



UNIVERSITE DE CORSE-PASCAL PAOLI
ECOLE DOCTORALE ENVIRONNEMENT ET SOCIETE
UNIVERSITE DE COCODY-ABIDJAN
UFR-SSMT



Thèse en Convention de Cotutelle Internationale
présentée pour l'obtention du grade de
DOCTEUR EN CHIMIE
Mention (France) : Chimie organique et analytique
Mention (Côte d'Ivoire) : Chimie organique

Soutenue publiquement par
Zana Adama OUATTARA

le 25 Mai 2012

Contribution de la RMN ¹³C à la Caractérisation des Huiles
Essentielles de Cinq Annonacées Acclimatées en Côte d'Ivoire

Directeurs :

Mr Bighelli Ange, Pr, Université de Corse
Mr Ahibo Coffy Antoine, Pr, Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire

Rapporteurs :

Mr Cavaleiro Carlos, Pr, Université de Coimbra, Portugal
Mr Sohounhloue Koko Codjo Dominique, Pr, Université d'Abomey-Calavi, Bénin

Jury

Mr Cavaleiro Carlos, Pr, Université de Coimbra, Portugal
Mr Sohounhloue Koko Codjo Dominique, Pr, Université d'Abomey-Calavi, Bénin
Mr Bighelli Ange, Pr, Université de Corse
Mr Ahibo Coffy Antoine, Pr, Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire
Mr Casanova Joseph, Pr, Université de Corse
Mr Boti Jean Brice, Dr, Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire

RESUME

Ce travail a été effectué dans le cadre d'une convention de co-tutelle entre les Universités de Corse et de Cocody-Abidjan. Il a contribué à la caractérisation de cinq Anonacées de Côte d'Ivoire à travers la composition chimique de leurs huiles essentielles. Pour cela, différentes techniques chromatographiques et spectroscopiques ont été mises en œuvre, en particulier la RMN ^{13}C des mélanges, méthode mise au point et développée par l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse.

Ainsi, nous avons illustré le fonctionnement et décrit une application de la méthode d'analyse par RMN ^{13}C à travers l'étude des huiles essentielles de feuilles, de fruits et d'écorce de tige d'*Artabotrys oliganthus*.

Ensuite, nous avons étudié les huiles essentielles de deux espèces appartenant au genre *Cleistopholis* (*C. patens* et *C. glauca*) à partir d'un échantillonnage aussi important que possible. L'huile essentielle de feuilles de *C. glauca* analysée par CPG(Ir) et RMN ^{13}C , présente quatre compositions : germacrène D, germacrèneD/(E)- β -caryophyllène, β -pinène/ α -pinène/germacrène D/(E)- β -caryophyllène et myrcène/germacrèneD/(E)- β -caryophyllène. Concernant *C. patens*, les huiles essentielles de feuilles et d'écorce de tronc ont été analysées par la combinaison des techniques [RMN ^{13}C , CPG(Ir) et CPG-SM]. Les résultats des analyses ont été soumis à un traitement statistique des données (ACP et CHA). Nous avons montré dans les deux cas une variabilité chimique qui se traduit par la présence de trois groupes : (E)- β -caryophyllène/linalol, β -pinène/ α -pinène et sabinène/ β -phellandrène/limonène (feuilles); β -pinène/ α -pinène, β -phellandrène/*p*-cymène et β -élémol (écorce de tronc).

Enfin, nous avons caractérisé par RMN ^{13}C et CPG(Ir) les huiles essentielles feuilles de *Polyalthia oliveri* (45 échantillons) et de *P. longifolia* (35 échantillons). Concernant *P. oliveri*, l'analyse statistique des résultats (ACP et CHA) a permis de mettre en évidence six compositions : (E)- β -caryophyllène/ α -humulène, α -humulène/(E)- β -caryophyllène, *allo*-aromadendrène/palustrol/lédol/ α -gurjunène, germacrène B/sélina-3,7(11)-diène/sélina-4(15), 7(11)-diène, isoguaïène, δ -cadinène. Par contre, l'huile essentielle de *P. longifolia* présentait une composition homogène dominée par le (E)- β -caryophyllène et l' α -zingibérène, l'*allo*-aromadendrène et l' α -humulène. L'étude détaillée de cette dernière nous a permis d'identifier le 14,15-*dinor*-clérod-3-èn-16-al, un nouveau produit naturel.

La RMN ^{13}C a été d'un apport crucial pour l'identification de molécules délicates à analyser par les techniques conventionnelles ; il s'agit de molécules thermosensibles (germacrènes A, B et C), de molécules polaires qui ne sont pas éluées en CPG (10,11-dihydroxy-(2E,6E)-farnésoate de méthyle et acide kolavénique) et de diastéréoisomères (zingibérénols I et II). Au cours de l'analyse de toutes ces huiles essentielles nous avons identifié trois hormones d'insectes, le (2E,6E)-farnésoate de méthyle, la juvénile hormone III et le zingibérénol II. Au total, ce travail nous a permis d'enrichir notre bibliothèque de spectres de RMN « Terpènes » de 43 composés, plusieurs d'entre eux ont été identifiés en utilisant la méthode de reconstitution de spectres, et certains composés sont absents des bibliothèques de spectres de masse commerciales et ne pouvaient donc être identifiés par cette technique.

MOTS CLES : *Artabotrys oliganthus*, *Cleistopholis patens*, *Cleistopholis glauca*, *Polyalthia oliveri*, *Polyalthia longifolia*, Huiles essentielles, RMN ^{13}C , 14,15-*dinor*-clérod-3-èn-16-al, Côte d'Ivoire.

ABSTRACT

This study was conducted under an agreement of co-supervision between the Universities of Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire) and Corsica (France). It contributed to the characterization of five Ivoirian Annonaceae through the chemical composition of their essential oils. For this purpose, various chromatographic and spectroscopic techniques have been used; particularly ^{13}C NMR, following a computerized method developed by the "Chimie et Biomasse" team, University of Corsica.

First, we explicated the analytical method based on GC(RI) and ^{13}C NMR analysis through the study of the essential oil of leaves, fruit and stem bark of *Artabotrys oliganthus*.

Next, we studied the essential oils of two species of the genus *Cleistopholis* (*C. patens* and *C. glauca*) from a large sampling. The leaf oil of *C. glauca* investigated by GC(RI) and ^{13}C NMR, exhibited four compositions dominated by: germacrene D, germacrene D/(E)- β -caryophyllene, β -pinene/ α -pinene/germacrene D/(E)- β -caryo-phyllene, myrcene/germacrene D/(E)- β -caryophyllene. Leaf and trunk bark oils from *C. patens* were analyzed by a combination of techniques [GC(RI), GC-MS and ^{13}C NMR]. The results were subjected to statistical processing of data (PCA and HCA). In both cases, a chemical variability was observed and three groups were distinguished within the samples: (E)- β -caryophyllene/linalool, β -pinene/ α -pinene, sabinene/ β -phellandrene/limonene (leaves); β -pinene/ α -pinene, β -phellandrene/*p*-cymene, β -elemol (trunk bark)

Finally, leaf oils of *Polyalthia oliveri* (45 samples) and *Polyalthia longifolia* (35 samples) have been analyzed by GC(RI) and ^{13}C NMR. Concerning *P. oliveri*, the statistical analysis (PCA and HCA) demonstrated the occurrence of six compositions: (E)- β -caryophyllene/ α -humulene, α -humulene/(E)- β -caryophyllene, *allo*-aromadendrene/palustrol/ ledol/ α -gurjunene, germacrene B/selina-3,7(11)-diene/selina-4(15),7(11)-diene, isoguaiene, δ -cadinene. In contrast, the essential oil of *P. longifolia* showed a homogeneous composition dominated by (E)- β -caryophyllene, α -zingiberene, *allo*-aromadendrene and α -humulene. The detailed analysis of *P. longifolia* leaf oil allowed the identification of 4,15-*dinor*-clérod-3-en-16-al, a new natural compound.

^{13}C NMR has been a crucial input for the identification of molecules that are not easily identified by conventional techniques; such as heat-sensitive molecules (germacrene A, B and C), polar molecules which were not eluted on GC (10,11-dihydroxy-(2E,6E)-methyl farnesoate, kolavenic acid) and diastereoisomers (zingiberenols I and II). During the completion of this work, three hormones of insects have been identified (2E,6E)-methyl farnesoate, juvenile hormone III and zingiberenol II). In total, this work allowed us to enrich our laboratory-made library of ^{13}C NMR spectra with the data of 43 compounds, the mass spectra of numerous compounds being absent of commercial MS libraries, hindering their identification by this technique. Otherwise, several of them have been identified using the method of spectrum reconstruction.

KEYWORDS : *Artabotrys oliganthus*, *Cleistopholis patens*, *Cleistopholis glauca*, *Polyalthia oliveri*, *Polyalthia longifolia*, Essential oil, ^{13}C RMN, 4,15-*dinor*-clérod-3-èn-16-al, Côte d'Ivoire.