

## Composition chimique, activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle *d'Hyptis spicigera* Lam. du NIGER

### [ Chemical Composition, Antioxidant activity and Antibacterial activity of Essential oil of *Hyptis spicigera* Lam. grown in NIGER ]

**Bala Namata Abba<sup>1,2</sup>, Amadou Tidjani Ilagouma<sup>2</sup>, Mouhamadou Mounkaila Boureima<sup>3</sup>, and Abderrahmane Romane<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Ecole Nationale d'Ingénierie et des Sciences d'Energie, Université d'Agadez, B.P 199 Agadez, Niger

<sup>2</sup>Laboratoire des Substances Naturelles et Synthèse Organique, Faculté des Sciences et Techniques, Université Abdou Moumouni, B.P. 10662 Niamey, Niger

<sup>3</sup>Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des Plantes, Institut des Radio-Isotopes, Université Abdou Moumouni, B.P. 10662 Niamey, Niger

<sup>4</sup>Laboratoire de Chimie Appliquée et Biomasse, Faculté des Sciences Semlalia Marrakech, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Morocco

Copyright © 2026 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** This study focuses on the analysis of the chemical composition and the evaluation of the antioxidant and antibacterial activities of the essential oil of *Hyptis spicigera* from Niger.

*Hyptis spicigera* is a plant that belongs to the Lamiaceae family. Analysis of the chemical composition of this plant's essential oil by using gas chromatography coupled with mass spectrometry allowed to the identification of 39 compounds with (E)-β-caryophyllene (38.04%) as the major constituent. The antioxidant activity of the oil essential was evaluated by using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical scavenging method and expressed as IC<sub>50</sub>, and the iron reduction method and expressed as EC<sub>50</sub>. An IC<sub>50</sub> value of 4.56 mg/mL and an EC<sub>50</sub> value of 2.51 mg/mL were obtained. The antibacterial activity was studied using the disc diffusion method and the microdilution method on Gram-positive and Gram-negative bacteria. The essential oil showed good antibacterial activity on the bacterial strains tested, with an inhibition zone diameter of 35 ± 1.5 mm and a minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.03 mg/mL for the *Enterococcus faecium* H3434 strain, and an inhibition zone diameter of 20 ± 1 mm and a minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.5 mg/mL for the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* P1123 strain.

**KEYWORDS:** *Hyptis spicigera*, essential oil, chemical composition, biological activity, NIGER.

**RESUME:** Le présent travail porte sur l'analyse de la composition chimique et l'évaluation des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de la plante *Hyptis spicigera* du Niger. *Hyptis spicigera* est une plante de la famille des Lamiacées. L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de cette plante réalisée par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a permis d'identifier 39 composés dont le constituant majoritaire est le (E)-β-caryophyllène (38,04%). L'activité antioxydante de l'huile a été évaluée par la méthode du piégeage du radical libre de 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl puis exprimée en IC<sub>50</sub> et par la méthode de réduction du fer et exprimée en EC<sub>50</sub>. On a obtenu une valeur de IC<sub>50</sub> de 4,56 mg/mL et une valeur de EC<sub>50</sub> de 2,51 mg/mL. L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion de disques et la méthode de micro-dilution sur des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. L'huile essentielle avait démontré une bonne activité antibactérienne sur les souches bactériennes testées, avec un diamètre de la zone d'inhibition de 35 ± 1,5 mm et une concentration minimale inhibitrice (CMI) égale à 0,03 mg/mL pour la souche *Enterococcus faecium* H3434, et un diamètre de la zone d'inhibition de 20 ± 1 mm et une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 0,5 mg/mL pour la souche *staphylococcus aureus* résistant à la méticilline P1123.

**MOTS-CLEFS:** *Hyptis spicigera*, huile essentielle, composition chimique, activité biologique, NIGER.

## **1 INTRODUCTION**

*Hyptis spicigera* est l'une des cinq espèces du genre *Hyptis* fréquemment rencontrées en Afrique occidentale et tropicale, en Amérique et en Asie [1]. C'est une plante de la famille des lamiacées ayant une forte odeur aromatique. *H. spicigera* est une plante utilisée en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections. En médecine traditionnelle sénégalaise, le décocté de la plante est utilisé comme revigorant et la poudre des parties aériennes est employée comme médicament antimigraineux, tandis que la plante entière est consommée en boisson théiforme, comme eupnétique, bêchique excitant et fluidifiant des sécrétions bronchiques [2]. La plante entière, est utilisée comme désinfectant funéraire et la cendre des feuilles et des fleurs est employée en frictions contre la gale. Les inflorescences fraîches de cette plante sont utilisées pour traiter les céphalées et le coryza par introduction dans les narines [3]. *H. spicigera* est utilisée au Brésil pour lutter contre la fièvre, l'inflammation et les troubles gastriques [4]. Dans le nord du Nigéria, les populations l'utilisent dans la fabrication des savons, des parfums et de diverses lotions. Le décocté de la plante est pris sous forme de bain contre les maladies de la peau [5]. Au Mexique elle est utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter les troubles gastro-intestinaux, les infections de la peau, ainsi que les plaies et les piqûres d'insectes [6]. *H. spicigera*, est utilisée traditionnellement dans plusieurs pays Africains par les paysans pour protéger les graines contre les infestations des insectes ou pour la protection des récoltes contre les termites [7]. La plante entière est fortement odorante, dans certaines régions d'Afrique elle est brûlée dans les chambres pour éloigner les moustiques [8]. *H. spicigera* est une herbacée communément utilisée par certaines populations africaines aussi bien dans le traitement de certaines maladies (maux de tête, sinusite) que dans la conservation des denrées alimentaires et leur cuisson [9]. Au Niger cette plante est utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement des maux de ventre, pour calmer l'hypertension, pour les rites et son décocté est utilisé comme revigorant et fortifiant nourrisson [10].

Ainsi dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques et médicinales du Niger, nous avons choisi dans ce travail d'étudier la composition chimique et d'évaluer les activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de la plante *Hyptis spicigera* récoltée au Niger.

## **2 MATÉRIEL ET MÉTHODES**

### **2.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL**

Les parties aériennes de la plante *Hyptis spicigera* ont été récoltées à Lido dans le sud du Niger (Altitude: 238 m, Latitude (N) 12°53.078', Longitude (E) 003°44.923'). Les échantillons de la plante ont été débarrassés de tous éléments étrangers, séchés à l'ombre et à température ambiante à l'abri de la lumière et de l'humidité. Après séchage, les échantillons ont été placées dans des sacs et soigneusement stockées dans un endroit sec jusqu'à leurs futures utilisations. La plante a été authentifiée par un botaniste du Département de biologie de la faculté des sciences et techniques de l'Université Abdou Moumouni de Niamey au Niger. Elle a reçu le numéro (voucher number) de référence de NA/04.

### **2.2 EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE**

L'huile essentielle (HE) de la plante a été extraite par la méthode d'hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger [11]. Le dispositif d'extraction est constitué d'un chauffe ballon, un réfrigérant à boule, un ballon en verre pyrex et d'un appareil Clevenger. 100g de matériel végétal sec ont été introduits dans un ballon de 2L, additionnés d'eau distillée (1500 mL). Après avoir mis en marche la réfrigération, le contenu du ballon est porté à l'ébullition à l'aide d'un chauffe ballon pendant 4 heures. À l'ébullition, le mélange azéotropique de vapeurs d'eau et d'huile essentielle est condensé au niveau du réfrigérant et l'huile essentielle est séparée de l'eau par différence de densité (dans le Clevenger). À la fin de la distillation, l'huile essentielle est récupérée par une micropipette dans de petits flacons sombres. Ensuite, l'huile obtenue est conservée à une température de 4°C jusqu'à son utilisation. L'huile essentielle a été pesée afin de calculer le rendement d'extraction par rapport à la masse initial de matériel végétal utilisé.

### **2.3 ANALYSE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE**

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle (HE) par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) a été réalisée en utilisant un chromatographe de type QP2010SE (SHIMADZU CORPORATION, Columbia-USA) équipé de deux colonnes, une Zebron ZB-5ms 5% Phényl-Arylène, 95% Diméthylpolysiloxane (20 m × 0,18 mm × 0,18 µm) et une Zebron ZB-WAX (20 m × 0,18 mm × 0,18 µm) couplée à un détecteur de masse (quadripôle). La température initiale du four a été maintenue à 50 °C pendant 3 minutes puis augmentée jusqu'à 280 °C à une vitesse de 2 °C/min. La température finale est maintenue pendant 30 minutes. L'échantillon a été injecté en utilisant un injecteur de type split/splitless

automate 150 positions, et le volume injecté était de 1  $\mu$ L. L'hélium était utilisé comme gaz vecteur (1 mL/min). Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70 eV par ionisation en mode impact électronique (EI). Les données ont été collectées sur une plage de masse de 20 à 500, avec une de vitesse de scan de 50 scans/s et une vitesse d'acquisition de 10 000 scans/s. Les constituants de l'huile ont été identifiés en comparant leurs indices de rétention (RI) déterminés en utilisant une série homologue de n-alcanes et les spectres de masse obtenus avec ceux stockés dans la base de données de spectres de masse NIST08.LIB du système d'analyse GC-MS et les données de la littérature [12]. Les concentrations des constituants chimiques ont été calculées sur la base des surfaces de leurs pics GC sans utiliser de facteurs de correction.

## 2.4 ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

L'activité antioxydante de l'huile essentielle a été évaluée par la méthode du piégeage du radical de DPPH<sup>•</sup> (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) et le test du pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP).

### 2.4.1 MÉTHODE DU PIÉGEAGE DU RADICAL LIBRE DPPH<sup>•</sup>

L'activité antioxydante de l'huile essentielle a été évaluée par la méthode du DPPH<sup>•</sup> rapporté par [13], avec quelques modifications. À différentes concentrations, 1 mL de l'huile essentielle est ajouté à 2 mL d'une solution méthanolique de DPPH<sup>•</sup> (0,02 g dans 100 mL méthanol), le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance des solutions est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type Uviling 9400 (SECOMAM) contre un blanc (1 mL de méthanol + 2 mL de la solution du DPPH<sup>•</sup>). L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif.

Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres est calculé selon la formule suivante:

$$I\% = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

Avec A<sub>0</sub> absorbance du blanc et A<sub>1</sub> absorbance de l'échantillon testé.

Les résultats sont exprimés en Cl<sub>50</sub> ou concentration inhibitrice de 50 %, qui correspond à la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire de 50 % la concentration initiale de DPPH<sup>•</sup> [14]. Les Cl<sub>50</sub> sont calculées à partir des équations des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des échantillons testés.

### 2.4.2 TEST DU POUVOIR RÉDUCTEUR DE L'ION FERRIQUE (FRAP)

Le protocole expérimental utilisé est celui rapporté par [15]. 1 mL de l'échantillon à différentes concentrations est mélangé avec 2,5 mL d'une solution tampon phosphate à 0,2 M (pH= 6,6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] à 1 %. Le mélange est incubé à 50°C pendant 30 min dans un bain marie, puis refroidi à la température ambiante. 2,5 mL d'acide trichloracétique à 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 tours pendant 10 minutes. Après centrifugation 2,5 mL du surnageant sont ajoutés à 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution de chlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>,6H<sub>2</sub>O) à 0,1 %. La lecture des absorbances est faite contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type Uviling 9400 (SECOMAM).

Les résultats de l'activité antioxydante sont exprimés en CE<sub>50</sub>, qui correspond à la concentration effective donnant une absorbance de 0,5 [16]. Les valeurs de CE<sub>50</sub> ont été calculées à partir des équations des tracés des absorbances obtenues à 700 nm en fonction des différentes concentrations utilisées pour chaque échantillon. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif.

## 2.5 ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE

### 2.5.1 LES SOUCHES BACTÉRIENNES TESTÉES

Les souches cliniques et les souches de références (ATCC: American Type Culture Collection Center, Manassas, VA, USA) utilisées dans cette étude proviennent de la collection de culture du Laboratoire de Virologie et Microbiologie du Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI de Marrakech. Ces souches bactériennes ont été choisies sur la base de leur caractère pathogénique, leur disponibilité au laboratoire et leur résistance aux antibiotiques. Elles sont composées de bactéries à Gram-négatif: *Acinetobacter baumannii* multi-résistant P1483, *Salmonella* spp. H1548, *Escherichia coli* BLSE-Bu8566, *Enterobacter cloacae* Bu147, *Proteus mirabilis* Bu190, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603),

*Escherichia coli* (ATCC 25922) et de bactéries à Gram-positif: *Enterococcus faecium* H3434, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline P1123 et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été évaluée par la méthode de diffusion des disques et par la méthode de micro-dilution en milieu liquide.

### 2.5.2 MÉTHODE DE DIFFUSION DES DISQUES

L'activité antibactériennes de l'huile essentielle a été évaluée par la méthode de diffusion de disques rapporté par [17]. Afin d'obtenir des colonies bactériennes en croissance exponentielle et bien isolées, les bactéries à tester sont ensemencées sur des boites de Pétri contenant le milieu gélosé de Mueller-Hinton puis incubés à 37°C pendant 24 heures dans l'étuve. Après 24h d'incubation, les jeunes colonies bactériennes sont prélevées à l'aide d'une anse, puis émulsionnées dans un tube contenant 4,5 mL d'eau physiologique stérile NaCl 0,9 %, le tube est agité à l'aide d'un vortex et la densité de l'inoculum est ajusté à 0,5 Mc Farland ( $10^8$  UFC/mL) grâce à un DENSIMAT (spectrophotomètre de type BD PhoenixSpec). Cette suspension bactérienne est ensemencée sur les boîtes de Pétri et à l'aide d'une pince stérile, des disques du papier Wattman N°1 (diamètre de 6 mm) sont déposés délicatement sur la surface de la boîte gélosée de Mueller-Hinton. Ensuite, Les disques sont imprégnés avec 10  $\mu$ L d'huile essentielle. Les disques imprégnés avec 10  $\mu$ L de diméthyl-sulfoxyde (DMSO) ont été utilisés comme contrôle négatif et le chloramphénicol comme contrôle positif. Les boîtes gélosées ainsi préparées sont maintenue à la température du laboratoire pendant 30 min afin de permettre une pré-diffusion des échantillons testés puis elles sont incubées à 37 °C pendant 24 heures dans l'étuve. Après 24 heures d'incubation, le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour des disques est mesurée en mm. Chaque expérience est répétée trois fois.

### 2.5.3 MÉTHODE DE MICRO-DILUTION EN MILIEU LIQUIDE

La méthode de Micro-dilution a été utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) de l'huile essentielle comme décrit par [18], avec légère modification. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration d'un agent antibactérien capable d'inhiber dans un milieu, toute croissance visible de la souche étudiée [19]. Pour déterminer la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle de la plante contre les souches bactériennes testées, nous avons utilisé la technique de micro-dilution par microplaques stériles comportant 96 puits à fond. L'huile essentielle a été solubilisée dans le diméthyl-sulfoxyde (DMSO) pour préparer une gamme de 10 concentrations (0,003; 0,06; 0,12; 0,25; 0,5; 1; 1,25; 2,5; 5 et 10 mg/mL). Les microplaques ont été préparées en introduisant 90  $\mu$ L de bouillon Mueller Hinton et 10  $\mu$ L de l'inoculum dans les puits de la 1<sup>ère</sup> à la 12<sup>ème</sup> colonne. Ensuite, sont ajoutés 100  $\mu$ L de chaque concentration de la gamme de dilution des échantillons dans les puits de la 1<sup>ère</sup> à la 10<sup>ème</sup> colonne. 100  $\mu$ L de DMSO et 100  $\mu$ L de chloramphénicol sont additionnés dans les 11<sup>ème</sup> et 12<sup>ème</sup> puits de chaque rangée pour servir de contrôle négatif et de contrôle positif, respectivement. Le volume final de chaque puit était de 200  $\mu$ L. Les plaques sont ensuite recouvertes puis incubées à 37 °C pendant 24 h. la CMI de l'huile essentielle a été déterminée après incubation à partir du premier puit de la gamme de concentration dépourvu de croissance bactérienne visible [20].

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus petite concentration de l'agent antimicrobien qui ne laisse que 0,01% de bactéries survivantes après 24 h d'incubation [21]. Pour déterminer la concentration minimale bactéricide (CMB), le contenu des puits ne présentant aucune croissance bactérienne visible a été repiqué par ensemencement sur la gélose Mueller Hinton et les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24h [22]. Après incubation, la CMB de l'huile est déduite à partir de la première boîte dépourvue de bactérie.

## 3 RÉSULTATS

### 3.1 COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE

Les résultats de l'analyse par GC-MS de la composition chimique de l'huile essentielle d'*H. spicigera* sont regroupés dans le tableau 1.

Tableau 1. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera*

N°	<sup>a</sup> IR	<sup>b</sup> IR	<sup>c</sup> Constituants	Pourcentage (%)
1	928	930	α-Thujène	0,91
2	948	939	α-Pinène	2,18
3	956	954	Camphène	0,21
4	969	975	Sabinène	2,68
5	973	979	β-Pinène	2,36
6	985	990	Myrcène	0,21
7	998	1002	δ-2-Carène	0,89
8	1038	1029	Limonène	0,92
9	1039	1031	1,8-Cinéole	3,15
10	1058	1059	γ-Terpinène	0,14
11	1082	1085	<i>m</i> -Cyménène	2,06
12	1087	1091	<i>p</i> -Cyménène	0,25
13	1108	1100	Isopentyl 2-methyl butanoate	0,50
14	1110	1104	Isovalérate de 2-Methyl butyle	0,80
15	1141	1146	Camphre	1,70
16	1168	1177	Terpinène-4-ol	2,47
17	1187	1183	<i>p</i> -Cymén-8-ol	1,37
18	1191	1188	α-Terpinéol	0,49
19	1277	1285	Acéate de bornyle	0,40
20	1375	1371	Cyclosativène	0,21
21	1371	1375	α-Ylangène	0,51
22	1374	1376	α-Copaène	0,24
23	1379	1388	β-Cubebène	0,43
24	1389	1388	β-Bourbonène	0,79
25	1407	1408	(Z)-Caryophyllène	0,30
26	1419	1416	Aristolène	0,42
27	1417	1419	(E)-β-Caryophyllène	38,04
28	1445	1436	γ-Elemène	1,51
29	1455	1446	Seychellène	0,91
30	1459	1454	α-Humulène	2,64
31	1469	1479	γ-Murolène	2,13
32	1475	1481	Germacrène D	0,75
33	1565	1561	Germacrène B	0,34
34	1580	1583	Oxide de caryophyllène	22,50
35	1637	1646	Cubénol	0,80
36	1854	1845	Phytone	0,17
37	1912	1913	(5E,9E)- Farnésyl acétone	0,12
38	1961	1966	(3Z)-Cembrène A	1,24
39	2271	2275	dehydro-Abiéatal	0,14
Monoterpènes hydrocarbonés				
Monoterpènes oxygénés				
Sesquiterpènes hydrocarbonés				
Sesquiterpènes oxygénés				
Autres				
Total identifiés (%)				
<b>97,88</b>				

<sup>a</sup>IR: Indices de rétention expérimentaux,<sup>b</sup>IR: Indices de rétention de littérature,<sup>c</sup>Constituants listés par ordre d'élution de la colonne.

### 3.2 ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DE L'HUILE ESSENTIELLE

Le potentiel antioxydant de l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* a été évalué par la méthode de piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) et le test de réduction du fer (FRAP: Ferric reducing antioxidant power). L'acide

ascorbique qui est connu pour ses propriétés antioxydantes est utilisé comme contrôle positif. L'activité antioxydante est exprimée par les concentrations qui fournissent 50% d'inhibition du radical DPPH\* présent dans la solution testée ( $Cl_{50}$ ) et les concentrations effectives qui donnent une absorbance de 0,5 pour le pouvoir réducteur du fer ( $CE_{50}$ ). Les résultats sont regroupés dans le tableau 2.

**Tableau 2.** Valeurs des  $Cl_{50}$  et  $CE_{50}$  de l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* et d'acide ascorbique

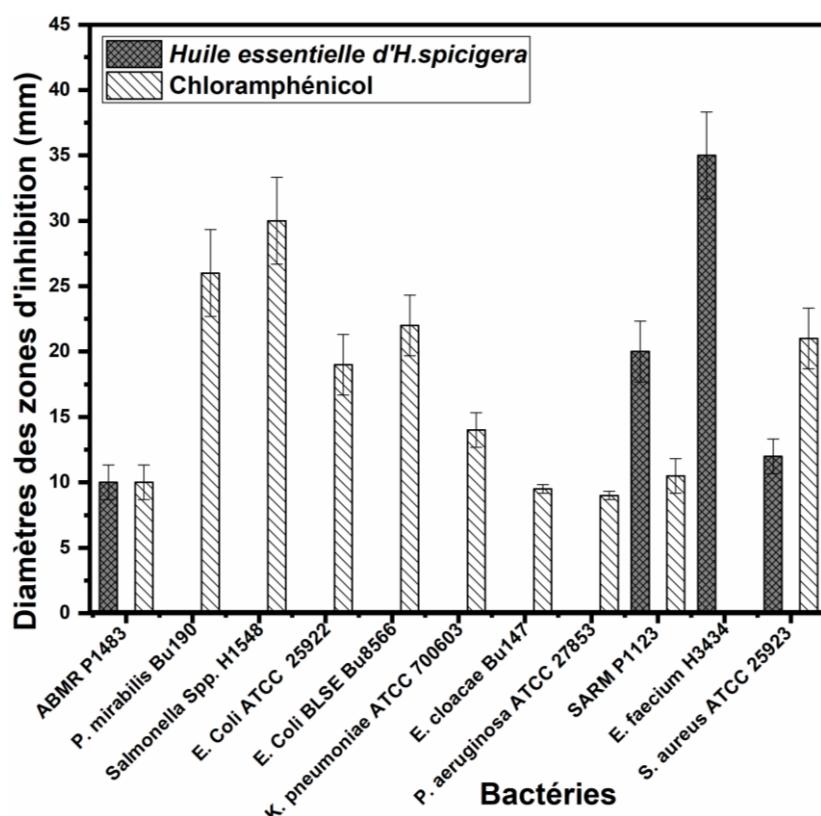
Échantillons	Méthodes	
	DPPH*: $Cl_{50}$ (mg/mL)	Test de réduction du fer: $CE_{50}$ (mg/mL)
Huile essentielle	4,56	2,51
Acide ascorbique	0,044	0,028

### 3.3 ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DE L'HUILE ESSENTIELLE

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* Lam. a été évalué par la méthode de diffusion de disques sur un milieu gélosé solide (Mueller-Hinton) et par la méthode de micro-dilution en milieu liquide. Les souches de bactéries utilisées dans cette étude sont composées de bactéries à Gram-négatif: *Acinetobacter baumannii* multi-résistant P1483, *Salmonella* spp. H1548, *Escherichia coli* BLSE-Bu8566, *Enterobacter cloacae* Bu147, *Proteus mirabilis* Bu190, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Escherichia coli* (ATCC 25922) et de bactéries à Gram-positif: *Enterococcus faecium* H3434, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline P1123 et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

#### 3.3.1 MÉTHODE DE DIFFUSION DES DISQUES

Le pouvoir antibactérien de l'huiles essentielle a été déterminé en mesurant le diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne autour des disques après 24h d'incubation à 37°C. La sensibilité des bactéries vis-à-vis de l'huile essentielle a été estimée par le diamètre des zones d'inhibition comme décrit par [23]. Le chloramphénicol a été utilisé comme antibiotique de référence. Les résultats sont présentés sur la figure 1.



**Fig. 1.** Diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* et du Chloramphénicol

### 3.3.2 MÉTHODE DE MICRO-DILUTION

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la plante étudiée a été également estimée en déterminant les concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB).

Les résultats exprimés en concentration minimale inhibitrice (CMI) et en concentration minimale bactéricide (CMB) par la méthode de micro-dilution pour l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera*, ainsi que pour le chloramphénicol sont présentés dans le tableau 3

**Tableau 3.** CMI et CMB de l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* et du Chloramphénicol

Bactéries	Huile essentielle		Chloramphénicol
	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	
<i>ABMR P1483</i>	5	10	2,5
<i>Proteus mirabilis</i> Bu190	-	-	0,06
<i>Salmonella</i> spp. H1548	-	-	0,03
<i>E. Coli</i> ATCC 25922	-	-	0,25
<i>E. Coli</i> BLSE Bu8566	-	-	0,5
<i>KP</i> ATCC 700603	-	-	1,25
<i>PA</i> ATCC 27853	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i> Bu147	-	-	-
<i>SARM</i> P1123	0,5	1,25	2,5
<i>Enterococcus faecium</i> H3434	0,03	0,5	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2,5	5	0,5

## 4 DISCUSSION

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle d'*H. spicigera* a permis l'identification de 39 composés représentant environ 97,88% des composés identifiés. Les principaux constituants de cette huile sont le (E) - $\beta$ -caryophyllène (38,04%), l'oxide de caryophyllène (22,50%), le 1,8-cinéole (3,15%), le sabinène (2,68%), l' $\alpha$ -humulène (2,64%), le terpinène-4-ol (2,47%) et le  $\beta$ -pinène (2,36%). La classe des sesquiterpènes hydrocarbonés représente la proportion la plus élevée (49,22%), suivie par les sesquiterpènes oxygénés (23,3%). Les monoterpènes hydrocarbonés (12,81%) et les monoterpènes oxygénés (10,48%) constituent les groupes de composés les moins abondants dans cette huile. Dans la littérature des travaux sur la composition chimique de l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* sont rapporté dans d'autres pays. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés sur la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce du Bénin, du Mali et du Togo [3], [24], [25]. Dans l'huile essentielle d'*H. spicigera* du Niger nous avons obtenu le (E) - $\beta$ -caryophyllène (38,04%) qui est le composé le plus abondant, avec une quantité supérieure à celle rapportée dans l'huile de l'espèce du Mali (23-28%) et du Togo (33,8%). Cependant, le pourcentage le plus élevé en (E) - $\beta$ -caryophyllène a été obtenu dans l'huile essentielle d'*H. spicigera* du Bénin (7,0- 53,2%). Par contre,  $\alpha$ -pinène a été rapporté comme le composé le plus abondant de l'huile essentielle de l'espèce du Cameroun, du Sénégal, du Burkina Faso et du Nigéria [26], [27], [28], [29]. En comparant nos résultats avec ceux de la littérature, nous constatons une très grande variabilité chimique des huiles essentielles extraites d'*H. spicigera*. Cela peut être due à l'impact de nombreux facteurs sur la qualité et la quantité des huiles essentielles: provenance, conditions environnementales, période de récolte, potentiel génétique, variations climatique et techniques de récolte [30], [31]. D'après nos investigations, aucune étude n'a été réalisée auparavant sur cette plante au Niger.

L'analyse des résultats du tableau 2 montre que l'huile essentielle de la plante *Hyptis spicigera* présente une activité antioxydante modéré vis-à-vis du radical DPPH\* avec un  $IC_{50}$  de 4,56 mg/mL. En comparant avec l'acide ascorbique, ce dernier possède la plus faible valeur de  $IC_{50}$  (0,044 mg/mL) et donc une meilleure activité antioxydante que l'huile essentielle. Dans la littérature les auteurs [32], ont rapporté l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* du Burkina Faso évaluée par la méthode du piégeage du radical DPPH\*: ils ont obtenu un pourcentage d'inhibition de  $41,70 \pm 3,10\%$  à la concentration de 8 mg/mL. De même l'huile essentielle a exprimé une activité réductrice du fer moyenne, traduite par une valeur de  $CE_{50}=2,51$  mg/mL. Cependant, l'acide ascorbique a présenté un meilleur pouvoir réducteur de fer ( $CE_{50}=0,028$  mg/mL).

Les résultats présentés à la figure 1 indiquent que l'huile essentielle a montré des degrés d'inhibition de la croissance bactérienne très différents. On constate que l'huile essentielle est plus active que l'antibiotique chloramphénicol. Celle-ci a présenté une meilleure inhibition de la croissance bactérienne traduit par le plus grand diamètre de la zone d'inhibition contre les souches *Enterococcus faecium* H3434 ( $35 \pm 1,5$  mm) et *SARM* P1123 ( $20 \pm 2$  mm). Le chloramphénicol était plus actif que

l'huile essentielle contre les souches *Proteus mirabilis* Bu190, *Salmonella* spp. H1548, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* BLSE Bu8566, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 et *S. aureus* ATCC 25923. L'inhibition maximale du chloramphénicol a été enregistrée contre la souche *Salmonella* spp. H1548 ( $30 \pm 2$  mm). Toutefois, l'huile essentielle était inactive contre les bactéries *Salmonella* spp. H1548, *E. Coli* ATCC 25922, *E. Coli* BLSE Bu8566, *Enterobacter cloacae* Bu147, *Proteus mirabilis* Bu190, *KP* ATCC 700603 et *PA* ATCC 27853. Quant au chloramphénicol il était inactif contre la souche *Enterococcus faecium* H3434.

Les résultats de la présente étude montrent que l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* est plus active sur les bactéries à Gram-positif que sur les bactéries à Gram-négatif, contrairement à l'antibiotique chloramphénicol. Cette différence peut être due à la structure de la paroi cellulaire des bactéries. Les bactéries à Gram-négatif ont été trouvées comme étant plus résistantes à l'effet des produits naturels tels que les huiles essentielles, en raison de leur membrane lipopolysaccharide externe qui leur permet d'être plus résistantes [33].

Les résultats du tableau 3 montrent que les activités inhibitrice et bactéricide de l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* sont très variables selon les bactéries testées. On observe une forte activité antibactérienne de l'huile essentielle sur la souche *Enterococcus faecium* H3434 avec des concentrations minimales inhibitrice et bactéricide de 0,03 et 0,5 mg/mL respectivement. Une bonne activité a été également obtenue sur la souche *SARM* P1123 avec une CMI = 0,5 mg/mL et une CMB = 1,25 mg/mL. Pour *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 une activité relativement faible a été enregistrée avec des valeurs de CMI et CMB de 2,5 et 5 mg/mL respectivement. Chez la souche *ABMR* P1483, la CMI était de 5 mg/mL et la CMB de l'ordre de 10 mg/mL, ce qui démontre une faible sensibilité de cette souche vis-à-vis de l'huile essentielle. Quant au chloramphénicol il a exercé une forte activité antibactérienne sur les souches *Salmonella* spp. H1548 et *Proteus mirabilis* Bu190 avec des concentrations minimales inhibitrices de 0,03 et 0,06 mg/mL respectivement. Toutefois, *ABMR* P1483 et *SARM* P1123 étaient moins sensibles au chloramphénicol comparativement aux autres souches bactériennes. On constate que l'antibiotique de référence était plus actif sur la majorité des souches testés contrairement à l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* qui n'étaient actifs que sur quatre (4) souches. Les résultats de la présente étude montrent une résistance de certaines bactéries testées vis-à-vis de l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera*.

## 5 CONCLUSION

Ce travail nous a permis de démontrer que l'huile essentielle d'*Hyptis spicigera* du Niger est riche en composés bioactifs avec 39 composés identifiés et le chémotype de cette huile est de type (*E*) - $\beta$ -caryophyllène. Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle possède une activité antioxydante modérée. Il faut noter aussi la concordance des résultats obtenus avec les deux méthodes sur l'activité antioxydante. Au vu de son activité et du fait que la capacité antioxydante déterminée est en relation directe avec le contenu en métabolites secondaires de l'huile essentielle, on peut considérer cette plante comme source alternative d'antioxydants naturels à utiliser pour lutter contre les pathologies causées par les radicaux, protéger l'organisme contre le stress oxydatif, dans le domaine alimentaire pour lutter contre l'oxydation des produits et dans le domaine pharmaceutique entant que remède pour certaines maladies. L'huile essentielle de notre plante a démontré un bon potentiel antibactérien vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes testées. Cependant, les bactéries à Gram-positif testées étaient plus sensibles à l'huile essentielle que les bactéries à Gram-négatif. Les résultats obtenus dans la présente étude ont permis de mettre en évidence le potentiel antibactérien de cette plante en vue de sa valorisation et de son utilisation notamment, pour lutter contre les infections microbiennes. Ceci indique que cette plante constitue une source naturelle de composés bioactifs et peut être utilisée pour le développement de composés alternatifs pour traiter les infections causées par ces bactéries pathogènes étudiés. Ainsi ces résultats peuvent justifier les différents usages traditionnels de cette plante dans le traitement de certaines maladies.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient:

Le Professeur Jean Luc-Pirat, ENSCM, Montpellier-France, de son aide pour la réalisation de l'analyse de l'huile essentielle; Dr Nabila Soraa et Ilham Dilogui, Laboratoire de Virologie et Microbiologie du Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI de Marrakech, Université Cadi Ayyad, Marrakech-Maroc, pour leur accueil et leur aide.

## REFERENCES

- [1] J. Hutchinson, D. J. McEwen., and and Hepper F.N, *Flora of West Tropical Africa. Volume II.*, 2nd ed. London: Crown Agents for Oversea Governments and Administrations, 1963.
- [2] J. Kerharo and J. G. Adam, «La pharmacopee senegalaise traditionnelle: plantes medicinales et toxiques.» Paris (France) Vigot, 1974.
- [3] Bogninou-Agbedinoukoun G.S. and n, «Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Hyptis spicigera* Lam against human breast adenocarcinoma cells MCF-7,» *Res. J. Chem. Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 27–31, 2013.
- [4] C. Takayama, F. M. De-Faria, A. C. A. De Almeida, D. O. Valim-Araújo, C. S. Rehen, R. J. Dunder, E. A. R. Socca, L. P. Manzo, A. L. Rozza, M. J. Salvador, C. H. Pellizzon, C. A. Hiruma-Lima, A. Luiz-Ferreira, and A. R. M. Souza-Brito, «Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam. (Lamiaceae),» *J. Ethnopharmacol.*, vol. 135, no. 1, pp. 147–155, 2011, doi: 10.1016/j.jep.2011.03.002.
- [5] O. A. Onayade, A. Looman, J. J. C. Scheffer, and A. B. Svendsen, «Composition of the herb essential oil of *Hyptis spicigera* Lam.,» *Flavour Fragr. J.*, vol. 5, no. 2, pp. 101–105, 1990, doi: 10.1002/ffj.2730050209.
- [6] F. Kini, B. Kam, J. P. Aycard, E. M. Gaydou, and I. Bombarda, «Chemical composition of the essential oil of *Hyptis spicigera* Lam. From Burkina Faso,» *J. Essent. Oil Res.*, vol. 5, no. 2, pp. 219–221, 1993, doi: 10.1080/10412905.1993.9698206.
- [7] J. D. H. Lambert, J. Gale, J. T. Arnason, and B. J. R. Philogene, «Bruchid control with traditionally used insecticidal plants *Hyptis spicigera* and *Cassia nigricans*,» *Int. J. Trop. Insect Sci.*, vol. 6, no. 02, pp. 167–170, 1985. doi: 10.1017/s1742758400006573.
- [8] J. M. Dalziel, *The useful plants of west tropical Africa*. London: Crown Agents for the Colonies, 1937.
- [9] B. Bayala, «Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes,» Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2014.
- [10] K. Ikhir, M. Garba, and M. Saadou, «Pharmacopee traditionnelle : Recherche Sur La Pharmacopee Au Niger,» *OUA/CELTHO*, pp. 31–35, 1984.
- [11] J. F. Clevenger, «Apparatus for the Determination of Volatile Oil,» *J. Am. Pharm. Assoc.*, vol. 17, no. 4, pp. 345–349, Apr. 1928, doi: 10.1002/jps.3080170407.
- [12] R. P. Adams, *Identification Of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, Ed. 4.1. Carol Stream, IL: Allured publishing corporation, 2017.
- [13] M. S. Blois, «Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical,» *Nature*, vol. 181, no. 4617, pp. 1199–1200, Apr. 1958, doi: 10.1038/1811199a0.
- [14] D. Villaño, M. S. Fernández-Pachón, M. L. Moyá, A. M. Troncoso, and M. C. García-Parrilla, «Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical,» *Talanta*, vol. 71, no. 1, pp. 230–235, Jan. 2007. doi: 10.1016/j.talanta.2006.03.050.
- [15] A. Yıldırım, A. Mavi, and A. A. Kara, «Determination of Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Rumex crispus* L. Extracts,» *J. Agric. Food Chem.*, vol. 49, no. 8, pp. 4083–4089, Aug. 2001, doi: 10.1021/jf0103572.
- [16] W. Megdiche-Ksouri, N. Trabelsi, K. Mkaouer, S. Bourgou, A. Noumi, M. Snoussi, R. Barbria, O. Tebourbi, and R. Ksouri, «*Artemisia campestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity,» *Ind. Crops Prod.*, vol. 63, pp. 104–113, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.10.029.
- [17] I. Ben El Hadj Ali, M. Chaouachi, R. Bahri, I. Chaieb, M. Boussaïd, and F. Harzallah-Skhiri, «Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut.,» *Ind. Crops Prod.*, vol. 77, pp. 631–639, Dec. 2015, doi: 10.1016/j.indcrop.2015.09.046.
- [18] A. Chrysargyris, P. Xylia, G. Botsaris, and N. Tzortzakis, «Antioxidant and antibacterial activities, mineral and essential oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) affected by the potassium levels,» *Ind. Crops Prod.*, vol. 103, no. August 2016, pp. 202–212, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.indcrop.2017.04.010.
- [19] A. A. Mostafa, A. A. Al-askar, K. S. Almaary, T. M. Dawoud, E. N. Sholkamy, and M. M. Bakri, «Saudi Journal of Biological Sciences Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases,» *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 25, no. 2, pp. 361–366, 2018, doi: 10.1016/j.sjbs.2017.02.004.
- [20] N. Canillac and A. Mourey, «Effet des huiles essentielles de sapin et de pin sur quelques microorganismes d'affinage,» *MAN Microbiol. Aliment. Nutr.*, vol. 13, no. 3, pp. 267–273, 1995.
- [21] J.-P. Ganière, C. Mangion, and M. Peridy, «Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides de la cefquinome, la marbofloxacine, la tylosine et la spiramycine en solution dans du lait vis-à-vis de bactéries isolées de mammites bovines,» *Rev. Med. Vet. (Toulouse)*, vol. 155, no. 8–9, pp. 411–416, 2004, [Online]. Available: <https://hal.inrae.fr/hal-02679845>.

- [22] Y. Shahbazi, «Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial properties of *Ziziphora clinopodioides* Lam. essential oils collected from different parts of Iran,» *J. Food Sci. Technol.*, vol. 54, no. 11, pp. 3491–3503, Oct. 2017, doi: 10.1007/s13197-017-2806-2.
- [23] A. G. Ponce, R. Fritz, C. del Valle, and S. I. Roura, «Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard,» *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 36, no. 7, pp. 679–684, Nov. 2003, doi: 10.1016/S0023-6438 (03) 00088-4.
- [24] L. Sidibé, J.-C. Chalchat, and R.-P. Garry, «Aromatic Plants of Mali (III): Chemical Composition of Essential Oils of Two *Hyptis* Species: *H. suaveolens* (L.) Poit. and *H. spicigera* Lam.,» *J. Essent. Oil Res.*, vol. 13, no. December 2014, pp. 55–57, 2001, doi: 10.1080/10412905.2001.9699605.
- [25] K. Koba, C. Raynaud, J. Millet, J. P. Chaumont, and K. Sanda, «Chemical composition of *Hyptis pectinata* L., *H. Lanceolata* Poit, *H. Suaveolens* (L) Poit and *H. Spicigera* Lam. essential oils from Togo,» *J. Essent. Oil Bear. Plants*, vol. 10, no. 5, pp. 357–364, 2007, doi: 10.1080/0972060X.2007.10643567.
- [26] F. Noudjou; H. Kouninki, L. S. T. Ngamo, P. M. Maponmestsem, M. Ngassoum, T. Hance, E. Haubrige, F. Malaisse, M. Marlier, and G. C. Lognay, «Effect of site location and collecting period on the chemical composition of *hyptis spicigera* Lam. an insecticidal essential oil from North-Cameroon,» *J. Essent. Oil Res.*, vol. 19, no. 6, pp. 597–601, 2007, [Online]. Available: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-37049013520&partnerID=tZOTx3y1>.
- [27] M. T. Gueye; A. Diallo, S. Gueye, D. Seck, E. Assiedu, J. Wathélet, and G. Lognay, «Analysis of the Composition of Plant Essential Oil Used in Cereals and Legumes Storage in Senegal,» *J. Essent. Oil Bear. Plants*, vol. 19, no. 2, pp. 403–409, Feb. 2016, doi: 10.1080/0972060X.2014.935019.
- [28] D. Wangrawa, A. Badolo; Z. Ilboudo, W. Guelbéogo, M. Kiendrébeogo, R. Nébié, N. Sagnon, and A. Sanon, «Insecticidal Activity of Local Plants Essential Oils Against Laboratory and Field Strains of *Anopheles gambiae* s. l. (Diptera: Culicidae) From Burkina Faso,» *J. Econ. Entomol.*, vol. 111, no. 6, pp. 2844–2853, Oct. 2018, doi: 10.1093/jee/toy276.
- [29] Z. Ladan, O.J. Amupitan, A.O. Oyewale, M.E. Okonkwo, O.E. Ladan, B. Odjobo, N. Habil, «Chemical composition and biological activity of the volatile oils of *Hyptis spicigera* against *Trypanosoma brucei brucei*, (Tbb) found in Northern Nigeria,» *African J. Pure Appl. Chem.*, vol. 5, no. 4, pp. 53–58, 2011.
- [30] B. Bernhardt, K. Szabó, and J. Bernáth, «Sources of variability in essential oil composition of *Ocimum americanum* and *Ocimum tenuiflorum*,» *Acta Aliment.*, vol. 44, no. 1, pp. 111–118, Mar. 2015, doi: 10.1556/AAlim.44.2015.1.11.
- [31] E. H. Loukili, F. Abrigach, M. Bouhrim, M. Bnouham, M. Fauconnier, and M. Ramdani, «Chemical Composition and Physicochemical Analysis of *Opuntia dillenii* Extracts Grown in Morocco,» *J. Chem.*, vol. 2021, pp. 1–11, Jan. 2021, doi: 10.1155/2021/8858929.
- [32] B. Bayala, I. Bassole, C. Gnoula, R. Nebie, A. Yonli, L. Morel, G. Figueiredo, J. Nikiema, J. Lobaccaro, and J. Simpore, «Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Proliferative Activities of Essential Oils of Plants from Burkina Faso,» *PLoS One*, vol. 9, no. 3, p. e92122, Mar. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0092122.
- [33] V. D. da Silva, F. Almeida-Souza, A. Teles, P. Neto, R. Mondego-Oliveira, N. Mendes-Filho, N. Taniwaki, A. Abreu-Silva, K. Calabrese, and V. Mouchrek-Filho, «Chemical composition of *Ocimum canum* Sims. essential oil and the antimicrobial, antiprotozoal and ultrastructural alterations it induces in *Leishmania amazonensis* promastigotes,» *Ind. Crops Prod.*, vol. 119, no. March, pp. 201–208, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.indcrop.2018.04.005.