



Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

C. R. Chimie 7 (2004) 1051–1055



Mémoire / Full paper

Composition chimique, propriétés antimicrobiennes et activités sur les tiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm

Guy Alitonou, Félicien Avlessi, Valentin D. Wotto, Edwige Ahoussi,
J. Dangou, Dominique C.K. Sohounhloué *

Laboratoire de recherche en chimie et biologie appliquées, École polytechnique d'Abomey-Calavi, université d'Abomey-Calavi,
01 BP 2009 Cotonou, république du Bénin

Reçu le 8 novembre 2003 ; accepté le 21 novembre 2003

Disponible sur internet le 02 septembre 2004

Résumé

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles fraîches d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. récoltées à Sèmè-kpodji (Bénin) a été étudiée par chromatographie en phase gazeuse et chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse. Vingt-trois composés, représentant 91 % de l'huile, ont été identifiés. Les constituants majoritaires sont le *p*-cimène (31,4 %), le β -phellandrène (9,77 %), le spathuléol (8,13 %), le γ -terpinène (7,03 %) et le α -phellandrène (6,78 %). Cette essence présente des activités antimicrobiennes et une activité biologique très accentuée contre les tiques. **Pour citer cet article :** G. Alitonou et al., C. R. Chimie 7 (2004).

© 2004 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Chemical composition, antimicrobial properties and activities against ticks of the essential oil from *Eucalyptus tereticornis* Sm. The chemical composition of the leaf oil of *Eucalyptus tereticornis* Sm. was determined by high-resolution GC and GC/MS. Twenty-three compounds, representing 91.0% of the oil, were determined. The major components were: *p*-cymene (31.4%), β -phellandrene (9.77%), spathulenol (8.13%), γ -terpinene (7.03%), and α -phellandrene (6.78%). The essential oil of *Eucalyptus tereticornis* Sm. exhibited antimicrobial activities. This oil was tested for antiviral activity against ticks. **To cite this article:** G. Alitonou et al., C. R. Chimie 7 (2004).

© 2004 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : *Eucalyptus tereticornis* ; Myrtaceae ; Composition de l'huile essentielle ; Propriétés antimicrobiennes ; Activité biologique contre les tiques

Keywords: *Eucalyptus tereticornis*; Myrtaceae; Essential oil composition; Antimicrobial properties; Biological activity against ticks

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : ksohoun@bj.refer.org (D.C.K. Sohounhloué).

1. Introduction

Les extraits volatiles des plantes aromatiques sont recherchés depuis l'antiquité pour leurs propriétés biologiques [1]. Au nombre de celles-ci, on reconnaît les propriétés antibactériennes [2] et antifongiques [3] ainsi que l'activité contre les tiques (*Amblyomma variegatum*).

Dans la littérature, on rapporte que les feuilles d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. sont recherchées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés aromatiques et pharmaceutiques, et le pollen des fleurs de cette plante butinée par les abeilles donne un miel très nourrissant et à arôme particulièrement agréable [4].

Sohounhloué et al. [5] ont montré que les huiles essentielles de *Clausena anisata*, d'*Ocimum basilicum* et d'*Eucalyptus camadulensis* ont freiné la prolifération du *Prostephanus truncatus* (Horn).

Au cours des dix dernières années, de nombreuses études ont tenté de démontrer la synergie d'action des constituants d'huile essentielle sur les différentes sortes de cellules végétales ou animales dans le but de vaincre les résistances que suscite encore l'application de ces essences en pharmacologie et dans les essais cliniques [6–8]. À cet égard, l'utilisation de ces substances naturelles présente un avantage certain sur les produits de synthèse, qui se révèlent toxiques et parfois même cancérigènes, aussi bien pour les cellules animales que végétales [9].

C'est dans le souci de valoriser ses ressources naturelles que nous avons jugé important d'étudier, dans le cadre du présent travail, la composition chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. produite au Bénin, ses propriétés antibactériennes et antifongiques ainsi que son activité contre les tiques.

2. Partie expérimentale

2.1. Matériel et méthode

2.1.1. Matériel végétal et extraction de l'huile

L'huile essentielle est extraite des feuilles d'*Eucalyptus tereticornis* Sm récoltées à Sèmè-kpodji en mars 2002 par hydrodistillation sur un appareil de type Cleverger.

2.1.2. Analyse de l'huile essentielle

L'analyse des huiles essentielles a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spec-

trométrie de masse (CPG–SM). Le couplage a été effectué sur un appareil Hewlett Packard modèle 5970 (système de détection quadripolaire) équipé d'une colonne capillaire en silice fondue de 2 mm × 0,23 mm de type DB1 ; programmation de température de 50 °C et 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 × 0,25 mm) de type OV-101 et Cabowax 20 M avec une programmation de température identique à celle utilisée par le couplage (appareil Shimadzu GC-14A équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et d'un intégrateur modèle C-R4A).

2.2. Milieux de culture

2.2.1. Préparation des milieux de culture

Deux milieux de culture notés M₁ et M₂ sont préparés.

Milieu M₁ : 45,5 g de Sabouraud sont dissous dans 1 l d'eau distillée. Le pH est ajusté à 6,8.

Milieu M₂ : 17 g d'agar-agar sont dissous dans 500 ml de moût de bière. On ajoute ensuite 500 ml d'eau distillée stérilisée. Le pH du milieu est ajusté à 6,8.

Ces milieux de culture sont ensuite stérilisés à l'autoclave à 120 °C pendant 20 min.

2.2.2. Culture et isolation des microorganismes

2.2.2.1. *Culture des microorganismes.* La technique utilisée est celle de dilution en série géométrique de la solution mère S₀ par la méthode d'Agar [10].

2.2.2.2. *Obtention et isolation des souches pures.* Après fusion des milieux M₁ et M₂, on a procédé à leur coulage à chaud dans des boîtes de Pétri. Ces dernières sont laissées à la température ambiante pendant 48 h. On procède ensuite au repiquage de la zone d'inhibition. Cette opération, répétée trois fois, a permis d'obtenir des souches pures.

2.2.3. Test d'activité antimicrobienne avec les huiles essentielles

2.2.3.1. *Obtention de suspensions.* Les souches pures ainsi obtenues sont ensemencées dans les tubes à essai contenant les milieux M₁ et M₂. À partir de ces tubes, on réalise des suspensions pour les divers tests.

2.3. Matériel animal

Les tiques (*Amblyoma variegatum*) ont été prélevées sur les bovins élevés sur les fermes du Cenou (Campus d'Abomey-Calavi) et de Kpinnou (département du Mono). Elles sont conservées dans des boîtes en plastique stériles, avec trois à quatre trous d'aération, avec du coton imbibé d'eau.

L'expérience consiste à mettre un nombre variable de tiques femelles ou mâles préalablement séparés dans différentes boîtes de pétri. On y ajoute 1 µl de chaque huile essentielle à l'aide d'une micropipette. La durée de vie des tiques est suivie à l'aide d'un chronomètre.

3. Résultats et discussions

3.1. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis*

Les constituants majoritaires (Tableau 1) sont le *para*-cimène (31,14 %), le β-phellandrène (9,77 %), le spathuléol (8,13 %), l'*α*-phellandrène (6,78 %), le γ-terpinène (7,03 %), le *α*-phellandrène (6,78 %), le 1,8 cinéole (5,35 %). Cette huile diffère par sa composition de celle extraite des feuilles de la même espèce cultivée à Dogbo (Mono) par Sohounhlou et al. [11], dont les constituants majoritaires sont le *trans-trans* farnésol (58,51 %), le *trans-cis* farnésol (12,56 %), le *cis-cis* farnésol (8,42 %) et le β-pinène (7,83 %).

Ces résultats indiquent que nous sommes au Bénin en présence de deux chémotypes d'*Eucalyptus tereticornis* Sm : le chémotype à farnésol et le chémotype à *para*-cymène.

3.2. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm

La Fig. 1 nous donne le résultat du dénombrement des colonies en fonction de la concentration des bouillons de culture.

Il ressort de l'analyse de cette courbe que la diminution du nombre de microorganismes est fonction de la dilution.

Les résultats du dénombrement regroupés dans le Tableau 2 montrent les zones de croissance retardée, qui sont représentées par des signes « plus ».

Tableau 1

Composition chimique de l'huile essentielle extraite de feuilles d'*Eucalyptus tereticornis* Sm récoltées à Sèmè kpodji (Bénin)

N°	Composants	Colonne DB-5	
		IR	%
1	α-thujène	933	2,10
2	α-pinène	939	1,51
3	myrcène	992	0,97
4	α-phellandrène	1000	6,78
5	α-terpinène	1016	0,50
6	p-cimène	1025	31,14
7	β-phellandrène	1030	9,77
8	1,8-cinéole	1032	5,35
9	γ-terpinène	1067	7,03
10	terpinolène	1098	0,66
11	terpin-1-en-4-ol	1177	3,53
12	cryptone	1182	2,05
13	α-terpinéol	1188	0,74
14	non identifié	1276	0,96
15	non identifié	1353	0,68
16	alloaromadendrène	1461	1,18
17	bicyclogermacrène	1499	2,21
18	spathuléol	1574	8,13
19	oxyde de caryophyllène	1579	2,49
20	γ-eudesmol	1635	0,91
21	β-eudesmol	1647	0,75
22	α-eudesmol	1651	0,68
23	<i>E-E</i> -farnésol	1733	0,87
	TOTAL		91,0

Tableau 2

Effets inhibiteurs des substances actives de l'huile essentielle sur les microorganismes

N° des boîtes de Pétri	<i>Eucalyptus tereticornis</i> Sm
1	–
2	–
3	–
4	–
5	++
6	+++
7	+++
8	+++

Le signe « moins » (–) montre que l'huile essentielle n'a pas d'action sur les microorganismes contenus dans ces boîtes de Pétri.

L'examen de ce tableau montre que l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. a un pouvoir inhibiteur assez étendu à l'égard des microorganismes étudiés.

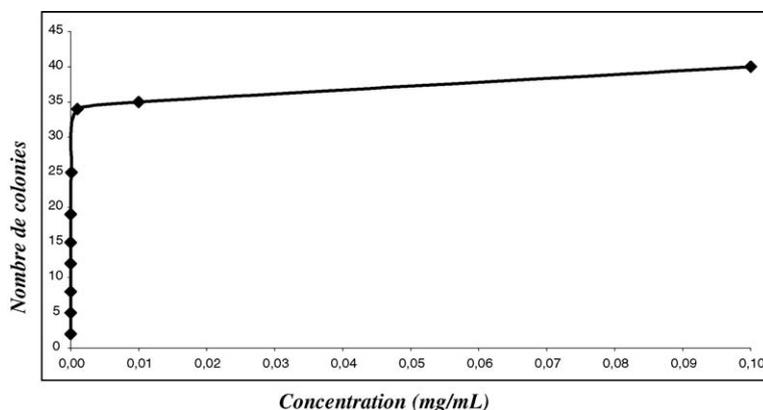


Fig. 1. Nombre de colonies dénombrées en fonction de la concentration.

Après repiquage d'une zone de croissance retardée, on a constaté l'apparition des colonies dans certaines boîtes de Pétri. L'identification des microorganismes a permis de constituer le [Tableau 3](#) et de procéder à la vérification des propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle.

3.3. Activité contre les tiques (*Amblyomma variegatum*)

Les [Figs. 2 et 3](#) illustrent l'action des huiles essentielles sur les tiques mâles et femelles.

L'examen des [Figs. 2 et 3](#) montre que les tiques femelles résistent plus à l'action destructrice de l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. que les tiques mâles. Toutes les tiques mâles sont détruites après 45 min alors que les tiques femelles ont résisté jusqu'à 325 min (05 h 25 min).

4. Conclusion

De l'analyse de la composition chimique, il ressort que :

- l'essence d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. comporte comme composés principaux le *p*-cimène (31,14 %) ; le β -phellandrène (9,77 %) ; le spathuléol (8,13 %) ; le γ -terpinène (7,03 %) ; le α -phellandrène (6,78 %) et 1,8-cinéole (5,35 %) ;
- l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm présente une activité bactéricide (elle détruit complètement *Saccharomyces* spp., *Sporobolomyces* et *Hansenula*), fongicide (détruit *Corynebacteriaceae* spp.) et fongistatique (inhibe la croissance de *Torulopsis candida*), objets de nos investigations ;
- l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm exerce une action destructrice sur les tiques (il est à noter que les tiques femelles résistent davantage à cette essence).

Tableau 3
Propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm

N° des boîtes de Pétri	Description	Genre	<i>Eucalyptus tereticornis</i> Sm	
			Effet après repiquage	Propriétés
2	levures isolées grosses de formes ovoïdes et lenticulaires	<i>Saccharomyces</i> spp.	destructeur	fongicides
5	bactéries Gram (+) corynéformes	<i>Corynebacteriaceae</i> spp.	destructeur	bactéricides
6	levures encapsulées	<i>Sporobolomyces</i>	destructeur	fongicides
7	levures en chaîne ou en amas	<i>Torulopsis candida</i>	inhibiteur	fongistatiques
8	levures ovoïdes et lenticulaires	<i>Hansenula</i> spp.	destructeur	fongicides

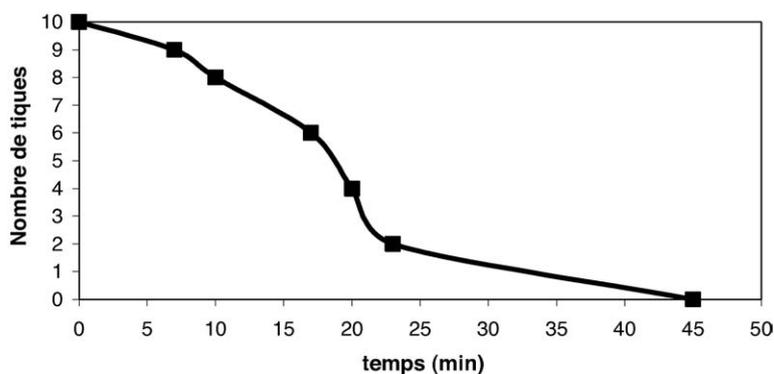


Fig. 2. Activité contre les tiques mâles.

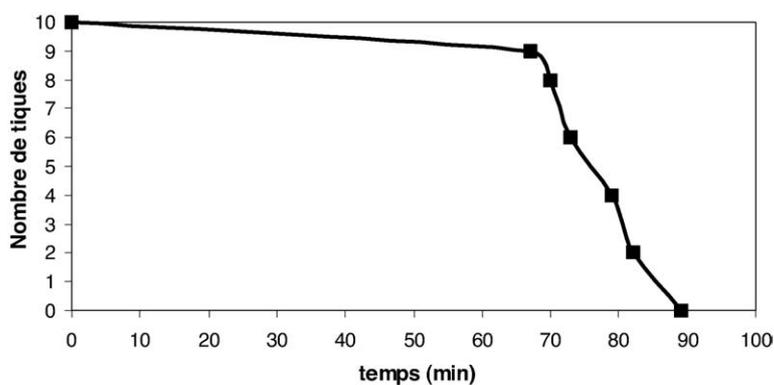


Fig. 3. Activité contre les tiques femelles.

Références

- [1] S.G. Deans, P.G. Waterman, in: R.K.M. Hay, P.G. Waterman (Eds.), *Volatile oil crops: Their Biology, Biochemistry and Production*, Longman Group, Londres, UK, 1993, p. 113.
- [2] S.G. Deans, A.I. Kennedy, M.G. Gundidza, S. Mavi, P.G. Waterman, A.I. Gray, *Flavour Fragrance J.* 9 (1994) 245.
- [3] R.R. Carlton, A.I. Gray, P.G. Waterman, S.G. Deans, *Chemoecology* 3 (1992) 59.
- [4] W.F. Blakeley, *A key to the Eucalyptus*, Commonwealth Forestry and Timber Bureau, Canberra, The Workers Trustees, Sydney, 1959 (reimpresius, 1934).
- [5] A. Agbaka, D.K. Sohounhloué, E.B. Dockoïmo, L. Djossou, K. Foua-bi, *J. Soc. Ouest Afr. Chim.* 8 (1999) 87.
- [6] M. Keskitalo, A. Pohto, M.L. Savela, J.P.T. Valkonen, J. Simon, E. Pehu, *Ann. Appl. Biol.* 133 (1998) 281.
- [7] M.L. Stecchini, I. Sakais, P. Giavedoni, *J. Food Prot.* 56 (5) (1993) 406.
- [8] C. Demetzos, A. Loukis, V. Spiliotis, N. Zoakis, N. Stratigakis, H.E. Katerinopoulos, *J. Essent. Oils Res.* 7 (1995) 407.
- [9] A. Sivropoulou, C. Nikolaou, E. Papanikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras, M. Arsenakis, *J. Agric. Food Chem.* 45 (1997) 3197.
- [10] P.M. Waterworth, in: D.S. Reeves, I. Philips, J.D. Williams, R. Wise (Eds.), *Laboratory Methods in Antimicrobial Chemotherapy*, Churchill Livingstone, Edinburgh, UK, 1978, p. 37.
- [11] D.K. Sohounhloué, J. Dangou, B. Gnonhossou, F.-X. Garneau, H. Gagnon, F.-I. Jean, *J. Essent. Oil. Res.* 8 (1996) 111.