



Variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia multiflora* cultivées en Côte d'Ivoire

Lêniféré Chantal SORO^{1,3}, Lidwine GROSMOIRE², Anin Louise OCHO-ANIN ATCHIBRI¹, Sylvie MUNIER³, Chantal MENUT⁴, Yves PELISSIER³

¹Laboratoire de Nutrition et de Sécurité Alimentaire (LANUSA) 02 BP 801 Abidjan 02 Faculté des Sciences et Technologie Alimentaire Université Nangui-Abrogoua – Côte d'Ivoire

²Laboratoire des structures physiques et moléculaires de la faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université de Montpellier 1

³Laboratoire de Pharmacognosie Phytothérapie Aromathérapie de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université de Montpellier 1 - Qualisud – France

⁴L'Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), Université de Montpellier 1, Equipe "glyco et nano vecteurs pour le ciblage thérapeutique" – France

Author for correspondence (E-mail: leniferechantal@gmail.com)

Original submitted in on 22nd January 2015. Published online at www.m.elewa.org on 30th April 2015
<http://dx.doi.org/10.4314/jab.v88i1.5>

RÉSUMÉ

Objectif : caractériser les huiles essentielles des feuilles de *Lippia multiflora* et d'étudier la variabilité de composition chimique de l'huile essentielle (HE) des feuilles de *Lippia multiflora* cultivées en Côte d'Ivoire au cours d'une année

Méthodologie et résultats : les 144 échantillons d'HE ont été extraites par hydrodistillation selon le procédé décrit par la Pharmacopée Européenne 5^{ème} édition, puis l'analyse a été effectuée au moyen des techniques de Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) pour l'identification des composés, couplée à un détecteur à ionisation de flamme pour leur quantification. Les résultats montre que les phénols sont présents dans la quasi-totalité des échantillons étudiées, le carvacrol et le thymol sont les plus représenté puisque les HE de Bondoukou en renferment plus de 30 %, tandis que le thymol atteint des teneurs de moins de 10 % dans les HE d'Abidjan et Toumodi. Les monoterpènes et sesquiterpènes sont présents dans les huiles étudiées.

Conclusions et applications de résultats : Les résultats obtenus ont montré, d'une part, une variabilité chimique en fonction de l'origine géographique: les sites d'Abidjan et de Toumodi sont caractérisés par des compositions similaires en composés terpéniques aromatiques qui apparaissent très différentes des échantillons provenant de Bondoukou. D'autre part, l'analyse statistique a aussi été conduite afin d'étudier la variabilité de la composition chimique en fonction de la date de récolte pour chacun des 3 sites de culture. Les résultats ont permis d'identifier, pour chacun des sites, la période de récolte correspondant à la teneur maximale en composés d'intérêt pharmacologique. Notre travail a donc permis d'une part d'indiquer des compositions d'HE

non encore étudiées à ce jour en Côte d'Ivoire et d'autre part de mettre en évidence des spécificités intra et inter espèces.

(Variability of the chemical composition of the essential oil of *Lippia multiflora* leaves grown in Ivory Coast)

ABSTRACT

Objective: Characterize the essential oils (EO) of *Lippia multiflora* leaves and study the variability of chemical composition of the essential oil from the *Lippia multiflora* leaves grown in the Ivory Coast in a year

Methodology and results : 144 samples of EO was extracted by steam distillation according to the process described by the European Pharmacopoeia 5th Edition, then the analysis was carried out using chromatographic techniques in the gas phase coupled with mass spectrometry (GC-MS) for the identification of compounds, coupled with a flame ionization detector for their quantification. The results show that phenols are present in almost all samples studied, carvacrol and thymol are the most represented as Bondoukou the EO contained in more than 30%, while thymol reached levels of less than 10% EO in Abidjan and Toumodi. Monoterpenes and sesquiterpenes are present in the investigated oils.

Conclusion and application: The results showed, a chemical variability depending on the geographical origin. Abidjan and Toumodi sites were characterized by similar compositions in aromatic terpene compounds that appear very different from samples of Bondoukou. On the other hand, the statistical analysis was also conducted to study the variability of the chemical composition depending on the harvest date for each of the three cultural sites. The results were used to identify, for each site, the harvest period corresponding to the maximum content of compounds of pharmacological interest. This work has allowed knowledge of compositions of EO not yet studied to date in Ivory Coast and also to highlight the specific intra and inter species.

INTRODUCTION

Lippia multiflora est une plante appartenant à la famille des Verbenaceae originaire de l'Afrique centrale et occidentale (Jim *et al.*, 2001). Cette plante qui pousse de façon sauvage est récoltée et utilisée par la population en fonction de leur besoin nutritionnel et thérapeutique. Des travaux antérieurs sur les propriétés thérapeutiques du *Lippia multiflora* ont été attribués à la présence de composés terpéniques issus de son huile essentielle. Ainsi, il est octroyé à *Lippia multiflora* Mold., des propriétés sédatives (Étou-Ossibi *et al.*, 2005), anti infectieuses buccales (Menut *et al.*, 1993), antitussives (Pascual *et al.*, 2001) dans l'inflammation bronchique, antispasmodiques dans les troubles gastro-intestinaux, hypotensives, et comme complément thérapeutique dans la fièvre de malaria (Valentin *et al.*, 1995.). Également des propriétés bactériostatiques lui ont été attribuées (Noamesi, 1977 - 1985), (Pham *et al.*, 1988), (Pélissier *et al.*, 1998). Diverses études menées sur la composition chimique de l'huile essentielle dans la sous-région

ont révélées la présence de plusieurs chémotypes dont -*L. multiflora* Mold. var citral- *L. multiflora* Mold. var 1.8-cinéole/ néral/ géranial- *L. multiflora* Mold. var 1.8 cinéole - *L. multiflora* Mold. var Linalool, *L. multiflora* Mold. var α - terpinéol (Kanko *et al.*, 1999 ; 2004) et *L. multiflora* Mold. var nérolidol (Tia *et al.*, 2011) (Valentin *et al.*, 1995). La variation de la composition chimique des huiles essentielles telle qu'observée, est due aux changements de l'environnement tels que géographique, climatique, et les conditions de culture selon Zilda *et al.*, (2010). Malgré le grand potentiel que peut présenter l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du point de vue thérapeutique, les impacts environnementaux et les étapes de développement n'ont pas encore été étudiés. A cet effet, l'utilisation de cette plante étant indispensable à la population il apparaît donc opportun d'analyser la composition chimique de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* par GC/FID et par GC/MS, afin d'étudier la variabilité chimique des constituants de l'huile essentielle, par analyse en

composante principale (ACP) en fonction de la période de récolte et de l'origine géographique pour déterminer la période de récolte à laquelle la

composition chimique se révèle essentielle pour une activité pharmacologique donnée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Zone d'étude et plan de la parcelle expérimentale :

Sur les sites d'expérimentation, les graines de *Lippia multiflora* prélevées à l'état naturel sur chacun des sites sont semées en pépinière pour produire des plants standards. Le dispositif a été réalisé suivant la méthode validée de Lotodé et Lachenaud, (1988); Charmentant et Leroy, (1990). Ces sous-parcelles sont disposées en blocs de Fisher. Les plants âgés de six mois sont repiqués sur la parcelle en 4 lignes de 10 plants. Dans chaque localité, l'expérimentation est portée sur une planche de 40 plants chacune. La parcelle du site expérimental est subdivisée en sous parcelles mesurant chacune 30 m², et contenant 40 pieds de *Lippia multiflora*. Les pieds sont plantés à 50 cm de profondeur, avec des espacements de 0,5 m entre les plants, 0,5 m entre les lignes, et 2 m entre les sous parcelles.

Échantillonnage : Le prélèvement (500g) des feuilles est effectué au cours de l'évolution de la plante. L'échantillonnage a lieu tous les mois à date précise sur les différentes localités. Il est réalisé à la même période. La récolte des feuilles s'effectue à chaque fois sur le même plant à heure fixe. Pour les analyses, les feuilles sont prélevées sur 16 plants choisis sur les 2 lignes centrales de chaque planche pour former un échantillon. Les feuilles dès leur récolte sont emballées dans des sacs de papiers biologiques, et placées dans une glacière en présence de carboglace. Transportées au laboratoire, elles sont séchées à l'abri de la lumière à température ambiante (25°C). Séchées, elles sont broyées à l'aide d'un appareil à broyeur-couteau, puis emballées dans des sacs de papier, puis dans des poches plastiques compatible avec les denrées alimentaires. Conservées dans des cartons à la température ambiante du laboratoire, les échantillons sont chaque mois acheminés par voie aérienne au Laboratoire de Pharmacognosie-Phytothérapie-Aromathérapie de l'Université Montpellier I où ils ont été hydrodistillés. Un échantillon de chaque récolte est déposé et répertorié comme référence au Droguiers de la Faculté de Pharmacie de Montpellier. 144 échantillons ont ainsi été récoltés au cours de l'année du mois de mars 2012 au mois de février 2013.

Méthode d'extraction des huiles essentielles : L'hydro distillation de chaque échantillon est réalisée dans des conditions identiques, d'après la méthode standard

décrite dans la Pharmacopée Européenne 5^{ème} édition. 200 g de chaque échantillon de matériel végétal est soumis durant 4 heures à une hydro distillation, en utilisant un appareil de type Clevenger. Les huiles essentielles obtenues, séparées de l'eau par décantation, sont séchées sur du sulfate de sodium anhydre et après filtration, stockées dans des flacons scellés, conservés à 4 ° C jusqu'au moment de l'analyse.

Analyse en Chromatographie en Phase Gazeuse /

Spectrométrie de Masse (GC-MS) : Les analyses GC-MS sont effectuées en utilisant un chromatographe de type Hewlett Packard 5890, relié à un détecteur quadripolaire (modèle 5972) et équipé d'une colonne HP-5 MS capillaire (30 m x 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm) et un DB colonne de silice (30 x 0,25 mm; épaisseur de film de 0,25 µm). L'hélium est le gaz porteur de débit de 0,6 ml / m. Les températures de la ligne de transfert et l'injecteur sont fixées à 220 ° C et 250 ° C respectivement. La température du four programmée est la même que celui utilisé lors de la première analyse GC-FID. Les échantillons dilués dans le dichlorométhane (CH₂Cl₂) (10:100 , v / v) et 1 µl sont injectés manuellement et dans un mode de partage (1:100). Le spectre de masse est utilisé en mode énergie d'ionisation à 70 eV, en m / z gammes 35-300; multiplicateur électronique 1460 eV; vitesse de balayage à 2.96 / s de balayage.

Analyses qualitatives et quantitatives : L'analyse quantitative permet de définir les proportions relatives des huiles des constituants essentiels qui ont été obtenues par voie électronique à partir des données GC-FID par la surface du pic de normalisation, en prenant les facteurs de réponse (RRF) de 1,0 pour tous les composés. L'analyse des 144 échantillons d'HE a été effectuée au moyen des techniques de Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) pour l'identification des composés, couplée à un détecteur à ionisation de flamme pour leur quantification. L'identification des constituants a été affecté sur la base d'une comparaison entre leurs indices de rétention relatifs, calculé par rapport à la série des n-alcanes (C₉-C₂₂), et leurs spectres de masse avec ceux des normes (par principale composants), ceux qu'on trouve dans la littérature (Adams, 2007) et complétée par la base de

données NBS75K et Wiley 7 NIST 98 EPA / NIH Mass Spectral mise à niveau de la bibliothèque (fourni par Hewlett Packard avec le logiciel GC / MS de contrôle et de traitement des données).

Analyse statistique : Analyse en Composante Principale (ACP) : L'ensemble des données a été traité par une méthode statistique descriptive, l'Analyse en Composantes L'ACP a été effectué avec le logiciel The Unscrambler® X 10.2 (Camo). L'Analyse en Composantes Principales (ACP) a été conduite sur les données cumulées correspondant aux échantillons prélevés sur une année entre Mars 2012 et Février 2013 pour les 3 sites. Ces données sont constituées de 144

individus (144 échantillons récoltés sur les 3 sites à période régulière durant une année) et de 16 variables (16 constituants identifiés). Cette analyse a aussi été conduite afin d'étudier la variabilité de la composition chimique en fonction de la date de récolte pour chacun des 3 sites de culture. L'analyse a été menée sur les données centrées réduites (moyenne non nulle et écart type unitaire) permettant de donner un poids a priori équivalent pour chacune d'elles et non les données brutes. L'Analyse en Composantes Principales (ACP) afin de mettre en évidence une éventuelle variabilité de la composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Lippia Multiflora*.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Analyses qualitatives et quantitatives : Les analyses qualitatives et quantitatives sont représentées par les constituants volatils de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* Mold qui ont été analysés par GC/FID et par GC/MS. Les résultats de ces analyses montrent de nombreuses différences au niveau des profils chimiques des huiles essentielles en fonction de leurs provenances (Tableau 1). Le rendement en huile essentielle de *Lippia multiflora* d'Abidjan LPA (1,12%) est le plus élevé comparativement à ceux des huiles essentielles des deux autres sites 0,37% (Bondoukou: LPB) et 0,76% (Toumodi: LPT). Cette différence de rendement semble être en corrélation avec les conditions environnementales et le climat des régions de culture: une zone forestière avec un climat humide pour LPA, une zone pré-forestière

pour LPT et une zone de savane au climat sec pour LPB. Ces différences sont également observées au niveau de la composition chimique des trois huiles essentielles. Si certains composés sont communs aux trois échantillons dont les sesquiterpènes tels que le β -caryophyllène, le trans- β -farnésène et le germacrène D (voir Tableau 1), l'ACP conduite révèle une variabilité chimique notable permettant de définir deux types de profils chimiques de *Lippia multiflora* définis par des composés majoritaires retrouvés en quantité variables selon les sites : le type chimique riche en néral, géraniol, géraniol et le type chimique riche en acétate de thymyle, thymol, carvacrol, γ terpinène.

Tableau 1: Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia multiflora* cultivées dans les trois sites du mois de Mars 2012

Composés	IRa	IRb	IRc	LPA	LPT	LPB
α -thujène	923	924	1027	0,1	0,1	1,1
α -pinène	931	932	1032	0,1	0,1	0,1
Sabinène	968	969	1124	0,2	0,4	0,3
β -pinène	971	974	1113	0,1	0,1	0,1
1-octen-3-ol	976	974	1546	0,1	0,1	0,1
6-méthylhept-5-en-2-one	981	981	1150	1,6	0,7	0,1
Myrcène	986	988	1158	0,1	0,1	1,2
3-octanol	1001	988	1388	0,1	0,1	0,1
α -phéllandrène	1004	1002	1163	0,8	1,4	0,1
α -terpinène	1015	1012	1178	0,1	0,1	1
p-cymène	1023	1022	1271	1,1	0,8	9,5
β -phéllandrène	1028	1025	1210	0,5	0,8	0,1
1,8-cinéole	1031	1026	1213	1	2,2	0,3
(Z)- β -ocimène	1043	1032	1247	0,5	0,3	0,1
γ -terpinène	1056	1054	1244	0,3	0,1	5,7

Soro et al. . J. Appl. Biosci. Variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de Lippia multiflora cultivées en Côte d'Ivoire

cis- sabinène hydrate	1065	1065	1556	0,1	0,1	0,3
Terpinolène	1087	1086	1286	0,7	0,1	0,1
Linalool	1096	1095	1536	6,9	1,1	0,1
menth-2-en-1-ol	1139	1136	1565	0,1	0,1	0,1
Citronnellal	1161	1148	1464	0,3	0,4	0,1
δ-terpinéol	1167	1170	1668	0,9	0,1	6,8
terpinen-4-ol	1179	1174	1600	1,6	1	0,4
α-terpinéol	1193	1186	1681	0,7	2,4	0,1
Nérol	1226	1227	1778	0,7	1,8	0,1
Néral	1241	1235	1668	21,9	15,7	0,3
Géraniol	1254	1249	1827	8,4	25,7	0,1
Géranial	1271	1264	1718	29,1	23,6	0,3
Thymol	1290	1289	2161	6,6	2,2	50,4
Carvacrol	1293	1298	2193	0,9	0,3	6,3
α-cubébène	1347	1345	-	0,1	0,1	0,1
acétate de thymyle	1352	1349	1838	0,6	0,1	11,4
Eugénol	1361	1356	2151	0,1	0,1	0,1
acétate de Neryle	1368	1359	1720	0,1	0,1	0,1
acétate de Carvacryle	1376	1370	-	0,1	0,1	0,7
α-copaène	1379	1374	1489	0,3	0,6	0,1
β-bourbonène	1389	1387	1544	0,1	0,1	0,1
acétate de géranyle	1393	1379	1750	0,2	0,3	0,1
β-cubébène	1389	1387	1543	0,1	0,1	0,1
β-caryophyllène	1415	1408	1587	1,5	1,5	1,1
α-humulène	1455	1452	1668	0,1	0,1	0,1
(E)-β-farnésène	1458	1454	1655	4,3	6,4	1,6
allo aromandendrène	1462	1439	1638	0,1	0,1	0,3
germacrène D	1486	1484	1698	3	4,3	1,9
α-muuroolène	1502	1500	1711	0,1	0,1	0,3
β-bisabolène	1508	1504	1729	0,3	0,5	0,4
Cubébol	1519	1514	-	0,4	1,1	0,7
δ-cadinène	1525	1522	1742	0,5	0,6	0,4
Nérolidol	1561	1561	2014	2,4	0,5	0,2
oxyde de Caryophyllène	1590	1582	1956	1,1	1,1	1,7
Guaiol	1600	1600	2214	0,1	0,1	0,1
oxyde d'humulène II	1616	1608	2003	0,3	0,3	0,8
oxyde d'aromandendrène	1632	1639	-	0,1	0,1	0,3
epi-α- cadinol	1646	1638	2175	0,1	0,3	0,2
germacra-4(15), 5,10(14)-trien-1-ol	1691	1685	-	0,1	0,3	0,7
Total	-	-	-	99,6	99,7	99,1
Rendement (%)	-	-	-	1,12	0,76	0,37

IRa= Indice de rétention sur colonne apolaire HP5

IRb= Indice de rétention Adams (2007)

IRc= Indice de rétention sur carbowax

LPA= *Lippia multiflora* Abidjan

LPB= *Lippia multiflora* Bondoukou

LPT= *Lippia multiflora* Toumodi

Variabilité chimique de la composition des huiles : L'ACP a été conduit sur les données cumulées correspondant aux échantillons prélevés sur une année entre Mars 2012 et Février 2013 pour les 3 sites. Ces données sont constituées de 144 individus (144 échantillons récoltés sur les 3 sites à différents mois de l'année) et de 16 variables (16 constituants identifiés).
Influence de l'origine géographique : La Figure 1 représente la carte des échantillons suivant les deux

premières composantes (PC1 et PC2), expliquant 57% de la variance. Cette représentation oppose 2 groupes d'individus discriminés par la composante 1 qui représente 42% de la variance: (i) les échantillons provenant d'Abidjan et de Toumodi rassemblés à droite de la carte montrant un score positif sur PC1 et (ii) à gauche de la carte, les échantillons originaire de Bondoukou ayant un score négatif sur cette composante.

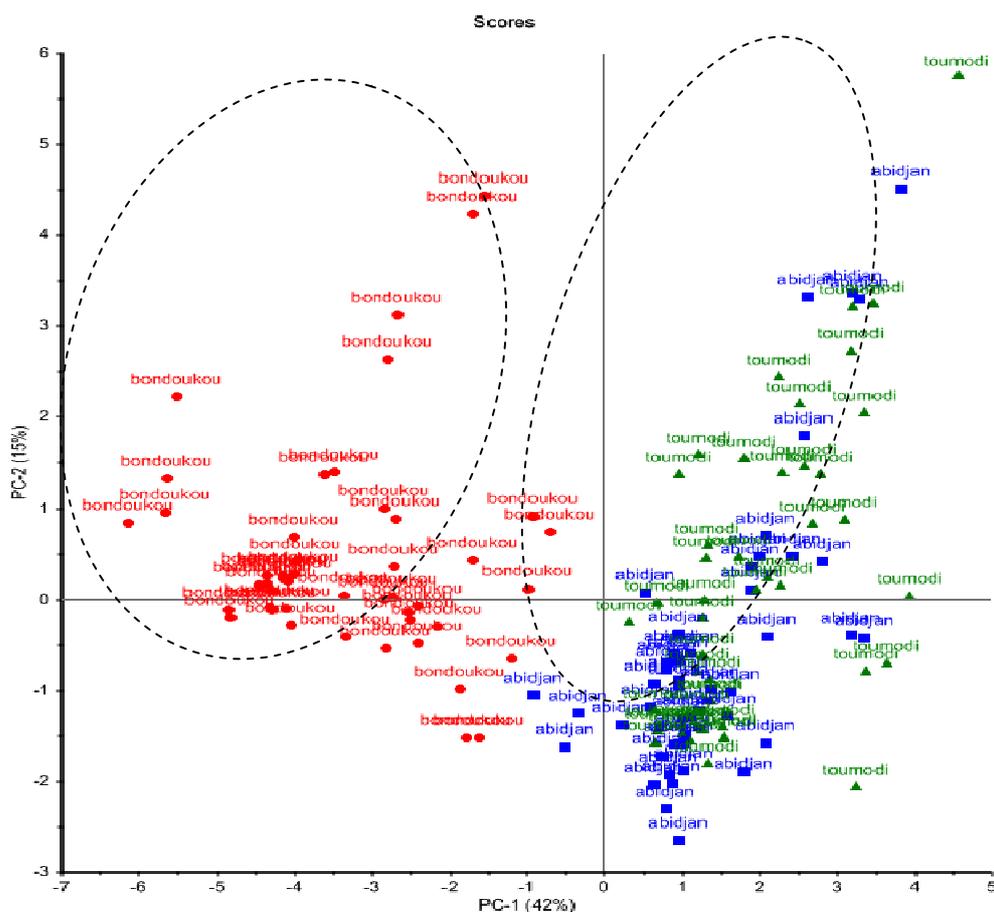


Figure 1: ACP - Carte des échantillons suivant les composantes PC1 et PC2

La Figure 2 représente la carte des variables pour les composantes 1 et 2. L'axe principal 1 est essentiellement construit à partir de l'opposition de 2 groupes de variables: (i) *néral*, *géranol* et *géranial* qui ont une contribution positive et (ii) *acétate de thymyle*, *thymol*, *carvacrol* et *γ-terpinène* qui ont une contribution négative. Ainsi, les échantillons originaires de Toumodi et Abidjan, qui ont des coordonnées positives sur PC1, montrent des quantités plus importantes en *néral*, *géranol* et *géranial* et plus faibles en *acétate de thymyle*, *thymol*, *carvacrol* et *γ-terpinène*. Cette tendance est inversée pour les échantillons de Bondoukou caractérisés par des scores négatifs sur PC1. La composante 2, qui est essentiellement construite à partir des contributions positives des variables *trans-β-farnésène* et *β-caryophyllène* n'intervient pas dans la discrimination.

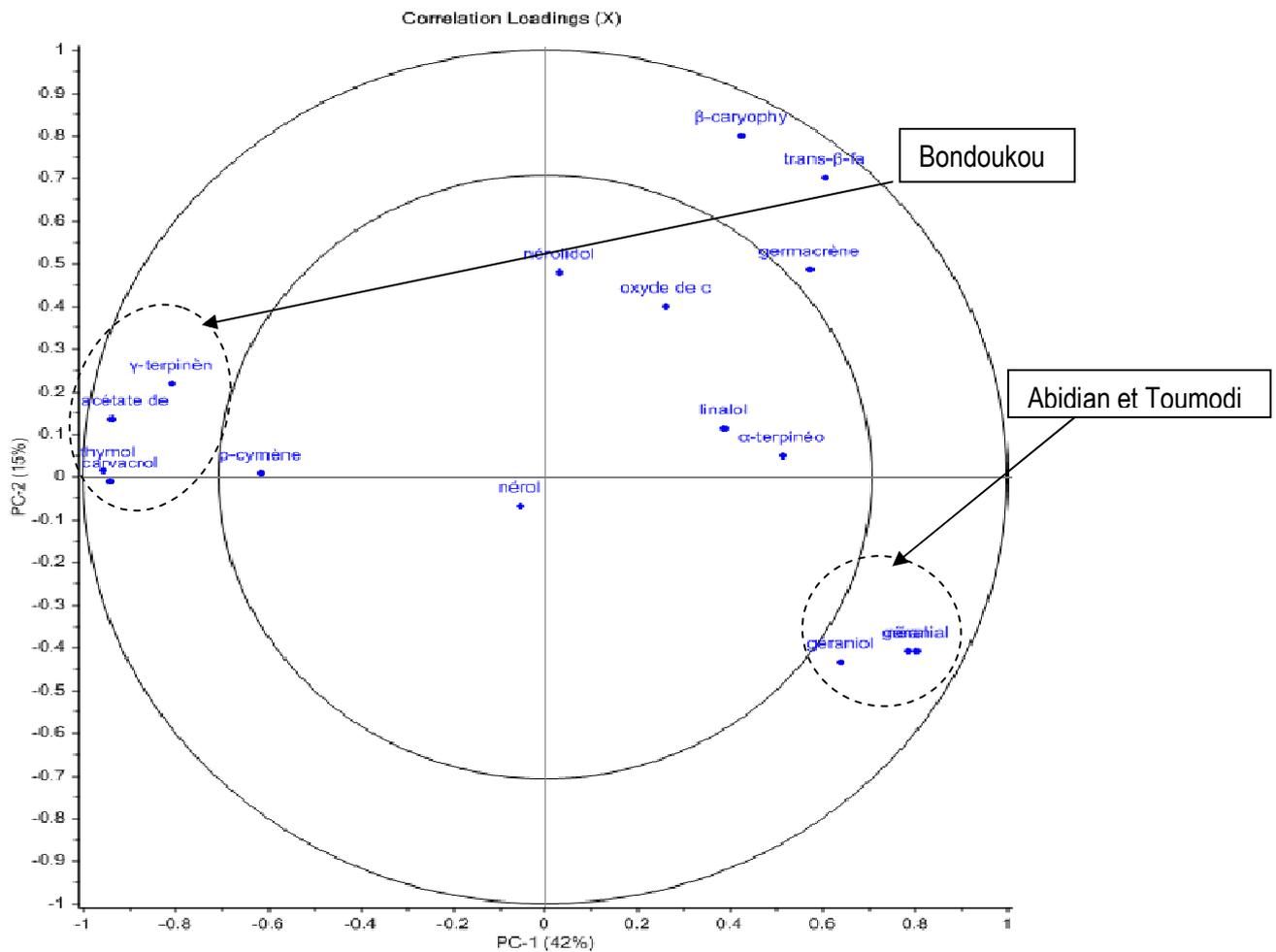


Figure 2: ACP - Carte des variables suivant les composantes PC1 et PC2

Influence de la date de récolte : L'ACP a aussi été menée sur les données d'un même site dans le but d'évaluer la variabilité de la composition chimique en fonction de la date de récolte, pour chacun des sites considérés (Abidjan, Toumodi et Bondoukou).

Site d'Abidjan : La Figure 3 représente la carte des échantillons suivant les deux premières composantes (PC1 et PC2) qui expliquent 34% et 19% de la variance, respectivement. Cette représentation permet de former 7 groupes d'individus qui sont les suivants: (i) "février", (ii)

"mars 2012", (iii) "avril", (iv) "juin", (v) "juillet", (vi) "août, septembre" et (vii) "novembre, décembre". Les échantillons récoltés en octobre, janvier et mai présentent une forte variabilité interne. Dans ce cas, la lecture des données étant fastidieuse, la caractérisation sera facilitée en se limitant aux individus et aux variables les plus extrêmes. L'axe PC1 oppose principalement "avril" (coordonnées positives) et "juin" (coordonnées négatives).

Soro et al. . J. Appl. Biosci. Variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia multiflora* cultivées en Côte d'Ivoire

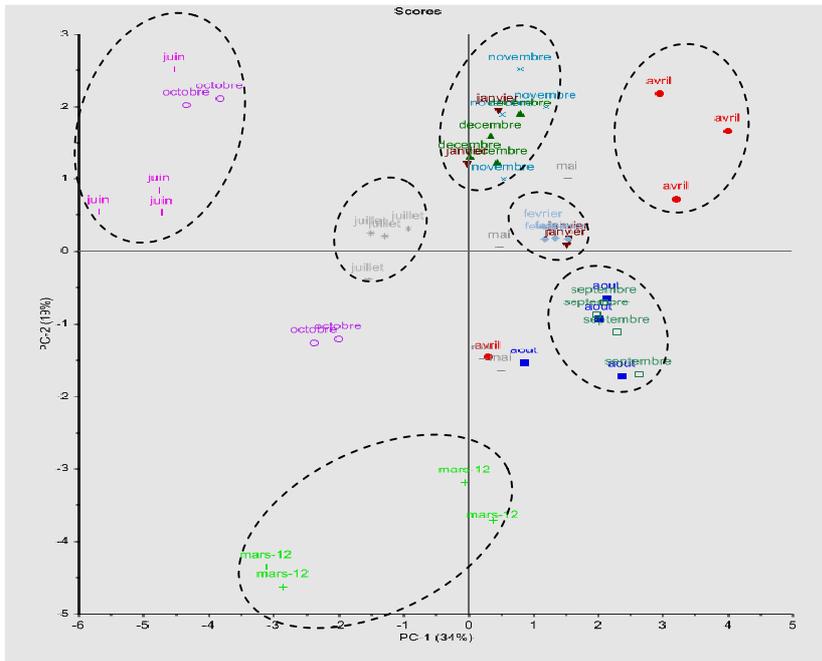


Figure 3: ACP sur les données d'Abidjan - Carte des échantillons suivant les composantes PC1 et PC2

D'après la Figure 4, le groupe "avril" est associé à des compositions plus élevées en *carvacrol* et *thymol* et plus faibles en *trans-β-farnésène*, *β-caryophyllène* et *germacrène*. A l'inverse, le groupe "juin" correspond à

des compositions plus élevées en *trans-β-farnésène*, *β-caryophyllène* et *germacrène* et plus faibles en *carvacrol* et *thymol*.

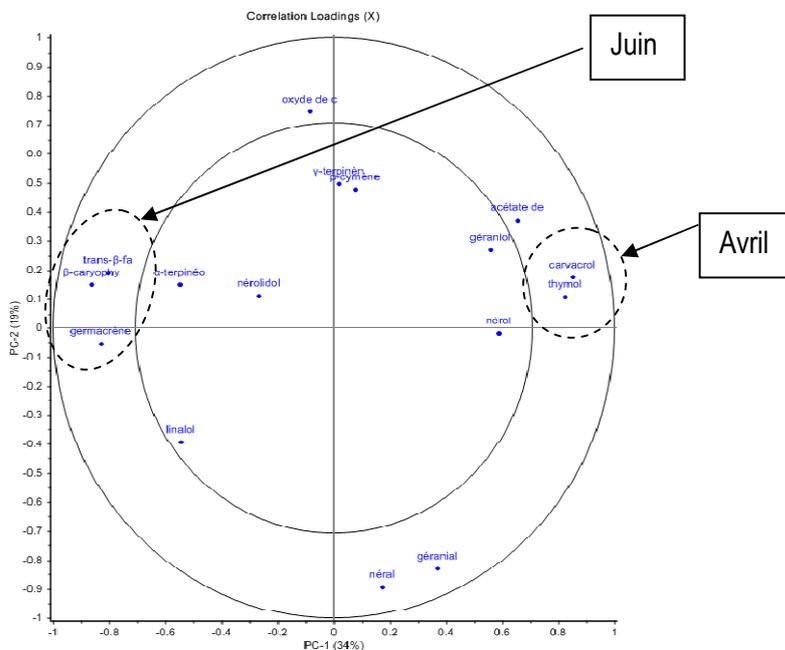


Figure 4: ACP sur les données d'Abidjan - Carte des variables suivant les composantes PC1 et PC2

La deuxième composante sépare essentiellement le groupe "mars 2012" (coordonnées négatives sur PC2) du groupe constitué par les données récoltées en novembre et décembre (coordonnées positives sur PC2). L'analyse conjointe des cartes des individus et des variables permet d'associer des compositions plus élevées en *oxyde de caryophyllène* et plus faibles en *néral* et *géraniol* pour le groupe rassemblant les échantillons collectés en novembre et décembre.

Site de Toumodi : La Figure 5 représente la carte des échantillons suivant les deux premières composantes

(PC1 et PC2) qui expliquent 52% de la variance. Cette représentation permet de former 5 groupes d'individus : (i) "janvier, février", (ii) "mars", (iii) "avril, mai, juin", (iv) "juillet, août, septembre, octobre", (v) "novembre, décembre". Comme dans le cas précédent, la caractérisation des données sera facilitée en se limitant aux individus et aux variables les plus extrêmes. La composante 1 oppose principalement "avril, mai, juin" (coordonnées positives) à "janvier, février" (coordonnées négatives).

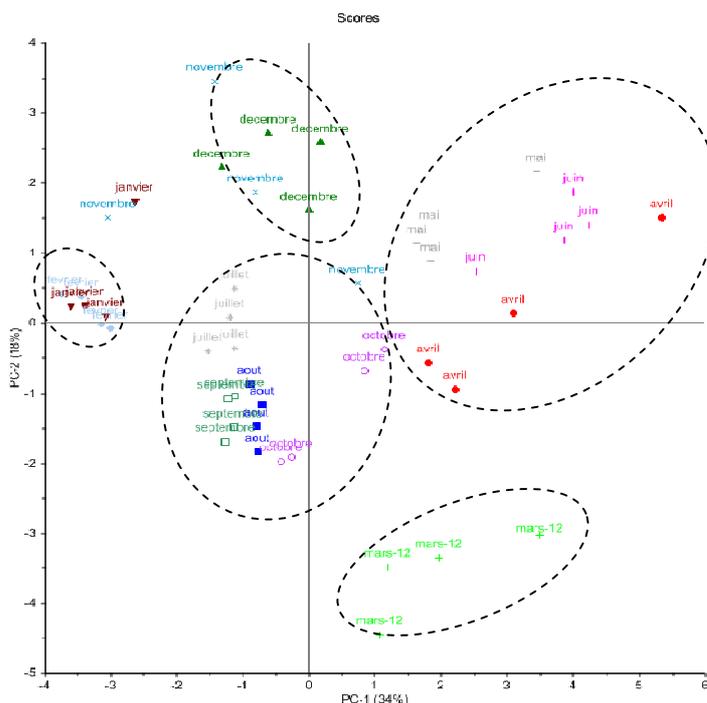


Figure 5: ACP sur les données de Toumodi - Carte des échantillons suivant les composantes PC1 et PC2

D'après la Figure 6, le groupe "avril, mai, juin" est associé à des compositions plus élevées en *trans-β-farnésène*, *β-caryophyllène* et plus faibles en *carvacrol* et *acétate de thymyle*. A l'inverse, le groupe "janvier, février" correspond à des compositions plus élevées en *carvacrol* et *acétate de thymyle* et plus faibles en *trans-β-farnésène*, *β-caryophyllène*. La deuxième composante sépare essentiellement le groupe "mars 2012"

(coordonnées négatives sur PC2) du groupe constitué par les données récoltées en novembre et décembre (coordonnées positives sur PC2). L'analyse conjointe des cartes des individus et des variables permet d'associer des compositions plus élevées en *oxyde de caryophyllène* et *nérolidol* et plus faibles en *géraniol* pour le groupe constitué des échantillons collectés en novembre et décembre.

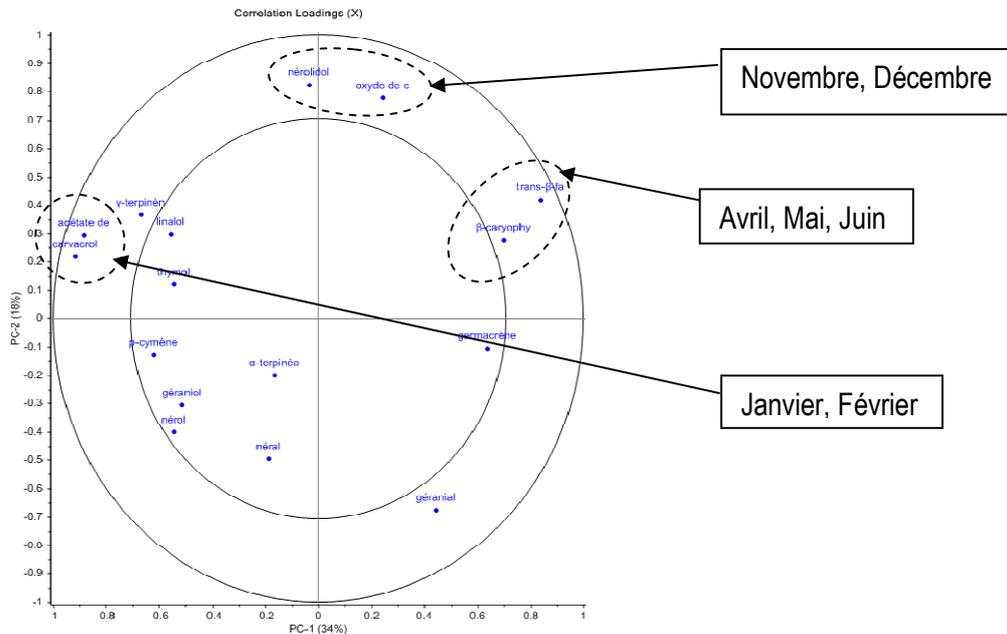


Figure 6: ACP sur les données de Toumodi - Carte des variables suivant les composantes PC1 et PC2

Site de Bondoukou : La Figure 7 représente la carte des échantillons suivant les deux premières composantes (PC1 et PC2) qui expliquent 49% de la variance. Cette représentation permet de former 5 groupes d'individus qui sont les suivants: (i) "septembre, octobre, novembre, décembre, janvier, février", (ii) "mars", (iii) "avril, mai, juin", (iv) "juillet" et (v) "août". Comme dans les cas précédents, la restriction aux individus et aux variables les plus extrêmes sera faite afin de faciliter la

caractérisation des données. L'analyse conjointe des cartes des individus (Fig. 7) et des variables (Fig. 8) permet d'associer selon PC1 les échantillons récoltés en mars à des teneurs relativement plus élevées en *carvacrol*, *thymol* et *acétate de thymyle*. L'axe PC2 est essentiellement lié à la composition en *germacrène* (corrélation négative) qui est plus élevée dans les échantillons récoltés en juillet (coordonnées négatives sur cet axe).

Soro et al. . J. Appl. Biosci. Variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de Lippia multiflora cultivées en Côte d'Ivoire

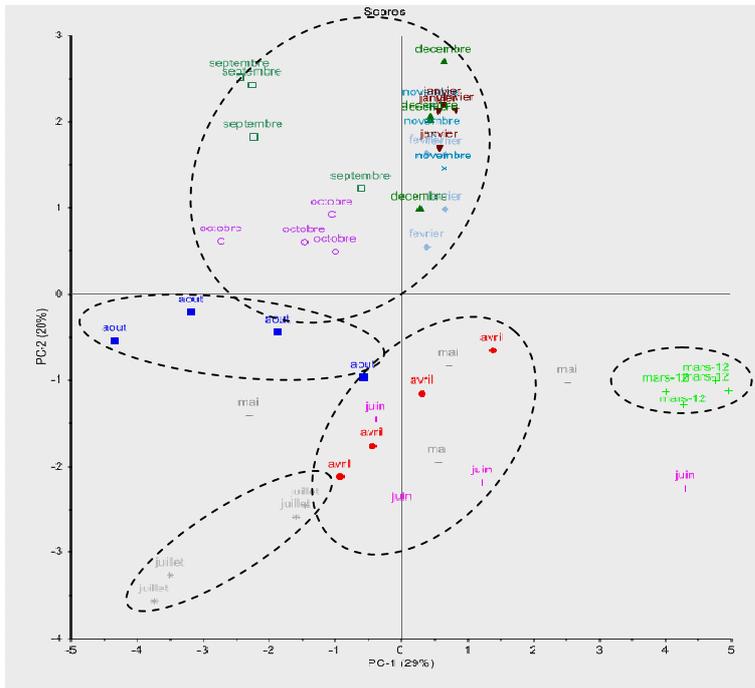


Figure 7: ACP sur les données de Bondoukou - Carte des échantillons suivant les composantes PC1 et PC2

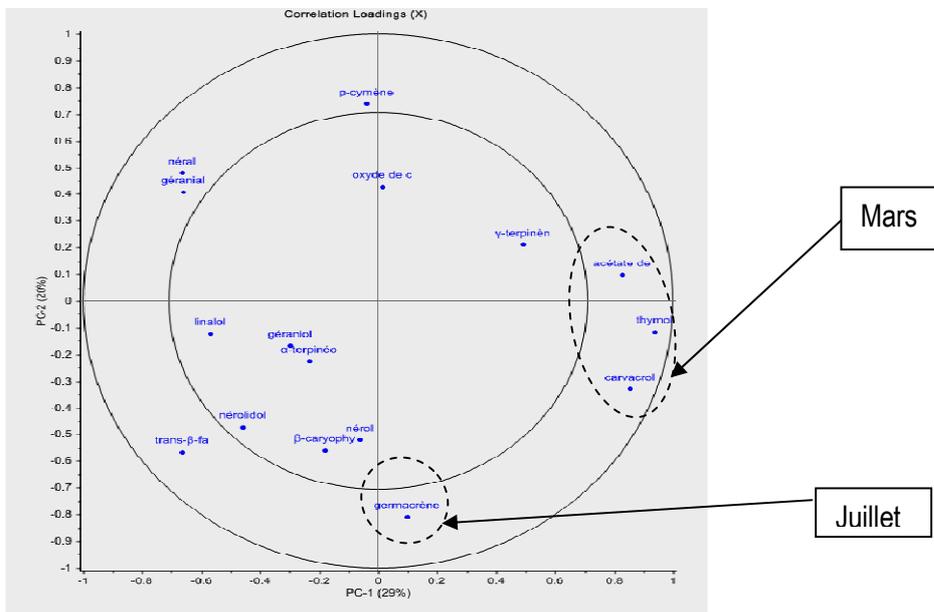


Figure 8: ACP sur les données de Bondoukou - Carte des variables suivant les composantes PC1 et PC2.

Détermination de la période de récolte optimale en fonction de chaque composé recherché: Cette analyse statistique a aussi été conduite afin d'étudier la variabilité sur cette même période en fonction de la date

de récolte pour chacun des 3 sites de culture. Le tableau suivant montre, pour chaque site, les corrélations entre les composés et la date de récolte correspondant à leurs teneurs maximales.

Tableau 2 : Teneur des composés en fonction des périodes de récoltes pour chaque site de culture

Site	Composé(s)	Date optimale de récolte
Abidjan	carvacrol thymol	avril
	trans- β -farnésène β -caryophyllène germacrène	juin
	oxyde de caryophyllène	novembre, décembre
	géraniol néral	mars
Toumodi	trans- β -farnésène β -caryophyllène	avril, mai, juin
	acétate de thymyle carvacrol	janvier, février
	nérolidol oxyde de caryophyllène	novembre, décembre
	géraniol	mars
Bondoukou	acétate de thymyle thymol carvacrol	mars
	germacrène	juillet

L'ACP conduite révèle qu'une différence qualitative de la composition des huiles essentielles de *Lippia multiflora* provenant de plantes cultivées, ayant pour origine des espèces naturelles locales, sur les trois sites, a permis de mettre en évidence deux chémotypes différents:

- Un chémotype riche en néral, géraniol et géraniol en fonction de la récolte que nous avons identifié comme étant *Lippia multiflora* Mold variété citral, géraniol
- et un chémotype dont les composés majoritaires sont le thymol, le carvacrol et l'acétate de thymyle : espèce que nous avons définie comme *Lippia multiflora* Mold variété thymol, carvacrol, acétate de thymyle.

Telle que décrit dans la littérature, ces différences de composition ne peuvent trouver une explication que sur l'effet des conditions climatiques et pédologiques affectant la synthèse des constituants des huiles essentielles (Zaouli et al., 2005). Les données montrent une nette variation des compositions chimiques des huiles essentielles du point de vue quantitatif des plantes à différents stades phénologiques. Cela pourrait s'expliquer par l'impact de l'environnement comme l'ont démontré Antonio et al., (2011). L'influence des

conditions climatiques et les conditions du sol sur la composition de l'huile essentielle a déjà été établies dans d'autres plantes médicinales par exemple *Thymus vulgaris* (Nejad et al., 2008). En effet si *Lippia multiflora* est utilisé dans la pharmacopée traditionnelle pour diverses activités (Etou-Ossibi et al., 2005; Pascual et al., 2001) ces dernières à l'éventail large peuvent trouver une explication scientifique dans les conséquences d'une composition chimique totalement différente pour une même espèce botanique en fonction du lieu de récolte. L'analyse des pourcentages des constituants des huiles essentielles a également montré que différents constituants peuvent exprimer différentes tendances dans ces changements entre les principaux constituants. C'est le cas dans la période de Mars 2012, la tendance de l'augmentation des pourcentages de néral, géraniol est très prononcé pour les échantillons d'Abidjan et Toumodi, également l'augmentation des pourcentages de thymol, carvacrol, et acétate de thymyle pour ceux de Bondoukou. Ainsi l'activité pharmacologique se révélera différente en fonction du chémotype qui sera préconisé.

CONCLUSION

L'analyse en composantes principales menée sur les compositions en monoterpènes et sesquiterpènes extraits

de plants de *Lippia Multiflora* cultivés en Côte d'Ivoire et récoltés sur 12 mois montre une variabilité suivant

l'origine géographique. Les résultats présentent un regroupement des sites d'Abidjan et de Toumodi, caractérisés par leurs compositions plus élevées en *géraniol*, *géraniol* et *néral*, opposés aux échantillons provenant de Bondoukou relativement plus riches en *acétate de thymyle*, *thymol*, *carvacrol* et *γ-terpinène*. Cette analyse statistique a aussi été conduite afin d'étudier la variabilité sur cette même période en fonction

de la date de récolte pour chacun des 3 sites de culture. L'étude de la variabilité a révélé deux types de profils chimiques dont deux chémotypes suivant l'origine géographique dont un regroupement des sites d'Abidjan et de Toumodi, opposés aux échantillons provenant de Bondoukou. La composition chimique se révélera la plus intéressante pour envisager une activité pharmacologique donnée.

RÉFÉRENCES

- Adams RP., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry. 4th Edition. Allured Publishing Corporation, (Ed.). Carol Stream, IL 60188-2787. USA.
- Antonio Jacinto Demuner, Luiz Claudio Almeida Barbosa, Cassia Gonçalves Magalhaes, Cleber Jose da Silva, Celia Regina Alvares Maltha, Antonio Lelis Pinheiro, 2011. Seasonal Variation in the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Volatile Oils of Three Species of Leptospermum (Myrtaceae) Grown in Brazil. *Molecules*, 16: 1181-1191.
- Etou-Ossibi A-W, Nzonzi J-, Mombouli J-V, Nsondé-Ntandou G-E, Ouamba J-M, Abena A A. , 2005. Screening chimique et effets de l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* Moldenke sur le cœur isolé du crapaud. *Phytotherapy* 5: 193-199.
- Jim S., Wudeneh L., Mariana S., Dan A., 2001. Agribusiness in Sustainable Natural African Plant Product: *Lippia* tea. Jim Simon, PhD Center for New Use Agriculture and Natural Plant Products available "<http://www.jesimonaesop.rutgers.edu>,
- Kanko C., Koukou G., Yao T.N., Lota M.L., Tomi F., Casanova J., 1999. Composition and intra spécifique variability of leaf oils of *Lippia multiflora* Mold from the Ivory Coast. *Journal of Essential Oil Research*, 11: 153 –158.
- Kanko C., Bamba EL-Hadj, Kone S., Koukou G., and N'guessan Y-T., 2004. «Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*» *Compte Rendu Chimie*, 7.
- Lotode R., Lachenaud Ph., 1988. Méthodologie destinée aux essais de sélection du cacaoyer. *Café cacao thé* 32 : 275-292 .
- Marchenay P., Lagarde M.F., 1986. Prospection et collecte des variétés locales de plantes cultivées. Guide pratique / GRD PAGE-PACA, 91p.
- Menut C, Lamaty G, Samate D, Nacro M, and Bessiere JM., 1993. Contribution à l'étude des *Lippia* africaines: Constituants volatils de trois espèces du Burkina Faso. *Rivista Italiana Eppos* 11: 23–29.
- Nejad Ebrahimi S, Hadian J, Mirjalili MH, Sonboli A, Yousefzadi M, 2008. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicusa* different phenological stages. *Food Chem*, 110: 927-931.
- Noamesi, B.K., 1977. Power tea (*Lippia multiflora*)-a potent hypertensive therapy. *West African Journal of Pharmacology Drug Research*, 4(1): 33-36
- Noamesi B.K., Adebayo G.I-, Bamgbose S-O., 1985. The vascular actions of aqueous extract of *Lippia multiflora*. *Planta Medicinal*, 3: 256-258
- Pascual M.E., Slowing K., Carretero E., Sanchez Mata D., Villar A., 2001. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 76: 201–214
- Pelissier Y., Kone D., Loukou Y., Marion C., Nanga Y., and Casadebaig J., 1998. « Etudes chimique, toxicologique, bactériologique et clinique de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* Mold »; *EPPOS* 735-747 pp,
- Pham Huu Chanh, Koffi Y-, Pham Huu Chanh A., 1988. Comparative hypotensive effects of compounds extracted from *Lippia multiflora* leaves. *Planta Medicinal* 54 (4): 294-296,
- Tia E.V., Adima A. A., Niamké S. L., Gnago A. J., Thibaud M., Lozano P., Menut C., 2011. Chemical composition and insecticidal activity of essential oils of two aromatic plants from Ivory Coast against *Bemisia tabaci* G. (Hemiptera: Aleyrodidae). *Natural Product Communication*. 6: 1-6.

- Valentin A., Pélissier Y., Benoît F., Marion C., Koné D., Mallie M., Bastide J-M., Bessière J- M., 1995. Composition and anti-malaria activity in vitro of volatile components of *Lippia multiflora*. *Phytothérapie*, 40: 1439-1442.
- Zaouali, Y., C. Messaoud, A. Ben Salah, M. Boussaid, 2005. Oil composition variability among populations in relationship with their ecological areas in Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Flavour fragrance*, 20 (5): 512-520.
- Zilda Cristiani Gazim, Ana Carolina L. Amorim, Ana Maria C. Hovell, Claudia Moraes Rezende, Izalina Ansilheiro Nascimento, Gilberto Alves Ferreira and Diógenes Aparício Garcia Cortez, 2010. Seasonal Variation, Chemical Composition, and Analgesic and Antimicrobial Activities of the Essential Oil from Leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd in Southern Brazil. *Molécules*, 15: 5509-5524