*J. SOACHIM* (1997) 003, 29-35

# IDENTIFICATION PAR RMN DU CARBONE-13 ET PAR CPG/SM DES PRINCIPAUX CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES DES FEUILLES DE *XYLOPIA AETHIOPICA* (DUNAL). RICHARD ET DE *COMMIPHORA AFRICANA* (A. RICH.) ENGL. DU BÉNIN

Marc Abel AYEDOUN*(1), Mansour MOUDACHIROU(1), Félix TOMI(2) et Joseph CASANOVA(2)

*(1) Université Nationale du Bénin, Laboratoire de Chimie Organique, B.P. 526 Cotonou, Bénin.*

*(2) Université de Corse, Laboratoire d'Hélioénergie, URA, Route des Sanguinaires, 20000 Ajaccio, France*

(Reçu le 12 novembre 1996 - Révisé le 06 mars 1997)

**Summary** : The essential oils obtained from the leaves of *Commiphora africana and Xylopia aethiopica* from Benin were analyzed by GC, GC/SM and $^{13}$C NMR. Leaf essential oil of *C. africana* contains a fairly high amount of sesquiterpenes, among wich α-oxobisabolene is the most important (61,6%). X. aethiopica was characterized by a high content of β-pinene (34,9%), elemol (14,9%) and α-pinene (11,6%). The leaf essential oil of X. aethiopica contains mainly sesquiterpenoid compounds wich amounts to about 36,6%.

**Key-words** : *Xylopia aethiopica , Commiphora africana* , annonaceae, essential oils, oxobisabolene, elemol , sesquiterpenes.

## INTRODUCTION

*Xylopia aethiopica* est une espèce très connue de la famille des Annonacées dont l'huile essentielle des fruits a fait l'objet de plusieurs travaux [1-4], mais l'essence des feuilles n'a jamais été étudiée.

*Commiphora africana* de la famille des Burseracées a une résine parfumée dont l'essence est peu étudiée [5], par contre celle des feuilles n'a jamais été analysée.

L'étude des huiles essentielles des feuilles de ces deux plantes est donc un travail original.

## BOTANIQUE ET EMPLOI

*Xylopia aethiopica* est un arbre de 12 à 15 m de hauteur, au fût généralement droit, élancé avec une écorce lisse ou finement striée, très répandu en Afrique dans les forêts denses humides. Les feuilles elliptiques, régulièrement acuminées au sommet, sont obtues ou arrondies à la base, atteignant plus de 15 cm chez les rejets ; le limbe est épais, gras au toucher, glauque à la face supérieure ; la nervure médiane est très large, vert clair, les nervures secondaires peu marquées [6]. *X. aethiopica* est une espèce très connue dont les fruits utilisés comme condiments aromatiques sous le nom de poivre d'Ethiopie et comme antitussif sont en vente sur tous les marchés du Bénin. Les racines très odorantes sont employées en décocté per os comme vermifuge, en rinçages lavages bucaux comme antiodontalgique [7,8].

*Commiphora africana* est un arbuste de 2 à 6 m de haut, à fût court, droit cylindrique bas-branchu et à cime arrondie, écorce bien foncée, mince, desquamant par lamelles avec des branches terminées par des pointes épineuses. Les feuilles sont pétiolées et trifoliolées; la foliole terminale plus grande que les latérales, atteignant 4 sur 2,5 cm ; le limbe des folioles profondément onduléovale courtement pubescent à la face inférieure, longuement cunée à la base. Au point de vue médical, les écorces et les racines de *C. africana* prescrites pour les coliques, constituent un antientéralgique de choix conseillé aux femmes enceintes. *C. africana* est aussi une plante utilisée pour les préparations anticoliques, antilépreuses et antisyphilitiques.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel et Technique Extractive

Les feuilles fraîches de *X. aethiopica* récoltées à Adjara (Porto-Novo) en juillet 1994 et celles de *C. africana* récoltées à Abomey-Calavi en avril 1995 ont été distillées (par fractions d e 250 g) pendant 4 heures dans un appareil de type Clevenger. Les huiles essentielles ainsi obtenues par hydrodistillation sont séchées sur sulfate de sodium anhydre avant analyse.

**Principe de l'analyse**

L'identification des composés des essences a été faite en associant trois techniques : CPG-IK (CPG avec Indice de Kovats), CPG/SM et RMN du C-13. D'une manière conventionnelle, l'analyse d'une huile essentielle est réalisée par couplage d'une technique chromatographique (généralement la CPG), qui permet l'individualisation des constituants, avec une technique spectroscopique (la Spectrométrie de Masse par exemple), qui conduit à leur identification par comparaison des données spectrales obtenues avec celles des composés contenus dans une banque de donnnées.

Nous avons associé la RMN aux méthodes conventionnelles pour l'analyse de l'essence de *C. africana* comme méthode de confirmation du composé majoritaire et pour celle de *X. aethiopica* comme moyen d'identification propre. Cette méthode consiste à identifier un composé donné en repérant dans le spectre de l'huile essentielle, sans séparation préalable, les raies de résonnance de chacun de ses carbones par comparaison avec celles de produits de référence contenus dans une bibliothèque de spectres. Ce travail a été réalisé selon une méthodologie mise au point au laboratoire du Pr J. Casanova [9] avec un logiciel d'aide à l'identification permettant de prendre en compte trois paramètres :

(i) le nombre de pics observés dans le spectre par rapport au nombre de pics attendus, (ii) le nombre de superpositions des pics, (iii) la variation du déplacement chimique de chacun des carbones de chaque composé quand on passe du produit de référence au mélange. En prenant ces trois paramètres en compte il est aussi possible de déterminer sans ambiguïté si un composé est présent dans l'huile essentielle.

**Protocole Expérimental**

RMN du carbone-13 : les spectres ont été enrégistrés sur un appareil Bruker AC200 (4,7 Tesla, 50, 323 MHz) fonctionnant par transformée du Fourier et équipé d'un calculateur <<Aspect 3000>> et d'une sonde proton-carbone (tubes de 5 mm). Conditions d'enrégistrement : solution de 70 mg d'huile essentielle dans CDCl3 ; découplage des hydrogènes ; largeur des spectres (SW) : 12500Hz ; nombre d'acquisitions : 5000 ; temps d'attente entre les impulsions (RD) : 2 s ; durée du pulse (PW) : 3ms ; durée d'acquisition (AQ) : 1,31 s ; taille mémoire : 32 k ; résolution digi-

tale : 0,763Hz/point.

CPG-IK et CPG/SM : l'identification des constituants a été réalisée aussi par CG/SM après examen des données spectrales et des indices de rétention des constituants élués. Le couplage a été effectué sur un appareil Hewlett Packard modèle 5970 (système de détection quadripolaire) équipé d'une colonne capillaire en silice fondue 25 m x 0,23 mm de type DB1 ; programmation de température de 50°C à 200°C avec un gradient de 5°C/min. Les indices de rétention ont été déterminés par Chromatographie en Phase Gazeuse sur deux colonnes capillaires en silice fondue (25 m x 0,25 mm) de type OV-101 et Carbowax 20M avec une programmation de température identique à celle utilisée par le couplage (appareil Shimatzu GC-14I équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et d'un intégrateur modèle C-R4A).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les rendements de distillation des huiles essentielles des feuilles de *X. aethiopica* et de *C. africana* sont respectivement de 0,08 et 0,22% (exprimés en masse pour masse de matériel végétal).

Les résultats d'analyse de l'huile essentielle de *X. aethiopica* sont donnés dans le tableau 1. La RMN du C-13 a permis d'identifier 14 composés représentant 81,8% de la composition globale dont des composés présents à une teneur de 0,5% (le limonène et l'α-terpinéol). La CPG a permis la quantification de la teneur de chaque composé. Il ressort du tableau 1 que l'huile essentielle des feuilles de *X. aethiopica* renferme 60,6% de monoterpènes avec deux composés dominants β-pinène (34,9%) et α-pinène (11,6%), et 36,6% de sesquiterpènes dont 14,9% d'élémol.

Les données bibliographiques [1-4] ont toujours montré le caractère essentiellement monoterpénique (90% environ) de l'huile essentielle des fruits de *X. aethiopica*, l'H.E. des feuilles que nous avons étudiée, présente par contre un taux relativement élevé de sesquiterpènes (36,6%) contre 5 à 10% généralement pour les fruits. Le taux important d'élémol (14,9%) dans l'essence des feuilles est original.

Le tableau 2 présente les résultats d'analyse de l'H.E. des feuilles de *C. africana*. L'a-oxobisabolène (61,6%) et le γ-bisabolène (10,0%) sont les composés les plus importants. La variation des déplacements chimiques

des carbones de l'α-oxobisabolène quand on passe des données bibliographiques [10] aux valeurs expérimentales du produit dans le mélange (H.E.), est dans la grande majorité (12 carbones sur les 15), inférieure à 0,05ppm.

L'huile essentielle de la résine de *C. africana* est surtout riche en monoterpènes [5], celle des feuilles est sesquiterpénique (94,3%) avec pour composé principal l'α-oxobisabolène (61,6%).

Tableau 1 : Composition chimique de l'huile essentielle de *X.aethiopica*

| Composés | RMN | OV 101 | |
|---|---|---|---|
| | | Feuilles | Fruits*(8) |
| α-thujène | | tr | 1,0 |
| α-pinène | 10/10 | 11,6 | 4,4 |
| camphène | | 0,1 | tr |
| sabinène | 10/10 | 3,6 | 32,8 |
| β-pinène | 10/10 | 34,9 | 16,1 |
| p-mentha 3,8-diène | | 3,3 | 3,0 |
| α-terpinène | | tr | 2,0 |
| α-phellandrène | | 0,2 | 0,5 |
| p-cymène | | 0,1 | 0,2 |
| 1,8-cinéole | 7/7 | 1,0 | 14,5 |
| β-phellandrène | | 0,4 | 0,2 |
| limonène | 8/10 | 0,5 | 1,8 |
| cis-β-ocimène | 9/10 | 2,3 | tr |
| trans-β-ocimène | | 0,3 | |
| γ-terpinène | | 0,1 | 2,8 |
| linalol | 10/10 | 0,8 | 2,2 |
| trans-pinocarvéol | | 0,2 | - |
| terpinèn-4-ol | | 0,5 | 7,1 |
| α-terpinéol | 9/10 | 0,5 | 2,7 |
| δ-élémène | | 0,2 | 0,6 |
| α-copaène | | 0,3 | 0,2 |
| β-élémène | 14/15 | 3,5 | 1,3 |
| β-caryophyllène | | 1,4 | 0,3 |
| α-humulène | | 0,5 | 0,2 |
| germacrène D | 15/15 | 3,8 | 2,1 |
| δ-cadinène | | 0,2 | tr |
| élémol | 13/15 | 14,9 | 1,1 |
| guaiol | 10/10 | 1,8 | tr |
| n.i. (M=222) | | 1,9 | - |
| α-eudesmol | 14/15 | 1,3 | tr |
| β-eudesmol | 14/15 | 1,3 | tr |
| n.i.(M=222) | | 4,8 | - |
| monoterpènes | | 60,6 | 93,8 |
| sesquiterpènes | | 36,6 | 5,9 |

RMN : Nombre de carbones identifiés dans le spectre du C-13 par rapport au nombre de pics attendus

OV 101 (CPG) : Pourcentage de chaque composé obtenu par CPG sur colonne apolaire

* Travaux antérieurs (8) sur les fruits frais de *X. aethiopica*

Tableau 2 : Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *C. africana*

| Composés | % |
|---|---|
| α-thujène | 0,1 |
| α-pinène | 0,3 |
| p-cymène | 0,1 |
| 1,8-cinéole | 0,1 |
| cypérène | 0,4 |
| β-caryophyllène | 0,4 |
| cis-β-farnésène | 4,7 |
| aromadendrène | 1,5 |
| α-humulène | 0,2 |
| ar-curcumène | 3,5 |
| germacrène D | 0,5 |
| β-sélinène | 0,4 |
| β-bisabolène | 3,1 |
| γ-bisabolène | **10,0** |
| spathuléol | 0,2 |
| n.i. (M=222) | 1,2 |
| α-bisabolène | 4,0 |
| **α-oxobisabolène** | **61,6**[1] |
| Rendement en H.E. (%) | 0,2 |

Identification confirmée par RMN du carbone-13.

## RÉFÉRENCES

[1]-E. Gildemeister et F ; Hoffman, Die Atherishen.Die Atherishen Dele, Vol IV, Akademie-Verlag, Berlin, p.665 (1956)
[2]-A. U. Phytochemistry, 10, 2823-24 (1971)
[3]-G. Lamaty, C. Menut, J. M. Bessière, P. H. Amvam Zollo et Fekam, Aromatic plants of Tropical Central Africa I. Volatile components of two Annonaceae from Cameroon : *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Richard and *Monodora myristica* (Gaetn.) Dunal, Flavour fragr. J., 2, 91-94 (1987)
[4]-M. A. Ayédoun, Thèse de doctorat, p. 219, Université Nationale du bénin (1995)
[5]-G. J. Provan, A. I. Gray et P. J. Waterman, Monoterpenich resins from some Kenyan Burseracea, Flavour fragr. J., 2, 115 -118 (1987)
[6]-A. Le Thomas, Flore du Gabon, Museum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Phanérogamie, p. 151-152, 342-343 (1969)
[7]-J. Kerharo and J. G. Adam, La Pharmacopée sénégalaise traditionnelle, Plantes médicinales et toxiques, Edit. Vigot Frères, Paris, France (1974)
[8]-F. R. Irvine, Woody plants of Ghana, Oxford University Press, Oxford, England (1961)
[9]-M. Cortiechiato et J. Casanova, Analyse des mélanges complexes par RMN du carbone-13. Application aux huiles essentielles, Analysis, 20(1), M51-57 (1992)
[10]-Alter-Ur-Rahman at Vigar Addin Ahmad, 13C NMR of Natural Products, Vol 1 Plenum Press p. 509 (1952)