

ETUDE DES PLANTES AROMATIQUES DU BURKINAFASO. CARACTERISATIONS CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE *LIPPIA MULTIFLORA* MOLDENKE

Roger H. Ch. NÉBIÉ I*, Abdoulaye SÉRÉMÉ *, André BÉLANGER **;
Rigobert YAMÉOGO * : Faustin Sib SIE ***

*Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique. Département
Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

**Centre de Recherche et de Développement en Horticulture, 430 Boulevard Gouin,
Saint-Jean-sur-Richelieu, Québec, Canada, J3B3E6

*** Laboratoire de Chimie Organique Structure et Réactivité : UFR/SEA ;
Université de Ouagadougou 03 BP 7021 Burkina Faso

(Reçu le 09/07/2001 – Révisé le 07/02/2002)

Summary : Essential oils were extracted from *Lippia multiflora* fructiferous top by hydrodistillation and analysed by gas chromatography. Analysis show that essential oils main components are thymol (29.87%), para-cymene (26.18%) and thymyl acetate (11.76%). Biological tests were done on *Callosobruchus maculatus* F. These tests show that essential oils have interested insectifugal and insecticidal properties. At 50µl/l level of essential oil, almost tested bruches dead (96%) within 120 min.

Key-words : *Lippia multiflora*, Verbenaceae, essential oils, chemical composition, insecticidal effect on *Callosobruchus maculatus*.

I - INTRODUCTION

Au Burkina Faso la conservation post récolte d'une façon générale pose de sérieux problèmes aux producteurs. Les récoltes sont attaquées par des prédateurs divers. Les stocks destinés à l'alimentation humaine et animale ne peuvent être traités avec n'importe quel insecticide chimique compte tenu de leur nocivité. Il s'avère alors nécessaire

d'investiguer pour la mise au point des insecticides naturels moins nocifs et moins onéreux. La conservation du niébé (*Vigna unguiculata*) dont le Burkina Faso est un grand producteur pose des problèmes, car il est très attaqué par la bruche (*Callosobruchus maculatus* F.). En effet, des stocks importants de niébé sont chaque année détruits par la bruche du niébé.

En Afrique tropicale, et au Burkina Faso en particulier, il existe des espèces végétales aromatiques dont les populations se servent traditionnellement pour la protection des récoltes et pour d'autres besoins médicaux, c'est le cas du *Lippia multiflora* Mold. De la famille des Verbenaceae.

Lippia multiflora est une herbe aromatique, ligneuse, dressée, anguleuse, pubescente et ramifiée aux inflorescences. Les feuilles sont verticillées oblongues à bord finement denté à pubescente blanchâtre sur la face inférieure. Elle a des épis terminaux ombelliformes globuleux ou cylindriques, *Lippia multiflora* est largement distribué en Afrique subtropicale et dans les savanes^[1].

L'espèce est beaucoup utilisée en médecine traditionnelle africaine, les feuilles fraîches sont utilisées à cet effet pour soigner la malaria, la toux, la fièvre, l'indigestion, les affections du foie, l'anémie, la faiblesse cardiaque, le rhume ; les racines sont utilisées dans le traitement des rhumatismes et l'alopecie ^[1,2-7]. *Lippia multiflora* est aussi consommé comme thé en infusion dans l'eau chaude d'où son nom de «thé de gambie»^[3,7,8]. L'huile essentielle de la plante est également utilisée comme condiment et arôme pour les aliments et les boissons^[9]. KOU MAGLO et al^[3] ont montré des effets insecticides très intéressants des huiles essentielles de l'espèce rencontrée au Togo, Bénin et au Ghana sur *Callosobruchus maculatus*.

Des études chimiques récentes ont mis en évidence plusieurs chémotypes de l'espèce qui peuvent être classés en trois groupes^[10].

- Le premier groupe est caractérisé par une richesse des huiles essentielles en composés monoterpéniques acycliques. Dans ce groupe on peut citer le chémotype à linalol décrit au Nigéria^[5], au Kenya^[11], au Bénin^[12], au Togo^[3] et en Côte d'Ivoire^[10]. Au Congo^[8] et en Côte d'Ivoire^[13] le chémotype à (E)-tagetone/(Z)-tagetone/ipsenone fut décrit, en République Centrafricaine c'est le chémotype à 6,7-époxymyrcène qui a été mis en évidence^[4].

- le second groupe est caractérisé par l'abondance des monoterpènes aromatiques dans les huiles essentielles de l'espèce, on peut signaler à cet effet le chémotype à p-cymène/thymol/acétate de thymyle décrit au Congo^[14], au Bénin^[12] et au Togo^[3].

- Le troisième groupe rassemble les chémotypes dont les huiles sont riches en monoterpènes cycliques ou bicycliques. Au Togo et au Bénin, un chémotype à 1,8-cinéole associé à l' α -terpénéol ou le sabinène a été décrit^[3], au Bénin^[12] un chémotype à myténol, thymol ou (Z) β -farnésène a été décrit, en Ethiopie il s'agit d'un chémotype à périllaldéhyde ou à pipéritone^[9] et enfin un chémotype à 1,8-cinéole est mis en évidence en Côte d'Ivoire^[10].

Il faut enfin noter que récemment deux nouveaux chémotypes ont été mis en évidence en Côte d'Ivoire ; il s'agit de celui à géraniol/nérol et celui à 1,8-cinéole/géraniol/nérol^[13].

Le présent travail intéresse l'espèce rencontrée au Burkina Faso en zone soudano-sahélienne et qui n'a pas encore fait l'objet d'une étude. Dans un premier temps il sera présentée la composition chimique des huiles essentielles de *Lippia multiflora* réalisée par Chromatographie en phase vapeur et dans un second temps les résultats de tests des effets insecticides des huiles essentielles sur *callosobruchus maculatus* F.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Matériel d'étude

- Les sommités fructifères de *Lippia multiflora* (Verbenaceae) ont été récoltées dans les proches zones rurales de Ouagadougou à Doumtenga et soumis à l'hydrodistillation.
- Les bruches (*Callosobruchus maculatus*) provenant des stocks de niébé infestés, sont élevées et multipliées au laboratoire.

2.2 - Extraction des huiles essentielles

Les huiles ont été aites par hydro - distillation à l'aide d'un appareil du type Clevenger pendant 3 heures, les huiles ont été collectées par décantation puis séchées sur sulfate de sodium anhydre avant l'analyse.

2.3 - Analyse des huiles essentielles

Les analyses des huiles ont été faites à l'aide d'un Chromatographe VARIAN 3800 équipé de deux colonnes capillaires l'une polaire et l'autre apolaire (SUPELCOWAX 30m ; 0,25mm et SPB1 30m ; 0,25mm dans les deux cas la taille des particules est de 0,25 µm). La température du four est programmée de la manière suivante : 40°C à 240°C (2°C/mn) et stationnaire à 240°C pendant 40 minutes. L'injecteur et le détecteur étaient respectivement à 230°C et 250°C, le gaz vecteur utilisé est l'hélium.

Les constituants ont été identifiés par injection de standards et par comparaison des indices de Kowats avec la banque de données ESO.

2.4 - Tests biologiques

- Mise en évidence des propriétés insectifuges.

Les huiles essentielles extraites de l'espèce (*Lippia multiflora* ; Verbenaceae) sont testées sur *Callosobruchus maculatus* (Bruchidaea)

ou bruche du niébé pour déterminer leurs effets insectifuge et insecticide à partir d'essais préliminaires. Pour cela un échantillon de 10 bruches est utilisé pour chaque test dans quatre boites de pétri. L'huile brute extraite est utilisée pour enduire différentes boites de pétri comme suit :

- a) une portion centrale du fond de la première boite uniquement ;
- b) le rebord de la seconde boite ;
- c) la surface du couvercle de la troisième boite ;
- d) la quatrième boite de pétri sert de témoin (sans huile).

Pour les différentes boites, les observations sur le comportement des insectes ont été faites.

• Mise en évidence des propriétés insecticides

Il s'agit ici de déterminer la dose d'huile essentielle ainsi que le temps minimum nécessaire qui permettra d'obtenir une mortalité maximale des bruches. Ainsi, 3 traitements (= 3 doses différentes) ont été testées en 10 répétitions en présence de témoin. Chaque dose est une solution d'huile essentielle diluée dans l'éthanol commerciale. Les répétitions ont été réalisées dans des flacons de 60cm³, 25 µl de chaque dose est placée sur 25mg de coton suspendu par un fil à la partie supérieure du flacon fermé par du papier para film, au niveau du flacon témoin, le coton est imbibé de 25 µl d'éthanol. Après saturation (45 minutes environ) 10 bruches sont placées dans chaque flacon. Le nombre de bruches mortes est relevé toutes les 30 min jusqu'à ce que 100% de mortalité soit constatée.

III - RESULTATS ET DISCUSSION

3.1- Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction a été établi à partir de 20 échantillons, il est compris entre 1,5 et 3,2% par rapport à la masse de la matière végétale sèche.

3.2 - Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles est indiquée dans le tableau 1, 15 composés ont été identifiés représentant plus de 94% de la composition de l'huile essentielle.

TABLEAU 1 : Composition chimique des huiles essentielles de *Lippia multiflora*

Composés	Pourcentage (%)
2-méthyl-3-butan-2-ol	2.71
α-pinène	0.73
myrcène	2.21
α-phéllandrène	3.01
α-terpinène	1.35
p-cymène	26.18
limonène	1.07
γ-terpinène	4.5
cis isopulegone	0.82
thymol	29.87
hexenylvalérate	4.51
acétate de thymyle	11.76
trans 8-mercapto-p-3-menthanone	0.52
(Z) isopulegone	4.02
β-santalène	0.91
Pourcentage total (%)	94.17

La composition chimique montre que les huiles essentielles du *Lippia* acclimaté au Burkina Faso, contiennent principalement du thymol (29,87%), du p-cymène (26,18%) et de l'acétate de thymyle (11,76%). L'espèce s'apparente au chémotype du type A décrit au Congo, au Bénin et au Togo^{13,12,14}. De ce fait le chémotype qui vient d'être mis en évidence au Burkina Faso est inclus dans le second groupe, c'est-à-dire le groupe des chémotypes riches en composés monoterpéniques aromatiques. On observe tout de même de petites différences de composition chimique des huiles du Burkina Faso par rapport à celles du Congo. En effet, au niveau de l'espèce burkinabé on note la présence du γ -terpinène, de l'isopulegone et l'hexénylvalérate qui n'existent pas dans le chémotype congolais. On note également au niveau de l'espèce congolaise le β -caryphyllène, le carvacrol, le tagétone et l'ipsénone qui ne sont pas mis en évidence dans l'huile du Burkina Faso

3.3 - Tests des propriétés insecticides sur *Callosobruchus maculatus*

• Test préliminaire

On observe dans les trois cas que les bruches s'éloignent toujours des parties imbibées par les huiles essentielles. Ensuite, au bout de 5 minutes 70% des bruches sont agonisantes sauf dans la boîte témoin. A 20 minutes 100% sont en agonie et on dénombre 5 bruches mortes. A 60 minutes toutes les bruches sont mortes.

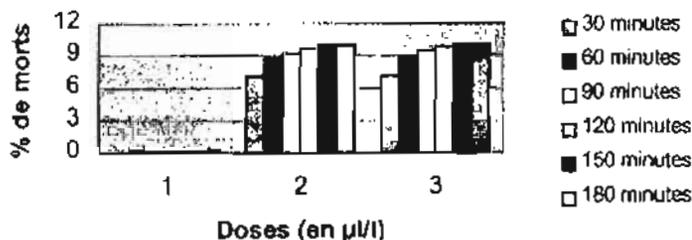
En conclusion, ce test préliminaire montre que l'huile essentielle de *Lippia multiflora* est insectifuge et insecticide à 100% au bout de 1 heure, d'où la nécessité d'approfondir le test.

• Tests approfondis

La figure suivante permet d'apprécier les effets des différentes doses d'huiles de l'espèce sur la bruche en fonction du temps.

L'analyse de variance des données ($p < 0.05$) par le test Oneway

Effets des huiles essentielles de *Lippia multiflora* sur *Callosobruchus maculatus*



Anova et la séparation des moyennes (pourcentage de bruches mortes), montre que globalement les doses efficaces d'huiles essentielles de l'espèce utilisée sont très faibles (environ $50 \mu\text{l/l}$) :

- la dose de $25 \mu\text{l/l}$ est inefficace, car le pourcentage de bruches mortes est faible et pas de différence significative entre les moyennes selon le temps.

- la dose de $50 \mu\text{l/l}$ montre un pourcentage élevé (71 %) de bruches mortes après 30 minutes de test. Ce pourcentage prend une valeur significative après 120 min d'essai (96 %). Ce temps minimal (120 min) d'imprégnation des bruches dans la vapeur est à retenir, car après, les valeurs ne sont plus significativement différentes.

- la dose de $75 \mu\text{l/l}$ donne des résultats similaires à ceux observés avec la dose de $50 \mu\text{l/l}$. En effet, le pourcentage de morts obtenu à 120 min (98 %) n'est pas significativement différent de celui obtenu avec $50 \mu\text{l/l}$.

Des auteurs ⁽¹⁶⁾ ont réalisés des tests similaires sur le même insecte avec plusieurs huiles essentielles. Il ressort des résultats qu'à la dose $10 \mu\text{l/l}$ l'huile de *Cymbopogon schoenanthus* cause la mortalité des

bruches à 96% au bout de 24 heures^[16]. Ce même résultat de mortalité est obtenu avec l'huile de *L. multiflora* à 50µl/l au bout de 2 heures. L'effet de cette huile en un temps (2 h) montre qu'elle serait donc aussi efficace que celle de *C. schoenanthus*. Enfin nos tests ont été réalisés en appliquant les huiles essentielles de *L. multiflora* par fumigation et non par contact direct comme cela est fait dans certains cas^[3, 16].

IV - CONCLUSION

Les huiles essentielles de *Lippia multiflora* ont des pouvoirs insectifuge et insecticide certains sur la bruche vus les résultats remarquables en un temps record (120 min) et avec des doses relativement faibles (50 µl/l). Ces huiles formulées convenablement pourraient contribuer efficacement à la lutte contre la bruche du niébé et d'autres insectes nuisibles des céréales en stockage. Des tests seront effectués sur d'autres nuisibles et l'étude pour la mise au point d'une formulation adéquate sera entreprise.

Remerciements : Nos remerciements au Centre Canadien de Recherche pour le Développement International dont l'appui financier a permis la réalisation de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

[1] - KERHARO J. et ADAM J.G. *La pharmacopée sénégalaise Traditionnelle* in NACOULMA O.G., Thèse de doctorat ès sciences naturelles, Université de Ouagadougou (1996). p 155.

[2] - VALENTIN A., PELISSIER Y., BENOIT F., MARION C., KONE D., MALIE M., BASTIDE J.M., BESSIERE J.M., "Composition and antimalarial activity in vitro of volatile components of *Lippia multiflora* Moldenke leaf oil". *J. Essent.oil Res.*, (1995) 40, 1439 - 1442.

[3] - KOUMAGLO H.K., AKPANGANA K., GLITHO A.I., GARNEAU F.X., GNAGNON H., JEAN F.I., MOUDACHIROU M., ADDAE-MENSAH I. "Geranial and neral, major components of *Lippia multiflora* Moldenke leaf oil". *J. Essent. Oil Res.*, (1996) 8, 237 – 240.

[4] - MENUT C., LAMATY G., BESSIERE J.M., KOUDOU J., and MAIDOU J., "Aromatic plants of tropical Central Africa. Part XVII. 6, 7-Epoxymyrcene, the major usual constituent of *Lippia multiflora* s.l. Moldenke essential oil from the Central African Republic". *Flav. Fragr. J.*, (1995) 10, 75 – 77.

[5] - ELAKOVICH S.D., and OGUNTIMEIN B.O., "The essential oil of *Lippia adoensis* leaves and flowers". *J. Nat. Prod.*, (1987) 50, 503 – 506

[6] - RABATE J., Etude des essences de *Lippia adoensis* Hochst. *Rev.Bot.Appl.Agric.Tropic.*, (1938) 10, 350 – 354.

[7] - TALALAJ S., "Essential oil of *Lippia multiflora* from Ghana". *W. Afr. Pharm.* (1964), 97 – 98.

[8] - LAMATY G., MENUT C., BESSIERE J.M., OUAMBA J.A., and SILOU T., "2-Methyl-6-methylene-7-octen-4-one, a constituent of *Lippia multiflora* essential oil". *Phytochemistry*, (1990) 29, 521 – 522.

[9] - DEMISSIEW S., "A description of some essential oil bearing plants in Ethiopia and their indigenous uses". *J. Essent. Oil Res.*, (1993) 5, 465 – 479.

[10] - KANKO C., KOUKOUA G., NGUESSAN Y.T., LOTA M-L., TOMI F., CASANOVA J. *J. Essent.Oil Res.*, (1999),11, 153 – 158.

[11] - MWANGI J.W., ADDAE-MENSAH I., MUNAVU R.M., and LWANDE W., "Essential oils of Kenyan *Lippia* species". Part III. *Flav. Fragr. J.*, (1991) 6, 221 – 224.

[12] - AYEDOUN M.A., *Contribution à la connaissance chimique des huiles essentielles de plantes aromatiques du Bénin en vue de leur valorisation*. Thèse de Doctorat. Université du Bénin(1995).

[13] - PELISSIER Y., MARION C., CASADEBAIG J., MILHAU M., KONE D., LOUKOU G., NANGA Y., BESSIERE J.-M., "A chemical, bacteriological, toxicological and clinical study of the essential oil of *Lippia multiflora* Mold. (Verbenaceae)". *J. Essent. Oil Res.*, (1994) 6, 623 – 630.

[14] - SILOU T.H. and OUAMBA J.M., "Evolution de la teneur et de la composition des huiles essentielles de *Lippia multiflora* en fonction de la période de récolte". *Rev. Med. Pharm. Afr.* (1992) 6, 103 – 108.

[15] - KANKO C., KOUKOUA G., NGUESSAN Y.T., TOMI F., CASANOVA J., FOURNIER J. "Composition des huiles essentielles de *Lippia multiflora* (Verbenaceae). Comparaison des huiles essentielles de quelques espèces africaines et américaines de *Lippia* à celles de *L. multiflora*". *J. Soc. Ouest Afr. Chim.*, (1996) 1, 51 – 58.

[16] - KOUMAGLO K.H. , KETOH K.G., GLITOH A.I.; "L'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*, un biopesticide efficace contre *Callosobruchus maculatus* F. Prédateur du niébé". 4^e Colloque d'Ottawa 26-29 mai (1998).