Germacrène-B

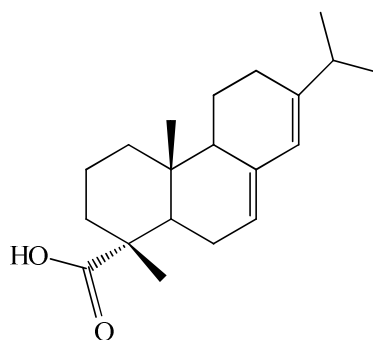


Nérolidol

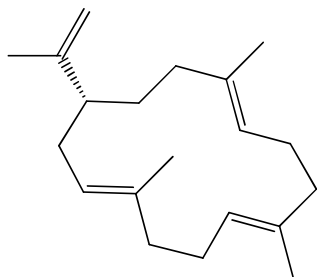
Diterpènes



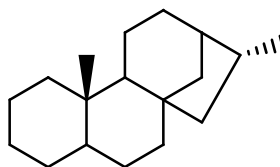
Phytol



Acide abiétique

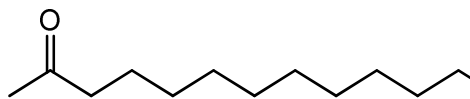


Cembrène A

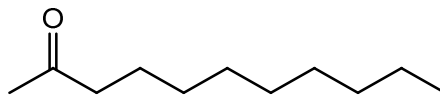


Kaurane

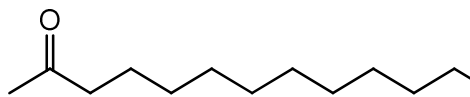
Méthylcétones



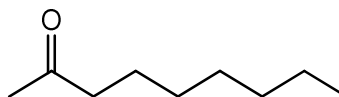
Tridécane-2-one



Undécane-2-one



Pentadécane-2-one



Nonane-2-one

Figure 1 : structure de quelques composés de HE du genre *Zanthoxylum*

1.5. Métabolites secondaires et quelques propriétés

Du point de vue chimique, les espèces du genre *Zanthoxylum* constituent une source riche en métabolites secondaires. Cette diversité chimique est liée à la diversité des voies du métabolisme secondaire présent chez les Rutaceae (Waterman et al., 1975). Les différents composés extraits (figure 2) des espèces de *Zanthoxylum* appartiennent aux familles suivantes :

- Les alcaloïdes
- Les flavonoïdes
- Les coumarines
- Les lignanes
- Les triterpènes
- Les amides etc.

1.5.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés complexes, de nature basique, présentant généralement de puissants effets physiologiques et très dominants dans les *Zanthoxylum*. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique (Boudjelal A. 2013 ; Volak et al., 1983). Les alcaloïdes isolés des *Zanthoxylum* présentent diverses propriétés biologiques telles que : propriétés antibactérienne, anti-inflammatoire, anti-oxydante, anti-plasmodiale, antifongique (Patino et al., 2012 ; Supabphol et al., 2014 ; Rosidah et al., 2018). Les alcaloïdes sont issus de plusieurs dérivés :

- Les dérivés de la tyrosine qui aboutissent aux alcaloïdes de type benzo[c]phenanthridine (figure 2) (Yao kouassi et al., 2014 ; De Moura et al., 1997 ; Nguyen et al., 2002), aporphine, protoberberine, protopine et qui caractérisent le genre *Zanthoxylum* (Fish et Waterman, 1973 ; Hesse, 2002).

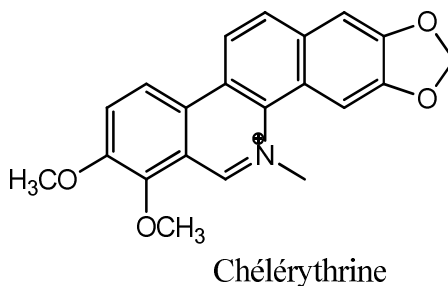
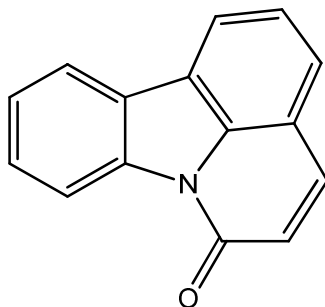


Figure 2: Structure d'un alcaloïde de type benzo[c]phenanthridine

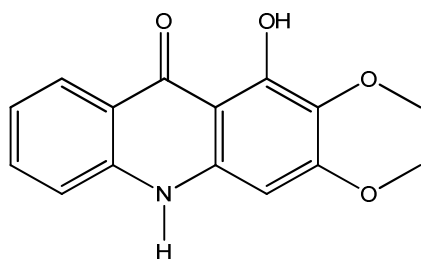
- Les dérivés du tryptophane donnant des indoles avec les canthin-6-one (figure 3) (He et al., 2002 ; Diehl et al., 2000).



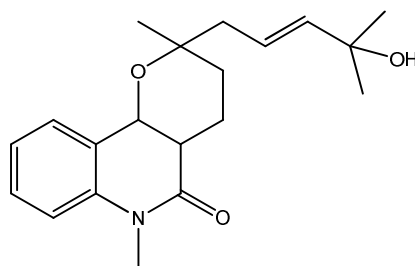
Canthin-6-one

Figure 3: Structure d'un alcaloïde de type indole

- Les dérivés de l'acide anthranilique aboutissant à la formation des quinoléines de type pyranoquinoline (Simulénoline) et acridones (Xanthoxoline) (**figure 4**) (**Chen et al., 1994 ; De Moura et al., 2002 ; Tchinda et al., 2009**).



Xanthoxoline

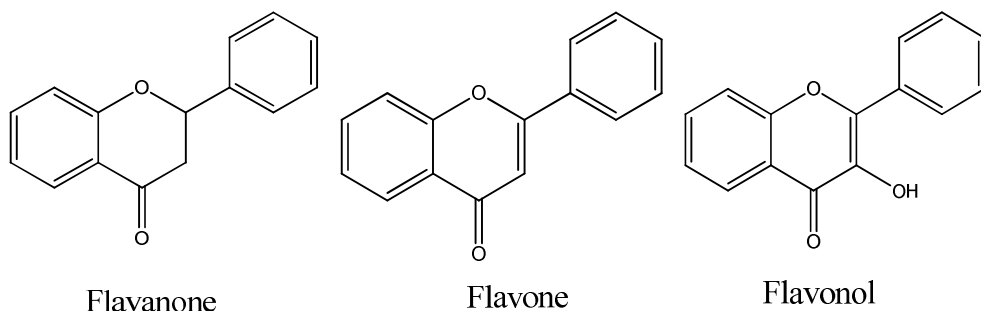


Simulénoline

Figure 4: Structure d'un alcaloïde de type anthranilique

1.5.2. Les flavonoïdes

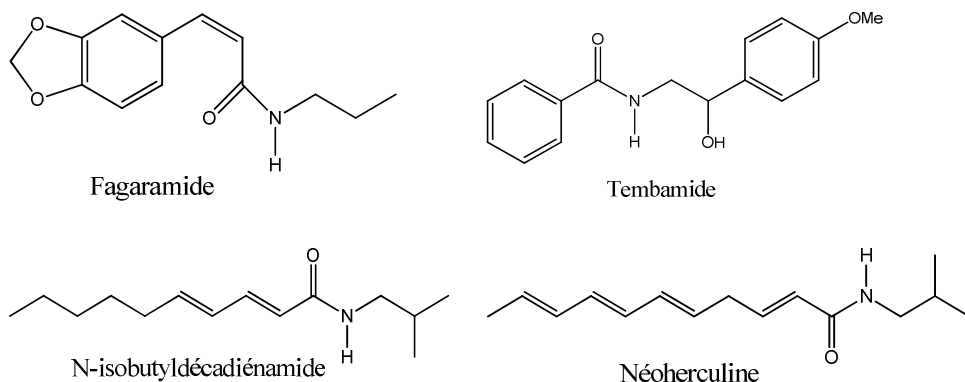
Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans les *Zanthoxylum*. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Les flavonoïdes (**Bhatt et al., 2017 ; Talapatra et al., 1973 ; Fang et al., 1993**) sont constitués de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-1-benzopyrane) (**Bahorum T. 1998**). Ils se classent en six groupes distincts dont les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavononols, les aurones, les chalcones, les flavan-3-ols, les flavan-3,4-diols, les isoflavones et les anthocyanidines (**Medic-Saric et al., 2004**). Mais dans les *Zanthoxylum*, les plus isolés sont flavones, flavonols et flavanones (**figure 5**).

**Figure 5:** Structure des flavonoïdes

Ces métabolites secondaires sont connus pour leurs diverses propriétés biologiques telles que antioxydantes, anti-inflammatoire, antithrombique, antibactérienne, antihépatotoxique, antitumorale, antihypertensive, antivirale et antiallergique (Kumar *et al.*, 2013 ; Busch *et al.*, 2015).

1.5.3. Les amides

Plusieurs amides ont été isolées du genre *Zanthoxylum*. Il s'agit notamment de : la fagaramide, la N- isobutyldécadiénamide, la tembamide et la néoherculine (figure 6).

**Figure 6:** Structure des amides

La plupart des études réalisées sur les amides (Chen *et al.*, 1994 ; De Moura *et al.*, 2002 ; Lee, H. 2005) des *Zanthoxylum* montrent qu'ils présentent des propriétés insecticides.

1.5.4. Les coumarines

En ce qui concerne les coumarines (Mai et al., 2001 ; Ross et al., 2004 ; Chang et al., 1997), nous pouvons les illustrer avec le scopoletin et le dimoxylin (figure 7).

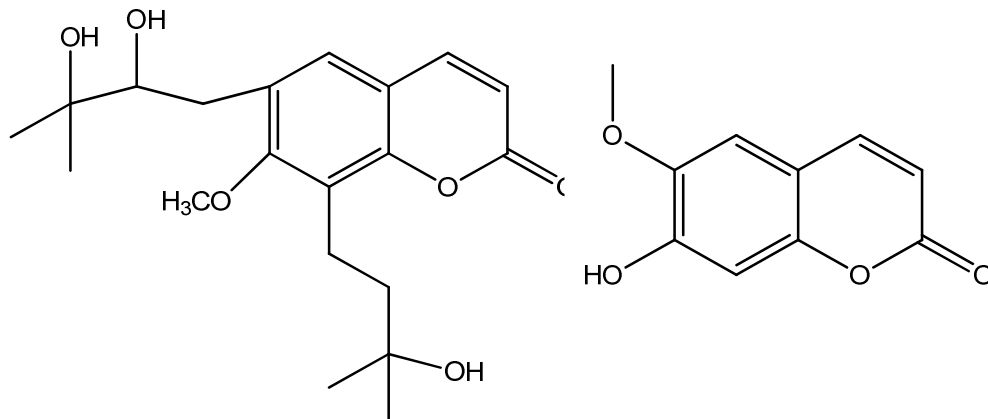


Figure 7: Structure de la coumarine

1.5.5. Les triterpénoïdes

Ils sont répandus dans les *Zanthoxylum* (Corrie et al., 1970). Nous pouvons citer le lupéol et le friedelin (Akihisa et al., 1992) dont les structures sont représentées sur la figure 8. Le premier composé a été plusieurs fois isolé dans les *Zanthoxylum* tels que : *Z. chiloperone* et *Z. zanthothoxyloides*, *Z. rhoifolium*, *Z. gillettii*, et *Z. rubescens* (Ahmad et al., 2014 ; Nyaboke et al., 2018 ; Adenisa et al., 1989) etc.

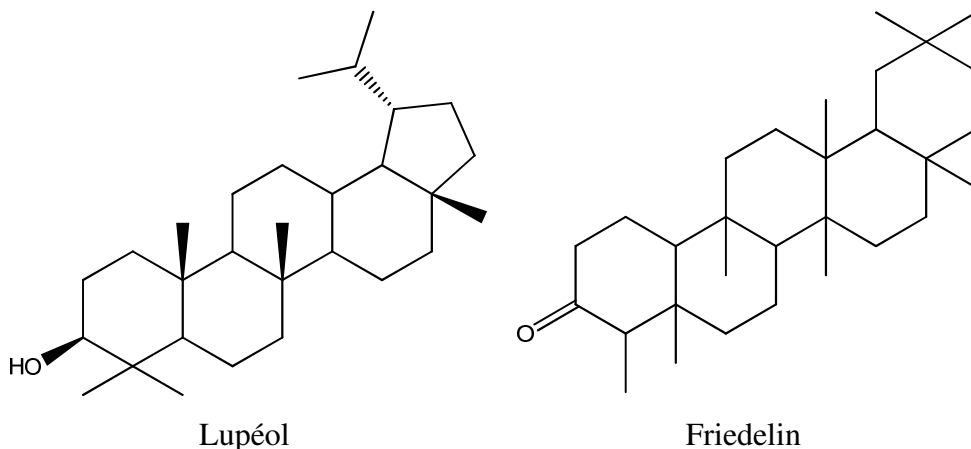


Figure 8: Structure des triterpènes

2. *Zanthoxylum leprieurii* guill & perr.

2.1. Distribution

Zanthoxylum leprieurii a une large répartition et est présent en Afrique du Sénégal jusqu'en Ethiopie et vers le sud du Continent jusqu'au Mozambique et à l'est de l'Afrique du Sud (**figure 9**) (**Tabuti 2011**). *Z. leprieurii* se rencontre aussi bien en forêt pluviale qu'en savane boisée, du niveau de la mer à 2000 m d'altitude. La destruction de son milieu et sa surexploitation constituent des menaces potentielles.

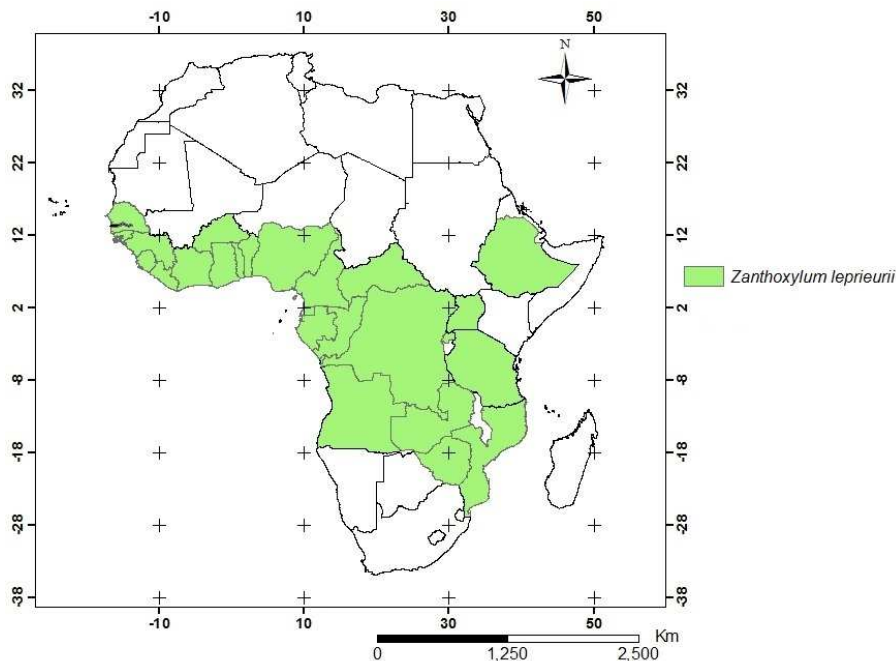


Figure 9 : Aire de répartition de *Zanthoxylum leprieurii* en Afrique

2.2. Description botanique

Zanthoxylum leprieurii Guill et Perr. également connu sous le nom de *Fagara angolensis* Engl. et *Fagara leprieurii* Engl., *Fagara beniensis* Engl, *Fagara kelekete* Wild, *Fagara kibomboensis* Wild, *Fagara nitens* Engl, *Fagara olung* Engl et *Fagara polyacantha* a une large distribution à travers l'Afrique tropicale. C'est un arbre de taille moyenne atteignant 15–25 m de haut et 40 cm de diamètre à la base (**figure 10**). Les branches comportent des épines qui deviennent des bosses sur le fût. Les feuilles sont alternes, composées imparipennées avec un rachis épineux sur le dessous possédant 8–16 folioles de 15–55 cm de long. Ces folioles sont apex acuminées ou caudées, à base oblique et cunéiforme, bords entiers vers la base, dentés ailleurs, glabres, papyracées, à nombreux points glandulaires minuscules. Les fleurs sont unisexuées, régulières, tetramères, petites, presque sessiles ; sépales légèrement soudés à la base, largement ovales, de 0,4–0,6 mm de long. Le fruit est un follicule presque globuleux, de 4–5 mm de diamètre, presque sessile, rougeâtre, ponctué de glandes. Les graines presque globuleuses, de 3–3,5 mm de diamètre, noires et brillantes (Lovett et al., 2003 ; Brukill, 2004 ; Uphof, 1959).



Figure 10 : Photos de *Z. leprieurii* ; (A) Feuilles, (B) Ecorce, (C) Fruits, source : Tanoh

2.3. Utilisations traditionnelles

La plupart des organes de *Zanthoxylum leprieurii* sont très aromatiques et sont couramment utilisés en médecine traditionnelle. Des décoctions d'écorces, de tiges ou de racines sont généralement prises comme diurétique et purgatif pour traiter des maladies vénériennes, la stérilité, les douleurs rénales, les douleurs du bas du dos, les douleurs post-partum, l'arthrose, les infections cutanées, les infections urinaires, la dysenterie, les vers intestinaux et les douleurs abdominales (Tchinda et al., 2009 ; Sofowora, 2010 ; Talontsi et al., 2012 ; Yao Kouassi et al., 2014 ; Agyaré et al., 2014 ; Yoro Tiné et al., 2020). De plus, il est démontré que l'infusion de fruits de *Z. leprieurii* soulage les symptômes de la drépanocytose (Tabuti et al., 2011). L'écorce de la tige ou des jeunes pousses ou les feuilles transformées en pâte sont également appliquées de façon topique pour traiter des blessures, des plaies syphilitiques, les ulcères lépreux, les maux de dents, le saignement des gencives, l'arthrose, les douleurs rénales et les douleurs rhumatismales. La vapeur d'écorce trempée dans de l'eau chaude est inhalée pour traiter les maux de dents et les douleurs rhumatismales. L'eau issue de la décoction des écorces est souvent utilisée pour se laver afin de traiter les maladies vénériennes. La décoction de feuilles ou l'écorce de tige broyée, mélangée à des graines de *Garcinia kola* Heckel et d'*Aframomum melegueta* K.Schum., se prend comme aphrodisiaque. Une cuillerée à café d'écorce de tige réduite en poudre se prend quotidiennement en mangeant pour traiter l'impuissance sexuelle masculine. Au Sénégal, on applique de la poudre d'écorce avec le latex de *Baissea axillaris* (Benth.) Hua sur les tumeurs. Au Liberia, on ajoute des feuilles à du bouillon de riz pour aider à la croissance des nouveaux nés. Au Cameroun, on utilise les fruits séchés comme épice dans des soupes locales appelées "nkui" et "nah-poh" (Tchiégang et al., 2005). Les racines sont utilisées comme bâtonnets à mâcher pour l'hygiène bucco-dentaire et l'infusion de fruits se prend pour traiter l'anémie falciforme. En République

Démocratique du Congo, la macération de l'extrait d'écorce de tige est appliquée sur la tête pour tuer les poux. Au Nigeria, les racines écrasées servent à pêcher.

Le bois est facile à travailler. Il a une finition douce et prend un bon poli. Cependant, il n'est pas durable. Le bois est utilisé dans la construction d'embarcations et de pirogues, de tambours, de maisons et de lambris décoratifs, en menuiserie, pour les boîtes et les caisses, les bâtiments, les instruments de musique, le contreplaqué et la pâte ou le papier. Il est également utilisé comme bois de chauffe et comme du charbon de bois.

2.4. Étude chimique et biologique

Zanthoxylum lepriurii contient une grande variété d'huiles essentielles et de métabolites secondaires. Cependant, les huiles essentielles sont stockées dans différentes parties de la plante telles que les feuilles, les écorces, les fruits, les racines, et les graines. Par ailleurs, ces huiles essentielles des organes de *Z. lepriurii* sont majoritairement composées de monoterpènes et de sesquiterpènes. Les HE ont été obtenues par hydrodistillation. Ainsi, au Sénégal dans la localité de Colomba, l'étude du profil des huiles essentielles de *Z. lepriurii* a montré que l'huile essentielle des fruits est caractérisée par les monoterpènes dominée par deux isomères le (*E*)- β -ocimène (50,9%) et l' α -pinène (30,4%). Contrairement aux fruits l'HE des feuilles est riche en sesquiterpènes prédominée par le germacrène B (9,0%) suivie de l' α -phellandrène (7,6%), l'oxyde de caryophyllène (7,2%) et le (*E*)- β -caryophyllène. De même que l'HE des feuilles, l'HE des tiges a une teneur élevée en sesquiterpènes constituée du β -phellandrène (12,7%) suivie du germacrène B (5,0%), germacrène D (4,7%). En outre, l'HE des racines de *Z. lepriurii* est principalement caractérisée par les sesquiterpènes et est dominée par le germacrène B (23,5%) suivie du germacrène B (19,1%) et du γ -élémane (6,0%) (Tine et al., 2020). Aussi, des études réalisées dans d'autres pays comme le Cameroun et Nigeria sur la détermination de la composition chimique avaient comme composés majoritaires le (*E*)- β -ocimène (29,4%), le β -citronellol (17,37%), le, (*E*)-nérolidol (23,0%), l'humulénol (17,5%), le terpinolène (49,8%), le δ -3-carène (17,9%), le géranyl acétate (8,5%), le limonène (94,9%), l' α -pinène (22,9%), le caryophylléol (24,6%) et le (*E*)- β -caryophyllène (13,6%) (Ekundayo et al., 1986 ; Lamaty et al., 1989 ; Tatsadjieu et al., 2003 ; Oyedeji et al., 2008 ; Gardini et al., 2009 ; Misra et al., 2013).

Les différentes compositions chimiques des huiles essentielles ont permis d'évaluer une activité antimicrobienne modérée contre les souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium glutamicum*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus flavus* (Tatsadjieu et al., 2003) ainsi que des propriétés anti-inflammatoire, antioxydante, anti dermatophytique (Dongmo et al., 2008 ; Tchabong et al., 2018).

En outre, d'un point de vue phytochimique, une grande variété de composés de différentes classes chimiques incluant une variété d'alcaloïdes ont été signalés dans les extraits de *Z. lepriurii* :

- les alcaloïdes de type acridone à savoir : tegerrardin, 1-hydroxy-3,4-diméthoxy-N-méthylacridone, arborinine, zanthozoline, 3-hydroxy-1,5,6-triméthoxy-9-acridone,

1,6-dihydroxy-3-méthoxy-9-acridone, 3,4,5,7-tétrahydroxy-1-méthoxy-10-méthyl-9-acridone, 4-méthoxyzanthacridone, 4-Hydroxyzanthacridone, 4-Hydroxyzanthacridone oxide (2,4') et hélébécine A et B (**Tchinda et al., 2009 ; Wouatsa et al., 2013**).

- les alcaloïdes de types benzophénanthridine (nitidine, fagaronine, angoline, dihydroavicine, fagaridine, chélérythrine et norchélérythrine), furoquinolone (skimmianine), aporphine (magnoflorine et N-méthyl-corydine) et phényléthylamine (candicine et tembétarine) (**Calderwood and Fish, 1966; Fonzes and Winternitz, 1968; Fish and Waterman, 1971a, 1971b; Waterman et al., 1976; Adesina, 2005; Tchinda et al., 2009; Ngoumfo et al., 2010**).

Cependant, très peu d'études signalent la présence d'amides aliphatiques ou aromatiques (γ -sanshool, arnottianamide, 10-O-déméthyl-12-O-méthylarnottianamide et N-isopentyl-cinnamamide) (**Adesina, 2005**), de coumarines (xanthotoxine, 7,8-diméthylcoumarine, scoparone) (**Adesina, 2005 ; Tchinda et al., 2009 ; Misra et al., 2013**), de flavonoïdes (hespéridine) (**Tabuti, 2011**) et cinq (5) diterpènes kaurane (l'acide kaurénoïque, l'acide xylopique, l'ent-kauran-16- β -ol, l'ent-16 β -hydroxykauran-19-al et l'acide ent-16 β -hydroxykauran-19-oïque) (**Guetchhueng et al., 2017**) dans *Zanthoxylum leprieurii*.

Par ailleurs des activités biologiques ont été rapportées sur cette espèce. Les fruits de *Z. leprieurii* ont révélé de bons potentiels antioxydants et anti-plasmodiaux contre les souches 3D7 de *Plasmodium falciparum* avec des valeurs IC₅₀ de 4,5 $\pm$ 1,0 et 4,6 $\pm$ 0,6 μ g/ml, respectivement. De même, **Tchinda et al. (2009)** rapportent que la consommation des fruits de *Z. leprieurii* peut être bénéfique en tant que source d'antioxydants et de prévention contre le paludisme dans des zones endémiques. De plus, une étude d'activité larvicide a été conduite sur trois (3) alcaloïdes de type acridone (1-hydroxy-3-méthoxy-9-acridone, 1-hydroxy-3,4-diméthoxy-10-méthyl-9-acridone et 1-hydroxy-3-méthoxy-10-méthyl-9-acridone) contre un moustique vecteur du paludisme, *Anopheles gambiae* (**Matasyoh et al., 2011**). Un criblage antibactérien et cytotoxique *in vitro* de ces acridones révèle une activité antibactérienne modérée (CMI 125 μ g/mL) contre *Micrococcus luteus* et *Pseudomonas aeruginosa* et un effet cytotoxique modéré (IC₅₀ de 86 μ M) contre WRL-68 (lignée cellulaire du cancer du foie) (**Wouatsa et al., 2013**). Des propriétés antimicrobiennes de cette plante ont pu être mises en évidence au Ghana par **Agyare et al. (2014)**. Ils ont prouvé que cette plante peut être utilisée pour cicatriser les plaies. Des études d'activités antibactériennes ont été également réalisées au Cameroun contre *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa* (**Misra et al., 2013; Talontsi et al., 2013**). En 2012, une étude réalisée en Allemagne sur des polycétides a montré une puissante activité inhibitrice contre la croissance mycélienne de deux autres péronosporomycètes phytopathogènes, *Pythium ultimum*, *Aphanomyces cochlioides* et un champignon basidiomycète *Rhizoctonia solani* (**Talontsi et al., 2012**). D'autres travaux menés sur les extraits d'organes de *Z. leprieurii* ont mis en évidence leurs propriétés antifongiques et anti-oxidantes (**Ngane et al., 2000 ; Bouba et al., 2010 ; Womeni et al., 2013**). Récemment, des alcaloïdes de types acridones isolés des écorces de *Z. leprieurii* en Ouganda se sont révélés actifs sur des souches résistantes de *Mycobacterium tuberculosis* (**Bunalema et al., 2017**).

3. *Zanthoxylum mezoneurispinosum* (ake assi) et *Zanthoxylum psammophilum* (ake assi water)

3.1. Distribution

Zanthoxylum mezoneurispinosum et *Z. psammophilum* (synonyme *Fagara psammophila* Aké Assi) sont des espèces de Côte d'Ivoire (**figure 11**). Elles poussent généralement dans les forêts secondaires âgées sempervirentes, rarement en forêts climaciques. *Z. mezoneurispinosum*, espèce endémique de Côte d'Ivoire préfère les sols sablonneux des régions lagunaires. Tandis que la seconde est une grande liane endémique des forêts denses sempervirentes s'étendant de l'Est du Libéria à la Côte d'Ivoire (Aké-Assi, 2001 ; 2002, GBIF, 2019).

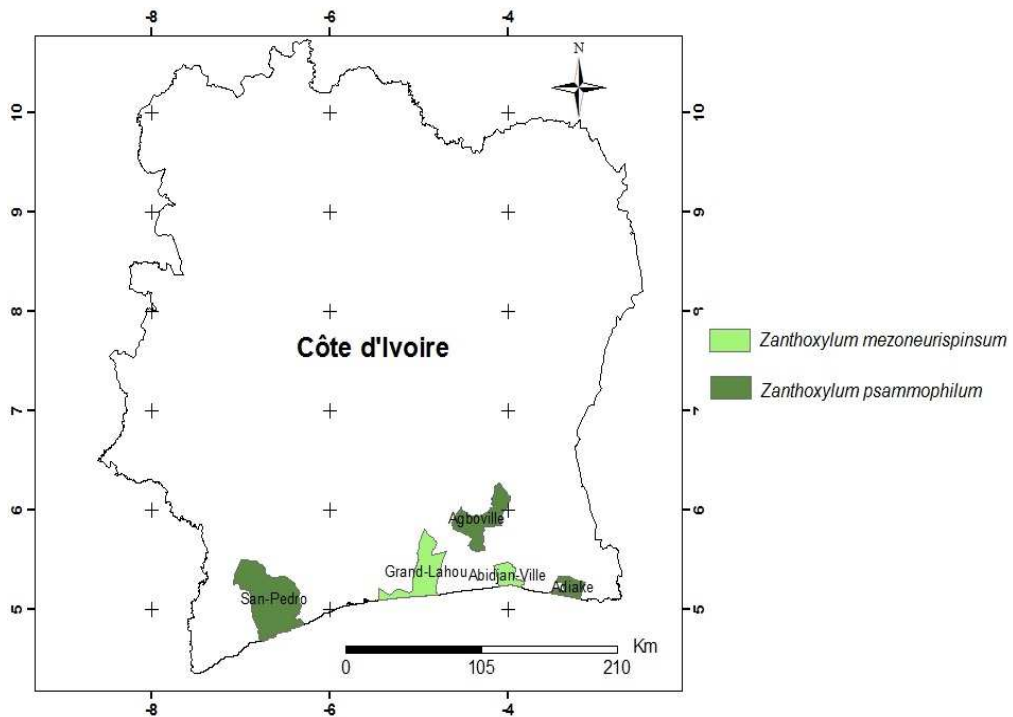


Figure 11 : Aire de répartition de *Z. Mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum* espèces endémiques de Côte d'Ivoire

3.1.1. *Zanthoxylum mezoneurispinosum* (Ake Assi).

Description botanique

Selon Aké Assi L. & Jérémie J. (2009), c'est un arbrisseau sarmenteux, buissonnant, rarement dressé, atteignant 8 m de hauteur, avec des tiges de 2-10 cm de

diamètre, portant vers la base des aiguillons épars (**figure 12**). *Z. mezoneurispinosum* Ake Assi possède des aiguillons des rameaux feuillés noirs, longs de 0,5-1 cm, situés de chaque côté du pétiole, à pointe infléchie vers le bas. Les feuilles sont glabres, imparipennées, longues de 25-30 cm, à 3-5 paires de folioles coriaces, alternes, opposées ou sub-opposées ; les folioles elliptiques, oblongues, oblongues-elliptiques ou oblongues-lancéolées, sont nettement dissymétriques et cunéiformes à la base, cuspidées au sommet ; la foliole terminale coriace est longuement pétiolulée, obovale, oblancéolée à obovale-oblongue, plus grande que les latérales ; les nervures latérales nombreuses sont moins visibles sur la face supérieure ; la nervure médiane proéminente sur la face inférieure ; le rachis foliaire portant en dessous, irrégulièrement insérés, de nombreux petits aiguillons noirs.

C'est une espèce dioïque : des inflorescences terminales, prolongeant les rameaux, en panicules simples pyramidales longues de 16-35 cm et larges de 10-20 cm. Boutons floraux obovoïdes sont longs de 2,5 mm, subsessiles, blanc-verdâtre. Les fleurs mâles, petites, atteignent 2,5 mm de longueur, blanchâtres, tétramères. Les fleurs femelles sont longues d'environ 3 mm, subsessiles, tétramères ; le calice très court, pubescent ; la corolle est longue d'environ 2 mm, à lobes oblongs-elliptiques, glabres ; l'ovaire long d'environ 1,5 mm est glabre ; le style incurvé, long d'environ 2 mm est glabre ; le stigmate capité, glabre. Le fruit est une capsule subsphérique à ovoïdes, atteignant 5 mm de diamètre. À maturité, elle est rouge orangé. Elle est portée par un pédicelle pubérulent long de 2 mm. Les graines sphériques bleues métalliques ont environ 4 mm de diamètre.

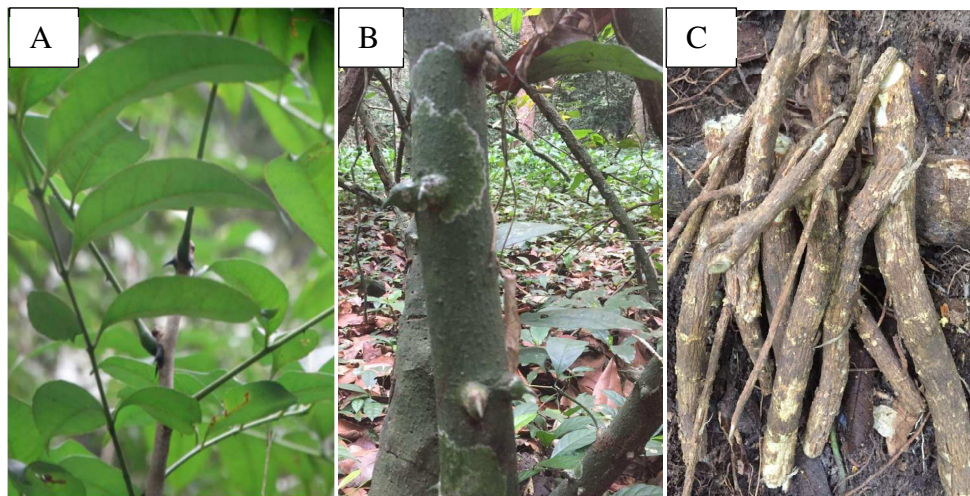


Figure 12 : Photos de *Zanthoxylum mezoneurispinosum* ; Feuilles (A) ; Écorces (B) ; Racines (C), forêt classée du Banco d'Abidjan, source Tanoh E.

Utilisations traditionnelles

À ce jour aucune utilisation traditionnelle de cette espèce n'est connue.

Étude chimique et biologique

L'étude relative à la caractérisation chimique de l'espèce *Zanthoxylum mezoneurispinosum* a notamment permis de rapporter que, dans les travaux précédents du laboratoire, treize (13) composés ont été isolés. Parmi ces composés, l'akeassimezorine représenté sur la **figure 13** est le seul nouveau dans l'espèce ; c'est-à-dire, qui n'avait jamais été identifié auparavant. Ce composé a été obtenu à partir de l'extrait méthanolique des racines de *Zanthoxylum mezoneurispinosum*. Aussi, tous ces composés isolés sont de type : alcaloïdes, lignanes, flavonoïdes et triterpénoïdes (**Yao kouassi et al., 2014**). Ces différents composés sont akeassimezorine (nouveau), méthoxy-chélérythrine, chélérythrine, nitidine, méthoxyfagaridine, jatrorrhizine, tembetaerine, N-méthylatanine, magnoflorine, skimmianine, sesamine, hesperidine et le lupéol.

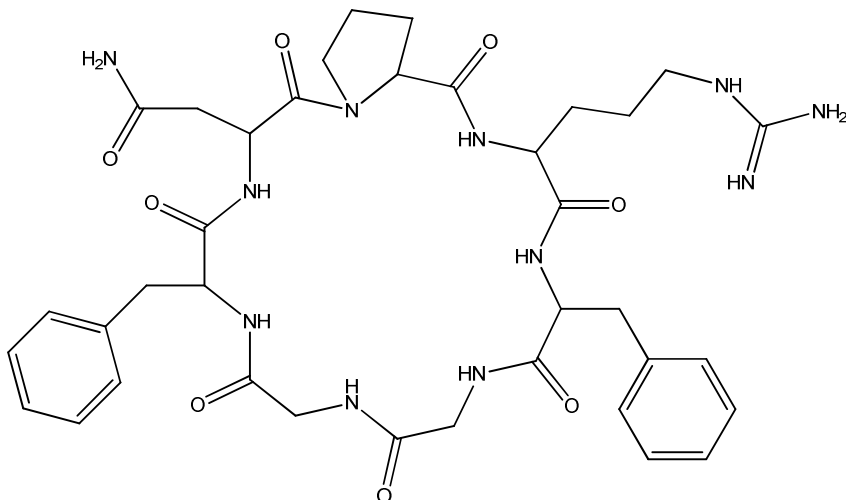


Figure 13 : Structure de l'akeassimezorine isolé de *Zanthoxylum mezoneurispinosum*

3.1.2. *Zanthoxylum psammophilum* Ake Assi.

Description botanique

Zanthoxylum psammophilum a été décrite pour la première fois par **Aké-Assi (1960)**. Cette plante glabre est une liane épineuse ligneuse, grêle, très peu ramifiée, pouvant atteindre 15 m de haut et 2 cm de diamètre. Les feuilles (**figure 14**), composées imparipennées, atteignent 30 à 40 cm de long avec des rachis très peu épineux (**Malan, 2008**). Elles comportent 5 à 7 paires de folioles alternes, oblongues, à base dissymétrique et à bords souvent recourbés sur la face inférieure. Au niveau des zones d'insertion sur le rachis, les pétioles sont munis de glandes. Les folioles obtuses, de petite taille et acuminées peuvent atteindre 6 à 13 cm de long et 4 à 6 cm de large. Il peut y avoir jusqu'à 10 paires de nervures latérales et la nervure médiane porte 2 à 3 épines sur la face inférieure. Les pétioles mesurent jusqu'à 2 mm de longueur.

Les inflorescences sont terminales et cette espèce est dioïque. Les inflorescences mâles forment une panicule lâche de 21 à 30 cm de long à la floraison. Les fleurs femelles sont de couleur vert-pâle et mesurent environ 2,5 mm de longueur. Le calice, réduit, est formé de sépales ovales, glabres, mesurant environ 1 mm. La corolle mesure environ 1,5 mm, avec des lobes lancéolés et glabres. Les étamines, au nombre de 5, peuvent atteindre 2 mm de long. Entre les étamines se trouve un ovaire

rudimentaire, subiliforme, d'environ 1 mm de long. Le fruit est une capsule déhiscente de 5 mm de diamètre, ovoïde ; à maturité, il a une couleur presque rougeâtre. Les graines sont elliptiques et peuvent atteindre 4 mm de diamètre (Aké-Assi, 2002 ; Malan, 2008 ; Yao-Kouassi, 2014).

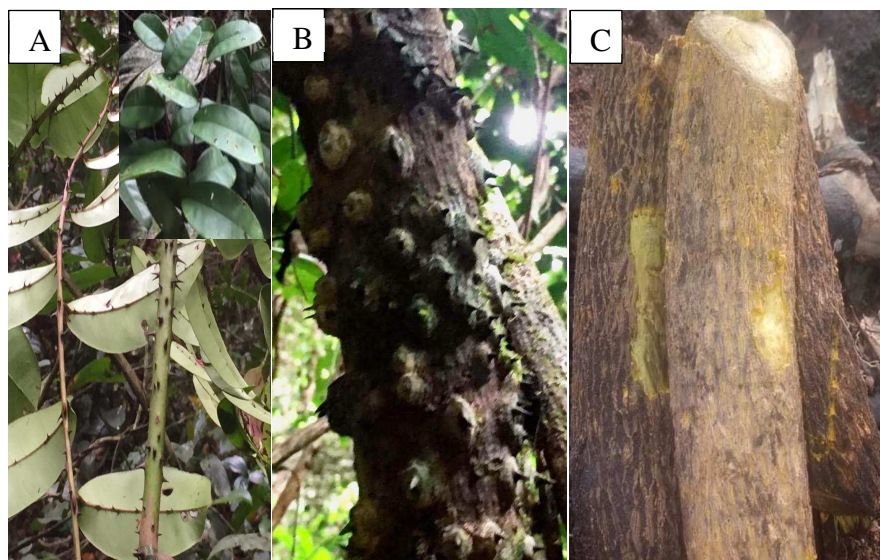


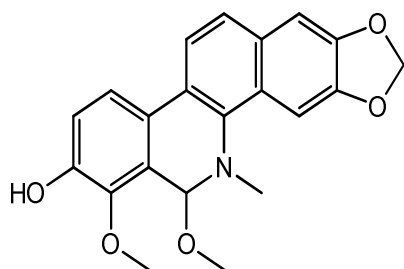
Figure 14 : Photos de *Zanthoxylum psammophilum* ; Feuilles (A) ; Écorces (B) ; Racines(C), forêt petit Yapo d'Agboville, source Tanoh E.

Utilisations traditionnelles

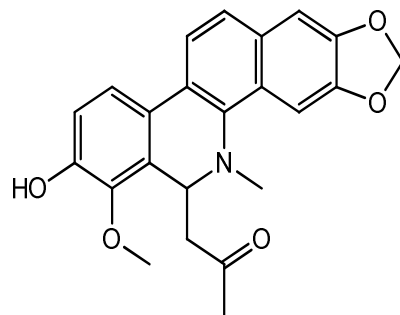
À ce jour aucune utilisation traditionnelle de cette espèce n'a été rapportée.

Étude chimique et biologique

Les travaux antérieurs effectués par Yao Kouassi (2014) sur cette espèce ont permis d'isoler et d'identifier à partir de l'extrait méthanolique de la racine. Treize (13) alcaloïdes, dix (10) de type benzophénanthridine dont deux nouveaux : la 8-méthoxy-7,8 dihydrofagaridine et la 8- acétonyl-7,8-dihydrofagaridine (**figure 15**) et trois (3) de type quinoléique, un (1) flavonoïde, un triterpène, une lignane, un phytostérol et un alkylamide.



8-méthoxy-7,8-dihydrofagaridine



8-acétyl-7,8-dihydrofagaridine

Figure 15 : Les structures des nouveaux composés isolés de *Zanthoxylum*

À ce jour, les molécules volatiles de ces deux (2) espèces *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum* n'ont pas encore fait l'objet d'une étude scientifique. D'où le caractère original de la présente recherche.

4. Généralités sur les huiles essentielles (HE)

4.1. Définition des huiles essentielles

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

L'Association Française de Normalisation (AFNOR), quant à elle, définit l'huile essentielle comme un « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche » (**Bruneton j., 2009**).

Les essences peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les feuilles (citronnelle), les écorces (cannelle), les rhizomes (gingembre), les fleurs (lavande), le bois (bois de rose), les fruits (anis), graines (muscade) et les racines (vétiver) (**Leon, 2005 ; Teixeira et al., 2013**). Elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes d'une même plante et la composition chimique peut varier d'un organe à l'autre (**Ochoa, 2005**).

4.2. Fonctions de l'huile essentielle dans la plante

Les huiles essentielles sont généralement liquides et volatiles à température ambiante, acres, odorantes et inflammables. Les HE sont plus ou moins colorées, cela est dû à leur obtention. La majorité d'entre elles deviennent foncées au cours de la conservation à l'air et à la lumière. Elles sont aussi sensibles à l'oxydation, à la lumière et à la chaleur (**Bonnabel et al., 2011, Kaloustian et al., 2012**). Cependant, l'existence des HE dans les plantes pourrait répondre aux besoins d'une protection spécifique des espèces en fonction de leur environnement (**Launay, A., 2017 ; Couic-Marinier, F., 2013**). En effet, les HE sont responsables de l'odeur caractéristique des plantes aromatiques car elles permettent d'attirer les insectes pollinisateurs de graines. Par ailleurs, les HE représentent une défense contre les prédateurs et les maladies (**De Sousa, 2015**). En plus, les HE sont connues pour leurs propriétés thérapeutiques ; celles-ci sont liées à leur composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (**Dorman et al., 2000**). Les HE présentent aussi différentes activités biologiques. Il s'agit notamment de leurs pouvoirs antifongiques (**Raynaud et al., 2016, Molevar et al., 1986, Soliman et al., 2002**), antibactériens (**Bourkiss et al, 2007 ; Magina et al., 2009**), antioxydants (**Millet 2015**) et insecticides (**Cheng et al., 2009**) etc.

4.3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges très complexes. La plupart du temps, une HE comporte un ou deux composants majoritaires qui vont jouer un rôle central dans ses propriétés thérapeutiques. Ces composés des HE sont principalement des terpénoïdes et moins fréquemment des dérivés du phénylpropane. Les terpénoïdes forment un vaste groupe de produits naturels. Leurs structures sont très variables mais tous sont issus de l'assemblage de sous-unités isopréniques issues du métabolisme du glucose. Leur classification est basée sur le nombre d'unités isoprène (C_5) dont les monoterpènes (C_{10}), les sesquiterpènes (C_{15}), les diterpènes (C_{20}), les triterpènes (C_{30}). Parmi ces molécules, les monoterpènes, les sesquiterpènes et les diterpènes sont les molécules les plus fréquemment rencontrées dans les HE. Il existe plus de 30000 terpènes différents et ce mot terpène vient de la térébenthine, oléorésine appartenant aux plantes du genre *Pinus* (**Breitmaier, 2006**). Ce sont des polymères formés selon un mode de couplage dit « tête-à-queue » entre des unités du 2-méthylbuta-1,3-diène ou isoprène. Cette sous-unité isoprénique est plus représentée chez les monoterpènes suivis des sesquiterpènes (**Thormar H., 2011**). Ainsi, la **figure 16** montre le motif isoprène, l'isopentenyle pyrophosphate (IPP) et le diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP).

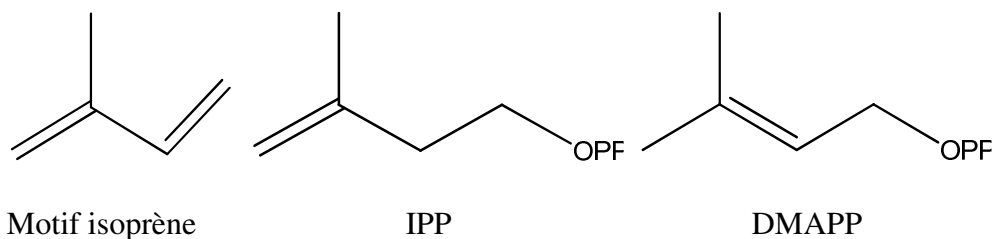


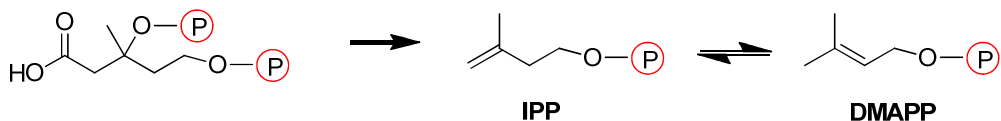
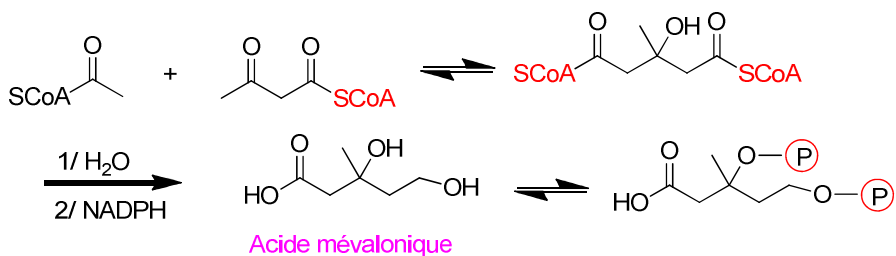
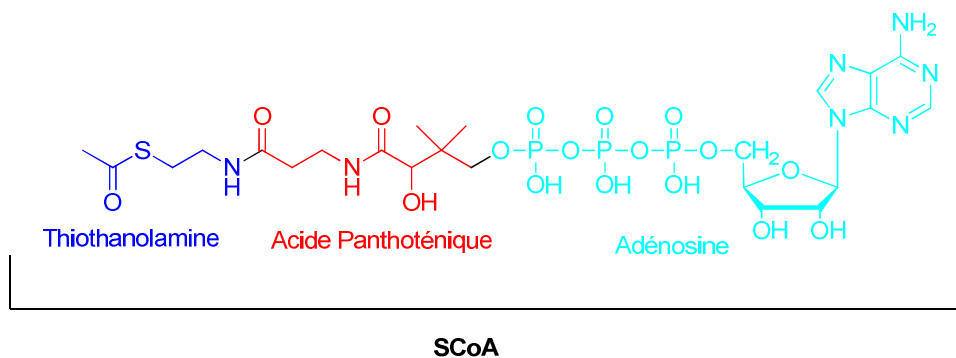
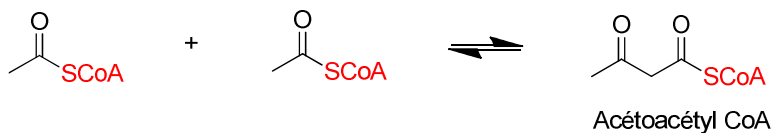
Figure 16 : Représentation du motif isoprène, de l'IPP et du DMAPP

Les composés dérivés des phénylpropanes comme le safrol, l'apiol, l'anisaldéhyde, l'eugénol, la vanilline et le cinnamaldéhyde. On y trouve souvent, et en faibles concentrations des acides organiques et des méthylcétones (**Bisht et al., 2011**).

✓ Biosynthèse des terpénoïdes

Dans sa règle isoprénique biogénétique, Ruzicka démontre que l'isoprène n'est que l'unité principale dans la composition des terpènes (**Ruzicka, 1953 ; Lamarti et al., 1994**). Les terpènes sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique nommée la voie mévalonique (MVA) (**Henrich et al., 1983**). Leur biosynthèse végétale prend son origine au niveau de l'acétyl-coenzymeA ($CH_3COSCoA$), produit de la glycolyse (catabolisme des sucres).

Il existe plusieurs étapes pour la biosynthèse des terpènes schématisés comme suit (figure 17) :



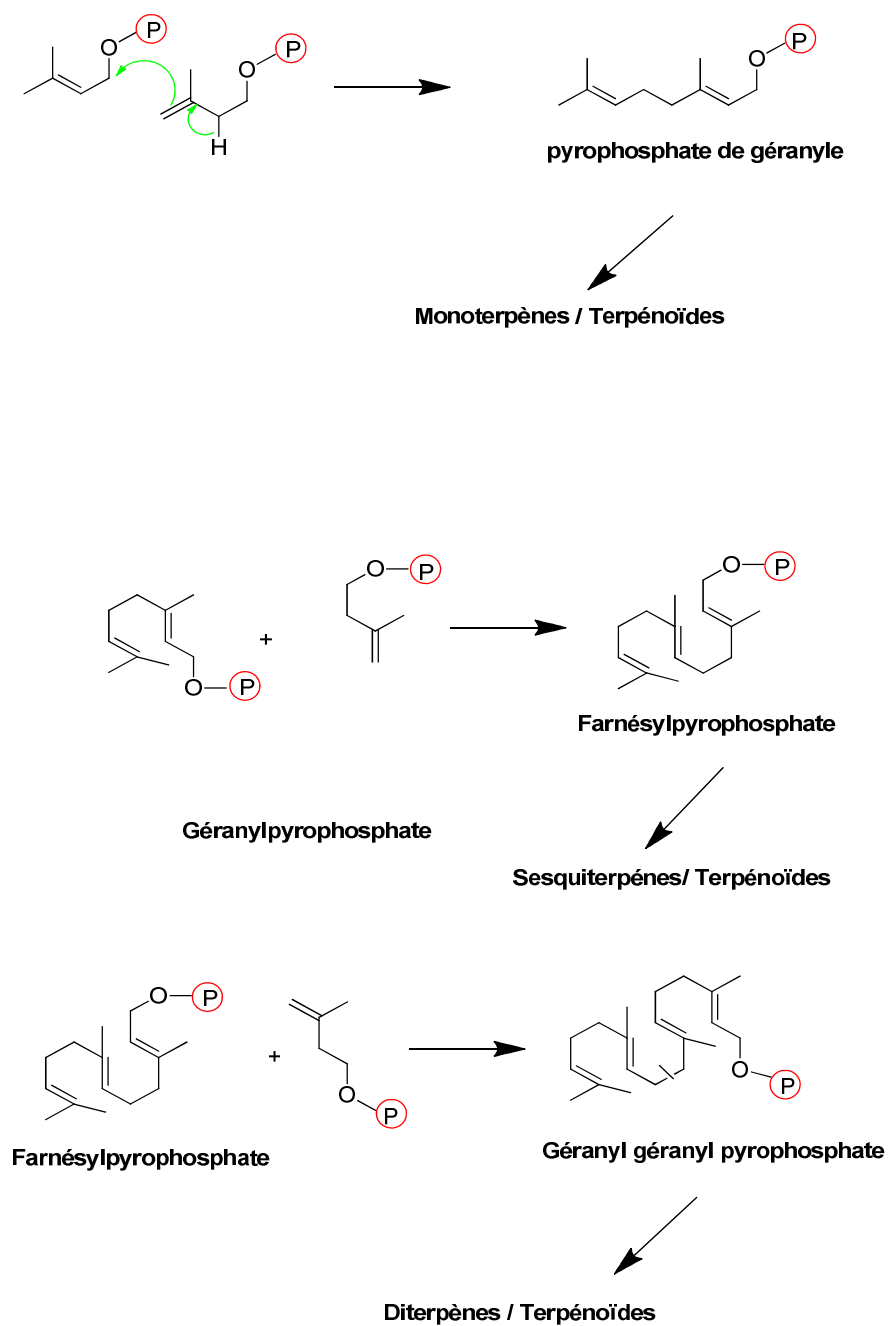


Figure 17 : Biosynthèse des terpénoïdes

Au départ, une première étape qui est une condensation de type Claisen, entre deux molécules d'acétyl-coenzymeA conduisant à l'acétoacétyl-coenzymeA. Ensuite, une deuxième étape à partir d'une réaction d'aldolisation, entre la troisième molécule d'acétylCoA et l'acétoacétylCoA. Après hydrolyse et réduction par le Nicotine Adénine Di nucléotide Phosphate (NADPH), il se forme l'acide mévalonique. La molécule formée subit une pyrophosphorylation par l'Adénosine triphosphate (ATP), suivie d'une déshydratation et d'une décarboxylation pour conduire aux deux intermédiaires en C5, bio-précurseurs des terpènes : le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et le pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP) en équilibre, par simple transfert de proton. Les deux intermédiaires en C5 réagissent alors l'un sur l'autre pour donner le pyrophosphate de géranyle (GPP), point de départ de tous les monoterpènes et monoterpénoïdes. Selon le même principe, la condensation suivante se fait entre le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et le pyrophosphate de géranyle (GPP) et conduit au pyrophosphate de farnésyle, point de départ de tous les dérivés sesquiterpéniques. Enfin, par condensation d'un pyrophosphate de farnésyle (FPP) avec un pyrophosphate d'isopentényle (IPP), on obtient un géranyl-géranyl pyrophosphate (GGPP) point de départ de tous les diterpènes et diterpénoïdes. Cependant, la formation du tri et tétra terpènes et terpénoïdes s'obtient par dimérisation réductive à l'aide du NADPH de deux unités pyrophosphate de farnésyle ou géranyl-géranyl-pyrophosphate.

✓ Biosynthèse des phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes ont deux précurseurs potentiels : la L-phénylalanine (L-Phe) et la L-tyrosine (L-Tyr). La L-phénylalanine subit une désamination puis une hydroxylation pour donner l'acide p-coumarique qui peut être également obtenu à partir de la L-Tyr par simple désamination. L'acide p-coumarique subit une suite d'hydroxylations, de méthylations et de réductions pour donner les alcools p-coumarylique, coniférylique et sinapique (**Dewick et al., 2009**). Ces derniers par polymérisation permettent d'obtenir les lignanes et les lignines (**figure 18**).

E1 : Phénylalanine ammoniaque lyase

E2 : Tyrosine ammoniaque lyase

E3 : Cinnamate 4-hydroxylase

E4 : p-coumarate 3-hydroxylase

E5 : Acide caféique o-méthyl transférase

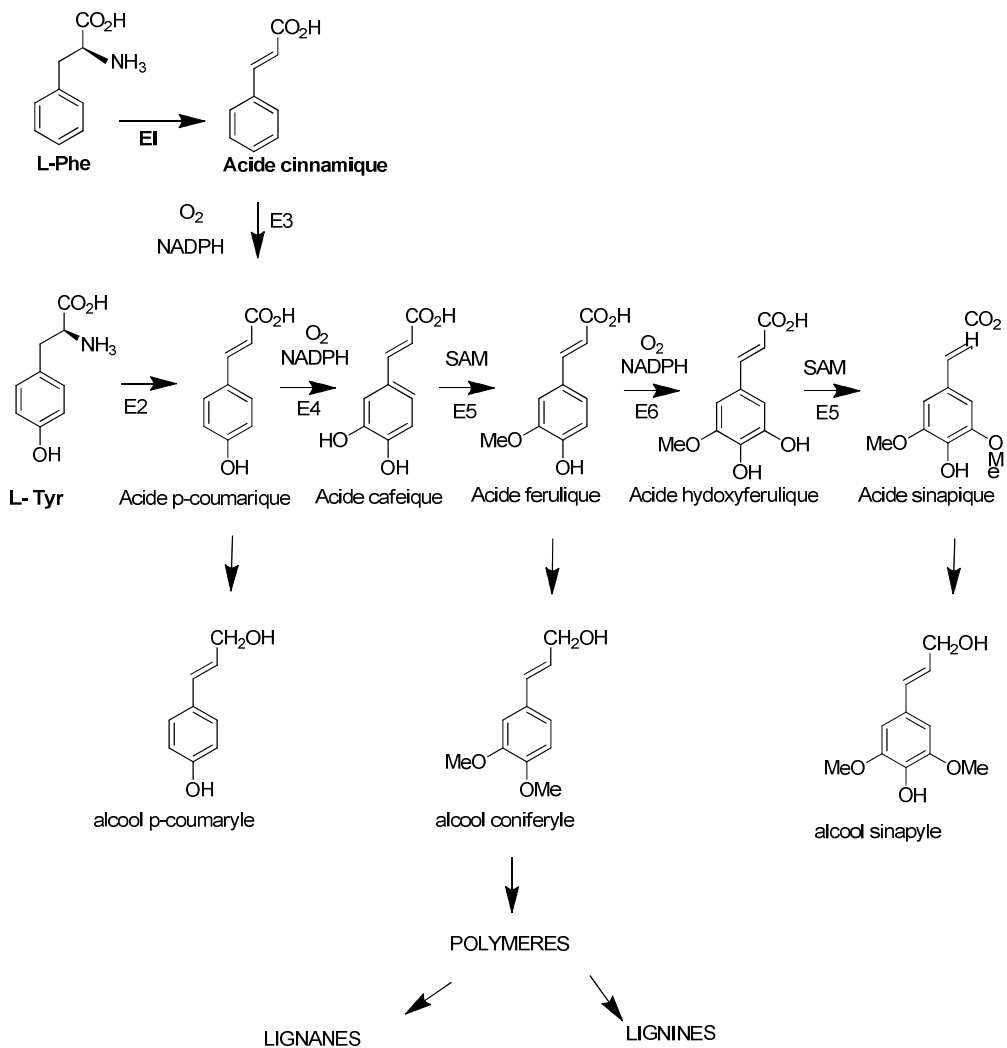


Figure 18 : Biosynthèse des phénylpropanoïdes

4.4. Facteurs influençant la composition chimique et le rendement à l'extraction des HE

Les huiles essentielles sont généralement prisées dans les milieux industriels. Elles servent le plus souvent de matière première dans divers secteurs d'activités tels que la parfumerie, la cosmétique, ainsi que dans les industries pharmaceutique et agroalimentaire.

Toutefois, le contrôle de la qualité, la régularité, la commercialisation et la valorisation des HE, exigent une meilleure connaissance de leurs compositions chimiques.

En effet, la composition chimique des HE et leur rendement dépendent de plusieurs facteurs. Il y a d'une part des paramètres intrinsèques tels que le génotype, la maturité de la plante et les organes prélevés et d'autre part, des paramètres extrinsèques comme l'environnement, l'origine géographique, le type de sol, la pluviométrie, la température, la période de récolte, la qualité et le lieu de séchage, les parasites, bactéries, champignons phytopathogènes et les virus (Smallfield et al., 2001 ; Shanjani et al., 2010 ; Bendahou et al., 2008). Ces différents paramètres font apparaître les chémotypes ou races chimiques chez les plantes aromatiques. Le terme chémotype désigne une entité chimique distincte au sein d'une même espèce (ensemble d'individus interféconds). Ainsi, en fonction de la variabilité de ses paramètres, une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développe.

4.5. Généralités sur les méthodes d'extraction des huiles essentielles

Le procédé utilisé pour l'extraction des HE dépend de l'échantillon (racines, feuilles, écorces, tiges, agrumes, fleurs, graines, rhizomes). Il existe plusieurs techniques d'extractions des HE. Les techniques les plus utilisées sont l'hydrodistillation ou l'entraînement par la vapeur d'eau. Il existe également des méthodes innovantes telles que : l'hydrodiffusion, l'extraction au CO₂ supercritique (Capuzzo et al., 2013) et l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes.

4.5.1. L'hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation est connu depuis l'IX^{ème} par les Arabes. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un réacteur rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azeotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger (Diwan et al., 2014).

4.5.2. L'entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. À 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'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (**Lucchesi M.E., 2005**)

4.5.3. L'hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une technique relativement récente et particulière. C'est une variante de l'entraînement à la vapeur qui exploite l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils et de ne pas mettre en contact 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**).

4.6. Autres techniques d'extraction des substances volatiles

4.6.1. L'extraction par CO₂

La technique d'extraction permet d'obtenir des arômes à partir de pommes, de poires, d'oranges et de café, etc. Le procédé consiste à concentrer les arômes à une basse température avec du CO₂ sous pression (plus de 75 bars) et à température de 31°C. Le gaz carbonique se trouve alors dans un état "supercritique" (**figure 19**). Selon ce procédé, les végétaux broyés sont d'abord placés dans des "paniers" cylindriques équipés de filtres aux deux extrémités. Ils sont ensuite placés dans l'extracteur, où une pompe assure la circulation du CO₂ à l'état supercritique. L'huile essentielle est alors dissoute dans le CO₂ sous forme de fluide. Celui-ci est enfin rendu à l'état gazeux et se sépare du composé extrait, avant d'être envoyé dans le liquéfacteur pour être réutilisé. Cette technique permet d'éviter le risque de dégradation thermique des composés volatils carboniques (**Zermane et al., 2010**).



Figure 19 : Photo extraction supercritique CO₂

4.6.2. Extraction assistée par micro-ondes

Dans cette méthode, le montage utilisé se rapproche d'un montage d'hydrodistillation classique (**figure 20**). Ce procédé consiste à chauffer la plante par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle : les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azéotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Ce chauffage, en vaporisant l'eau contenue dans les glandes oléifères, crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et libère ainsi le contenu en huile (**Golmakani et al., 2008**).

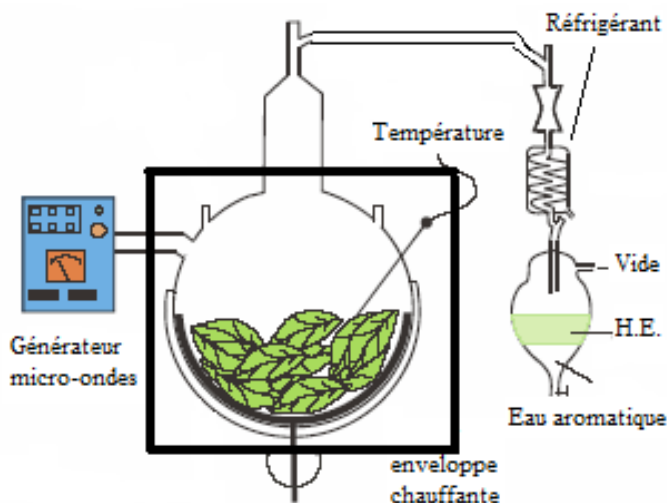


Figure 20 : Hydrodistillation assistée par micro-ondes

4.7. Quelques généralités sur les méthodes d'analyse des huiles essentielles

L'analyse quantitative et qualitative de la composition chimique des HE est une étape pour la valorisation d'une HE. Elle demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques.

4.7.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La CPG est une technique d'identification spectroscopique. Elle est utilisée pour séparer, analyser et comparer des composés volatils et thermostables. Il existe de nombreux types de chromatographie. Mais la CPG capillaire à haute définition est de loin la technique la plus utilisée pour séparer les matières aromatiques qui peuvent être volatilisées. Elle possède en effet de multiples atouts tels que la sensibilité, la polyvalence, la rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation, d'où l'intérêt qu'elle suscite (**Rouessac et al., 2007**). Il est possible de trouver dans un échantillon d'arôme, des centaines de composants dans une large gamme de concentrations (**Mendham, J. 2005**).

Dans ces conditions, une bonne séparation peut s'avérer difficile, mais elle est cependant nécessaire pour obtenir une identification précise.

Afin de réaliser une CPG de manière convenable, certains éléments sont à prendre en considération. Il s'agit entre autres de l'injecteur, de la colonne et/ou du détecteur.

- L'injecteur sert à vaporiser les solutés en solution dans le solvant afin d'être entraînés dans la colonne par le gaz vecteur. Il doit être réglé à environ 20°C au-dessus de la température d'ébullition du soluté le moins volatil du mélange à analyser. L'injecteur le plus courant est du type split (avec diviseur de flux) /splitless (sans diviseur de flux). Les injections de la CPG sont généralement de type solvant ou sans solvant. L'injection d'extraits liquides présente l'avantage de connaître exactement la quantité de matière introduite dans la colonne (si l'on préfère le mode splitless), ce qui permet de ne pas la saturer.

Le temps qu'il faille à un volatil spécifique pour éluer dans une colonne CPG après l'injection est une caractéristique même du volatil et de son interaction avec la phase stationnaire de la colonne (**Burgot et al., 2011**). Sa durée est également fonction de plusieurs paramètres CPG tels que le débit de gaz vecteur, la longueur de la colonne et la température du four. C'est ce qui s'appelle temps d'élution ou des indices de rétentions. Ils sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane ou à plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (**Kováts, 1965**).

- La colonne : il en existe un large éventail pour les séparations par chromatographie en phase gazeuse capillaire. Mais les colonnes contenant 5% de phénylméthylpolysiloxane sont probablement les plus utilisées. Les conditions de la colonne ont souvent tendance à dériver avec le temps et l'utilisation. Elles sont dès lors difficiles à reproduire. Pour y remédier, des systèmes basés sur la rétention relative du composé d'intérêt par rapport à une série d'étalons ont été développés. Il apparaît malgré tout, que ceci ne peut suffire à une bonne identification, sans l'apport de couplage qui est le propre du détecteur.

- Les détecteurs de masse généraux comprennent le détecteur FID commun et le courant ionique (TIC), détecteur SM (SM-scan). Ils sont nécessaires pour déterminer la charge de la colonne et pour aider à quantifier les volatiles présents en plus forte concentration. Cependant, la CPG ne peut suffire à une bonne identification, sans l'apport du couplage entre la CPG et une technique d'identification spectroscopique : en général la spectrométrie de masse CPG/SM (**Goodner et al., 2011**).

4.7.2. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM)

La CPG/SM est une combinaison instrumentale du pouvoir de séparation de la chromatographie en phase gazeuse capillaire à haute résolution avec le pouvoir d'identification et/ou de quantification du spectromètre de masse. Ce type de combinaison est un outil puissant pour l'analyse des mélanges complexes de saveurs et une pièce essentielle de l'instrumentation de tout laboratoire moderne d'analyse des arômes. Elle fonctionne sur le principe que les volatiles sont fragmentés en ions de taille et de fréquence prévisibles. Les liaisons chimiques les plus faibles qui maintiennent la molécule ensemble seront l'endroit où la molécule est le plus fréquemment fragmentée et où les ions se forment. La fragmentation la plus courante utilise l'impact d'électrons (EI) à environ 70 eV (**Goodner et al., 2011**). Ce flux d'électrons à haute énergie fragmente les volatiles lorsqu'ils s'éluent à l'extrémité de la CPG capillaire. Les ions formés sont ensuite focalisés et envoyés vers un analyseur de masse qui les tire en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). Le nombre d'ions

à chaque masse est alors compté et affiché sous forme de diagramme à barres pour chaque masse. Le schéma de fragmentation qui en résulte, est appelé spectre de masse et est caractéristique de chaque molécule.

Ensuite, ces spectres de masse ainsi obtenus peuvent être comparés avec d'autres spectres de masse autodéterminés ou provenant des sources commerciales telles que : WILEY, NIST, EPA, NIH Mass Spectral Library, Wiley Registry of Mass Spectral Data (McLafferty et al., 1994 ; Adams, 2001 ; König et al., 2004), etc. Ces programmes informatiques modernes de reconnaissance des formes font correspondre le spectre obtenu avec celui qui se trouve dans leur base de données et répertorient les identifications de ceux qui présentent la plus forte correspondance. Cependant, des erreurs d'identification sont toujours possibles car, certains composés comme les terpènes pourraient présenter des spectres très similaires. Par conséquent, les valeurs de l'indice de rétention vont permettre de confirmer l'identité du pic chromatographique d'intérêt.

4.7.3. Méthode d'analyse par RMN ^{13}C sans séparation préalable

Le principe de cette méthode d'identification des constituants des mélanges complexes naturels repose sur l'analyse par RMN ^{13}C du mélange, sans fractionnement préalable. Cette méthode permet donc d'éviter, ou tout au moins de réduire, les étapes fastidieuses de purification des constituants. Toutefois, elle a longtemps été utilisée comme méthode de confirmation plutôt que comme véritable méthode d'identification. C'est à la suite des travaux précurseurs de Formáček et Kubeczka (1982a, 1982b) qu'une méthode d'identification des constituants des mélanges naturels, basée sur l'examen du spectre de RMN ^{13}C , a été mise au point, développée et informatisée par l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse (Corticchiato et Casanova, 1992 ; Tomi et al., 1995).

Intérêt de la RMN ^{13}C

Malgré sa faible abondance isotopique (environ 1 %) et un rapport gyromagnétique environ 5700 fois moins sensible que celui du proton (Günther, 1994), le ^{13}C est préféré aux autres noyaux dans le domaine de l'analyse des mélanges complexes pour les raisons suivantes :

- le carbone constitue le squelette de toutes les molécules organiques et à quelques exceptions près, les différents atomes présents, dans le cas des molécules naturelles sont magnétiquement non-équivalents. De ce fait, le spectre de RMN ^{13}C présente, en général, autant de raies de résonance qu'il y a de carbones dans la molécule. De plus, la fréquence de résonance des carbones étant très sensible aux environnements électronique et stérique, la moindre modification structurale se traduit par une variation plus ou moins importante mais toujours ;
- 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 ;

- le temps de relaxation transversal T2 (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 T2, il en résulte un gain en résolution, et donc des pics plus fins ;
- le domaine de résonance du carbone s'étend sur une plage beaucoup plus large que celle du proton (240 ppm par rapport à 12 ppm), ce qui améliore nettement la dispersion spectrale (Günther, 1994) et évite un nombre rédhibitoire de superpositions de signaux dans le spectre du mélange (Günther, 1994) ;
- les spectres sont réalisés à température ambiante, ce qui évite la dégradation ou la transformation éventuelle des molécules thermosensibles. Dans le couplage CPG-SM, ce phénomène peut être observé aussi bien pendant l'étape d'individualisation dans les colonnes de CPG que sous l'effet de l'impact électronique dans le spectromètre de masse ;
- la RMN est une technique non destructive. L'échantillon peut ainsi être récupéré pour être éventuellement soumis à des analyses ultérieures.

Identification des constituants en mélange par RMN ¹³C

L'identification des constituants d'un mélange par RMN ¹³C se fait par comparaison des déplacements chimiques des carbones présents dans le mélange avec ceux des produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres. Pour donc identifier un constituant du mélange, il importe d'observer les signaux qui lui appartiennent, de les individualiser et de les attribuer à ce composé sur la base des données de référence. 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.

Observation des signaux

L'observation des raies de résonance des carbones d'une molécule dépend de la masse de produit disponible, de sa viscosité, de sa solubilité dans un solvant choisi et de la sensibilité de l'appareil qui s'exprime par le rapport signal sur bruit (S/B). Pour pallier à ces limites, il convient d'augmenter le nombre d'acquisitions, bien que cela induise un temps d'enregistrement plus long. En outre, l'utilisation de cryosonde (sonde à antennes refroidie) reliée à une unité cryogénique à l'hélium, permettra de multiplier la sensibilité d'un facteur 4 et de diminuer la durée d'expérimentation d'un facteur 16 (Styles et al., 2011). Cette sensibilité peut aussi être augmentée par l'utilisation d'aimants supraconducteurs à très hauts champs (23,5 Tesla pour les plus performants). Grâce au développement des aimants supraconducteurs, il est possible d'utiliser des quantités de plus en plus faibles de produits. De plus, certaines séquences impulsionsnelles permettent d'augmenter la sensibilité. Ainsi, l'effet NOE (Nuclear Overhauser Enhancement), obtenu par l'irradiation des protons liés aux noyaux de carbone, produit une augmentation d'intensité du signal du carbone pouvant s'élever à 200% (Günther, 1994 ; Hesse et al., 1997). Cette technique est couramment utilisée lors d'enregistrements en vue de simplifier les spectres.

Individualisation des signaux

Pour un composé pur, l'individualisation des signaux pose rarement des problèmes, car les superpositions fortuites des signaux de deux carbones restent exceptionnelles. Par contre, pour un mélange complexe, le nombre de constituants et le nombre de carbones qui composent chaque composé, favorisent l'augmentation de la probabilité de superposition des raies de résonance. Ainsi, il est crucial d'avoir un spectre de bonne résolution pour l'identification des constituants d'un mélange complexe. Pour obtenir une résolution optimale, il faut agir sur les facteurs suivants :

- le champ magnétique : la séparation des signaux de résonance des différents noyaux est d'autant plus nette que le champ magnétique est élevé. Un champ magnétique très intense rend plus aisée l'interprétation des spectres, surtout dans le cas des études réalisées sur les composés ayant une masse moléculaire élevée (oligomères et protéines ...), dont les spectres sont très complexes ;
- l'informatique : la résolution peut être améliorée à l'aide de diverses techniques d'acquisition des données et de traitement du signal. L'utilisation d'un convertisseur analogique numérique (CAN) performant, et l'application d'une fonction exponentielle de Lorentz-Gauss sur le signal FID (Free Induction Decay ou décroissance libre d'induction) avant la transformée de Fourier constituent deux techniques d'affinement de la résolution (Williamson et Neuhaus, 1989 ; Günther, 1994 ; Claridge, 1999 ; Hesse et al., 2008).

Attribution des signaux

L'identification d'un composé par RMN ^{13}C dans un mélange complexe est réalisée par comparaison des valeurs des déplacements chimiques des signaux du spectre du mélange avec celles des spectres de produits de référence. À la différence des spectres de masse, il est très peu probable que deux composés de structures différentes présentent des spectres de RMN ^{13}C superposables ou insuffisamment différenciés. En effet, la fréquence de résonance des carbones étant très sensible à l'environnement électronique et stérique, la moindre modification structurale se traduit par des variations plus ou moins importantes, mais généralement mesurables, des signaux de pratiquement tous les carbones de la molécule. De plus, les valeurs des déplacements chimiques d'une molécule sont indépendantes de la valeur du champ magnétique B_0 , des séquences impulsionnelles, des paramètres d'enregistrement des spectres mais aussi du traitement du signal. Cependant, selon la fonctionnalisation des molécules, ces valeurs peuvent être influencées par la nature du solvant, la concentration et la présence d'autres molécules (par exemple, à cause de liaisons hydrogènes). Il est donc possible d'utiliser des données de la littérature pour l'identification des composés en mélange. Toutefois, afin d'obtenir une plus grande fiabilité des déplacements chimiques, les conditions d'analyse (dilution, nature du solvant, température) doivent être identiques. Cette méthode a ainsi été appliquée à l'analyse de différents types de

mélanges complexes (hydrocarbures, lipides, sucres). Nous développerons les applications aux huiles essentielles.

L'utilisation de la RMN ^{13}C pour l'identification des principaux constituants des huiles essentielles a fait l'objet des travaux précurseurs de Formáček et Kubeczka (**Formáček et Kubeczka, 1982a, 1982b, 1982c ; Kubeczka et Formáček, 1984**). Ces auteurs ont constitué leur propre bibliothèque de spectres enregistrée dans le C_6D_6 et en analysant les huiles essentielles dans les mêmes conditions expérimentales, ils ont montré qu'il était possible de confirmer la présence des terpènes dans une huile essentielle, par ailleurs mis en évidence par CPG-SM.

Par la suite, diverses études sur l'analyse des huiles essentielles par RMN ^{13}C ont été réalisées. La plupart des auteurs utilisent la RMN ^{13}C pour confirmer la présence des composés précédemment identifiés par CPG-SM :

- le caryophyllène et l'oxyde de caryophyllène ainsi qu'une dizaine d'autres sesquiterpènes d'une fraction chromatographique de l'huile essentielle de bois *Guarea guidonia* (**Núñez et Roque, 1999**) ;
- divers diesters de néryle dans l'huile essentielle d'*Eupatorium cannabinum* ssp *corsicum* (**Paolini et al., 2007**) ;
- le limonène, le α -phellandrène, le α -eudesmol, la valencène et le junipercamphor, composés majoritaires de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng (**Khadri et al., 2008**) ;
- l'estragole et le linalol qui différencient les huiles essentielles d'*Ocimum forskolei* Benth et d'*Ocimum basilicum* L. (**Fatope et al., 2008**).

Par ailleurs, **Ferreira et al., (2001)** ont mis au point une méthode d'identification des constituants d'un mélange complexe, basée sur l'étude du spectre de RMN ^{13}C du mélange et sa comparaison avec des spectres de mono et sesquiterpènes décrits dans la littérature. Un logiciel informatique prend en compte simultanément les valeurs des différents déplacements chimiques observés dans le mélange et la multiplicité de chacun des carbones, préalablement déterminée par des séquences de DEPT. Après consultation de la bibliothèque de spectres, construite à partir des données de la littérature, le logiciel propose une identification. Cette méthode a été appliquée à l'étude de la composition chimique des huiles essentielles de *Piper cernum* et *P. regnellii*. Les auteurs ont identifié respectivement dix et cinq constituants, qui sont en fait les composés majoritaires de ces huiles essentielles.

Chapitre 2.

Matériels et Méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est composé de divers organes des trois (3) espèces de cette étude. L'ensemble des récoltes des plantes a été identifié par le Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny, par feu M. Assi Jean (Technicien au CNF) et M. Téré Henry du Centre Suisse de la recherche (Adiopodoumé, Abidjan, Côte d'Ivoire).

1.1.1. *Zanthoxylum lepreurii*

Au total 72 échantillons (échs) dont les feuilles (30 échs), les écorces du tronc (26 échs), les fruits (13 échs) et les tiges (3 échs) de cette plante ont été récoltés dans deux (2) localités différentes de la Côte d'Ivoire avec un numéro d'herbier (UCJ016132) :

- ✓ San -Pedro, ville située au Sud-ouest de la Côte d'Ivoire, récolte réalisée en Février 2016 (Latitude nord 4°44'54'' ; Longitude ouest 6°38'10'').
- ✓ Adzopé (6°06'25'' N, 3°51'36'' W), ville située au Sud-est de la Côte d'Ivoire. Les organes ont été récoltés en Février 2016 et de Mai à Novembre 2017.

1.1.2. *Zanthoxylum mezoneurispinosum*

Dix-sept (17) échantillons d'huile essentielle ont été obtenus à partir des feuilles (12 échs), des écorces du tronc (4 échs) et des racines (1 éch) récoltées dans les forêts suivantes avec comme numéro d'herbier (AA21009):

- ✓ Parc National du banco situé au sud de la Côte d'Ivoire dans la ville d'Abidjan (5° 20' 11" Nord, 4° 1' 36" Ouest) en Janvier 2018.
- ✓ Parc National d'Azagny de Grand-Lahou (5°15'24''N, 5°0'12''W) au Sud-ouest de la Côte d'Ivoire en Novembre 2017.

1.1.3. *Zanthoxylum psammophilum*

Selon le numéro de l'herbier (AA21002), la récolte de l'espèce *Z. mezoneurispinosum* a été faite. Cette récolte a donné au total 27 échantillons avec pour :

Les feuilles (2 échs), les écorces du tronc (24 échs) et les racines (1 éch) ont donné en somme vingt-sept (27) échantillons d'huile essentielle dans deux (2) localités différentes :

- ✓ Dans la forêt de Petit-Yapo sur l'axe Abidjan-Agboville (5°55'40''N, 4°12'47''W) dont les organes ont été récoltés de Mai à Décembre 2017.

✓ Le parc national des îles Ehotilés (5°01'14''N, 3°02'23''W) d'Adiaké au Sud-est de la Côte d'Ivoire. La récolte s'est faite en octobre 2017.

1.2. Matériel d'extraction

1.2.1. Matériel d'extraction des huiles essentielles (substances volatiles)

L'extraction des HE des différents organes a été faite par entraînement à la vapeur à l'aide d'un dispositif de type Clevenger (**figure 21**).

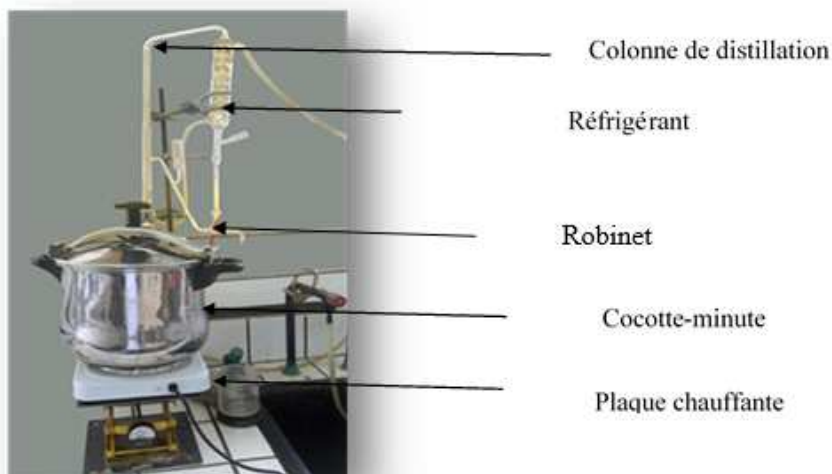


Figure 21 : Montage du Clevenger

1.3. Matériel biologique

- *Plasmodium falciparum* 3D7 : souches chloroquino-résistantes fournies par l'ATCC, Bei Ressources provenant des Etats Unis.
- Les globules rouges : groupe A⁺ cellule hôte humaine, Centre de transfusion, Croix Rouge (Belgique).

2. Méthodes

2.1. Extraction par l'hydrodistillation

L'appareil a été nettoyé à l'acétone puis rincé à l'eau distillée pour éliminer les graisses probablement présentes dans l'appareil afin d'éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction. Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles.

En effet, 1kg de matériel végétal a été placé sur une grille métallique contenant un peu d'eau. Cette eau ne dépasse pas la grille. L'opération d'extraction dure trois heures (3 heures) à partir du début d'ébullition (**El Kalamouni, 2010**). L'huile ainsi obtenue est récupérée et conservée dans des flacons opaques bien scellés ou recouvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière. Ces flacons sont ensuite conservés dans un réfrigérateur jusqu'à son usage à basse température (4-5 °C°).

2.2. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle d'une extraction se calcule par le rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite et la masse de la matière première végétale traitée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{MHE}{MMV} \times 100 \quad \text{où}$$

R : Rendement de l'extraction en pourcentage (%)

MHE : Masse de l'huile essentielle extraite en gramme (g)

MMV : Masse de la matière végétale en gramme (g)

2.3. Méthodes chromatographiques

2.3.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

La méthode analytique utilisée est la CPG/SM. L'analyse a été effectuée selon la méthode décrite par **Soilhi et al (2019) et Sidali et al., (2018)**.

Dix milligrammes d'huile essentielle ont été dissous dans 100 mL d'hexane et analysés par CPG/SM (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Pour chaque huile essentielle, cette manipulation a été répétée trois fois. La CPG-SM a été réalisée à l'aide d'un système CPG Agilent 7890B (Agilent, Santa Clara, CA, USA) équipé d'un injecteur split-splitless et couplé à un détecteur Agilent SMD 5977B (**figure 22**). Un microlitre de solution d'huile essentielle à 0,01 % a été injecté, et les conditions analytiques ont été fixées comme suit :

- Mode d'injection : splitless à 300° C avec une colonne capillaire HP-5SM (Agilent, Santa Clara, CA, USA) (30 m 0,25 mm, df = 0,25 m) ;
- Programme de température : de 50 °C (1 min) à 300 °C (5 min) à un rythme de 5 °C/min.

- Le gaz vecteur : l'hélium à un débit de 1,2 mL/min. Les spectres de masse ont été enregistrés en mode d'ionisation électronique à 70 eV (plage de masse balayée : 40-400 m/z).

Les températures de la source et du quadripôle ont été fixées à 230 °C et 150 °C, respectivement. L'identification des composants a été effectuée sur la base des indices de rétention chromatographique (IR) et par comparaison des spectres enregistrés avec une bibliothèque de données informatisées (Pal 600K®) (**Bettaieb et al., 2018**). Les valeurs de l'IR ont été mesurées sur une colonne HP-5SM (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Les calculs de l'IR ont été effectués en mode programme de température selon **Babushok et al., 2011 ; Benini et al., 2012**. Un mélange d'homologues n-alcanes (C7-C30) a été utilisé dans les mêmes conditions chromatographiques. Les principaux composants ont été confirmés par comparaison de leur rétention et de leur spectre SM des données avec des références pures co-injectées (Sigma, Darmstadt, Allemagne) lorsqu'elles sont disponibles dans le commerce.



Figure 22 : Appareil CPG/SM

2.3.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une méthode analytique qui permet de séparer les composants dans un but d'analyse. Les analyses par chromatographie sur couche mince ont été effectuées sur des plaques de silice prêtes à l'emploi du commerce (Polygramsil G/UV). Après développement dans l'éluant dans des cuves en verre, la migration des composés est réalisée dans une phase mobile liquide avec divers systèmes d'élutions. Le P-anisaldéhyde a été utilisé comme révélateur. La préparation du P-anisaldéhyde se compose de l'acide acétique glacial et l'acide sulfurique. Ce révélateur permet de détecter des phénols, des sucres, des stéroïdes, des terpènes et des alcaloïdes. Ce dernier composé est vérifié par le dragendorff. La lecture des plaques a été observée sous la lumière ultra-violette (254 nm et 366nm). La lampe UV est de marque Blak. Ray UVL 22 (220 V 50 Hz, Californie).

2.3.3. Chromatographie sur colonne de gel de silice (CC)

La colonne utilisée s'est faite sur la base de la masse de l'échantillon et du profil chromatographique de la fraction ou de l'extrait. Selon **Vernin (1970)**, le diamètre et la hauteur de la colonne sont déterminés en fonction de la masse de l'échantillon. En effet, pour une bonne séparation, la masse de la silice dans la colonne est égale à 10 fois la masse de l'échantillon à purifier. La phase stationnaire utilisée est 70-230 mesh gel silice 60 (40-63 μm , Silicagel, Sigma, Darmstadt, Allemagne).

2.3.4. Chromatographie liquide haute performance (CLHP)

La CLHP est une méthode qui a beaucoup d'application surtout au niveau de la chimie des substances naturelles. En effet, elle est utilisée dans la séparation ou l'identification de composés.

Les purifications par CLHP ont été effectuées à l'aide de la CLHP avec le logiciel chemstation Agilent Série 1260 muni d'une pompe à quat et d'un détecteur DAD-UV à indice de réfraction (IR) pilotés par le logiciel technologie d'Agilent.

Les analyses ont été réalisées en phase inverse avec une colonne HPLC de type Agilent Zorbax XDB-C18 (3,5 μm , 150 mm).

Les conditions utilisées pour les analyses en chromatographie liquide haute performance se présente comme suit :

- ✓ Un débit : 1 mL/min
- ✓ La température : 25°C
- ✓ Le volume : 10 μL

Pour toutes les analyses, le système d'élution était composé de l'acétonitrile (ACN) de qualité CLHP solvant B additionnée à 0.1% H_3PO_4 et de l'eau filtrée tamponnée à (0,1% H_3PO_4), solvant A avec des mesures de longueur d'onde allant de 210 à 400 nm.

2.3.5. Chromatographie liquide haute performance analytique préparative

Les conditions utilisées pour les purifications en chromatographie liquide haute performance étaient les suivantes :

- ✓ Un débit : 20 mL/min
- ✓ La température ambiante
- ✓ Le volume : 2 mL

Le système de solvants ACN-H₂O additionné de 0.1% de H₃PO₄ a été employé. Pour chaque purification, les conditions chromatographiques (gradient et détection UV) étaient précisées selon la composition et la séparation souhaitées. La collecte des fractions a été réalisée manuellement.

2.4. Extractions et de purifications des métabolites secondaires

2.4.1. Extractions

Les feuilles séchées de *Z. mezoneurispinosum* ont été pulvérisées (poudres), puis 1kg de la drogue est soumise à des extractions solide-liquide à température ambiante. L'extraction a été réalisée 3 fois pendant 48 heures (h) dans une solution de 50% MeOH/ H₂O distillée.

Au bout de 48 h, la solution obtenue est filtrée, le filtrat est évaporé à l'aide d'un évaporateur Rotavac (Heidolph, Laborota 4003 control), après séchage on obtient une masse d'extrait brut de 55,15 g.

L'étude s'est basée sur une extraction alcaloïdique. La réalisation s'est faite comme suite, 30 g de l'extrait brut obtenu ont été dissous dans 100 mL de MeOH, ensuite alcalinisé avec 5 gouttes d'ammoniaque (NH₄OH) à 25%, puis ajout de 200 mL de dichlorométhane (DCM). A la solution obtenue sont ajoutés de 150 mL d'acide sulfurique à 1%, puis elle est contre- extraite avec le DCM (200 mL × 3) plusieurs fois. Après évaporation de la solution, on obtient l'extrait dichlorométhane (MFD). La phase surnageante est d'abord alcalinisée avec le NH₄OH jusqu'à obtenir une solution à pH = 10. Cette solution est contre-extraite avec 600 mL d'acétate d'éthyle (AcOEt) pour donner après évaporation l'extrait acétate d'éthyle (MFA). L'extrait aqueux (MFAq) est élué avec le reste de la phase aqueuse séchée (**figure 23**). Ensuite, les différents extraits MFD, MFA et MFAq sont soumis au test des alcaloïdes avec le réactif de Dragendorff.

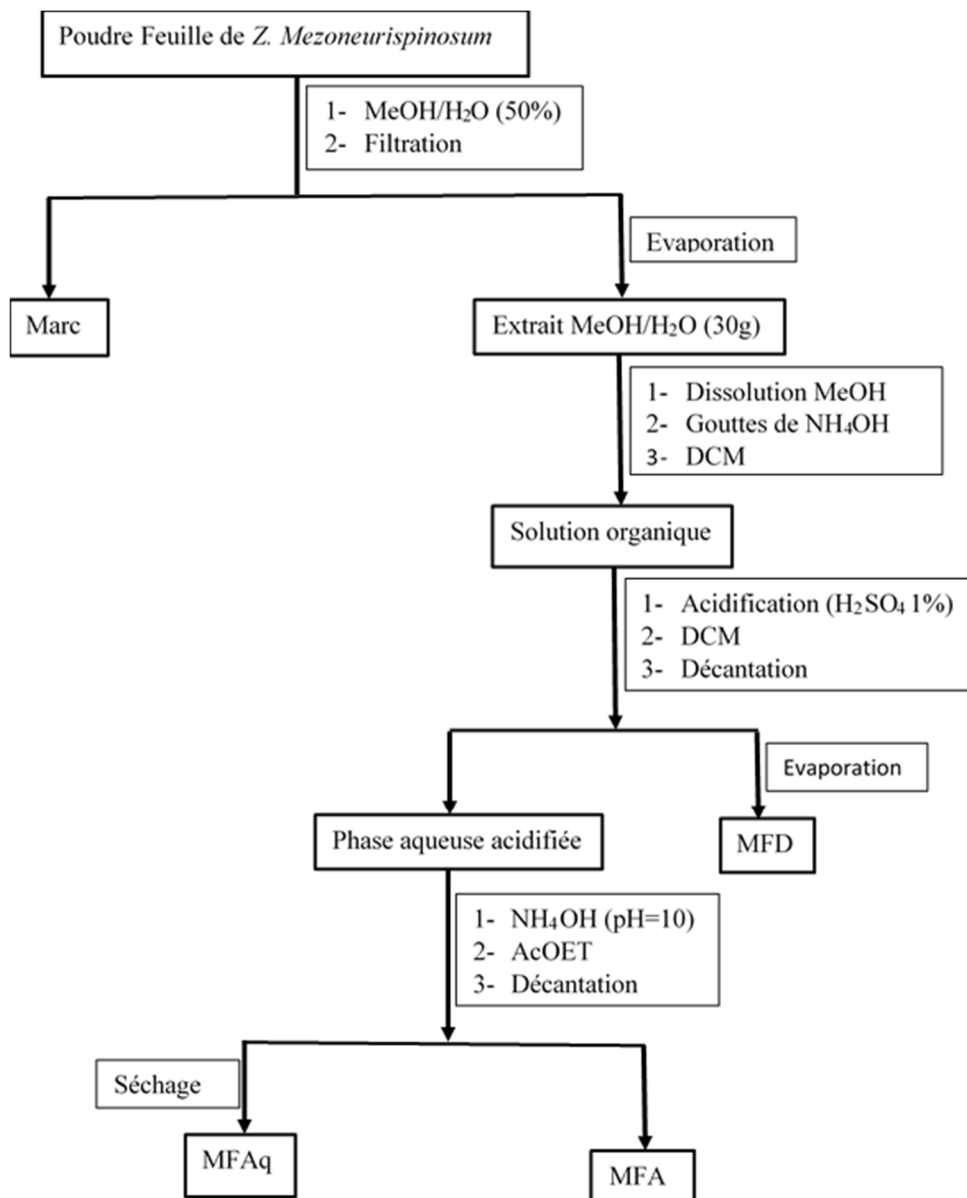


Figure 23 : Schéma d'extraction des feuilles de *Z. mezoneurispinosum*

2.4.2. Fractionnement et de purification des composés isolés de l'extrait

Une partie de l'extrait MFD (3 g) est traitée sur une chromatographie sur colonne de silice de particules 70-230 mesh, 60 Å en utilisant un gradient de solvant Hex, DCM et MeOH. Après regroupement, toutes les fractions subissent le même traitement et sont purifiées à la CLHP analytique puis à la CLHP préparative sur colonne C18. L'éluant de gradient H₂O/ ACN à 1% de H₃PO₄ afin d'obtenir les produits purs (**figure 24**).

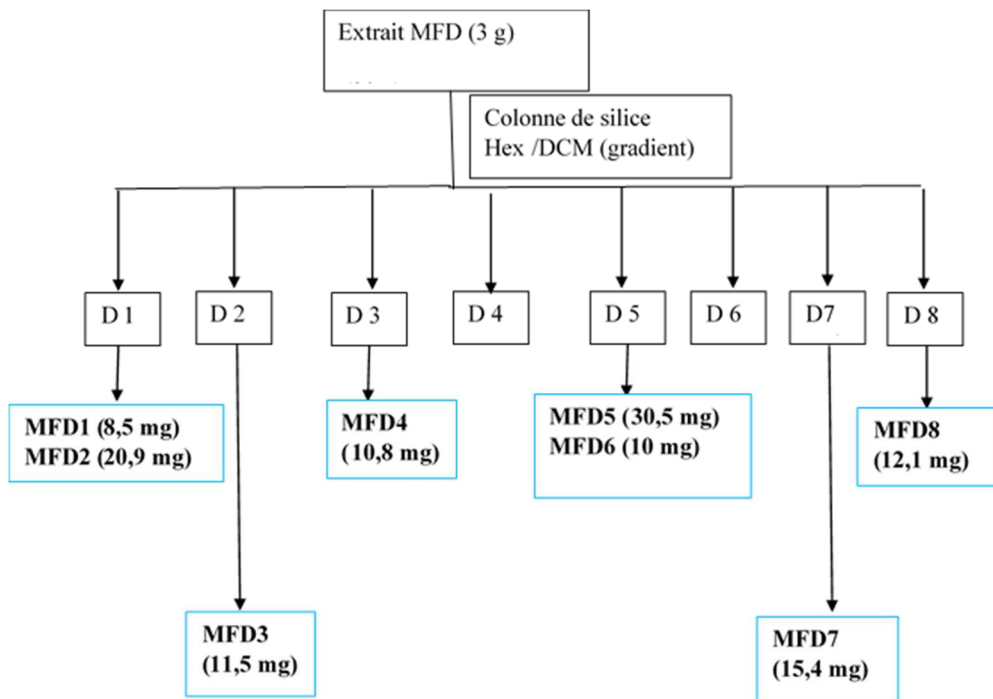


Figure 24 : Schéma de la purification des fractions de l'extrait MFD

2.5. Méthodes d'analyse de détermination structurale

2.5.1. Spectrométrie de masse (SM)

C'est une technique d'analyse chimique permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse isotopique. De plus, la spectrométrie de masse permet de caractériser la structure chimique des molécules en les fragmentant. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z).

La source electrospray-ionspray (SM-ESI) a été utilisée dans le cadre de nos travaux, pour la détermination de la masse des composés isolés. L'ionisation a été produite par application, à pression atmosphérique, d'un fort champ électrique (3 à 6 KeV) sur un liquide traversant un capillaire à faible débit (1-10 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$). Ce champ

provoque une accumulation de charges à la surface du liquide, situé à l'extrémité du capillaire. La rupture de la phase liquide forme des gouttelettes hautement chargées (spray). L'évaporation du solvant contenu dans ces gouttelettes va provoquer leur rétrécissement jusqu'au moment où des forces coulombiennes répulsives vont approcher le niveau des forces de cohésion de celles-ci et provoquer leur explosion. Ces gouttelettes subissent alors une cascade de fissions donnant des gouttelettes de plus en plus petites jusqu'au moment où le champ électrique en leur surface devient suffisant pour provoquer la désorption des ions. Les ions, ainsi produits, sont porteurs d'un grand nombre de charges s'il existe plusieurs sites ionisables sur la molécule. Cette méthode génère des espèces moléculaires avec peu ou pas de fragmentations, rendant ainsi aisé la détermination de la masse moléculaire du composé à analyser.

La réalisation des spectres s'est effectuée en electrospray mode positif, sur un appareil

Micromass Q-TOF micro-instrument (Manchester, UK) et en impact électronique sur un appareil Waters-Micromass Gct (Royaume-Uni). Les échantillons sont dissous dans du méthanol ou DMSO type analytique (CLHP).

2.5.2. Spectrométrie Infra-Rouge (IR)

Le spectre infrarouge est réalisé à l'aide d'un appareil de type Riaffinity-1S avec un ATR de marque Shimadzu. Les échantillons sont dissous dans du MeOH ou du DMSO. Le liquide est déposé sur l'ATR. L'ATR permet d'éviter l'utilisation du bromure de potassium (KBr).

2.5.3. Analyses des composés par résonnance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres RMN ont été mesurés sur un appareil de type BRUKER Avance NEO 500MHz équipé d'une cryosonde. Les paramètres standard de Bruker ont été utilisés pour les expériences monodimensionnelles RMN 1D (proton (^1H) et le carbone (^{13}C)) et celle de bidimensionnelles RMN 2D, en utilisant des gradients (COSY ; HSQC ; HNBC).

Les échantillons ont été solubilisés dans le méthanol deutéré CD_3OD le diméthylsulfoxyde deutéré DSMO-d_6 . Les valeurs des déplacements chimiques (δ) sont exprimées en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TSM) utilisé comme référence interne.

2.6. Screening phytochimique

La détermination de manière préliminaire de la nature des différents constituants contenus dans la plante étudiée a été réalisée par des tests en tube sur les poudres végétales. Le protocole suivi est une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation ainsi qu'à des examens en lumière ultraviolette.

Le **tableau 1** représente les différents groupes chimiques recherchés et les réactifs spécifiques utilisés. Les principales classes phytochimiques sont présentées comme suit.

Tableau 1 : Réactifs spécifiques et réactions de caractérisation du criblage Phytochimique

Groupes chimiques	Réactifs et résultats positifs
Alcaloïdes	- Mayer (iodomercurate de potassium) → précipité blanc jaunâtre - Dragendorff (iodobismuthate de potassium) → précipité rouge orangé
Flavonoïdes	- Réaction à la cyanidine → coloration orangée, rouge ou violette
Tanins	- FeCl₃ → coloration bleu-foncée, verte ou noire
Stéroïdes et Terpènes	- Liebermann-Burchard (anhydride acétique-H₂SO₄) → coloration violette bleue ouverte
Saponosides	- Détermination de l'indice de mousse (IM*): test positif si IM >100

2.7. Analyse des dosages de composés bioactifs

La détermination des composés phénoliques tels que les polyphénols totaux, les flavonoïdes totaux, les alcaloïdes et tannins condensés présents au niveau des différentes parties des plantes étudiées a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre (GE Healthcare, Cambridge, Royaume-Uni).

• Préparation des extraits

Pour la préparation des extraits végétaux, la méthode utilisée est celle proposée par **Bettaieb et al., (2019)** et par **Tambe et al., (2014)** avec quelques modifications. Ainsi, 250 g de poudre fine ont été macérés avec différents solvants de polarités croissantes, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le méthanol. Le filtrat était concentré dans un évaporateur rotatif et les extraits étaient calculés pour leur valeur extractive.

2.7.1. Dosage des polyphénols totaux

Pour tracer la courbe d'étalonnage, 10 mg sont dilués dans 100 mL d'eau distillée. Cette solution d'acide gallique a été préparée à différentes concentrations (20, 40, 40, 60, 80 et 100 µg/mL). Elles sont incubées pendant 90 minutes à température ambiante à l'obscurité, les absorbances des solutions d'essai et standard ont été déterminées par rapport au blanc de réactif à une longueur d'onde de 760 nm avec un spectrophotomètre ultraviolet (UV) /visible. Ensuite, le dosage de la teneur totale en phénols des extraits a été réalisé à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu (**Bettaieb et al., 2019**). Brièvement, 1 mL d'extrait et 9 mL d'eau distillée ont été prélevés dans une fiole jaugée, ensuite 1mL du réactif phénolique Folin-Ciocalteu à 10% a été ajouté au mélange et bien agité. Après 5 minutes, 10 mL d'une solution de carbonate de sodium

(Na_2CO_3) à 7 % ont été ajoutés au mélange. La teneur totale en phénol a été exprimée en mg d'EAG/g d'extrait (Ghasemzadeh *et al.*, 2010).

2.7.2. Dosage des alcaloïdes totaux

Cette technique se fait par spectrophotométrie basée sur la réaction avec le vert de bromocrésol (BCG) et colorimétrie avec les réactions colorées spécifiques à certains alcaloïdes et en comparaison avec des substances de référence.

• Préparation des solutions

La solution étalon d'atropine a été préparée en dissolvant 1 mg d'atropine pure (Sigma Chemical, USA) dans 10 mL d'eau distillée. Ensuite, les autres réactifs ont été préparés comme suite ; une solution de vert de bromocrésol a été préparée en chauffant 34,9 mg de vert de bromocrésol avec 3 mL de NaOH 2N et 5 mL d'eau distillée jusqu'à dissolution complète et la solution a été diluée à 500 mL avec de l'eau distillée. Une solution tampon de phosphate (pH 4,7) a été préparée en ajustant le pH du phosphate de sodium 2 M (71,6 g de Na_2HPO_4 dans 1 L d'eau distillée) à 4,7 avec de l'acide citrique 0,2 M (42,02 g d'acide citrique dans 1 L d'eau distillée).

Cette préparation a été réalisée selon la méthode de Togola *et al.*, (2019) avec des modifications. La courbe d'étalonnage s'est faite avec 1 mg d'extrait de plante dissout dans du diméthyl sulfoxyde (DMSO), ajouté à cela 1mL de 2N HCl et filtré. Cette solution a été transférée dans une ampoule à décanter ; 5 mL de solution de vert de bromocrésol et 5 mL de tampon de phosphate y ont été ajoutés. Le mélange a été agité vigoureusement avec 1, 2, 3 et 4 mL de chloroforme et recueilli dans une fiole jaugée de 10 mL, puis dilué au volume avec du chloroforme. Un ensemble de solutions étalons de référence d'atropine (20, 40, 60, 80 et 100 $\mu\text{g/mL}$) a été préparé de la même manière que celle décrite précédemment. L'absorbance des solutions d'essai et des solutions étalons a été déterminée par rapport au blanc de réactif à une longueur d'onde de 470 nm. La teneur totale en alcaloïdes a été exprimée en mg d'AE/g d'extrait.

2.7.3. Dosage des flavonoïdes totaux

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux a été décrite selon la méthode développée par Lee *et al.*, (2012) avec quelques modifications. La méthode de dosage des flavonoïdes repose sur la capacité de ces composés à former des complexes chromogènes avec le chlorure d'aluminium (AlCl_3).

D'abord, une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant le standard de référence qui est la quercétine. Des solutions de différentes concentrations 20, 40, 60, 80 et 100 $\mu\text{g/mL}$ ont été préparées. Le milieu réactionnel composé de 1 mL d'extrait et de 4 mL d'eau distillée, a été prélevé dans une fiole jaugée de 10 mL. Dans la fiole, on a traité 0,30 mL de nitrite de sodium à 5 % et, après 5 minutes, on a mélangé 0,3 mL de chlorure d'aluminium à 10 %. Après 5 minutes, 2 mL d'hydroxyde de sodium 1M ont été traités et dilués à 10 mL avec de l'eau distillée. L'absorbance des solutions d'essai et des solutions étalons a été déterminée par rapport au blanc de réactif à 510 nm de

longueur d'onde avec un spectrophotomètre UV/Visible. La teneur totale en flavonoïdes a été exprimée en mg de QE/g d'extrait (El hajaji et al., 2010).

2.7.4. Dosage des tanins totaux

La méthode Folin – Ciocalteu a été utilisée pour doser les tanins totaux.

Environ 0,1 mL d'extrait de l'échantillon a été ajouté à une fiole volumétrique (10 mL) contenant 7,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de réactif Folin - Ciocalteu, 1 mL de solution de Na_2CO_3 à 35 % et dilué à 10 mL avec de l'eau distillée. Le mélange a été bien agité et maintenu à température ambiante pendant 30 minutes. Un ensemble de solutions étalons de référence d'acide gallique (20, 40, 60, 80 et 100 $\mu\text{g/mL}$) a été préparé de la même manière que celle décrite précédemment. L'absorbance des solutions d'essai et des solutions étalons a été mesurée par rapport au blanc à une longueur d'onde de 725 nm avec un spectrophotomètre UV/Visible. La teneur en tannin a été exprimée en termes de mg d'EAG /g d'extrait (Afify et al., 2012).

2.8. Analyses des activités biologiques

2.8.1. Activités antioxydantes

Deux méthodes ont été choisies pour leur facilité de mise en œuvre et leur fiabilité pour l'évaluation de l'activité antioxydante des HE. Il s'est agi du test au 1,1-diphényl -2- picrylhydrazyle (DPPH) et celui de FRAP.

Capacité de piégeage radical du 1,1-Diphényl -2- picrylhydrazyle (DPPH)

L'activité antioxydante exprime la capacité à réduire les radicaux libres. Elle est étudiée par la méthode du DPPH. Ce radical libre présente une coloration violet foncé. Lorsqu'il est piégé par les antioxydants, il apparaît sous sa forme réduite de couleur jaune pâle (**figure 25**).

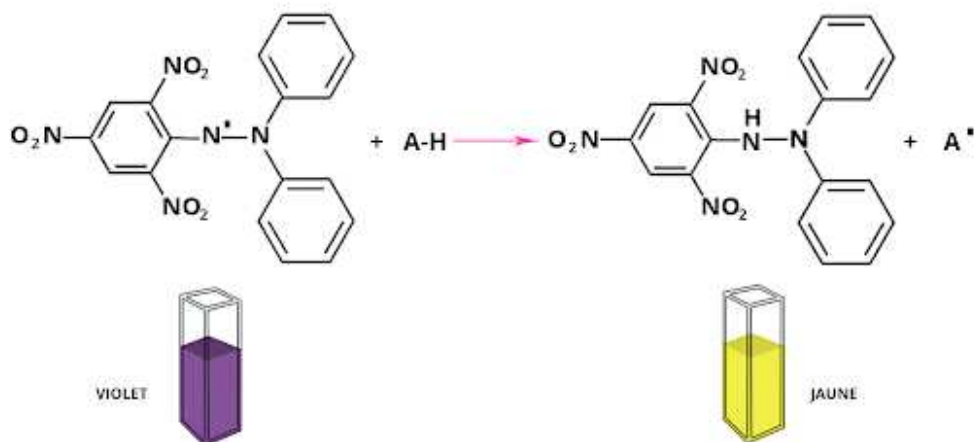


Figure 25 : Schéma Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Molyneux, 2004)

Ainsi, l'activité de piégeage des radicaux libres a été déterminée en triplicat selon **Soilhi (2019)** avec de légères modifications des concentrations. Une quantité de 0,5 mL d'huiles essentielles à quatre (4) concentrations (25, 50, 75 et 100 µg/mL) dans du méthanol a été ajoutée à 1 mL d'une solution stable de DPPH (0,06 mM, méthanol). Le mélange a été agité au vortex pendant environ 1 minute, puis incubé à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 minutes. Toutes les mesures spectrométriques de caractéristique Ultrospec 7000 UV-visible, à double faisceau (GE Healthcare, Cambridge, UK) sont effectuées en triplicat à 25°C avec une absorbance de 517 nm (λ_{max} de DPPH dans le méthanol). Pour chaque expérience, une solution de DPPH est testée comme témoin (blanc), afin d'en estimer sa décomposition en absence d'extrait étudié (A sans extrait). La capacité antioxydante est rapportée par rapport à un antioxydant de référence comme l'acide ascorbique, le BHT (butyl-hydroxy-toluène) ou le Trolox (acide-6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman-2-carboxylique), correspond à l'analogue de la vitamine E soluble en milieu aqueux.

Dans notre étude, la comparaison se fait par rapport au Trolox (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthyl-chroman-2-carboxylique, Sigma, Darmstadt, Allemagne) qui a été utilisé comme étalon (un contrôle positif) dans les mêmes conditions que les HE. L'activité de piégeage des huiles essentielles sur les radicaux DPPH a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(Ab - Aa)}{Ab} \times 100 \text{ où :}$$

Ab = Absorbance de la réaction de contrôle contenant tous les réactifs sauf l'huile.

Aa = Absorbance de l'échantillon contenant une dose d'huile testée.

La valeur de la concentration inhibitrice IC_{50} représente la dose de l'huile essentielle qui neutralise 50% des radicaux de DPPH. L' IC_{50} utilisée comme une estimation de l'activité antioxydante par DPPH a été estimée par extrapolation en traçant la courbe des pourcentages d'inhibition (I %) en fonction des concentrations (C).

Réduction du fer

Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode de **Lee (2011)**. Un échantillon de 1 mL de chaque concentration d'HE (25, 50, 75 et 100 $\mu\text{g/ml}$), 1 mL de tampon de phosphate de sodium (0,2 M, pH = 6,6) et 1 mL d'une solution de ferrocyanure de potassium [$K_2Fe(CN)_6$] à 1% diluée dans de l'eau distillée sont mélangés. Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 minutes. Après refroidissement, 1 mL d'acide trichloracétique à 10% v/v dilué dans de l'eau a été ajouté. Le mélange est centrifugé à 3000 g pendant 10 minutes. Le surnageant récupéré a été mélangé avec de l'eau distillée (1,5 mL) et du $FeCl_3$ à 0,1 % v/v (150 μL). L'absorbance est mesurée à 700 nm contre un blanc contenant le tampon phosphate qui a permis de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif a été représenté par une solution de trolox (un antioxydant standard) dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Le principe de cette méthode est basé sur la mesure de l'absorbance du complexe bleu de Prusse formé suite à l'addition d'un excès de Fe^{3+} . Une augmentation de l'absorbance (par rapport au blanc) indique une augmentation de la réduction du pouvoir. L'absorption due aux huiles essentielles elles-mêmes (à des concentrations différentes) était systématiquement soustraite pour chaque test.

2.8.2. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

Test d'inhibition de la lipoxgénase

- Préparation des réactifs

Tampon borate :

Un mélange de borate (76,3 g dans un 1 L d'eau distillée) plus de l'acide borique (12,4 g dans 1L d'eau distillée), ajouter quelques gouttes de NaOH et porter à ébullition.

- L'enzyme (la lipoxgénase (Sigma, Darmstadt, Allemagne))

Peser 10 mg de l'enzyme dans 100 mL d'eau distillée.

- Le substrat (l'acide linoléique ou linoléique) sous forme de sel sodique

Peser 140 mg du substrat (l'acide linoléique ou linoléique), ajouter 5 mL d'eau distillée désoxygénée par barbotage d'azote pendant 30 minuits (min), puis ajouter 18 mg de tween 80 ensuite passer au vortex pendant 5 min.

La solution obtenue est trouble. Pour obtenir une solution claire (transforme les acides gras sous forme de savon (saponifier)), il faut ajouter quelques gouttes de NaOH. Enfin compléter, la solution à 50 mL avec de l'eau désoxygénée.

L'activité inhibitrice de la lipoxigénase *in vitro* des huiles essentielles a été déterminée en mesurant le pouvoir d'inhibition des huiles essentielles sur l'activité de la lipoxigénase (EC 1.13.11.12). La méthode spectrophotométrique décrite par **Lyckander et Malterud (1992)** a été utilisée avec quelques modifications mineures. Un mélange réactionnel contenant 100 µL des huiles essentielles à différentes concentrations (100, 75, 50 et 25 g/mL de méthanol) (en triple exemplaire pour chaque concentration), 35 µL (0,1 mg/mL) de la lipoxigénase (Sigma, Darmstadt, Allemagne) et 400 µL d'une solution de tampon d'acide borique (0,2 M, borate (pH = 9,0) a été incubée pendant 15 minutes à 25° C. La réaction a ensuite été initiée par l'ajout de 35 µL d'une solution de substrat (acide linoléique 250 µM) et l'absorbance a été mesurée à 234 nm. La quercétine (Sigma) a été utilisée comme inhibiteur standard à la même concentration que les huiles essentielles. Le pourcentage d'inhibition (%I) de l'activité de la lipoxigénase a été calculé comme suit :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{OD_{\text{contrôle}} - OD_{\text{échantillon}}}{OD_{\text{contrôle}}} \times 100 \text{ où}$$

OD contrôle est l'activité de l'enzyme en l'absence d'huile essentielle

OD échantillon est l'activité de l'enzyme en présence de l'huile essentielle.

La méthode de dénaturation de l'albumine

Le test a été réalisé en adoptant la méthode décrite par **Kumari et al. (2015)**. Le Diclofenac sodique est un médicament anti-inflammatoire puissant utilisé comme témoin positif. Le mélange réactionnel se compose de 0,5 mL de sérum-albumine bovine (BSA) à 2 % dans de l'eau, 2,5 mL de solution saline tamponnée au phosphate et ajustée à l'aide d'acide chlorhydrique (HCl) à un pH de 6,3, 1 mL d'huile essentielle pour diverses concentrations 100, 75, 50 et 25 µg/ml dans du méthanol. Les tubes ont été incubés pendant 20 minutes à température ambiante, puis chauffés à 70 °C pendant 5 minutes. Après refroidissement d'environ 10 minutes, l'absorbance est lue à 660 nm (**Oman et al., 2016**) à l'aide d'un spectrophotomètre. Le diclofénac sodique est utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. L'expérience a été réalisée en triple. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit :

$$\% \text{ Inhibition denaturation} = \frac{Abs_{\text{blanc}} - Abs_{\text{éch}}}{Abs_{\text{blanc}}} \times 100 \text{ où :}$$

Abs blanc correspond à l'absorbance (Abs) du milieu réactionnel sans ajout d'huile essentielle. Abs éch correspond à l'absorbance du milieu réactionnel avec addition d'huile essentielle, soustraite de la valeur Abs de l'huile essentielle diluée (pour compenser l'absorbance due aux huiles essentielles elles-mêmes).

De même que le DPPH, l'IC₅₀ a été utilisée comme une estimation de l'activité anti-inflammatoire qui a été estimée par extrapolation en traçant la courbe des pourcentages d'inhibition (I %) en fonction des concentrations.

2.8.3. Activité insecticide

L'évaluation de l'effet insecticide des HE a été faite sur *Sitophilus granarius* (**figure 26**), un coléoptère de la famille des Dryophthoridae. Le choix de cet insecte tient du fait de son importance économique capitale. *Sitophilus granarius* est l'un des principaux ravageurs du blé. Ce parasite primaire est capable de percer des trous dans les grains, d'y pondre ses œufs et de favoriser l'installation et le développement des parasites secondaires (**Fleurat-Lessard, 2018**).



Figure 26 : *Sitophilus granarius*

Détermination des taux de mortalité

Des dilutions d'huiles essentielles à différentes concentrations (10, 14, 18, 22, 26 et 30 $\mu\text{L/mL}$), ont été préparées dans de l'acétone, parce que ce dernier est miscible avec les HE. Il n'a pas eu d'effet sur les insectes, s'évapore vite et ne laisse pas de traces. Le Talisma UL (Biosix, Hermalle-sous-Huy, Belgique), un insecticide chimique classique utilisé pour la protection des céréales stockées contre les insectes, a également été utilisé comme référence aux mêmes concentrations. Pour chaque test, 500 μL d'huile essentielle ou de solution étalon ont été dispersés de manière homogène dans des tubes contenant 20 g de grains de blé biologique (**figure 27**). On a laissé le solvant s'évaporer des grains pendant 20 minutes avant de les infester par 12 insectes adultes.



Figure 27 : Taux de mortalité de *Sitophilus granarius* sur les grains traités par les HE

L'acétone a été utilisée comme contrôle négatif. Six répétitions ont été créées pour tous les traitements et les contrôles, et elles ont été incubées à 30 °C. La mortalité a été enregistrée après 24 heures d'incubation. Les résultats de tous les réplicats ont été soumis à l'analyse Probit en utilisant le programme Python 3.7 pour déterminer les valeurs de la dose létale (DL), DL₅₀, de la DL₉₀ et de la DL₉₅.

Effet répulsif de l'huile essentielle sur papier filtre

L'effet répulsif de l'huile essentielle de chaque plante à l'égard des adultes *Sitophilus granarius* a été évalué en utilisant la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par **Mc Donald et al. (1970)**. Des disques de papier filtre de 8 cm de diamètre sont découpés en deux parties égales. Six concentrations (10, 14, 18, 22, 26 et 30 µL/mL) d'huile essentielle ont été préparées par dilution dans l'acétone. Ensuite, chaque demi-disque a été traité avec 100 µL de la solution, et l'autre moitié avec de l'acétone. Les deux demi disques de papier filtre sont séchés à l'air libre et le disque est reconstitué au moyen d'une bande adhésive puis mis dans une boîte de Pétri. Dix insectes ont été placés au centre de chaque boîte de pétri et ont été incubés à 30 °C. Ces essais sont répétés trois fois pour chaque dose. Au bout de deux heures, le nombre d'insectes présents sur la partie de papier filtre traitée à l'huile essentielle (Nt) et le nombre de ceux présents sur la partie traitée uniquement à l'acétone (Nc) ont été relevés (**figure 28**).

Le pourcentage de répulsion (PR) est ainsi calculé par la formule :

$$PR = \frac{NC - NT}{NC + NT} \times 100, \text{ où}$$

NC : nombre de l'individu présent sur la partie du disque traitée uniquement avec d'acétone

NT : nombre de l'individu présent sur la partie du disque traitée avec la solution huile- acétone



Figure 28 : Le test de répulsion des huiles essentielles

Le pourcentage de répulsion moyen pour chaque huile est calculé (PR) et attribué à l'une des différentes classes répulsives variant de 0 à V (MC Donald *et al.*, 1970), qui sont présentés dans le tableau suivant : (**tableau 2**)

Tableau 2: Pourcentages de répulsion selon le classement de Mc Donald et al. (1970).

Classes	Intervalle de répulsion	Propriétés
Classe 0	$PR \leq 0,1\%$	Très faiblement répulsif
Classe I	$0,1\% < PR \leq 20\%$	Faiblement répulsif
Classe II	$20\% < PR \leq 40\%$	Modérément répulsif
Classe III	$40\% < PR \leq 60\%$	Moyennement répulsif
Classe IV	$60\% < PR \leq 80\%$	Répulsif
Classe V	$80\% < PR \leq 100\%$	Très répulsif

2.8.4. Évaluation de l'activité anti plasmodiale *in vitro*

L'activité antiplasmodiale des huiles essentielles a été réalisée selon la méthode de **Ledoux et al., (2017)**. Pour ce faire, les stades érythrocytaires asexués de *P. falciparum*, souche 3D7 sensible à la chloroquine, ont été cultivés en continu *in vitro* selon la procédure de Trager et Jensen. La souche de *Plasmodium falciparum* avait été initialement isolée à partir d'un patient de Schipol aux Pays-Bas (BEI Reagent Search). L'ATCC, Bei Ressources nous a fourni les souches. Les globules rouges du groupe A+ ont été utilisés comme cellule hôte humaine. Le milieu de culture était le RPMI 1640 de Gibco, Fisher Scientific (Loughborough, UK), composé de NaHCO_3 (32 mM), HEPES (25 mM) et L-glutamine. Du glucose (1,76 g/L) de Sigma-Aldrich (Machelen, Belgique), de l'hypoxanthine (44 mg/mL) de Sigma-Aldrich (Machelen, Belgique), de la Gentamycine (100 mg/mL) de Gibco Fisher Scientific (Loughborough, Royaume-Uni) et du sérum humain du groupe A+ (10%) ont été ajoutés au milieu conformément à **Bordignon et al., (2018)**. Les solutions dans le DMSO d'huiles essentielles ont été directement diluées dans le milieu. Les dilutions ont été effectuées en trois exemplaires par des dilutions successives en deux fois dans un puits de 96 plaques. Les concentrations d'huiles essentielles sont exprimées en termes de $\mu\text{g/mL}$ d'huile essentielle. Comme l'interaction entre les composés volatils entre les échantillons pourrait se produire, nous avons décidé d'alterner une ligne de test avec deux lignes remplies de supports de culture. La croissance du parasite a été enregistrée après 48 heures d'incubation en utilisant l'activité du lactate déshydrogénase (pLDH) comme paramètre selon la méthode **Makker (1993)**. Le contrôle positif a été utilisé dans toutes les répétitions. Ce contrôle positif était composé d'Artémisinine de Sigma-Aldrich (Machelen, Belgique) à une concentration de 100 $\mu\text{g/mL}$ (concentration de la solution stock ensuite diluée). Courbes sigmoïdales autorisées la détermination de la concentration à moitié inhibitrice (IC_{50}).

3. Analyses statistiques

Les analyses des tableaux de données quantitatives sur la composition chimique des HE de *Z. leprieurii* ont été effectuées par les instruments statistiques suivant avec le logiciel XLSTAT (Adinsoft, Paris, France) :

✓ La classification ascendante hiérarchique (CAH)

La méthode de liaison de Ward a été utilisée pour déterminer les agglomérations et la distance euclidienne afin d'estimer la distance entre les groupes. Une matrice de corrélation a été utilisée pour estimer les principales composantes. C'est une méthode de classification itérative dont le principe est simple : On commence par calculer la dissimilarité entre les N objets, puis on regroupe les deux objets dont le regroupement minimise un critère d'agrégation donné, créant ainsi une classe comprenant ces deux objets (**Lebart et al., 1995 ; Brereton, 2003**). On calcule ensuite la dissimilarité entre cette classe et les N-2 autres objets en utilisant le critère d'agrégation. On continue ainsi jusqu'à ce que tous les objets soient regroupés. Ces regroupements successifs produisent un arbre binaire de classification (dendrogramme), dont la racine correspond à la classe regroupant l'ensemble des individus. Ce dendrogramme représente une hiérarchie de partitions. L'interprétation du CAH vise à mettre en relation la classification des individus et des variables par le critère de qualité d'une partition qui permet une inertie intra-classe le plus petit possible.

✓ L'analyse en composantes principales (ACP)

L'ACP est une méthode descriptive très efficace pour l'analyse des données quantitatives se présentant sous la forme de tableaux à M individus sur N constituants. Elle sert de fondement théorique aux autres méthodes de statistique multidimensionnelle par la visualisation et l'analyse des corrélations entre N variables. Lors de l'interprétation, on constate que la représentation des variables sur le cercle de corrélation est plus significative au fur à mesure qu'on se rapproche du rayon unité. On peut alors déterminer l'origine des axes factoriels et interpréter une relation entre individus et variables. Ainsi, on parle de la corrélation significativement positive des variables lorsque les variables ayant des coefficients de variation proches de 1 présentent les mêmes tendances d'évolution, c'est-à-dire que si l'une des variables a un fort pourcentage relatif, alors l'autre présente également la même caractéristique. Par contre, la corrélation significativement négative des variables se décrit par une corrélation et se comprend par les valeurs de variation inverse dans la composition chimique (**Tomassone et al., 1993 ; Paoli et al., 2011**).

✓ L'Analyse Factorielle Discriminante (AFD).

L'analyse factorielle discriminante (AFD) ou analyse discriminante est une technique statistique qui vise à décrire, expliquer et prédire l'appartenance à des groupes prédéfinis. Elle permet de déterminer les variables les plus explicatives de la répartition en groupes, de mettre en évidence les individus dont les valeurs ne correspondent pas aux groupes auxquels ils appartiennent. L'interprétation de l'AFD est basée sur l'ensemble des observations, les moyennes des groupes et les valeurs individuelles, après élimination des différences entre les groupes.

Par contre, Les données des analyses des activités biologiques des HE ont été analysées par ANOVA à l'aide du logiciel Minitab 18 (Pennsylvanie, PA, USA) ; toutes les expériences ont été répétées trois fois. Deux facteurs ont été pris en compte pour l'analyse statistique : l'organe et la concentration. Toutes les données sont présentées sous forme de moyenne $\pm$ écart-type(n=3) de nos résultats. Les données ont été examinées par une analyse de variance suivie du test de comparaisons multiples de Turkey. Des comparaisons multiples des valeurs moyennes ont été établies en utilisant l'analyse paramétrique unidirectionnelle de la variance (ANOVA). Le test DUNCAN a été utilisé pour apprécier les différences entre les moyennes à la valeur $p < 0.05$ qui est un critère pour la significativité statistique. La relation entre les différents paramètres a été étudiée en utilisant la corrélation de Pearson.

Partie 2.

Résultats et discussion

Chapitre 3.

**Rendements et composition des huiles
essentielles des trois espèces**

1. Rendements des huiles essentielles

Les extractions par hydrodistillation des différents organes des trois (3) espèces (*Z. leprieurii*, *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum*) montrent des teneurs en HE qui varient selon les organes pour chaque espèce. Le rendement est calculé à partir du rapport de la masse de l'huile essentielle obtenue par la masse du matériel végétal frais. Aussi, ces huiles présentent des colorations variables allant du jaune clair au jaune relativement foncé avec des odeurs souvent caractéristiques.

1.1. *Zanthoxylum leprieurii*

- San-Pedro : les feuilles (0,02 - 0,03% de coloration jaune foncé), les écorces du tronc (0,92%, coloration jaune claire) et les branches (0,05%, coloration jaune claire).
- Adzopé : les feuilles (0,02 - 0,04% de coloration jaune foncé), les écorces du tronc (0,86 – 1,20% de coloration jaune claire) et les fruits (1,13 – 1,51% de coloration jaune claire).

Les rendements en HE de cette espèce dans les 2 localités (Adzopé et San-Pedro) sont presque identiques. Par ailleurs, les rendements en HE des organes de l'espèce *Z. leprieurii* ont déjà été calculés dans plusieurs pays. Cependant, la teneur des feuilles et des tiges semble similaire à celle du Cameroun et du Sénégal. Quant aux autres organes, ils présentent des similarités avec ceux récoltés au Nigéria, Cameroun et au Sénégal (Tchabong et al., 2018 ; Oyedeji et al., 2008 ; Tiné et al., 2020). Ainsi dans le **tableau 3** sont récapitulés les pays puis les rendements en HE des organes.

Tableau 3 : Rendements en HE de *Z. leprieurii* de certains pays (Tchabong et al., 2018 ; Oyedeji et al., 2008 ; Tiné et al., 2020)

Pays	Organes	Rendement (%)
Cameroun	Feuilles	0,025
	Fruits	1,45
Nigéria	Feuilles	0,09
	Écorces	0,05
Sénégal	Feuilles	0,22
	Tiges	0,08
	Racines	0,75
	Fruits	1,64

1.2. *Zanthoxylum mezoneurispinosum*

- Gand-Lahou : les feuilles (0,4 -0,5% coloration jaune claire), les écorces du tronc (0,2% coloration jaune claire) et les racines (0,04%, coloration jaune claire).
- Banco d'Abidjan : uniquement les feuilles avec une teneur de 0,6%.

1.3. *Zanthoxylum psammophilum*

- Sur les îles éhotilée (Adiaké) : les feuilles et les écorces du tronc ont donné des rendements en HE variant de 0,03 à 2,9% respectivement.
- Agboville : les feuilles (0,03 - 0,05%, coloration jaune claire), les écorces du tronc (3,1 – 3,2% de coloration jaune claire) et les racines à 0,02% de coloration jaune claire.

Les deux dernières espèces permettent d'observer des teneurs en HE différentes selon leurs organes. Cependant, les espèces *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum* qui n'ont pas encore fait objet d'étude sur les substances volatiles, présentent un rendement en HE plus important que les autres espèces.

2. Composition chimique des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles de *Z. leprieurii*, *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum* a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG-SM).

2.1. *Zanthoxylum leprieurii*

2.1.1. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles

L'analyse de la composition chimique des échantillons d'HE des feuilles récoltées à San-Pedro (SP) et à Adzopé (AD) a permis d'identifier 28 composés correspondant respectivement à 94,00% et 93,70% de l'ensemble des HE de la composition totale (**tableau 4**).

Tableau 4: Composition de l'huile essentielle des feuilles de *Z. lepreurii* récoltées à San-pédro (SP) et à Adzopé (AD)

N°	Composés	Référence	Identification	IK	F(SP)	F(AD)
1	α -pinène	80-56-8	CPG, SM	929	0,5	0,2
2	myrcène	123-35-3	CPG, SM, RMN	979	0,5	0,2
3	(E)- β -ocimène	13877-91-3	CPG, SM, RMN	1035	0,3	10,7
4	linalool	78-70-6	CPG, SM, RMN	1082	8,1	5,5
5	(E)-4,8-diméthyl- 1,3,7-nonatriene	19945-61-0	CPG, SM	1103	0,3	0,3
6	α -terpinéol	98-55-5	CPG, SM	1172	0,2	0,2
7	néral	106-26-3	CPG, SM, RMN	1212	1,3	0,2
8	géraniol	106-24-1	CPG, SM	1232	0,3	0,1
9	géranial	141-27-5	CPG, SM, RMN	1240	1,8	0,1
10	thymol	89-83-8	CPG, SM	1267	0,3	0,2
11	undécan-2-one	112-12-9	CPG, SM, RMN	1273	10,0	5,0
12	β -élémyène	515-13-9	CPG, SM	1385	1,7	1,7
13	(E)- β -caryophyllène	87-44-5	CPG, SM, RMN	1415	7,8	10,0
14	α -humulène	6753-98-6	CPG, SM, RMN	1447	1,6	2,7
15	(Z,Z)- α -farnésène	28973-99-1	CPG, SM, RMN	1468	0,1	0,1
16	germacrène D	37839-63-7	CPG, SM, RMN	1476	2,6	15,6
17	tridécan-2-one	593-08-8	CPG, SM, RMN	1478	47,5	15,6
18	(E,Z)- α -farnésène	28973-98-0	SM, RMN	1486	0,1	1,2
19	(E,E)- α -farnésène	502-61-4	SM, RMN	1504	0,1	0,8
20	δ -cadinène	483-76-1	CPG, SM, RMN	1,512	0,6	2,2

21	β -élémol	639-99-6	CPG, SM	1531	0,3	0,4
22	nérolidol E	7212-44-4	SM, RMN	1545	0,5	0,8
23	germacrène B	15423-57-1	CPG, SM	1547	0,5	0,8
24	tridec-2-énal-E	7069-41-2	CPG, RMN	1546	0,5	2,3
25	(3E,7E)-4,8,12 triméthyltridéca	459-89-2	SM, RMN	1565	4,4	13,6
26	(2E,6Z)-farnésol	3879-60-5	CPG, SM, RMN	1693	0,2	0,7
27	(2E,6E)-farnésol	106-28-5	CPG, SM, RMN	1699	1,0	1,0
28	phytol E	150-86-7	CPG, SM, RMN	2097	0,9	1,5
Monoterpènes hydrocarbonés (%)					1,3	11,1
Monoterpènes oxygénés (%)					12,0	6,3
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)					15,1	35,1
Sesquiterpènes oxygénés (%)					2,0	2,9
Acycliques non terpéniques (%)					62,7	36,8
Diterpène (%)					0,9	1,5
Total (%)					94,4	93,7

Méthodes d'identification : IK, indices de kovats théoriques (Pubchem et NIST); SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; RMN, résonance magnétique nucléaire ; CPG, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence.

Il y a entre autres les monoterpènes, les sesquiterpènes, les acycliques non terpéniques et les diterpènes. Les monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés sont respectivement de 1,3 à 11,1% et 12,0 à pour San-pédro et 6,3% pour Adzopé. Parmi les sesquiterpènes, les hydrocarbonés sont de 15,1 à 35,1% et les oxygénés (2,0 – 2,9%), le phytol (0,9 -1,5%) est le seul diterpène et les acycliques non terpéniques (62,7 à 36,8%) de ses HE.

En effet, celle de SP a une teneur plus élevée soit 62,7% que celle d'AD qui est de 36,8%. Cependant, les acycliques non terpéniques sont dominés par le tridécane-2-one et l'undécane-2-one. Le premier est le composé majoritaire dans les feuilles. Il présente une valeur plus élevée à SP (47,5%) par rapport à AD (15,6%).

Quant au second (undécane-2-one), la teneur est deux fois plus élevée à SP (10%) qu'à AD (5%).

Malgré, de multiples similitudes, il existe quelques variances dans la composition chimique des deux localités. La composition de San-Pedro est significativement constituée de tridécane-2-one (47,5 %) et en undécane-2-one (10,0 %) de linalol (8,0 %) et de (*E*)- β - caryophyllène (7,8 %). En outre, celle d'Adzopé est dominée par le germacrène D (15,6 %), le tridécane-2-one (15,6 %), le (*3E*, *7E*)-4,8,12-triméthyl tridéca (13,6 %), le (*E*)- β -ocimène (10,7 %), le (*E*)- β -caryophyllène (10,0 %) et une faible quantité d'undécane-2-one (5,0 %).

Néanmoins, des différences de la composition chimique ont été observées avec les profils chimiques dans la littérature. La composition chimique des HE des feuilles ne présente pas de trace de limonène et de germacrène B. Par contre celle décrite au Nigéria est dominée par le limonène (94,9%) et celle décrite au Sénégal par du germacrène B (9,0%) (Tiné *et al.* 2020).

2.1.2. Composition chimique de l'huile essentielle des écorces du tronc

La détermination de la composition chimique de l'huile essentielle des écorces de San-pédro (SP) et Adzopé (AD) permet d'observer 19 composés au total (**tableau 5**), représentant respectivement 91,0% et 96,8% de la composition chimique de chaque échantillon. Parmi ces 19 composés, nous observons des monoterpènes, des sesquiterpènes, des acycliques non terpéniques et des diterpènes. Les monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés sont respectivement de 0,1 à 0,4% et de 0,6 à 5,3%. Parmi les sesquiterpènes, les hydrocarbonés sont de 4,0 à 6,5% et les oxygénés (5,0 – 6,2%), et les acycliques non terpéniques (77,6 à 82,1%) de ses HE.

En effet, celle d'AD présente une teneur plus élevée (82,1%) comparativement à SP (77,6%).

Les acycliques non terpéniques sont dominés par le tridécane-2-one et l'undécane-2-one. Le premier est le composé majoritaire dans les écorces, il présente une valeur plus élevée à SP (77,2%) par rapport à AD (50,1%). Quant au second (undécane-2-one), la teneur est élevée à AD (30,3%) tandis qu'à SP, il est apparu presque à l'état de trace soit 0,2%.

En revanche, il n'existe pas de différence trop marquée. Ainsi, le tridécane-2-one et le undécane-2-one représentent environ 80% à San-Pédro qu'à Adzopé. Les compositions de nos échantillons sont différentes de la littérature. En effet, nos HE

sont dominées par tridécan-2-one et le undécan-2-one alors que, les échantillons des HE du Nigéria sont dominées par le (*E*)-nérolidol (23,0%) et β -phellandrène (12,7%).

Tableau 5: Composition de l'huile essentielle des écorces du tronc de *Z. leprieurii* récoltées à San-pédro (SP) et à Adzopé (AD)

N°	Composés	Référence	Identification	IK	E(SP)	E(AD)
1	β -myrcène	123-35-3	CPG, SM, RMN	979	0,1	0,2
2	(<i>E</i>)- β -ocimène	13877-91-3	CPG, SM, RMN	1035		0,2
3	linalool	78-70-6	CPG, SM, RMN	1082	0,1	3,0
4	(<i>E</i>)-4,8-diméthyl-1,3,7-nonatriène	19945-61-0	CPG, SM	1103		0,2
5	α -terpinéol	98-55-5	CPG, SM	1172		0,1
6	néral	106-26-3	CPG, SM, RMN	1212	0,2	0,9
7	géranial	141-27-5	CPG, SM, RMN	1240	0,3	1,3
8	undécan-2-one	112-12-9	CPG, SM, RMN	1273	0,2	30,3
9	(<i>E</i>)- β -caryophyllène	87-44-5	CPG, SM, RMN	1415	5,6	2,8
10	α -humulène	6753-98-6	CPG, SM, RMN	1447	0,8	0,6
11	germacrène D	37839-63-7	CPG, SM, RMN	1476	0,0	0,0
12	tridécan-2-one	593-08-8	CPG, SM, RMN	1478	77,2	50,1
13	(<i>E,Z</i>)- α -farnésène	28973-98-0	SM, RMN	1486	0,1	0,5
14	δ -cadinène	483-76-1	CPG, SM, RMN	1,512		0,1
15	triméthyltridéca-1,3,7,11-tetraène	62235-06-7	CPG, SM	1565		0,5
16	tridec-2-éнал-E	7069-41-2	CPG, RMN	1546	0,1	0,5
17	(3 <i>E</i> ,7 <i>E</i>)-4,8,12 triméthyltridéca	459-89-2	SM, RMN	1565	0,1	0,5
18	(2 <i>E</i> ,6 <i>E</i>)-farnésol	106-28-5	CPG, SM, RMN	1699	6,2	5,0

19	phytol E	150-86-7	CPG, SM, RMN	2097	tr	tr
Monoterpènes hydrocarbonés (%)					0,1	0,4
Monoterpènes oxygénés (%)					0,6	5,3
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)					6,5	4,0
Sesquiterpènes oxygénés (%)					6,2	5,0
acycliques non terpéniques (%)					77,6	82,1
Diterpène (%)					0,0	0,0
Total					91,0	96 ,8

Méthodes d'identification : IK, indices de kovats théoriques (Pubchem et NIST); SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; RMN, résonance magnétique nucléaire ; CPG, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence.

Nous constatons que les feuilles et les écorces du tronc de *Zanthoxylum leprieurii* renferment des huiles essentielles riches en composés acycliques non terpéniques dominés par le undécan-2-one et le tridécan-2-one.

2.1.3. Composition chimique de l'huile essentielle des tiges de *Z. leprieurii*

L'analyse de l'HE des tiges de *Z. leprieurii* a permis d'identifier 20 composés correspondant à 97,3% de la composition chimique totale (**tableau 6**).

L'huile essentielle des tiges de *Z. leprieurii* est caractérisée par la prédominance des composés non-terpéniques. Le constituant majoritaire non-terpénique est le tridécan-2-one (74,2%) suivie d'un sesquiterpène oxygéné (2*E*,6*E*)-farnésol (9,2%). L'analyse de la composition des tiges est qualitativement proche de celle des écorces du tronc.

Tableau 6: Composition chimique de l'HE des tiges de *Z. leprieurii* de la localité de San pédro

N°	Composés	Référence	Identification	IK	Tige (%)
1	myrcène	80-56-8	CPG, SM, RMN	979	0,1
2	(<i>E</i>)- β -ocimène	13877-91-3	CPG, SM, RMN	1,035	0,9
3	linalool	78-70-6	CPG, SM, RMN	1,082	0,3
4	néral	106-26-3	CPG, SM, RMN	1,212	0,5
5	géranial	141-27-5	CPG, SM, RMN	1,240	1,3
6	thymol	89-83-8	CPG, SM	1,267	0,7
7	undécan-2-one	112-12-9	CPG, SM, RMN	1,273	0,5
8	β -élémente	515-13-9	CPG, SM	1,385	1,4
9	(<i>E</i>)- β -caryophyllène	87-44-5	CPG, SM, RMN	1,415	3,1
10	α -humulène	6753-98-6	CPG, SM, RMN	1,447	1,8
11	germacrène D	37839-63-7	CPG, SM, RMN	1,476	tr
12	tridécan-2-one	593-08-8	CPG, SM, RMN	1,478	74,2
13	(<i>E,Z</i>)- α -farnésène	28973-98-0	CPG, SM	1,486	0,5
14	(<i>E,E</i>)- α -farnésène	502-61-4	CPG, SM	1,504	tr
15	δ -cadinène	483-76-1	CPG, SM, RMN	1,512	0,2
16	β -élémol	639-99-6	CPG, SM	1,531	1,4
17	tridec-2-énal-E	7069-41-2	CPG, SM	1,546	0,1
18	(<i>2E,6Z</i>)-farnésol	459-89-2	CPG, SM, RMN	1,693	0,8
19	(<i>2E,6E</i>)-farnésol	3879-60-5	CPG, SM, RMN	1,699	9,2
20	phytol	150-86-7	CPG, SM, RMN	2097	0,3

Monoterpènes hydrocarbonés (%)	1,0
monoterpenes Oxygenés (%)	2,8
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)	7,1
sesquiterpènes Oxygenés (%)	11,4
Diterpènes (%)	0,3
Non-terpéniques (%)	74,7
Total (%)	97,3

Méthodes d'identification : IK, indices de kovats théoriques (Pubchem et NIST); SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ;RMN, résonance magnétique nucléaire ; CPG, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence.

2.1.4. Étude de l'impact de la période de la récolte sur le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle de *Z. leprieurii*

Cette étude a été faite sur les feuilles, les écorces et les fruits de *Z. leprieurii* sur la même plante et le même site. Les feuilles et les écorces ont été récoltées sur une période de sept (7) mois (en mai, juin, juillet, août, septembre, octobre et novembre 2017) ; et sur une période de cinq (5) mois (juillet, août, septembre, octobre et novembre 2017) pour les fruits. Aussi, auprès de la SODEXAM (Société d'Exploitation et de Développement Aéronautique, Aéroportuaire et Météorologique), les données mensuelles de 2017 relatives à la précipitation, la température, l'insolation et l'humidité relative ont été recueillies (**tableau 7**). En effet, la SODEXAM est la structure qui en charge de la collecte des données climatiques au niveau de la Côte d'Ivoire.

Tableau 7: Données météorologiques enregistrées pendant la période de collecte des organes de *Z. leprieurii*.

Mois	Pluie (mm)	Humidité relative (%)	Insolation (heure)	Température (°C)
Mai	164,5	80	196,3	28,4
Juin	205,7	85	101,6	26,8
Juillet	71,3	84	121	25,8
Août	61,7	84	134	25
Septembre	102,4	81	124,2	25,9
Octobre	310,8	84	180,4	27,1
Novembre	206,4	78	214,4	27,5

Source : SODEXAM (Société d'Exploitation et de Développement Aéronautique, Aéroportuaire et Météorologique).

Les tendances observées pour ces deux variables ainsi que celles de l'humidité relative et de la lumière du jour confirment que les mois de mai, juin, octobre et novembre sont des mois de saison de grandes pluies, tandis que ceux de juillet, août et septembre sont des mois de saison de petites pluies.

Les variations des moyennes mensuelles des hauteurs de pluie enregistrées au cours de la période de récolte révèlent que la pluviométrie la plus basse a été dans le mois d'août (61,7 mm). Le mois d'octobre a enregistré la plus forte pluviométrie (310,8 mm).

Les températures moyennes mensuelles varient entre 25°C et 28,4°C. Les mois de mai, octobre et novembre sont les mois les moins chauds avec une température supérieure à 27°C tandis que les mois de juin, juillet, août et septembre sont les moins chauds avec un maximum de température égal à 26,8°C.

L'insolation qui exprime la durée totale de l'ensoleillement en fonction du temps est en corrélation avec l'évolution de la température et la pluviométrie. Pour cette raison les données moyennes de l'insolation les plus courtes s'observent dans les mois de juin, juillet et septembre qui sont des mois pluvieux. Ces faibles valeurs de l'insolation peuvent être dues à la présence d'une couverture nuageuse très importante durant ces mois.

L'humidité relative moyenne mensuelle de l'air varie entre 78 et 85%.

Ces facteurs montrent l'existence de 2 saisons pluvieuses (une petite saison et une grande saison pluvieuse) qui ont eu un impact sur les rendements des HE des organes. Ainsi, les variations du rendement en HE de *Z. leprieurii* des feuilles, des écorces et des fruits sont représentées sur les Figures ci-dessous.

- **Rendement et Composition chimique en HE des feuilles**
- ✓ **Rendement en HE des feuilles (figure 29)**

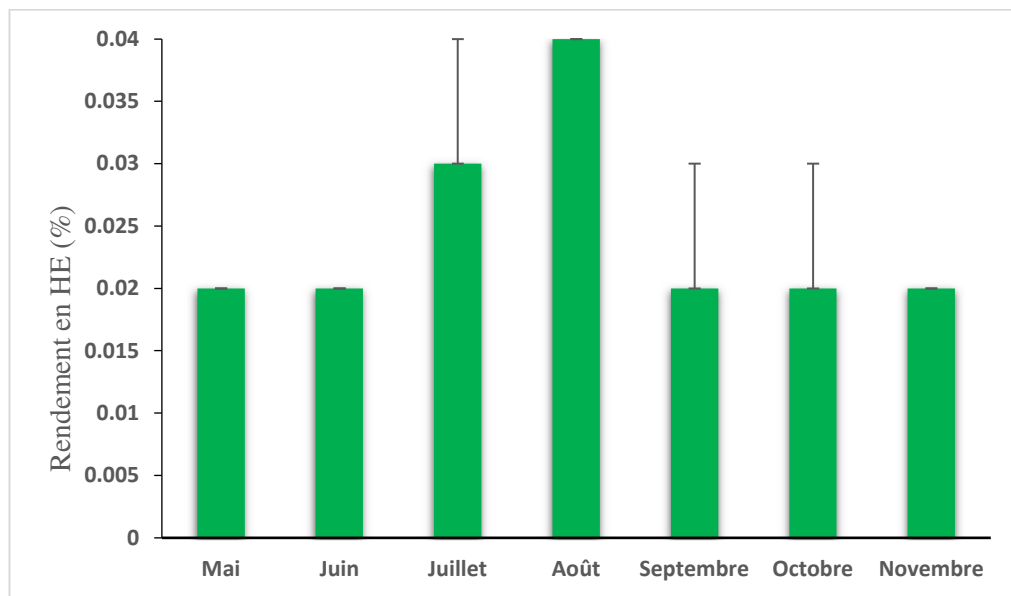


Figure 29 : Rendements en HE des feuilles de *Z. leprieurii* en fonction de la période de récolte.

Selon la figure 29, les résultats obtenus montrent une légère similarité entre les valeurs enregistrées pour les différentes périodes. Cependant, pour les mois de juillet et d'août, les rendements en huile essentielle augmentent de 0,03 à 0,04%, cette augmentation pourrait s'expliquer par la période de la saison sèche et de la floraison.

✓ Composition chimique en HE des feuilles

L'analyse par CPG/SM des HE des feuilles de *Z. leprieurii* a permis l'identification de 42 composés (figure 30) allant de 97,70% à 99,50% de la composition totale (tableau 8).

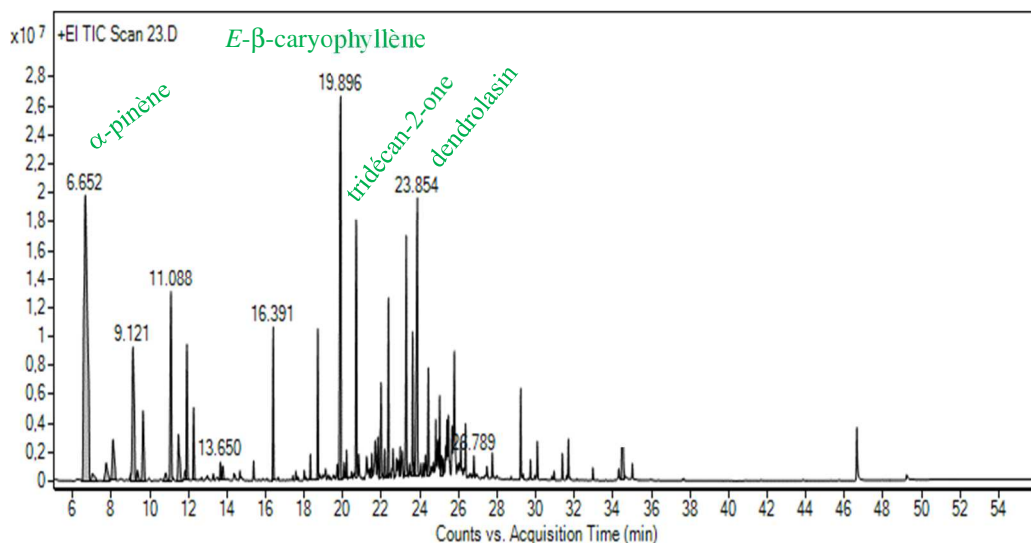


Figure 30 : Profil chromatographique de l'HE des feuilles du mois de septembre de *Z. leprieurii* d'Adzopé

Tableau 8: Variation de la composition chimique de l'HE des feuilles de *Z. lepreurii* d'Adzopé au cours des mois

N°	Composés	Référence	Identification	IK	Mai	Juin	Juillet	Août
1	α -pinène	80-56-8	SM, IR, STD	931	$2,48 \pm 0,13$	$8,45 \pm 0,57$	$0,30 \pm 0,11$	$0,60 \pm 0,35$
2	β -myrcène	123-35-3	SM, IR, STD	987	$0,71 \pm 0,03$	-	$5,20 \pm 0,21$	$0,90 \pm 0,15$
3	p-cymène	25155-15-1	SM, IR, STD	1022	$1,48 \pm 0,03$	-	$0,10 \pm 0,01$	$0,30 \pm 0,03$
4	limonène	138-86-3	SM, IR, STD	1023	-	$0,90 \pm 0,29$	$0,40 \pm 0,28$	-
5	(E)- β -ocimène	13877-91-3	SM, IR, STD	1041	$23,57 \pm 0,47$	$2,60 \pm 0,99$	$3,90 \pm 0,84$	$2,50 \pm 0,04$
6	γ -terpinène	99-85-4	SM, IR, STD	1060	$0,28 \pm 0,03$	-	-	-
7	linalool	78-70-6	SM, IR, STD	1094	$6,44 \pm 0,13$	$0,50 \pm 0,34$	$1,50 \pm 0,55$	$8,50 \pm 0,09$
8	Allo-ocimène	673-84-7	SM, IR	1128	$1,22 \pm 0,04$	$0,40 \pm 0,13$	$0,20 \pm 0,10$	-
9	terpinéol	98-55-5	SM, IR, STD	1190	-	-	$0,20 \pm 0,03$	-
10	décanal	112-31-2	SM, IR, STD	1191	-	-	$1,50 \pm 0,52$	-
11	citronellol	106-22-9	SM, IR, STD	1225	-	-	$2,00 \pm 0,48$	-
12	géraniol	106-24-1	SM, IR, STD	1250	-	-	$1,40 \pm 0,53$	-
13	décyl alcohol	112-30-1	SM, IR, STD	1262	-	-	$1,80 \pm 0,92$	-
14	thymol	89-83-8	SM, IR, STD	1286	-	$2,20 \pm 0,96$	$3,10 \pm 0,43$	$13,30 \pm 0,31$
15	undécan-2-one	112-12-9	SM, IR, STD	1288	$8,51 \pm 0,35$	$1,90 \pm 0,50$	$1,20 \pm 0,03$	$8,40 \pm 0,12$
16	undécan-2-ol	1653-30-1	SM, IR, STD	1298	-	-	$0,20 \pm 0,04$	$0,40 \pm 0,04$
17	nérate de méthyl	1862-61-9	SM, IR, STD	1319	-	-	$2,20 \pm 0,74$	-
18	δ -élémente	20307-84-0	SM, IR	1334	-	$1,20 \pm 0,69$	$0,20 \pm 0,00$	-
19	α -copaène	3856-25-5	SM, IR, STD	1376	-	$0,60 \pm 0,23$	$0,30 \pm 0,08$	-

Suite des mois des composés							
N°	Composés	Référence	Identification	IK	Septembre	Octobre	Novembre
1	α -pinène	80-56-8	SM, IR, STD	931	$0,70 \pm 0,15$	$0,50 \pm 0,27$	$0,30 \pm 0,17$
2	β -myrcène	123-35-3	SM, IR, STD	987	$3,40 \pm 0,37$	$0,4 \pm 0,31$	$0,70 \pm 0,09$
3	p-cymène	25155-15-1	SM, IR, STD	1022	-	$0,40 \pm 0,57$	-
4	limonène	138-86-3	SM, IR, STD	1023	-	-	-
5	(E)- β -ocimène	13877-91-3	SM, IR, STD	1041	$1,30 \pm 0,50$	$2,30 \pm 1,91$	-
6	γ -terpinène	99-85-4	SM, IR, STD	1060	-	-	-
7	linalool	78-70-6	SM, IR, STD	1094	$1,70 \pm 0,23$	$4,30 \pm 0,95$	$3,20 \pm 0,09$
8	Allo-ocimène	673-84-7	SM, IR	1128	-	-	-
9	terpinéol	98-55-5	SM, IR, STD	1190	-	-	-
10	décanal	112-31-2	SM, IR, STD	1191	-	-	-
11	citronellol	106-22-9	SM, IR, STD	1225	$1,50 \pm 0,27$	-	$0,30 \pm 0,02$
12	géraniol	106-24-1	SM, IR, STD	1250	$1,00 \pm 0,74$	-	-
13	décyl alcohol	112-30-1	SM, IR, STD	1262	-	-	-
14	thymol	89-83-8	SM, IR, STD	1286	$4,10 \pm 0,22$	-	-
15	undécan-2-one	112-12-9	SM, IR, STD	1288	$2,70 \pm 0,56$	$3,20 \pm 1,06$	$2,10 \pm 0,98$
16	undécan-2-ol	1653-30-1	SM, IR, STD	1298	-	-	-
17	nérate de méthyl	1862-61-9	SM, IR, STD	1319	$0,80 \pm 0,44$	-	-
18	δ -élémane	20307-84-0	SM, IR	1334	-	-	-
19	α -copaène	3856-25-5	SM, IR, STD	1376	$0,60 \pm 0,11$	$0,20 \pm 0,07$	$0,40 \pm 0,04$

Suite des composés								
N°	Composés	Référence	Identification	IK	Mai	Juin	Juillet	Août
20	β-élémane	515-13-9	SM, IR	1388	3,92 ± 0,06	-	2,70 ± 0,83	4,20 ± 0,07
21	(E)-β-caryophyllène	87-44-5	SM, IR, STD	1419	13,51 ± 0,11	18,90 ± 0,48	15,60 ± 0,54	13,70 ± 0,1
22	cadina-4(14),5-diène	54324-03-7	SM, IR	1430	1,83 ± 0,02	0,90 ± 0,26	0,70 ± 0,16	0,30 ± 0,02
23	γ-élémane	08/08/3242	SM, IR	1432	1,19 ± 0,01	4,40 ± 0,45	1,10 ± 0,21	1,10 ± 0,04
24	α-humulène	6753-98-6	SM, IR, STD	1456	3,92 ± 0,02	6,70 ± 0,62	4,50 ± 0,98	3,60 ± 0,04
25	alloaromadendrène	25246-27-9	SM, IR	1457	-	0,50 ± 0,21	0,30 ± 0,06	-
26	germacrène D	23986-74-5	SM, IR, STD	1482	1,96 ± 0,17	0,90 ± 0,50	0,40 ± 0,10	-
27	β-ionone	14901-07-6	SM, IR, STD	1482	-	-	0,40 ± 0,12	-
28	β-selinène	17066-67-0	SM, IR	1483	0,32 ± 0,01	1,10 ± 0,13	0,70 ± 0,14	0,80 ± 0,01
29	tridécan-2-one	593-08-8	SM, IR, STD	1487	18,74 ± 0,57	9,00 ± 0,02	22,50 ± 0,98	30,20 ± 0,39
30	selina-4(14),7(11)-diène	515-17-3	SM, IR	1495	-	1,30 ± 0,31	0,80 ± 0,15	1,50 ± 0,90
31	tridécan-2-ol	1653-31-2	SM, IR, STD	1495	-	2,00 ± 0,82	1,70 ± 1,17	-
32	(3E,6E)-α-farnésène	502-61-4	SM, IR	1499	3,22 ± 0,29	0,60 ± 0,21	1,20 ± 0,34	0,90 ± 0,07
33	γ-cadinène	39029-4-9	SM, IR	1513	0,42 ± 0,06	1,10 ± 0,36	0,60 ± 0,08	0,20 ± 0,04
34	δ-cadinène	483-76-1	SM, IR	1524	2,25 ± 0,09	4,20 ± 1,01	2,20 ± 0,09	1,00 ± 0,02
35	élémol	639-99-6	SM, IR, STD	1547	0,28 ± 0,02	0,60 ± 0,22	0,20 ± 0,01	0,30 ± 0,01
36	nérolidol	7212-44-4	SM, IR, STD	1557	-	1,50 ± 0,30	1,10 ± 0,39	1,00 ± 0,03
37	dendrolasin	23262-34-2	SM, IR	1576	1,79 ± 0,08	8,60 ± 0,95	9,40 ± 0,90	4,00 ± 0,06
38	spathuléol	6750-60-3	SM, IR	1578	-	1,50 ± 0,46	1,10 ± 0,03	-
39	Oxyde de caryophyllène	1139-30-6	SM, IR, STD	1583	-	6,00 ± 0,83	5,70 ± 0,79	-
40	t-cadinol	01/11/5937	SM, IR	1639	-	1,10 ± 0,08	0,60 ± 0,03	-
41	α-cadinol	481-34-5	SM, IR	1650	0,28 ± 0,03	1,30 ± 0,11	0,70 ± 0,01	-

42	pentadécanal	09/11/2765	SM, IR	1713	-	2,10 ± 0,28	-	-
----	--------------	------------	--------	------	---	-------------	---	---

Suite des mois des composés

N°	Composés	Référence	Identification	IK	Septembre	Octobre	Novembre
20	β-élémane	515-13-9	SM, IR	1388	5,90 ± 0,26	2,30 ± 0,10	2,90 ± 0,20
21	(E)-β-caryophyllène	87-44-5	SM, IR, STD	1419	19,85 ± 0,82	7,00 ± 1,02	8,60 ± 0,62
22	cadina-4(14),5-diène	54324-03-7	SM, IR	1430	2,40 ± 0,81	1,70 ± 0,26	1,50 ± 0,19
23	γ-élémane	08/08/3242	SM, IR	1432	3,10 ± 0,06	0,8 ± 0,12	1,10 ± 0,01
24	α-humulène	6753-98-6	SM, IR, STD	1456	6,10 ± 0,27	4,10 ± 0,58	4,20 ± 0,32
25	alloaromadendrène	25246-27-9	SM, IR	1457	0,50 ± 0,11	0,40 ± 0,06	0,20 ± 0,01
26	germacrène D	23986-74-5	SM, IR, STD	1482	1,60 ± 0,40	1,40 ± 0,21	1,00 ± 0,14
27	β-ionone	14901-07-6	SM, IR, STD	1482	-	-	0,20 ± 0,05
28	β-selinène	17066-67-0	SM, IR	1483	1,60 ± 0,30	0,20 ± 0,21	0,50 ± 0,05
29	tridécan-2-one	593-08-8	SM, IR, STD	1487	15,80 ± 0,84	36,80 ± 0,06	33,70 ± 0,36
30	selina-4(14),7(11)-diène	515-17-3	SM, IR	1495	2,90 ± 0,86	-	-
31	tridécan-2-ol	1653-31-2	SM, IR, STD	1495	2,30 ± 0,29	2,40 ± 0,80	3,20 ± 0,33
32	(3E,6E)-α-farnésène	502-61-4	SM, IR	1499	2,50 ± 0,97	9,10 ± 0,82	4,60 ± 0,55
33	γ-cadinène	39029-4-9	SM, IR	1513	1,00 ± 0,21	1,20 ± 0,26	1,30 ± 0,02
34	δ-cadinène	483-76-1	SM, IR	1524	4,30 ± 0,13	3,40 ± 0,49	4,30 ± 0,33
35	élémol	639-99-6	SM, IR, STD	1547	0,30 ± 0,05	0,40 ± 0,03	1,20 ± 0,09
36	nérolidol	7212-44-4	SM, IR, STD	1557	1,60 ± 0,49	4,80 ± 0,22	3,40 ± 0,32
37	dendrolasin	23262-34-2	SM, IR	1576	7,60 ± 0,09	10,60 ± 0,44	16,40 ± 0,85
38	spathulénol	6750-60-3	SM, IR	1578	-	-	0,40 ± 0,00
39	Oxyde de caryophyllène	1139-30-6	SM, IR, STD	1583	-	-	-
40	τ-cadinol	01/11/5937	SM, IR	1639	0,70 ± 0,21	0,60 ± 0,15	0,80 ± 0,04

41	α -cadinol	481-34-5	SM, IR	1650	1,10 $\pm$ 0,44	0,80 $\pm$ 0,23	0,90 $\pm$ 0,09	
42	pentadécanal	09/11/2765	SM, IR	1713	-	-	1,60 $\pm$ 0,79	
		Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre
Monoterpènes hydrocarbonés (%)		29,74	12,85	10,10	4,30	5,40	3,60	1,00
Monoterpènes Oxygenés (%)		6,44	2,70	11,50	21,80	8,20	4,30	3,50
Sesquiterpene hydrocarbonés (%)		32,54	48,10	30,90	27,30	52,35	31,80	30,60
Sesquiterpenes Oxygenés (%)		2,35	22,70	18,10	5,30	12,10	17,20	25,40
Non-terpeniques (%)		27,25	13,10	28,90	39,00	20,80	42,40	38,50
Total (%)		98,32	99,45	99,50	97,70	98,85	99,30	99,00

Méthodes d'identification : IK, indices de kovats théoriques (Pubchem et NIST) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence ; -, Sous le seuil de perception.

Les composés non-terpéniques représentant entre 13,10 à 42,40% de la composition chimique totale des HE de *Z. leprieurii* sont le undécan-2-one (1,9 à 8,51%) et le tridécan-2-one (9,0 à 36,8%). Ce dernier est le plus dominant de cette famille de composés.

Les sesquiterpéniques représentent 16,30 à 35,40% de la composition chimique totale des HE de *Z. leprieurii* : le (*E*)- β -caryophyllène avec une teneur de (7,0 à 19,85%), le dendrolasin avec une teneur de (1,79 à 16,40%), le β -élémane avec une teneur de (2,30 à 5,90%), α -humulène avec une teneur de (3,92 à 6,10%) et le (3*E*,6*E*)- α -farnésène avec une teneur de (0,60 à 9,10%) sont les principaux composés majoritaires.

Les monoterpènes représentent 2,25 à 18,09% de la composition chimique totale des HE de *Z. leprieurii* : le (*E*)- β -ocimène (2,30 à 23,57%), le linalool (0,50 à 8 50%) et le thymol (2,20 à 13,30%) sont les constituants majoritaires. La **figure 31** présente la moyenne des différents composés dans les HE des feuilles de *Z. leprieurii* durant les mois de la récolte.

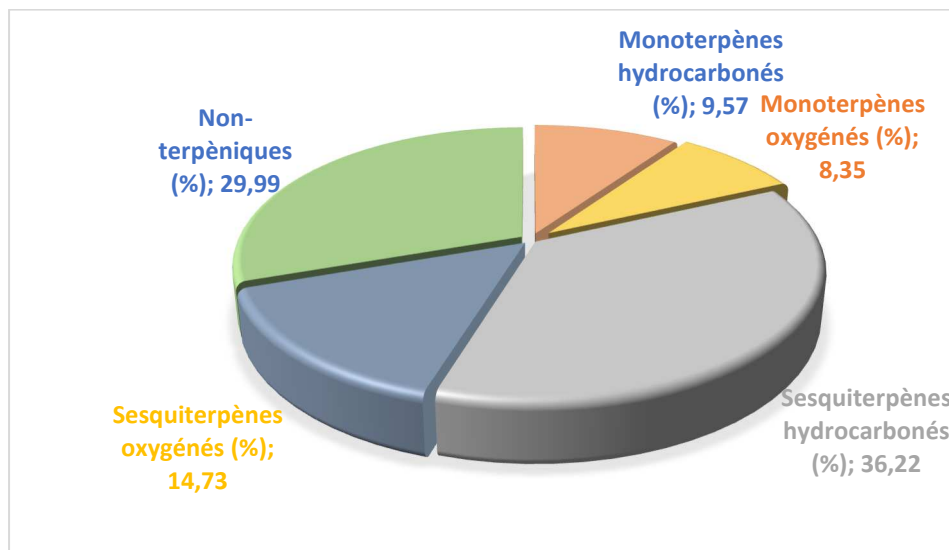


Figure 31 : Proportion des différentes familles de composés extraites des HE dans des feuilles

Cependant, il faut noter que les compositions chimiques ne sont pas constantes au cours de la période de récolte parce que certains composés comme l'oxyde de caryophyllène, qui représente 5,7 à 6 % de la composition totale des huiles de juin à juillet, n'ont été trouvés qu'à l'état de traces au cours des autres mois. C'est également le cas du (*E*)- β -ocimène (**figure 32**), dont la teneur est inférieure à 4 % de juin à novembre, alors qu'en mai, elle est de 23,57 %. Quant au tridécan-2-one, qui apparaît dans cette composition des feuilles comme dominant est en baisse au cours des mois

de juin et de septembre. Cette baisse pourrait s'expliquer par la floraison et la pluie en cette période. Pendant cette période une hausse du (*E*)- β -caryophyllène est observée.

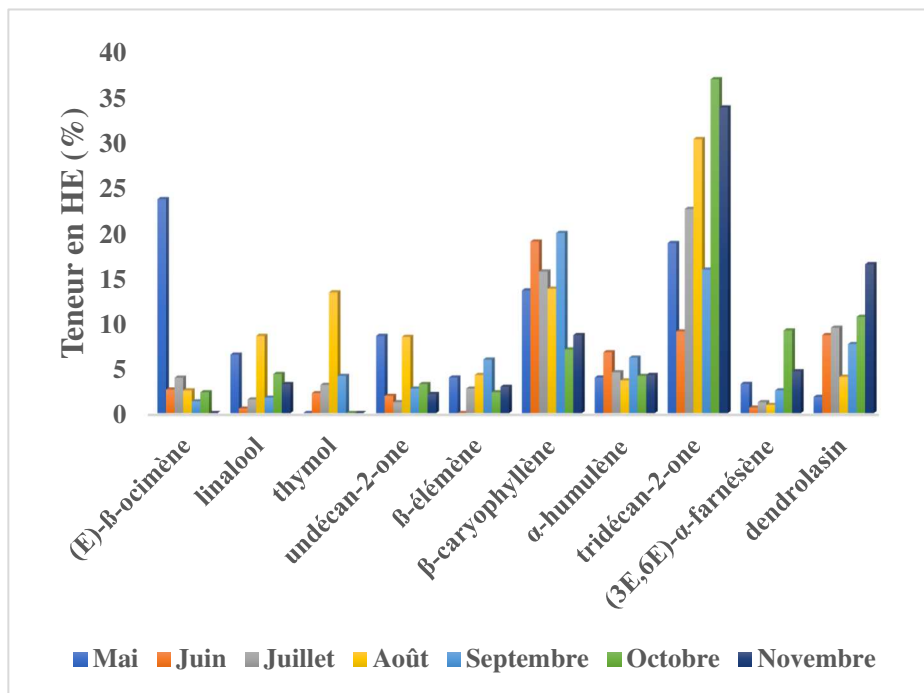


Figure 32 : Comparaison des composés chimiques majoritaires de l'HE des feuilles de *Z. leprieurii* suivant les mois

Selon l'évolution des composants majeurs de chaque variable identifiée, il ressort que les compositions chimiques des HE précédemment décrites dans deux sites différents présentent quelques différences. Cette détermination permet de dire que les HE des feuilles de *Z. leprieurii* présentent des variables différentes.

Ainsi, à travers cet effet, nous voyons clairement que le germacrène D a disparu et constatons l'apparition d'un nouveau composé : le dendrolasin dont la teneur augmente au cours des mois. L'étude biologique sur le dendrolasin a montré que celui-ci possède des propriétés antimicrobiennes et antibactériennes et est également utilisé dans le traitement du cancer (Azzaz et al., 2014 ; Choucry M. A. 2017. Azizan et al., 2017). Aussi, les compositions décrites dans la littérature évoquée plus haut viennent confirmer que les facteurs environnementaux ou génétiques ont un impact sur la composition des HE. Par ailleurs, notons que ces différents constituants révélés dans ces HE sont déjà connus pour leurs activités biologiques bénéfiques, telles que les propriétés insecticides (tridécan-2-one et undécane-2-one), aussi le (*E*)- β -caryophyllène dont les activités antioxydantes et anti-inflammatoires ont été prouvées (Dahham et al., 2015).

- **Rendement et Composition chimique en HE des écorces**
- ✓ **Rendement en HE des écorces (figure 33)**

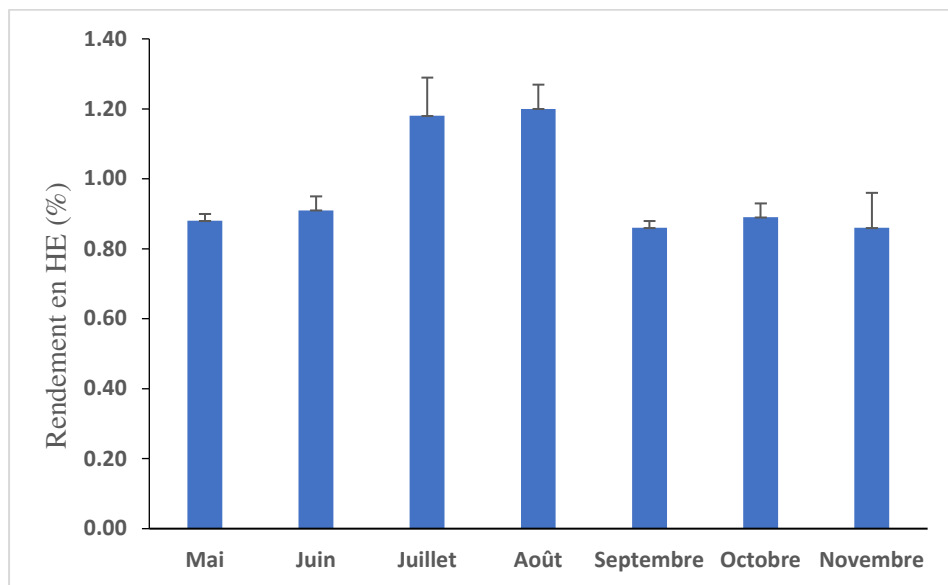


Figure 33 : Rendements en HE des écorces de *Z. leprieurii* en fonction de la période de récolte.

Concernant les écorces, nous observons presque une constance (0,86 à 0,89%) dans le rendement ; sauf quelques mois (juin, juillet et août) qui ont un rendement élevé (0,91 à 1,20%). Cela s'explique du fait de la floraison et de la faible quantité de pluie.

- ✓ **Composition chimique en HE des écorces**

L'analyse de la composition chimique des HE des écorces de *Z. leprieurii* a permis d'identifier 29 composés (**figure 34**) correspondant de 98,30 à 99,40% des aires cumulées de l'ensemble des constituants de l'HE (**tableau 9**).

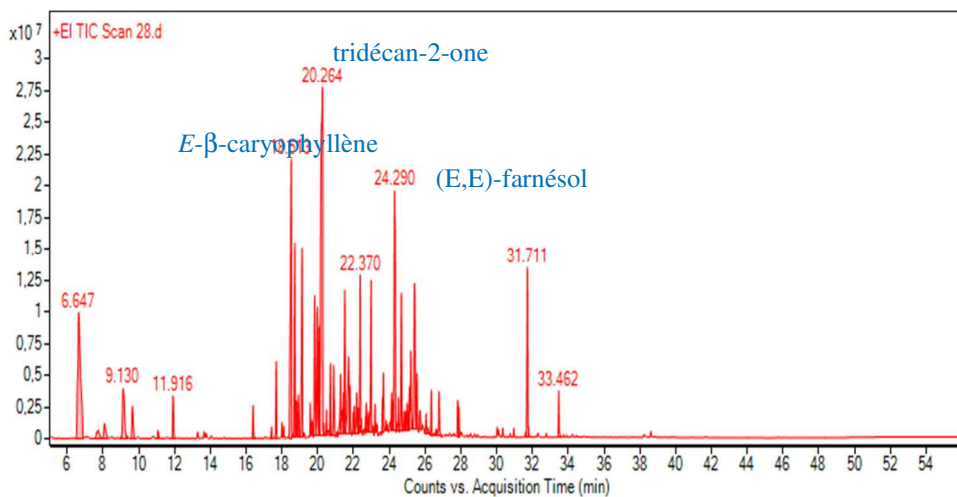


Figure 34 : Profil chromatographique de l'HE des écorces du tronc du mois de mai de *Z. lepreurii*

Tableau 9: Variation de la composition chimique de l'HE des écorces de tronc de *Z. leprieurii* d'Adzopé au cours des mois

N°	Composés	Référence	Identification	IK	Mai	Juin	Juillet	Août
1	α -pinène	80-56-8	SM, IR, STD	931	0,52 $\pm$ 0,03	-	-	-
2	β -myrcène	123-35-3	SM, IR, STD	987	-	-	-	-
3	citronellal	106-23-0	SM, IR, STD	1153	-	-	-	-
4	citronellol	106-22-9	SM, IR, STD	1225	-	-	-	-
5	géraniol	106-24-1	SM, IR, STD	1250	-	-	-	-
6	thymol	89-83-8	SM, IR, STD	1286	-	5,10 $\pm$ 0,36	0,50 $\pm$ 0,08	-
7	β -élémane	515-13-9	SM, IR	1388	-	0,60 $\pm$ 0,15	-	-
8	α -bergamotène	17699-05-7	SM, IR	1415	4,43 $\pm$ 0,10	0,50 $\pm$ 0,27	3,20 $\pm$ 0,69	1,60 $\pm$ 1,12
9	(<i>E</i>)- β -caryophyllène	87-44-5	SM, IR, STD	1419	9,51 $\pm$ 0,37	13,20 $\pm$ 0,33	8,50 $\pm$ 0,35	2,10 $\pm$ 0,13
10	γ -élémane	3242-08-8	SM, IR	1432	-	0,60 $\pm$ 0,21	0,10 $\pm$ 0,01	-
11	géranylacétone	3796-70-1	SM, IR	1455	-	1,10 $\pm$ 0,51	0,50 $\pm$ 0,19	-
12	α -humulène	6753-98-6	SM, IR, STD	1456	12,73 $\pm$ 1,41	4,30 $\pm$ 1,09	7,70 $\pm$ 0,62	6,20 $\pm$ 0,94
13	α -curcumène	644-30-4	SM, IR	1482	0,83 $\pm$ 0,18	-	0,70 $\pm$ 0,10	0,30 $\pm$ 0,11
14	β -sélénène	17066-67-0	SM, IR	1483	-	0,30 $\pm$ 0,14	0,10 $\pm$ 0,01	-
15	tridécan-2-one	593-08-8	SM, IR, STD	1487	45,26 $\pm$ 0,96	56,30 $\pm$ 0,31	51,4 $\pm$ 1,15	78,80 $\pm$ 0,55
16	tridécan-2-ol	1653-31-2	SM, IR, STD	1495	2,23 $\pm$ 0,17	10,10 $\pm$ 0,61	6,25 $\pm$ 0,17	4,30 $\pm$ 1,43
17	(3 <i>E</i> ,6 <i>E</i>)- α -farnésène	502-61-4	SM, IR	1503	3,07 $\pm$ 0,28	1,20 $\pm$ 0,03	1,70 $\pm$ 0,04	2,70 $\pm$ 0,12
18	β -bisabolène	495-61-4	SM, IR	1505	1,30 $\pm$ 0,05	-	1,20 $\pm$ 0,24	0,60 $\pm$ 0,37
19	γ -cadinène	39029-4-9	SM, IR	1513	-	-	0,20 $\pm$ 0,02	-

Suite des mois des composés							
N°	Composés	Référence	Identification	IK	Septembre	Octobre	Novembre
1	α -pinène	80-56-8	SM, IR, STD	931	-	-	-
2	β -myrcène	123-35-3	SM, IR, STD	987	$1,00 \pm 0,14$	-	-
3	citronellal	25155-15-1	SM, IR, STD	1022	$1,50 \pm 0,08$	-	-
4	citronellol	138-86-3	SM, IR, STD	1023	$1,60 \pm 0,08$	-	-
5	géraniol	13877-91-3	SM, IR, STD	1041	$1,50 \pm 0,14$	-	-
6	thymol	99-85-4	SM, IR, STD	1060	$1,30 \pm 0,05$	-	$4,10 \pm 0,50$
7	β -élémane	78-70-6	SM, IR, STD	1094	$1,30 \pm 0,03$	-	-
8	α -bergamotène	673-84-7	SM, IR	1128	$0,70 \pm 0,01$	$1,50 \pm 0,56$	$4,80 \pm 0,60$
9	(<i>E</i>)- β -caryophyllène	98-55-5	SM, IR, STD	1190	$8,10 \pm 0,08$	$4,10 \pm 0,79$	$1,80 \pm 0,23$
10	γ -élémane	112-31-2	SM, IR, STD	1191	-	-	-
11	géranylacétone	106-22-9	SM, IR, STD	1225	$0,40 \pm 0,02$	$0,30 \pm 0,06$	-
12	α -humulène	106-24-1	SM, IR, STD	1250	$7,40 \pm 0,11$	$8,10 \pm 1,01$	$6,30 \pm 0,03$
13	α -curcumène	112-30-1	SM, IR, STD	1262	-	$0,40 \pm 0,13$	$1,30 \pm 0,08$
14	β -sélinène	89-83-8	SM, IR, STD	1286	$0,30 \pm 0,01$	-	$0,25 \pm 0,33$
15	tridécan-2-one	112-12-9	SM, IR, STD	1288	$54,40 \pm 0,56$	$70,2 \pm 0,95$	$71,36 \pm 0,70$
16	tridécan-2-ol	1653-30-1	SM, IR, STD	1298	$5,70 \pm 0,20$	$6,40 \pm 0,04$	$4,20 \pm 0,40$
17	(<i>3E,6E</i>)- α -farnésène	1862-61-9	SM, IR, STD	1319	$2,50 \pm 0,09$	$2,30 \pm 0,21$	$1,70 \pm 0,03$
18	β -bisabolène	20307-84-0	SM, IR	1334	-	$0,50 \pm 0,06$	$1,37 \pm 0,20$
19	γ -cadinène	3856-25-5	SM, IR, STD	1376	$0,60 \pm 0,08$	-	$0,2 \pm 0,08$

Suite des composés								
N°	Composés	Référence	Identification	IK	Mai	Juin	Juillet	Août
20	δ-cadinène	483-76-1	SM, IR	1524	-	0,20 ± 0,04	0,30 ± 0,04	0,10 ± 0,03
21	élémol	639-99-6	SM, IR, STD	1547	-	0,30 ± 0,15	-	-
22	nérolidol	7212-44-4	SM, IR, STD	1557	3,13 ± 0,27	0,40 ± 0,16	1,80 ± 0,63	0,40 ± 0,11
23	oxyde de caryophyllène	1139-30-6	SM, IR, STD	1583	-	0,20 ± 0,11	0,30 ± 0,00	-
24	τ-cadinol	5937-11-1	SM, IR	1639	-	-	-	-
25	α-cadinol	481-34-5	SM, IR	1650	-	-	-	-
26	pentadécan-2-one	2345-28-0	SM, IR, STD	1696	0,48 ± 0,02	0,50 ± 0,23	0,70 ± 0,02	-
27	(E,E)-farnesol	106-28-5	SM, IR	1722	12,5 ± 0,85	3,00 ± 0,96	11,1 ± 0,15	1,40 ± 0,90
28	farnesal	19317-11-4	SM, IR	1738	1,36 ± 0,02	0,40 ± 0,15	1,20 ± 0,05	-
29	méthyl farnesoate	3675-00-1	SM, IR	1779	1,90 ± 0,10	1,00 ± 0,35	1,60 ± 0,17	-

Suite des mois des composés									
N°	Composés	Référence	Identification		IK	Septembre	Octobre	Novembre	
20	δ-cadinène	483-76-1	SM, IR		1524	1,20 ± 0,05	-	0,38 ± 0,23	
21	élémol	639-99-6	SM, IR, STD		1547	2,90 ± 0,07	-	0,31 ± 0,30	
22	nérolidol	7212-44-4	SM, IR, STD		1557	0,70 ± 0,03	1,20 ± 0,35	0,60 ± 0,03	
23	oxyde de caryophyllène	1139-30-6	SM, IR, STD		1583	-	-	-	
24	τ-cadinol	5937-11-1	SM, IR		1639	0,30 ± 0,02	-	-	
25	α-cadinol	481-34-5	SM, IR		1650	0,50 ± 0,03	-	-	
26	pentadécan-2-one	2345-28-0	SM, IR, STD		1696	-	-	-	
27	(E,E)-farnesol	106-28-5	SM, IR		1722	2,20 ± 0,45	1,90 ± 0,28	-	
28	farnesal	19317-11-4	SM, IR		1738	0,30 ± 0,07	0,20 ± 0,04	-	
29	méthyl farnesoate	3675-00-1	SM, IR		1779	0,90 ± 0,08	0,70 ± 0,14	-	
			Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre
Monoterpènes hydrocarbonés (%)			0,52	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
Monoterpènes oxygénés (%)			0,00	5,30	0,50	0,00	5,90	0,00	4,10
Sesquiterpène hydrocarbonés (%)			31,87	21,80	24,20	13,60	22,20	16,90	18,20
Sesquiterpènes oxygénés (%)			19,37	5,80	16,70	1,80	8,20	4,30	1,10
Non-terpéniques (%)			47,46	66,40	57,65	83,10	62,10	77,10	75,60
Total (%)			99,22	99,30	99,05	98,50	99,40	98,30	99,00

Méthodes d'identification : IK, indices de Kovats théoriques (Pubchem et NIST) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence ; -, Sous le seuil de perception.

Cette HE, est principalement riche en composés non terpéniques (**figure 35**), qui présente une dominance en tridécan-2-one (45,26 à 78,80 %). Cependant, (*E*)- β -caryophyllène (8,1 % à 13,20 %), α -humulène (4,3 à 12,73 %) et le tridécan-2-ol (2,23 à 10,10%) sont présents en teneur non négligeable. Aussi, l'(*E,E*)-farnésol est présent dans les mois de mai et juillet avec une teneur non négligeable de 12,5 % et 11,1 % respectivement.

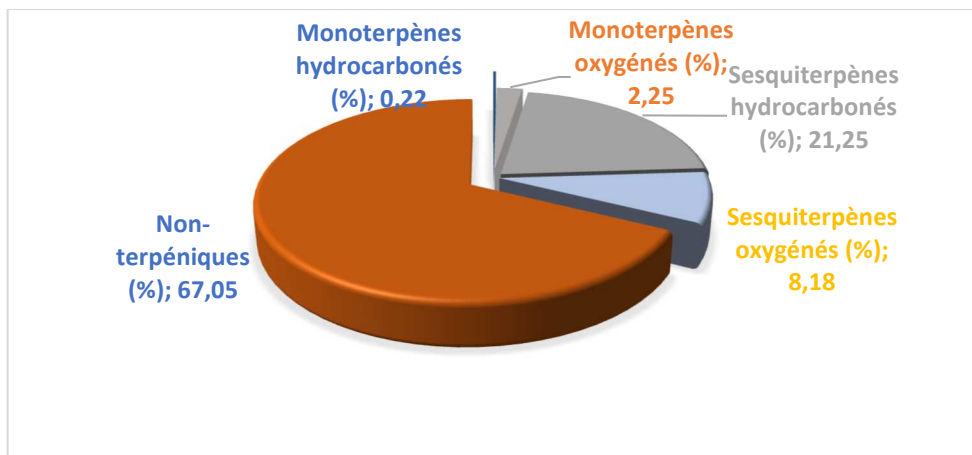


Figure 35 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des écorces

En somme, il faut noter que les HE des écorces sont majoritairement riches en composés non terpéniques (tridécan-2-one), suivies des sesquiterpènes (*E*)- β -caryophyllène, α -humulène et (*E,E*)-farnésol). Tandis que les monoterpènes qui sont à l'état de traces (**figure 36**).

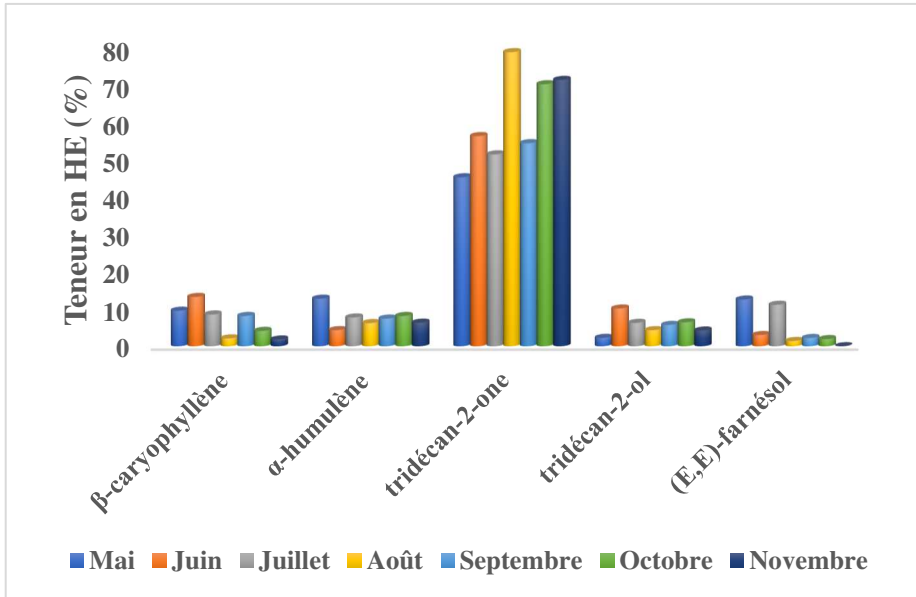


Figure 36 : Comparaison des composés chimiques majoritaires de l'HE des écorces de *Z. lepreurii* suivant les mois

En comparant cette composition à celle qui nous a permis de réaliser la composition de la variabilité, nous remarquons qu'il y a des différences. Ces différences peuvent être dues à la saison de récolte et aux sites de récolte. De plus, les compositions décrites sont différentes de celles décrites au Nigéria, où l'oxyde de caryophyllène (23,00%) et l'humulénol (17,50%) étaient les principaux composants de l'huile essentielle d'écorce de tronc ; ce qui permet d'observer que la composition de l'huile essentielle dépend largement des facteurs intrinsèques et extrinsèques.

- **Rendement et Composition chimique en HE des fruits**
 - ✓ **Rendement en HE fruits (figure 37)**

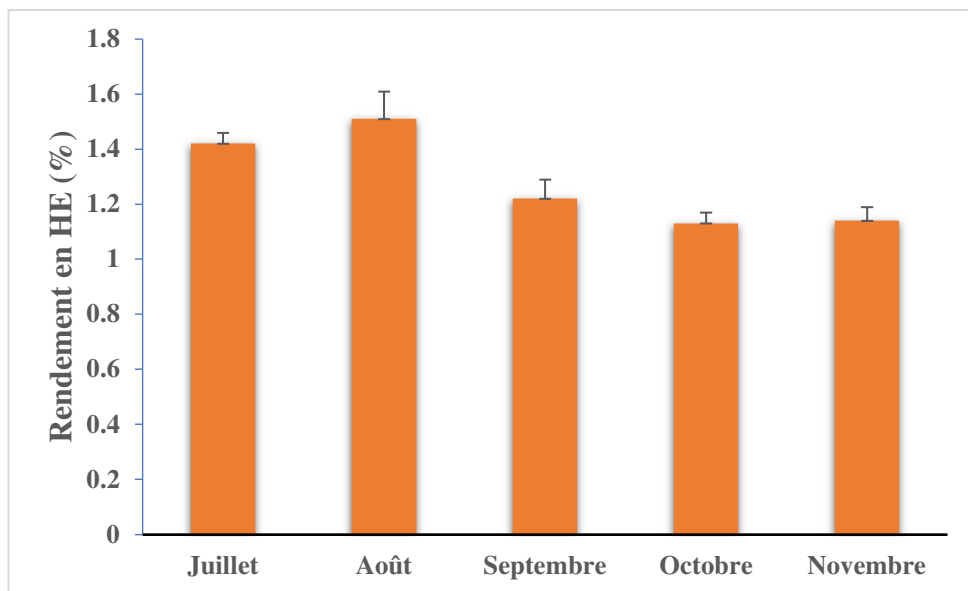


Figure 37 : Rendements en HE des fruits de *Z. leprieurii* en fonction de la période de récolte.

Le rendement en HE des fruits varie de 1,13 à 1,51%, le plus faible rendement (1,13%) est observé au mois d'Octobre, tandis que le plus élevé (1,51%) est enregistré au mois d'août.

L'analyse de l'HE hydrodistillée à partir des fruits de *Z. leprieurii* par CPG/SM a permis d'identifier 43 constituants (**figure 38**) représentant 98,27 à 99,30% du total de la composition chimique (**tableau 10**).

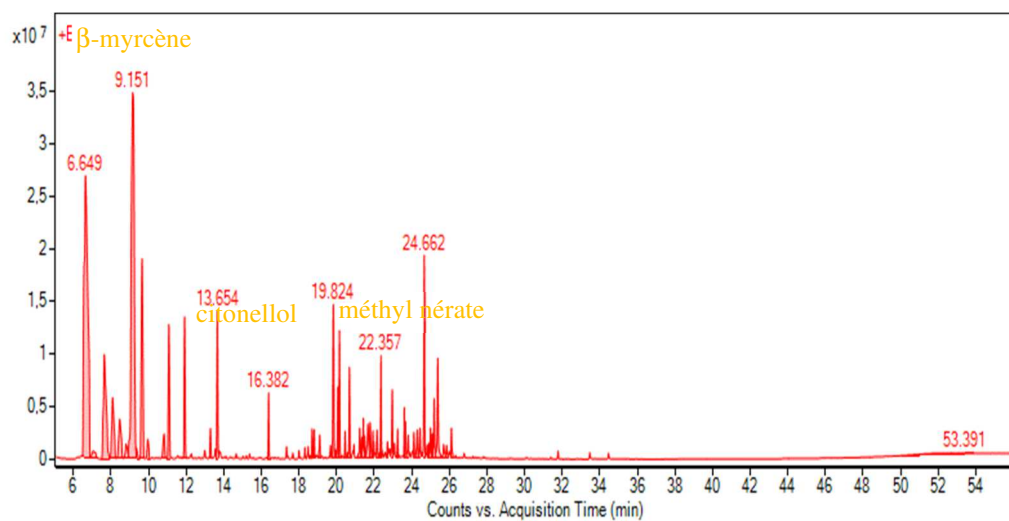


Figure 38 : Profil chromatographique de l'HE des fruits du mois de juillet de *Z. lepreurii*

Tableau 10 : Variation de la composition chimique de l'HE des fruits de *Z. leprieurii* d'Adzopé au cours des mois

N°	Composés	Référence	Identification	IK	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre
1	α -pinène	80-56-8	SM, IR, STD	931	2,30 $\pm$ 0,90	0,90 $\pm$ 0,12	0,80 $\pm$ 0,04	1,90 $\pm$ 0,66	0,60 $\pm$ 0,13
2	β -myrcène	123-35-3	SM, IR, STD	987	16,40 $\pm$ 0,91	44,80 $\pm$ 0,13	46,30 $\pm$ 0,10	48,27 $\pm$ 0,26	24,7 $\pm$ 0,97
3	α -terpinène	99-86-5	SM, IR, STD	1008	-	-	-	-	0,30 $\pm$ 0,06
4	p-cymène	25155-15-1	SM, IR, STD	1022	0,20 $\pm$ 0,08	0,70 $\pm$ 0,09	0,40 $\pm$ 0,04	0,30 $\pm$ 0,05	0,80 $\pm$ 0,04
5	limonène	138-86-3	SM, IR, STD	1023	1,10 $\pm$ 0,21	2,60 $\pm$ 0,29	2,00 $\pm$ 0,07	2,20 $\pm$ 0,16	6,00 $\pm$ 0,42
6	β -ocimène	13877-91-3	SM, IR, STD	1041	8,30 $\pm$ 0,29	2,00 $\pm$ 0,12	1,50 $\pm$ 0,08	1,50 $\pm$ 0,06	2,0 $\pm$ 0,15
7	γ -terpinène	99-85-4	SM, IR, STD	1060	-	-	-	-	0,20 $\pm$ 0,01
8	linalool	78-70-6	SM, IR, STD	1094	-	2,50 $\pm$ 0,27	3,40 $\pm$ 0,12	2,10 $\pm$ 0,10	4,20 $\pm$ 0,60
9	périllène	539-52-6	SM, IR, STD	1094	6,50 $\pm$ 0,12	-	-	-	-
10	allo-ocimène	673-84-7	SM, IR	1128	0,50 $\pm$ 0,07	0,50 $\pm$ 0,05	0,50 $\pm$ 0,04	0,40 $\pm$ 0,05	0,30 $\pm$ 0,02
11	isopulegol	7786-67-6	SM, IR	1140	-	-	-	-	0,60 $\pm$ 0,15
12	citronellal	106-23-0	SM, IR, STD	1153	0,20 $\pm$ 0,01	1,00 $\pm$ 0,11	1,40 $\pm$ 0,13	0,90 $\pm$ 0,12	5,70 $\pm$ 0,43
13	oxyde de limonène	1195-92-2	SM, IR	1175	-	-	0,90 $\pm$ 0,01	-	0,90 $\pm$ 0,24
14	terpinéol	98-55-5	SM, IR, STD	1190	-	-	-	-	0,20 $\pm$ 0,05
15	décanal	112-31-2	SM, IR, STD	1202	8,30 $\pm$ 0,17	1,80 $\pm$ 0,18	2,20 $\pm$ 0,02	1,60 $\pm$ 0,14	0,70 $\pm$ 0,24
16	citronellol	106-22-9	SM, IR, STD	1225	1,90 $\pm$ 0,02	6,20 $\pm$ 0,55	6,60 $\pm$ 0,14	6,30 $\pm$ 0,63	28,24 $\pm$ 0,10
17	géraniol	106-24-1	SM, IR, STD	1250	1,20 $\pm$ 0,03	5,50 $\pm$ 0,59	6,20 $\pm$ 0,22	6,30 $\pm$ 0,51	2,33 $\pm$ 0,74
18	décyl alcohol	112-30-1	SM, IR, STD	1262	4,50 $\pm$ 0,18	-	-	-	-
19	géraniol	141-27-5	SM, IR, STD	1268	-	5,30 $\pm$ 0,53	7,60 $\pm$ 0,12	5,30 $\pm$ 0,31	12,50 $\pm$ 0,47
20	undécan-2-one	112-12-9	SM, IR, STD	1288	0,20 $\pm$ 0,03	-	-	-	-

21	undécanal	112-44-7	SM, IR, STD	1305	0,20 ± 0,02	-	-	-	-
22	Nérate de méthyl	1862-61-9	SM, IR, STD	1319	6,70 ± 0,23	5,70 ± 0,60	4,40 ± 0,15	5,30 ± 0,13	6,10 ± 0,50
23	δ-élémente	20307-84-0	SM, IR	1334	-	-	-	0,10 ± 0,02	-
24	α-cubebène	17699-14-8	SM, IR, STD	1349	-	0,20 ± 0,01	0,10 ± 0,00	0,10 ± 0,01	-
25	α-copaène	3856-25-5	SM, IR, STD	1376	0,60 ± 0,01	0,20 ± 0,02	0,20 ± 0,01	0,20 ± 0,02	-
26	β-élémente	515-13-9	SM, IR	1388	1,20 ± 0,04	2,10 ± 0,21	1,50 ± 0,01	1,80 ± 0,07	0,20 ± 0,10
27	(E)-β-caryophyllène	87-44-5	SM, IR, STD	1419	5,80 ± 0,18	4,90 ± 0,55	4,10 ± 0,03	3,50 ± 0,06	0,50 ± 0,23
28	cadina-4(14),5-diène	54324-03-7	SM, IR	1430	0,80 ± 0,06	1,80 ± 0,20	1,60 ± 0,03	1,30 ± 0,07	-
29	γ-élémente	3242-08-8	SM, IR	1432	0,40 ± 0,02	1,10 ± 0,11	0,90 ± 0,01	0,90 ± 0,05	-
30	α-humulène	6753-98-6	SM, IR, STD	1456	3,70 ± 0,21	1,90 ± 0,21	1,60 ± 0,01	1,50 ± 0,07	0,20 ± 0,09
31	alloaromadendrene	25246-27-9	SM, IR	1457	0,90 ± 0,04	0,30 ± 0,03	0,10 ± 0,01	0,20 ± 0,08	-
32	germacrène D	23986-74-5	SM, IR, STD	1482	0,50 ± 0,04	0,80 ± 0,10	1,10 ± 0,12	1,40 ± 0,18	0,20 ± 0,10
33	β-selinène	17066-67-0	SM, IR	1483	-	-	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,04	-
34	α-selinène	473-13-2	SM, IR	1488	-	-	0,40 ± 0,01	0,40 ± 0,09	-
35	γ-cadinène	39029-4-9	SM, IR	1513	0,90 ± 0,06	1,10 ± 0,08	0,70 ± 0,01	0,80 ± 0,05	0,20 ± 0,07
36	δ-cadinène	483-76-1	SM, IR	1524	2,70 ± 0,14	3,30 ± 0,35	2,20 ± 0,02	2,70 ± 0,05	0,60 ± 0,15
37	α-calacorène	21391-99-1	SM, IR	1542	0,50 ± 0,01	-	-	-	-
38	élémol	639-99-6	SM, IR, STD	1547	0,10 ± 0,02	0,40 ± 0,04	0,20 ± 0,02	-	-
39	spathulenol	6750-60-3	SM, IR	1578	5,20 ± 0,06	-	-	-	-
40	oxyde de caryophyllène	1139-30-6	SM, IR, STD	1583	9,60 ± 0,29	-	-	-	-
41	τ-cadinol	5937-11-1	SM, IR	1639	1,20 ± 0,31	0,30 ± 0,06	0,10 ± 0,01	0,40 ± 0,04	-
42	α-cadinol	481-34-5	SM, IR	1650	1,80 ± 0,24	0,50 ± 0,05	-	0,70 ± 0,08	-

43	cadalène	483-78-3	SM, IR	1678	-	-	-	0,10 ± 0,02	-
Monoterpènes hydrocarbonés (%)					28,80	51,50	51,50	54,17	3,90
Monoterpènes oxygénés (%)					9,80	20,50	26,10	21,30	54,67
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)					18,10	17,70	14,60	15,10	1,90
Sesquiterpènes oxygénés (%)					25,10	6,90	4,70	6,90	6,10
Non-terpéniques (%)					17,50	1,80	2,20	1,60	0,70
Total (%)					99,30	98,40	99,10	99,07	98,27

Méthodes d'identification : IK, indices de Kovats théoriques (Pubchem et NIST) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; Référence ; -, Sous le seuil de perception.

Ces HE sont composés majoritairement de monoterpènes (38,6 à 89,57%) contre (8,0 à 43,2%) pour les sesquiterpènes (**figure 39**).

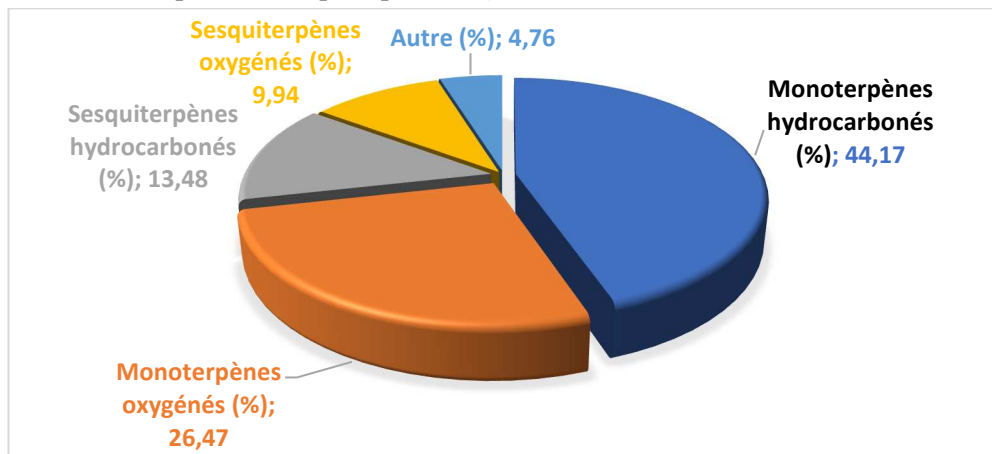


Figure 39 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des écorces

Le β -myrcène (16,4 à 48,27%), le citronellol (1,9 à 28,24%), le géraniol (5,30 à 12,50%) et le nérate de méthyl (4,4 à 6,7%) sont les quatre composés majoritaires des HE des fruits (**figure 40**).

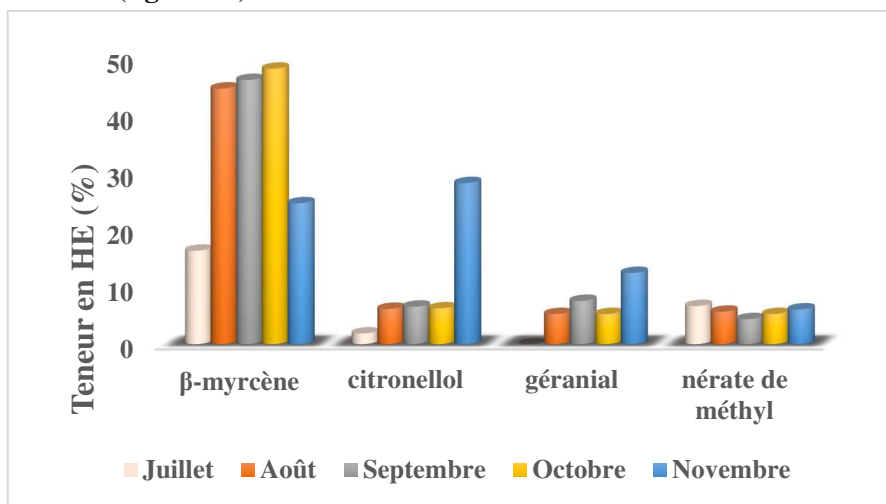


Figure 40 : Comparaison des composés chimiques majoritaires de l'HE des fruits de *Z. leprieurii* suivant les mois

Certains composés sont présents de manière exceptionnelle au mois de juillet à plus de 5%. Il s'agit des composés tels que : l'oxyde de caryophyllène (9,6%), le (*E*)- β -ocimène (8,3 %), le décanal (8,3 %), le perillène (6,5 %) et le spathulénol (5,2%). Au regard de ces résultats nous pouvons dire que les monoterpènes sont les principaux constituants de l'HE des fruits de la Côte d'Ivoire, ce qui est en accord avec la composition chimique des HE de fruits de la même espèce étudiée au Cameroun et au Sénégal. Ces études extérieures présentaient le citronellol (29,90%) et le (*E*)- β -ocimène (90,30%) comme étant les composés majoritaires des échantillons du Cameroun et au Sénégal le (*E*)- β -ocimène (50,9%) (**Fogang et al., 2012**). Néanmoins, nous assistons à une différence de chémotype du fait des facteurs climatiques et environnementaux selon chaque pays.

Pour identifier les relations possibles entre l'abondance des composés organiques volatils et leurs origines géographiques, des analyses statistiques ACP, CAH et AFD ont été effectuées afin d'étudier l'effet saisonnier sur la composition chimique des feuilles, des écorces et des fruits des HE de *Z. leprieurii*.

Analyse en Composantes Principales (ACP) de Z. leprieurii

L'ACP est une statistique exploratoire multidimensionnelle qui permet d'avoir une idée de la variabilité des données. Les données de la composition chimique ont été projetées par des combinaisons linéaires de 15 variables identifiées dans tous les échantillons d'HE au cours d'une période de cinq (5) à sept (7) mois (**annexe 1** : matrice de données). De cette façon, l'ACP va permettre de synthétiser ou comprimer l'information contenue dans le jeu de données. Alors, cela suppose que les données (brutes) renferment une certaine redondance auquel cas, l'implémentation d'une ACP trouve tout son intérêt. Sinon, il est inutile de l'envisager.

➤ *Test de sphéricité de Bartlett*

Le test de sphéricité de Bartlett est l'un des tests qui mesure l'adéquation entre les variables. **Le tableau 11** présente le test de Bartlett.

Tableau 11: Test de sphéricité de Bartlett

Khi ² (Valeur observée)	301,687
Khi ² (Valeur critique)	129,918
DDL	105
p-value	< 0,0001
alpha	0,05

Le test est très hautement significatif avec une P-valeur < 0,0001. L'hypothèse alternative H_a selon laquelle, il existe au moins deux variables qui sont corrélées est retenue. Cette conclusion est aussi corroborée par les valeurs de $Khi^2_{\text{Observée}} > Khi^2_{\text{Critique}}$.

On en tire comme principale interprétation, et au regard de l'exposé plus haut, que l'information contenue dans le jeu de données peut être synthétisée à l'aide de l'ACP.

➤ *Visualisation des données à travers l'ACP*

La **figure 41** nous montre une représentation graphique des données à l'aide de l'ACP (représentation simultanée des individus et variables) aux fins d'une analyse exploratoire multidimensionnelle.

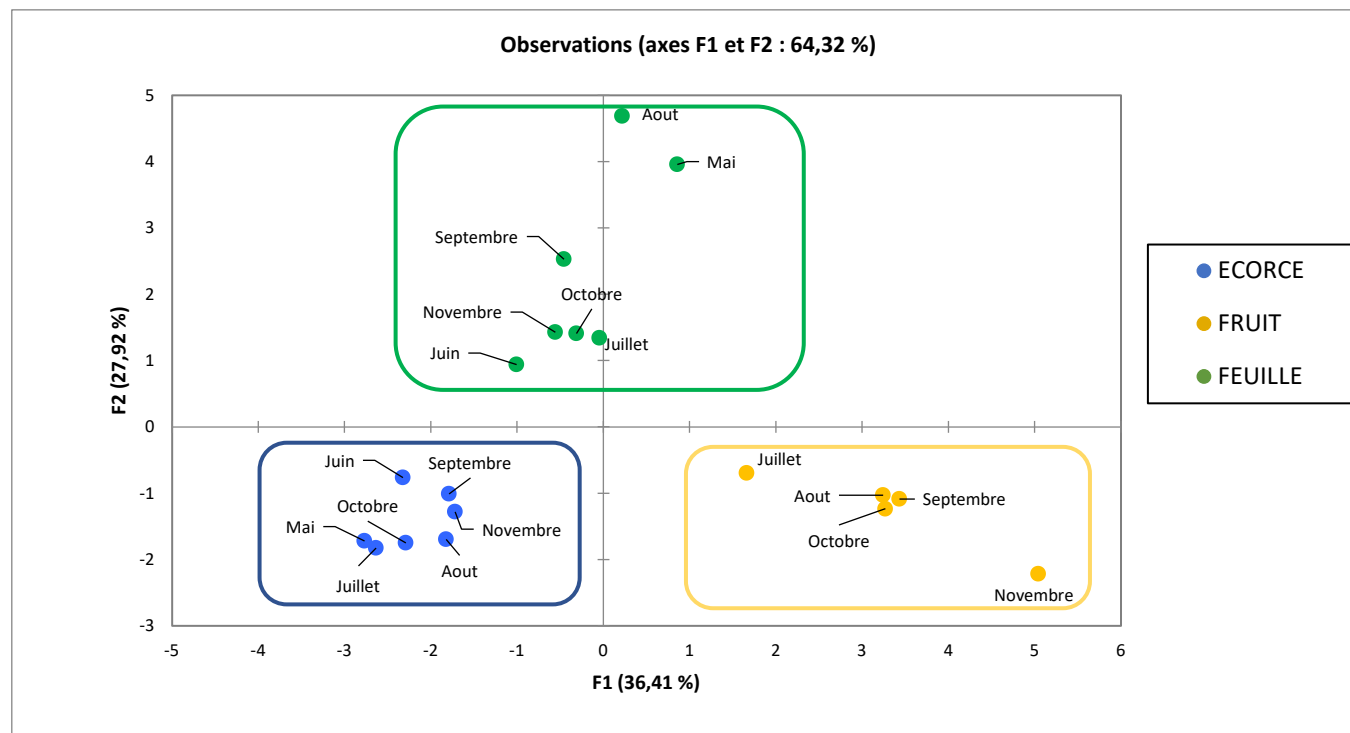


Figure 41 : Graphique de l'ACP des 19 échantillons d'HE de feuilles, d'écorces du tronc et de fruits de *Z. leprieurii*, de Côte d'Ivoire

L'analyse de l'ACP montre que le premier plan factoriel (F1 ; F2) explique 64,32% de la variabilité observée entre les profils de réponses de teneur en 15 individus (F1 : 36,41% ; F2 : 27,92%).

Globalement, l'analyse de la première composante principale (F1) montre que les écorces sont les organes qui fournissent en moyenne les profils de réponses les plus faibles par rapport aux réponses moyennes du groupe, alors que les fruits en fournissent en moyenne les plus élevées. Les feuilles, quant à elles, génèrent des profils de réponses qui sont dans l'ensemble similaires aux réponses moyennes du groupe. Ainsi, la F1 discrimine au mieux le jeu de données en regroupant les individus en trois groupes distincts (Feuilles, Écorces et Fruits).

Aussi, au regard de l'ACP et comparativement aux réponses moyennes du groupe, le facteur temporel semble influencer le profil de réponses des individus en l'occurrence ceux issus des écorces et des fruits alors qu'au niveau des feuilles, cela n'est pas marqué. En effet, au niveau des écorces et des fruits, les réponses semblent, en général, connaître un accroissement progressif depuis le mois de mai jusqu'en novembre. Au niveau des effets saisonniers, nous constatons également une variance intra-classe particulièrement élevée pour l'HE des feuilles (2,50) par rapport aux HE des fruits (1,77) et de l'écorce de tronc (0,35). Il est possible que cette variance plus élevée pour les échantillons d'huile essentielle de feuilles soit liée au fait que de nouvelles feuilles sont produites tout au long de l'année. Alors que les fruits, eux ne sont produits qu'à certaines périodes de l'année et que l'écorce du tronc se développe très lentement sur une période de plusieurs mois ou années. Les feuilles sont alors plus sensibles aux variations saisonnières, telles que les niveaux d'exposition à la lumière, l'état de maturité et le stress hydrique, que les fruits et l'écorce du tronc. Aussi, les travaux de **Tonzibo et al., 2013** sur l'HE des feuilles de *Hoslundia opposita* pourrait aussi justifier la variance élevée dans les échantillons de feuilles. L'HE de l'écorce du tronc a une variabilité chimique plus faible, probablement due au fait que la formation de l'écorce du tronc est lente, et donc moins influencée par les facteurs environnementaux (**Geng et al., 2011**). En regardant l'ACP, nous remarquons que les résultats se confirment par le fait que les différences saisonnières dans la composition chimique des HE des feuilles, des écorces et des fruits ont été déjà mises en évidence dans d'autres espèces de *Zanthoxylum* (**Eiter et al., 2010 ; Bhatt et al., 2017**). Par ailleurs, le produit la composition chimique des huiles essentielles est déterminée génétiquement, elle peut être considérablement modifiée par des facteurs comme la température, la lumière, la saisonnalité, la disponibilité en eau et la nutrition. Aussi, dans la biosynthèse des différends, les composés peuvent être induits par des stimuli environnementaux, qui peuvent modifier les voies métaboliques (**Gobbo-Neto et al., 2007 ; Lima et al., 2012**).

La deuxième composante principale (F2) va opposer les individus en fonction de leurs constituants (les variables). Chaque organe est bien caractéristique de certaines huiles essentielles données.

En effet, les feuilles sont majoritairement constituées de tridécan-2-one, undécan-2-one, β -elemène, linalool, (*E*)- β -ocimène, (*E*)- β -caryophyllène, thymol et dendrolasin; les écorces renferment majoritairement le tridécan-2-one, α -humulène, tridécan-2-ol, et farnesol; les fruits sont caractéristiques du géraniol, citronellol, β -myrcène et nérate

de méthyl. Par ailleurs, la représentation des variables donne à conclure à de fortes corrélations positives entre citronellol et géraniol, géraniol et β -myrcène, β -myrcène et méthyl nérate au niveau des fruits. Le même constat est fait entre le linalool et l'undécane-2-one au niveau des feuilles, entre tridécan-2-one et tridécan-2-ol au niveau des écorces.

Regroupement des HE des organes de Z. leprieurii suivant la période de récolte

Le regroupement a été fait suivant la méthode de classification ascendante hiérarchique (CAH).

La CAH consiste à regrouper progressivement les individus selon la ressemblance de leur profil de réponses ou tout simplement selon leur ressemblance. L'indice de dissimilarité utilisé ici pour mesurer la ressemblance est la distance euclidienne. La distance euclidienne de deux individus est d'autant plus faible que ces individus seront dits proches ou ressemblants et appartiendront à une même classe ou groupe. Elle est d'autant plus grande que les deux individus seront dits éloignés ou différents et appartiendront à des classes ou groupes différents. La **figure 42** montre l'arbre de classification ou dendrogramme issu de l'implémentation de la méthode de CAH.

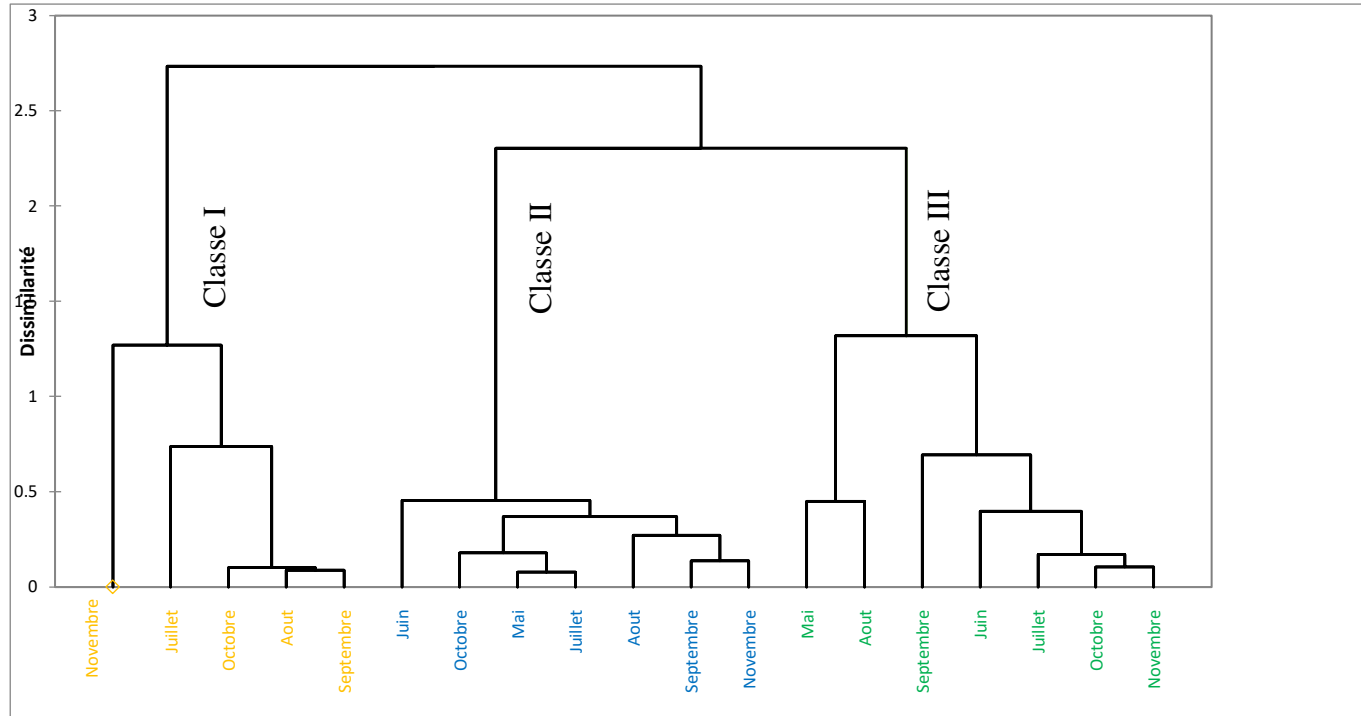


Figure 42 : Dendrogramme des 19 échantillons des HE de feuilles, d'écorces de tronc et de fruits de *Z. leprieurii*

Au regard du dendrogramme, on peut aisément regrouper les dix-neuf individus en trois classes distinctes contenant très proches, présentant des profils de réponses similaires. On note que chaque classe est dédiée à un type d'organe précis. Les individus en orange correspondent à la classe des fruits, ceux en bleu représentent la classe des écorces et les verts, celle des feuilles.

- La classe I comprend 5 échantillons de fruits (novembre, juillet, octobre, août, septembre) dont les composés majoritaires sont le β -myrcène ($36,78 \pm 14,67\%$), citronellol ($9,98 \pm 10,75\%$), géraniol ($6,14 \pm 4,52\%$), nérate de méthyle ($5,64 \pm 0,86\%$) et géraniol ($4,36 \pm 2,32\%$).
- La classe II est composée de 7 échantillons d'organes (juin, octobre, mai, juillet, août, septembre et novembre). Cette composition est dominée par les méthylcétones, avec le tridécane-2-one ($61,56 \pm 12,65\%$) comme composant principal. Cependant, α -humulène ($7,67 \pm 2,71\%$), (*E*)- β -caryophyllène ($6,82 \pm 4,25\%$) et tridécane-2-ol ($5,95 \pm 2,58\%$) sont également présents en quantités importantes.
- La classe III comprend également 7 échantillons d'organes et est caractérisée par des pourcentages élevés en tridécane-2-one ($24,11 \pm 10,47\%$), (*E*)- β -caryophyllène ($13,97 \pm 4,94\%$), dendrolasin ($8,34 \pm 4,72$) et α -humulène ($4,82 \pm 1,29\%$) et quelquefois des composés plus ou moins importants comme (*E*)- β -ocimène ($5,35 \pm 8,56\%$), undécane-2-one ($4,20 \pm 3,34\%$), linalool ($3,73 \pm 2,89\%$), thymol ($3,31 \pm 4,91\%$), α -farnésène ($3,16 \pm 2,98\%$) et β -élémyène ($3,13 \pm 1,83\%$).

L'ACP a distingué les individus en fonction de leurs constituants (majoritaires). La CAH les a agrégés selon leur ressemblance. On constate que dans les deux cas, cela a emmené à conclure que les individus se distinguent les uns des autres par le biais de leurs caractéristiques intrinsèques, conduisant ainsi à leur classification ou regroupement par « familles » d'organes. Globalement, Il en ressort que la CAH est complémentaire de l'ACP.

Tests de confirmation des regroupements des échantillons d'HE de Z. leprieurii

Dans la pratique, l'AFD va donner une représentation graphique de l'ACP qui servira à mieux distinguer les groupes proposés par la CAH. Cependant, l'implémentation de l'AFD n'a de sens que si les individus augurent d'une bonne discrimination. Comment mesurer le degré de séparabilité des classes ?

➤ *Test du Lambda de Wilks*

Le test du Lambda de Wilks mesure le degré de séparabilité des groupes à travers les valeurs de la statistique Lambda comprises entre 0 et 1. Plus Lambda tend vers 0, plus les barycentres des groupes sont distincts (bonne discrimination). Le résultat du test est présenté dans le **tableau 12** ci-dessous.

Tableau 12: Test de Lambda de Wilks de *Z. leprieurii*

Lambda	0,000
F (Valeur observée)	53,411
F (Valeur critique)	5,746
DDL1	30
DDL2	4
p-value	0,0007
alpha	0,05

La valeur de Lambda vaut 0. Cela présage d'une meilleure séparabilité des groupes. La P-valeur<0,001 corrobore cette conclusion car elle permet de rejeter l'hypothèse nulle H_0 selon laquelle les barycentres des groupes sont identiques au seuil de signification $\alpha=0,05$. L'hypothèse alternative H_a qui stipule qu'il existe au moins un des barycentres qui est distinct des autres est retenue.

➤ *Représentation des individus (observations) par l'AFD*

La **figure 43** montre une représentation des individus telle que proposée par l'AFD et qui est en quelque sorte une représentation graphique de l'ACP.

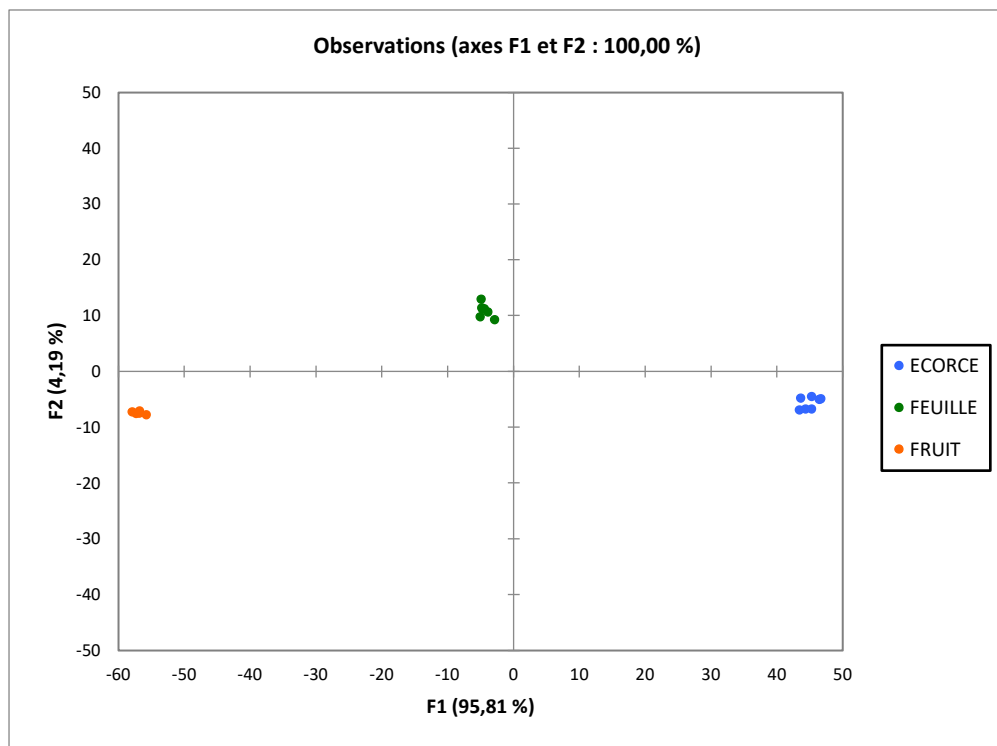


Figure 43 : Représentation des individus de *Z. leprieurii*

On constate que la première composante (F1) discrimine mieux encore les individus car elle explique maintenant plus de 95% de la variabilité entre individus. Aussi, l'information principale à tirer ici est que l'AFD confirme le regroupement des individus par organe (feuilles, écorces et fruits) tel que déjà suggéré par l'ACP.

Par ailleurs, il nous a semblé intéressant de descendre au niveau des classes (groupes) pour étudier les constituants majoritaires.

La **figure 44** met en évidence les composés élites de chaque classe.

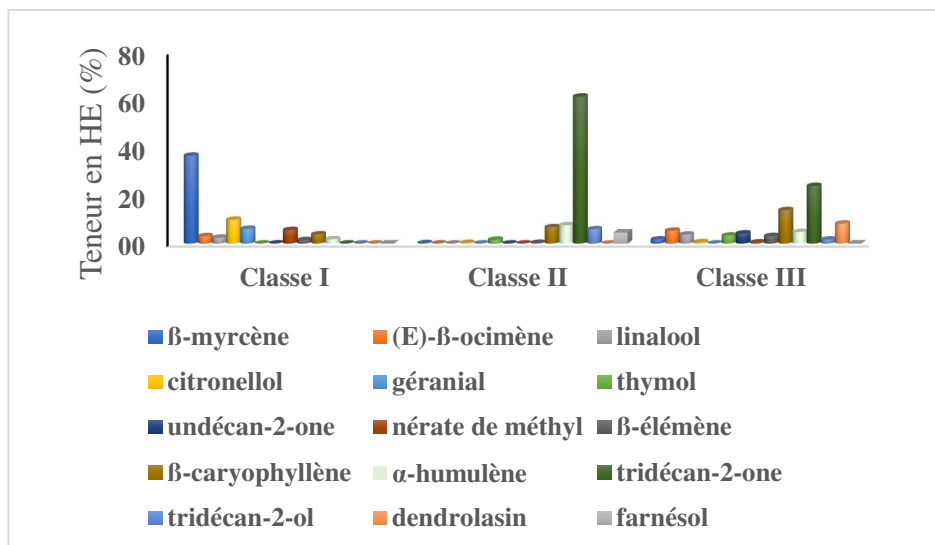


Figure 44 : Comparaison des classes de composés chimiques des HE de *Z. leprieurii*

Les composés élités de chaque classe constituent les compositions chimiques. Ainsi :

- La classe I est dominée par le β -myrcène suivi du citronellol
- La classe II est caractérisée par un seul constituant majoritaire, le tridécane-2-one
- La classe III est dominée par 3 composés à savoir le tridécane-2-one, le (*E*)- β -caryophyllène et le dendrolasin.

L'analyse de cette figure, nous amène aussi à nous intéresser à l'évolution de l'effet saisonnier sur les différentes compositions chimiques.

➤ *Effet de la saisonnalité sur les compositions chimiques*

L'objectif est d'évaluer l'impact de la période de récolte sur les composés principaux.

La **figure 45** montre l'évolution des teneurs des composés prédominants sur la période allant de mai à novembre.

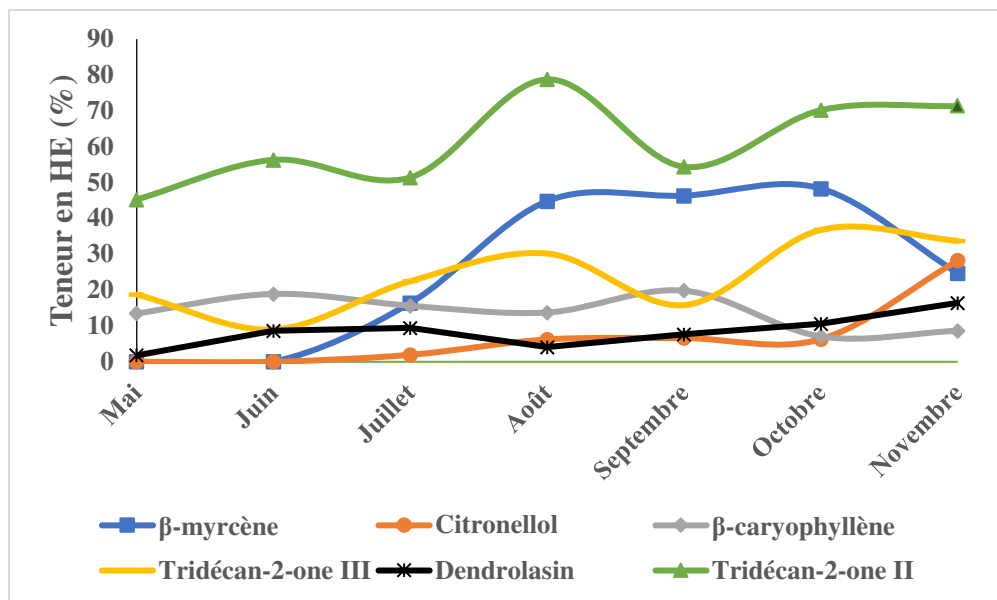


Figure 45 : Évolution de la teneur des composés chimiques majoritaires pendant la période de récolte

L'analyse de la figure 46 permet de dire que :

La plus forte teneur en tridécan-2-one a été observée dans les mois d'août (78,80%) et octobre (36,8%) pour les écorces et les feuilles respectivement. La teneur plus faible en tridécan-2-one a été observée dans les échantillons prélevés au mois de mai (45,50%) pour les écorces du tronc et juin (9,00%) pour les feuilles.

Le β-myrcène présente une teneur élevée au mois d'octobre (48,27%) et une plus faible en juillet (16,40%).

En ce qui concerne le citronellol, la plus forte teneur est observée en novembre (28,24%) et la plus faible teneur en juillet (1,90%).

La teneur en (*E*)-β-caryophyllène enregistrée en septembre (19,85%) est plus élevée. En octobre elle est de 7,00%. Quant au dendrolasin, la teneur enregistrée en novembre (16,4%) est plus élevée que celle enregistrée en mai (1,79%).

En conclusion, nous remarquons que la saison de récolte des échantillons a un effet important sur la teneur des constituants majoritaires dans les différents organes échantillonnés. En effet, les tendances observées pour ces deux variables ainsi que celles de l'humidité relative et de la lumière du jour confirment que les mois de mai, juin, octobre et novembre représentent les mois de la grande saison des pluies tandis que ceux de juillet, août et septembre sont des mois de la petite saison des pluies. Tous ces éléments permettent de dire que tous les constituants principaux varient au cours de la période.

Au terme de cette analyse, nous constatons que la composition chimique des HE des feuilles et des écorces de tronc, des tiges et fruits de *Zanthoxylum leprieurii* est riches en méthylcétones pour les trois premiers organes et en monoterpènes pour les fruits.

L'impact de la période de la récolte sur le rendement et la composition chimique des HE des organes de *Z. leprieurii* traduisent des variabilités différentes.

2.2. Composition chimique des HE de *Z. psammophilum*

2.2.1. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles

Les données ont permis d'observer que la moyenne des rendements en HE des organes étudiés varie de 0,04 à 0,05% dans les feuilles.

L'hydrodistillation, suivie de l'analyse par CPG/SM a permis de déterminer la composition chimique des HE des feuilles de *Z. psammophilum* répertorié et récoltées dans deux localités (Adiaké et Agboville) de Côte d'Ivoire suivant le profil chromatographique de l'huile essentielle (voir **figure 46**).

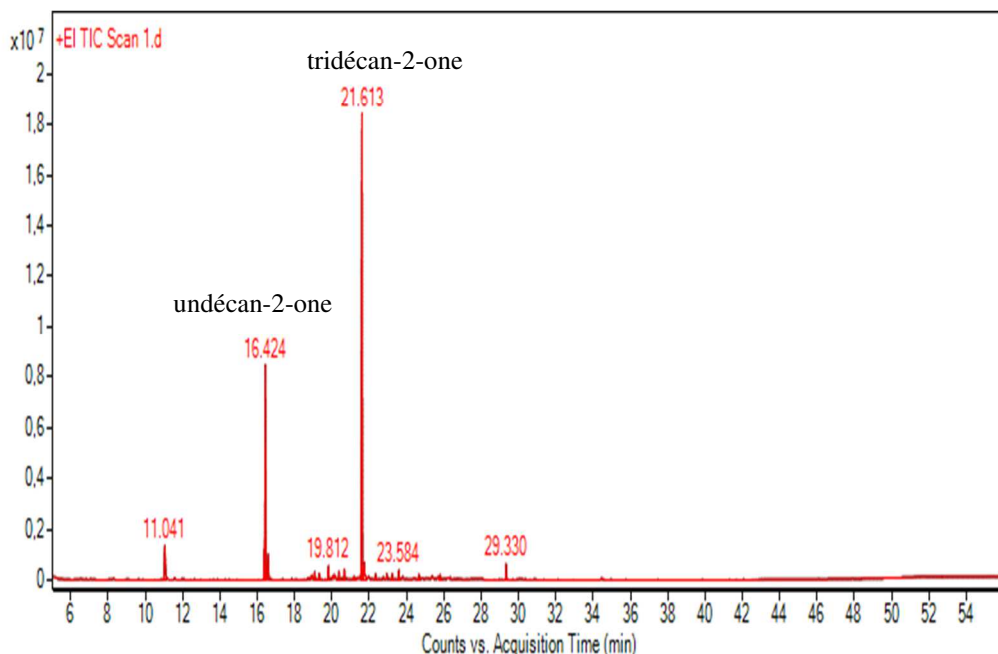


Figure 46 : Profil chromatographique de l'HE des feuilles de *Z. psammophilum*

Cette analyse a permis de dénombrer respectivement 22 et 16 composés au total de la composition chimique dans les feuilles d'Adiaké et Agboville (**tableau 13**).

Tableau 13 : Composition chimique de l'HE des feuilles de *Z. psammophilum*

N°	Composés	Référence	Identification	IK	F (ADI)	F (AGB)
1	linalool	78-70-6	SM, IR, STD	1078	0,90 ± 0,01	tr
2	undécane	1120-21-4	SM, IR, STD	1080	tr	1,11 ± 0,06
3	décanal	112-31-2	SM, IR, STD	1191	0,40 ± 0,01	tr
4	undécan-2-one	112-12-9	SM, IR, STD	1274	17,00 ± 0,08	20,61 ± 0,08
5	undécan-2-ol	1653-30-1	SM, IR, STD	1285	1,10 ± 0,1	2,31 ± 0,17
6	dodécanal	112-54-9	SM, IR	1386	1,84 ± 0,02	tr
7	α -bergamotène	17699-05-7	SM, IR	1397	tr	0,72 ± 0,03
8	α -gurjunène	489-40-7	SM, IR	1412	tr	0,77 ± 0,01
9	(<i>E</i>)- β -caryophyllène	87-44-5	SM, IR, STD	1419	2,40 ± 0,05	1,67 ± 0,01
10	α -humulène	6753-98-6	SM, IR, STD	1456	2,10 ± 0,14	1,13 ± 0,04
11	β -ionone	14901-07-6	SM, IR, STD	1482	1,55 ± 0,06	tr
12	β -selinène	17066-67-0	SM, IR	1483	0,50 ± 0,05	tr
13	tridécan-2-one	593-08-8	SM, IR, STD	1485	26,92 ± 0,09	54,38 ± 0,36
14	tridécan-2-ol	1653-31-2	SM, IR, STD	1490	2,65 ± 0,04	3,8 ± 0,03
15	α -farnésène	502-61-4	SM, IR, STD	1499	3,90 ± 0,02	tr
16	γ -cadinène	39029-4-9	SM, IR	1513	0,4 ± 0,01	tr
17	δ -cadinène	483-76-1	SM, IR	1524	1,35 ± 0,04	0,84 ± 0,01
18	élémol	639-99-6	SM, IR, STD	1536	0,60 ± 0,01	1,36 ± 0,02
19	nérolidol	7212-44-4	SM, IR	1548	8,92 ± 0,03	1,68 ± 0,05

20	spathuléol	6750-60-3	SM, IR	1571	0,60 ± 0,01	tr
21	Oxyde de caryophyllène	1139-30-6	SM, IR, STD	1578	1,94 ± 0,04	1,08 ± 0,03
22	τ-cadinol	5937-11-1	SM, IR	1639	2,30 ± 0,07	tr
23	α-cadinol	481-34-5	SM, IR	1650	2,40 ± 0,07	1,20 ± 0,2
24	pentadécan-2-one	2345-28-0	SM, IR, STD	1682	2,60 ± 0,00	4,43 ± 0,04
25	phytol	150-86-7	SM, IR, STD	2104	18,20 ± 0,12	2,93 ± 0,22
Monoterpènes hydrocarbonés (%)					0,0	0,0
Monoterpènes oxygénés (%)					0,9	0,0
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)					10,65	5,13
Sesquiterpenes oxygénés (%)					20,81	9,75
Diterpènes (%)					18,2	2,93
Non-terpeniques (%)					49,43	82,21
Total (%)					99,99	99,99

Méthodes d'identification : KI, indices de kovats théoriques (Pubchem et NIST) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence ; -, Sous le seuil de perception,

Ce travail représente le premier rapport concernant la caractérisation de la composition chimique des HE de cette espèce. Les composés chimiques représentent plus de 99,9 % de la composition globale d'HE de chaque organe. Le tableau montre que les composés acycliques non terpéniques forment la principale composante des HE avec des teneurs de 49,43 à 82,21%.

L'HE des feuilles constitue un ensemble très diversifié de composés chimiques avec les méthylcétones (46,52 à 79,44%) comme composés majoritaires avec l'exemple du tridécan-2-one (26,92 à 54,38%), de l'undécan-2-one (17,0 à 20,61%) et du pentadécan-2-one (2,6 à 4,43%). Ensuite des sesquiterpènes (14,88 à 31,46%) avec le nérolidol (8,92%) et enfin le phytol (2,93 à 18,2%) comme diterpènes (**figure 47**).

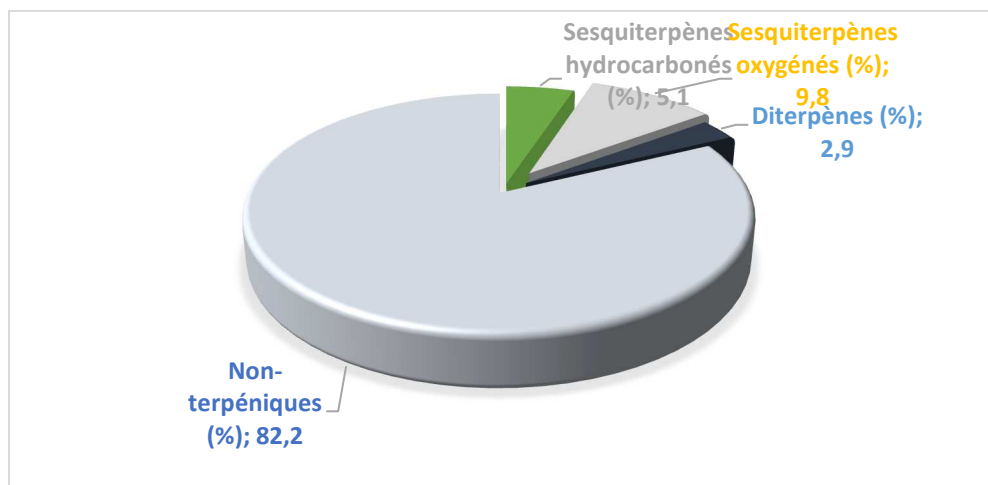


Figure 47 : Proportion des différentes familles de composés extraits de l'HE des feuilles

Nous notons que l'HE des feuilles d'Adiaké (F (ADI) est dominée par le tridécan-2-one (26,92%) suivie du phytol (18,2%), de l'undécan-2-one (17,0%) et du nérolidol (8,92%). Tout comme la composition chimique de l'HE des feuilles d'Adiaké, la composition chimique de l'HE des feuilles d'Agboville (F (AGB)) est principalement dominée par le tridécan-2-one (54,38%), l'undécan-2-one (20,61%), une faible teneur en nérolidol (1,68%) et en phytol (2,93%).

2.2.2. Composition chimique de l'huile essentielle des écorces du tronc

Après analyse, au total 30 composés de l'huile essentielle des écorces de tronc a été identifiés, représentant 83,9% de la composition chimique globale, ont été identifiés. La moyenne des rendements en HE varie de 2,45 à 3,2% dans les écorces. Le profil chromatographique (**figure 48**) observé lors de l'analyse par CPG-SM des

échantillons de Adzopé et de San-Pedro a permis de déterminer quatre composés chimiques au total de la composition chimique dans les écorces des (**tableau 14**).

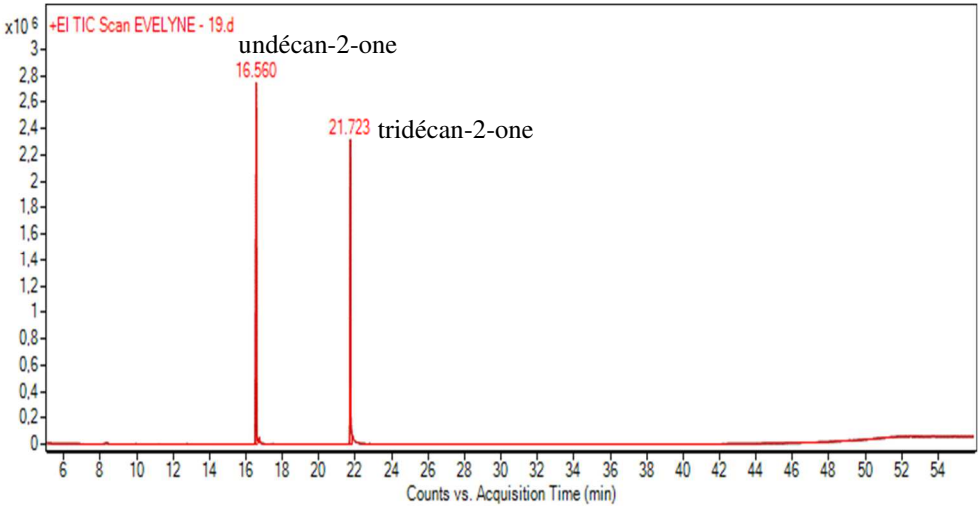


Figure 48 : Profil chromatographique de l’HE des écorces de *Z. psammophilum*

Tableau 14 : Composition chimique de l’HE des écorces de *Z. psammophilum*

N°	Composés	Référence	Identification	IK	E(ADI)	E(AGB)
1	undécane-2-one	112-12-9	SM, IR, STD	1274	29,8 ± 0,09	61,0 ± 0,38
2	undécane-2-ol	1653-30-1	SM, IR, STD	1285	3,0 ± 0,14	1,5 ± 0,22
3	tridécan-2-one	593-08-8	SM, IR, STD	1485	63,2 ± 0,5	37,1 ± 0,3
4	tridécan-2-ol	1653-31-2	SM, IR, STD	1490	4,0 ± 0,43	0,4 ± 0,44
Monoterpènes hydrocarbonés (%)					0,0	0,0
Monoterpènes oxygénés (%)					0,0	0,0
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)					0,0	0,0
Sesquiterpènes oxygénés (%)					0,0	0,0
Diterpènes (%)					0,0	0,0
Non-terpeniques (%)					99,99	99,99
Total					99,99	99,99

Méthodes d'identification : KI, indices de kovats théoriques (Pubchem et NIST) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence ;

Tout comme la composition chimique des feuilles, c'est le premier rapport concernant la caractérisation de la composition chimique des écorces de l'HE de cette espèce. Les composés chimiques représentent plus de 99,9 % de la composition globale d'HE de chaque organe. Le tableau montre que les composés acycliques non terpéniques forment la principale composante des HE avec une teneur de 99,99%.

L'HE est uniquement constituée de composés non-terpéniques (**figure 49**) dont les composés majoritaires sont le tridécane-2-one (37,1 à 63,2%), le undécane-2-one (26,8 à 61,0%). Ces méthylcétones sont les principaux constituants des HE de l'écorce, suivis des composés minoritaires : le tridécane-2-ol (0,4 à 4,0%) et le undécane-2-ol (1,5 à 3,0%).

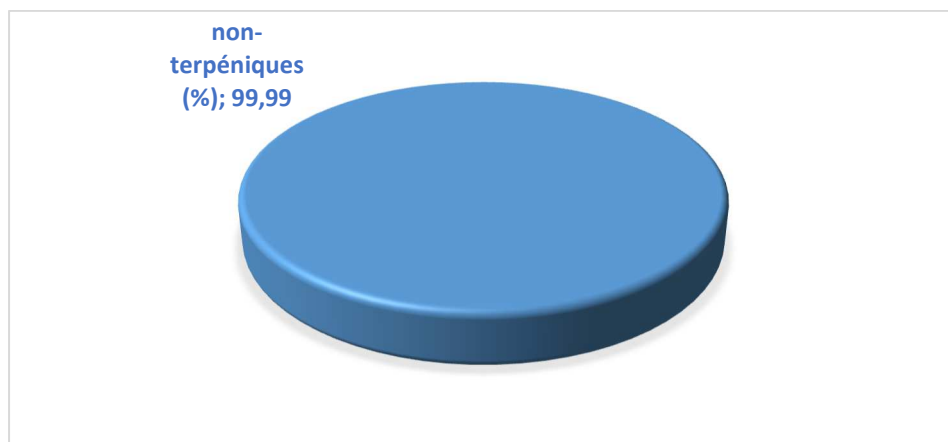


Figure 49 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des écorces

- Il faut noter que la composition chimique des écorces du tronc (E (ADI)) présentent une prédominance en tridécane-2-one (63,62%) et en undécane-2-one (29,8%).

- Par contre, la composition de l'écorce du tronc (E (AGB)) est contraire à celle d'Adiaké avec comme constituant dominant le undécane-2-one (61,0%) suivie du tridécane-2-one (37,1%).

Nous remarquons que la teneur en tridécane-2-one est élevée dans les feuilles d'Agboville qu'à Adiaké, tandis que celle du undécane-2-one des écorces est encore dominant à Agboville. Ainsi, la **figure 50** montre la comparaison des teneurs en tridécane-2-one et en l'undécane-2-one dans les HE des feuilles et des écorces dans ces localités. Cette figure permet de dire que la composition chimique des deux localités est majoritairement dominée par le tridécane-2-one. Par contre, au niveau des écorces, nous remarquons une différence. La composition chimique de la ville d'Agboville est prédominée par l'undécane-2-one, tandis que celle d'Adiaké est dominée par le tridécane-2-one.

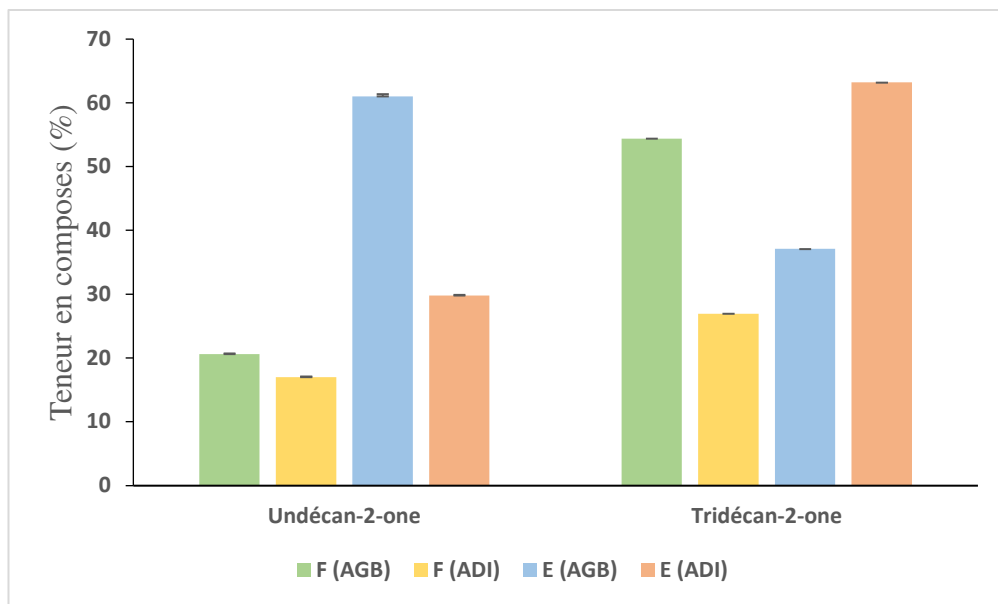


Figure 50 : Comparaison des teneurs en undécán-2-one et en tridécan-2-one des feuilles et des écorces du tronc de *Z. psammophilum* récoltées à Agboville et à Adiakié

2.2.3. Impact de la période de récolte sur la composition chimique des écorces

L'impact de la période de récolte des écorces du tronc de la localité d'Agboville a été mené sur différents mois allant de mai à décembre 2017. Sur la base des résultats qui décrivait quatre composés, nous avons étendu nos investigations à l'impact de la période de récolte sur la composition des écorces afin d'évaluer la variabilité. Le **tableau 15** présente la composition chimique.

Les rendements en HE de ces écorces de tronc ne présentent pas de très grandes différences. Ils ont des teneurs allant de 2,8 à 3,5%. Ainsi, la teneur la plus élevée est obtenue au mois de mai et la plus faible au mois de juillet.

Nous constatons que ces HE sont constituées de deux (2) cétones et deux (2) alcool. Cependant, la composition chimique ne varie pas (constante) avec une teneur élevée du undécán-2-one (50,1 à 61%) durant tous les mois de récolte suivie du tridécan-2-one (36 à 45%). Les deux alcools sont les dérivés des composants principaux, undécán-2-ol (1 à 2,3%) et le tridécan-2-ol (0,4 à 1,7%). Ainsi, nous venons de valider la composition chimique de l'écorce du tronc de *Z. psammophilum* de la localité d'Adiakié riche essentiellement en méthylcétones. C'est le cas aussi des écorces de *Cinnamomum cassia* (cannelle), dont une étude a montré que quel que soit l'âge de la plante, le constituant dominant est le trans-cinnamaldehyde (Geng et al., 2011). Aussi, une étude sur les feuilles de *Cinnamomum osmophloeum* rapporte le même constat sur la composition chimique (Yeh et al., 2013). À présent suivons l'évolution

de ces deux composés majoritaires de l'HE des écorces du tronc sur les différents mois à travers la **figure 51**.

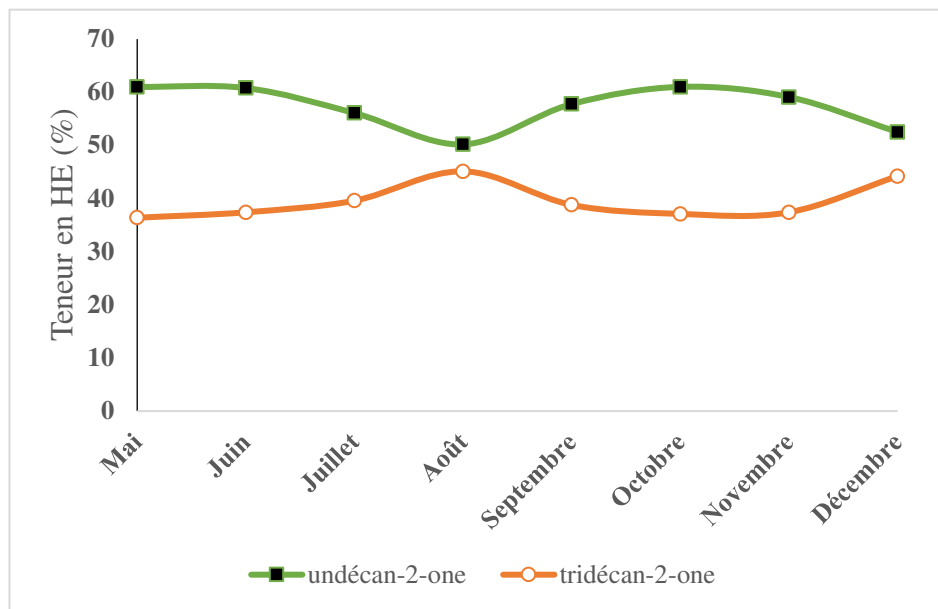


Figure 51 : Évolution de la teneur de undécan-2-one et du tridécan-2-one de *Z. psammophilum* selon les différents mois

Tableau 15: Composition chimique de l'HE des écorces du tronc de *Z. psammophilum* récoltées à Agboville

N°	Composés	Référence	Identification	IK	Mai	Juin	Juillet	Août
1	undécan-2-one	112-12-9	SM, IR, STD	1274	61 ± 0,12	60,8 ± 0,22	56,1 ± 4,80	50,2 ± 0,19
2	undécan-2-ol	1653-30-1	SM, IR, STD	1285	1 ± 0,05	1,1 ± 0,13	1,5 ± 0,32	2,3 ± 0,21
3	tridécan-2-one	593-08-8	SM, IR, STD	1485	36,4 ± 0,08	37,4 ± 0,04	39,6 ± 4,40	45,1 ± 0,11
4	tridécan-2-ol	1653-31-2	SM, IR, STD	1490	0,84 ± 0,10	0,5 ± 0,07	0,8 ± 0,38	1,7 ± 0,08
Non-terpéniques					99,24	99,8	98	99,3
Total					99,24	99,8	98	99,3

Suite des mois des composés								
N°	Composés	Référence	Identification	IK	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
1	undécan-2-one	112-12-9	SM, IR, STD	1274	57,8 ± 0,25	61 ± 0,38	59,1 ± 0,17	52,5 ± 0,15
2	undécan-2-ol	1653-30-1	SM, IR, STD	1285	1,4 ± 0,20	1,5 ± 0,22	1,5 ± 0,06	1,5 ± 0,23
3	tridécan-2-one	593-08-8	SM, IR, STD	1485	38,8 ± 0,18	37,1 ± 0,30	37,4 ± 0,15	44,2 ± 0,24
4	tridécan-2-ol	1653-31-2	SM, IR, STD	1490	0,6 ± 0,21	0,4 ± 0,44	0,5 ± 0,07	1,1 ± 0,16
Non-terpéniques					99,24	99,8	98	98,6
Total					99,24	99,8	98	98,6

Méthodes d'identification : IK, indices de kovats théoriques (Pubchem et NIST) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence.

La figure 51 montre l'évolution de la teneur en undécan-2-one et tridécan-2-one sur les différents mois. Cette évolution en sens opposé entre les deux molécules indiquerait une interconversion.

C'est une réaction bien probable selon **Forney et al., (1967)**, qui ont montré une réaction de dégradation biologique du tridécan-2-one en undécan-2-ol. Cette dernière molécule étant la forme réduite du undécan-2-one.

Dans le cas précis, nous suggérons une réaction réversible entre le tridécan-2-one et le undécan-2-one bien marquée au cours du cycle végétatif

En outre, les études menées sur la composition chimique des feuilles de *Z. armatum* en Inde et *Z. pinnatum* en Australie, ont montré également des méthylcétones comme composants majeurs des HE (undécan-2-one (54,30 %) et tridécan-2-one (31,70 %) en Inde et undécan-2-one (46,0 %) et tridécan-2-one (27,1 %) en Australie (**Brophy et al., 2000 ; Negi et al., 2012**).

Cependant, en comparant la proportion de méthylcétones dans ces deux espèces avec celles de *Z. psammophilum*, il apparaît que le tridécan-2-one est le plus dominant dans les feuilles (AGB et ADI) et les écorces du tronc (ADI) de *Z. psammophilum* alors que dans l'écorce du tronc (ADI), c'est l'undécan-2-one qui est la molécule dominante. Cela pourrait suggérer que les feuilles et l'écorce du tronc de *Z. psammophilum* présentent des propriétés intéressantes car elles sont utilisées pour leur saveur et leur parfum dans les industries alimentaire, pharmaceutique et de la parfumerie (**Park et al., 2012**).

La composition chimique des échantillons des 2 localités (Adiaké et Agboville) présente quelques différences. Cette différence pourrait s'expliquer par les facteurs environnementaux notamment le type de sol. Les composés identifiés sont connus comme agents antimicrobiens et insecticides importants (**Pareja et al., 2012 ; Saini et al., 2014**).

2.2.4. Composition chimique de l'HE des racines de *Z. psammophilum*

Le profil chromatographique des huiles essentielles des racines de *Z. psammophilum* est présentée dans la **figure 52**.

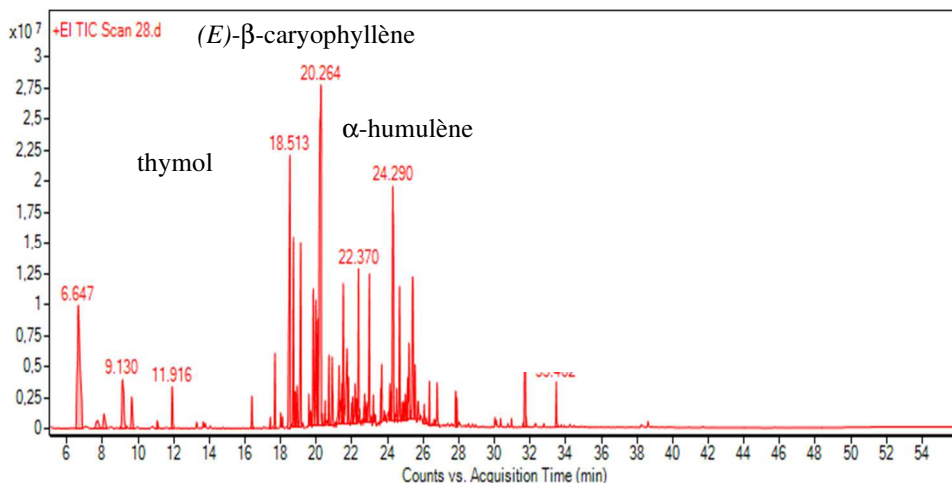


Figure 52 : Profil chromatographique de l'HE des racines de *Z. psammophilum*

Cette analyse a permis d'identifier 28 composés représentant 99,99% de la composition totale de l'huile essentielle (**tableau 16**).

Tableau 16: Composition chimique de l'HE des racines de *Z. psammophilum* d'Agboville

N°	Composés	Référence	Identification	IK	Racines
1	linalool	78-70-6	SM, IR, STD	1078	tr
2	4-terpinéol	20126-76-5	SM, IR, STD	1161	0,40 ± 0,02
3	citronellol	106-22-9	SM, IR, STD	1208	1,00 ± 0,02
4	géraniol	106-24-1	SM, IR, STD	1232	1,03 ± 0,03
5	thymol	89-83-8	SM, IR, STD	1266	15,74 ± 0,16
6	undécan-2-one	112-12-9	SM, IR, STD	1274	3,33 ± 0,15
7	undécan-2-ol	1653-30-1	SM, IR, STD	1285	tr
8	cyclosativène	22469-52-9	SM, IR	1368	4,24 ± 0,04
9	α-copaène	3856-25-5	SM, IR, STD	1376	5,70 ± 0,01
10	(E)-β-caryophyllène	87-44-5	SM, IR, STD	1419	21,80 ± 0,07
11	γ-élémente	3242-08-8	SM, IR	1425	0,80 ± 0,23
12	α-humulène	6753-98-6	SM, IR, STD	1456	13,64 ± 0,20
13	alloaromadendrène	24246-27-9	SM, IR	1457	1,55 ± 0,09
14	β-ionone	14901-07-6	SM, IR	1482	tr
15	β-sélinène	17066-67-0	SM, IR	1483	4,85 ± 0,13

16	tridécan-2-one	593-08-8	SM, IR, STD	1485	3,31 ± 0,05
17	sélina-4(14), 7(11)-diène	515-17-3	SM, IR	1995	2,67 ± 0,10
18	tridécan-2-ol	1653-31-2	SM, IR, STD	1495	tr
19	α-farnésène	502-61-4	SM, IR, STD	1499	tr
20	γ-cadinène	39029-4-9	SM, IR	1513	1,00 ± 0,07
21	δ-cadinène	483-76-1	SM, IR	1524	4,54 ± 0,10
22	élémol	639-99-6	SM, IR	1536	5,18 ± 0,04
23	nérolidol	7212-44-4	SM, IR, STD	1548	0,40 ± 0,01
24	spathulénol	6750-60-3	SM, IR	1571	0,05 ± 0,14
25	Oxyde de caryophyllène	1139-30-6	SM, IR, STD	1578	4,70 ± 0,24
26	□-cadinol	5937-11-1	SM, IR	1639	1,71 ± 0,30
27	α-cadinol	481-34-5	SM, IR	1650	2,04 ± 0,20
28	pentadécan-2-one	2345-28-0	SM, IR, STD	1682	tr
Monoterpènes Hydrocarbonés (%)					0,0
Monoterpènes oxygénés (%)					18,17
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)					60,79
Sesquiterpènes oxygénés (%)					14,52
Non-terpéniques (%)					6,64
Total (%)					99,99

Méthodes d'identification : IK, indices de kovats théoriques (Pubchem et NIST) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence.

L'huile essentielle des racines est constituée de 75,31% de sesquiterpènes, 18,17% de monoterpènes et 6,64% de composés non-terpéniques. Parmi les monoterpènes, il n'y a pas de monoterpènes hydrocarbonés tandis que les monoterpènes oxygénés ne représentent que 18,17% de l'huile totale. Parmi les sesquiterpènes, les hydrocarbonés représentent 60,79% contre 14,52% pour les composés oxygénés (**figure 53**).

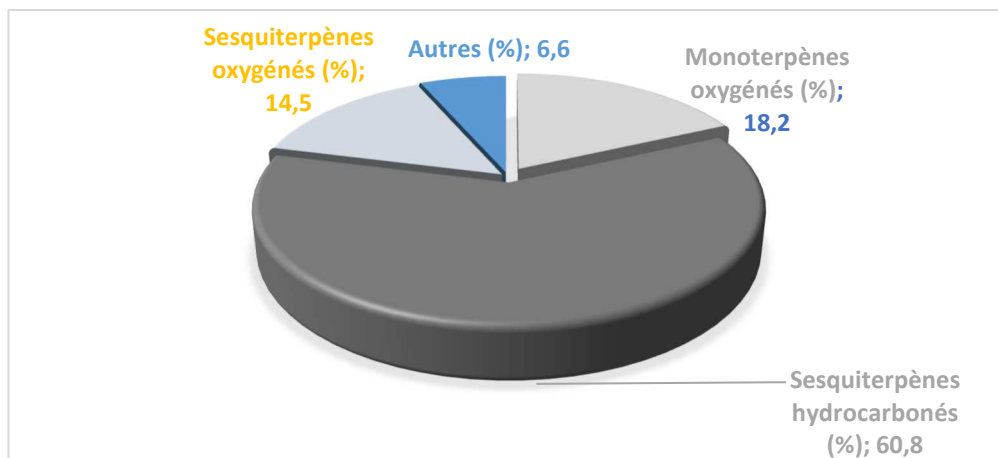


Figure 10: Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des racines

Ainsi, les principaux composants sont : (*E*)- β -caryophyllène (21,80%), thymol (15,70%), α -humulène (13,6%), suivie du élémol (5,20%), α -copaène (5,70%), α -selinène (4,9%), oxyde de caryophyllène (4,70%), γ -cadinène (4,50%) et cyclosativène (4,20%).

Nous remarquons que la composition chimique des racines est très différente de celle des feuilles et des écorces du tronc. Les principaux constituants de l'HE des racines comme le (*E*)- β -caryophyllène, le thymol et l' α -humulène sont connus pour leurs activités anti-oxydante et anti-inflammatoire (Braga *et al.*, 2006 ; Leagault *et al.*, 2007 ; Keawsa-ard *et al.*, 2012 ; Calleja *et al.*, 2013).

L'analyse de la composition chimique des HE des organes de *Z. psammophilum* est caractérisée par les méthylcétones et les sesquiterpènes. C'est le lieu de préciser que les HE des parties aériennes de *Z. psammophilum* sont pauvre en composés.

2.3. Composition chimique des huiles essentielles de *Z. mezoneurispinosum*

Les HE extraites de *Z. mezoneurispinosum* sont de couleur jaune. Les feuilles ont une saveur herbacée prononcée. Les écorces ont une odeur de bois tandis que les racines ont une odeur d'épices.

Les rendements à l'extraction des HE varient selon l'organe. Ainsi, le rendement des feuilles est 0,5% suivie des écorces du tronc 0,2% et les racines 0,04%. Les HE de *Z. mezoneurispinosum* possèdent un rendement légèrement supérieur à celui trouvé dans l'espèce de *Z. zanthoxyloides* 0,04%, 0,01% et 0,002% respectivement pour les feuilles, racines et écorces du tronc (Tine *et al.*, 2017). Un rendement élevé a été

observé dans l'étude réalisée par **Gardini et al., 2009**. La différence existante entre les rendements d'extraction obtenus est probablement liée aux facteurs suivants :

- le temps de l'hydrodistillation,
- la température de chauffage et
- elle peut être liée, également aux facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique), facteurs géographiques (altitude, nature du sol, taux d'exposition au soleil) et génétiques (croisements naturels) (**Veres et al., 2003 ; Fadil et al., 2014**).

2.3.1. Composition chimique de l'HE des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* récolté à Grand-Lahou

La détermination des constituants chimiques des HE des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* a été réalisée par CPG/SM, les résultats observés sur le profil chromatographique (**figure 54**) et les différents composés obtenus sont regroupés dans le **tableau 17**.

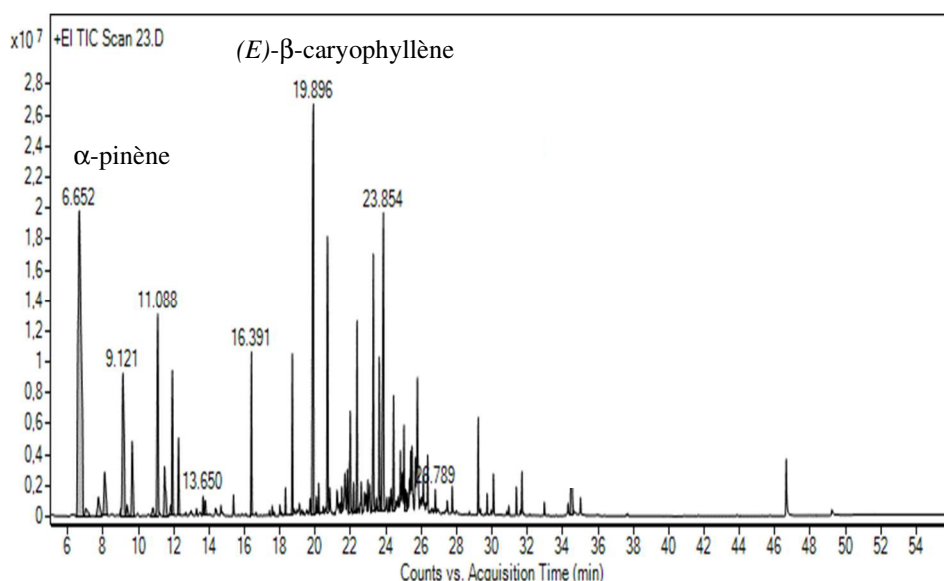


Figure 54 : Profil chromatographique de l'HE des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* du Banco d'Abidjan

Au total 15 composés ont été identifiés dans les feuilles. Les composants chimiques de l'HE des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* se répartissent comme suit : les monoterpènes hydrocarbonés (85,09%), les monoterpènes oxygénés (6,97%), les sesquiterpènes hydrocarbonés (7,24%) et les sesquiterpènes oxygénés (0,68%) (**figure 55**).

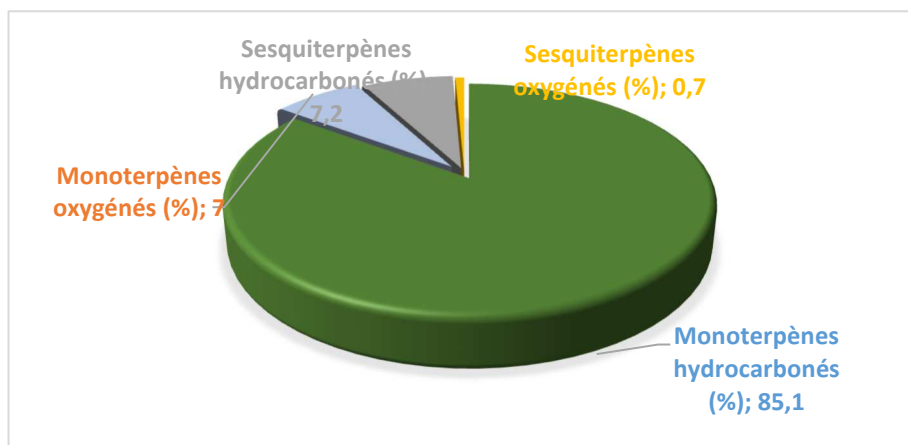


Figure 55 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des feuilles

La composition chimique de l'HE des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* est caractérisée principalement par la présence de l' α -pinène (55,38%). Cette composition est semblable à celles des espèces de *Z. brachyacanthum* (46 à 57% d' α -pinène) et de *Z. ovolifolium* (31-40% d' α -pinène) décrite par **Brophy et al., 2000**. Par contre, l'huile de *Z. mezoneurispinosum* diffère de celle décrite par (**Brophy et al., 2000**) par deux composés essentiels que sont : le (*E*)- β -ocimène et le γ -eudesmol.

Par ailleurs, des études ont montré que ces deux molécules ((*E*)- β -ocimène et le γ -eudesmol) et α -pinène possèdent des propriétés antioxydantes, antibactériennes et antimicrobiennes intéressantes (**Mahdian et al., 2017 ; Lima et al., 2012**).

Tableau 17 : Composition chimique de l'HE des feuilles de *Z. mezoneurispinosum*

N°	Composés	Référence	Identification	IK	Feuilles
1	α -pinène	80-56-8	SM, IR, STD	931	55,38 $\pm$ 0,85
2	sabinène	3387-41-5	SM, IR, STD	964	10,06 $\pm$ 0,10
3	β -myrcène	123-35-3	SM, IR, STD	979	4,45 $\pm$ 0,05
4	α -phellandrène	99-83-2	SM, IR, STD	1007	1,57 $\pm$ 0,50
5	o-cymène	527-84-4	SM, IR, STD	1017	2,47 $\pm$ 0,14
6	(E)- β -ocimène	13877-91-3	SM, IR, STD	1041	8,85 $\pm$ 0,22
7	linalool	78-70-6	SM, IR, STD	1078	3,77 $\pm$ 0,17
8	allo-ocimène	7216-56-0	SM, IR	1131	2,31 $\pm$ 0,13
9	terpinéol	98-55-5	SM, IR, STD	1190	3,20 $\pm$ 0,10
10	(E)- β -caryophyllène	87-44-5	SM, IR, STD	1424	3,02 $\pm$ 0,12
11	cadina-4(14),7(11)-diène	54324-03-7	SM, IR	1430	0,66 $\pm$ 0,03
12	α -humulène	6753-98-6	SM, IR, STD	1456	1,36 $\pm$ 0,04
13	germacrène D	23986-74-5	SM, IR, STD	1482	0,66 $\pm$ 0,02
14	δ -cadinène	483-76-1	SM, IR	1524	1,54 $\pm$ 0,06
15	spathulénol	6750-60-3	SM, IR, STD	1572	0,68 $\pm$ 0,03
Monoterpènes hydrocarbonés (%)					85,09
Sesquiterpènes oxygénés (%)					6,97
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)					7,24
Sesquiterpènes oxygénés (%)					0,68
Total (%)					99,99

Méthodes d'identification : KI, indices de kovats théoriques (Pubchem et NIST) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence ;

2.3.2. Composition chimique des HE des écorces du tronc de *Z. mezoneurispinosum* récoltées à Grand-Lahou

L'analyse des constituants chimiques des HE des écorces du tronc de *Z. mezoneurispinosum* a été réalisée par CPG/SM. Le profil chromatographique (**figure 56**) a permis de déterminer la composition chimique dont les résultats sont représentés dans le **tableau 18**. Au total, 19 composés ont été identifiés de la composition chimique de l'HE des écorces du tronc.

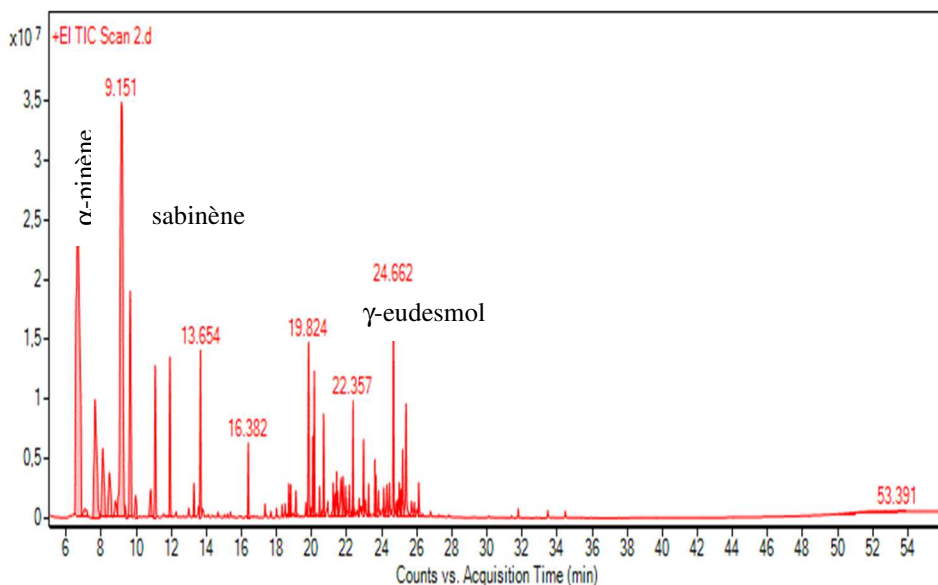


Figure 56 : Profil chromatographique de l'HE des écorces du tronc

Les composants chimiques des HE des écorces du tronc de *Z. mezoneurispinosum* se répartissent comme suit : les monoterpènes hydrocarbonés (70,09%), les monoterpènes oxygénés (13,16%), les sesquiterpènes hydrocarbonés (7,35%) et les sesquiterpènes oxygénés (9,39%) (**figure 57**).

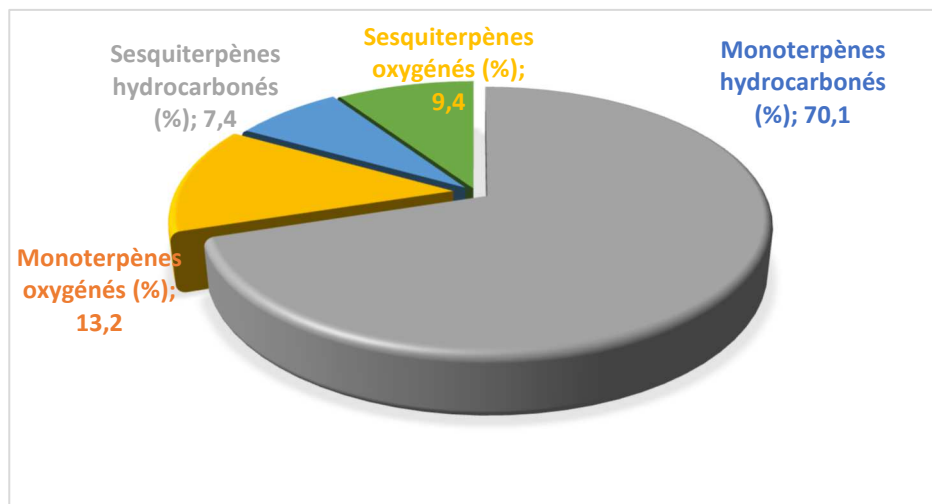


Figure 57 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des écorces

Tableau 18: Composition chimique de l'HE des écorces de *Z. mezoneurispinosum*

N°	Composés	Référence	Identification	IK	Écorces
1	α -pinène	80-56-8	SM, IR, STD	931	50,87 $\pm$ 3,61
2	sabinène	3387-41-5	SM, IR, STD	964	9,65 $\pm$ 0,44
3	β -myrcène	123-35-3	SM, IR, STD	979	3,22 $\pm$ 0,51
4	o-cymène	527-84-4	SM, IR, STD	1017	2,56 $\pm$ 0,54
5	(E)- β -ocimène	13877-91-3	SM, IR, STD	1041	1,67 $\pm$ 0,09
6	linalool	78-70-6	SM, IR, STD	1078	5,11 $\pm$ 1,03
7	allo-ocimène	7216-56-0	SM, IR	1131	2,12 $\pm$ 0,23
8	4-terpineol	562-74-3	SM, IR, STD	1161	0,65 $\pm$ 0,15
9	4-isopropyl-2-cyclohexenone	500-02-7	SM, IR	1165	3,17 $\pm$ 0,87
10	terpinéol	98-55-5	SM, IR, STD	1190	4,23 $\pm$ 0,63
11	(E)- β -caryophyllène	87-44-5	SM, IR, STD	1424	2,49 $\pm$ 0,14
12	γ -élémente	08-08-42	SM, IR, STD	1440	1,56 $\pm$ 0,08
13	α -humulène	6753-98-6	SM, IR, STD	1456	1,18 $\pm$ 0,07
14	sélina-4(14),7(11)-diène	515-17-3	SM, IR	1495	0,82 $\pm$ 0,25
15	δ -cadinène	483-76-1	SM, IR	1524	1,30 $\pm$ 0,05
16	élémol	639-99-6	SM, IR, STD	1536	1,69 $\pm$ 0,47
17	spathuléol	6750-60-3	SM, IR, STD	1572	0,95 $\pm$ 0,15
18	γ -eudesmol	1209-71-8	SM, IR, STD	1627	5,15 $\pm$ 0,86
19	agarospirol	1460-73-7	SM, IR	1628	1,60 $\pm$ 1,07
Monoterpènes hydrocarbonés (%)					70,09
Sesquiterpènes oxygénés (%)					13,16
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)					7,35
Sesquiterpènes oxygénés (%)					9,39
Total (%)					99,99

Méthodes d'identification : KI, indices de Kovats théoriques (Pubchem et NIST) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence ;

Les écorces sont majoritairement composées de l' α -pinène (50,90%), suivie du sabinène (9,70%), linalool (5,10%), terpinéol (4,20%) et β -myrcène (3,20%).

Les sesquiterpènes trouvés en plus grande quantité dans cette HE des écorces sont l'(*E*)- β -caryophyllène (2,50%) et le γ -eudesmol (5,20%).

En ce qui concerne la composition chimique, nous observons que cette dominance en α -pinène des HE des écorces de cette espèce endémique semble similaire à celle des espèces de *Z. brachyacanthum* (46 à 57% d' α -pinène) et de *Z. ovolifolium* (31-40% d' α -pinène) décrite par **Brophy et al., 2000**. Cependant, la composition des écorces de *Z. mezoneurispinosum* en HE renferme aussi comme dans les feuilles deux (2) composés, le (*E*)- β -ocimène et le γ -eudesmol qui diffèrent de celles décrites dans l'étude susmentionnée (**Brophy et al., 2000**).

2.3.3. Composition chimique des HE des écorces de racines de Grand-Lahou

L'analyse de la composition chimique de l'HE des racines de *Z. mezoneurispinosum* a été réalisée par CPG/SM, 27 composés représentant 99,9% de la composition chimique globale, ont été identifiés. Le profil chromatographique (**figure 58**) présente les différentes compositions sont représentés dans le **tableau 19**.

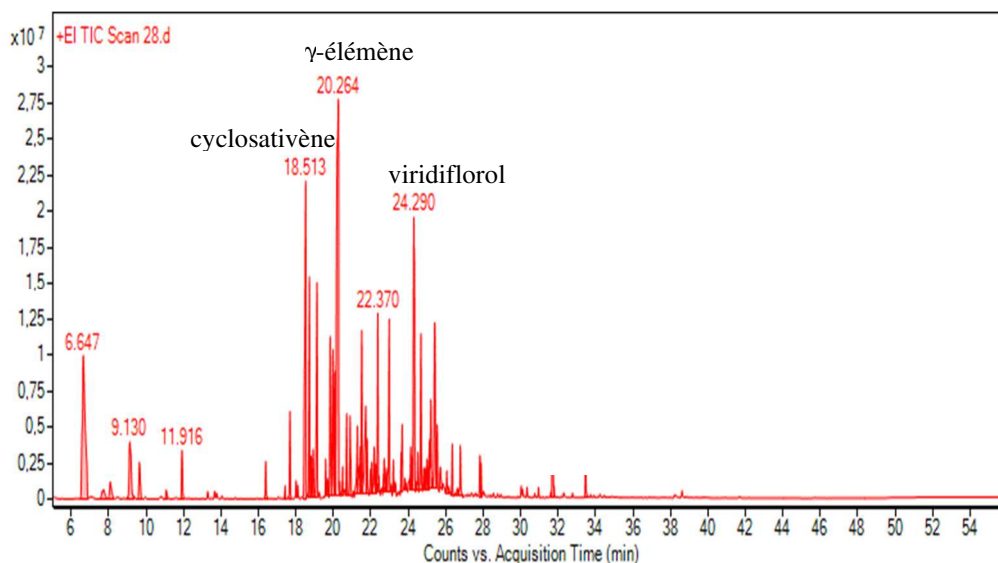


Figure 58 : Profil chromatographique de l'HE des racines de *Z. mezoneurispinosum*

Tableau 19: Composition chimique de l'HE des racines de *Z. mezoneurispinosum*

N°	Composés	Référence	Identification	IK	Racines
1	α -pinène	80-56-8	SM, IR, STD	931	11,00 $\pm$ 0,52
2	sabinène	3387-41-5	SM, IR, STD	964	0,34 $\pm$ 0,02
3	β -pinène	18172-67-3	SM, IR, STD	978	0,65 $\pm$ 0,02
4	β -myrcène	123-35-3	SM, IR, STD	979	1,06 $\pm$ 0,02
5	limonène	138-86-3	SM, IR, STD	1020	1,42 $\pm$ 0,12
6	eucalyptol	470-82-6	SM, IR, STD	1035	1,63 $\pm$ 0,09
7	(E)- β -ocimène	13877-91-3	SM, IR, STD	1041	0,70 $\pm$ 0,04
8	linalool	78-70-6	SM, IR, STD	1078	0,32 $\pm$ 0,02
9	allo-ocimène	7216-56-0	SM, IR	1131	0,76 $\pm$ 0,04
10	thymol	89-83-8	SM, IR, STD	1266	0,67 $\pm$ 0,23
11	α -cubebène	17699-14-8	SM, IR	1349	0,44 $\pm$ 0,02
12	cyclosativène	22469-52-9	SM, IR	1368	11,88 $\pm$ 0,18
13	α -copaène	3856-25-5	SM, IR, STD	1376	5,40 $\pm$ 0,09
14	cadina-4(14),7(11)-diène	54324-03-7	SM, IR	1430	2,52 $\pm$ 0,05
15	γ -élémente	08-08-42	SM, IR, STD	1440	24,81 $\pm$ 0,26
16	germacrène D	23986-74-5	SM, IR, STD	1482	2,36 $\pm$ 0,20
17	β -sélénène	17066-67-0	SM, IR, STD	1493	4,48 $\pm$ 0,16
18	selina-4(14),7(11)-diène	515-17-3	SM, IR	1495	0,89 $\pm$ 0,02
19	δ -cadinène	483-76-1	SM, IR	1524	3,67 $\pm$ 0,15
20	élémol	639-99-6	SM, IR, STD	1536	4,98 $\pm$ 0,31
21	spathuénol	6750-60-3	SM, IR, STD	1572	2,49 $\pm$ 0,03
22	guaïol	489-86-1	SM, IR	1580	1,59 $\pm$ 0,21
23	veridiflorol	552-02-3	SM, IR, STD	1587	7,09 $\pm$ 0,23
24	γ -eudesmol	1209-71-8	SM, IR, STD	1627	4,32 $\pm$ 0,12
25	agarospirol	1460-73-7	SM, IR	1628	0,74 $\pm$ 0,07
26	$\square$ -cadinol	5937-11-1	SM, IR	1639	2,04 $\pm$ 0,12
27	juniper camphor	473-04-1	SM, IR	1675	1,75 $\pm$ 0,18
Monoterpènes hydrocarbonés (%)					15,93
Sesquiterpènes oxygénés (%)					2,62
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)					56,45
Sesquiterpènes oxygénés (%)					25,00
Total (%)					99,9

Méthodes d'identification : KI, indices de Kovats théoriques (Pubchem et NIST) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence ; -, Sous le seuil de perception,

Dans l'HE des racines, ce sont les sesquiterpènes hydrocarbonés (56,45%) qui prédominent. Ils sont suivis des sesquiterpènes oxygénés (25,00%), des monoterpènes hydrocarbonés (15,93%) et les monoterpènes oxygénés (2,62%) (**figure 59**).

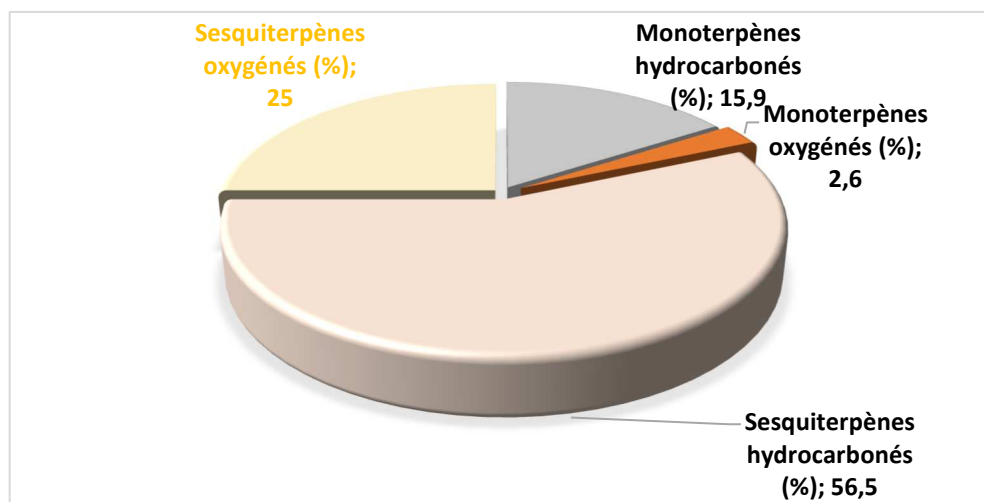


Figure 59 : Proportion des différentes familles de composés extraits des HE des racines

L'HE des racines est riche en sesquiterpènes dominée par le γ -élémane (24,81%), le cyclosativène (11,88%), suivie du viridiflorol (7,09%), α -copaène (5,40%) et en élémol (4,98%). Les plus importants des sesquiterpènes sont le β -selinène (4,48%) et γ -eudesmol (4,32%) et les monoterpènes qui dominés par l' α -pinène (11,00%).

En outre, nous avons observé que l'HE isolée des racines est riche en sesquiterpènes dont un nouveau composé décrit pour la première fois dans l'HE du genre *Zanthoxylum*. Il s'agit du cyclosativène (11,90 %). Cette molécule avait été identifiée auparavant dans les feuilles des huiles essentielles de *Xylopi aromaticum* et de *Persea americanum* en petite quantité, qui sont cultivées à Cuba (**Pino et al., 2000**). La teneur élevée en cyclosativène est importante pour la valorisation de cette huile essentielle car cette molécule a de fortes propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et insecticides (**Lee et al., 2016 ; Turkez et al., 2015 ; Kang et al., 2018 ; Werz O.**

2007). Selon Wungsintawee et *al.*, (2010) et Kang et *al.*, (2008), l' γ -élémane (24,81%) est une molécule connue pour ses propriétés insecticides, antimicrobiennes et antioxydantes, a été signalée en grande quantité dans l'huile essentielle extraite de racines de *Z. mezoneurispinosum*.

2.3.4. Composition chimique des HE des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* récoltées dans la forêt du Banco d'Abidjan

Les récoltes sont faites sur le même site mais à différentes périodes soit au mois d'Octobre 2017 et au mois de Janvier 2018.

Les deux échantillons d'HE ont été analysés par CPG-SM. Les rendements qui varient de 0,5 à 0,6% sont similaires à celui décrit plus haut.

L'analyse de l'HE des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* récoltées à la réserve naturelle du Banco à Abidjan par CPG-SM a permis d'identifier 24 composés (tableau 20) dont 12 monoterpènes et 12 sesquiterpènes qui représentent 98,93 à 98,94% de la composition totale de l'huile essentielle.

Ces deux échantillons d'HE sont caractérisés par la prédominance des monoterpènes hydrocarbonés (71,16% et 44,62%) et des sesquiterpènes hydrocarbonés (20,31% et 35%) suivis des sesquiterpènes oxygénés (3,99% et 11,56%), des monoterpènes oxygénés (3,48% et 6,68%) et un diterpène (1,07%).

Les principaux constituants de l'huile sont l' α -pinène (55,44% et 33,40%), le (*E*)- β -caryophyllène (12,47% et 20,14%), suivie de l' α -humulène (3,48% et 6,77%), le limonène (5,43% et 4,61%) et le linalool (3,48% et 5,35%). À côté de ces composés dominants, il existe quelques composés de teneurs non négligeables qui sont présents ou absents d'un échantillon à l'autre comme l'oxyde de caryophyllène (6,83%), l'allo-cimène (3,08%) et le δ -cadinène (3,08%).

Les échantillons des HE des feuilles des deux localités sont caractérisés par les monoterpènes hydrocarbonés prédominés par l' α -pinène.

Nous en déduisons que la composition chimique de l'HE des feuilles de cette espèce *Z. mezoneurispinosum* est dominée par l' α -pinène sur les sites. Cependant, le sabinène et le (*E*)- β -ocimène sont en proportions élevées à Grand-Lahou, contrairement au Banco, où c'est le (*E*)- β -caryophyllène qui représente le deuxième composé majoritaire.

Tableau 20: Composition chimique de l'HE des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* échantillonnée au Banco

N°	Composés	Référence	Identification	IK	OCT 17	JAN 18
1	α -pinène	80-56-8	SM, IR, STD	931	55,44 $\pm$ 0,59	33,40 $\pm$ 0,19
2	Sabinène	3387-41-5	SM, IR, STD	964	tr	0,74 $\pm$ 0,05
3	β -pinène	18172-67-3	SM, IR, STD	978	1,14 $\pm$ 0,16	tr
4	β -myrcène	123-35-3	SM, IR, STD	979	1,80 $\pm$ 0,11	1,77 $\pm$ 0,12
5	limonène	138-86-3	SM, IR, STD	1020	5,43 $\pm$ 0,32	4,61 $\pm$ 0,11
6	(E)- β -ocimène	13877-91-3	SM, IR, STD	1041	3,30 $\pm$ 0,07	1,02 $\pm$ 0,02
7	linalool	78-70-6	SM, IR, STD	1078	3,48 $\pm$ 0,02	5,35 $\pm$ 0,13
8	4-ethylanisole	1515-95-3	SM, IR, STD	1091	tr	0,79 $\pm$ 0,02
9	alloocimène	7216-56-0	SM, IR	1131	3,09 $\pm$ 0,13	1,67 $\pm$ 0,06
10	4-terpinéol	562-74-3	SM, IR, STD	1177	0,96 $\pm$ 0,04	0,62 $\pm$ 0,02
11	terpinéol	98-55-5	SM, IR, STD	1190	tr	tr
12	thymol	89-83-8	SM, IR, STD	1266	tr	1,33 $\pm$ 0,03
13	α -copaène	38-25-5	SM, IR, STD	1376	1,72 $\pm$ 0,08	2,43 $\pm$ 0,06
14	(E)- β -caryophyllène	87-44-5	SM, IR, STD	1424	12,47 $\pm$ 0,52	20,14 $\pm$ 0,77
15	bergamotène	17699-05-7	SM, IR, STD	1433	tr	0,47 $\pm$ 0,02
16	α -humulène	6753-98-6	SM, IR, STD	1456	3,48 $\pm$ 0,07	6,77 $\pm$ 0,17
17	α -muurolène	483-75-0	SM, IR, STD	1479	tr	0,46 $\pm$ 0,02
18	β -bisabolène	495-61-4	SM, IR, STD	1500	1,07 $\pm$ 0,01	1,65 $\pm$ 0,05
19	δ -cadinène	483-76-1	SM, IR	1524	1,57 $\pm$ 0,10	3,08 $\pm$ 0,22

20	nérolidol	7212-44-4	SM, IR, STD	1548	1,26 ± 0,05	4,32 ± 0,21
21	spathuléol	6750-60-3	SM, IR, STD	1572	tr	tr
22	Oxyde de caryophyllène	1139-30-6	SM, IR, STD	1578	2,73 ± 0,07	6,83 ± 0,04
23	τ -cadinol	5937-11-1	SM, IR	1639	tr	0,41 ± 0,04
24	phytol	150-86-7	SM, IR, STD	2104	tr	1,07 ± 0,04
Monoterpènes hydrocarbonés (%)					71,16	44,62
Monoterpènes oxygénés (%)					3,48	6,68
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)					20,31	35,00
Sesquiterpènes oxygénés (%)					3,99	11,56
Diterpènes (%)					0	1,07
Total (%)					98.94	98.93

Méthodes d'identification : KI, indices de kovats théoriques (Pubchem et NIST) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques PAL 600® ; STD, comparaison du temps de rétention et des spectres de masse avec les étalons disponibles dans le commerce ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ; référence.

Les composants chimiques des HE des feuilles, des écorces du tronc et des racines de *Z. mezoneurispinosum* de Grand Lahou sont essentiellement les monoterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes hydrocarbonés pour les organes aériennes et souterraine respectivement.

Nous observons une variation de composés dans les HE de ces trois plantes ivoiriennes. La **figure 60** présente les différents composés majoritaires des HE de ces 3 espèces de *Zanthoxylum* de Côte d'Ivoire.

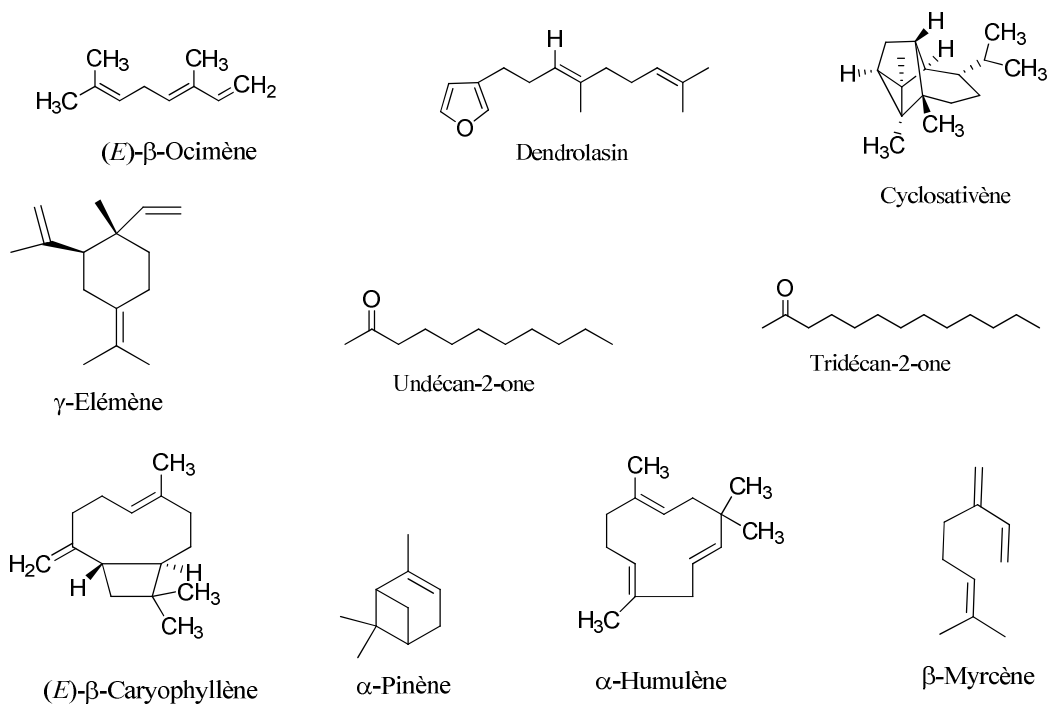


Figure 60 : Composés majoritaires des HE de *Z. leprieurii*, *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum*

3. Conclusion partielle sur les he des trois espèces de *zanthoxylum*

Les huiles essentielles des feuilles et des écorces du tronc de *Z. leprieurii* sont dominées par les composés non-terpéniques et les sesquiterpènes dont les plus importants sont le tridécane-2-one, le (*E*)- β -caryophyllène et le dendrolasin. Quant aux fruits, l'HE est dominée par les monoterpènes que sont le β -myrcène, le citronellol, le géraniol et le nérate de méthyl. L'étude de l'effet des saisons a mis en évidence une certaine homogénéité de la composition chimique des organes des huiles essentielles de cette espèce.

L'espèce *Z. psammophilum* présente des constituants chimiques similaires à celles de *Z. leprieurii*. Ainsi, les huiles essentielles des feuilles et des écorces sont dominées par les méthylcétones (tridécane-2-one et undécane-2-one). L'HE des écorces est très particulière avec seulement 4 composés représentant la quasi-totalité de sa composition chimique (les 2 méthylcétones très abondantes et 2 alcools très minoritaires que sont le tridécane-2-ol et l'undécane-2-ol). Par contre, l'HE de racines de la plante est dominée par des terpènes (*E*)- β -caryophyllène, thymol et α -humulène). À notre connaissance, cette étude est la première sur la détermination de la composition chimique des HE de cette espèce endémique.

Quant à l'espèce *Z. mezoneurispinosum*, également endémique à la Côte d'Ivoire, la composition chimique de ses HE est déterminée pour la première fois à notre connaissance. Les compositions chimiques des HE de cette espèce diffèrent de celles des deux premières. En effet, ses HE de feuilles et des écorces de tronc sont largement dominées par les monoterpènes dont majoritairement l' α -pinène, suivi du sabinène. À l'inverse l'HE des racines est dominée par des sesquiterpènes (γ -élémane et cyclosativène), suivi d'un monoterpène (α -pinène).

Il ressort ainsi de cette étude, une similitude des compositions chimiques des HE de *Z. leprieurii* et de *Z. psammophilum* au niveau des feuilles et des écorces de tronc. Aussi, l'étude de la variabilité de la première espèce *Z. leprieurii* a permis de regrouper les organes. Cependant, il y a des différences de compositions, montrant l'impact de l'effet saisonnier. Quant à la troisième espèce, *Z. mezoneurispinosum*, elle présente des compositions chimiques différentes de celles observées pour les deux premières. Néanmoins, chaque espèce présente pour chaque organe étudié, une certaine homogénéité de la composition chimique.

Chapitre 4.

**Evaluation des propriétés biologiques des
HE des trois espèces**

1. Propriétés biologiques des HE de *Z. Leprieurii*, *Z. Mezoneurispinosum* et *Z. Psammophilum*

Afin d'ajouter une valeur supplémentaire à l'utilisation de ces plantes dans la pharmacopée, des tests biologiques *in vitro* ont été réalisés en référence à leurs compositions chimiques.

Les activités biologiques testées sont : l'activité antioxydante, l'activité anti-inflammatoire, l'activité insecticide et l'activité anti-plasmodiale.

1.1. Activités antioxydantes des différentes HE

L'activité antioxydante des HE a été évaluée par les méthodes de DPPH et FRAP.

1.1.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'activité antioxydante de l'HE des organes des 3 espèces évaluée par le test de piégeage du radical DPPH, a donné des valeurs qui nous ont permis de tracer des courbes du pourcentage d'activité antiradicalaire de chaque espèce en comparaison avec le contrôle positif. Les différentes **figures 61,62 et 63** montrent que l'activité antiradicalaire est dose dépendante, car elle est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons. Chaque valeur est représentée en triplicat.

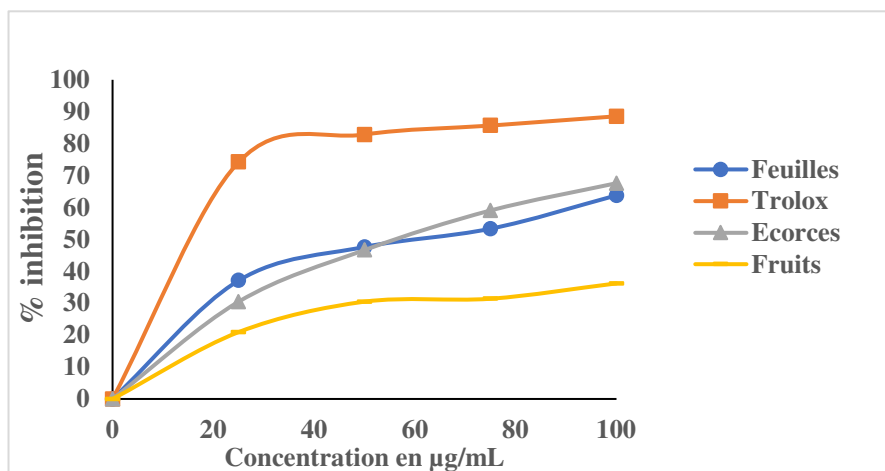


Figure 61: Courbe d'évolution de l'activité antiradicalaire de l'HE des feuilles, écorces et des fruits de *Z. lepieurii* et du trolox

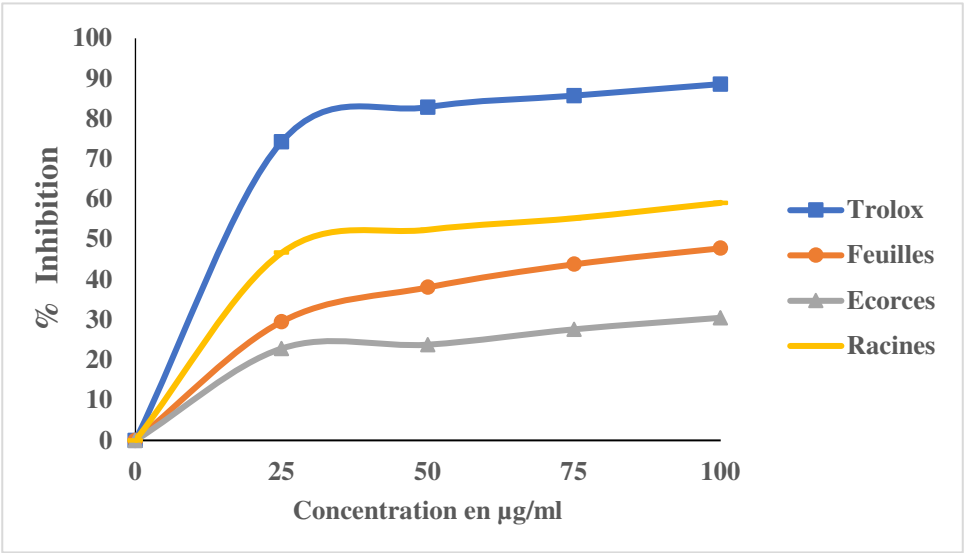


Figure 62 : Courbe d'évolution l'activité antiradicalaire de l'HE des feuilles, écorces et des racines de *Z. psammophilum* et du trolox

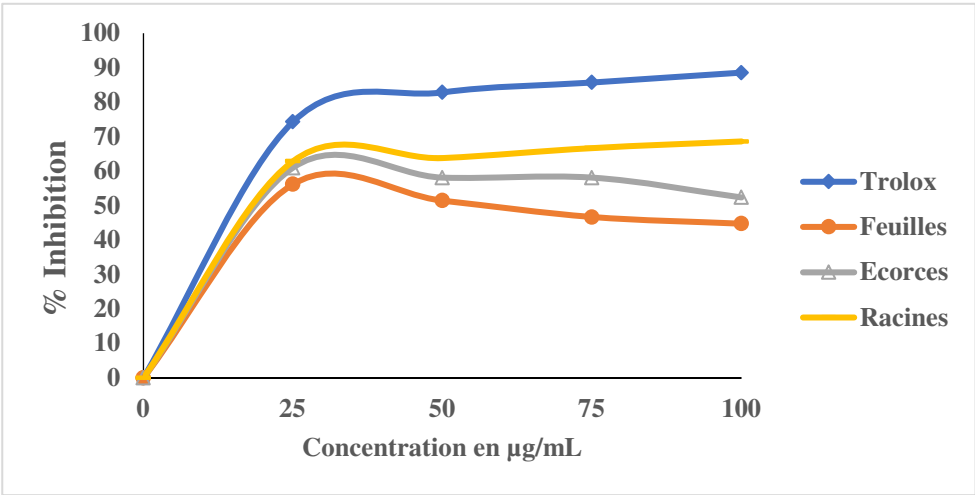


Figure 63 : Courbe d'évolution de l'activité antiradicalaire de l'HE des feuilles, écorces et des racines de *Z. mezoneurispinosum* et du trolox

Certaines huiles essentielles sont capables de réduire le radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl libre (DPPH) en diphenylpicrylhydrazine de couleur jaune à des degrés variables. Les équations des courbes, nous ont permis de déterminer l'IC₅₀, qui correspond aux concentrations des HE et du témoin positif (trolox) nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH présent dans le milieu. Une augmentation de la concentration en HE induit à une activité antioxydante plus élevée (p-valeur < 0,05) pour les plantes. Selon les espèces et les organes, les valeurs IC₅₀ des HE varient. Par ailleurs, plus l'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante est importante. Les valeurs des IC₅₀ montrent que l'activité antiradicalaire du trolox est inférieure à celles des HE (tableau 21).

Tableau 21 : Résultats de l'activité antiradicalaire (DPPH) de l'HE des différents organes de *Z. lepreurii*, *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum*

Antioxydant		IC ₅₀ (µg/mL)
Trolox		28,13 ± 0,04
<i>Z. lepreurii</i>	Feuilles	33,12 ± 0,07
	Écorces	65,68 ± 0,12
	Fruits	103,55 ± 0,35
<i>Z. psammophilum</i>	Feuilles	91,50 ± 1,40
	Écorces	160,50 ± 2,10
	Racines	64, 50 ± 1,50
<i>Z. mezoneurispinosum</i>	Feuilles	71,40 ± 0,50
	Écorces	58,10 ± 1,20
	Racines	45,80 ± 0,10

On remarque que, les valeurs des IC₅₀ sont de l'ordre suivant : trolox < HE feuilles de *Z. lepreurii* < HE racine de *Z. mezoneurispinosum* < HE écorces de *Z. mezoneurispinosum* < HE racines *Z. psammophilum* < HE écorces *Z. lepreurii* < HE feuilles *Z. mezoneurispinosum* < HE feuilles *Z. psammophilum* < HE fruits *Z. lepreurii* < HE écorces *Z. psammophilum*. Parmi ces HE, celle des feuilles de *Z. lepreurii* présente l'activité au test du DPPH la plus élevée avec 33,12 µg/mL. Elle est suivie par l'activité des HE des racines et des écorces de *Z. mezoneurispinosum* (45,8 µg/mL et 58,1 µg/mL respectivement). Aussi, des activités modérées sont-elles observées dans les HE des racines de *Z. psammophilum* (64,5 µg/mL), les écorces de *Z. lepreurii* (65,68 µg/mL) et les feuilles de *Z. mezoneurispinosum* (71,4 µg/mL). Enfin, les faibles activités se retrouvent dans les HE des feuilles de *Z. psammophilum*

(91,5 µg/mL), suivie par les HE des fruits de *Z. leprieurii* (103,55 µg/mL) et les écorces de *Z. psammophilum*.

Les différents composés déterminés dans les HE des organes de *Z. leprieurii* sont probablement à la base de l'activité antioxydant (**Huang et al., 2005 ; Foti et al., 2004**). La forte activité des feuilles est due à la teneur élevée en (*E*)-β-caryophyllène et en thymol ; ces molécules sont connues pour leurs activités antioxydantes (**Torres-Martinez et al., 2017**). Ces composés sont présents dans toutes les HE des différents organes. Aussi, les composés tels que (*E*)-β ocimène, périllène et oxyde de caryophyllène identifiés dans les HE sont connus pour leurs activités antioxydantes (**Ghasemi et al., 2016 ; Kunwar et al., 2013**). À notre connaissance, à ce jour aucune étude n'a encore été réalisée sur l'activité antioxydante de l'HE des écorces du tronc. Cependant, celle réalisée sur les feuilles de *Z. armatum* de l'Inde présente une activité légèrement supérieure à la nôtre, avec une IC₅₀ de 27 µg/mL (**Negi et al., 2012**). Par ailleurs, les résultats de nos activités diffèrent de ceux disponibles dans la littérature. Ainsi les travaux de **Tchabong et al. (2018)** et **Fogang et al. (2012)** ont des valeurs de IC₅₀ de 770 µg/mL et 1800 µg/mL pour les huiles essentielles des fruits et des feuilles et une IC₅₀ de 450 µg/mL pour les HE des fruits de *Z. leprieurii* du Cameroun.

Ces différences entre les HE d'un pays à un autre peuvent être dues à la variabilité de la composition chimique. Elles peuvent également être attribuées à la présence et la synergie des différents composés mineurs. Ces différences peuvent provenir également de l'organe étudié, car nous avons montré que la variabilité de la composition des HE provient principalement de l'organe choisi, mais aussi de facteurs génétiques et/ou environnementaux.

Concernant *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum*, nous observons que *Z. mezoneurispinosum* présente une activité radicalaire plus importante que *Z. psammophilum* en raison de leurs compositions chimiques. La meilleure activité antioxydante des HE de *Z. mezoneurispinosum* est due aux constituants monoterpéniques et sesquiterpéniques, car ces HE sont riches en monoterpènes, qui sont des molécules connues pour leur forte activité antioxydante (**Negi et al., 2011**). De plus, la grande activité enregistrée dans l'HE des racines contenait une forte proportion de thymol qui est une molécule connue pour ses propriétés antioxydantes (**Aman et al., 2013 ; Celebioglu et al., 2018**). Plusieurs études ont montré que l'activité d'une HE est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre les constituants ; elles ont aussi démontré qu'une grande activité antioxydante des HE contiennent des monoterpènes et / ou des sesquiterpènes. (**Oussou et al., 2010 ; Gachkar et al., 2007 ; Miladi et al., 2013 ; Tepe et al., 2004**). Cependant, la faible activité de l'HE des écorces des *Z. psammophilum* pourrait être due aux composés non terpéniques (tridécan-2-one et undécan-2-one). Par ailleurs, des études antérieures sur d'autres espèces du genre *Zanthoxylum* a permis d'observer une activité modérée des HE et extraits de solvants (**Tangjitjaroenkun et al., 2012 ; Supabphol et al., 2014**) comparativement à d'autres espèces de *Zanthoxylum* décrites dans ce travail. L'activité antioxydante de ces 2 dernières espèces (*Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum*) est présentée pour la première fois dans cette étude.

1.1.2. Évaluation du pouvoir réducteur de fer (FRAP)

L'activité antioxydante des HE a également été évaluée à l'aide du test du pouvoir réducteur. Le test FRAP est basé sur la capacité de l'antioxydant à réduire le fer ferrique [Fe (III)] en fer ferreux [Fe(II)] (**Pellegrini et al., 2003**) en présence de la solution de tripydyltriazine (TPTZ), formant un complexe bleu intense de Fe^{2+} -TPTZ que les HE des organes de *Z. leprieurii*, *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum* avec un maximum d'absorption à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance est proportionnelle à la teneur en antioxydants (**Benzie et al., 1999 ; Roginsky et al., 2005**). Le pouvoir réducteur est dose dépendante (concentration dépendante).

Les résultats obtenus présentés sur les **figures 64 à 66** montrent que les HE ont tendance à réduire le Fe^{3+} (**Gogio et al., 2018**) avec une différence non significative ($p\text{-valeur} < 0.05$) pour l'HE de *Z. leprieurii* et ($p\text{-valeur} < 0.001$) pour *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum*. À l'intérieur d'une concentration, les lettres a, b, c, d, respectivement du plus actif au moins actif, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes. Ainsi, les HE de *Z. mezoneurispinosum* sont plus actives que celles de *Z. psammophilum* et *Z. leprieurii* comparativement au Trolox. Cependant, les HE des racines, des écorces et des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* réduisent mieux le Fer par rapport aux autres organes de *Z. psammophilum* et *Z. leprieurii*.

Le pouvoir réducteur est un indicateur très significatif de l'activité antioxydante. Plus le pouvoir réducteur est élevé, plus il existe une bonne activité antioxydante. La forte activité antioxydante des HE de *Z. mezoneurispinosum* peut être due à la forte teneur en monoterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes hydrocarbonés (**Peerakan et al., 2014**). Par contre, l'étude réalisée par **Juki et al., (2006)** montre le contraire. Selon lui, ce sont les monoterpènes oxygénés qui sont à la base de l'activité antioxydante.

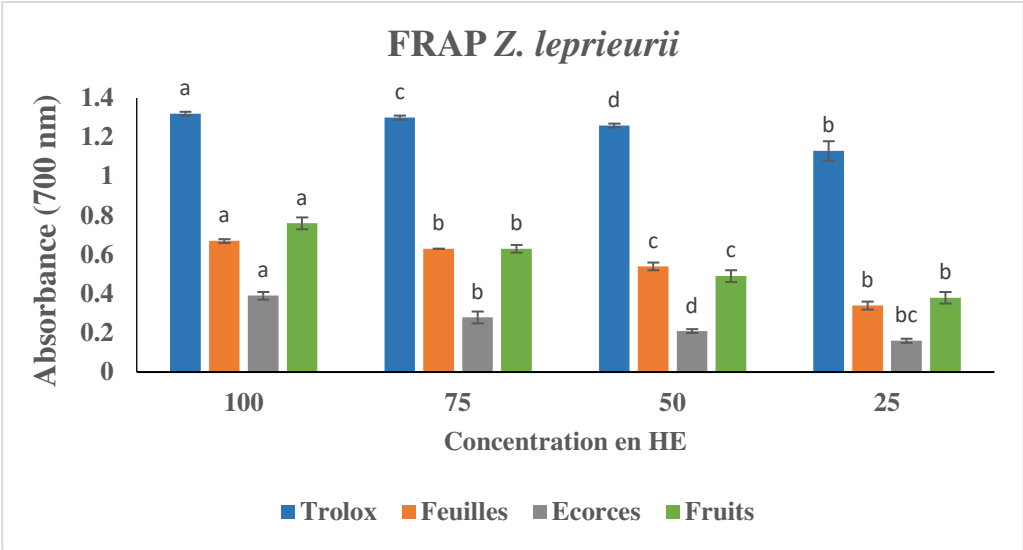


Figure 64 : Reduction du Fer par HE des feuilles, des écorces et des fruits de *Z. leprieurii* et le trolox.

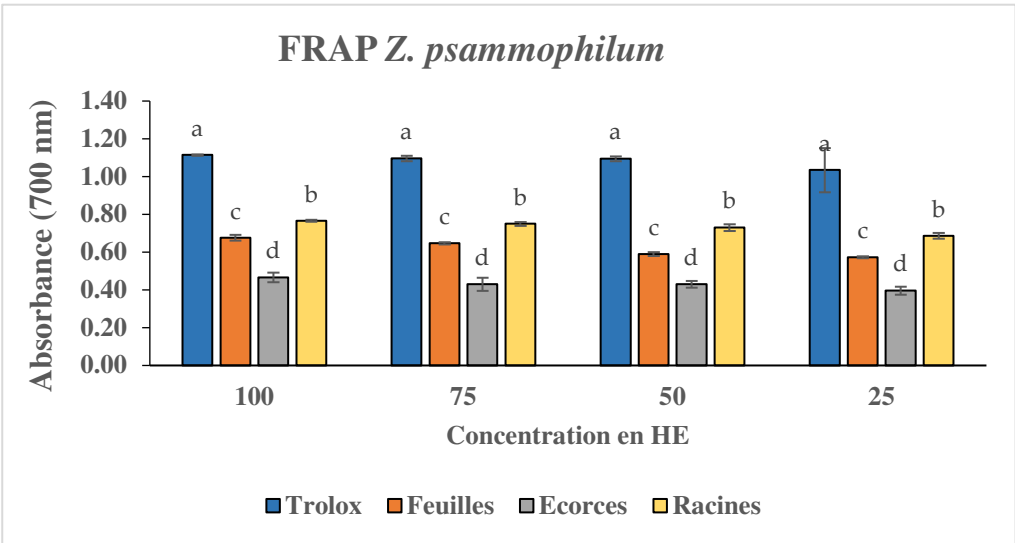


Figure 65 : Reduction du Fer par HE des feuilles, des écorces et des racines de *Z. psammophilum* et le trolox.

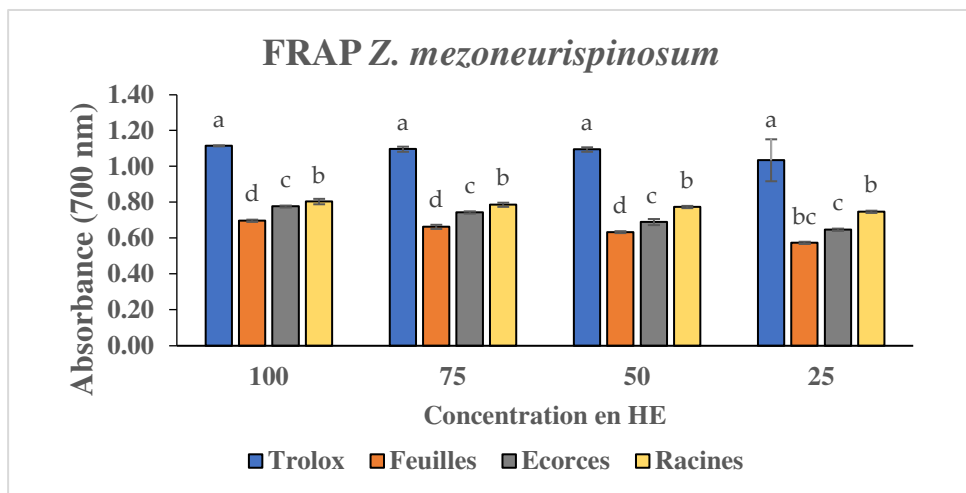


Figure 66 : Reduction du Fer par HE des feuilles, des écorces et des racines de *Z. mezoneurispinosum* et le trolox.

Étant donné que l'HE de *Z. mezoneurispinosum* est riche en α -pinène et sabinène pour les feuilles et les écorces du tronc et γ -élémane, cyclosativène et α -pinène pour les racines, l'activité peut être due à l'effet synergique des composés minoritaires ou autres composés capables de réduire le Fer. Quant aux 2 autres, nous remarquons que les activités des HE des racines et des fruits sont plus élevées que les autres organes en raison de leurs dominances en sesquiterpènes hydrocarbonés et monoterpènes hydrocarbonés.

Dans cette étude, nous constatons que les teneurs élevées en monoterpènes hydrocarbonés et sesquiterpènes hydrocarbonés permettent de réduire le Fer.

Aussi, avons-nous pratiqué dans cette étude deux méthodes (DPPH et FRAP) pour évaluer le potentiel antioxydant des HE de nos 3 plantes (*Z. leprieurii*, *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum*). Ces deux tests sont souvent différents pour un même organe de la même espèce, comme le cas des feuilles et des fruits de *Z. leprieurii* dont les HE des feuilles présentent une activité meilleure à celles des fruits. Par contre, avec le test de FRAP, les fruits présentent une activité élevée par rapport aux feuilles. Cela pourrait s'expliquer en comparaison avec la composition chimique de chaque organes (feuilles et fruits). En ce qui concerne, les fruits, la composition chimique est majoritairement dominée par les monoterpènes contrairement aux feuilles. Aussi, cette composition des fruits pourrait provoquer la réduction de l'ion Fe^{3+} à la forme Fe^{2+} (Al-Farsi et al., 2005). Ces variations des activités antioxydantes des HE entre les deux tests peuvent s'expliquer notamment par les différences dans les réactifs utilisés par chaque méthode (Ouedraogo et al., 2015) et les composés présentent en grandes quantités ou non connus pour leurs propriétés biologiques.

1.2. Activités anti-inflammatoires des différentes HE

Afin d'évaluer le potentiel anti-inflammatoire *in vitro* des HE de nos trois plantes, leur activité inhibitrice de la lipoxycgénase a été évaluée, tandis que la méthode anti-dénaturation du sérum d'albumine bovine (SAB) a été réalisée avec *Z. leprieurii* uniquement.

1.2.1. Activité inhibitrice de la lipoxycgénase des différentes HE

Le potentiel anti-inflammatoire des HE *Z. leprieurii*, *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum* est évalué par la méthode enzymatique de la 5-lipoxycgénase. Cette enzyme est impliquée dans le processus de l'inflammation. La quercétine a été utilisée comme étalon de référence. Les résultats sont exprimés en IC₅₀ et présentés dans le **tableau 22**. De ces HE des trois plantes testées au total. L'HE des racines, des écorces et des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* (p-valeur < 0,05) ont présenté la meilleure activité inhibitrice de la lipoxycgénase avec des valeurs IC₅₀ de 25,30 ± 2,20 µg/mL, 26,20 ± 0,20 µg/mL et 26,40 ± 0,20 µg/mL respectivement. Cette activité est considérable proche de celle de la quercétine utilisée comme contrôle positif qui est de 21,6 0 ± 0,10 µg/mL. Les HE de *Z. leprieurii* (les feuilles (26,26 ± 0,04 µg/ml), les écorces (28,40 ± 0,02 µg/mL) et les fruits (32,42 ± 0,15 µg/mL)) et *Z. psammophilum* (racines (27,60 ± 0,10 µg/mL), les feuilles (28,40 ± 0,1 µg/mL) et les écorces (31,30 ± 0,0 µg/mL)) présentent une activité inhibitrice de la lipoxycgénase modérée par rapport à la première espèce. Ces résultats pourraient s'expliquer par la différence de la teneur en composition chimique des organes en monoterpènes, sesquiterpènes et en méthylcétones. En ce qui concerne *Z. leprieurii*, les propriétés anti-inflammatoires ont été plus évaluées sur les extraits par rapport aux HE. Cependant, nos résultats viennent confirmer celle des études sur cette espèce poussant dans divers autres endroits (**Negi et al., 2011 ; Adebayo et al., 2015**). L'activité anti-inflammatoire *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum* est due à la présence du (E)-β-caryophyllène, α-pinène et des méthylcétones connus pour leur activité anti-inflammatoire élevées (**Dang et al., 2005 ; Femandes et al., 2007 ; Kim et al., 2015 ; Chen et al., 2014**). Il pourrait donc être intéressant de tester aussi ces HE sur la fonction cyclo-oxygénase de la prostaglandine-H synthase (PGHS), afin de constituer l'activité thérapeutique *in vivo* et de comprendre le mécanisme de son l'activité biologique (**Bedi et al., 2004 et 2010**).

Tableau 22 : Activité inhibitrice de la lipoxygénase des HE_s de *Z. lepreurii*, *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum*, les données en triplicat.

Inhibition de la lipoxygénase		IC ₅₀ (µg/mL)
Quercétine		21,60 ± 0,10
<i>Z. lepreurii</i>	Feuilles	26,26 ± 0,04
	Écorces	28,40 ± 0,02
	Fruits	32,42 ± 0,15
<i>Z. psammophilum</i>	Feuilles	28,40 ± 0,01
	Écorces	31,30 ± 0,00
	Racines	27,60 ± 0,10
<i>Z. mezoneurispinosum</i>	Feuilles	26,40 ± 0,20
	Écorces	26,20 ± 0,20
	Racines	25,30 ± 0,20

1.2.2. Inhibition de la dénaturation de l'albumine de l'HE de *Z. lepreurii*

Le tableau montre les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'HE des feuilles, des écorces et des fruits de *Z. lepreurii* qui consiste à évaluer les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de Sérum albumine Bovine (SAB). Les résultats sont exprimés en IC₅₀ (**tableau 23**).

Tableau 23 : Activité inhibitrice de la dénaturation de l'albumine de l'HE de *Z. lepreurii*

Témoin et Organes	IC ₅₀ (µg/mL)
Diclofénac sodium	21,90 ± 0,08
Feuilles	26,08 ± 0,12
Écorces	35,07 ± 0,15
Fruits	26,68 ± 0,09

On remarque d'après les résultats présentés dans le Tableau 18 que les feuilles ont donné une meilleure inhibition de la dénaturation de SAB avec 21,90 ± 0,08 µg/mL, suivie des fruits (26,68 ± 0,09 µg/mL) et des écorces (35,07 ± 0,15 µg/mL) comparativement au Diclofénac sodium (21,90 ± 0,08 µg/mL). Les résultats ont montré que ces HE sont doués d'activité anti-inflammatoire. En outre, le pourcentage de protection de la BSA dépend de l'HE (p-valeur < 0,05). L'origine de ces hautes activités inhibitrices de la lipoxygénase peut être dues à la différence de teneur de

l'HE des organes en monoterpènes, en méthylcétones et en sesquiterpènes, qui sont connus pour leurs activités anti-inflammatoires (da Silva et al., 2012 ; Chen et al., 2014 ; kim et al., 2015). C'est aussi dans ce travail que la méthode anti-dénaturation du sérum d'albumine bovine (BSA) sur les HE de *Z. leprairiei* a été évaluée pour la première fois.

1.3. Activités insecticides des différentes HE

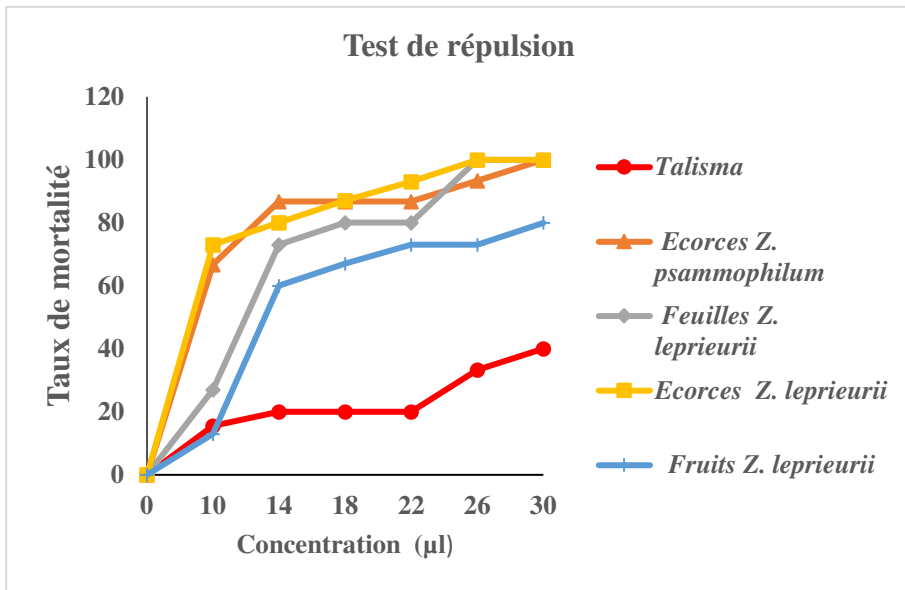
Face aux effets néfastes de l'utilisation des insecticides de synthèse sur l'environnement, d'importants travaux ont été effectués dans le souci de réduire voire d'éradiquer complètement leur utilisation. C'est ainsi que des substances d'origine végétale telles que les HE ont été testées. Aussi, cette activité élevée est-elle menée dans le but de freiner les pertes dues aux infestations d'insectes et pour développer des alternatives de sécurisation des denrées stockées. Seules les HE des écorces de *Z. psammophilum* et des feuilles, des écorces et des fruits de *Z. leprairiei* sont concernées. Afin d'évaluer l'activité insecticide des méthylcétones, notre choix s'est porté sur ces deux plantes. Cette activité a été réalisée selon deux méthodes : le test de répulsion et le test de l'évaluation de la mortalité par effet de contact.

1.3.1. Effet répulsif sur papier filtre de *Sitophilus granarius* par les HE et Talisma UL

Le **tableau 24** montre les pourcentages de répulsion à différentes doses des HE de *Z. psammophilum* et *Z. leprairiei*. Après le temps d'exposition, Les doses (10, 14, 18, 22, 26 et 30 μ L) présentent respectivement vis-à-vis du *Sitophilus granarius* les résultats suivants : pour l'écorce de *Z. psammophilum* 66,70% ; 86,70 ; 86,70% ; 86,70% ; 93,33% et 100%. Aussi, pour *Z. leprairiei*, les feuilles ont-elles donné 27,00% ; 73,00% ; 80,00% ; 80,0% ; 100% et 100% ; les écorces (73,00% ; 80,00% ; 87,00% ; 93,00% ; 100% et 100%) et les fruits (13,00%, 60,00% ; 67,00% ; 73, 00% et 80,00%). Toutes ces HE sont comparées à l'insecticide chimique Talisma UL qui, selon les doses, a donné respectivement 15,40% ; 20,00% ; 20,00% ; 20,00% ; 33,33% et 40,00%. Ces analyses ont été répétées 3 fois. Ainsi la **figure 67** montre l'évolution de chaque HE en fonction du pourcentage de répulsion et de la concentration en HE.

Tableau 24 : Pourcentage de répulsion des HE de *Z. psammophilum*, *Z. leprieurii* et de l'insecticide chimique (Talisma UL)

Doses (μ L)	Pourcentage de répulsion (%)				
	Talisma UL	Écorces <i>Z. psammophilum</i>	Feuilles <i>Z. leprieurii</i>	Écorces <i>Z. leprieurii</i>	Fruit <i>Z. leprieurii</i>
10	15,00 $\pm$ 2,64	66,70 $\pm$ 2,08	27,00 $\pm$ 0,60	73,00 $\pm$ 0,5	13,00 $\pm$ 1,15
14	20,00 $\pm$ 1,07	86,70 $\pm$ 0,58	73,00 $\pm$ 1,20	80,00 $\pm$ 0,0	60,00 $\pm$ 0,00
18	20,00 $\pm$ 1,07	86,70 $\pm$ 1,15	80,00 $\pm$ 1,70	87,00 $\pm$ 1,2	67,00 $\pm$ 2,08
22	20,00 $\pm$ 1,07	86,70 $\pm$ 0,58	80,00 $\pm$ 0,00	93,00 $\pm$ 0,6	73,00 $\pm$ 1,15
26	33,33 $\pm$ 0,57	93,33 $\pm$ 0,58	100 $\pm$ 0,00	100 $\pm$ 0,0	73,00 $\pm$ 0,58
30	40,00 $\pm$ 1,73	100 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 0,00	100 $\pm$ 0,0	80,00 $\pm$ 1,00

**Figure 67 :** Courbe de la mortalité de *Sitophilus granarius* traités par les huiles essentielles et le Talisma

Les résultats du tableau et de la figure montrent que l'effet répulsif dépend de la dose. L'effet répulsif de l'HE de ces espèces et de l'insecticide chimique a également été évalué par la méthode McDonald (**tableau 25**). À la lumière de ces résultats, les HE de ces plantes ont un effet répulsif marqué sur l'insecte *Sitophilus granarius* comparativement à l'insecticide chimique Talisma UL (24,78%). Par ailleurs, l'ordre de répulsion des HE est le suivant : écorce de *Z. leprieurii* (88,83%) > écorce de *Z.*

psammophilum (86,68%) > feuille de *Z. leprieurii* (76,66%) > fruit *Z. leprieurii* (61,00%). Cependant l'HE des écorces des deux espèces sont plus actives pour le test de répulsion que celui de l'insecticide chimique. L'effet répulsif peut être attribué à leur composition chimique et aussi à la synergie des composés. En effet, ces deux HE sont totalement et /ou majoritairement dominées par les méthylcétones.

En outre, l'HE des écorces de *Z. leprieurii* se différencie de l'HE de l'écorce de *Z. psammophilum* par la présence de sesquiterpènes. Les méthylcétones ont montré leur pouvoir insecticide tout au long de ce travail. Cependant, il serait difficile de penser que l'activité insecticide de ces huiles se limite uniquement à certains de ses constituants majoritaires. Elle pourrait aussi être due à un effet synergique de plusieurs constituants. Alors que **Ojimekwe et Tapondjou** montrent que les propriétés insecticides sont dues aux monoterpènes tels que α -pinène, le camphre et 1-8 cinéole etc (**Ojimekwe et al., 1999 ; Tapondjou et al., 2005**), nous observons ici le contraire. En effet, la présente étude vient confirmer que c'est plutôt le tridecan-2-one et le undecan-2-one en synergie avec d'autres composés minoritaires de nos HE qui possèdent les meilleures activités insecticides. Aussi, l'activité répulsive de nos HE sont élevées par rapport à d'autres HE considérées comme hautement répulsives (**Toudert et al., 2014**).

Tableau 25 : Classement des organes suivant les pourcentages de répulsion de *Sitophilus granarius* après 2 h de traitement aux HE et Talisma

Substances testées	Moyenne de répulsion (%)	Classe de répulsion	Effet
Écorce de <i>Z. psammophilum</i>	86,68	V	Très répulsif
Feuille de <i>Z. leprieurii</i>	76,66	IV	Répulsif
Écorces de <i>Z. leprieurii</i>	88,83	V	Très répulsif
Fruit de <i>Z. leprieurii</i>	61 ,00	IV	Répulsif
Talisma UL	24,78	II	Faiblement répulsif

1.3.2. Détermination des taux de mortalité de *Sitophilus granarius* par les HE et Talisma UL

La prévention des pertes dues aux infestations d'insectes pendant le stockage des céréales est d'une importance économique primordiale surtout pour les pays en développement (**Talukder et al., 2004 ; Dubey et al., 2008**). Les pertes causées par les insectes comprennent non seulement les pertes directes liées à la consommation d'amandes, mais aussi l'accumulation d'exuvies, les sangles, et les cadavres. Cependant, la consommation de céréales n'est pas la seule perte causée par les insectes, car des niveaux élevés de détritux d'insectes peuvent aboutir à des céréales impropres à la consommation humaine et la perte de produits alimentaires, tant en termes de qualité que de quantité. Environ un tiers de la production alimentaire

mondiale est détruite par les insectes chaque année, cela représente plus de 100 milliards de dollars. Les pertes les plus importantes (43%) se produisent dans les pays en voie développement (Jacobson, M., 1982 ; Ahmed et al., 1986), par exemple la Côte d'Ivoire (Johnson et al., 2017). Dans la zone tropicale, les pertes qualitatives et quantitatives causées par les insectes varient de 20 à 30%, tandis que les pertes sont de 5 à 10% dans les zones tempérées (Rajashekar et al., 2010). Cependant, l'utilisation d'insecticides chimiques pour lutter contre les parasites est peu courante, car la tendance actuelle est l'utilisation des insecticides naturels pour éviter que les résidus chimiques s'accumulent et se renforcent dans les aliments.

Ainsi, les activités insecticides des HE d'écorce de tronc de *Z. psammophilum*, de feuilles, d'écorce et de fruits de *Z. leprieurii* ont été évaluées contre *Sitophilus granarius*, l'un des ravageurs des céréales stockées les plus nuisibles au monde. Cet insecte est très nuisible, car sa caractéristique physiologique et morphologique lui permet de vivre, se déplacer et de déposer ses œufs et de permettre à des parasites secondaires de se développer (Fleurat-Lessard, F., 2018).

Il ressort des résultats issus des tests insecticides d'évaluation du taux de mortalité que l'HE d'écorce de *Z. psammophilum*, de feuilles, d'écorce et de fruit de *Z. leprieurii* ont un effet insecticide sur *Sitophilus granarius*. L'analyse de variance montre qu'il n'existe aucune différence significative entre les HE pour ce qui est du taux de mortalité. Cependant, la concentration de l'huile essentielle a un effet significatif sur le taux de mortalité (P -valeur $< 0,05$). Les résultats ont été exprimés en dose létale (DL) à 50%, 90% et 95% pour chaque HE après 24h d'exposition. Ces valeurs ont été déterminées à partir de la courbe de Hill qui représente le logarithme des doses testées et les pourcentages de mortalité corrigée. Cette analyse s'est faite en probit à l'aide du programme python 3.7 donnant ainsi, les variations de la mortalité en fonction des concentrations des HE.

Les figures 68-72 présentent les variations des taux de mortalité. À la lumière de ces figures,

L'effet insecticide du Talisma UL a permis d'obtenir une courbe de régression de $R^2 = 0,97$, des DL dont une DL_{50} (3,44 $\mu\text{L/mL}$), DL_{90} (27,83 $\mu\text{L/mL}$) et DL_{95} (56,66 $\mu\text{L/mL}$).

Les HE d'écorce de *Z. psammophilum*, de feuille, d'écorce et de fruit de *Z. leprieurii* ont montré une activité insecticide très intéressante avec des courbes de régression de 0,961, 0,935, 0,956 et 0,943 respectivement. Les différentes DL de l'HE sont respectivement les suivantes : DL_{50} de 10,02 $\mu\text{L/mL}$, 15,76 $\mu\text{L/mL}$, 8,87 $\mu\text{L/mL}$ et 11,26 $\mu\text{L/mL}$. Selon l'ordre des HE décrit pour DL_{50} , pour ce qui concerne les DL_{90} et DL_{95} , on note également respectivement les valeurs suivantes : 34,43 $\mu\text{L/mL}$, 26,27 $\mu\text{L/mL}$, 23,69 $\mu\text{L/mL}$, 93,20 $\mu\text{L/mL}$ et 52,38 $\mu\text{L/mL}$, 31,26 $\mu\text{L/mL}$, 33,10 $\mu\text{L/mL}$ et 191, 20 $\mu\text{L/mL}$. Ces activités sont légèrement inférieures à celle de l'insecticide chimique Talisma sur *Sitophilus granarius*. Ces résultats confirment ceux obtenus par Juliet et al. (2011) qui ont montré que les HE de *Z. monophillum* tuent 90 % des insectes. Cependant, la composition chimique de l'HE de *Z. monophillum* était essentiellement constituée de monoterpènes et de sesquiterpènes. Des études ont montré que l'activité insecticide des HE est due à un effet combiné de plusieurs

composés terpéniques (Kouminki et al., 2007 ; Noudjou et al., 2007). Cependant, les HE utilisées pour l'activité insecticide sont majoritairement dominés par les composés non terpéniques. Tout cela vient encore confirmer les activités décrites sur les composantes principales. De plus, en comparaison avec les HE de cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) et de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), généralement décrites comme ayant une forte activité insecticide (Plata-Rueda et al., 2018), nos DL_{50} des HE sont plus faibles, ce qui montre une meilleure activité insecticide de ces dernières et ouvre donc des perspectives d'application dans la protection des denrées alimentaires stockées.

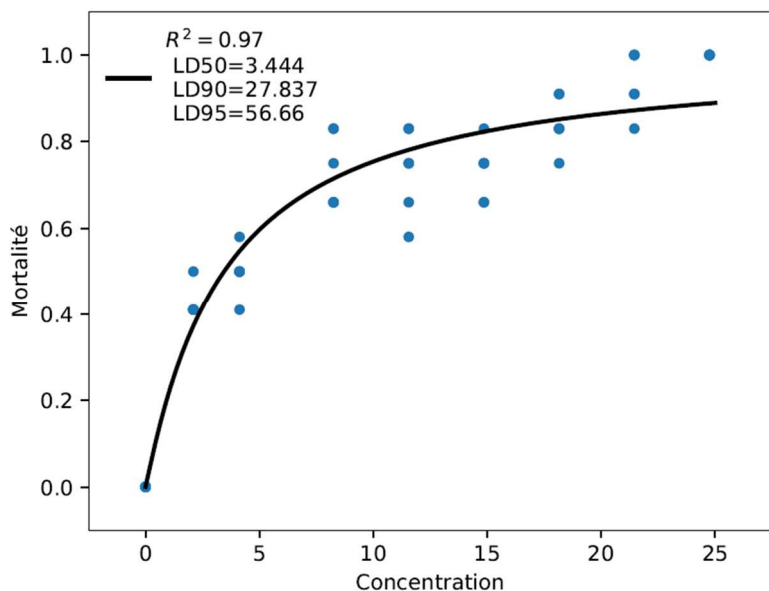


Figure 68 : Toxicité de l'insecticide chimique Talisma UL sur *Sitophilus granarius*

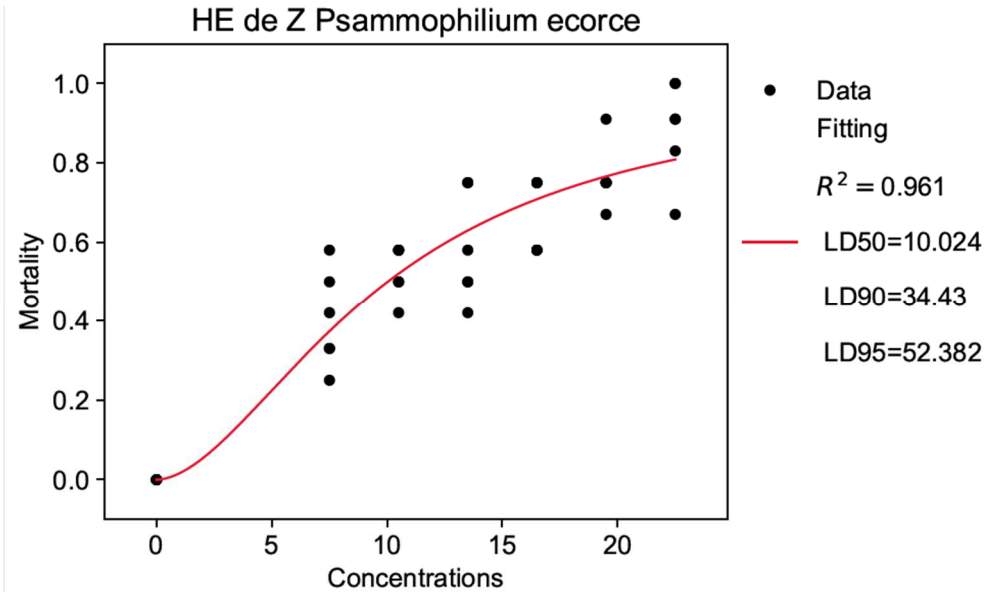


Figure 69 : Toxicité de l'HE de l'écorce de *Z. psammophilum* sur *Sitophilus granarius*

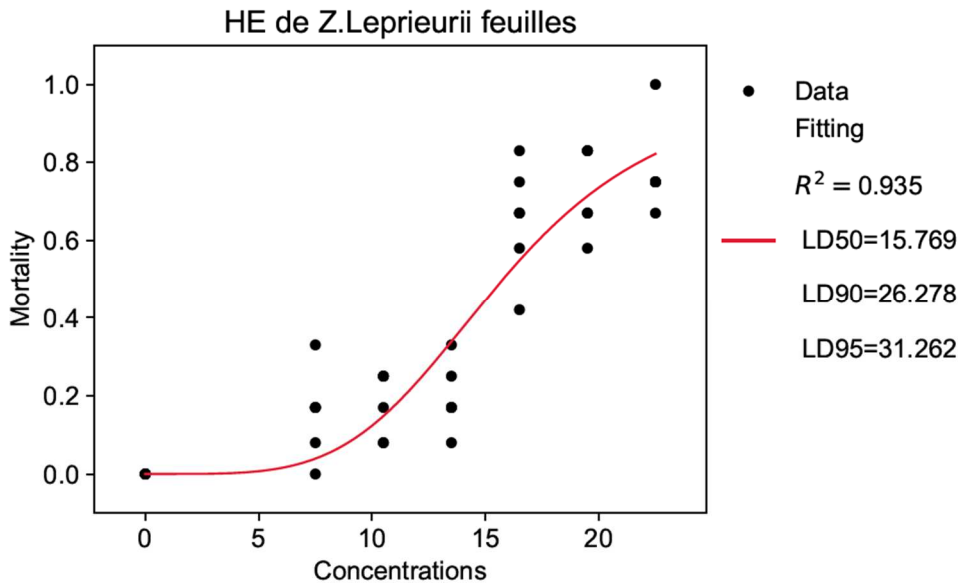


Figure 70 : Toxicité de l'HE de feuilles de *Z. lepieurii* sur *Sitophilus granarius*

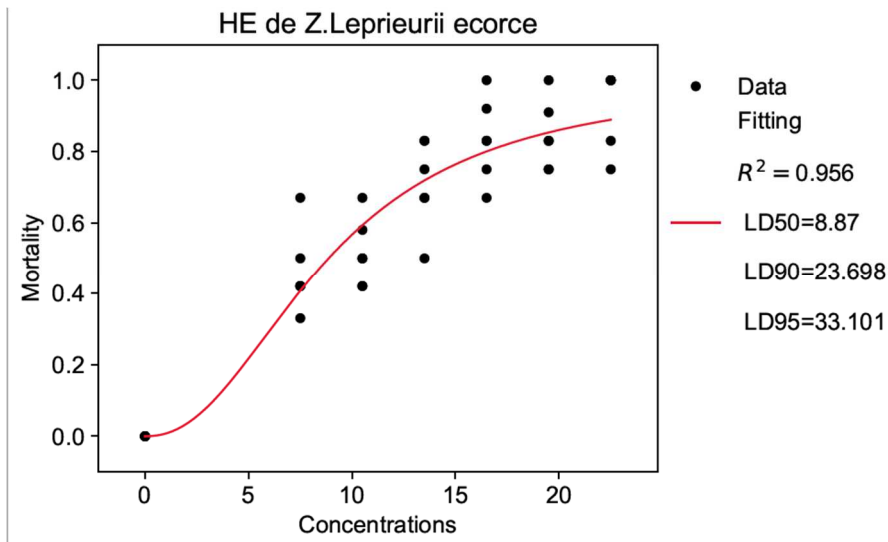


Figure 71 : Toxicité de l’HE d’écorce de *Z. leprieurii* sur *Sitophilus granarius*

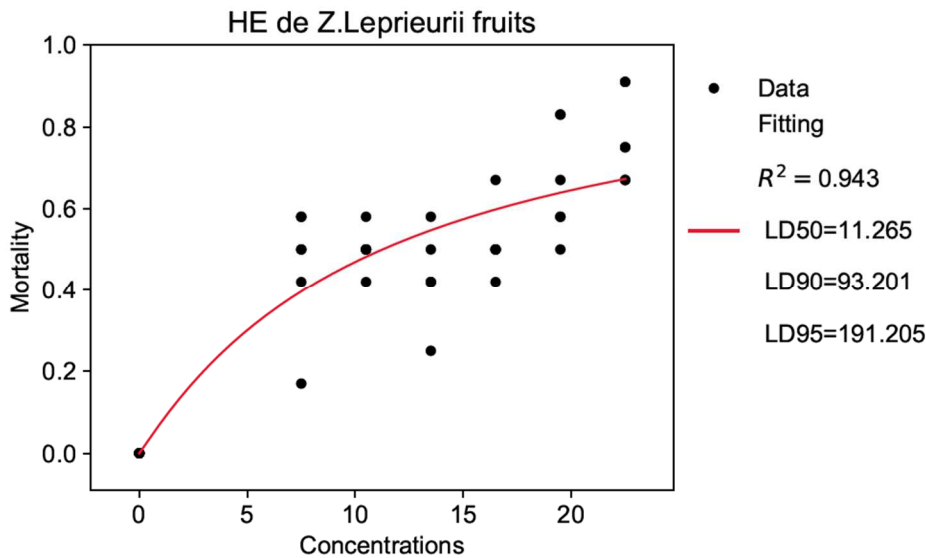


Figure 72 : Toxicité de l’HE de fruits de *Z. leprieurii* sur *Sitophilus granarius*

1.4. Activité antiplasmodiale des HE

Dans ce travail, l'activité antiplasmodiale de l'HE des plantes a été évaluée. L'étude de l'activité antiplasmodiale du genre *Zanthoxylum* se réalise généralement avec les extraits. Cependant, pour ce travail, cette activité a été plutôt réalisée sur les HE ; ce qui constitue une première. Parmi ces HE, certaines n'ont pas été testées en raison de leur faible quantité (racines et écorces de *Z. psammophilum* et de *Z. mezoneurispinosum*).

Les HE isolées des plantes ont été évaluées sur une souche sensible à la chloroquine de *Plasmodium falciparum* (3D7). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (IC_{50}) et présentés dans le **tableau 26** ci-dessous. L'analyse de ce tableau indique que l'HE d'écorce a une activité antiplasmodiale modérée ($IC_{50} = 37,49 \pm 4,2 \mu\text{g/mL}$), et l'HE de feuille a une activité faible ($IC_{50} = 59,30 \pm 3,4 \mu\text{g/mL}$) de *Z. leprieurii*, en comparaison avec l'étalon d'artémisinine ($IC_{50} = 0,004 \pm 0,001 \mu\text{g/mL}$). En revanche, les HE de fruit, d'écorce et de feuille respectivement de *Z. leprieurii*, *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum* se sont montrées moins actives avec des $IC_{50} > 100$. L'activité antiplasmodiale modérée de cette HE peut être due à l'abondance de composés non terpéniques. À notre connaissance, aucune étude n'a démontré l'activité antiplasmodiale de ces composés. Aussi, il est possible que l'activité mise en évidence provienne de la présence de composés mineurs, ainsi que de la synergie entre différentes molécules. Néanmoins, des études menées sur des extraits végétaux de *Z. leprieurii* et d'autres espèces de *Z. chalybeum* et de *Z. zanthoxyloïdes*, ont montré des taux élevés d'activité antiplasmodiale (Tchinda et al., 2009 ; Goodman et al., 2019 ; Muganga et al., 2010), qui soutiennent toutes l'utilisation efficace des espèces de *Zanthoxylum* dans la médecine traditionnelle pour le traitement de la malaria.

Tableau 26 : Pourcentage d'inhibition de l'activité antiplasmodiale des HE de *Z. leprieurii*, *Z. psammophilum* et *Z. mezoneurispinosum*

Témoin et Organes		IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Artémisinine		$0,004 \pm 0,001 \mu\text{g/mL}$
<i>Z. leprieurii</i>	Feuilles	$59,30 \pm 3,40 \mu\text{g/mL}$
	Écorces	$37,49 \pm 4,20 \mu\text{g/mL}$
	Fruits	>100
<i>Z. psammophilum</i> (écorces)		>100
<i>Z. mezoneurispinosum</i> (feuilles)		>100

2. Conclusion partielle sur les activités biologiques réalisées

Les tests biologiques réalisés avec les échantillons des HE des organes des trois espèces ont révélé des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, insecticides et anti-plasmodiales.

L'étude comparative des résultats des tests d'évaluation des activités antioxydantes montre que l'importance de ces activités varie suivant les espèces et les organes. Ces variations sont dues d'une part aux réactifs utilisés pour chaque méthode et aux composés présents suivant leur proportion. Les potentialités anti-inflammatoires des HE ont été aussi évaluées. Les résultats ont montré qu'elles sont douées d'activités anti-inflammatoires dont l'intensité diffère suivant leur origine. Les HE de ces 3 plantes ont un effet très répulsif sur l'insecte *Sitophilus granarius*. Elles peuvent aussi, entraîner sa mort dans certaines conditions (concentrations élevées). Le dernier test réalisé porte sur l'activité anti-plasmodiale des HE. Elles ont un effet anti-plasmodial modéré et cette activité est liée à l'abondance de composés non terpéniques.

Ces résultats, expliqueraient l'utilisation des espèces de *Zanthoxylum* dans la médecine traditionnelle pour le traitement de diverses pathologies. Ces plantes peuvent donc être valorisées en médecine traditionnelle pour la fabrication de médicaments traditionnels améliorés. Elles peuvent être également utilisées pour la fabrication de pesticides biologiques.

Chapitre 5.

**Etude des métabolites secondaires non
volatils**

1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique a été effectué dans le but de mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans les drogues des deux espèces *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum*.

Les **tableaux 27 et 28** représentent l'évaluation préliminaire de la composition phytochimique de quelques familles chimiques caractérisées dans les broyats et les extraits des feuilles et des écorces du tronc des deux plantes.

Tableau 27 : Familles chimiques caractérisées dans les broyats (extraits bruts)

Métabolites secondaires	<i>Z. mezoneurispinosum</i>		<i>Z. Psammophilum</i>	
	Feuilles	Écorces	Feuilles	Écorces
Flavonoïdes	++	++	++	+
Tanins	+	±	±	±
Terpènes et Stérols	+	++	++	++
Saponines	+	+	+	++
Alcaloïdes	++	++	++	++
Polyphénols	++	++	++	++

+ : présence certaine ± : présence incertaine - : absence

Tableau 28 : Familles chimiques caractérisés dans les extraits aux solvants

Métabolites secondaires	<i>Z. mezoneurispinosum</i>								<i>Z. Psammophilum</i>							
	Feuilles				Écorces				Feuilles				Écorces			
	EA	H	DCM	AcOEt	EA	H	DCM	AcOEt	EA	H	DCM	AcOEt	EA	H	DCM	AcOEt
Flavonoïdes	+	-	++	+	++	-	+	+	+	-	-	+	+	-	±	+
Terpènes et Stérols	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Polyphénols	+	-	+	+	+	-	±	+	+	-	-	±	+	-	-	+
Alcaloïdes	+	+	++	++	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	++

EA : extraits aqueux ; H : hexane ; DCM : dichlorométhane ; AcOEt : acétate d'éthyle ; + : présence certaine +/- : présence en faible concentration ; - : absence

Les résultats du screening phytochimique réalisés sur les organes (feuilles et écorces du tronc) de *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum* montrent la présence de plusieurs familles de composés chimiques.

Cette analyse a montré que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpènes et les polyphénols sont abondants que les autres métabolites secondaires comme les tanins et les saponines.

Les constituants chimiques mis en exergue par le criblage phytochimique augurent des activités pharmacologiques intéressantes de nos plantes étudiées. Il s'agit notamment des alcaloïdes, des flavonoïdes, des terpènes et des polyphénols qui sont dotés d'activités antibactérienne, antivirale, anti-inflammatoire, anti-oxydante, anti-plasmodiale et anticancer etc (Turkiewicz et al., 2019, Pompeo et al., 2019, Wojodylo et al., 2019, Adamczak et al., 2020, Ticona et al., 2020).

Les résultats de ce screening phytochimique nous a amené à effectuer des opérations de dosage afin de quantifier les métabolites secondaires des feuilles et des écorces du tronc de *Z. mezoneurispinosum* et de *Z. psammophilum*.

2. Dosage de la teneur en alcaloïdes totaux, flavonoïdes, polyphénols et tanins des plantes par colorimétrie

Les résultats des différents dosages ont été déterminés à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage (**annexe 2**), établie avec, l'atropine, la quercétine et l'acide gallique. Les valeurs sont exprimées respectivement (matières sèches) en mg EAG/g SM, mg EA/g SM et mg EQ/g SM.

2.1. Dosage des alcaloïdes totaux (AT)

Les résultats des teneurs en alcaloïdes totaux sont obtenus à partir de la courbe d'étalonnage établie avec des concentrations connues d'atropine ($Y = 0,0121x + 0,0314$) avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9966$. La teneur en alcaloïdes totaux varie et diffère d'une plante à l'autre et aussi d'un extrait à l'autre selon l'organe. La **figure 73** (F DCM : feuilles dichlorométhane ; E DCM : écorces dichlorométhane ; F AcOEt : feuilles acétate d'éthyle ; E AcOEt : écorces acétate d'éthyle) présente les résultats. Les valeurs des dosages ont montré que les différents extraits de *Z. mezoneurispinosum* présentent les teneurs élevées en AT pour l'extrait DCM des feuilles ($84,76 \pm 0,70$ mg EA/g SM) que l'AcOEt des feuilles ($62,94 \pm 1,80$ mg EA/g SM). Par contre, les extraits des écorces au DCM ($85,97 \pm 0,50$ mg EA/g SM) et AcOEt ($81,65 \pm 0,50$ mg EA/g SM) sont presque similaires, sauf que l'extrait DCM est légèrement supérieur à l'extrait AcOEt. En l'occurrence l'espèce *Z. psammophilum* donne les teneurs les plus faibles avec des valeurs de $14,66 \pm 0,60$ mg EA/g SM, $25,00 \pm 1,70$ mg EA/g SM, $13,82 \pm 0,40$ mg EA/g SM et $37,63 \pm 2,90$ mg EA/g SM respectivement des deux extraits et aussi des organes.

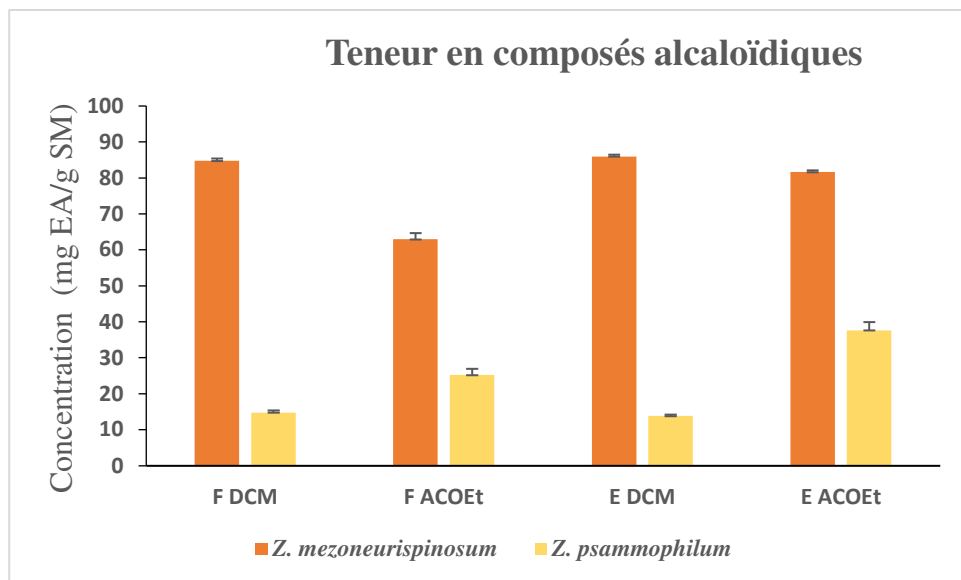


Figure 73 : Teneurs en composés alcaloïdiques dans les extraits de *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum*

2.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FT)

Les résultats ont été obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec des concentrations croissantes de quercétine ($Y = 0,011x + 0,0195$; $R^2 = 0,9981$). Au regard de la **figure 74**, les teneurs en flavonoïdes totaux varient peu entre les différents extraits et aussi les organes. Cependant, les extraits de *Z. mezoneurispinosum* sont plus élevés que *Z. psammophilum*. E AcOEt enregistre un taux de flavonoïdes ($90,64 \pm 2,56$ mg EQ/g SM) suivie de F DCM ($87,51 \pm 1,30$ mg EQ/g SM) et de E DCM ($84,09 \pm 4,20$ mg EQ/g SM), la teneur la plus faible est présente dans F AcOEt ($74,12 \pm 1,30$ mg EQ/g SM), et la plus basse concentration des flavonoïdes totaux a été mesurée dans *Z. psammophilum*. Les valeurs des teneurs sont rangées dans l'ordre suivant E AcOEt ($54,26 \pm 0,90$ mg EQ/g SM) > F DCM ($49,05 \pm 0,50$ mg EQ/g SM) > E DCM ($38,13 \pm 0,60$ mg EQ/g SM) > F AcOEt ($27,39 \pm 0,80$ mg EQ/g SM).

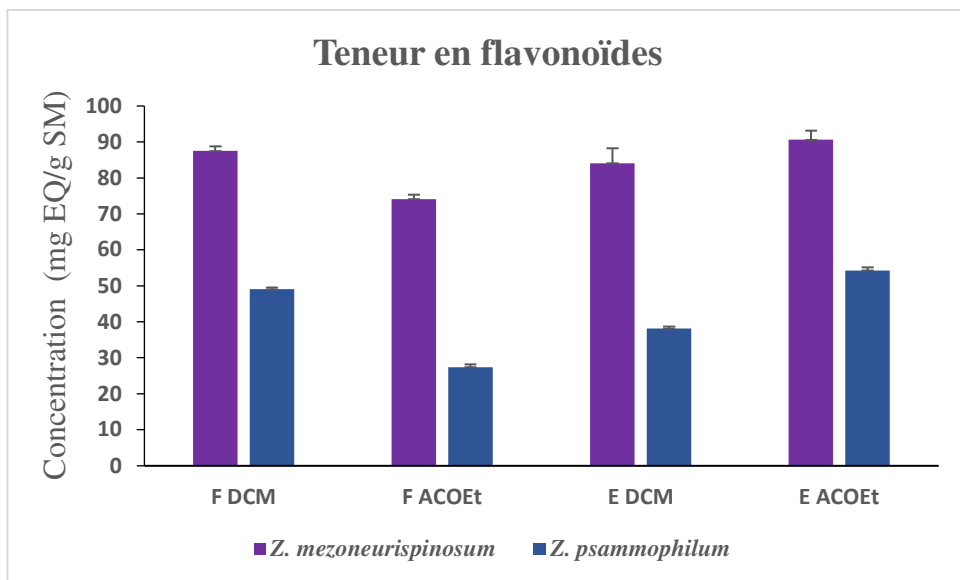


Figure 74: Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits de *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum*

2.3. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Les teneurs en phénols totaux estimées par la méthode de Folin-Ciocalteu pour chaque extrait ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique par gramme du matériel végétal sec. Elles ont été obtenues à partir de la courbe d'étalonnage établie avec des concentrations connues d'acide gallique ($Y = 0,0189x + 0,0379$; $R^2 = 0,9974$). Les résultats du dosage de PPT des différentes parties des plantes sont présentés dans la **figure 75**.

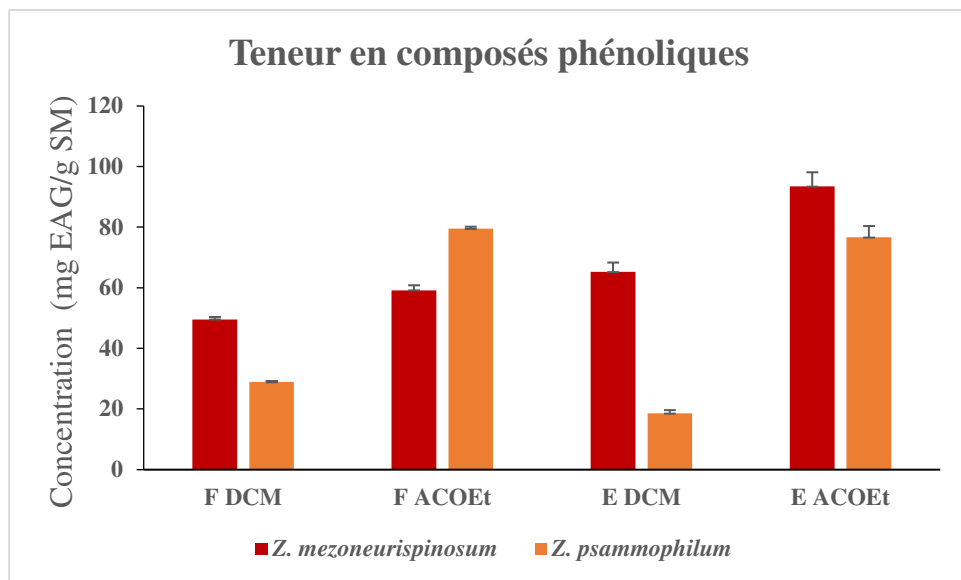


Figure 75 : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits de *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum*

L'analyse quantitative des PPT des feuilles et des écorces des 2 plantes a montré que les extraits AcOEt sont plus riches que les extraits DCM. Pour les extraits AcOEt, les écorces de *Z. mezoneurispinosum* ($93,41 \pm 4,8$ mg EAG/g SM) présentent la quantité la plus importante en PPT suivies des feuilles et écorces de *Z. psammophilum* ($79,48 \pm 0,70$ mg EAG/g SM ; $76,64 \pm 3,8$ mg EAG/g SM respectivement) et des feuilles *Z. mezoneurispinosum* ($59,14 \pm 1,7$ mg EAG/g SM). En ce qui concerne les extraits DCM, c'est l'espèce *Z. mezoneurispinosum* qui possède les teneurs les plus élevées dans les concentrations des écorces ($65,23 \pm 3,10$ mg EAG/g SM) et des feuilles ($49,53 \pm 0,90$ mg EAG/g SM). Tandis que les feuilles ($28,84 \pm 0,40$ mg EAG/g SM) et les écorces ($18,47 \pm 1,10$ mg EAG/g SM) présentent les teneurs les plus faibles dans *Z. psammophilum*.

2.4. Dosage des tanins totaux (TT)

La teneur en tanins a été définie à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats (**figure 76**) ont été déterminés à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage ($Y = 0,015x + 0,031$; $R^2 = 0,9959$).

Au niveau des feuilles de *Z. mezoneurispinosum*, les extraits AcOEt ($69,40 \pm 1,40$ mg EAG/g SM) et DCM ($68,80 \pm 1,30$ mg EAG/g SM) présentent des teneurs élevées en TT suivies respectivement des écorces $54,02 \pm 1,60$ mg EAG/g SM et $40,89 \pm 0,70$ mg EAG/g SM de AcOEt et DCM. Par contre, *Z. psammophilum*, est la moins riche.

Cependant, les extraits AcOEt sont plus élevés que les extraits DCM. Par ailleurs, selon l'ordre suivant, on observe que F AcOEt ($41,51 \pm 0,10$ mg EAG/g SM) > E AcOEt ($41,49 \pm 0,40$ mg EAG/g SM) > F DCM ($34,76 \pm 1,80$ mg EAG/g SM) > E DCM ($23,64 \pm 0,20$ mg EAG/g SM).

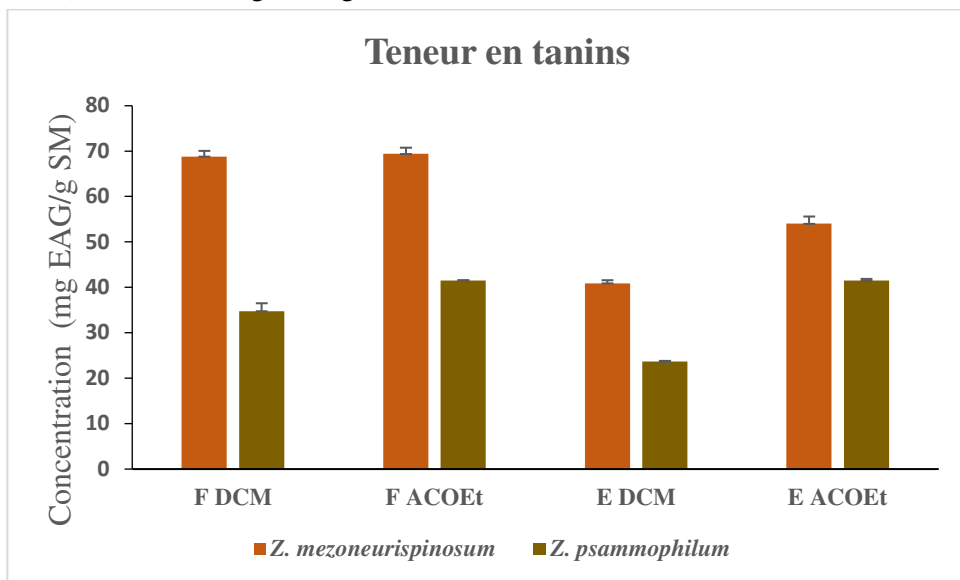


Figure 76 : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits de *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum*

La caractérisation physico-chimique des extraits a été réalisée dans le cadre de l'investigation des biomolécules produites par les deux espèces. Cette investigation a montré que sur le plan quantitatif et qualitatif *Z. mezoneurispinosum* présenterait plus de composition que *Z. psammophilum*.

Nous avons choisi l'extrait des feuilles dichlorométhane (DCM) de *Z. mezoneurispinosum* dans la suite de nos expériences.

3. Extraction et purification

Concernant cette partie (extraction et purification), nous nous sommes intéressés aux feuilles *Z. mezoneurispinosum*.

Une seule étude a été réalisée sur les écorces des racines de *Z. mezoneurispinosum* par **Kouassi et al. (2014)**. Elle a conduit à l'isolement de 17 composés dont : un triterpène, un phytostérol, un flavonoïde, un lignane, un amide, un cyclopeptide et des alcaloïdes. Ces alcaloïdes étaient de types quinoléiques, aporphine quaternaire, benzyltétrahydroisoquinoline, protoberberine et benzophenanthridine.

3.1. Extraction

La poudre des feuilles (1 kg) a été extraite avec un système binaire (1/1) de solvant méthanol/eau pour donner l'extrait brut hydro-méthanolique (55,15 g).

Cet extrait subit une extraction alcaloïdique décrite dans la partie méthodologie.

À cet effet, 30 g de cet extrait subit une contre extraction liquide/liquide au dichlorométhane pour donner l'extrait MFD (5,85 g). Ensuite l'extrait aqueux subit encore une autre contre extraction à l'acétate d'éthyle pour l'obtention de l'extrait MFA (2,15 g). Enfin, l'extrait aqueux est séché pour donner l'extrait MFaq (21,54 g). Les rendements (Rdt) des extractions ont été également calculés par rapport à la drogue de départ (1kg). Tous ces résultats sont consignés dans le **tableau 29**. Les extraits MFD et MFA ont montré une réaction positive au réactif de Dragendorff. Ce réactif permet de caractériser les alcaloïdes. L'extrait MFA n'a rien donné, donc pour la suite, nous avons choisi de travailler avec l'extrait MFD. Aussi, au vu des résultats sur les tests biologiques totaux des extraits, l'extrait MFD présent-il le meilleur profil.

Tableau 29 : Extraction des feuilles de *Z. mezoneurispinosum*

Droque végétale(g)	Extrait	Masse (g)	Rdt (%)	Test Réactif au Dragendorff
1000	MFD	5,85	0,585	++
	MFA	2,15	0,215	++
	MFaq	21,54	2,154	-

3.2. Fractionnement de l'extrait MFD des feuilles de *Z. mezoneurispinosum*

3 g de l'extrait au dichlorométhane (MFD) ont été fractionnés par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant le gradient de solvants hexane/dichlorométhane/acétate d'éthyle comme éluant. Après collecte et rassemblement des éluats selon leurs profils chromatographiques, 8 fractions (D1 à D8) ont été constituées. Les composés MFD1 (8,5 mg) et MFD2 (20,9 mg) ont été obtenus à partir de la fraction D1 (41 mg) par CLHP préparative sur colonne C18 avec le gradient H₂O/ACN à 1% de H₃PO₄ comme phase mobile. Par ailleurs, les composés MFD3 (11,5 mg), MFD4 (10,8 mg), MFD5 (30,5 mg) et MFD6 (10 mg), MFD7 (15,4 mg) et MFD8 (12,1 mg) ont été obtenus à partir des fractions D2 (24,2 mg), D3 (19,1

mg), D5 (60,3 mg), D7 (30,2 mg) et D8 (21,3 mg) respectivement par la même opération.

3.3. Détermination des structures des composés isolés de l'extrait MFD des feuilles de *Z. mezoneurispinosum*

L'élucidation des structures des composés isolés de l'extrait MFD a été effectuée par combinaison de techniques spectrales telles que la RMN ^1H et ^{13}C mono et bi-dimensionnelles, l'infrarouge, la masse et par comparaison des données spectrales avec celles de la littérature. Les 8 fractions isolés à partir de l'extrait MFD, ont permis d'identifier 3 métabolites secondaires isolés dans les racines de *Z. mezoneurispinosum* (Yao Kouassi 2014a, b). Cependant, les 5 autres ont été isolés pour la première fois dans les feuilles de *Z. mezoneurispinosum*.

3.3.1. Élucidation structurale du composé MFD1

Le composé MFD1 se présente sous forme d'une poudre blanche soluble dans le DMSO. Sa formule brute $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ est compatible avec la valeur à m/z 426 sur le spectre de masse en tandem avec ionisation par électrospray.

La présence sur le spectre IR des bandes d'absorption à 3600 et 1050 cm^{-1} révèle l'existence dans la structure de MFD1 de groupement hydroxyle d'alcool secondaire. Des bandes d'élongation C-H de méthyles angulaires sont observées à 2900-2850 cm^{-1} . Les absorptions à 1400 et 1100 cm^{-1} sont respectivement caractéristiques de groupements méthylènes cycliques et de cyclo-alcanes. Par ailleurs, ce spectre suggère la présence dans la structure de MFD1 de groupement éthylénique à travers la fréquence d'élongation à 1600 cm^{-1} (**annexe 3**).

Le spectre de RMN ^{13}C (**figure 77**) permet d'observer des signaux pour trente atomes de carbone dont sept méthyles, onze méthylènes, six méthynes et six carbones quaternaires (**tableau 30**) suggérant une structure de type triterpène.

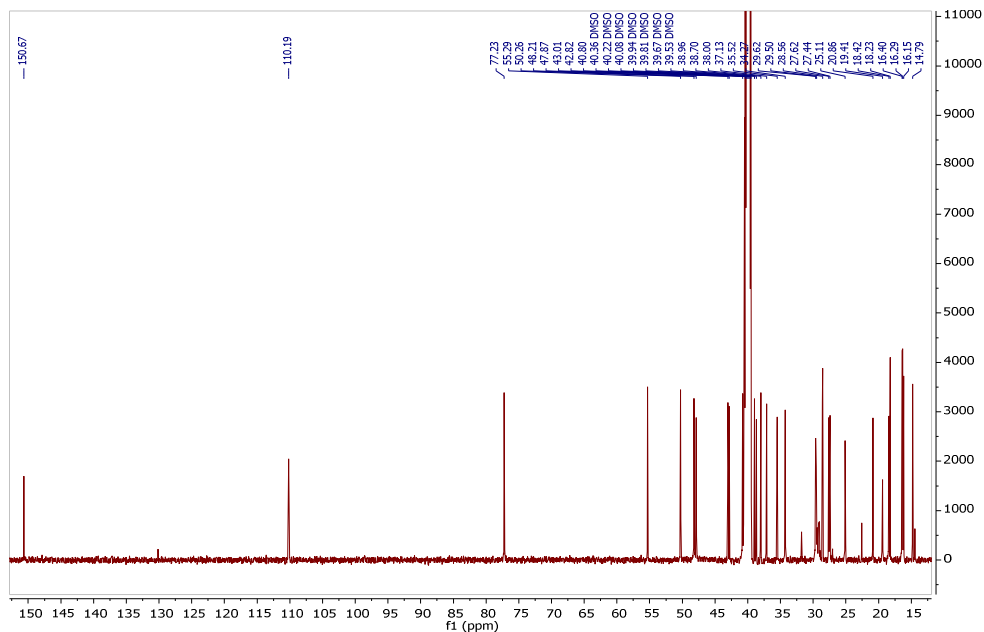


Figure 77 : Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, DMSO-d₆) de MFD1

Le spectre de RMN ^1H (**figure 78**) met en évidence des protons isoprényles caractéristiques d'un triterpène pentacyclique de type lupane à travers les résonances à δ 4,68 ppm (1H, m), 4,54 ppm (1H, m) et 1,64 ppm (3H, s). On note également sur ce spectre la présence d'un proton oxyméthine à δ 2,96 ppm (dd ; 10,4 Hz ; 5,44 Hz).

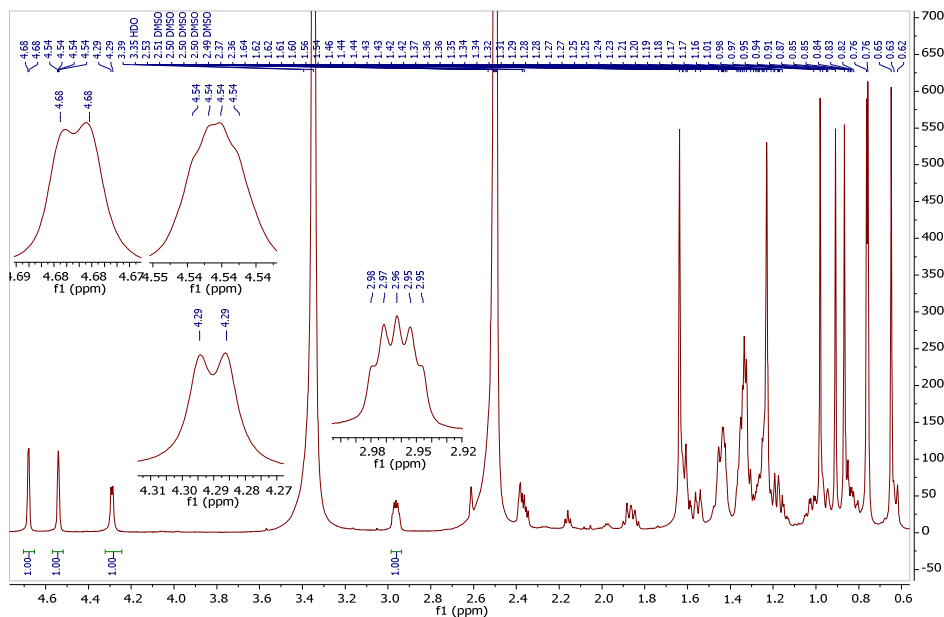


Figure 78 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) de MFD1

L'attribution des protons à leurs carbones respectifs a été effectuée grâce à l'analyse du spectre HMBC (**figure 79**). L'ensemble de ces données spectrales, en accord avec celles de la littérature permet d'identifier le composé MFD1 (**figure 80**) au lupéol (**Fotie et al., 2006**). Ce composé a déjà été isolé des racines de *Z. mezoneurispinosum*. Il présente de nombreuses activités biologiques intéressantes notamment anti-inflammatoire et anticancéreuse (**Saleem M. 2009 ; Gallo et al., 2009**).

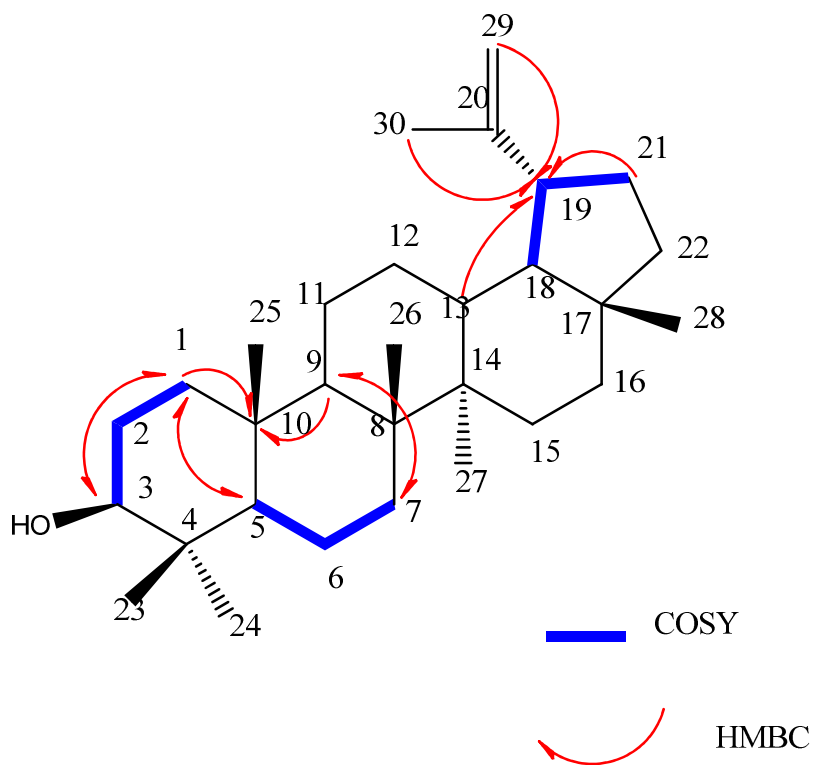
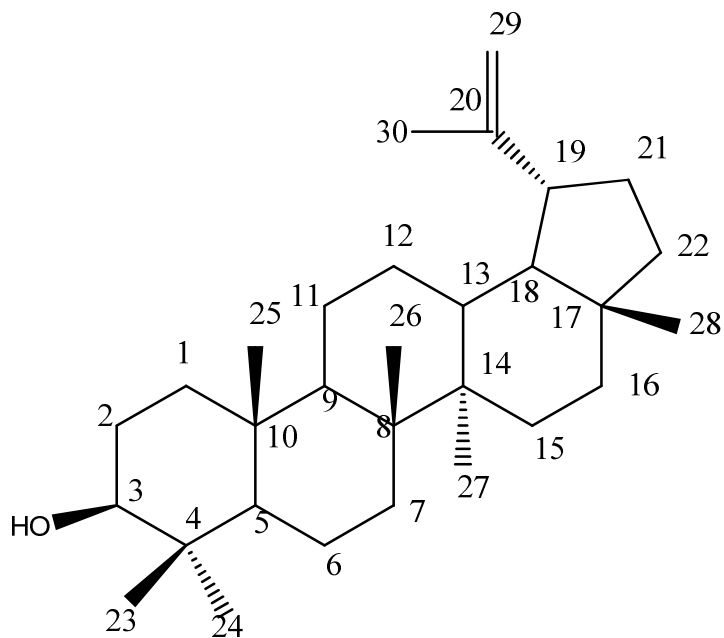


Figure 79 : Schéma des corrélations Cosy et HMBC des protons du composés MFD1

**Figure 80** : Structure du lupéol**Tableau 30** : Déplacements chimique en RMN 1D et 2D (600 MHz, DMSO-d₆) du lupéol

N° Atome	¹³ C (δ, ppm)	¹³ C (δ, ppm) * (Fotie 2006)	¹ H (δ, ppm) ; m (J, Hz)	COSY	HMBC
1	38,3	39,1	1,55 (2H, m)		C-3 ; C-5 ; C-10
2	27,2	27,8	1,44 (2H, m)		C-10 ; C-3
3	76,8	79,3	2,96 (1H, dd, 10,4-5,44)	H-2	
4	38,5	39,2	-		
5	54,9	55,6	0,63 (1H, m)	H-6 ; H-7	
6	18,0	18,7	1,45 (2H, m)		C-4
7	33,8	34,6	1,34 (2H, m)		
8	42,4	41,2	-		
9	49,8	50,7	1,23 (1H, m)		
10	36,7	37,5	-		
11	20,4	21,3	1,16 (2H, m)		
12	24,7	25,5	1,01 (2H, m)		
13	37,6	38,4	1,60 (1H, m)	H-18	

14	40,4	43,2	-		
15	24,6	27,8	1,47 (2H, m)		
16	33,8	35,9	2,16 (2H, m)		C-15
17	42,4	43,4	-		
18	47,8	48,3	1,33 (1H, m)		
19	47,4	48,6	2,36 (1H, m)	H-21 ; H-18	C-29 ; C-30 ; C-20
20	150,2	151,1	-		
21	29,2	30,2	1,87 (2H, m)		C-22 ; C-19
22	39,3	40,4	1,19 (2H, m)		
23	28,1	28,4	0,87 (3H, s)		
24	15,8	15,8	0,67 (3H, s)		
25	16,0	16,5	0,76 (3H, s)		
26	15,7	16,3	0,98 (3H, s)		
27	14,3	14,9	0,91 (3H, s)		
28	17,8	18,4	0,76 (3H, s)		
29	109,7	109,6	4,68 et 4,54 (2H, m)		C-19 ; C-30
30	19,0	19,7	1,64 (3H, s)		C-29 ; C-20 ; C-18

3.3.2. Éluclation structurale du composé MFD2

Le composé MFD2 se présente sous forme de cristaux bruns, solubles dans le méthanol. Sa formule brute moléculaire $C_{16}H_{15}NO_4$ a été déduite de son spectre de masse ESI-HR (**figure 81**) qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 286,1079 (Calculé 285,1001).

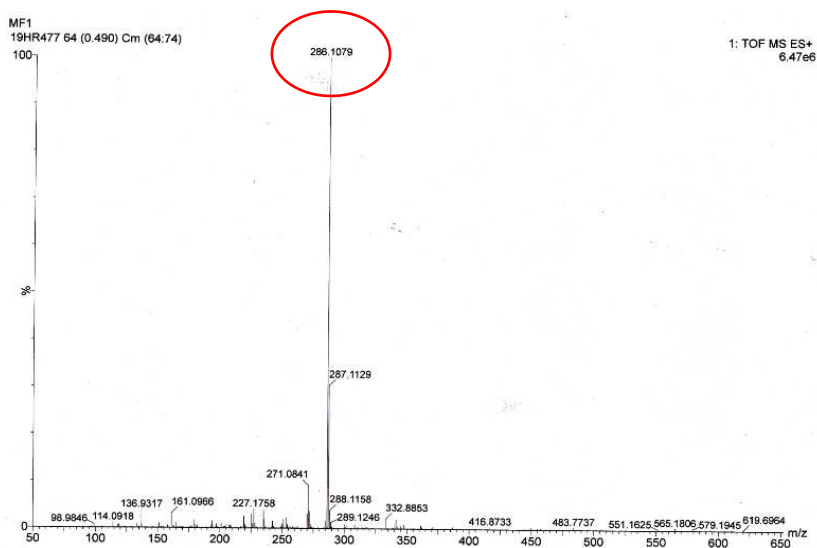


Figure 81 : Spectre de masse du composé MFD2

Son spectre IR (**figure 82**) montre des bandes d'absorption à 3650, 1750, 1080 et à 720 cm^{-1} , attribuables à des groupements hydroxyle, éther aromatique et éthylène aromatique respectivement.

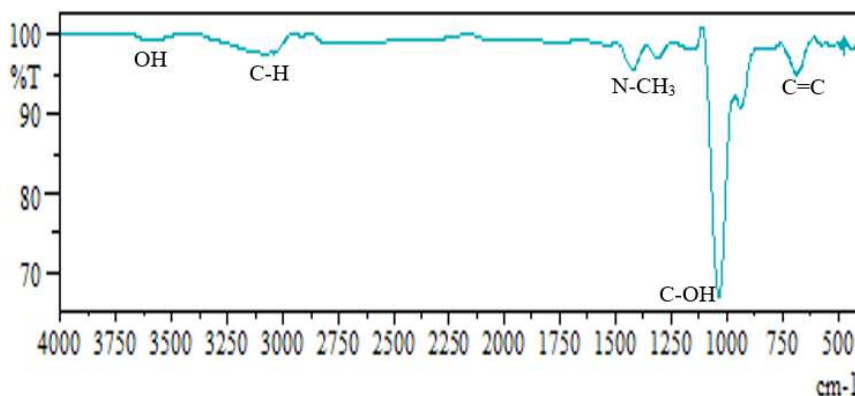


Figure 82 : Spectre infra-rouge du composé MFD

Les spectres de RMN ^1H et ^{13}C ont été réalisés dans le méthanol deutéré. Le spectre de RMN ^1H (**figure 83**) permet d'observer quatre singulets à δ 6,61 ppm (H-2), 4,05

ppm (3-OCH₃), 3,95 ppm (N-CH₃) et 3,85 ppm (4-OCH₃). Ce spectre, nous observons également des signaux sous forme de doublet de doublets, et de doublet de doublets de doublets à δ 8,37 ppm (1H, dd, 8,0 Hz ; 1,6 Hz, H-8), 7,82 ppm (1H, ddd, 8,3 Hz ; 6,6 Hz ; 1,6 Hz, H-6), 7,79 ppm (1H, dd, 8,3 Hz ; 1,2 Hz, H-5) et 7,35 ppm (1H, ddd, 8,0 Hz ; 6,6 Hz ; 1,2 Hz, H-7). Le spectre de RMN ¹³C (**figure 84**) révèle la présence de huit atomes de carbone quaternaires dont trois porteurs d'oxygène à δ 164,0 ppm (C-1), 161,1 (C-3) et 131,1 ppm (C-4), un carbonyle à δ 182,0 ppm et quatre non oxygénés à 143,6 ppm (C-10a), 142,3 ppm (C-4a), 121,6 (C-8a) et 106,5 ppm (C-9a). Cinq atomes de carbone de méthynes aromatiques sont visibles à δ 135,5 ppm (C-6), 126,9 ppm (C-8), 122,7 ppm (C-7), 116,6 ppm (C-5) et 88,9 ppm (C-2). Les résonances à δ 61,0 ppm (4-OCH₃) et 56,7 ppm (3-OCH₃) correspondent à des groupements méthoxyles. Par ailleurs, un groupement N-méthyle est observable à δ 34,8 ppm. Ces attributions ont été réalisées grâce à l'examen complet du spectre HMBC (**annexe 5 B**). Ces déplacements chimiques sont caractéristiques d'une structure de type acridone (**Wouatsa et al., 2013**) substituée par des groupements hydroxyle, méthoxyle et méthyle. La position de ces groupements sur le noyau acridone est précisée par le spectre HMBC (**figure 85**). En effet, ce spectre montre des corrélations importantes entre les protons à δ 3,95 ppm (N-CH₃) et les carbones C-4a et C-10a, ce qui indique la position du groupement méthyle sur l'atome d'azote. La position des groupements hydroxyles est précisée par les connexions observées entre les protons à δ 4,05 ppm (3-OCH₃) et 3,85 ppm (4-OCH₃) et les carbones C-3 et C-4 respectivement. Par ailleurs, la position du groupement hydroxyle sur le carbone C-1 est attestée par les corrélations entre le proton H-2 et les carbones C-1, C-3, C-4 et C-9a. En effet, on note une absence de corrélation entre ce proton et le groupement carbonyle C-9. Ces corrélations indiquent clairement que les groupements méthoxyles et le groupement hydroxyle sont sur le même noyau benzénique. Cela est confirmé par le spectre COSY (**annexe 5A**) qui montre des corrélations entre les protons H-5 et H-6, H-6 et H-7 et entre H-7 et H-8 (**tableau 31**). La concordance des données spectrales (SM, IR, RMN ¹H et ¹³C) permet d'établir la structure du composé MFD2 comme étant le 1-hydroxy-3,4-diméthoxy-N-méthylacridone (**figure 86**). Ce composé a été isolé dans les fruits de *Z. lepreurii* mais décrit pour la première fois dans l'espèce *Z. mezoneurispinosum*.

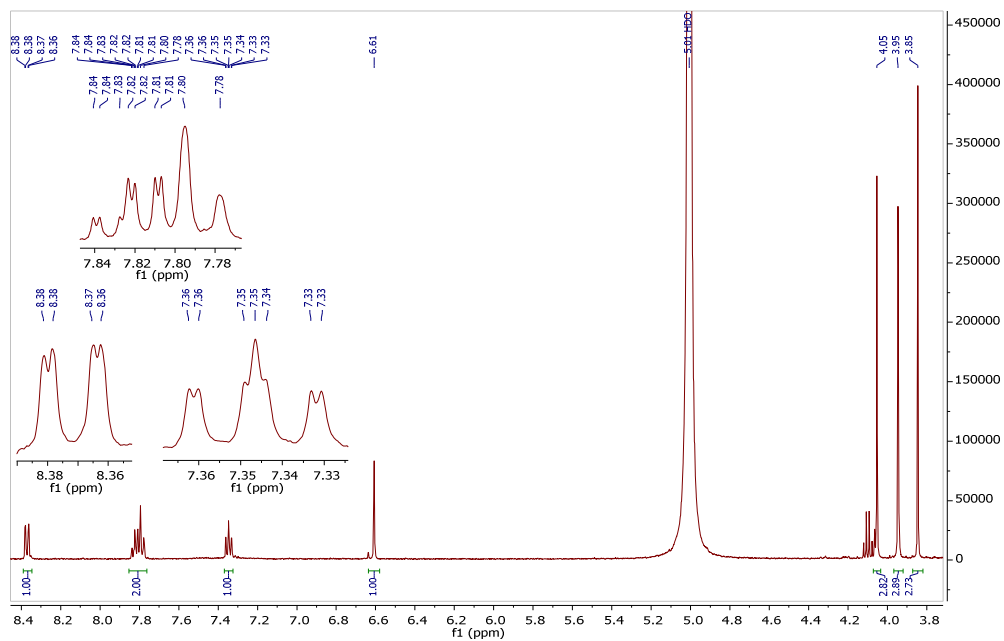


Figure 83 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de MFD2

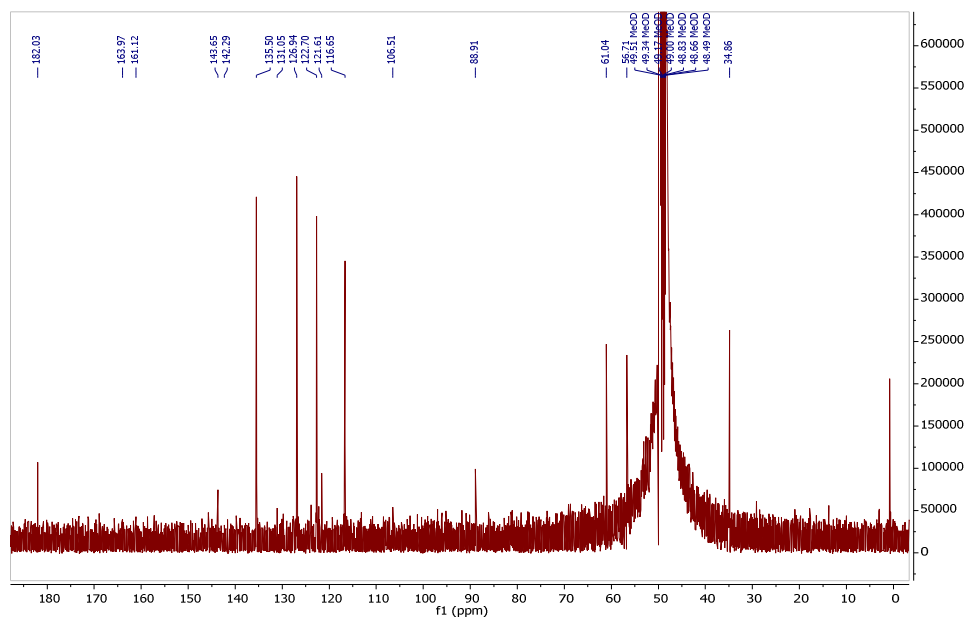


Figure 84: Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, CD_3OD) de MFD2

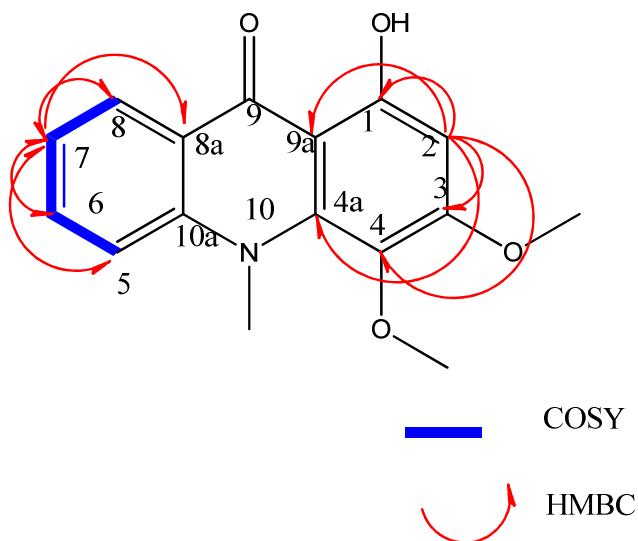


Figure 85 : Schéma des corrélations Cosy et HMBC des protons du composés MFD2

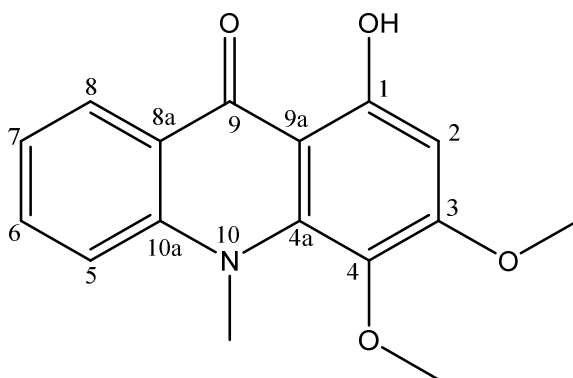


Figure 86 : Structure du 1-hydroxy-3,4-diméthoxy-N-méthylacridone

Tableau 31 : Déplacements chimique en RMN 1D et 2D (600 MHz) dans le CD₃OD de 1-hydroxy-3,4-diméthoxy-N-méthylacridone

N° Atome	¹³ C (δ, ppm)	¹ H (δ, ppm) ; m ; (J, Hz)	COSY	HMBC
1	164,0	-	-	-
2	88,9	6,61 (s)	-	C-1, C-3, C-4, C-4a, C-9a
3	161,1	-	-	-
4	131,1	-	-	-
5	116,6	7,79 (dd, 8,3 ; 1,2)	H-6	C-6, C-7, C-8, C-10a
6	135,5	7,82 (ddd, 8,3 ; 6,6 ; 1,6)	H-5 ; H-7	C-5, C-7, C-8, C-10a
7	122,7	7,35 (ddd, 8,0 ; 6,6 ; 1,2)	H-6 ; H-8	C-5, C-6, C-8, C-8a
8	126,9	8,37 (dd, 8,0 ; 1,6)	H-7	C-7, C-8a, C-9
9	182,0	-	-	-
9a	106,5	-	-	-
4a	142,3	-	-	-
8a	121,6	-	-	-
10a	143,6	-	-	-
C3-OCH ₃	56,7	4,05 (s)	-	C-3
C4-OCH ₃	61,0	3,85 (s)	-	C-4
N-CH ₃	34,8	3,95 (s)	-	C-4a, 10a

3.3.3. Éluclidation structurale du composé MFD3

Le composé MFD3 se présente sous la forme de cristaux blancs, solubles dans le méthanol deutéré.

Sa masse moléculaire C₈H₁₃NO₃ a été déduite de son spectre de masse ESI-HR (**figure 87**) qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+H]⁺ à *m/z* 172,0998 (Calculé 171,0895).

Son spectre IR permet d'observer des bandes d'absorption à 3300, 1670 et 1050 cm⁻¹, attribuables respectivement à des groupements hydroxyle d'un acide carboxylique, carbonyle et une liaison C-OH de l'acide (**figure 88**).

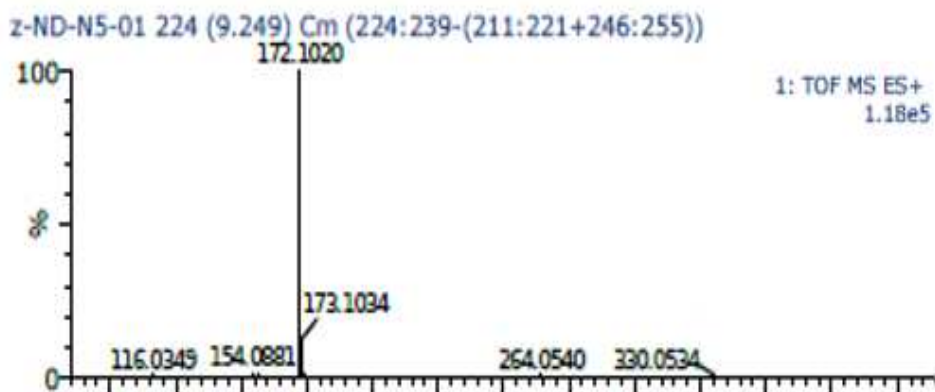


Figure 87 : Spectre de masse du composé MFD3

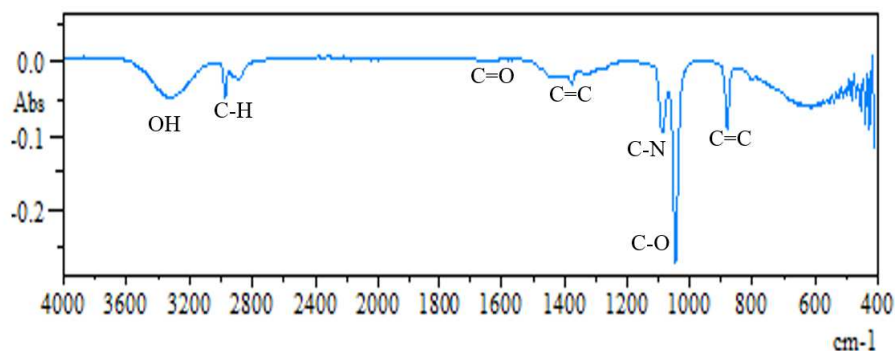


Figure 88 : Spectre infra-rouge du composé MFD3

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été réalisés dans le méthanol- d_4 . Le spectre RMN ^1H permet d'observer la présence de cinq signaux à δ 0,93 ppm ($-\text{CH}_3$), 6,67 ppm (CH_3-CH_2), δ 7,00 ppm (CH_3-CH_2), δ 1,82 ppm ($-\text{CH}$) et δ 3,1 ppm (CH_2-CH_2) (**figure 89**).

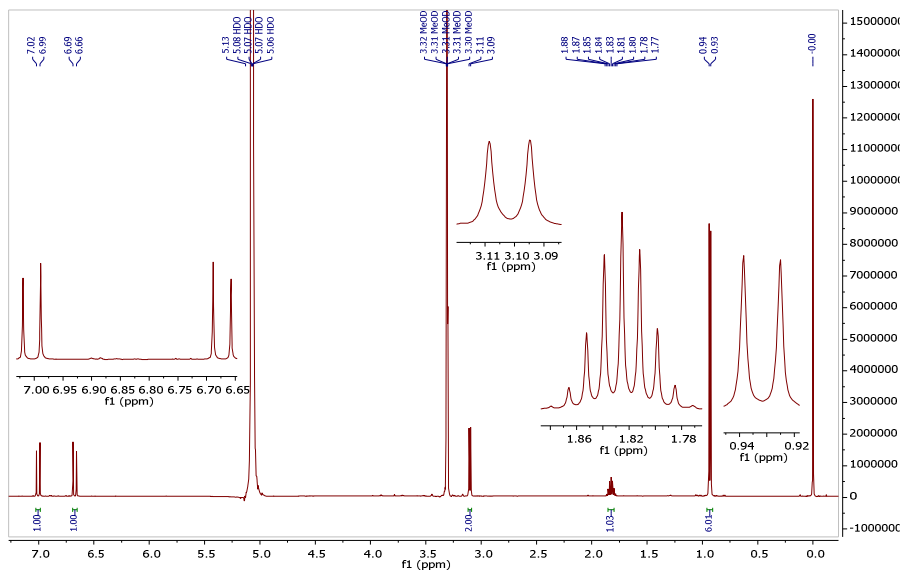


Figure 89 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de MFD3

Le spectre RMN ^{13}C révèle la présence de deux carbones quaternaires à δ 168,6 ppm (C-1) et à δ 166,4 ppm (C-2) (**figure 90**).

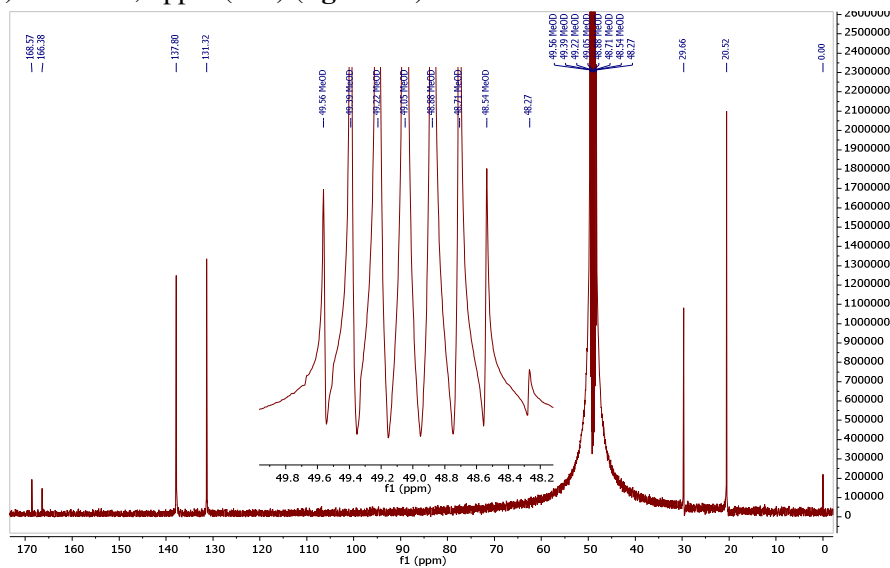


Figure 90 : Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, CD_3OD) de MFD3

Par ailleurs, le spectre COSY (**annexe 6A**) montre des corrélations entre les protons géminés à δ 3,1 ppm (H-1) et à δ 1,82 ppm (H-2). Le spectre HMBC (**annexe 6B**) permet d'observer des corrélations en 2J entre (H-1) et (C-2) à δ 28,2 ppm aussi des corrélations en 3J sont observées entre ses protons et les carbones méthyliques (C-7) et (C-8) à δ 20,5 ppm. Le déplacement chimique du carbone méthylénique à δ 48,2 ppm (C-1) laisse supposer la présence d'un azote (**tableau 32**). La confirmation de ce noyau est observée sur le spectre IR par la liaison C-N à $\nu_{\max}$ 1070 cm^{-1} .

Ces corrélations donnent un chaînon de la molécule qui correspond à un isobuthylamino. (**figure 91**).

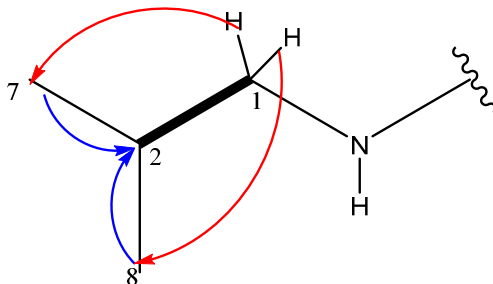


Figure 91 : Chaînon 1 de la molécule MFD3

Le spectre COSY montre également des corrélations entre les protons éthyléniques à δ 6,95 ppm (H-4) et à δ 6,67 ppm (H-5).

Le spectre HMBC montre en conséquence les corrélations entre les protons éthyléniques à δ 6,95 ppm (H-4) et à δ 6,67 ppm (H-5) avec les carbonyles à δ 166,4 ppm (C-3) et à δ 168,6 ppm (C-6) respectivement (**figure 92**). Le déplacement chimique à δ 166,4 ppm suggère la présence d'un acide conjugué, cela est confirmé par la présence du groupement hydroxyle observé vers 3350 cm^{-1} .

Le motif suivant est déduit :

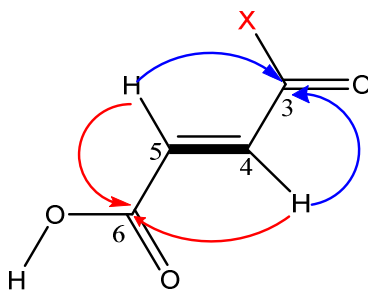


Figure 92 : Chaînon 2 de la molécule MFD3

Pour finir, les deux motifs sont mis ensemble par la corrélation observée en HMBC entre le proton (H-1) et le carbone (C-3) de la fonction amide (**figure 93**).

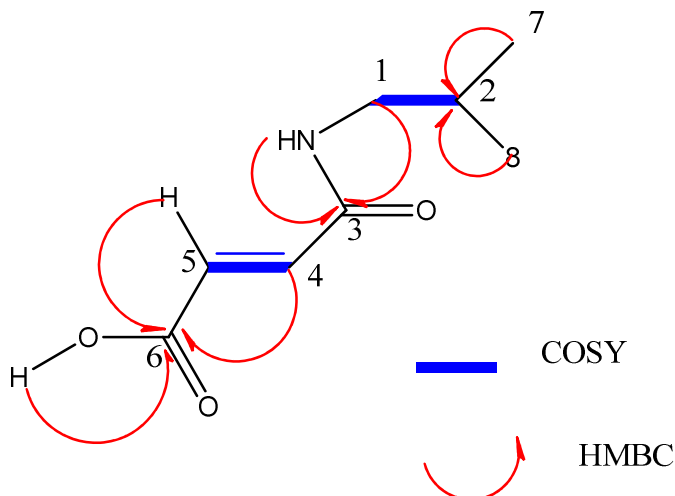


Figure 93 : Schéma des corrélations Cosy et HMBC des protons du composé MFD3

La concordance des données spectrales (SM, IR, RMN ^1H et ^{13}C), comparée à celles de la littérature (**Callahan et al., 2005**) a permis d'identifier le composé MFD3 (**figure 94**) comme étant l'Acide (E)- 4- (isobutylamino)-4-oxo-but-énoïque.

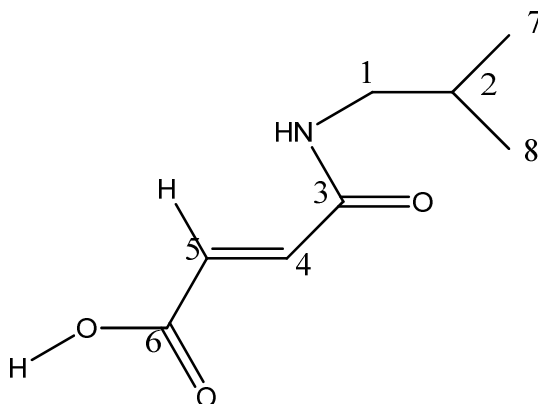


Figure 94 : Structure de l'Acide (E)- 4- (isobutylamino)-4-oxo-but-énoïque

La molécule a été isolée dans l'espèce *Piper retrofractum*, mais cette étude a permis de décrire cette molécule pour la première fois dans le genre *Zanthoxylum*. L'acide

(E)- 4- (isobutylamino)-4-oxo-but-énoïque a été aussi synthétisé par **Callahan et al., (2005)** selon la réaction suivante (**figure 95**) :

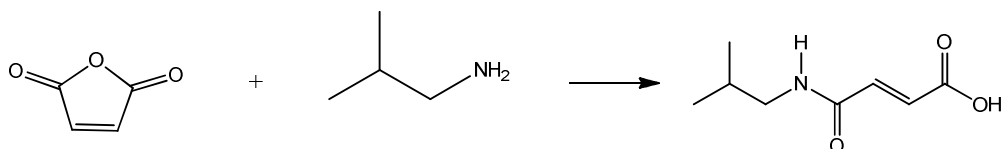


Figure 95 : Réaction de synthèse de l'Acide (E)- 4- (isobutylamino)-4-oxo-but-énoïque

Tableau 32 : Déplacements chimique en RMN 1D et 2D (400 MHz) dans méthanol-d₄ (CD₃OD) l'Acide (E)- 4- (isobutylamino)-4-oxo-but-énoïque

N° Atome	¹³ C (δ, ppm)	¹ H (δ, ppm) ; m (J, Hz)	COSY	HMBC
1	48,2	3,1 (2H ; m)	H-2	C-2, C-7, C-8
2	28,2	1,82 (1H ; m)	H-1	C-1, C-7, C-8
3	166,4	-		
4	131,3	6,67 (1H ; d ; 15,0)	H-5	C-3, C-5, C-6
5	137,8	7,00 (1H ; d ; 15,4)	H-4	C-3, C-5, C-6
6	168,6	-		
7	20,5	0,93 (3H ; d ; 6,5)		C-1, C-2, C-8
8		0,93 (3H ; d ; 6,5)		C-1, C-2, C-7

3.3.4. Élucidation structurale du composé MFD4

Le composé MFD4 se présente sous la forme de cristaux jaunes, solubles dans le DMSO-d₆.

Sa masse moléculaire C₁₀H₁₀O₃ a été déduite de son spectre de masse HR-ESI-SM mode négatif qui présente un pic d'ion pseudo-moléculaire [M-H]⁻ à m/z 177,0551, (Calculé 178,0630). Le spectre IR présente une bande d'absorption vers 1000-1100 cm⁻¹, correspondant à un éther aromatique. Aussi, une autre bande vers 700 cm⁻¹ indiquant la liaison C-H (OMe).

Le spectre RMN ¹H permet d'observer deux systèmes, une partie (E)-cinnamique et une partie aliphatique.

La structure cinnamique est identifiée par un noyau aromatique *p*-disubstitué caractérisé par quatre protons (H-5), (H-6), (H-8) et (H-9). Ces protons sont deux à deux équivalents à δ 6,80 ppm et 7,45 ppm. Ils sortent en doublet avec des constantes de couplage de $J = 8,6$ Hz. En ce qui concerne, les protons de la partie aliphatique, nous observons une constante de couplage très élevée $J = 16,0$ Hz indiquant la position *trans* des protons (H-2) et (H-3) à δ 6,33 ppm et 7,61 ppm sortant respectivement en doublet (**figure 96**). Enfin, un singulet δ 3,76 ppm correspond au méthoxyle.

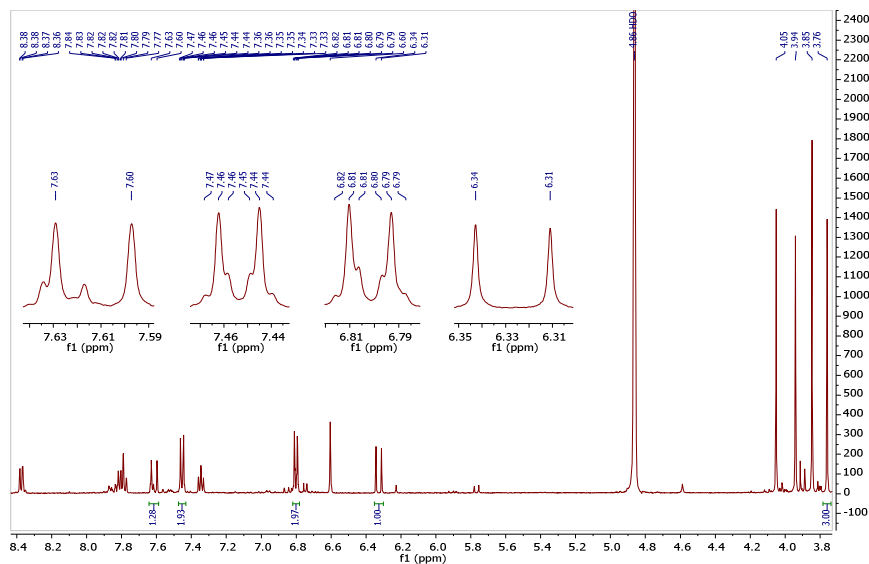


Figure 96 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) de MFD4

Le spectre RMN ^{13}C révèle la présence de trois atomes de carbone quaternaires dont (C-4 et (C-7) de δ 127,1 ppm et 161, 3 ppm, appartenant à la structure de cinnamique et un (C-1) à δ 169,7 ppm pour la partie aliphatique. Enfin, les sept autres carbones sont attribués aux deux structures dont 4 pour la partie cinnamique, (C-5), (C-6), (C-8) et (C-8-9) avec δ 131, 1 ppm et 116,8 ppm magnétiquement équivalent deux à deux (C-) et (C-9) puis (C-6) et (C-9). Les autres carbones (C-2) et (C-3) de δ 114,9 ppm et 146,5 ppm correspondants aux groupements méthylène de la partie aliphatique (**figure 97**).

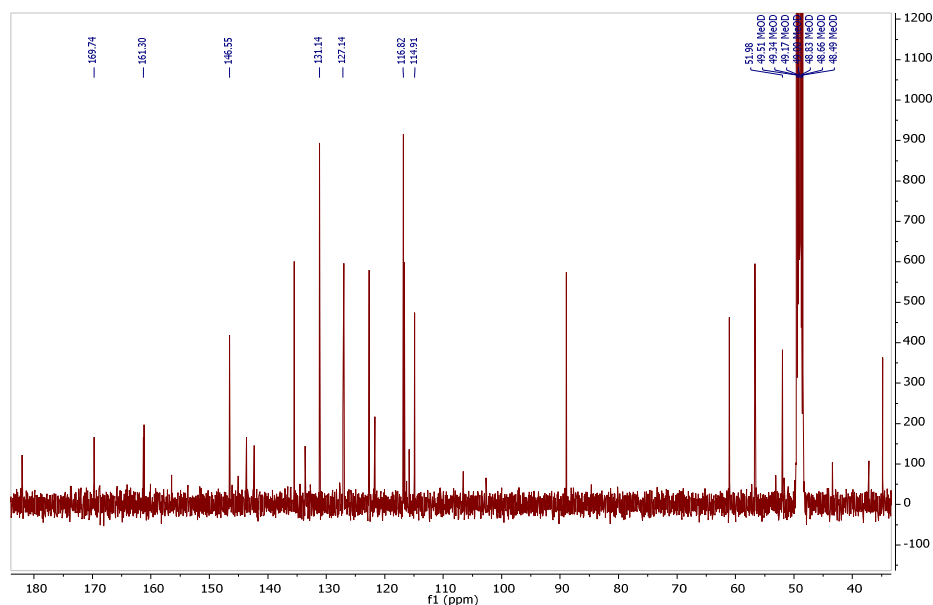


Figure 97 : Spectre ^{13}C -RMN (600 MHz, DMSO-d6) de MFD4

Les corrélations observées sur le spectre HMBC (**annexe 7B**) ont permis d'élucider les positions des différents carbones. Ainsi, les carbones (C-1) et (C-4) qui corrélaient en $^2J_{\text{CH}}$ et $^3J_{\text{CH}}$ avec le proton (H-2) indiquant la position de la cinnamique. Aussi, nous observons entre les carbones équivalents tels que deux à deux des corrélations en $^2J_{\text{CH}}$ et $^3J_{\text{CH}}$ avec le proton (H-5), (H-6), (H-8) et (H-9) et les carbones (C-3), (C-9) (C-7); (C-4), (C-8), (C-7); (C-4), (C-6), (C-7) et (C-3), (C-5), (C-7). Le carbonyle (C-1) et (C-2) corrélaient en $^3J_{\text{CH}}$ et $^4J_{\text{CH}}$ avec les protons du méthoxyle (**figure 98**). Ces données spectrales et les corrélations ont permis d'attester que le composé MFD4 est le méthyl 4-coumarate (**figure 99**) appartenant aux dérivés de l'acide cinnamique. De plus, ces différents déplacements chimiques élaborés dans cette étude sont voisins de ceux de la littérature (**Guzman et al., 2014**) regroupée dans le **tableau 33**. Ce composé a été isolé de *Halorhodospira halophila bacterium* (**Meyer T. E., 1987**). Il présente plusieurs activités biologiques tel que l'activité anti-inflammatoire, antituberculeuse, antiseptique, immunostimulants et antioxydant (**Anderson et al., 1996 ; Sudi et al., 2018 ; Hennebelle et al., 2004**). Ce composé est isolé pour la première fois dans *Z. mezoneurispinosum*.

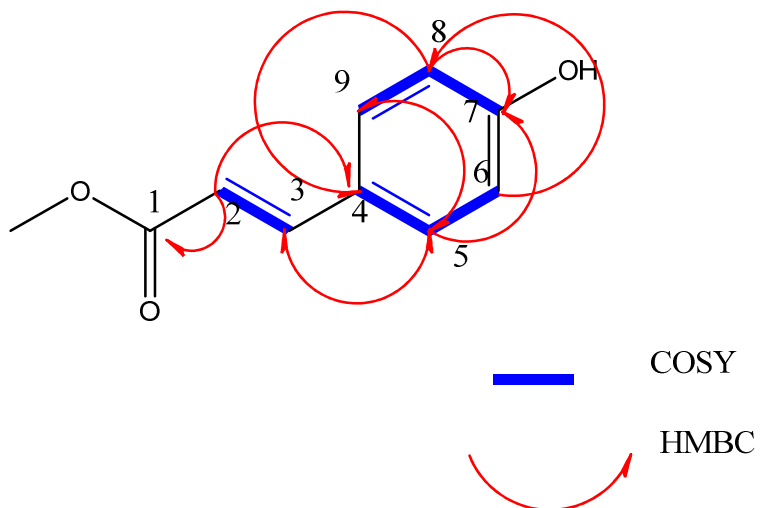


Figure 98 : Schéma des corrélations COSY et HMBC des protons du composés MFD4

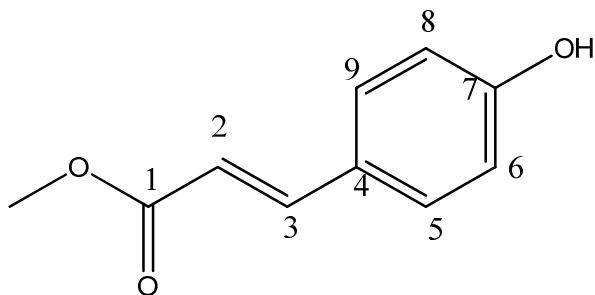


Figure 99 : Schéma du coumarate de-4- méthyl

Tableau 33 : Déplacements chimique RMN 1D et 2D du composé MDF4 (DMSO-d6)

N° Atome	¹³ C (δ, ppm)	¹ H (δ, ppm) ; m (J, Hz)	COSY	HMBC
1	169,7	-	-	-
2	114,9	6,33 (d, 16,0)	H-3	C-1, C-4
3	146,5	7,61 (d, 16,0)	H-2	C-1, C-2, C-4, C-5, C-9
4	127,1	-	-	-
5	131,1	7,45 (d, 8,6)	H-6	C-3, C-9, C-7
6	116,8	6,80 (d, 8,6)	H-5	C-4, C-8, C-7
7	160,3	-	-	-
8	116,8	6,80 (d, 8,6)	H-9	C-4, C-6, C-7
9	131,1	7,45 (d, 8,6)	H-8	C-3, C-5, C-7
OCH ₃	52,0	3,76 (s)	-	C-1, C-2

3.3.5. Élucidation structurale du composé MFD5

Ce composé se présente sous la forme de cristaux orangés solubles dans le DMSO-d6. Sa masse moléculaire C₂₁H₁₈NO₄ a été déduite de son spectre de masse ESI-HR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+H]⁺ à *m/z* 348.

Son spectre IR présente deux bandes d'absorption à 3400 et 1100 cm⁻¹ attribuable respectivement à des groupements ester C-O et à une liaison des amides substituées.

Le spectre RMN ¹H du composé MFD5 présente 7 singulets dont trois à δ 8,31 ppm (H-1), 7,78 ppm (H-4), 10,1 ppm (H-8) respectivement d'intensité 1H appartenant au groupement méthine. Les 4 autres, dont 2 appartiennent aux méthoxyles aromatiques avec des δ 4,17 ppm et 4,11 ppm intégrant chacun 1H, un autre groupement amine à δ 4,99 ppm intégrant 1H et un dernier correspondant à l'ester à δ 6,35 ppm intégrant 2H. Ensuite, nous observons 4 doublets à δ 8,31 ppm (H-5) ; 8,83 ppm (H-6) ; 8,28 ppm (H-11) et 8,83 ppm (H-12) respectivement avec des constances de couplages variant de 8,9 à 9,4 Hz (**figure 100**).

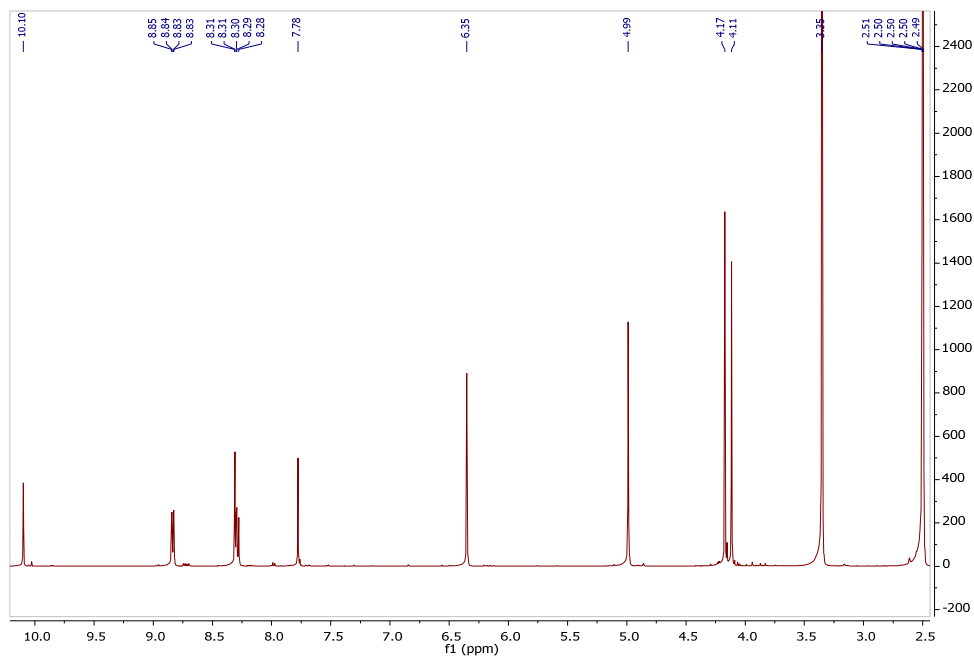


Figure 100 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) de MFD5

Le spectre RMN ^{13}C (**figure 101**) présente 21 signaux carbone dont 10 carbones quaternaires (C-2, C-3, C-4a, C-7, C-9, C-10, C-12a, C-13, C-14 et C-14a), un groupement (N-CH₃) à δ 52,3 ppm et à δ 62,3 ppm (OCH₃) et δ 57,1 ppm (OCH₃). Nous observons également 7 méthyles (C-1, C-4, C-5, C-6, C-8, C-11 et C-12) et enfin, un méthylène à δ 102,8 ppm.

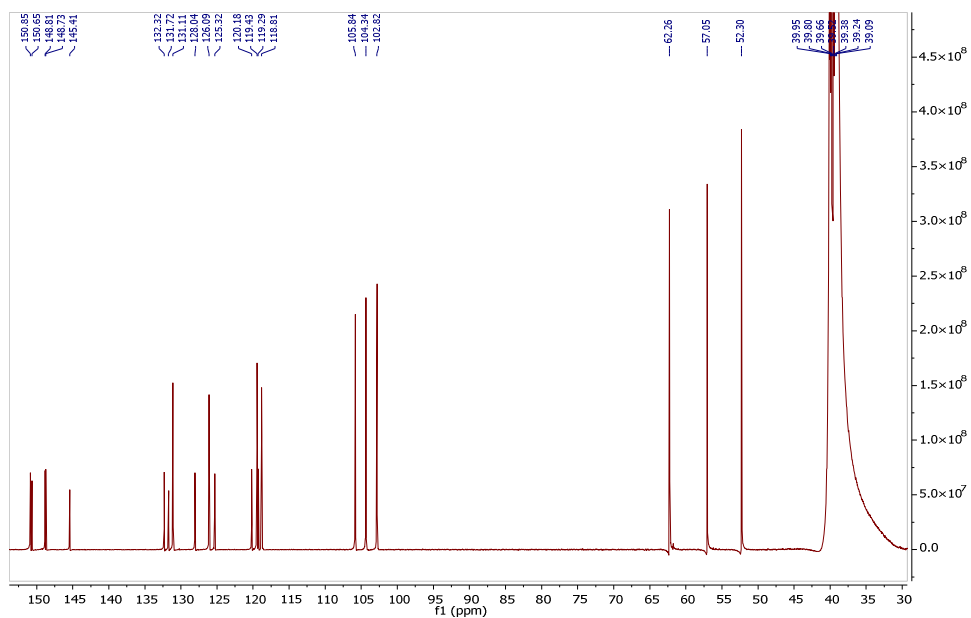


Figure 101 : Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, DMSO- d_6) de MFD5

L'attribution des signaux a été réalisée par l'analyse des spectres de corrélations homonucléaires COSY (**annexe 8A**) et hétéronucléaires HSQC et HMBC (**annexe 8B**). Le spectre HMBC montre 2 corrélations $^3J_{\text{CH}}$ entre le proton H-8 avec les carbones C-9 et C-12a. Ce spectre aussi a révélé 3 corrélations $^3J_{\text{CH}}$ et $^4J_{\text{CH}}$ entre le proton H-12 avec les carbones C-10, C-9 et C-13. Enfin, les carbones C-14 et C-2 corrélient avec le proton H-4 en $^3J_{\text{CH}}$ (**figure 102**).

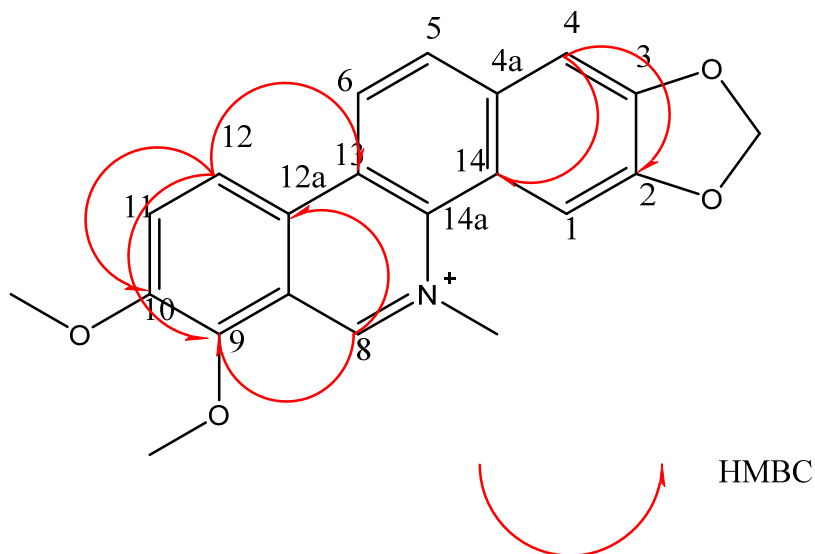


Figure 102 : Schéma des corrélations HMBC des protons du composé MFD5

Toutes ces données peuvent faire penser à la chélérythrine (**figure 103**). Ce composé est connu des *Zanthoxylum*. Il a même été isolé des racines de l'espèce étudiée et présente des activités biologiques telles que les activités antioxydante, anti-inflammatoire et antifongique (**Dvorak et al., 2006 ; Li et al., 2014**). Les attributions des protons et des carbones sont reportées dans le **tableau 34**.

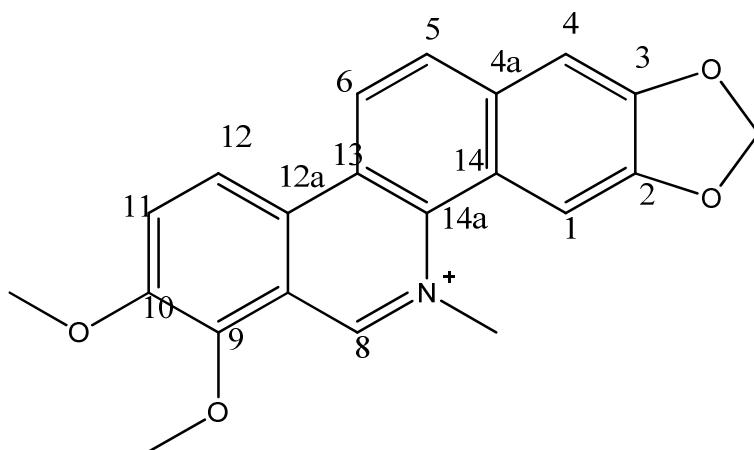


Figure 103 : structure de la chélérythrine

Tableau 34 : Déplacements chimique RMN 1D et 2D du composé MDF5 (DMSO-d6)

N° Atome	¹³ C (δ, ppm)	¹³ C (δ, ppm)* (Yao Kouassi 2014)	¹ H (δ, ppm) ; m (J, Hz)	HMBC
1	104,3	103,4	8,31(1H ; s)	C-14 ; C-13
2	148,8	149,9	-	
3	148,7	149,6	-	
4	106,8	106,4	7,78(1H ; s)	C-14 ; C-2
4a	133,4	133,4		
5	131,1	132,1	8,31 (1H, d, 9,0)	
6	118,8	117,7	8,83 (1H ; d ; 9,1)	
7	-	148,6	-	
8	150,8	119,6	10,1(1H ; s)	
9	145,4	145,2	-	C-9 ; C-12a
10	150,6	150,9	-	
11	126,1	126,2	8,28 (1H, d, 8,9	
12	119,3	119,0	8,83 (1H ; d ; 9,4)	C-10 ; C-9 ; C-13
12a	128,1	129,5	-	
13	125,3	126,3	-	
14	132,3	132,4	-	
14a	120,2	120,3	-	
OCH ₂ O	102,8	102,8	6,35 (2H, S)	
O-CH ₃	62,3	62	4,17(3H, s	
O-CH ₃	57,1	56	4,11 (3H, s)	
N-CH ₃	52,3	51,7	4,99 (3H ; s)	

3.3.6. Élucidation structurale du composé MFD6

Le composé MFD6 se présente sous forme de cristaux jaunes, solubles dans le Méthanol deutéré. Sa masse moléculaire C₁₆H₁₂O₅ a été déduite de son spectre de masse HRESI-GTOF-SM qui présente le pic d'ion pseudo-moléculaire [M+H]⁺ à *m/z* 285,0831. Son spectre IR montre des bandes d'absorption à 3700, 3000, 1100, 660 cm⁻¹, attribuable respectivement à la liaison OH, une liaison C-H (OMe), liaison C-OH et une liaison C-H aromatique est trisubstituée et symétrique.

L'analyse du spectre RMN ¹H (**figure 104**) du composé montre un proton à δ 6,88 ppm (H-3), ce qui nous fait penser à une structure d'un flavonoïde (**Harborne J. B. 2013**). D'autres signaux sont observés à δ 6,20 ppm (1H, d, H6 2,20 Hz) et 6,50 ppm (1H, d, H8 2Hz)), δ 7,11 ppm (d, H-3', 9,29 Hz), δ 8,04 ppm (d, H-5' et d, H-2', d, H-6', 8,9 Hz), δ 3,89 ppm (OCH₃).

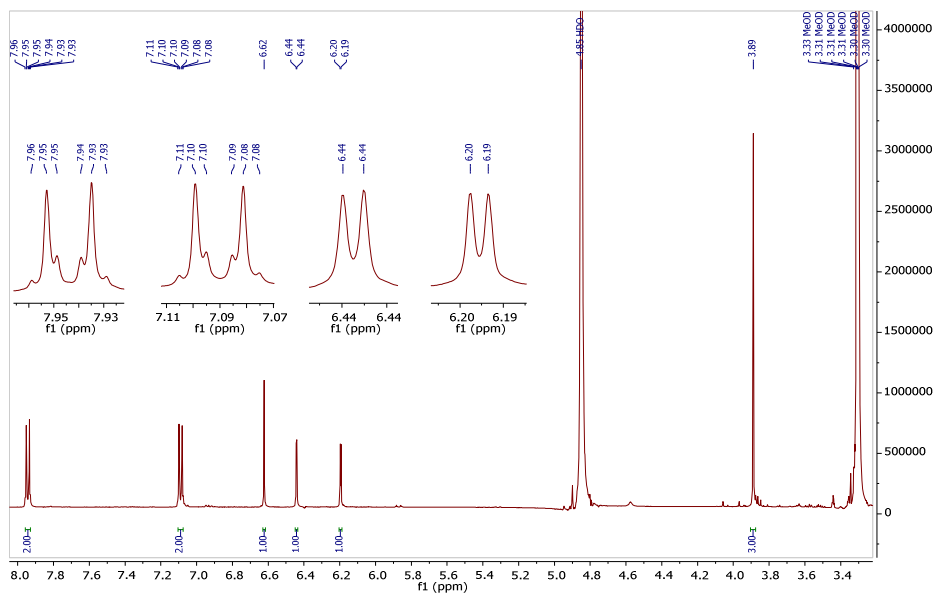


Figure 104 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de MFD6

De plus, le spectre RMN ^{13}C (**figure 105**) du composé MFD6 présente 16 signaux : 8 atomes de carbones quaternaires dont un groupement ($\text{C}=\text{O}$) à δ 182,3, sept CH et un CH_3 confirmant ainsi la formule brute $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$.

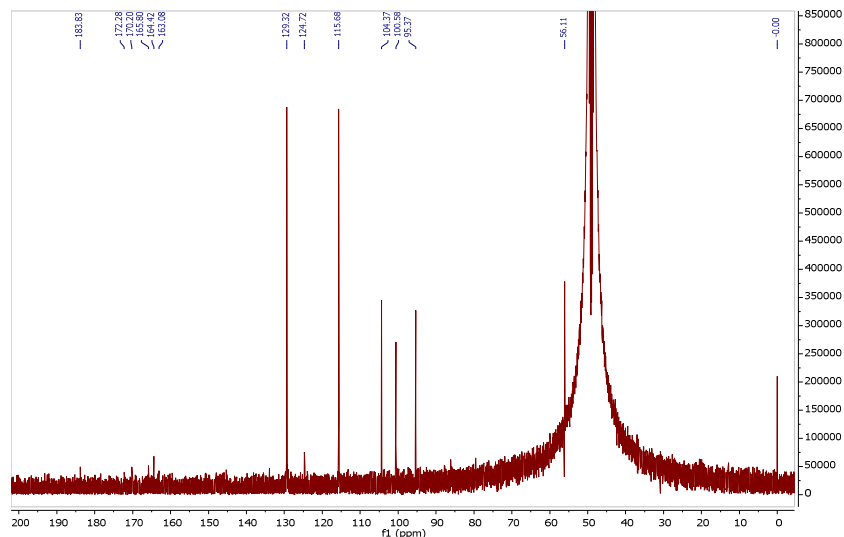


Figure 105 : Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, CD_3OD) de MFD6

L'observation du spectre COSY (**annexe 9A**) vient mettre en évidence les couplages directs des protons d'un même système de spin. Ainsi, le proton δ 8,04 ppm (H-2') présente une corrélation avec le proton δ 7,11 ppm (H-3') et inversement. Quant à l'expérience HSQC, les couplages hétéronucléaires directs ont permis d'attribuer les déplacements chimiques des carbones. L'analyse du spectre HMBC (**annexe 9B**) établit les couplages à longue distance et permet aussi de corréler les protons voisins avec les carbones quaternaires. Ainsi, au niveau proton singulet à δ 6,88 ppm (H-3), nous observons 4 corrélations avec les carbones suivants : δ 123,3 ppm (C-1'), δ 163,3 ppm (C-2), δ 104,8 ppm (C-10) et δ 181,7 ppm (C-4), ce dernier correspond au groupement carbonyle. Le proton (H-3') corréle respectivement avec les carbones (C-1', C-4' et C-5'). Les carbones (C-2, C-6' et C-3') corrélerent avec le proton δ 8,04 ppm (H-2'), d'autres corrélations sont également observées à partir des protons (H-8) et (H-6) chacun respectivement avec les carbones δ 98,6 ppm (C-6), δ 157,5 ppm (C-9), δ 162,3 ppm (C-5) et δ 104,8 ppm (C-10) (**figure 106**).

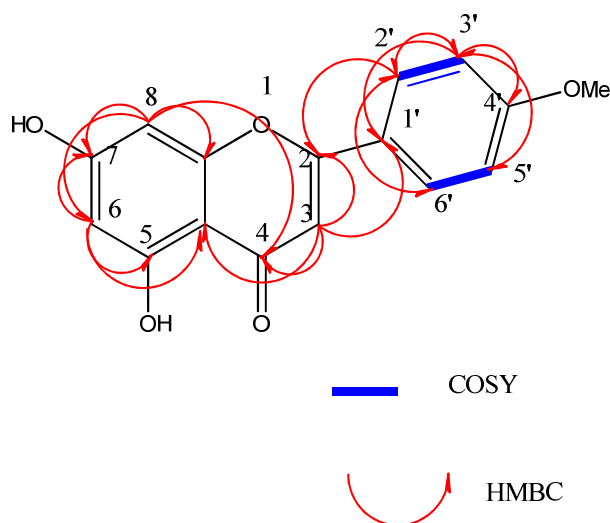


Figure 106 : Schéma des corrélations COSY et HMBC des protons du composé MFD6

L'ensemble des données précédentes (**tableau 35**) et en comparaison avec celles rapportées dans la littérature (**Sakamura et al., 1980**), nous a permis d'identifier le composé MFD6 (**figure 107**) comme étant le 4'-méthoxy-5,7-dihydroxyflavone (acacétine). Ce composé a été synthétisé par **Hanamura et al., 2016**, **Zhao et al., 2016**, **Quintin et al., 2004**. Ce flavone possède plusieurs activités biologiques à savoir : antioxydante, antitumorale, antimicrobienne, anti-inflammatoire et anticancéreuse etc. (**Yokozawa et al., 1997 ; Brinkworth et al., 1992 ; Ckoi et al., 2004 ; Singh et al., 2018**). C'est pour la première fois que l'acacétine est isolée dans l'espèce *Z. mezoneurispinosum*.

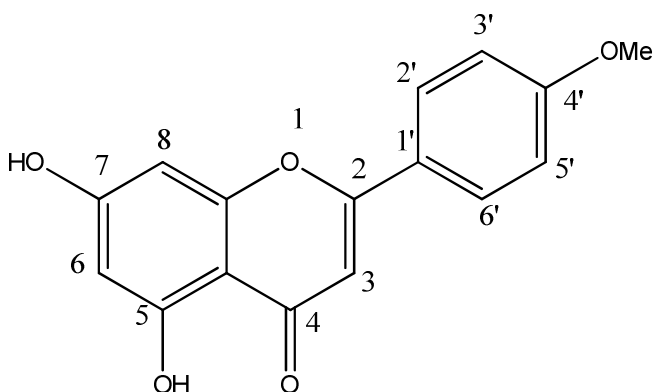


Figure 107 : Structure de 4'-méthoxy-5,7-dihydroxyflavone (acacétine)

Tableau 35 : Déplacements chimique RMN 1D et 2D du composé MDF6 (CD₃OD)

N° Atome	¹³ C (δ, ppm)	¹ H (δ, ppm) ; m (J, Hz)	HMBC
2	163,3	-	C-2 ; C-4 ; C-1' ; C-10
3	102,4	6,88 (1H ; S)	
4	181,7	-	
5	162,3	-	C-5 ; C-7 ; C-10
6	98,6	6,20 (1H ; d ; 2,20)	
7	164,3	-	
8	103,5	6,50(1H ; d ; 2,20)	C-6 ; C-7 ; C-9 ; C-4
9	157,5	-	
10	104,8	-	
1'	123,3	-	C-2 ; C-6' ; C-3'
2'	129,2	8,04 (1H ; d ; 8,9)	
3'	114,5	7,11 (1H ; d ; 9,3)	
4'	161,5	-	C-1' ; C-4' ; C-5'
5'	114,5	7,11 (1H ; d ; 9,3)	
6'	129,2	8,04 (1H ; d ; 8,9)	
O-H	-	12,91 (1H, S)	C-6 ; C-8 ; C-10
O-CH ₃	55,6	3,85 (3H ; S)	

3.3.7. Éluclidation structurale du composé MFD7

Ce composé **MFD7** apparaît sous la forme d'une poudre blanche, soluble dans le CD₃OD. Son spectre IR présente plusieurs bandes vers 3500-2800 cm⁻¹ correspond caractéristiques des liaisons C-H et N-H vers 1450 cm⁻¹. Le spectre de masse à haute résolution en mode d'ionisation positive, montre un ion pseudo-moléculaire [M+H]⁺ à m/z = 260,0928, soit une masse moléculaire de 259,0845g/mol. Cette valeur convient à la formule brute C₁₄H₁₃NO₄.

L'analyse du spectre RMN-¹H du composé MFD7 quatre protons aromatiques couplant ensemble deux à deux. En effet, le proton H-2 (7,76 ppm, d : ³J = 2,9 Hz) couple avec H-3 (7,33 ppm, d : ³J = 2,9 Hz) tandis que H-5 (8,06 ppm, d : ³J = 9,5 Hz) couple avec H-6 (7,37 ppm, d : ³J = 9,5 Hz). Trois singulets attribuables à des groupes méthoxyles aromatiques sont également observables sur ce spectre à δ = 4,49 ; 4,02 et 3,97 ppm (**figure 108**).

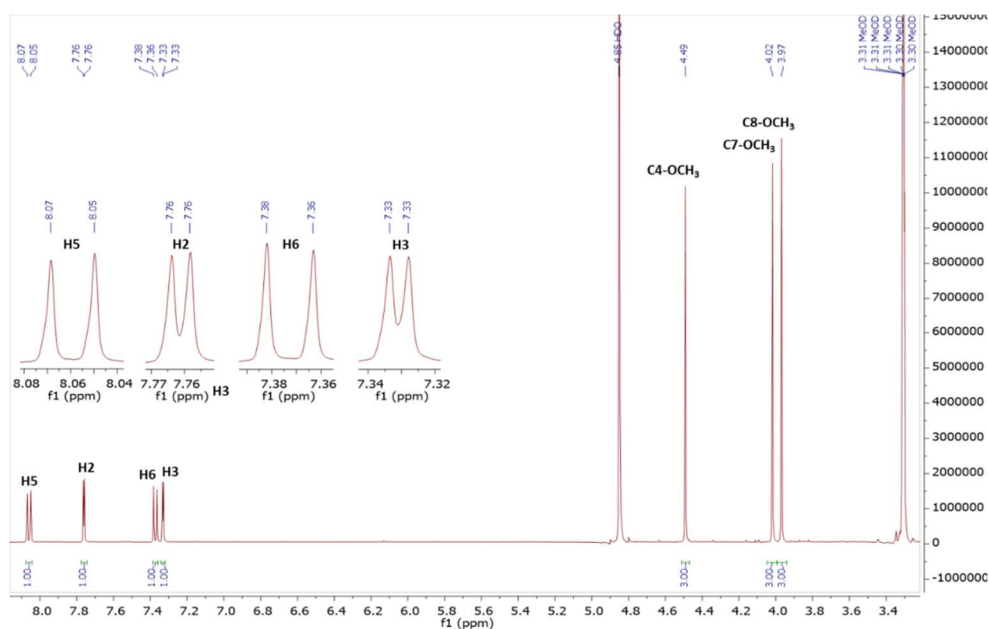


Figure 108 : Spectre RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) de MFD7

L'attribution des protons à l'aide du spectre HSQC a permis de mettre en évidence sur le spectre RMN-¹³C, quatre groupes méthines à savoir C-2 (144,5 ppm), C-3 (103,4 ppm), C-5 (119,7 ppm) et C-6 (113,5 ppm) ; trois groupes méthoxyles à δ_C = 60,1 ppm (C-4-OMe), 57,2 ppm (C-7-OMe) et 61,8 ppm (C-8-OMe) ; puis sept carbones quaternaires que sont C-4 (159,3 ppm), C-7 (153,9 ppm), C-8 (142,7 ppm), C-10 (166,1 ppm), C-11 (106,4 ppm), C-12 (115,9 ppm) et C-13 (142,1 ppm) (**figure 109**).

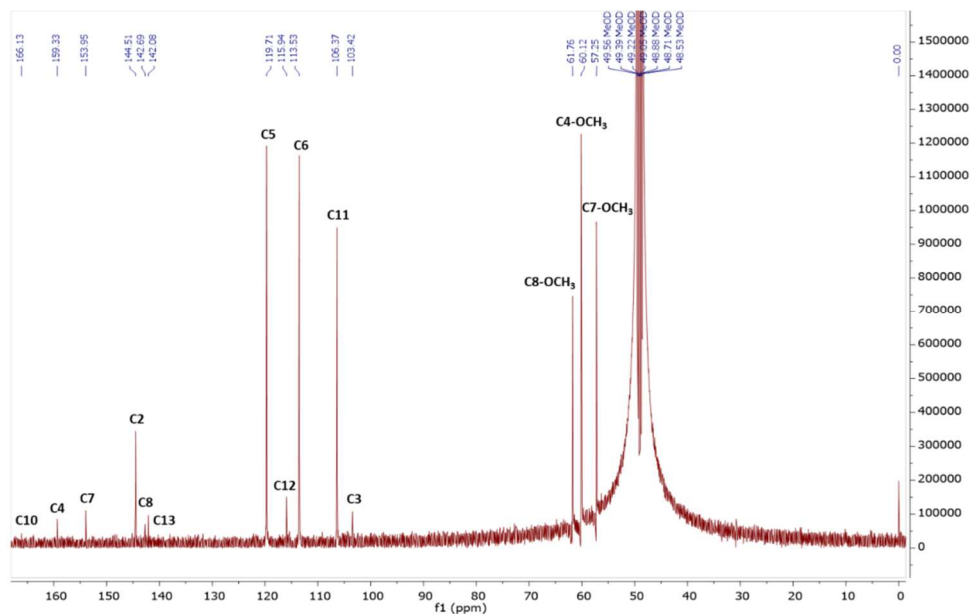


Figure 109 : Spectre RMN ¹³C (600 MHz, CD₃OD) de MFD7

Différentes corrélations (**figure 110**) sont observables sur le spectre HMBC (**annexe 11**). Le proton H-2 corrèle avec les carbones C-3, C-10 et C-11, tandis que le proton H-3 corrèle avec les carbones C-2 et C-10. Quant au proton H-5, des corrélations sont observées avec les carbones C-4, C-7 et C-13, pendant que le proton H-6 corrèle avec les carbones C-4, C-7 et C-8. Les protons des groupes méthoxyles corrèlent avec les carbones respectifs qui portent ces groupes. Ainsi, les protons du C-4-OMe corrèlent avec C-4, ceux du C-7-OMe avec C-7 et enfin ceux du C-8-OMe avec le C-8.

L'exploitation de toutes ces données spectrales (**tableau 36**) a conduit à la structure de la Skimmianine (**figure 111**), composé décrit par **Jackson et al. (1990)** et **Riyanto et al. (2001)**. Ce composé a également été identifié dans les racines de *Z. mezoneurispinosum* et dans d'autres espèces de *Zanthoxylum* (**Yang et al., 2012 ; Olila et al., 2001 ; De Moura et al., 1997**). Il présente des propriétés anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, etc. (**Ratheesh et al., 2013 ; Olida et al., 2001**).

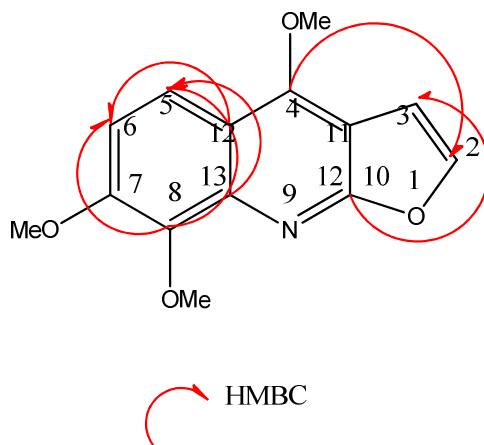


Figure 110 : Schéma des corrélations HMBC des protons du composé MFD7

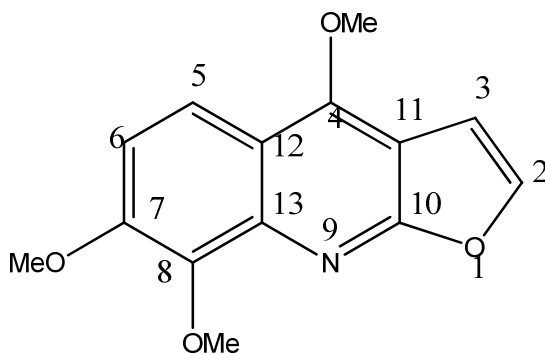


Figure 111 : Structure de la skimmianine

Tableau 36 : Déplacements chimique RMN 1D et 2D du composé MDF7 (CD₃OD)

N° Atome	¹³ C (δ,ppm)	¹³ C (δ, ppm) * (Riyanto 2001)	¹ H (δ , ppm) ; m (J, Hz)	HMBC
2	144,5	142,9	7,76 (1H ; d ; 2,9)	C-3 ; C-10 ; C11
3	103,4	104,6	7,33 (1H ; d ; 2,9)	C-2 ; C-10
4	159,3	157,1	-	
5	119,7	118,2	8,06 (1H ; d ; 9,5)	C-4 ; C-7 ; C- 13
6	113,5	111,9	7,37 (1H ; d ; 9,5)	C-4 ; C-7 ; C-8
7	153,9	141,9	-	
8	142,7	141,4	-	
10	166,1	164,3	-	
11	106,4	101,9	-	
12	115,9	114,8	-	
13	142,1	152,1	-	
C4-O- CH ₃	60,1	58,9	4,49 (3H ; s)	C-4
C7-O- CH ₃	57,2	56,8	4,02 (3H, s)	C-7
C8-O- CH ₃	61,8	61,6	3,97 (3H ; s)	C-8

3.3.8. Élucidation structurale du composé MFD8

Le composé MFD8 se présente sous la forme de cristaux jaunes, soluble dans le méthanol deutéré. Sa masse moléculaire C₁₅H₁₃NO₄ a été déduite de son spectre de masse ESI-HR qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+H]⁺ à *m/z* 272,0940 (Calculé 271,0845). Son spectre IR montre des bandes d'absorption à 3700, 1500, 1070 cm⁻¹ attribuables respectivement à des groupements amide et carbonyle.

Le spectre RMN ¹H (**figure 112**) permet d'observer trois singulets à δ 6,46 ppm (-CH=) ; 4,03 ppm (OMe) et 3,86 ppm (OMe), des doublets et des doublets de doublets à δ 7,45 ppm (d, 8,4 Hz), δ 7,28 ppm (dd, 8,1 ; 7,0 ; 0,8 Hz, H-6) δ 7,70 ppm (dd, 8,4 ; 7,0 ; 1,5 Hz, H-7) et (1H, dd, 8,1 ; 1,5 Hz).

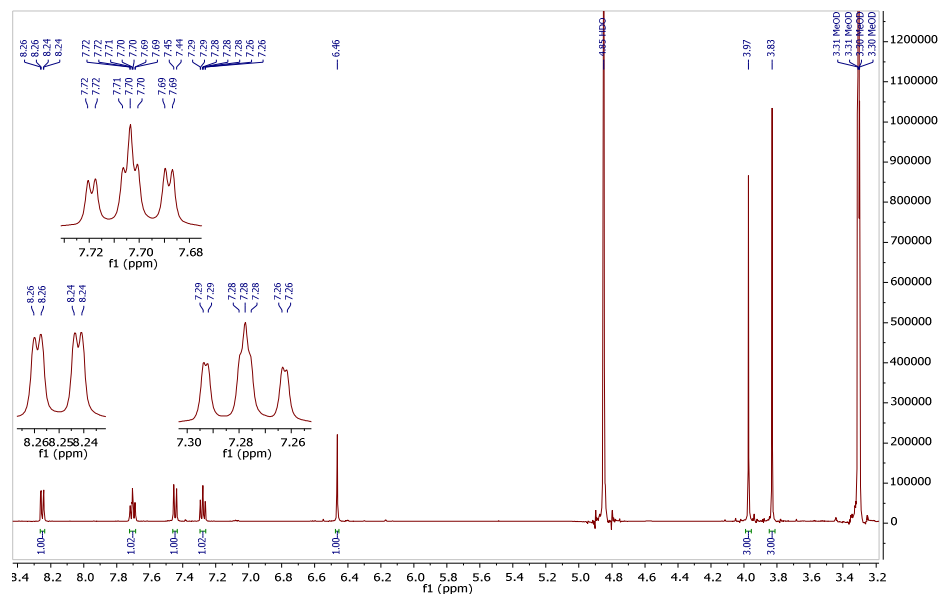


Figure 112 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de MFD8

Le spectre RMN ^{13}C (**figure 113**) a permis d'identifier 8 carbones quaternaires dont un groupement carboxyle à δ 182,8 ppm (C-9) et un autre rattaché au groupement hydroxyle à δ 155,2 ppm (C-1). Les six autres sont à δ 130,9 ppm (C-2), 161,3 ppm (C-3), 140,8 ppm (C-11), 106,0 ppm (C-12) et 113,1 ppm (C-13), 142,3 ppm (C-14). Nous notons également 5 atomes de carbone méthylènes à δ 88,9 ppm (C-4), 117,9 (C-5), 134,9 (C-6), 122,7 ppm (C-7), 126,3 ppm (C-8) et δ 61,2 ppm ; 56,6 ppm (OCH_3).

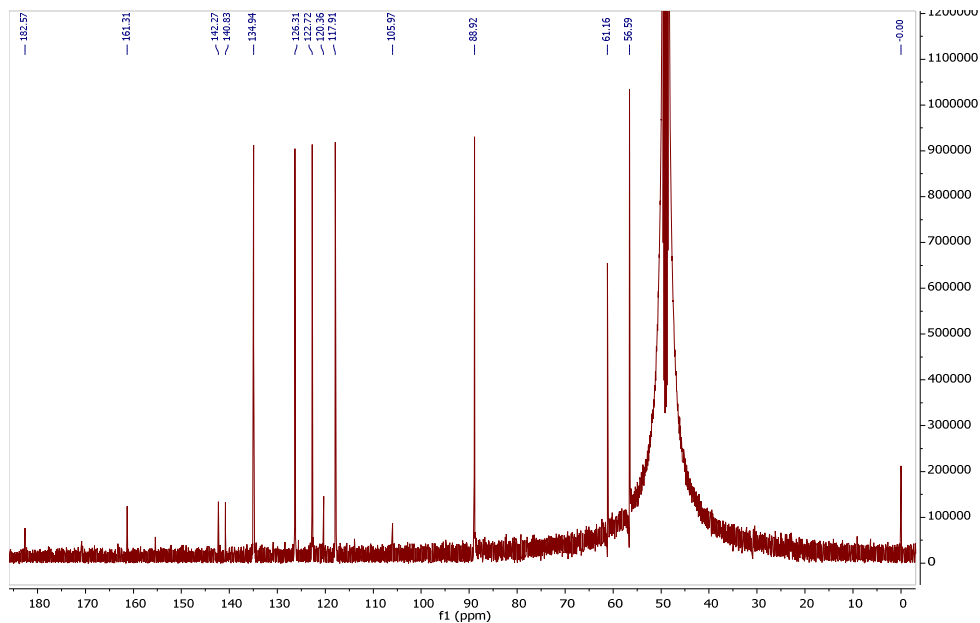


Figure 113: Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, CD_3OD) de MFD8

L'attribution des signaux a été réalisée par l'analyse des spectres de corrélations homonucléaire COSY (**annexe 10A**) et hétéronucléaire HSQC et HMBC (**annexe 10B**). Ainsi, l'expérience HMBC montre trois corrélations $^3J_{\text{CH}}$ entre le proton H-5 à δ 8,25 ppm avec les carbones C-7, C-9 et C-13. Nous observons également, des corrélations $^3J_{\text{CH}}$ et $^4J_{\text{CH}}$ entre le proton H-4 à δ 6,46 ppm avec les carbones C-2 et C-9 et une autre corrélation $^3J_{\text{CH}}$ avec le proton H-7 avec les carbones C-5 et C-13 (**figure 114**).

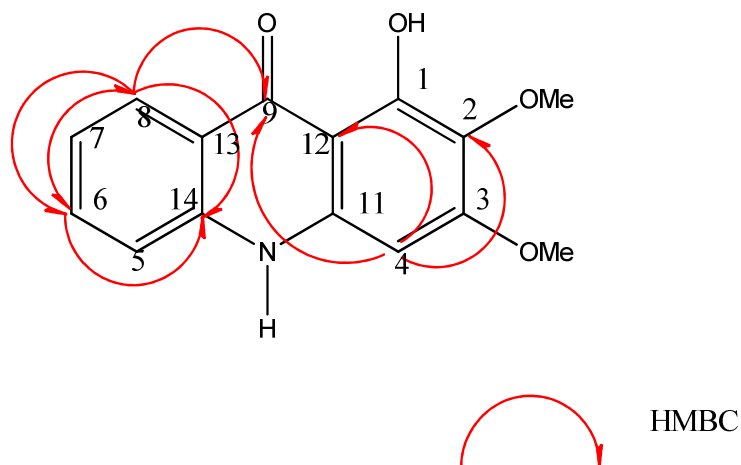


Figure 114 : Schéma des corrélations HMBC des protons du composé MFD8

Par comparaison des données de l'étude réalisée par **Spatafora et al., (1997)** avec celles du composé MFD8, la structure a été identifiée comme étant la xanthoxoline (**figure 115**). Ce composé a été déjà isolé dans les *Zanthoxylum* et présente plusieurs propriétés biologiques à savoir : activité anti-plasmodiale, antibactérienne et anti microbienne (**Tchinda et al., 2009 ; Nogueira et al., 2011 ; Aniszewski T. 2015**). Les attributions des différents déplacements chimiques sont représentées dans le **tableau 37**.

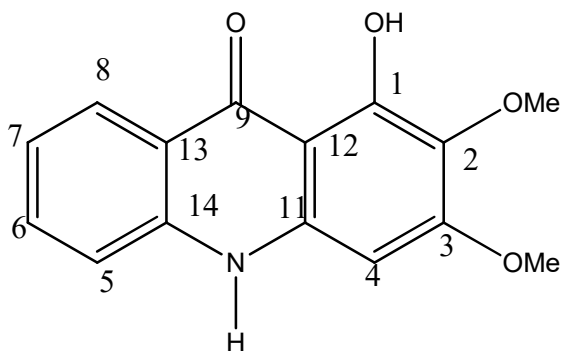


Figure 115 : Structure de la xanthoxoline

Tableau 37 : Déplacements chimique RMN 1D et 2D du composé MDF68 (CD₃OD)

N° Atome	¹³ C (δ, ppm)	¹³ C (δ, ppm)* (Spatafora 1997)	¹ H (δ, ppm) ; m (J, Hz)	HMBC
1	155,2	155,7		
2	130,9	130,4		C-4
3	161,3	160,6		C-10
4	88,9	88,4	6,46 (1H ; s)	
5	117,9	117,3	8,25 (1H ; dd ; 8,1 ; 1,5)	C-8 ; C-13
6	134,9	134,2	7,28 (1H ; ddd ; 8,1 ; 7,0 ; 0,8)	C-8 ; C-12
7	122,7	122,0	7,70 (1H ; ddd ; 8,4 ; 7,0 ; 1,5)	
8	126,3	126,0	7,45 (1H ; d ; 8,4)	
9	182,8	181,8	-	
11	140,8	140,2	-	
12	106,0	106,4	-	
13	113,4	113,1	-	
14	142,3	141,5	-	
O-CH ₃	61,2	60,2	4,03 (3H ; s)	
O-CH ₃	56,6	56,1	3,86 (3H, s)	

4. Conclusion partielle sur l'étude phytochimique

L'étude phytochimique de l'extrait dichlorométhane des feuilles de *Zanthoxylum mezoneurispinosum* a permis de confirmer les résultats de l'analyse quantitative et qualitative.

Ainsi, les différentes structures déterminées appartiennent aux familles des alcaloïdes, des flavonoïdes, des terpènes et des amides. En comparaison avec la littérature, nos résultats sont en accord avec les recherches qui ont montré que le genre *Zanthoxylum* est riche en alcaloïdes, flavonoïdes, terpènes et amides etc. (**Cebrian-Torrejon et al., 2011**).

Les résultats des molécules isolées viennent encore une fois confirmer l'utilisation du genre *Zanthoxylum* en médecine traditionnelle grâce aux propriétés biologiques que dégagent les différentes familles de molécules.

Partie 3.

Conclusion générale et Perspectives

Conclusion générale

Les composantes de la flore ivoirienne sont insuffisamment valorisées en raison d'un déficit d'informations sur leur capacité à participer au bien-être de l'humanité en général mais surtout à l'épanouissement des populations rurales. De plus, les connaissances sur leur potentialité à rendre des services écosystémiques sont faibles en raison de l'insuffisance d'études approfondies qui leur sont consacrées relativement à leur biologie, leur écologie ou même à leurs compositions en substances naturelles. Ce travail s'inscrit dans un contexte de valorisation des espèces de la flore Ivoirienne en général mais surtout de celles qui pourraient être utilisées pour la fabrication de Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA). Trois espèces appartenant à la famille des Rutaceae et au Genre *Zanthoxylum* (*Zanthoxylum lepriurii*, *Zanthoxylum psammophilum* et *Zanthoxylum mezoneurispinosum*) ont fait l'objet de cette étude. Elle a pour principal objectif d'identifier les substances volatiles d'une part et les métabolites secondaires non-volatiles d'autre part.

En plus de son caractère scientifique avéré, cette étude revêt donc d'une importance capitale aussi-bien pour la conservation de la biodiversité que pour des actions sociales et économiques. *Zanthoxylum psammophilum* et *Zanthoxylum mezoneurispinosum* sont en effet, des espèces endémiques de Côte d'Ivoire qui font pour la première fois l'objet d'études chimiques de substances volatiles. La récente localisation de certains spécimens lors de nos échantillonnages, peut orienter les conservateurs vers la prise de décisions relatives à leur protection en rapport avec la disparition actuelle des écosystèmes forestiers qui renferment leurs habitats naturels. Les différentes actions de valorisation pourraient être à l'origine d'activités sociales, génératrices de revenus au profit des populations locales. Bien valorisés, les résultats de ces travaux seront d'un appui à des actions de lutte contre la paupérisation des populations locales.

Il a donc été question, dans un premier temps de déterminer la composition chimique des huiles essentielles de ces trois plantes et d'évaluer leurs activités biologiques (activité antioxydante, anti-inflammatoire, insecticide et anti plasmodiale) subséquentes. Dès lors, pour chacune des espèces, les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation de type Clevenger. Les extractions ont porté sur divers organes notamment, les feuilles, les écorces, les racines et les fruits. La composition chimique des huiles essentielles extraites a été déterminée par la méthode CPG/SM. Les différentes compositions obtenues ont été soumises aux méthodes statistiques descriptives avec l'Analyse en Composante Principale (ACP) et la Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) pour en observer la variation des compositions en HE en fonction des paramètres considérés (l'espèce, les organes, la saison et le lieu de récolte). Les résultats indiquent que la composition chimique des huiles essentielles diffère suivant les organes et l'espèce. Des paramètres comme la variabilité saisonnière et le lieu de récolte peuvent aussi impacter cette composition chimique.

Chez *Z. lepriurii*, au-delà des extractions et des différents tests, le paramètre de variabilité saisonnière a été évalué en plus de celui des organes. De ces tests, il ressort que la composition chimique des huiles essentielles des feuilles a une abondance en

sesquiterpènes et méthylcétones, et est dominée par le tridécan-2-one, undécan-2-one, β -elemene, linalool, (*E*)- β -ocimène, (*E*)- β -caryophyllène, thymol et dendrolasin. Dans celle des écorces, dominant le tridécan-2-one, l' α -humulène, le tridécan-2-ol, et le farnésol. Celle des fruits est riche en monoterpènes dominée par le géraniol, le citronellol, le β -Mycènes, le perillène et le nérate de méthyl. L'étude statistique a permis de mettre en évidence trois groupes distincts, caractérisés chacun par des chémotypes spécifiques. Le groupe I correspondant aux fruits est dominé par deux chémotypes (β -myrcène et citronellol). Le second groupe représentant les écorces est caractérisé par le tridécan-2-one, et enfin, les feuilles appartenant au groupe III est constitué de trois chémotypes, le tridécan-2-one, (*E*)- β -caryophyllène et le dendrolasin. La même analyse a ensuite montré l'influence du facteur temporel sur les différents organes (feuilles, écorces et fruits). Cette influence s'explique par le fait que les feuilles sont sensibles aux variations saisonnières notamment les niveaux d'exposition à la lumière, la température, les précipitations, l'humidité, les facteurs biotiques et les attaques de parasites sur les écorces et les fruits.

Z. mezoneurispinosum et *Z. psammophilum* sont pour la première fois chimiquement étudiées. Jusqu'à ce jour, aucune étude n'avait encore été réalisée sur la composition chimique de leurs huiles essentielles.

L'analyse de la composition chimique des HE *Z. mezoneurispinosum* révèlent une abondance en monoterpènes hydrocarbonés pour les huiles essentielles des feuilles et des écorces dominées par α -pinène alors que l'HE des racines riches en sesquiterpènes hydrocarbonés et est dominée par γ -élémane, cyclosativène et viridiflorol.

Chez *Z. psammophilum*, seconde espèce endémique, l'analyse de la composition de l'huile essentielle des écorces présente des constituants très rares. Cette huile essentielle est uniquement constituée de quatre composés non terpéniques tels que le tridécan-2-one, tridécan-2-ol, l'undécan-2-one et l'undécan-2-ol. Comparativement aux écorces, les constituants de l'HE des feuilles qui présentent une dominance en méthylcétones, sont aussi caractérisés par les sesquiterpènes, les monoterpènes et les diterpènes. L'HE des racines de *Z. psammophilum* est plutôt riche en sesquiterpènes hydrocarbonés et est dominée par le (*E*)- β -caryophyllène et le thymol.

L'évaluation des activités antioxydante, anti-inflammatoire, insecticide et anti-plasmodiale des organes des huiles essentielles réalisée sur les trois plantes a permis de montrer que *Z. leprieurii*, en plus de ses qualités de plante aromatique et médicinale peut avoir d'autres usages. Les résultats ont indiqué de fortes activités antioxydante, anti-inflammatoire et anti-plasmodiale modérée. Ces huiles essentielles ont également une activité insecticide très intéressante. Toutes ces observations viennent confirmer l'utilisation de *Z. leprieurii* en médecine traditionnelle. Elles pourraient servir de matières premières pour la fabrication de médicament antipaludéen. En effet, la malaria constitue encore une source de mortalité surtout chez les sujets à bas âge en Afrique et particulièrement en Côte d'Ivoire. Les huiles essentielles de cette espèce peuvent également être utilisées comme biopesticide pour la lutte contre les insectes ravageurs des cultures et garantir ainsi de bonnes récoltes. Elles peuvent constituer ainsi une des alternatives à l'utilisation excessive des pesticides de synthèse dont l'impact sur l'environnement et la santé humaine et animale sont actuellement déplorés. La valorisation de ces huiles essentielles trouve ainsi une importance

capitale dans la réalisation de l'objectif de développement durable actuellement prôné par les gouvernements de nombreux pays et plusieurs couches sociales.

L'étude de *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum* s'est fixé pour objectif biologique, l'évaluation de leurs potentiels comme source de molécules thérapeutiques en vue de leur utilisation en médecine traditionnelle. Les résultats obtenus avec les huiles essentielles isolées de ces deux plantes contiennent des molécules intéressantes et présentent des propriétés biologiques prometteuses et inconnues jusqu'alors.

Par conséquent, ces résultats pourraient constituer une contribution efficiente à l'amélioration de la médecine traditionnelle de qualité dans la fourniture de soins dans les structures sanitaires en zones rurales éloignées où les systèmes de soins de santé conventionnels sont limités. De nombreuses pathologies dont le traitement est encore basé sur l'usage des produits pharmaceutiques généralement hors de portée de la bourse d'une grande majorité des populations peuvent être soulagées à partir de médicaments traditionnels améliorés faits à base de ces huiles.

Pour ce qui concerne le second objectif, une étude phytochimique a également été réalisée sur les feuilles de l'une des plantes endémiques : *Z. mezoneurispinosum* dans le but d'isoler et de déterminer les structures. Elle s'est d'abord penchée sur la quantification des dosages totaux en polyphénols, alcaloïdes, flavonoïdes et tanins sur plusieurs extraits aux solvants (dichlorométhane, acétate d'éthyle). À l'issue de cette quantification, l'extrait dichlorométhane a montré le bon profil en composés phénoliques.

L'investigation phytochimique des feuilles de *Z. mezoneurispinosum* a permis d'isoler huit composés dont quatre alcaloïdes (1-hydroxy-3,4-diméthoxy-N-méthylacridone, chélérythrine, skimmianine et xanthoxoline), un dérivé de l'acide cinnamique (méthyl 4-coumarate), un flavonoïde (4'-méthoxy-5,7-dihydroxyflavone ou acacétine), un amide (acide (E)-4-isobutylamino-4-but-énoïque) et un triterpène (lupéol). Parmi ces composés extraits, 5 sont isolés pour la première fois dans cette espèce.

Ces composés qui pour certains constituent une découverte originale dans la recherche scientifique sur cette espèce et pour d'autres, un approfondissement des découvertes antérieures, attestent de l'importance indéniable de *Z. mezoneurispinosum*. Cette étude phytochimique justifie ainsi les multiples applications du genre *Zanthoxylum* en médecine traditionnelle.

Perspectives

Les résultats obtenus sont très encourageants et ouvrent la voie à de nouvelles perspectives de recherche. Sur les espèces endémiques notamment, cette étude reste pionnière. Des efforts restent attendus pour une meilleure appréciation de leur potentialité. Les pistes à explorer compte tenu de l'état des connaissances actuelles sont nombreuses. Les activités peuvent porter à la fois sur le champ purement chimique que sur le chantier de la conservation. De la réussite de ce dernier, dépend la durabilité de l'approvisionnement en matière première végétale de ces différentes ressources.

Au niveau purement chimique, si des informations plus ou moins nombreuses sont disponibles sur *Z. leprieurii*, les attentes sont encore nombreuses sur les espèces endémiques. Suivant l'espèce et le niveau actuel des connaissances, plusieurs études peuvent être envisagées.

Pour *Z. leprieurii* les recherches doivent conduire à une mise au point effective de médicaments traditionnels améliorés à partir des huiles essentielles de ses différents organes. Les activités allant de la détermination des doses effectivement efficaces à la stabilisation de la matière active doivent être menées pour répondre aux attentes des populations.

Pour les deux espèces endémiques, le chantier reste presque entièrement ouvert et les actions doivent être encouragées en raison des importants résultats obtenus dans cette étude qui n'est qu'une amorce des potentialités de recherche qu'elles offrent. Ces travaux complémentaires qui restent à conduire devraient permettre d'aboutir à un meilleur usage de ces plantes (aux plans médicinal, cosmétique, alimentaire, etc.). Chez l'espèce *Z. mezoneurispinosum*, il conviendra d'élargir l'étude phytochimique sur des extraits d'huiles essentielles d'autres organes pour en déterminer ses potentialités ; Les mêmes actions doivent être mener sur *Zanthoxylum psammophilum*.

Du point de vue de la gestion durable de ces ressources, les résultats ont permis de voir que *Z. leprieurii*, *Z. mezoneurispinosum* et *Z. psammophilum*, espèces menacées de disparition sont d'une grande utilité pour l'homme. Il est donc impérieux d'assurer leur gestion durable afin d'en tirer de meilleurs profits. Des réflexions futures devraient donc être axées non seulement sur la valorisation des espèces, mais surtout, sur des actions qui visent leur protection et leur conservation *in* et *ex situ*. Ainsi, il est souhaitable de :

- investiguer pour identifier les nouvelles aires de répartition ;
- étudier leurs caractéristiques biologiques, surtout les paramètres de reproduction afin d'envisager leur multiplication pour des réintroductions éventuelles ou la création de vergers.
- étudier les paramètres écologiques et climatiques qui conditionnent leur maintien dans la nature.
- ouvrir des chantiers de recherche incluant des paramètres anthropologiques et économiques qui pourraient aider à une meilleure conservation participative de tous les acteurs (Chercheurs, population local, administration, etc.).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abe, F., Yahara, S., Kubo, K., Nonaka, G., Okabe, H., & Nishioka, I. (1974), Studies on *Xanthoxylum* spp, II, Constituents of the Bark of *Xanthoxylum piperitum* DC, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 22(11), 2650-2655.
- Adamczak, A., Ożarowski, M., & Karpiński, T. M. (2020). Antibacterial activity of some flavonoids and organic acids widely distributed in plants. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 109.
- Adams, R. P. (2001). Quadrupole mass spectra of compounds listed in order of their retention time on DB-5. Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. *Quadrupole mass spectroscopy*.
- Adebayo, S. A., Dzoyem, J. P., Shai, L. J., & Eloff, J. N. (2015). The anti-inflammatory and antioxidant activity of 25 plant species used traditionally to treat pain in southern African. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 159.
- Adesina, S. K., & Reisch, J. (1989). Amides from *Zanthoxylum rubescens*. *Phytochemistry*, 28(3), 839-842.
- Adou, A. D., Kabran, G. R. M., N'guessan, A. H. O., Kablan, A. L. C., Mamyrbekova-Békro, J. A., & Békro, Y. A. (2019), Analyse phytochimique d'un extrait coumarinique de feuilles de *Zanthoxylum gillettii* de Côte d'Ivoire, *J. Soc. Ouest-Afr, Chim*, 47, 26-31.
- Afify, A. E. M. M., El-Beltagi, H. S., El-Salam, S. M. A., & Omran, A. A. (2012), Biochemical changes in phenols, flavonoids, tannins, vitamin E, β -carotene and antioxidant activity during soaking of three white sorghum varieties, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), 203-209.
- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M., & Shahidi, F. (2005). Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(19), 7592-7599.
- Agyare, C., Kisseih, E., Kyere, I. Y., & Ossei, P. P. S. (2014), Medicinal plants used in wound care: Assessment of wound healing and antimicrobial properties of *Zanthoxylum leprieurii*.

- Ahmad, M., Weber, A. D., Zanon, G., Tavares, L. D. C., Ilha, V., Dalcol, I. I., & F Morel, A. (2014). Inhibitory and enzyme-kinetic Investigation of chelerythrine and lupeol Isolated from *Zanthoxylum rhoifolium* against krait snake venom acetylcholinesterase. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 25(1), 98-103.
- Ahmed, S., & Grainge, M. (1986). Potential of the neem tree (*Azadirachta indica*) for pest control and rural development. *Economic Botany*, 40(2), 201-209.
- Aké Assi L., 2001- Flore de la Côte d'Ivoire : catalogue systématique, biogéographie et écologie. Volumes 1 : Mémoire de Botanique systématique. Conservatoire et Jardin Botanique de Genève ; Boissieria 57 ; 396 p.
- Aké Assi L., 2002- Flore de la Côte d'Ivoire : catalogue systématique, biogéographie et écologie. Volume 2 : Mémoire de Botanique systématique. Conservatoire et Jardin Botanique de Genève ; Boissieria 58 ; 441 p.
- Akihisa, T., Yamamoto, K., Tamura, T., Kimura, Y., Iida, T., Nambara, T., & Chang, F. C. (1992). Triterpenoid Ketones from *Lingnania chungii* MoClure: Arborinone, friedelin and glutinone. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 40(3), 789-791.
- Alam, F., & Ashraf, M. (2019). Phenolic contents, elemental analysis, antioxidant and lipooxygenase inhibitory activities of *Zanthoxylum armatum* DC fruit, leaves and bark extracts, *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 32(4).
- Aman, S., Moin, S., Owais, M., & Siddiqui, M. U. (2013). Antioxidant activity of thymol: protective role in AAPH-induced hemolysis in diabetic erythrocytes. *IJPSI*, 2(3), 55-60.
- Andersson, C. M., Hallberg, A., & Högberg, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. In *Advances in Drug Research* (Vol. 28, pp. 65-180). Academic Press.
- Aniszewski, T. (2015). *Alkaloids: chemistry, biology, ecology, and applications*. Elsevier.
- Assi, L. A., & Jérémie, J. (2009), Lectotypification de *Fagara mezoneurispinosa* (Rutaceae), basionyme de *Zanthoxylum mezoneurispinosum*, espèce endémique de Côte d'Ivoire, *Adansonia*, 31(1), 169-174.
- Azizan, N., Mohd Said, S., Zainal Abidin, Z., & Jantan, I. (2017). Composition and antibacterial activity of the essential oils of *Orthosiphon*

- stamineus Benth* and *Ficus deltoidea* Jack against pathogenic oral bacteria. *Molecules*, 22(12), 2135.
- Azzaz, N. A., El-Khateeb, A. Y., & Farag, A. A. (2014). Chemical composition and biological activity of the essential oil of *cyperus articulatus*. *International Journal of Academic Research*, 6(5).
- Babushok, V. I., Linstrom, P. J., & Zenkevich, I. G. (2011). Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 40(4), 043101.
- Bahorun, T. (1998, March). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists* (Vol. 83).
- Barrera, C. A. C., Barrera, E. D. C., Falla, D. S. G., Murcia, G. D., & Suarez, L. E. C. (2011). Seco-limonoids and quinoline alkaloids from *Raputia heptaphylla* and their antileishmanial activity, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59(7), 855-859.
- Bedi, G., Tonzibo, Z. F., Chopard, C., Mahy, J. P., & N Guessan, T. Y. (2004). Etude des effets anti douleurs des huiles essentielles de *Chromolaena Odorata* et de *Mikania Cordata*, par action sur la lipoxygénase L-1 de soja. *Physical and Chemical News*, 15, 124-127.
- Bedi, G., Tonzibo, Z. F., Oussou, K. R., Choppard, C., Mahy, J. P., & Nrsquo, T. Y. (2010). Effect of essential oil of *Chromoleana odorata* (Asteraceae) from Ivory Coast, on cyclooxygenase function of prostagladin-H synthase activity. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(8), 535-538.
- Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J. M., Bernardini, A. F., & Costa, J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf, essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation, *Food Chemistry*, 106(1), 132-139.
- Benini, C., ringuet, M., Wathelet, J. P., Lognay, G., du Jardin, P., & Fauconnier, M. L. (2012). Variations in the essential oils from *ylang-ylang* (*Cananga odorata* [Lam.] Hook f. & ThoSMon forma genuina) in the Western Indian Ocean islands. *Flavour and fragrance journal*, 27(5), 356-366.
- Benzie, I. F., & Szeto, Y. T. (1999). Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(2), 633-636.

- Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Aidi Wannes, W., Hamrouni Selami, I., Saidani Tounsi, M., Marzouk, B., & Ksouri, R. (2018). Comparative assessment of phytochemical profiles and antioxidant properties of Tunisian and Egyptian anise (*Pimpinella anisum* L.) seeds. *Plant BiosysteSM-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 152(5), 971-978.
- Bettaieb, I., Bourgou, S., Ben Kaab, S., Aidi Wannes, W., Ksouri, R., Saidini Tounsi, M., & Fauconnier, M, L, (2019). On the effect of initial drying techniques on essential oil composition, phenolic compound and antioxidant properties of anise (*Pimpinella anisum* L.) seeds, *Journal of Food Measurement and Characterization*,
- Bhatt, V., Sharma, S., Kumar, N., Sharma, U., & Singh, B. (2017). Chemical Composition of Essential Oil among Seven Populations of *Zanthoxylum armatum* from Himachal Pradesh: Chemotypic and Seasonal Variation. *Natural Product Communications*, 12(10), 1643-1646.
- Bhatt, V., Sharma, S., Kumar, N., Sharma, U., & Singh. B. (2017). Simultaneous quantification and identification of flavonoids, lignans, coumarin and amides in leaves of *Zanthoxylum armatum* using UPLC-DAD-ESI-QTOF–SM/SM, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 132, 46-55.
- Bhattacharya, S., Haldar, P. K., & Zaman, M, K, (2011), Anti-inflammatory activity and antioxidant role of *Zanthoxylum nitidum* bark, *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 11(4), 271-277.
- Bisht, D. and Chanotiya, C.S. (2011). 2-undecanone rich leaf essential oil from *Zanthoxylum armatum*, *Natural Products Communications*, 6(1): 111-114.
- Bonnabel-Blaize M, et Rozet F.-A., (2011). Santé et bien-être par les huiles essentielles : Conseils et recettes d’une pharmacienne herboriste, EDISUD,
- Bordignon, A, Frédéric, M., Ledoux, A., Campos, P. E., Clerc, P., Hermann, T., & Cieckiewicz, E. (2018). In vitro antiplasmodial and cytotoxic activities of sesquiterpene lactones from *Vernonia fimbrillifera* Less, (*Asteraceae*), *Natural product research*, 32(12), 1463-1466.
- Bouba, A., Njintang, Y. N., Scher, J., & Mbofung, C, M, F, (2010). Phenolic compounds and radical scavenging potential of twenty

- Cameroonian spices, Agriculture and Biology Journal of North America, 1(3), 213-224.
- Boudjelal, A. (2013). Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie (Doctoral dissertation, Université de Annaba-Badji Mokhtar).
- Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M. Chaouch A. (2007). Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetralinis articulata* (Vahl) du Maroc, Afrique Science, 3 (2), 232-242.
- Braga, P. C., Dal Sasso, M., Culici, M., Bianchi, T., Bordoni, L., & Marabini, L. (2006). Anti-inflammatory activity of thymol: inhibitory effect on the release of human neutrophil elastase. Pharmacology, 77(3), 130-136.
- Breitmaier, E. (2006). Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones. John Wiley & Sons p 214.
- Brereton R.G. (2003). Geometric Data Analysis of the Laboratory and Chemical Plant. Wiley Internasciences, New York, 504p.
- Brinkworth, R. I., Stoermer, M. J., & Fairlie, D. P. (1992). Flavones are inhibitors of HIV-1 proteinase. Biochemical and biophysical research communications, 188(2), 631-637.
- Brophy, J. J., Goldsack, R. J., Forster, P. I., & Hutton, I. (2000). Composition of the leaf oils of the Australian and Lord Howe Island species of *Zanthoxylum* (Rutaceae), Journal of Essential Oil Research, 12(3), 285-291.
- Bruneton J., (2009). Pharmacognosie, Editions Lavoisier,
- Bunalema, L., Fotso, G. W., Waako, P., Tabuti, J., & Yeboah, S. O. (2017), Potential of *Zanthoxylum leprieurii* as a source of active compounds against drug resistant Mycobacterium tuberculosis, BMC complementary and alternative medicine, 17(1), 1-6.
- Burgot, G., & Burgot, J. L. (2011). Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications : méthodes chromatographiques, électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques. Lavoisier.
- Burkil, H. M., (2004). Royal Botanic Gardens; Kew Year, The Useful Plants of West Tropical Africa,

- Busch, C., Burkard, M., Leischner, C., Lauer, U. M., Frank, J., & Venturelli, S. (2015). Epigenetic activities of flavonoids in the prevention and treatment of cancer. *Clinical epigenetics*, 7(1), 1-18.
- Calderwood, J. M., & Fish, F. (1966). Screening for tertiary and quaternary alkaloids in some African *Fagara* species, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 18(S1), 119S-125S.
- Callahan, R., Prip, R., Shariff, N., Sklyut, O., Rothchild, R., & Bynum, K. (2005). ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance studies of the hindered phencyclone adducts of some smaller branched N-alkyl maleimides: rigorous aryl proton assignments with high-resolution two-dimensional (COSY45) spectroscopy, and anisotropic shielding effects and ab initio geometry optimizations. *Applied spectroscopy*, 59(3), 354-365.
- Calleja, M. A., Vieites, J. M., Montero-Meterdez, T., Torres, M. I., Faus, M. J., Gil, A., & Suárez, A. (2013). The antioxidant effect of β -caryophyllene protects rat liver from carbon tetrachloride-induced fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation. *British journal of nutrition*, 109(3), 394-401.
- Capuzzo, A., Maffei, M. E., & Occhipinti, A. (2013). Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. *Molecules*, 18(6), 7194-7238.
- Cebrian-Torrejón, G. (2011). *Phytochimie de Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium* (Rutaceae). Chimie et pharmacochimie de la canthin-6-one (Doctoral dissertation).
- Celebioglu, A., Yildiz, Z. I., & Uyar, T. (2018). Thymol/cyclodextrin inclusion complex nanofibrous webs: Enhanced water solubility, high thermal stability and antioxidant property of thymol. *Food research international*, 106, 280-290.
- Chang, C. T., Doong, S. L., Tsai, I. L., & Chen, I. S., (1997). Coumarins and anti-HBV constituents from *Zanthoxylum schinifolium*, *Phytochemistry*, 45(7), 1419-1422.
- Chen, I. S., Wu, S. J., Tsai, I. L., Wu, T. S., Pezzuto, J. M., Lu, M. C., & Teng, C. M. (1994). Chemical and bioactive constituents from *Zanthoxylum simulans*, *Journal of natural products*, 57(9), 1206-1211.
- Chen, J., Wang, W., Shi, C., & Fang, J. (2014). A comparative study of sodium houttuynfonate and 2-undecanone for their in vitro and in vivo

- anti-inflammatory activities and stabilities. International journal of molecular sciences, 15(12), 22978-22994.
- Cheng S., Huang C., Chen Y., Yu J., Chen W., Chang S., (2009). Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species, Bioresour, Technol., 100, 452-456.
- Choi, J. S., Choi, Y. J., Park, S. H., Kang, J. S., & Kang, Y. H. (2004). Flavones mitigate tumor necrosis factor- α -induced adhesion molecule upregulation in cultured human endothelial cells: role of nuclear factor- κ B. The Journal of nutrition, 134(5), 1013-1019.
- Choucry, M. A. (2017). Chemical composition and anticancer activity of *Achillea fragrantissima* (Forssk.) Sch. Bip.(Asteraceae) essential oil from Egypt. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, 9(1), 1-5.
- Claridge TDW. (1999). High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry, Tetrahedron Organic Chemistry Series volume 19, Elsevier, Oxford.
- Corrie, J. E. T., Green, G. H., Ritchie, E., & Taylor, W. C. (1970). The chemical constituents of Australian *Zanthoxylum* species, V, The constituents of Z. pluviale Hartley; the structures of two new lignans, Australian Journal of Chemistry, 23(1), 133-145.
- Corticchiato M, Casanova J. (1992). Analyse des mélanges complexes par RMN du Carbone-13 : application aux huiles essentielles, Analusis 20: 51-58.
- Couic-Marinié, F. (2013). Huiles essentielles : l'essentiel, Conseils pratiques en aromathérapie pour toute la famille au quotidien.
- Couic-Marinié, F. (2016, February). Se soigner avec les huiles essentielles. Solar.
- da Silva, K. A. B. S., Klein-Junior, L. C., Cruz, S. M., Cáceres, A., Quintão, N. L. M., Delle Monache, F., & Cechinel-Filho, V. (2012). Anti-inflammatory and anti-hyperalgesic evaluation of the condiment laurel (*Litsea guatemalensis* Mez.) and its chemical composition. Food chemistry, 132(4), 1980-1986.
- Dahham, S. S., Tabana, Y. M., Iqbal, M. A., Ahamed, M. B., Ezzat, M. O., Majid, A. S., & Majid, A. M. (2015). The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. Molecules, 20(7), 11808-11829.
- Dang, N. H., Zhang, X., Zheng, M., Son, K. H., Chang, H. W., Kim, H. P., ... & Kang, S. S. (2005). Inhibitory constituents against

- cyclooxygenases from *Aralia cordata* Thunb. Archives of pharmacol research, 28(1), 28.
- De Moura, N. F., Morel, A. F., Dessoy, E. C., Zanatta, N., Bürger, M. M., Ahlert, N., & Baldissarotto, B. (2002). Alkaloids, amides and antispasmodic activity of *Zanthoxylum hyemale*, *Planta medica*, 68(06), 534-538.
- De Moura, N., Ribeiro, H. B., Machado, E. C., Ethur, E. M., Zanatta, N., & Morel, A. F. (1997). Benzophenanthridine alkaloids from *Zanthoxylum rhoifolium*, *Phytochemistry*, 46(8), 1443-1446.
- De Sousa D. P., (2015). Bioactive essential oils and cancer, 1st Ed, New York, USA: Springer International Publishing, 292,
- Dewick P. M. (2009). Medicinal Natural products : A biosynthetic approach, 3rd Edition, Ed, John Wiley & Sons Ltd, 539 p.
- Diehl, E. E., von Poser, G. L., & Henriques, A. T. (2000). Constituents of *Zanthoxylum rugosum* St.-Hil & Tul, *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(3), 275-277.
- Diwan T., Desai S. A., (2014). Studies on Extraction of Ingredient Oil from Lemongrass,” *International Journal of Engineering Research and Technology*, 3: 509-512.
- Dongmo, P. M. J., Tchoumboungang, F., Sonwa, E. T., Kenfack, S. M., Zollo, P. H. A., & Menut, C., (2008). Antioxidant and antiinflammatory potential of essential oils of some *Zanthoxylum* (Rutaceae) of Cameroon,
- Dorman H. J., Deans S. G., (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, *J, Appl, Microbiol.* 88 (2), 308-316,
- Dubey, N. K., Srivastava, B., & Kumar, A. (2008). Current status of plant products as botanical pesticides in storage pest management. *Journal of Biopesticides*, 1(2), 182-186.
- Dvorak, Z. K. V., Klejdus, B. H. J., Vicar, J. U. J., & Simanek, V. (2006). Quaternary Benzo (c) phenanthridines Sanguinarine and Chelerythrine: A Review of Investigations from Chemical and Biological Studies. *Heterocycles*, 68(11), 2403-2422.
- Eiter, L. C., Fadamiro, H., & Setzer, W. N. (2010). Seasonal variation in the leaf essential oil composition of *Zanthoxylum clava-herculis* growing in Huntsville, Alabama. *Natural product communications*, 5(3), 195-201.
- Ekundayo, O., Oguntimein, B., & Adeoye, A., (1986). Volatile constituents of the essential oil of *Zanthoxylum leprieurii*, *Fitoterapia*.

- El Hajaji, H., Lachkar, N., Alaoui, K., Cherrah, Y., Farah, A., Ennabili, A., & Lachkar, M. (2010). Antioxidant properties and total phenolic content of three varieties of carob tree leaves from Morocco, *Records of Natural Products*, 4(4), 193,
- El Kalamouni C. (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, Thèse de doctorat de l'université de Toulouse.
- Elujoba, A. A., & Nagels, L., (1985). Chromatographic isolation and estimation of zanthoxylol: an antisickling agent from the roots of *Zanthoxylum* species, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 3(5), 447-451.
- Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T., & Rachiq, S. (2015). Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodologie de surface de réponse Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. by response surface methodology. *J. Mater. Environ. Sci*, 6(8), 2346-2357.
- Fang, S. D., Wang, L. K., & Hecht, S. M., (1993). Inhibitors of DNA topoisomerase I isolated from the roots of *Zanthoxylum nitidum*, *The Journal of Organic Chemistry*, 58(19), 5025-5027.
- Fatope MO, Marwah RG, Al Hadhrami NM, Onifade AK, Williams JR. (2008). Identification of the chemotypes of *Ocimum forskolei* and *Ocimum basilicum* by NMR spectroscopy. *Chem Biod* 5: 2457-2463.
- Fernandes, E. S., Passos, G. F., Medeiros, R., da Cunha, F. M., Ferreira, J., Campos, M. M., ... & Calixto, J. B. (2007). Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. *European journal of pharmacology*, 569(3), 228-236.
- Fish, F., & Waterman, P. G. (1971a), Alkaloids from two Nigerian species of *Fagara*, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 23(S1), 132S-135S.
- Fish, F., Waterman, P. G., (1971). Chloroform-Soluble Alkaloids of *Fagara lepreurii*, *Phytochemistry* 10 (12), 3322-3324.
- Fish, F., and Waterman P. G., (1973). Chemosystematics in the Rutaceae II. The chemosystematics of the *Zanthoxylum/Fagara* complex." *Taxon* 22.2-3 177-203.

- Fleurat-Lessard, F. (2018). Gestion intégrée de la protection des stocks de céréales contre les insectes sans traitement insecticide rémanent, *Phytoma*, 716, 32–40.
- Fogang, H. P., Tapondjou, L. A., Womeni, H. M., Quassinti, L., Bramucci, M., Vitali, L. A., & Vittori, S. (2012). Characterization and biological activity of essential oils from fruits of *Zanthoxylum xanthoxyloides* Lam. and *Z. leprieurii* Guill. & Perr., two culinary plants from Cameroon. *Flavour and fragrance journal*, 27(2), 171-179.
- Fonzes, L., & Winternitz, F. (1968). Étude des alcaloïdes de *Fagara leprieurii*, Engl. —II, *Phytochemistry*, 7(10), 1889-1890.
- Forney, F. W., Markovetz, A. J., & Kallio, R. E. (1967). Bacterial oxidation of tridecan-2-one to 1-undecanol. *Journal of bacteriology*, 93(2), 649-655.
- Formáček V, Kubeczka KH. (1982a). Essential oils analysis by capillary gaschromatography and carbon-13 NMR spectroscopy, John Wiley & Sons: Chichester.
- Formáček V, Kubeczka KH. (1982b). ¹³C NMR analysis of essential oils, in aromatic plants: basic and applied aspects. Margaris N, Koedam A, Vokou D. Eds., Martinus Nijhoff Publishers: La Haye, 177-181.
- Foti, M. C., Daquino, C., & Geraci, C. (2004). Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH• radical in alcoholic solutions. *The Journal of organic chemistry*, 69(7), 2309-2314.
- Fotie, J., Bohle, D. S., Leimanis, M. L., Georges, E., Rukunga, G., & Nkengfack, A. E. (2006). Lupeol Long-Chain Fatty Acid Esters with Antimalarial Activity from *Holarrhena floribunda*. *Journal of Natural Products*, 69(1), 62-67.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food chemistry*, 102(3), 898-904.
- Gallo, M. B., & Sarachine, M. J., (2009). Biological activities of lupeol. *Int. J. Biomed. Pharm. Sci*, 3(1), 46-66.
- Gardini, F., Belletti, N., Ndagijimana, M., Guerzoni, M. E., Tchoumboungang, F., Zollo, P. H. A., Micci, C., Lanciotti, R., Kamdem, S. L. S., (2009). Composition of four essential oils obtained from plants from Cameroon, and their bactericidal and bacteriostatic activity

- against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus*, Afr, J, Microbiol, Res., 3, 264-271.
- GBIF Secretariat (2019). GBIF Backbone Taxonomy. *Zanthoxylum psammophilum* (Aké Assi) Waterman. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2020-07-20.
- Geng, S., Cui, Z., Huang, X., Chen, Y., Xu, D., & Xiong, P. (2011). Variations in essential oil yield and composition during *Cinnamomum cassia* bark growth. *Industrial Crops and Products*, 33(1), 248-252.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Izadi, A., Malek Poor, F., & Hamed, B. (2016). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from *Ferulago angulata*. *Pharmaceutical biology*, 54(11), 2515-2520.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., & Rahmat, A. (2010). Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale Roscoe*), *Molecules*, 15(6), 4324-4333.
- Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química nova*, 30(2), 374-381.
- Gogoi, R., Loying, R., Sarma, N., Munda, S., Pandey, S. K., & Lal, M. (2018). A comparative study on antioxidant, anti-inflammatory, genotoxicity, anti-microbial activities and chemical composition of fruit and leaf essential oils of *Litsea cubeba Pers* from North-east India. *Industrial Crops and Products*, 125, 131-139.
- Golmakani, M, T., & Rezaei, K. (2008). Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from *Zataria multiflora* Boiss, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(5), 448-454.
- Gong, Y., Huang, Y., Zhou, L., Shi, X., Guo, Z., Wang, M., & Jiang, W., (2009). Chemical composition and antifungal activity of the fruit oil of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim, (Rutaceae) from China, *Journal of Essential Oil Research*, 21(2), 174-178,
- Goodman, C. D., Hoang, A. T., Diallo, D., Malterud, K. E., McFadden, G. I., & Wangenstein, H. (2019). Anti-plasmodial Effects of *Zanthoxylum zanthoxyloides*. *Planta medica*, 85(13), 1073-1079.
- Goodner, K., & Rouseff, R. (Eds.). (2011). *Practical analysis of flavor and fragrance materials*. John Wiley & Sons.

- Guetchueng, S. T., Nahar, L., ritchie, K. J., Ismail, F., Wansi, J. D., Evans, A. R., & Sarker, S. D. (2017). Kaurane diterpenes from the fruits of *Zanthoxylum leprieurii* (Rutaceae), Records of Natural Products, 11(3), 304-309.
- Guzman, J. D., Mortazavi, P. N., Munshi, T., Evangelopoulos, D., McHugh, T. D., Gibbons, S., ... & Bhakta, S. (2014). 2-Hydroxy-substituted cinnamic acids and acetanilides are selective growth inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*. Med.Chem.Comm. 5(1), 47-50.
- 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. Masson : Paris, 557p.
- Hanamura, S., Hanaya, K., Shoji, M., & Sugai, T. (2016). Synthesis of acacetin and resveratrol 3, 5-di-O- β -glucopyranoside using lipase-catalyzed regioselective deacetylation of polyphenol glycoside peracetates as the key step. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 128, 19-26.
- Harborne, J. B. (2013). The flavonoids: advances in research since 1980. Springer.
- Hasna Aamri, (2018). Enquête ethnobotanique à propos des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du vitiligo à Marrakech et Agadir, Thèse de doctorat, faculté de médecine et de pharmacie (Marrakech), Page 124,
- He, W., Puyvelde, L. V., Kimpe, N. D., Verbruggen, L., Anthonissen, K., Flaas, M. V. D., & Mudida, F. P., (2002). Chemical constituents and biological activities of *Zanthoxylum usambarens*, Phytotherapy research, 16(1), 66-70.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie, 2(1), 3-6.
- Henrich G., Schultze W., Phab I., Bottger M., (1983). The site of essential oil biosynthesis in *Poncirus trifoliata* and *Monarda fistulosa*, Physiol, Veg. 21, 257-268.
- Hesse M, Meier H, Zeeh B. (1997). Méthodes spectroscopiques pour la chimie organique, Masson, Paris.
- Hesse, M. (2002). Alkaloids–Nature’s Curse or Blessing. VHCA, Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland and WILEY.
- Hesse, M., Meier, H., & Zeeh, B. (2008). Spectroscopic methods in organic chemistry. Thieme Medical Pub.

- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Jackson, G. E., Campbell, W. E., & Davidowitz, B. (1990). Two dimensional NMR study of 8-methoxyflindersine, skimmianine and monocrotaline. *Spectroscopy letters*, 23(8), 971-982.
- Jacobson, M. (1982). Plants, insects, and man—their interrelationships. *Economic Botany*, 36(3), 346-354.
- Johnson, F., Oussou, K. R., Kanko, C., Tonzibo, Z. F., Foua-Bi, K., & Tano, Y. (2017). Bioefficacité des Huiles Essentielles de Trois Espèces végétales (*Ocimum gratissimum*, *Ocimum canum* et *Hyptis suaveolens*), de la Famille des Labiées dans la lutte contre *Sitophilus zeamais*.
- Jukić, M., Politeo, O., & Miloš, M. (2006). Chemical composition and antioxidant effect of free volatile aglycones from nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) compared to its essential oil. *Croatica chemica ACTA*, 79(2), 209-214.
- Kaloustian J. et Hadji-Minaglou F., (2012). La connaissance des huiles essentielles qualilogie et aromathérapie, Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée, Springer.
- Kang, M. S., & Lee, H. S. (2018). Acaricidal and insecticidal responses of *Cinnamomum cassia* oils and main constituents. *Applied Biological Chemistry*, 61(6), 653-659.
- Kang, O. H., Chae, H. S., Choi, J. G., Oh, Y. C., Lee, Y. S., Kim, J. H., ... & Shin, D. W. (2008). ent-pimara-8 (14), 15-dien-19-oic acid isolated from the roots of *Aralia cordata* inhibits induction of inflammatory mediators by blocking NF-κB activation and mitogen-activated protein kinase pathways. *European journal of pharmacology*, 601(1-3), 179-185.
- Kassim O. O., Loyevsky M., Amonoo H., Lashley L., Ako-Naic KA. Gordeuk VR (2009) Inhibition of in-vitro growth of *Plasmodium falciparum* by *Pseudocedrela kotschy* extract alone and in combination with *Fagara zanthoxyloides* extract, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 103: 698-702.
- Keawsa-ard, S., & Kongtaweelert, S. (2012). Antioxidant, antibacterial, anticancer activities and chemical constituents of the essential oil from *Mesua ferrea* leaves. *Chiang Mai J. Sci*, 39(3), 455-463.

- Khadri A, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, Neffati M, Smiti S, Araújo MEM. (2008). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC-mass spectrometry and ^{13}C NMR. Food chemistry 109: 630-637.
- Khare CP. (2007). Indian Medicinal Plants, An Illustrated Dictionary, Springer- Verlag Berlin Heidelberg 730.
- Kim, D. S., Lee, H. J., Jeon, Y. D., Han, Y. H., Kee, J. Y., Kim, H. J., ... & Kim, S. J. (2015). Alpha-pinene exhibits anti-inflammatory activity through the suppression of MAPKs and the NF- κ B pathway in mouse peritoneal macrophages. The American journal of Chinese medicine, 43(04), 731-742.
- Kouninki, H., Hance, T., Noudjou, F. A., Lognay, G., Malaisse, F., Ngassoum, M. B., ... & Haubruge, E. (2007). Toxicity of some terpenoids of essential oils of *Xylopia aethiopica* from Cameroon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. Journal of Applied Entomology, 131(4), 269-274.
- Kovats, E. S. (1965). Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. Adv. Chromatogr., 1, 229-247.
- König, W. A., Joulain, D., & Hochmuth, D. H. (2004). Terpenoids and related constituents of essential oils. Library of MassFinder, 2.
- Kubeczka KH, Formáček V. (1984). Application of direct carbone-13 NMR spectroscopy in the analysis of volatiles. Schreier P. Ed., Walter de Gruyter & Co: Berlin: 219-230.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. The scientific world journal, 2013.
- Kumari, C. S., Yasmin, N., Hussain, M. R., & Babuselvam, M. (2015). *In vitro* anti-inflammatory and anti-arthritic property of *Rhizopora mucronata* leaves, Intern J Pharma Scie Res, 6, 482-485.
- Kunwar, G., Prakash, O., Chandra, M., & Pant, A. K. (2013). Chemical composition, antifungal and antioxidant activities of *Perilla frutescens* (L.) syn. *P. ocimoides* L. collected from different regions of Indian Himalaya. AJTM, 8(4), 88-98.
- Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., Carde J-P., (1994). Biogenèse des monoterpènes II- La chaîne isoprénique, Bull, Soc, Pharm., 133, 79-99.
- Lamaty, G., Menut, C., Bessiere, J. M., & Aknin, M., (1989). Aromatic plants of tropical Central Africa, II, A comparative study of the volatile

- constituents of *Zanthoxylum lepreurii* (Guill, et Perr,) Engl, and *Zanthoxylum tessmannii* Engl, leaves and fruit pericarps from the Cameroon, *Flavour and fragrance journal*, 4(4), 203-205.
- Launay, A., (2017). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*—cinquième édition J, Bruneton, Éditions Lavoisier Tec & Doc, 2016, 1 488 p, 195,, *Phytothérapie*, 15(5), 316.
- Lebart, L., Morineau, A., & Piron, M. (1995). *Statistique exploratoire multidimensionnelle* (Vol. 3). Paris: Dunod.
- Ledoux, A., St-Gelais, A., Cieckiewicz, E., Jansen, O., Bordignon, A., Illien, B., & Quetin-Leclercq, J. (2017). Antimalarial activities of alkyl cyclohexenone derivatives isolated from the leaves of *Poupartia borbonica*, *Journal of natural products*, 80(6), 1750-1757.
- Lee, G. W., Chung, M. S., Kang, M., Chung, B. Y., & Lee, S. (2016). Direct suppression of a rice bacterial blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) by monoterpene (S)-limonene. *Protoplasma*, 253(3), 683-690.
- Lee, H. (2005). Pesticidal constituents derived from Piperaceae fruits. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 48(2), 65.
- Lee, J. H., Kang, B. S., Hwang, K. H., & Kim, G. H., (2011). Evaluation for anti-inflammatory effects of *Siegesbeckia glabrescens* extract *in vitro*, *Food and agricultural immunology*, 22(2), 145-160.
- Lee, W. H., & Sanfinar, I., (2012). Antioxidant activity, total phenolics and total flavonoids of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp leaves, *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 2(2), 219-228.
- Legault, J., & Pichette, A. (2007). Potentiating effect of β -caryophyllene on anticancer activity of α -humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(12), 1643-1647.
- Leon R. O., (2005). *Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale*, Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France.
- Li, W. F., Hao, D. J., Fan, T., Huang, H. M., Yao, H., & Niu, X. F. (2014). Protective effect of chelerythrine against ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Chemico-Biological Interactions*, 208, 18-27.
- Lima, H. R. P., Kaplan, M. A. C., & Cruz, A. V. D. M. (2012). Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. *Floresta e Ambiente*, 10(2), 71-77.

- Lima, R. K., Cardoso, M. D. G., Andrade, M. A., Guimarães, P. L., Batista, L. R., & Nelson, D. L. (2012). Bactericidal and antioxidant activity of essential oils from *Myristica fragrans* Houtt and *Salvia microphylla* HBK. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(3), 523-528.
- Lovett, J. C., Ruffo, C. K., Gereau, R. E. and Taplin, J. R. D., (2003). *Field Guide to the Moist Forest Trees of Tanzania*, Centre for Ecology Law and Policy, Environment Departement, University of York, United Kingdom, p, 149.
- Lucchesi M. E., (2005). *Extraction sans solvant assistée par les micro-ondes*, Thèse pour le diplôme de docteur en sciences (chimie), Université de la Réunion.
- Lyckander, I. M., & Malterud, K. E., (1992), Lipophilic flavonoids from *Orthosiphon spicatus* as inhibitors of 15-lipoxygenase, *Acta pharmaceutica nordica*, 4(3), 159-166.
- Mahdian, F., Mahboubi, M., Rahimi, E., & Shad, M. M. (2017). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Echinophora platyloba* essential oil. *Infectio*, 21(3), 176-181.
- Mai, H. D., T., Van-Dufat, H. T., Michel, S., Tillequin, F., Bastien, D., & Sévenet, T., (2001). A new diprenyl coumarin and alkaloids from the bark of *Zanthoxylum dimorphophyllum* (Rutaceae), *Zeitschrift für Naturforschung C*. 56(7-8), 492-494.
- Makler, M. T., & Hinrichs, D. J., (1993). Measurement of the lactate dehydrogenase activity of *Plasmodium falciparum* as an assessment of parasitemia, *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 48(2), 205-210.
- Malan D.J., 2008- *Utilisation traditionnelle des plantes et perspective de cogestion des aires protégées de Côte d'ivoire : cas du parc national des îles Ehotilé (littoral est de la Côte d'Ivoire)*. Thèse de doctorat de l'Université d'Abobo-Adjamé. 198 Pages + Annexes.
- Matasyoh C., J., Talonsi M., F., M Ngoumfo, R., & Chepkorir, R. (2011). Larvicidal activity of acridone alkaloids from *Zanthoxylum lepreurii* against the malaria vector *Anopheles gambiae*, *The Natural Products Journal*, 1(2), 121-124.
- Matsuyama T., Mitsuo O. M., et Akihama, (2001). Distribution of Rutaceae-specific Repeated Sequences Isolated from *Citrus Genomes*, *Annals of Botany*, Volume 87, Issue 6, June 2001, Pages 845–849.

- McDonald, L. L., Guy, R. H., & Speirs, R. D. (1970). Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored-product insects (No, 882), US Agricultural Research Service.
- McLafferty, F. W., & Stauffer, D. B., (1994). Wiley Registry of Mass Spectral Data, Mass Spectrometry Library Search System Bench-Top/PBM, Version 3,10 d, Palisade, Newfield.
- Medić-Šarić, M., Jasprica, I., Smolčić-Bubalo, A., & Mornar, A. (2004). Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids. *Croatica chemica acta*, 77(1-2), 361-366.
- Mendham, J. (2005). *Analyse chimique quantitative de Vogel*, De Boeck Supérieur.
- Meyer, T. E., Yakali, E., Cusanovich, M. A., & Tollin, G. (1987). Properties of a water-soluble, yellow protein isolated from a halophilic phototrophic bacterium that has photochemical activity analogous to sensory rhodopsin. *Biochemistry*, 26(2), 418-423.
- Miladi, H., Slama, R. B., Mili, D., Zouari, S., Bakhrouf, A., & Ammar, E. (2013). Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens.
- Millet D. F., (2015). *Le grand guide des huiles essentielles*, Marabout.
- Misra, L. N., Wouatsa, N. V., Kumar, S., Kumar, R. V., & Tchoumboungang, F. (2013). Antibacterial, cytotoxic activities and chemical composition of fruits of two Cameroonian *Zanthoxylum* species, *Journal of ethnopharmacology*, 148(1), 74-80.
- Moleyar V., Narasimham P, (1986). Antifungal activity of some essential oil components, *Food Microbiol.* 3 (4), 331-336.
- Molino, J. F. (1994). Révision du genre *Clausena* *Burm. f.* (Rutaceae). *Adansonia*, 1, 105-153.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J. sci, technol*, 26(2), 211-219.
- Muganga, R., Angenot, L., Tits, M., & Frederich, M. (2010). Antiplasmodial and cytotoxic activities of Rwandan medicinal plants used in the treatment of malaria. *Journal of ethnopharmacology*, 128(1), 52-57.

- Negi, J. S., Bisht, V. K., Bhandari, A. K., Bisht, R., & Kandari Negi, S. (2012). Major constituents, antioxidant and antibacterial activities of *Zanthoxylum armatum* DC. essential oil. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 11(2), 68-0.
- Negi, J. S., Bisht, V. K., Bh, A. K., Singh, P., & Sundriyal, R. C. (2011). Chemical constituents and biological activities of the genus *Zanthoxylum*: a review. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 5(12), 412-416.
- Ngane, A. N., Biyiti, L., Zollo, P. A., & Bouchet, P. H. (2000). Evaluation of antifungal activity of extracts of two Cameroonian Rutaceae: *Zanthoxylum leprieurii* Guill. et Perr. and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Waterm. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(3), 335-342.
- Ngassoum, M. B., Essia-Ngang, J. J., Tatsadjieu, L. N., Jirovetz, L., Buchbauer, G., & Adjoudji, O. (2003). Antimicrobial study of essential oils of *Ocimum gratissimum* leaves and *Zanthoxylum xanthoxyloides* fruits from Cameroon. *Fitoterapia*, 74(3), 284-287.
- Ngoumfo, R. M., Jouda, J. B., Mouafo, F. T., Komguem, J., Mbazoa, C. D., Shiao, T. C., ... & Roy, R. (2010). In vitro cytotoxic activity of isolated acridones alkaloids from *Zanthoxylum leprieurii* Guill. et Perr. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(10), 3601-3605.
- Nguyen, Q. A., Van-Dufat, H. T., Michel, S., Tillequin, F., Dumontet, V., & Sévenet, T. (2002). A new phenylpropanoid ester from the bark of *Zanthoxylum scandens* (Rutaceae). *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(11-12), 986-989.
- Nogueira, C. R., & Lopes, L. M. (2011). Antiplasmodial natural products. *Molecules*, 16(3), 2146-2190.
- Noudjou, F., Kouninki, H., Hance, T., Haubruge, E., Ngamo, L. S., Maponmestsem, P. M., ... & Lognay, G. (2007). Composition of *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich essential oils from Cameroon and identification of a minor diterpene: ent-13-epi manoyl oxide. *Biotechnologie, Agronomie, société et environnement*, 11(3), 193-199.
- Núñez CV, Roque NF. (1999). Sesquiterpenes from the stem bark of *Guarea guidonia* (L.) sleumer (Meliaceae). *J Essent Oil Res* 11: 439-440.
- Nyaboke, H. O., Moraa, M., Omosa, L. K., Mbaveng, A. T., Vaderament-Alexe, N. N., Masila, V., ... & Kuete, V. (2018). Cytotoxicity of lupeol from the stem bark of *Zanthoxylum gillettii* against multi-

- factorial drug resistant cancer cell lines. *Invest Med Chem Pharmacol*, 1(1), 10.
- Ochoa L. R. H., (2005). Substitution de solvant et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse (France), 225 p.
- Ojimekwe, P. C., & Adler, C. (1999). Potential of zimmtaldehyde, 4-allyl-anisol, linalool, terpeneol and other phytochemicals for the control of the confused flour beetle (*Tribolium confusum* J. d. V.) (Col., Tenebrionidae). *Anzeiger für Schädlingskunde= Journal of pest science*, 72(4), 81-86.
- Olila, D., & Opuda-Asibo, J. (2001). Antibacterial and antifungal activities of extracts of *Zanthoxylum chalybeum* and *Warburgia ugandensis*, Ugandan medicinal plants. *African Health Sciences*, 1(2), 66-72.
- Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A. M., & Rezali, N. I. (2016). In vitro xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 5(4), 343.
- Ouedraogo, R. A., Koala, M., Dabire, C., Hema, A., Bazie, V. B. E. J. T., Outtara, L. P., ... & Nebie, R. H. (2015). Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(1), 281-291.
- Oussou, K. R., Youlou, S., Kanko, C., Tue, B. B., Kanko, C., Boti, J. B., ... & Casanova, J. (2010). Etude chimique bio-guidée de l'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum* (Lamiaceae). *European Journal of Scientific Research*, 24, 50-59.
- Oyededeji, A. O., Lawal, O. A., Adeniyi, B. A., Alaka, S. A., & Tetede, E. (2008). Essential oil composition of three *Zanthoxylum* species. *Journal of Essential Oil Research*, 20(1), 69-71.
- Paoli, M., Nam, A. M., Castola, V., Casanova, J., & Bighelli, A. (2011). Chemical variability of the wood essential oil of *Cedrus atlantica* *Manetti* from Corsica. *Chemistry & biodiversity*, 8(2), 344-351.
- Paolini, J., (2005). Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM (IE et IC) et RMN du carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux *Asteraceae* endémiques de Corse: *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* et *Doronicum corsicum* (Doctoral dissertation).

- Paolini J, Costa J, Bernardini AF. (2007). Analysis of the essential oil from roots of *Eupatorium cannabinum* sub sp. corsicum (L.) by GC, GC-MS and ¹³C-NMR. *Phytochem Anal* 18: 235-244.
- Pareja, M., Qvarfordt, E., Webster, B., Mayon, P., Pickett, J., Birkett, M., & Glinwood, R. (2012). Herbivory by a phloem-feeding insect inhibits floral volatile production. *PLoS One*, 7(2).
- Park, J., Rodríguez-Moyá, M., Li, M., Pichersky, E., San, K. Y., & Gonzalez, R. (2012). Synthesis of methyl ketones by metabolically engineered *Escherichia coli*. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 39(11), 1703-1712.
- Patiño, L. O. J., Prieto, R. J. A., & Cuca, S. L. E. (2012). *Zanthoxylum* genus as potential source of bioactive compounds. *Bioactive compounds in phytomedicine*, 10, 184-218.
- Peerakam, N., Punjaisee, S., Buamongkol, S., Sirisa-ard, P., Julsrigival, J., & Chansakaow, S. (2014). Chemical compositions, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from *Anethum graveolens* L. and *Trachyspermum roxburghianum* (DC.) Craib grown in Thailand. *J Nat. Sci. Res*, 4(12), 62-70.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of nutrition*, 133(9), 2812-2819.
- Plata-Rueda, A., Campos, J. M., da Silva Rolim, G., Martínez, L. C., Dos Santos, M. H., Fernandes, F. L., ... & Zanuncio, J. C. (2018). Terpenoid constituents of cinnamon and clove essential oils cause toxic effects and behavior repellency response on granary weevil, *Sitophilus granarius*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 156, 263-270.
- Pompeo, M. M., Cheah, J. H., & Movassaghi, M. (2019). Total Synthesis and Anti-Cancer Activity of All Known Communesin Alkaloids and Related Derivatives. *Journal of the American Chemical Society*, 141(36), 14411-14420.
- Prieto, J. A., Patiño, O. J., Delgado, W. A., Moreno, J. P., & Cuca, L. E. (2011). Chemical composition, insecticidal, and antifungal activities of fruit essential oils of three Colombian *Zanthoxylum* species. *Chilean journal of agricultural research*, 71(1), 73.

- Qi, H., Wang, W. X., Dai, J. L., & Zhu, L. (2015). In vitro anthelmintic activity of *Zanthoxylum simulans* essential oil against *Haemonchus contortus*. *Veterinary parasitology*, 211(3-4), 223-227.
- Quintin, J., & Lewin, G. (2004). Semisynthesis of linarin, acacetin, and 6-iodoapigenin derivatives from diosmin. *Journal of natural products*, 67(9), 1624-1627.
- Rajashekar, Y., & Shivanandappa, T. (2010). A novel natural insecticide molecule for grain protection. *Julius-Kühn-Archiv*, (425), 910.
- Ranawat, L., Bhatt, J., & Patel, J. (2010). Hepatoprotective activity of ethanolic extracts of bark of *Zanthoxylum armatum* DC in CCl₄ induced hepatic damage in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 127(3), 777-780.
- Ratheesh, M., Sindhu, G., & Helen, A. (2013). Anti-inflammatory effect of quinoline alkaloid skimmianine isolated from *Ruta graveolens* L. *Inflammation research*, 62(4), 367-376.
- Raynaud, J. (2006). Prescription et conseil en aromathérapie. Tec & Doc.
- Riyanto, S., Sukari, M. A., Rahmani, M., Ee, G. C., Taufiq-Yap, Y. H., Aimi, N., & Kitajima, M. (2001). Alkaloids from *Aegle marmelos* (Rutaceae). *Malaysian J Anal Sci*, 7(2), 463-465.
- Roginsky, V., & Lissi, E. A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*, 92(2), 235-254.
- Rosidah, R., Zaitun Hasibuan, P. A., Haro, G., Masri, P., & Satria, D. (2018). Antioxidant activity of alkaloid fractions of *Zanthoxylum acanthopodium* dc. Fruits with 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl assay. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(13), 33.
- Ross, S. A., Sultana, G. N., Burandt, C. L., ElSohly, M. A., Marais, J. P., & Ferreira, D. (2004). Syncarpamide, a New Antiplasmodial (+)-Norepinephrine Derivative from *Zanthoxylum syncarpum*. *Journal of natural products*, 67(1), 88-90.
- Rouessac, F., & Rouessac, A. (2013). Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques. John Wiley & Sons.
- Ruzicka L., (1953). The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds, *Experientia*, 9 (10), 357-367.
- Saini, M., Wang, Z. W., Chiang, C. J., & Chao, Y. P. (2014). Metabolic engineering of *Escherichia coli* for production of butyric acid. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(19), 4342-4348.

- Sakamura, S., Terayama, Y., Kawakatsu, S., Ichihara, A., & Saito, H. (1980). Conjugated serotonin and phenolic constituents in safflower seed (*Carthamus tinctorius* L.). *Agricultural and Biological Chemistry*, 44(12), 2951-2954.
- Saleem, M. (2009). Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. *Cancer letters*, 285(2), 109-115.
- Seidemann, J., (2005), *World spice plants: economic usage, botany, taxonomy*, Springer Science & Business Media.
- Setzer, W. N., Noletto, J. A., Lawton, R. O., & Haber, W. A. (2005). Leaf essential oil composition of five *Zanthoxylum* species from Monteverde, Costa rica. *Molecular Diversity*, 9(1-3), 3-13.
- Shanjani, P. S., Mirza, M., Calagari, M., & AdaSM, R. P. (2010). Effects drying and harvest season on the essential oil composition from foliage and berries of *Juniperus excelsa*. *Industrial Crops and Products*, 32(2), 83-87.
- Sidali, L., Brada, M., Fauconnier, M. L., & Lognay, G. (2018). Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus fontanesii* essential oil from Algeria. *Natural Products Journal*.
- Singh, M., & Silakari, O. (2018). Flavone: An Important Scaffold for Medicinal Chemistry. In *Key Heterocycle Cores for Designing Multitargeting Molecules* (pp. 133-174). Elsevier.
- Singh, T. P., & Singh, O. M. (2011). Phytochemical and pharmacological profile of *Zanthoxylum armatum* DC.-an overview.
- Smallfield, B. (2001). *Introduction to Growing Herbs for Essential Oils, Medicinal and Culinary Purposes*: Bruce Smallfield. Crop & Food Research.
- Sofowora, A. (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*, KARTHALA Editions.
- Soilhi, Z., Rhimi, A., Heuskin, S., Fauconnier, M. L., & Mekki, M. (2019). Essential oil chemical diversity of Tunisian *Mentha* spp. collection. *Industrial Crops and Products*, 131, 330-340.
- Soliman, K. M., & Badeaa, R. I. (2002). Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food and chemical toxicology*, 40(11), 1669-1675.
- Spatafora, C., & Tringali, C. (1997). Bioactive metabolites from the bark of *Fagara macrophylla*. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 8(3), 139-142.

- Styles P, Soffe NF, Scott CA. (2011). The first cryoprobe-some recollections. J Magn Reson 213: 355-356.
- Sudi, S., Hassan, w. R. M., Ali, a. H., Basir, r., Embi, n., & Eidek, h. M. (2018). A derivative of cinnamic acid, methyl-4-hydroxycinnamate modulates inflammatory cytokine levels in malaria-infected mice through inhibition of gsk3 β . Malays. Appl. Biol. 47(3): 153–157.
- Supabphol, R., & Tangjitjareonkun, J. (2014). Chemical constituents and biological activities of *Zanthoxylum limonella* (Rutaceae): A review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 13(12), 2119-2130.
- Tabuti, J. R. S., (2011). *Zanthoxylum leprieurii* Guill, & Perr, In: Schmelzer, G. H., & Gurib-Fakim, A., PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale): Wageningen, Pays Bas.
- Talapatra, S. K., Dutta, S., & Talapatra, B. (1973). Alkaloids and terpenoids of *Zanthoxylum ovalifolium*. Phytochemistry.
- Talontsi, F. M., Douanla-Meli, C., & Laatsch, H. (2013). Depsidones from an endophytic fungus Chaetomium sp. associated with *Zanthoxylum leprieurii*. Zeitschrift für Naturforschung B, 68(11), 1259-1264.
- Talontsi, F. M., Facey, P., Tatong, M. D. K., Islam, M. T., Frauendorf, H., Draeger, S., ... & Laatsch, H. (2012). Zoosporicidal metabolites from an endophytic fungus Cryptosporiopsis sp. of *Zanthoxylum leprieurii*. Phytochemistry, 83, 87-94.
- Talukder, F. A., Islam, M. S., Hossain, M. S., Rahman, M. A., & Alam, M. N. (2004). Toxicity effects of botanicals and synthetic insecticides on *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.). Bangladesh J. Environ. Sci, 10(2), 365-371.
- Tambe, V. D., & Bhambar, R. S. (2014). Estimation of total phenol, tannin, alkaloid and flavonoid in *Hibiscus tiliaceus* Linn. wood extracts. Journal of pharmacognosy and phytochemistry, 2(4), 41-47.
- Tangjitjaroenkun, J., Supabphol, R., & Chavasiri, W. (2012). Antioxidant effect of *Zanthoxylum limonella* Alston. Journal of Medicinal Plants Research, 6(8), 1407-1414.
- Tapondjou, A. L., Adler, C. F. D. A., Fontem, D. A., Bouda, H., & Reichmuth, C. H. (2005). Bioactivities of cymol and essential oils of Cupressus sempervirens and Eucalyptus saligna against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. Journal of Stored Products Research, 41(1), 91-102.

- Tatsadjieu, L. N., Ngang, J. E., Ngassoum, M. B., & Etoa, F. X. (2003). Antibacterial and antifungal activity of *Xylopia aethiopica*, *Monodora myristica*, *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Zanthoxylum leprieurii* from Cameroon. *Fitoterapia*, 74(5), 469-472.
- Tchabong, F., Sameza, S. R., Tchameni, M. L., Mounbain, N. S., Mouelle, F., Jazet, S. A., ... & Tchoumboungang, C. (2018). Chemical composition, free radical scavenging and antifungal activity of *Zanthoxylum leprieurii* essential oils against *Epidermophyton floccosum* and *Microsporum gypseum*, two most prevalent cutaneous Mycosis. *J. Pharm*, 8, 13-19.
- Tchiégang, C., & Mbougoung, P. D. (2005). Composition chimique des épices utilisées dans la préparation du Nah poh et du Nkui de l'ouest Cameroun. *Tropicultura*, 23(4), 193-200.
- Tchinda, A. T., Fuendjie, V., Sajjad, A., Matchawe, C., Wafo, P., Khan, S., ... & Choudhary, M. I. (2009). Bioactive compounds from the fruits of *Zanthoxylum leprieurii*. *Pharmacologyonline*, 1, 406-415.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N. R., Nogueira, J. M., Saraiva, J. A., & Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 43, 587-595.
- Tepe, B., Daferera, D., Sökmen, M., Polissiou, M., & Sökmen, A. (2004). The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Origanum syriacum* L var *bevanii*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(11), 1389-1396.
- Thormar, H., & Hilmarsson, H. (2011). Antimicrobial lipids as disinfectants, antiseptics and sanitizers. *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*, 179-201.
- Ticona, L. A., Bermejo, P., Guerra, J. A., Abad, M. J., Beltrán, M., Lázaro, R. M., ... & Bedoya, L. M. (2020). Ethanolic extract of *Artemisia campestris* subsp. *glutinosa* (Besser) Batt. inhibits HIV-1 replication in vitro through the activity of terpenes and flavonoids on viral entry and NF-κB pathway. *Journal of ethnopharmacology*, 263, 113163.
- Tine, Y., Diallo, A., Diatta, W., Desjobert, J. M., Costa, J., Wélé, A., & Paolini, J. (2020). Chemical Variability of Essential Oils from *Zanthoxylum leprieurii* Guill. et Perr (Rutaceae) According to

- Plant Organs. Asian Journal of Applied Chemistry Research, 18-25.
- Tine, Y., Diop, A., Diatta, W., Desjobert, J. M., Boye, C. S. B., Costa, J., ... & Paolini, J. (2017). Chemical diversity and antimicrobial activity of volatile compounds from *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam. according to compound classes, plant organs and Senegalese sample locations. Chemistry & biodiversity, 14(1),1-14.
- Togola, I., Konaré, M. A., Diakité, M., Diarra, N., Tounkara, F., Sanogo, R., & Dembélé, D. (2019). Evaluation de la teneur en alcaloïdes totaux à différents stades de développement de *Datura innoxia* Mill., une plante utilisée dans la médecine traditionnelle au Mali.
- Tomassone, R., Dervin, C., & Masson, J. P. (1993). Biométrie. Modélisation de phénomènes biologiques (pp. 553-p). Elsevier Mason SAS.
- Tomi F, Bradesi P, Bighelli A, Casanova J. 1995. Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. J Magn Reson Anal 1: 25-34.
- Tonzibo, Z. F., Koffi, A. M., Wognin, E. L., Bedi, G., & Chalchat, J. C. (2013). Intraspecific chemical variability of essential oil of *Hoslundia opposita*.
- Torres-Martínez, R., García-Rodríguez, Y. M., Ríos-Chávez, P., Saavedra-Molina, A., López-Meza, J. E., Ochoa-Zarzosa, A., & Garciglia, R. S. (2017). Antioxidant activity of the essential oil and its major terpenes of *Satureja macrostema* (Moc. and Sessé ex Benth.) Briq. Pharmacognosy magazine, 13(Suppl 4), S875.
- Toudert-Taleb, K., Hedjal-Chebheb, M., Hani, H., Debras, J. F., & Kellouche, A. (2014). Composition of essential oils extracted from six aromatic plants of *Kabylia origin* (Algeria) and evaluation of their bioactivity on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae). African Entomology, 22(2), 417-427.
- Turkez, H., Togar, B., Di Stefano, A., Taspinar, N., & Sozio, P. (2015). Protective effects of cyclosativene on H₂O₂-induced injury in cultured rat primary cerebral cortex cells. Cytotechnology, 67(2), 299-309.
- Turkiewicz, I. P., Wojdyło, A., Tkacz, K., Nowicka, P., & Hernández, F. (2019). Antidiabetic, anticholinesterase and antioxidant activity vs. terpenoids and phenolic compounds in selected new cultivars and hybrids of artichoke *Cynara scolymus* L. *Molecules*, 24(7), 1222.

- Uphof, J. C. T., (1959), Dictionary of Economic Plants, Editeur H. R. Engelmann (J. Cramer).
- Veres, K., Varga, E., Dobos, A., Hajdú, Z. S., Máthé, I., Nemeth, E., & Szabó, K. (2003). Investigation of the composition and stability of the essential oils of *origanum vulgare* ssp. *vulgare* L. and *O. vulgare* ssp. *hirtum* (Link) letsvaart. *Chromatographia*, 57(1-2), 95-98.
- Vernin, G. (1970). La chromatographie en couche mince: techniques et applications en chimie organique. Dunod.
- Volak, J., & Stodola, J. (1983). Plantes médicinales. 256 illustrations en couleurs. Ed. Grund, Paris. 319 p.
- Waheed, A., Mahmud, S., Akhtar, M., & Nazir, T. (2011). Studies on the Components of Essential Oil of *Zanthoxylum armatum* by CPG-SM. *American Journal of Analytical Chemistry*, 2(2), 258.
- Wang, C. F., Yang, K., You, C. X., Zhang, W. J., Guo, S. S., Geng, Z. F., ... & Wang, Y. Y. (2015). Chemical composition and insecticidal activity of essential oils from *Zanthoxylum dissitum* leaves and roots against three species of storage pests. *Molecules*, 20(5), 7990-7999.
- Waterman, P. G., (1975), New combinations in *Zanthoxylum* L, (1753), *Taxon*, 361-366.
- Waterman, P. G., Gray, A. I., & Crichton, E. G. (1976). A comparative study on the alkaloids of *Zanthoxylum leprieurii*, *Z. lemairei* and *Z. rubescens* from Ghana. *Biochemical systematics and ecology*, 4(4), 259-262.
- Werz, O. (2007). Inhibition of 5-lipoxygenase product synthesis by natural compounds of plant origin. *Planta medica*, 73(13), 1331-1357.
- Wojdyło, A., Nowicka, P., Grimalt, M., Legua, P., Almansa, M. S., Amorós, A., ... & Hernández, F. (2019). Polyphenol compounds and biological activity of caper (*Capparis spinosa* L.) flowers buds. *Plants*, 8(12), 539.
- Womeni, H. M., Djikeng, F. T., Tiencheu, B., & Linder, M. (2013). Antioxidant potential of methanolic extracts and powders of some Cameroonian spices during accelerated storage of soybean oil.
- Wouatsa, V. N., Misra, L., Kumar, S., Prakash, O., Khan, F., Tchoumboungang, F., & Venkatesh, R. K. (2013). Aromatase and glycosyl transferase inhibiting acridone alkaloids from fruits of Cameroonian *Zanthoxylum* species. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 125.

- Wungsintaweekul, J., Sitthithaworn, W., Putalun, W., Pfeifhoffer, H. W., & Brantner, A. (2010). Antimicrobial, antioxidant activities and chemical composition of selected Thai spices. *Sonklanakarin Journal of Science and Technology*, 32(6), 589.
- Yang, Y. P., Cheng, M. J., Teng, C. M., Chang, Y. L., Tsai, I. L., & Chen, I. S. (2002). Chemical and anti-platelet constituents from Formosan *Zanthoxylum simulans*. *Phytochemistry*, 61(5), 567-572.
- Yang, Z. D., Zhang, D. B., Ren, J., & Yang, M. J. (2012). Skimmianine, a furoquinoline alkaloid from *Zanthoxylum nitidum* as a potential acetylcholinesterase inhibitor. *Medicinal chemistry research*, 21(6), 722-725.
- Yao-Kouassi, P. A., Caron, C., Aké-Assi, E., Martinez, A., Le Magrex-Debar, E., Gangloff, S. C., & Zèches-Hanrot, M. (2014). A New Cycloheptapeptide from *Zanthoxylum mezoneurispinosum* Aké Assi (Rutaceae). *Mediterranean Journal of Chemistry*, 3(5), 1013-1020.
- Yao-Kouassi, P. A., Martinez, A., Malan, F. D., Debar, E. L. M., Gangloff, S. C., Caron, C., & Zèches-Hanrot, M., (2014). Benzophénanthridines isolées de *Zanthoxylum psammophilum*, *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(1), 377-385.
- Yeh, H. F., Luo, C. Y., Lin, C. Y., Cheng, S. S., Hsu, Y. R., & Chang, S. T. (2013). Methods for thermal stability enhancement of leaf essential oils and their main constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(26), 6293-6298.
- Yokozawa, T., Dong, E., Liu, Z. W., & Shimizu, M. (1997). Antioxidative activity of flavones and flavonols in vitro. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Medical and Scientific Research on Plants and Plant Products*, 11(6), 446-449.
- Zermane, A., Meniai, A. H., & Barth, D., (2010). Supercritical CO2 extraction of essential oil from Algerian rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), *Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology*, 33(3), 489-498.
- Zhao, Y., Cai, L., Sui, Q., Lin, F., Jiang, W., Chen, J., ... & Gao, Q. (2016). Facile synthesis of acacetin and its derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26(15), 3577-3580.

ANNEXES

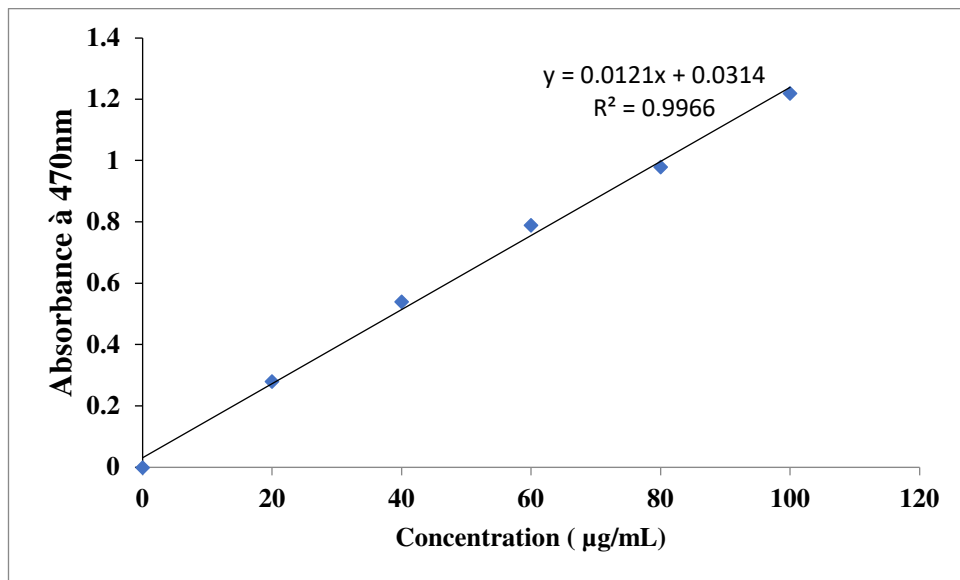
Annexe 1 : Données de l'analyse statistique de la composition chimique de l'HE de *Z. leprieurii*

Tableau 38 : Composition chimique de l'HE des feuilles, des écorces et des fruits de *Z. leprieurii*

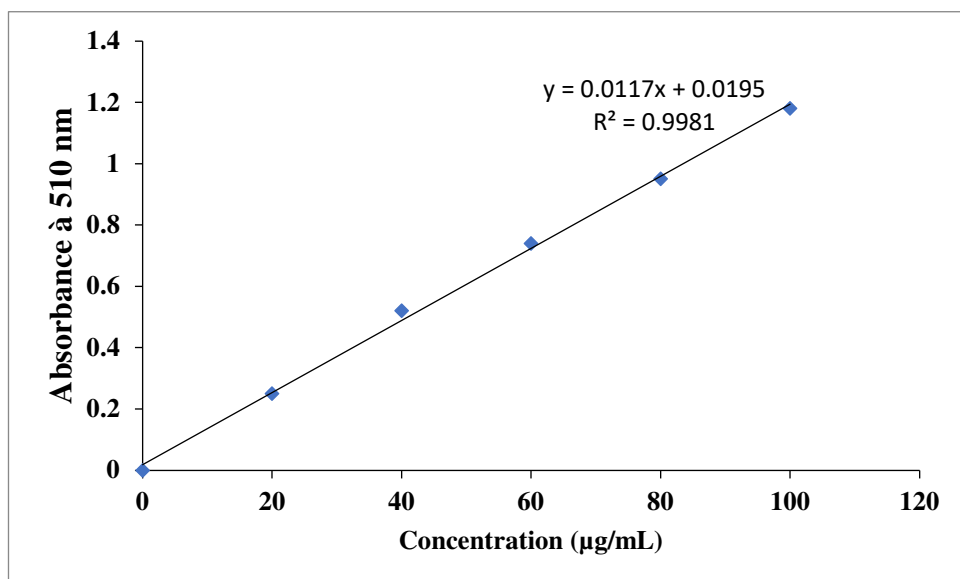
	N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	Composés	β -myrcène	β -ocimène	linalool	citronellol	géraniol	thymol	undécane-2-one	Nérate de méthyl	β -élémane	β -caryophyllène	α -humulène	tridécan-2-one	2-tridécanol	dendrolasin	farnésol	ORGANE
1	Mai_feuilles	0.71	24.57	6.44	0	0	0	8.51	0	3.92	13.51	3.92	18.74	0	1.79	0	FEUILLE
2	Mai_ecorce	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9.51	13	45.77	2.23	0	12.5	ECORCE
3	Juin_feuilles	0	2.6	0.5	0	0	2.2	1.9	0	0	19.4	6.7	9	2	8.6	0	FEUILLE
4	Juin_ecorce	0	0	0	0	0	5.1	0	0	0.6	13.2	4.3	56.6	10.5	0	3	ECORCE
5	Juil_feuilles	5.2	3.9	1.5	2	0	3.1	1.2	2.2	2.7	15.6	4.6	22.5	1.7	9.4	0	FEUILLE
6	Juil_ecorce	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0	8.7	7.7	51.4	7	0	11.4	ECORCE
7	Juil_fruits	16.6	8.3	0	1.9	0	0	0.2	6.7	1.2	5.8	3.7	0	0	0	0	FRUIT
8	Aout_feuilles	0.9	2.8	8.5	0	0	13.8	9.4	0	4.2	13.7	3.6	30.7	0	4	0	FEUILLE
9	Aout_ecorce	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.1	6.4	79.8	4.6	0	1.4	ECORCE
10	Aout_fruits	45.8	2	2.5	6.2	5.3	0	0	5.7	2.1	4.9	1.9	0	0	0	0	FRUIT
11	Sept_feuilles	3.9	1.3	1.7	1.5	0	4.1	2.7	0.8	5.9	20	6.6	15.8	2.3	7.6	0	FEUILLE
12	Sept_ecorce	1	0	0	1.6	0	1.3	0	0	1.3	8.3	7.4	54.4	5.7	0	2.4	ECORCE

13	Sept_fruits	46.8	1.5	3.4	6.6	7.6	0	0	4.4	1.8	4.1	1.6	0	0	0	0	FRUIT
14	Oct_feuilles	0.4	2.3	4.3	0	0	0	3.6	0	2.3	7	4.1	37.3	2.4	10.6	0	FEUILLE
15	Oct_ecorce	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.1	8.6	70.6	6.9	0	1.9	ECORCE
16	Oct_fruits	49	1.5	2.1	6.3	5.3	0	0	5.3	1.8	3.8	1.5	0	0	0	0	FRUIT
17	Nov_feuilles	0.7	0	3.2	0.3	0	0	2.1	0	2.9	8.6	4.2	34.7	3.2	16.4	0	FEUILLE
18	Nov_ecorce	0	0	0	0	0	4.1	0	0	0	1.8	6.3	72.36	4.7	0	0	ECORCE
19	Nov_fruits	25.7	2	4.2	28.9	12.5	0	0	6.1	0.2	0.5	0.2	0	0	0	0	FRUIT

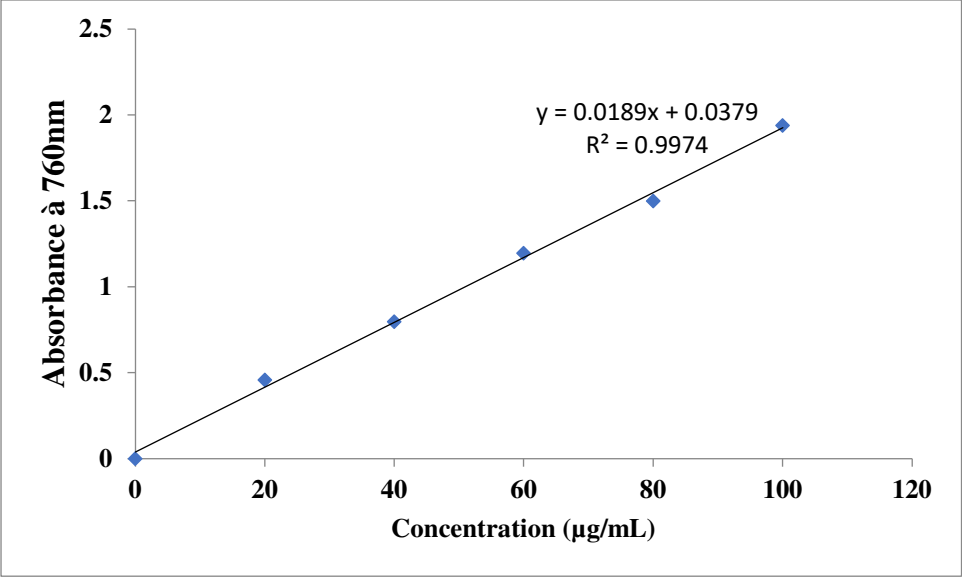
Annexe 2 : Les droites de régressions des composés phénoliques



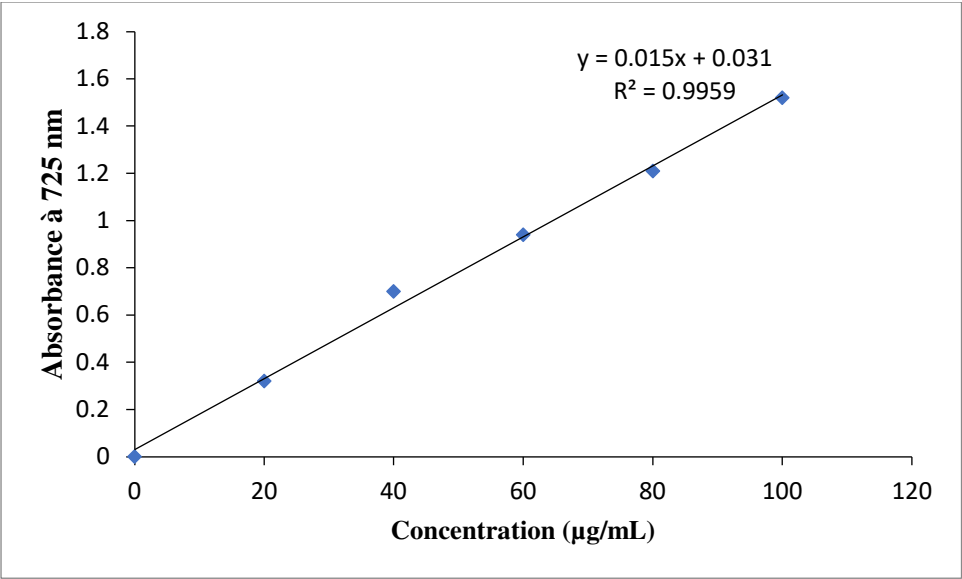
Annexe 2A : Courbe d'étalonnage d'atropine (Alcaloïdes)



Annexe 2B : Courbe d'étalonnage de la quercétine (Flavonoïdes)

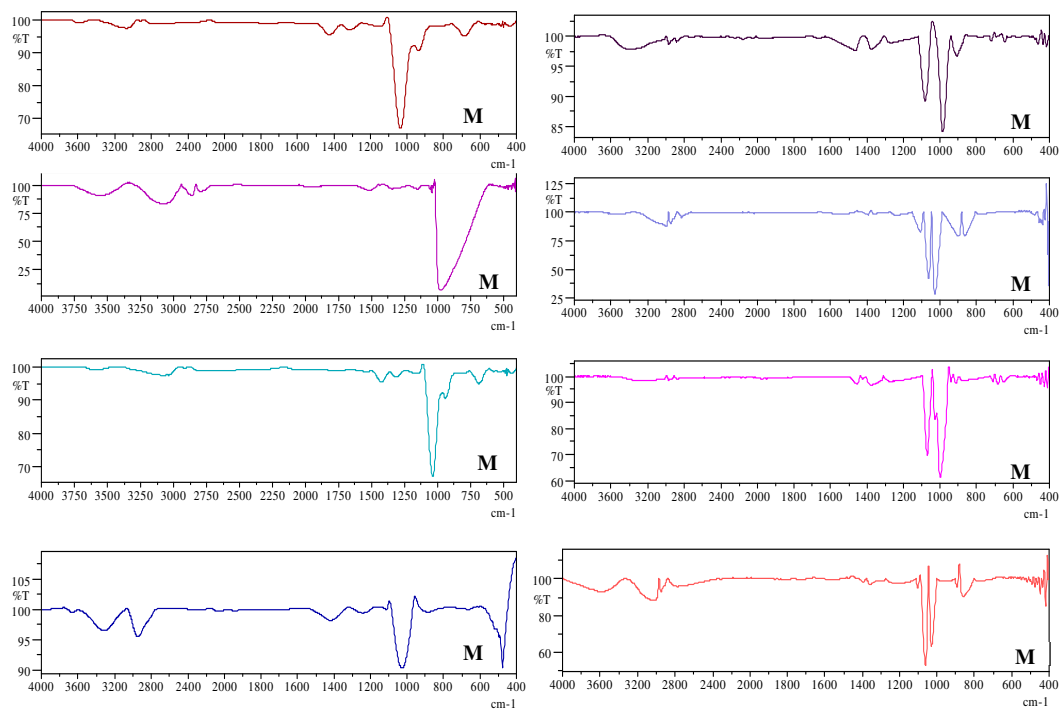


Annexe 2C : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Polyphénols)

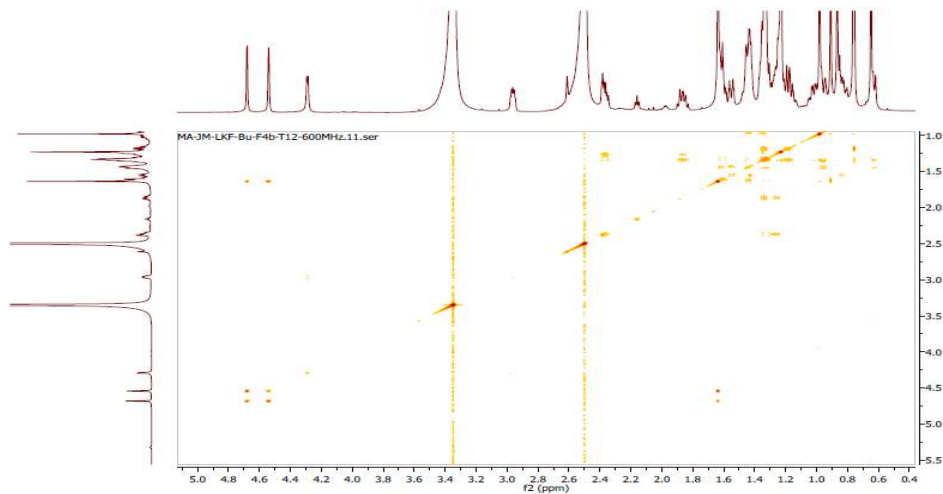


Annexe 2D : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Tanins)

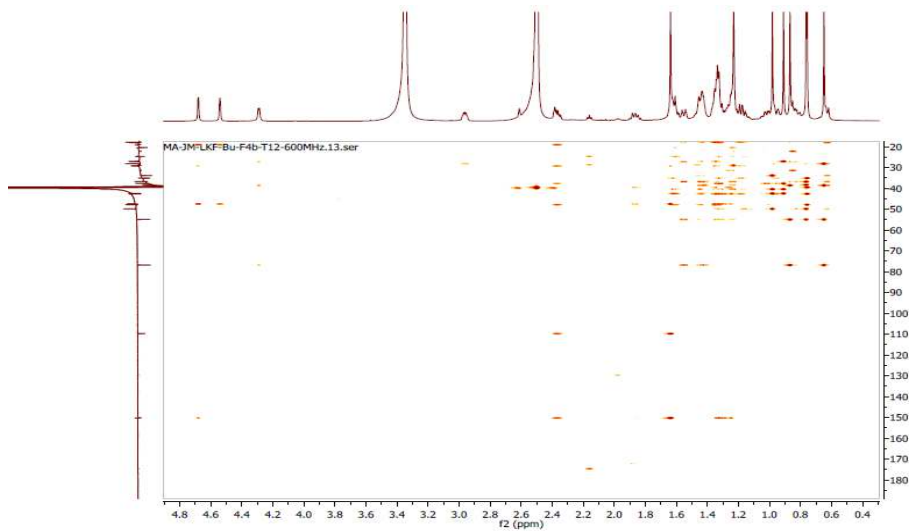
Annexe 3 : Spectre IR des composés



Annexe 4 : Corrélation COSY et HMBC du lupéol

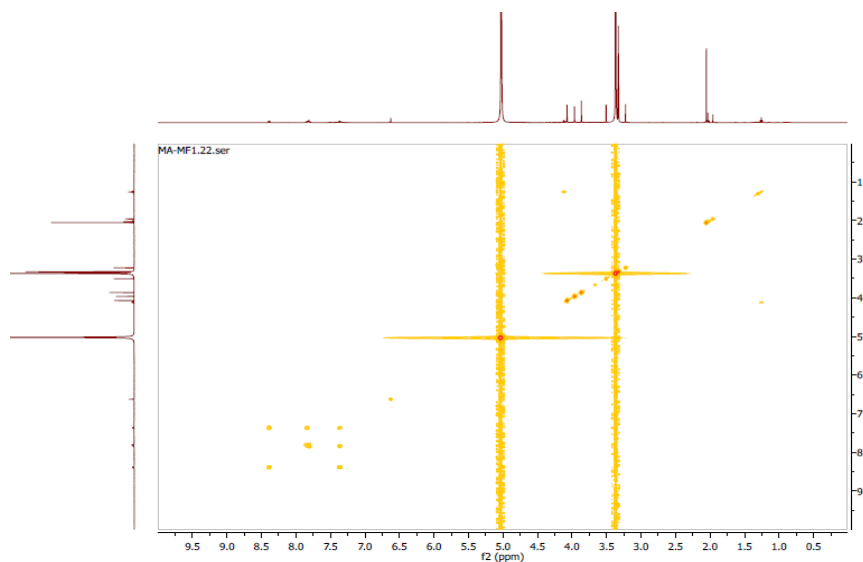


Annexe 4A : COSY du Lupéol

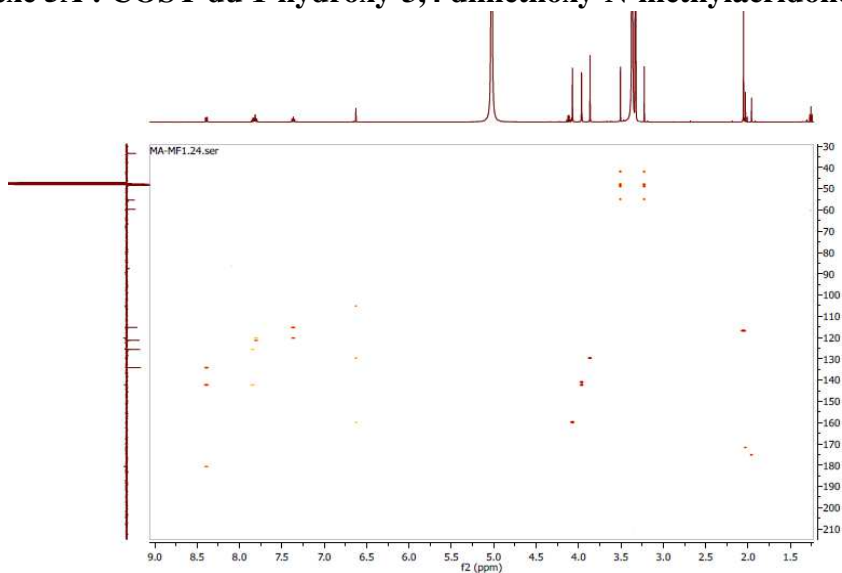


Annexe 4B : HMBC du Lupéol

Annexe 5 : Corrélation COSY et HMBC du 1-hydroxy-3,4 dimethoxy-N-méthylacridone

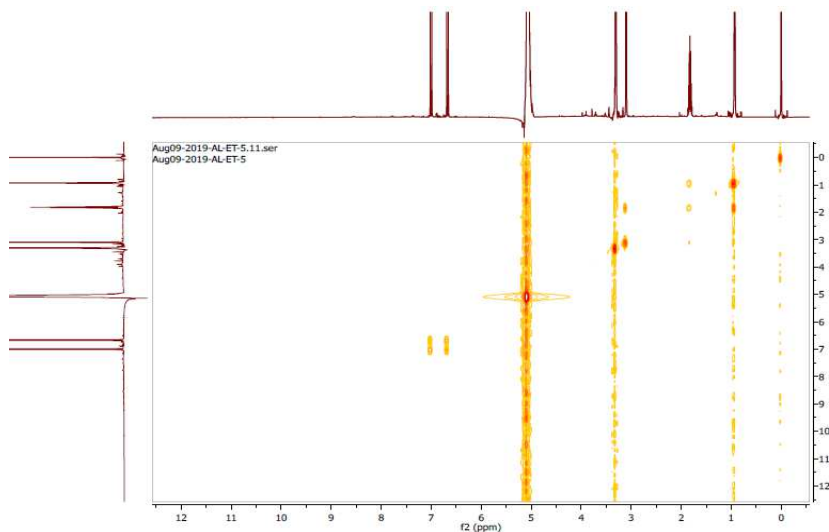


Annexe 5A : COSY du 1-hydroxy-3,4 dimethoxy-N-méthylacridone

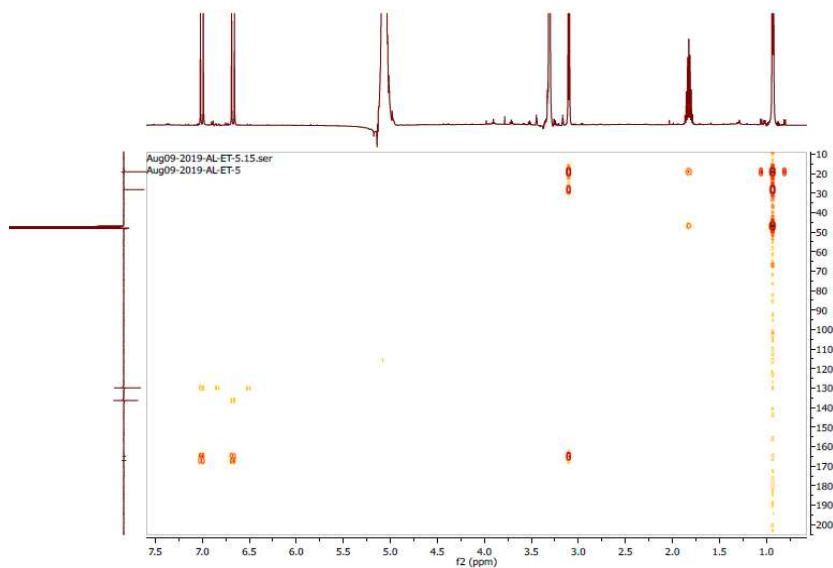


Annexe 5B : HMBC du 1-hydroxy-3,4 dimethoxy-N-méthylacridone

Annexe 6 : Corrélation COSY et HMBC de l'Acide (E)- 4- (isobutylamino)-4-oxo-but-énoïque

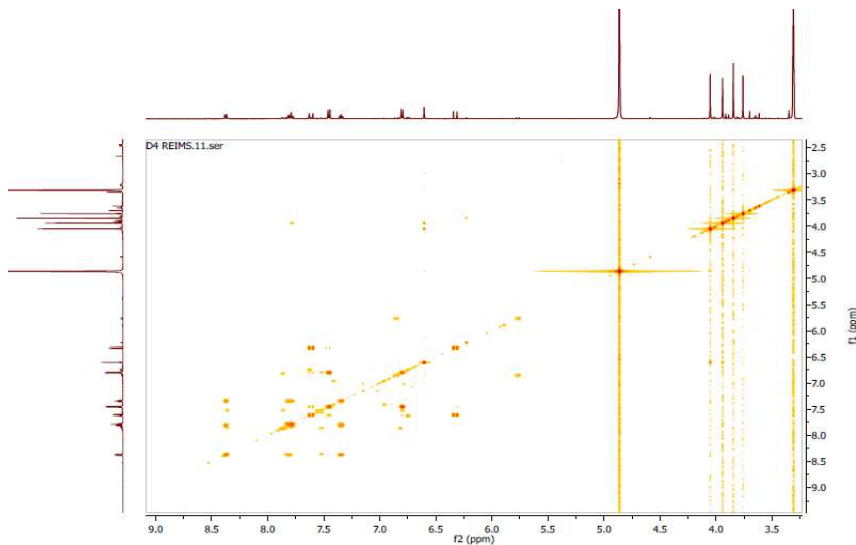


Annexe 6A : COSY de l'Acide (E)- 4- (isobutylamino)-4-oxo-but-énoïque

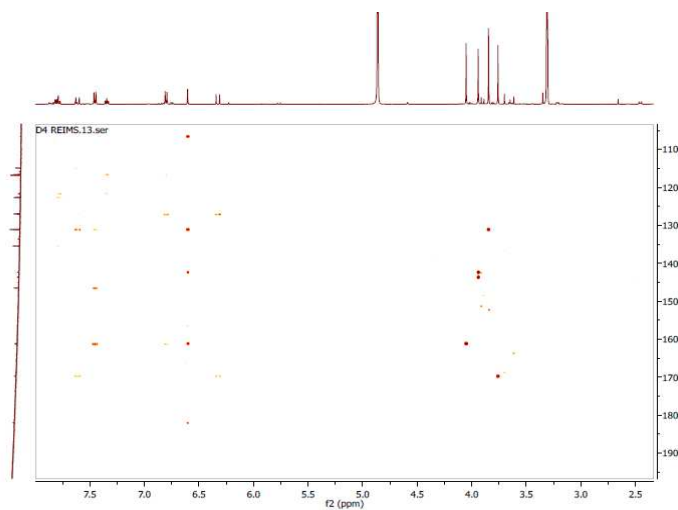


Annexe 6B : HMBC de l'Acide (E)- 4- (isobutylamino)-4-oxo-but-énoïque

Annexe 7 : Corrélation COSY et HMBC du méthyl 4-coumarate

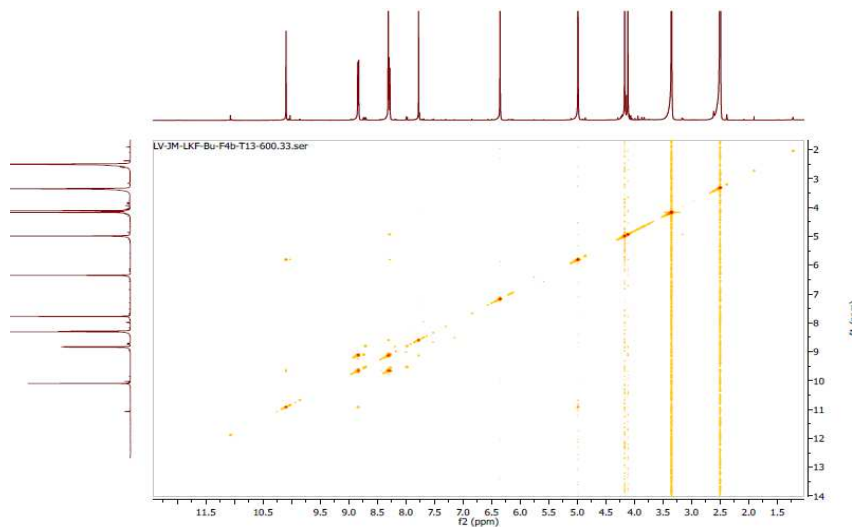


Annexe 7A : COSY du coumarate de-4- méthyl

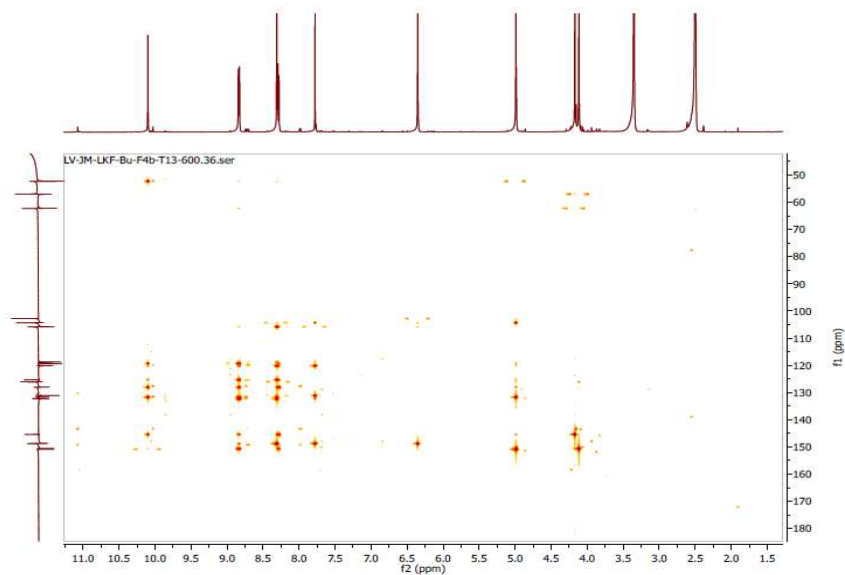


Annexe 7B : HMBC du coumarate de-4-méthyl

Annexe 8 : Corrélation COSY et HMBC de la chélérythrine

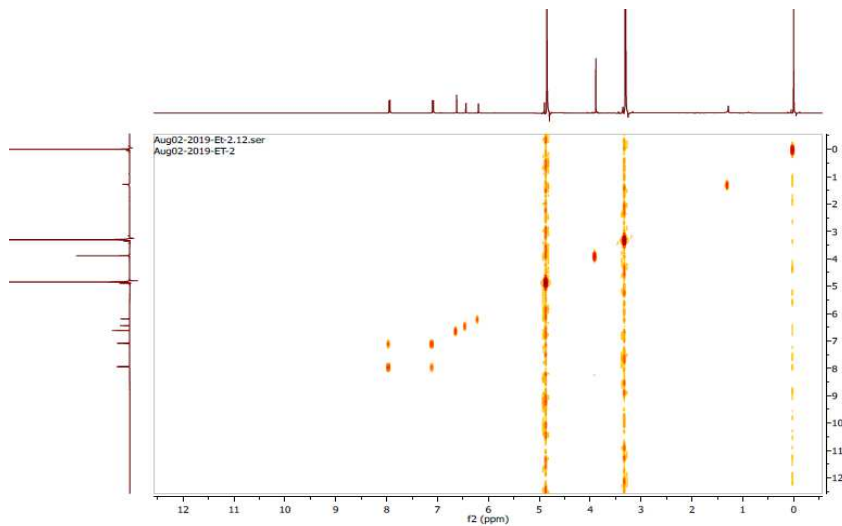


Annexe 8A : COSY de la chélérythrine

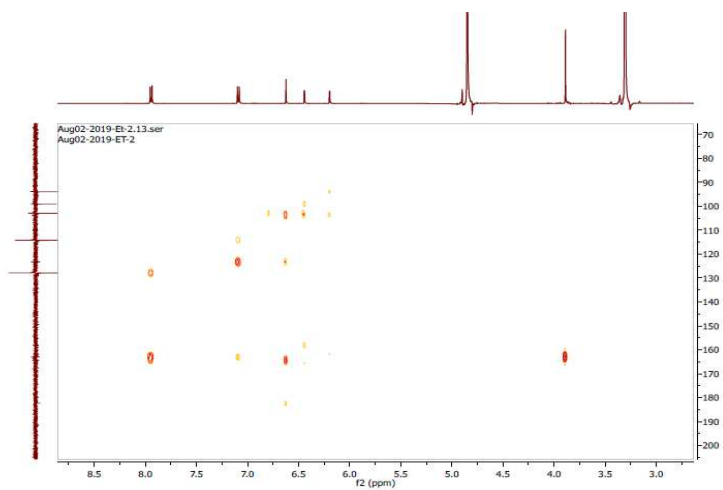


Annexe 8B : HMBC de la chélérythrine

Annexe 9 : Corrélation COSY et HMBC de l'acacétine

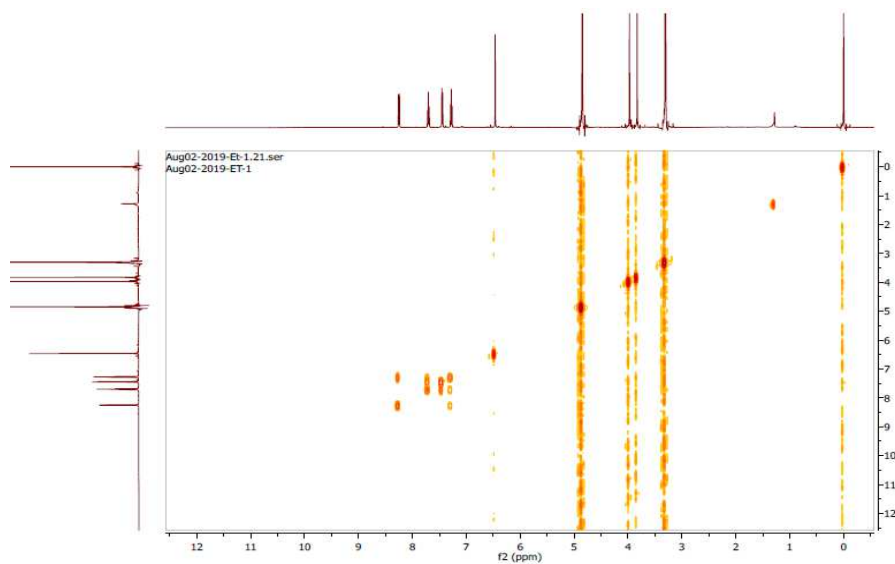


Annexe 9A : COSY de l'acacétine

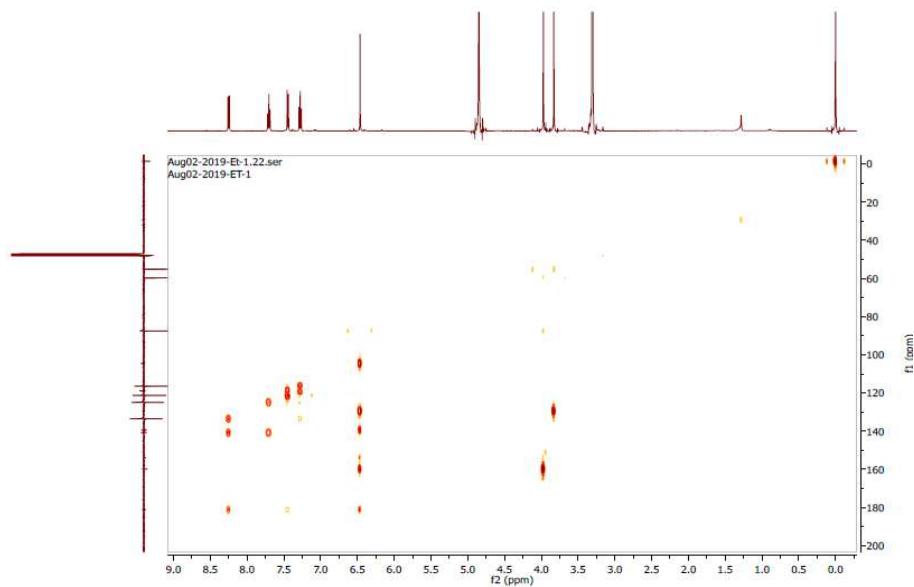


Annexe 9B : HMBC de l'acacétine

Annexe 10 : Corrélation COSY et HMBC de la xanthoxoline

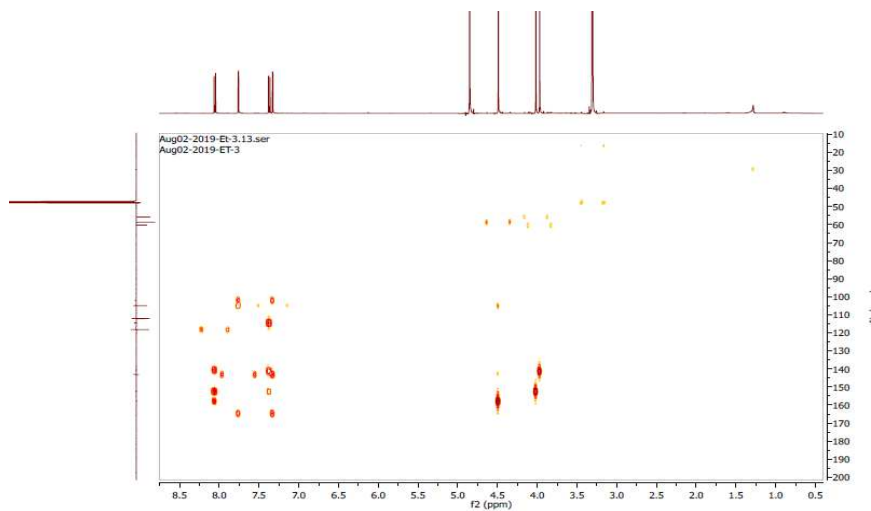


Annexe 10A : COSY de la xanthoxylum

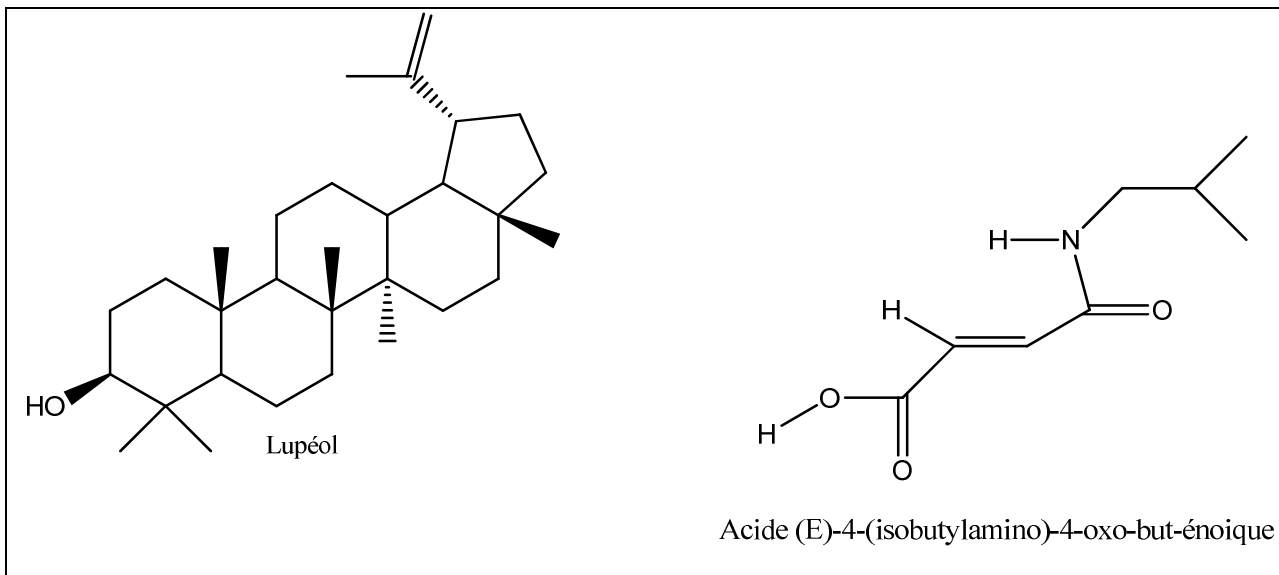


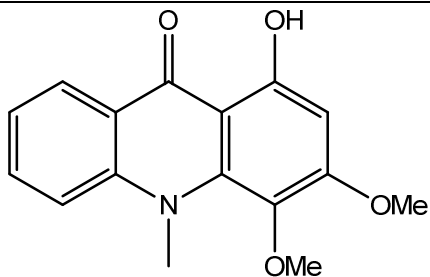
Annexe 10B : HMBC de la xanthoxoline

Annexe 11 : Corrélation HMBC de la skimmianine

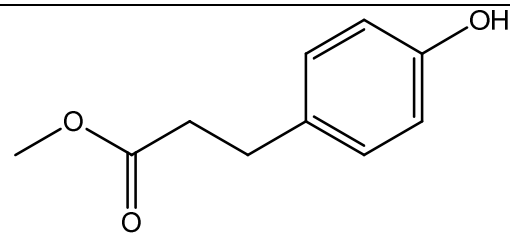


Annexe 12 : Structures des composés isolés dans les feuilles de *Zanthoxylum mezoneurispinosum*

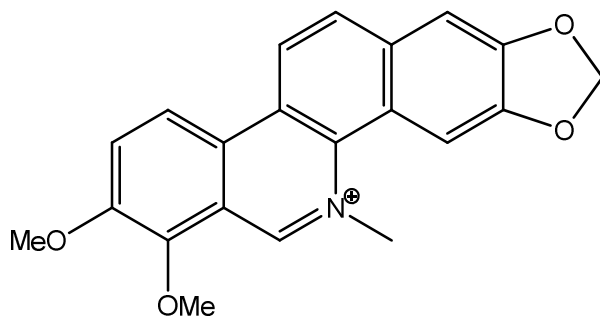




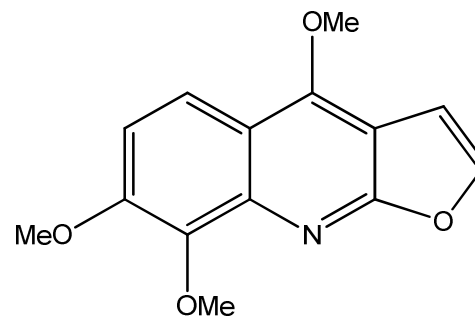
1-hydroxy-3,4-diméthoxy-N-méthylacridone



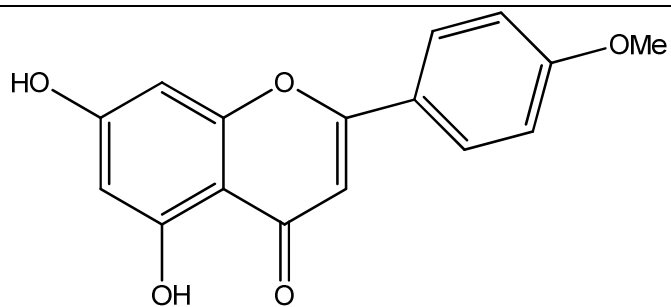
Méthyl 4-coumarate



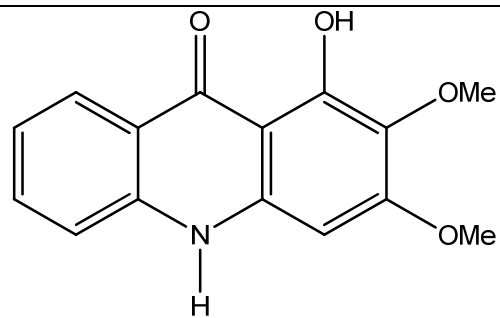
Chélérythrine



Skimmianine



4'-méthoxy-5,7-dihydroxyflavone



Xanthoxoline

Annexe 13 : Publications scientifiques

Publications

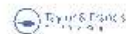
- 1- **Tanoh, E.A.**, Nea, F., Yapi, T.A., Boué, G.B., Jean-Brice, B., Tomi, F. and Tonzibo, Z.F., 2018. Essential oil of *Zanthoxylum lepreurii* Guill. & Perr. rich in undecan-2-one and tridecan-2-one. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(5), pp.1397-1402.
- 2- **Tanoh, E.A.**, Nea, F., Kenne Kemene, T., Genva, M., Saive, M., Tonzibo, F.Z. and Fauconnier, M.L., 2019. Antioxidant and lipoxygenase inhibitory activities of essential oils from endemic plants of Côte d'Ivoire: *Zanthoxylum mezoneurispinosum* Ake Assi and *Zanthoxylum psammophilum* Ake Assi. *Molecules*, 24(13), p.2445.
- 3- **Tanoh, E.A.**, Boué, G.B., Nea, F., Genva, M., Wognin, E.L., Ledoux, A., Martin, H., Tonzibo, Z.F., Frederich, M. and Fauconnier, M.L., 2020. Seasonal Effect on the Chemical Composition, Insecticidal Properties and Other Biological Activities of *Zanthoxylum lepreurii* Guill. & Perr. Essential Oils. *Foods*, 9(5), p.550.

Communications

- 1- **Evelyne A. Tanoh**, Fatimata Nea, Thierry K. Kenne, Manon Genva, Matthew Saive, Felix Z. Tonzibo, Marie-Laure Fauconnier, 2019. New essential oils with interesting biological activities from endemic plants of Côte d'Ivoire: *Zanthoxylum mezoneurispinosum* and *Z. psammophilum*. 24th National Symposium for Applied Biological Sciences (NSABS) (Gant, Belgique).
- 2- **Evelyne A. Tanoh**, Blanchard G. Boue, Fatimata Nea, Henri Martin, Manon Genva, Allison Ledoux, Felix Z. Tonzibo and Marie-Laure Fauconnier, 2020. Seasonal effect on the chemical composition of essential oils hydrodistilled from *Zanthoxylum lepreurii* Guill. & Perr. and on their biological activities. 25th National Symposium for Applied Biological Sciences (NSABS) (Gembloux Agro-Bio Tech, Belgique).



Journal of Essential Oil Bearing Plants



ISSN: 0972-060X (Print) 0976-5026 (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/teop20>

Essential Oil of *Zanthoxylum lepreurii* Guill. & Perr. Rich in Undecan-2-One and Tridecan-2-One

Evelyne Amenan Tanoh, Fatimata Nea, Thierry Acafou Yapi, Guy Blanchard Boué, Boti Jean-Brice, Félix Tomi & Z. Félix Tonzibo

To cite this article: Evelyne Amenan Tanoh, Fatimata Nea, Thierry Acafou Yapi, Guy Blanchard Boué, Boti Jean-Brice, Félix Tomi & Z. Félix Tonzibo (2018) Essential Oil of *Zanthoxylum lepreurii* Guill. & Perr. Rich in Undecan-2-One and Tridecan-2-One, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21:5, 1397-1402, DOI: [10.1080/0972060X.2018.1533891](https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1533891)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1533891>



Published online: 06 Dec 2018.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 22



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=teop20>



Article

Antioxidant and Lipxygenase Inhibitory Activities of Essential Oils from Endemic Plants of Côte d'Ivoire: *Zanthoxylum mezoneurispinosum* Ake Assi and *Zanthoxylum psammophilum* Ake Assi

Evelyn A. Tanoh ^{1,2,*}, Fatimata Nea ^{1,2}, Thierry Kenne Kemene ², Manon Genva ² ,
Matthew Saive ², Felix Z. Tonzibo ¹ and Marie-Laure Fauconnier ²

¹ Laboratory of Biological Organic Chemistry, UFR-SSMT, University Felix Houphouët-Boigny, 01 BP 582 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

² Laboratory of Chemistry of Natural Molecules, University of Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, 2, Passage de Deportés, 5030 Gembloux, Belgium

* Correspondence: evelynatanoh5@gmail.com; Tel.: +32-465-663-587

Received: 15 May 2019; Accepted: 3 July 2019; Published: 3 July 2019



Abstract: *Zanthoxylum mezoneurispinosum* Ake Assi and *Zanthoxylum psammophilum* Ake Assi are species endemic to Côte d'Ivoire. In this study, we determined, for the first time, the composition and biological activities of essential oils obtained from each of these plants. Essential oils were obtained by hydrodistillation from different organs of each plant with a Clevenger-type apparatus and analyzed by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). Thirty-four components, accounting for more than 99.9% of the overall composition, were identified in the oils. The *Z. psammophilum* leaf and trunk bark oils exhibited two unusual methylketones, undecan-2-one and tridecan-2-one, whereas the root oil was rich in thymol and sesquiterpenoids. The *Z. mezoneurispinosum* leaf and trunk bark oils were rich in monoterpenoids, whereas sesquiterpenoids were predominant in the root oil. These samples produced, for the first time, some new chemical profiles of essential oils. The oils' antioxidant activities were determined using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. The results showed that the essential oil isolated from roots of *Z. mezoneurispinosum* had the highest antioxidant activity, which is in accordance with the high thymol content of that oil. We also determined the lipxygenase inhibitory activities of the essential oils. The results showed that all of the tested oils displayed high and close lipxygenase inhibitory activities.

Keywords: *Zanthoxylum mezoneurispinosum*; *Zanthoxylum psammophilum*; essential oil; undecan-2-one; tridecan-2-one; antioxidant activity; DPPH; FRAP; lipxygenase inhibitory activity

1. Introduction

The genus *Zanthoxylum*, family of Rutaceae, contains approximately 250 species that are distributed in subtropical and tropical climates in America, Africa, Asia, and Australia [1]. This genus is well-known for its interesting biological properties, including antioxidant, antimicrobial, antifungal, and anticancer properties [2–7]. These properties help to explain the extensive use of these plants in traditional medicine to treat a range of diseases, including anemia, cancer, sickle cell disease, infertility, rheumatism, osteoarthritis, and dysentery [8]. Furthermore, the fruits of species of the genus *Zanthoxylum* produce are consumed as food condiments in China [9,10].

Zanthoxylum psammophilum and *Zanthoxylum mezoneurispinosum* are two species of the genus *Zanthoxylum* that are endemic to Côte d'Ivoire [11]. *Z. psammophilum* is a thin, hairless lianaceous



Article

Seasonal Effect on the Chemical Composition, Insecticidal Properties and Other Biological Activities of *Zanthoxylum lepreurii* Guill. & Perr. Essential Oils

Evelyne Amenan Tanoh ^{1,2,*}, Guy Blanchard Boué ¹, Fatimata Nea ^{1,2}, Manon Genva ²,
Esse Leon Wognin ³, Allison Ledoux ⁴, Henri Martin ², Zanahi Felix Tonzibo ¹,
Michel Frederich ⁴ and Marie-Laure Fauconnier ²

¹ Laboratory of Biological Organic Chemistry, UFR-SSMT, University Felix Houphouët-Boigny, 01 BP 582 Abidjan 01, Ivory Coast; blancardc2000@yahoo.fr (G.B.B.); neafatima@gmail.com (F.N.); tonzibz@yahoo.fr (Z.F.T.)

² Laboratory of Chemistry of Natural Molecules, University of Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, 2, Passage des Déportés, 5030 Gembloux, Belgium; m.genva@uliege.be (M.G.); henri.martin@uliege.be (H.M.); marie-laure.fauconnier@uliege.be (M.-L.F.)

³ Laboratory of Instrumentation Image and Spectroscopy, National Polytechnic Institute Felix Houphouët-Boigny, BP 1093 Yamoussoukro, Ivory Coast; esse.wognin@yahoo.fr

⁴ Laboratory of Pharmacognosy, Center for Interdisciplinary Research on Medicines (CIRM), University of Liège, Avenue Hippocrate 15, 4000 Liège, Belgium; allison.ledoux@uliege.be (A.L.); m.frederich@uliege.be (M.F.)

* Correspondence: evelynetanoh5@gmail.com; Tel.: +32-(0)4-6566-3587

Received: 27 March 2020; Accepted: 19 April 2020; Published: 1 May 2020



Abstract: This study focused, for the first time, on the evaluation of the seasonal effect on the chemical composition and biological activities of essential oils hydrodistilled from leaves, trunk bark and fruits of *Zanthoxylum lepreurii* (*Z. lepreurii*), a traditional medicinal wild plant growing in Côte d'Ivoire. The essential oils were obtained by hydrodistillation from fresh organs of *Z. lepreurii* growing on the same site over several months using a Clevenger-type apparatus and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). Leaf essential oils were dominated by tridecan-2-one (9.00 ± 0.02 – $36.80 \pm 0.06\%$), (*E*)- β -ocimene (1.30 ± 0.50 – $23.57 \pm 0.47\%$), β -caryophyllene (7.00 ± 1.02 – $19.85 \pm 0.48\%$), dendrolasin (1.79 ± 0.08 – $16.40 \pm 0.85\%$) and undecan-2-one (1.20 ± 0.03 – $8.51 \pm 0.35\%$). Fruit essential oils were rich in β -myrcene (16.40 ± 0.91 – $48.27 \pm 0.26\%$), citronellol (1.90 ± 0.02 – $28.24 \pm 0.10\%$) and geranial (5.30 ± 0.53 – $12.50 \pm 0.47\%$). Tridecan-2-one (45.26 ± 0.96 – $78.80 \pm 0.55\%$), β -caryophyllene (1.80 ± 0.23 – $13.20 \pm 0.33\%$), α -humulene (4.30 ± 1.09 – $12.73 \pm 1.41\%$) and tridecan-2-ol (2.23 ± 0.17 – $10.10 \pm 0.61\%$) were identified as major components of trunk bark oils. Statistical analyses of essential oil compositions showed that the variability mainly comes from the organs. Indeed, principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) allowed us to cluster the samples into three groups, each one consisting of one different *Z. lepreurii* organ, showing that essential oils hydrodistilled from the different organs do not display the same chemical composition. However, significant differences in essential oil compositions for the same organ were highlighted during the studied period, showing the impact of the seasonal effect on essential oil compositions. Biological activities of the produced essential oils were also investigated. Essential oils exhibited high insecticidal activities against *Sitophilus granarius*, as well as antioxidant, anti-inflammatory and moderate anti-plasmodial properties.

Keywords: *Zanthoxylum lepreurii*; essential oils; *Sitophilus granarius*; tridecan-2-one; β -myrcene; (*E*)- β -ocimene; dendrolasin; antioxidant; anti-inflammatory; insecticidal; anti-plasmodial; Côte d'Ivoire