

## **Etude Chromatographique et Activite Anti-Oxydante de L'huile Essentielle de *Afraegle Paniculata* (Rutaceae)**

**N'dri Séraphin Konan**

*Laboratoire de Chimie Bioorganique et des Substances Naturelles (LCBOSN)  
UFR-SFA Université Abobo-Adjamé, 02 BP 801 Abidjan 02 Côte d'Ivoire*

**Bosson Antoine Kouame**

*Laboratoire de Chimie Bioorganique et des Substances Naturelles (LCBOSN)  
UFR-SFA Université Abobo-Adjamé, 02 BP 801 Abidjan 02 Côte d'Ivoire  
E-mail: abossonk@gmail.com  
Tel: +225-04-47-98-03/+225-66-28-26-53*

**Amoassi Martin Bossoh**

*Laboratoire de Chimie Bioorganique et des Substances Naturelles (LCBOSN)  
UFR-SFA Université Abobo-Adjamé, 02 BP 801 Abidjan 02 Côte d'Ivoire*

**Janat. A Mamyrbekova Bekro**

*Laboratoire de Chimie Bioorganique et des Substances Naturelles (LCBOSN)  
UFR-SFA Université Abobo-Adjamé, 02 BP 801 Abidjan 02 Côte d'Ivoire*

**Koffi Marcel Konan**

*Laboratoire de Chimie Bioorganique et des Substances Naturelles (LCBOSN)  
UFR-SFA Université Abobo-Adjamé, 02 BP 801 Abidjan 02 Côte d'Ivoire*

**Gnopo Jean Nemlin**

*Station de Recherche du Centre National de Recherches Agronomique  
Sis à Cocody Abidjan Côte D'ivoire*

**Jean-Luc Pirat**

*Laboratoire Architecture Moléculaire et Matériaux Nanostructurés Ecole  
Nationale Supérieure de Chimie De Montpellier 8  
Rue de L'ecole Normale F- 34296 MONTPELLER Cedex 5*

**Yves-Alain Bekro**

*Laboratoire de Chimie Bioorganique et des Substances Naturelles (LCBOSN)  
UFR-SFA Université Abobo-Adjamé, 02 BP 801 Abidjan 02 Côte d'Ivoire*

### **Résumé**

L'huile essentielle (HE) de *Afraegle paniculata* (espèce ivoirienne) extraite du zeste des fruits avec un rendement de  $0,039 \pm 0,002$  % est jaune-pâle. Sa composition chimique a été étudiée pour la première fois à notre connaissance par chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (CPG/SM). 40 composés ont été identifiés au nombre de 44 composés détectés. L'HE est principalement constituée de sesquiterpènes

hydrocarbonés (64,49 %), sesquiterpènes oxygénés (7,60%), monoterpènes hydrocarbonés (7,82 %), monoterpènes oxygénés (5,78%). Ses composés majoritaires sont:  $\delta$ -cadinène (11,71%),  $\alpha$ -sélinène (9,01%),  $\alpha$ -cubébène (8,80%), o-menth-8-ène (6,06%) et  $\beta$ -caryophyllène (5,66%). Son activité antioxydante a été quantifiée par spectrophotométrie. La valeur de sa concentration inhibitrice à 50% (CI<sub>50</sub>) a été déterminée graphiquement. Elle est de 2,2 mg/mL comparativement à celle de la vitamine C qui est de 1,7 mg/mL.

**Mots-clés:** *Afraegle paniculata*, huile essentielle, composition chimique, GC/MS, activité antioxydante, spectrophotométrie.

### Abstract

*Afraegle paniculata* essential oil (EO) (Ivorian species) extracted of the zest of the fruits with an output of 0,039±0,002% is yellow pale. Its chemical composition has been investigated for the first time to our knowledge by GC/MS. 40 compounds have been identified between 44 compounds detected. EO is constituted mainly of sesquiterpene hydrocarbons (64.49%), oxygenated sesquiterpenes (7.60%), monoterpene hydrocarbons (7.82%), oxygenated monoterpenes (5.78%). Its majority compounds are:  $\delta$ -cadinène (11.71%),  $\alpha$ -selinene (9.01%),  $\alpha$ -cubebene (8.80%), o-menth-8-ene (6.06%) and  $\beta$ -caryophyllene (5.66%). Its antioxidant activity has been quantified by spectrophotometry. Its 50% inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) has been determined graphically. It is of 2.2 mg/mL compared to the one of the vitamin C that is of 1.7 mg/mL.

**Keywords:** *Afraegle paniculata*, essential oil, chemical composition, GC/MS, antioxidant activity, spectrophotometry.

## 1. Introduction

Les plantes ont été employées pendant des siècles comme remède pour les maladies humaines car elles contiennent des composants de valeur thérapeutique [1]. L'intérêt progressif de l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés tout comme dans les pays en développement, a exhorté les chercheurs à les étudier davantage et ce, dans le but de rechercher de nouvelles drogues.

*Afraegle paniculata* est un arbuste atteignant 12 m de haut [2]. Ses organes trouvent usage en médecine traditionnelle africaine dans le traitement du paludisme, seuls ou en association avec d'autres plantes [3]. Les feuilles sont employées occasionnellement dans les soupes. Le mucilage des fruits sert à diverses préparations culinaires. Aussi sert-il d'une part, de colle pour réparer les poteries fissurées et d'autre part, de glu pour capturer les oiseaux [4]. La composition chimique de l'HE de *Afraegle paniculata*, l'espèce ivoirienne n'a jamais été étudiée. Cependant, des rares études sur cette espèce ont été faites autour des années 1960. L'analyse diététique des graines sèches a montré une teneur en lipides (46%) et un insaponifiable (0,6%). Les feuilles de la même espèce contiennent de la cellulose (51%), des glucides (47,3%) et des protides [5]. Elles contiennent outre des éléments minéraux au nombre desquels prédomine le Ca (2%), des oligo-éléments tels que Cu, Sr, Fe et Al. L'hydrolyse du mucilage des fruits de l'espèce ghanéenne donne le D-galactose, l'arabinose, L-rhamnose et l'acide D-glucuronique. En 1961, Quartey a signalé la présence de  $\gamma$ -sistérol et une coumarine [6] dans le fruit de ladite espèce puis, a isolé en 1963, la xanthotoxine de l'épicarpe du fruit. Plusieurs coumarines ont été identifiées et isolées des organes de *A. paniculata* [6-11]. Parmi elles, certaines ont fait l'objet d'études biologiques. Xanthotoxine, xanthoxol et marmesine ont montré des activités anti-inflammatoires [7,10] alors que scoparone a présenté des propriétés anticonvulsives [11]. D'autres encore comme impérorine, héraclénine et marmesine ont manifesté une toxicité avérée [8,12]. En plus des

coumarines, des alcaloïdes (dictamnine, haplopine et atamine) ont été isolés [9]. Trois acides aliphatiques et un triacide triglycéride ont été extraits du péricarpe des fruits [10].

Dans le présent travail, nous contribuons à la valorisation de *A. paniculata*, une Rutaceae peu étudiée du patrimoine forestier ivoirien. A cet effet, nous avons élucidé sa composition chimique puis quantifié *in vitro* l'activité antioxydante de son HE extraite du zeste de ses fruits.

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Matériel Végétal

Le matériel végétal est constitué de zeste des fruits de *Afraegle paniculata* préalablement identifiée par un botaniste, l'éminent professeur AKE-Assi Laurent. Les fruits ont été récoltés en juillet 2009 dans le jardin botanique du Centre National de Floristique (CNF) sis à l'université d'Abidjan-Cocody (Côte d'Ivoire).

### 2.2. Méthodes

#### 2.2.1. Extraction de HE

Après avoir râpé les fruits de *Afraegle paniculata* avec un couteau aux fins de récupérer le zeste, l'extraction par hydrodistillation a été réalisée avec un appareil de type Clevenger pour obtenir une huile essentielle qui a été séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre, puis conservée dans un réfrigérateur à 4°C.

#### 2.2.2. Analyse Par CPG/SM

L'analyse des substances volatiles par CPG/SM, a été réalisée au Laboratoire d'Architectures Moléculaires des Matériaux Nanostructurés (AM2N) de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier (ENSCM). Elle a été effectuée à l'aide d'un chromatographe (Hewlett Packard type 5941) équipé d'une colonne capillaire en silice de 25 m × 0,20 mm de diamètre interne garnie de polydiméthylsiloxane (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OSi)<sub>n</sub>. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 0,6 mL/min. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont respectivement de 220 et 240°C. La programmation de la température est de 50°C pendant 3 min puis augmentée jusqu'à 250°C à raison de 3°C/min. La quantité d'HE injectée est de 0,2 µL d'une solution diluée à 10% dans du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Les spectres de masse sont enregistrés par un détecteur de type quadripôle et l'ionisation est réalisée par impact électronique sous un potentiel de 70 eV. Les composés volatils sont identifiés grâce à leur spectre de masse et à leur indice de rétention IR relatif calculé à partir des temps de rétention des composés séparés et d'alcane linéaires.

#### 2.2.3. Activité Antioxydante de HE

Nous avons déterminé l'activité antioxydante (AO) de l'HE en utilisant la méthode de quantification par spectrophotométrie. La substance utilisée comme source de radicaux libres est le radical 1,1'-diphényl-2'-picrylhydrazyle (DPPH<sup>•</sup>) [1]. Les concentrations des solutions de l'HE analysées sont 2,5 mg/mL; 1,25 mg/mL; 0,625 mg/mL; 0,3125 mg/mL et 0,15625 mg/mL. La mesure de l'absorbance a été effectuée à 517 nm et traduite en pourcentage d'inhibition par la formule suivante:

$$\%I = (1 - \text{Abs}_{\text{test}} / \text{Abs}_{\text{contrôle}}) \times 100$$

Avec %I: pourcentage d'inhibition

Abs<sub>test</sub>: absorbance de la solution éthanolique des extraits de HE et de DPPH<sup>•</sup>.

Abs<sub>contrôle</sub>: absorbance de la solution éthanolique de DPPH.

La vitamine C (Vit C) utilisée comme antioxydant de référence, est pure et de qualité analytique (98%) (Polychimie).

La quantification de l'AO de l'HE et de la Vit C a été faite graphiquement par la détermination des CI<sub>50</sub> respectives [14].

### 3. Résultats et Discussion

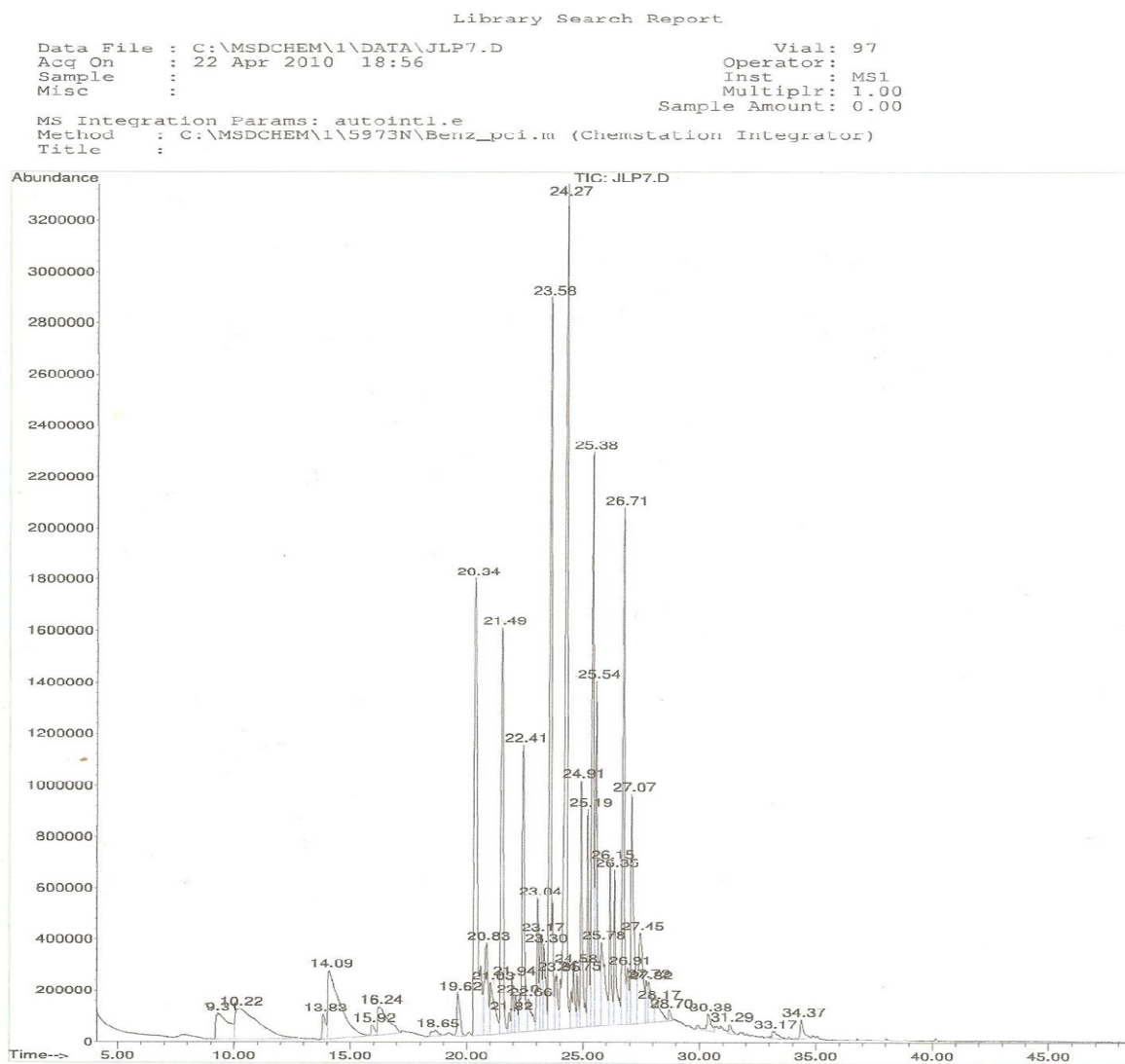
#### 3.1. Analyse Par CPG/SM

Le rendement de l'HE obtenue par hydrodistillation du zeste des fruits de *Afraegle paniculata* est de  $0,039 \pm 0,002$  %. L'HE est jaune-pâle. Sa densité est de 0,82.

Plus de 44 composés sont présents dans l'HE. L'analyse des spectres chromatographique (Figure 1) et de masse de HE ont permis d'identifier et de caractériser 40 composés.

La composition chimique de HE est consignée dans le Tableau 1. Elle est globalement composée de sesquiterpènes hydrocarbunés (64,49%) et d'autres composés (11,32%) non identifiés. Les sesquiterpènes oxygénés (7,60%), les monoterpènes hydrocarbonés (7,82 %) et oxygénés (5,78 %) sont apparus en faibles proportions. Les composés majoritaires sont  $\delta$ -cadinène (11,76%),  $\alpha$ -sélinène (9,01%),  $\alpha$ -cubébène (8,80%), o-menth-8-ène (6,06%) et  $\beta$ -caryophyllène (5,66%).

**Figure 1:** Spectre chromatographique de HE



**Tableau 1:** Composition chimique de l'HE de *Afraegle paniculata*

N° pic	TR	Nom du composé	Nature	m/z	%
1	9,3	Linalool	Monoterpène oxygéné	154	1,74
2	10,22	Geraniol formiate	Monoterpène oxygéné	150	3,87
3	13,83	Acide 7-ethylester octénoïque	Acide aromatique	170	0,46
4	14,09	Ethylcaprilate	Ester	172	4,64
5	16,24	Isopentylhexanoate	Ester	186	1,61
6	18,65	3-Méthylpent-2-èn-1,5-diol	Diol	116	0,18
7	20,35	$\alpha$ -Cubébène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	8,80
8	2083	$\beta$ -elemène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	1,96
9	21,03	Décanoate d'éthyle	Ester	200	1,35
10	21,49	$\beta$ -caryophyllène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	5,66
11	21,95	Dihydro- $\beta$ -ionone	Cétone	194	0,65
12	22,10	$\alpha$ -Guaïene	Sesquiterpène hydrocarboné	204	0,49
13	22,41	$\alpha$ -humulène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	3,98
14	22,66	$\alpha$ -muurolène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	0,80
15	23,04	$\gamma$ -selinène	Sesquiterpène hydrocarboné	220	1,41
16	23,17	Germacrène-D	Sesquiterpène hydrocarboné	204	1,21
17	23,30	$\beta$ -selinène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	1,37
18	23,57	$\alpha$ -selinène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	9,01
19	23,85	$\delta$ -guaïene	Sesquiterpène hydrocarboné	204	0,87
20	24,27	$\delta$ -cadinène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	11,76
21	24,58	$\alpha$ -longipinène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	1,00
22	24,75	Calacorène	Sesquiterpène hydrocarboné	200	0,57
23	24,91	Elemol	Sesquiterpène oxygéné	220	2,55
24	25,19	Benzocyclohepten-2-one	Cétone aromatique	178	1,85
25	25,37	$\alpha$ -Menth-8-ène	Monoterpène hydrocarboné	138	6,06
26	25,54	Caryophyllène oxyde	Sesquiterpène oxygéné	220	4,05
27	25,77	$\gamma$ -elemène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	2,11
28	26,15	Trans-3,4-Diméthylcyclohex-1-ène	Monoterpène hydrocarboné	138	1,76
29	26,71	$\alpha$ -ylangène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	5,26
30	26,91	$\beta$ -Maaliène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	0,77
31	27,07	Copaène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	3,54
32	27,45	Germacrène B	Sesquiterpène hydrocarboné	204	2,54
33	27,72	Eremophiliène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	0,47
34	27,82	Guaïa-3,9-diène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	0,80
35	28,17	Aromadendrène oxyde	Sesquiterpène oxygéné	220	0,65
36	28,71	$\alpha$ -Patchoulène	Sesquiterpène hydrocarboné	204	0,11
37	30,38	(Z, E)-Farnesal	Sesquiterpène oxygéné	220	0,35
38	31,28	Néomenthol	Sesquiterpène oxygéné	182	0,17
39	33,16	4-Ethylcyclooct-1-ène	Hydrocarbure cyclique	136	0,24
40	34,38	Acide (E)-Hexadéc-11-énoïque	Acide aromatique	282	0,34

Les groupes chimiques des composés sont consignés dans le Tableau 2.

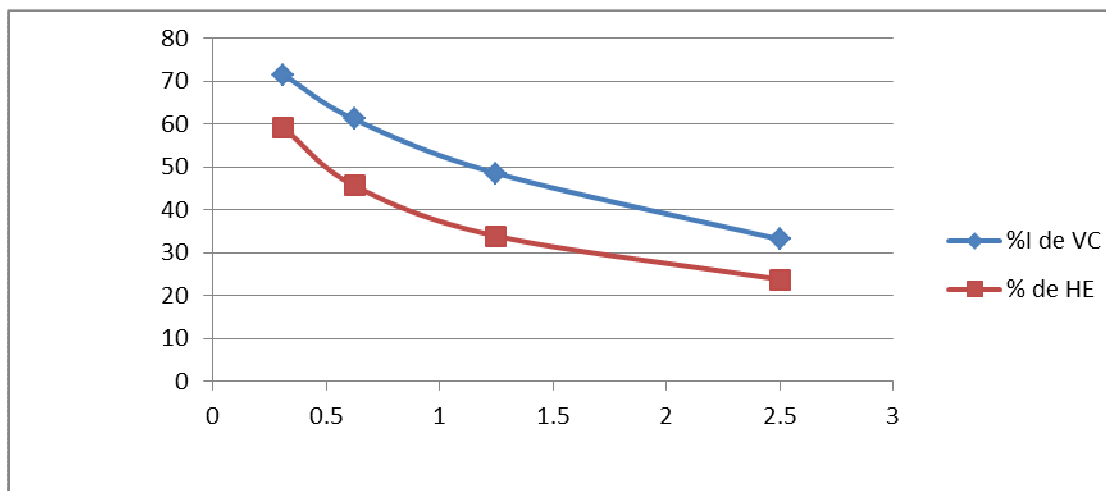
**Tableau 2:** Groupes chimiques des composés

Groupes de composés	Pourcentage %
Monoterpènes hydrocarbonés	7,82
Monoterpènes oxygénés	5,78
Sesquiterpènes hydrocarbonés	64,49
Sesquiterpènes oxygénés	7,60
Autres	11,32
<b>Total</b>	<b>97,01</b>

### 3.2. Activité Antioxydante

L'étude comparative sur la faculté de réduction du radical DPPH<sup>•</sup> par des chémotypes différents a prouvé que des chémotypes phénoliques et des terpènes montrent *in vitro* des capacités anti-oxydantes plus fortes que les composés non phénoliques [15]. Partant de ce fait, nous avons réalisé l'étude de l'AO de HE dont les résultats sont indiqués dans la Figure 2.

**Figure 2:** Pouvoir antioxydant de HE et de la Vit C Concentration des extraits en mg/mL



Les valeurs de l'AO de HE et de la Vit C *in vitro*, a été étudiée par quantification de leur  $CI_{50}$ , respectivement déterminée graphiquement [16]. La  $CI_{50}$  de HE est de 2,2 mg/mL et celle de la Vit C est de 1,7 mg/mL [17]. Au regard de ces résultats, nous estimons que l'HE de *A. paniculata* pourrait être utilisée comme un antioxydant après une étude d'atotoxicité avérée. Toutefois, il nous paraît important de préciser qu'il est difficile d'attribuer cette activité à un seul composé puisque un effet de synergie entre ses différents constituants peut avoir lieu.

### 4. Conclusion

0,039±0,002 % de rendement en HE extraite du zeste des fruits de *Afraegle paniculata* obtenue par hydrodistillation est faible. La composition chimique de HE a été réalisée pour la première fois et a permis de mettre en évidence 43 constituants. Les composés majoritaires sont le géraniol formiate (8,23%), le linalool (4,6%), et l'acide éthylestéroctanoïque (4,53%). HE a manifesté une propriété antioxydante en comparaison à celle de la vitamine C. Leurs  $CI_{50}$  sont 2,2 mg/mL pour HE et 1,7 mg/mL pour la Vit C. Cette étude est à prendre en compte pour expliquer l'emploi de cette espèce en médecine traditionnelle.

### Remerciements

Les auteurs remercient les professeurs AKE-Assi Laurent du CNF (Abidjan-Cocody) et VIRIEUX David de l'ENSC (Montpellier) pour leur contribution.

### Références

- [1] Mohammadi Z. *Etude du pouvoir antimicrobien et anti oxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen*. Thèse de l'obtention du diplôme de

Magistère en biologie. Université Abou Bakr Belkaïd (République Algérienne démocratique et populaire) 2006 p.56

- [2] Aubreville A.; *Flore Forestière Soudano-Guinéenne, ouvrage publié sous les auspices de l'Office de la Recherche Scientifique outre-mer*, Paris, société d'éditions Géographies, Maritimes et Coloniales 17, rue Jacob (VI) 1950 P.365.
- [3] Michel Baumer *Arbres, arbustes et arbrisseaux nourriciers en Afrique occidentale*, Dakar, Enda-Editions, 1995, série d'Etudes et Recherches, n° 168-169-170 p 25.
- [4] Busson F. *Plantes alimentaires de l'ouest africain*. 1 vol., Imprimerie Leconte, Marseille, 1965, p. 58
- [5] Quartey, J.A.K. *Chemical xamination of the fruit of Afraegle paniculataI; Indian journal of applied Chemistry*, 1961 vol 24, pp. 55-6
- [6] Adjangba M.S.; Asomaning W. A.; Barranco A; Bone R.T.; Phillips W.R.; *Pharmacological activity of coumarins isolated from Afraegle paniculata part II, West African journal of pharmacology and drug research*, 1975 vol 2(2); pp. 83-6.
- [7] Boorer; Madeline; Rose, H. Monica; Fenell; A.J.; Blukoo-Allotey, J.A Adjangba, M.S. *Pharmacological activity of coumarins isolated from Afraegle paniculata; Journal of Science*; 1970, vol 10(2); pp. 82-4.
- [8] Reish; Johannes; Mueller M; Mester L. *Studies in natural product chemistry, part 83 constituents from the root bark, and heart wood of Afraegle paniculata*; 1981; vol 43(3), pp.285-9.
- [9] [10 Adjangba M. S.; Asomaning W. A.; Barranco A; Bone R.T.; Phillips W.R.; *Pharmacological activity of coumarins isolated from Afraegle paniculata partI, West African journal of pharmacology and drug research*, 1974; vol 14(2); pp.137-41.
- [10] Acesina, S. K.:Ette, E. L. *The isolation and identification of anticonvulsant agent from Clausena anisata and Afraegle paniculata*. *Fitoterapia*; 1982 vol 53(3), pp. 63-6.
- [11] Uwaifo, Anthony O; Heidelberger; Charles. *Phobiological activity of marmesin in chinese hamster V79 cells. Photochemistry and photobiology*, 1983; vol 38(4) pp. 395-8
- [12] Takao T., Kitatani F., Watanabe N.,Y. agi A. *A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shell fish*, 1994, Brusci. *Brotech-brochem* 58, pp. 1780-1783.
- [13] Leitao GG, Leitao S.G. etVilegac W. *Quick preparative separation of natural naphthopyranones with antioxidant activity by hight speed counter-current chromatography. Z. naturforsch*,2002, 57c pp. 1051-1055.
- [14] Jukié M. et Milos M. *Catalytic oxidation and antioxidant properties of the thym essential oils (Thymus vulgareae L.) Croatica* , 2005, 78(1), p. 105-110.
- [15] Molyneux P. *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for the antioxidant activity*. Song Klanakarín J. *Sci Technology*, 2004, vol 26(2) pp. 211-219.
- [16] Ndri Konan; Bosson Antoine Kouamé; Mamyrbékova-Békro J.A.; Jean Nemlin; Békro Y. A.; *Chemical composition and antioxidant activities of Essential Oils of Xylophia aethiopica (Dunal) A. Rich; European Journals of scientific Research*, 2009; vol 37(2); pp. 311-318.