



UNIVERSITÉ D'ANTANANARIVO
ÉCOLE SUPÉRIEURE POLYTECHNIQUE
D'ANTANANARIVO



Ecole Doctorale : Génie des Procédés et des Systèmes
Industriels, Agricoles et Alimentaires (GPSIAA)



SYNTHESE

Présentée pour l'obtention de

L'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Ayant pour thème

**« ETUDES CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES DE
PLANTES MEDICINALES DE MADAGASCAR A
INTERET ECONOMIQUE »**

VOLUME 1 : CURRICULUM VITAE ET DOCUMENT DE SYNTHESE

Par

RANARIVELO RANAIVOARISON Lalasoanirina

Docteur Ingénieur en Génie Chimique, Maître de Recherches

Soutenu le 23 Juin 2017 devant la Commission de jury composée de

Président	M. ANDRIANAHAIRISON Yvon, Professeur Titulaire
Directeur	M. RAMANOELINA Panja, Professeur Titulaire
Rapporteur interne	M. RAKOTOMARIA Etienne, Professeur Titulaire Emérite
Rapporteur externe	M. RATSIMBASON Michel, Directeur de Recherche Associé
Examinateurs	M. ANDRIANARY Philippe, Professeur Titulaire Mme RAVELOMANANTS OA RAMANAMBE Nicole, Professeur Titulaire

à

*« Celui qui a commencé en moi une œuvre bonne,
en poursuivra l'achèvement... »*

Philippiens, 1 : 6

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX	III
LISTE DES FIGURES ET DES PHOTOS	III
LISTE DES ACRONYMES	IV
LISTE DES ABREVIATIONS	V
REMERCIEMENTS	VI
TENY FISAORANA	VIII
AVANT-PROPOS	X
CHAPITRE I : CURRICULUM VITAE.....	1
I.1 CURSUS UNIVERSITAIRE.....	2
I.2 STAGES ET FORMATIONS	3
I.2.1 <i>Stages sur les plantes aromatiques et les huiles essentielles</i>	3
I.2.2 <i>Stages sur la chimie des produits naturels et les tests biologiques</i>	4
I.2.3 <i>Formations sur la Propriété intellectuelle</i>	4
I.3 EXPERIENCES PROFESSIONNELLES	5
I.3.1 <i>Travaux de consultance</i>	6
I.3.2 <i>Activités pédagogiques</i>	6
I.4 ACTIVITES ADMINISTRATIVES	7
I.5 PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES	8
I.5.1 <i>Publications de notoriété internationale</i>	8
I.5.2 <i>Publications de notoriété nationale</i>	9
I.5.3 <i>Communications Scientifiques</i>	10
I.6 AUTRES ACTIVITES DE RECHERCHE	12
I.7 COLLABORATIONS.....	14
CHAPITRE II : SYNTHESE DES TRAVAUX	16
II.1 INTRODUCTION GENERALE	17
II.2 PARCOURS DANS LA RECHERCHE SUR LES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES.....	19
II.2.1 <i>Période de la préparation du DEA : « Plantes aromatiques et Contrôle de qualité des HE »</i>	19
II.2.2 <i>Période de la préparation du doctorat : label « Natiora » et caractérisation des HE « Cinnamomum camphora et Ravensara aromatica »</i>	21
II.2.3 <i>Période post doctorale 2006</i>	22
II.2.4 <i>Encadrements d'étudiants</i>	24
II.3 SYNTHESE DES RESULTATS DES TRAVAUX SUR LES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES.....	30
II.3.1 <i>Présentation de la problématique</i>	30
II.3.2 <i>Contrôle de qualité de l'HE de géranium</i>	30

II.3.3	<i>Activité antiplasmodiale de 20 huiles essentielles de Madagascar.....</i>	34
II.3.4	<i>Activité antiplasmodiale et antifongique des huiles essentielles de Katrafay.....</i>	38
II.3.5	<i>Activités antiplasmodiale et antioxydante des extraits de Helichrysum gymnocephalum (DC.) Humbert, (Asteraceae). Isolement de la cardamomin.....</i>	41
II.4	RECHERCHES EN COURS ET PERSPECTIVES.....	51
II.4.1	<i>Travaux de recherche sur Tetradenia nervosa</i>	52
II.4.2	<i>Travaux de recherche sur Helichrysum gymnocephalum.</i>	52
II.4.3	<i>Autres travaux.....</i>	53
II.4.4	<i>Perspectives sur l'exploitation de la Propriété intellectuelle</i>	54
CONCLUSION GENERALE		55
REFERENCES	57
ANNEXES	68

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Odeur, couleur, indice de réfraction des variétés de géranium de source commerciale, de Madagascar et de l'île de La Réunion	32
Tableau 2 : Composition chimique d'huiles essentielles de géranium de Madagascar, de l'île de la Réunion et des échantillons de géranium type Bourbon, Biologique, type Egypte, type Chine du Commerce	33
Tableau 3 : Constituants majoritaires et activité antiplasmodiale de 20 huiles essentielles contre <i>Plasmodium falciparum</i> FCM29	37
Tableau 4 : Résultats préliminaires sur les HE de <i>Cedrelopsis</i>	41
Tableau 5 : Résultats du criblage phytochimique des parties aériennes de <i>H. gymnocephalum</i>	47
Tableau 6 : Activité antioxydante des extraits de <i>H. gymnocephalum</i> et du composé isolé DCL124b testés à 1 mg/mL	49

LISTE DES FIGURES ET DES PHOTOS

Figure 1 : Structures des composés identifiés de <i>C. dealbata</i>	29
Figure 2 : Structure du cardamomin.....	48
Photo 1 : Distribution des espèces de <i>Cedrelopsis</i> à Madagascar.....	40
Photo 2 : <i>Helichrysum gymnocephalum</i> (Photo: Rakotonandrasana, CNARP).....	43

LISTE DES ACRONYMES

AFNOR	Association Française de Normalisation
ASF	Aromathérapie Sans Frontières
CATI	Centre d'Appui à la Technologie et à l'Innovation
CLAM	Consortium des Laboratoires Agroalimentaires de Madagasikara
CNARP	Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques
DEA	Diplôme d'Etudes Approfondies
ESPA	Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo
ESSA	Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques
GPSIAA	Génie des Procédés et des Systèmes Industriels, Agricoles et Alimentaires
ICBG	International Cooperative Biodiversity Group
IMRA	Institut Malgache de Recherches Appliquées
ISO	International Standard Organisation
LDI	Landscape Development Interventions
LPN	Laboratoire des Produits Naturels
OMAPI	Office Malgache de la Propriété Industrielle
OMPI	Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
ONUDI	Organisation des Nations Unies pour le Développement Industriel
PNUD	Programme des Nations Unies pour le Développement
PRONABIO	Groupement Professionnel des Opérateurs en Agri-Business des Produits Naturels et Biologiques de Madagascar
SARIMA	Southern African Research and Innovation Management Association
SYPEAM	Syndicat Professionnel des Producteurs d'Extraits Aromatiques, Alimentaires et Médicinaux de Madagascar
VPISU	Virginia Polytechnic Institute and State University
WIPO	World Intellectual Property Organization

LISTE DES ABREVIATIONS

ACP	Analyse en Composantes Principales
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AFD	Analyse Factorielle Discriminante
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
COSY	Correlation SpectroscopY
COSY-LR	Correlation SpectroscopY-Long Range
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CPG/SM	Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
DEPT	Distortionless Enhanced Polarization Transfer
DPPH	2, 2-Diphényl-1-picrylhydrazyle
ESI/MS	ElectroSpray Ionisation-Mass Spectrometry
HE	Huile essentielle
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IC₅₀	Concentration provoquant 50% d’Inhibition
IR	Infrarouge
NOESY	Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
UV	Ultraviolet

REMERCIEMENTS

La réalisation de cette synthèse a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner ma reconnaissance.

Je voudrais adresser ma gratitude à Monsieur Ramanoelina Panja, Président de l'Université d'Antananarivo, Professeur titulaire de l'ESSA, d'avoir accepté de diriger ce travail. Je lui suis reconnaissante pour sa disponibilité, son appui et l'intérêt qu'il a porté à mes travaux de recherche.

J'adresse également mes sincères remerciements à Monsieur Randrianaharison Yvon, Directeur de l'ESPA, Professeur titulaire, d'avoir accepté de présider ce jury.

J'adresse mes chaleureux remerciements à Monsieur Ratsimbason Michel, Directeur de recherches associé du CNARP, pour sa contribution en tant que rapporteur externe de ce travail. Qu'il trouve ici ma vive reconnaissance.

Je suis très sensible à l'honneur que me fait Monsieur Rakotomaria Etienne, Professeur émérite de l'ESPA, en acceptant d'être le rapporteur interne de cette synthèse. Je le remercie vivement pour cette marque d'intérêt et l'honneur qu'il me fait pour avoir accepté de participer à ce jury.

J'adresse mes sincères remerciements à :

- Madame Ravelomanantsoa Ramanambe Nicole, Professeur titulaire de l'ESPA,
- Monsieur Andrianary Philippe, Professeur titulaire de l'ESPA,

d'avoir accepté de juger ce travail.

Je réitère mes remerciements à tous les membres du Jury d'avoir bien voulu contribuer à l'évaluation de cette synthèse pour l'obtention de l'Habilitation à Diriger des Recherches.

Par ailleurs, les analyses en CPG/SM, les enregistrements des spectres RMN et SM, ainsi que leurs interprétations ont été réalisés grâce aux différentes collaborations nationales et internationales. En particulier, je remercie vivement :

- Le Laboratoire « New Use Agriculture and Natural Plant Products » de l'Université de Rutgers, New Jersey, USA, dirigé par Professeur James Simon qui m'a accueillie sous l'encadrement du Professeur H. Rodolfo Juliani ;
- Le Département de Chimie de « Virginia Polytechnic Institute and State University », USA, dirigé par Professeur David Kingston ;

- Le Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université Paris Descartes, dirigé par le Professeur Sylvie Michel qui a accepté de recevoir et d'encadrer nos chercheurs et étudiants avec le Professeur Brigitte Deguin et le Docteur HDR Raphaël Grougnet pour les analyses spectrales RMN et SM ;
- Le Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Rouen dirigé par le Professeur Elisabeth Seguin, pour avoir accueilli les chercheurs du CNARP et le Professeur Philippe Vérité qui a encadré les analyses CPG/SM ;
- Docteur Roman Kaiser du Laboratoire de Givaudan, Suisse ;
- Docteur Pierre Franchomme, de l'Association « Aromathérapie sans Frontières » et son équipe, pour les analyses et les formations continues durant trois années successives.

Mes vifs remerciements s'adressent également :

- à Monsieur Randriambololona Charles, Président du SYPEAM/PRONABIO, et à toute son équipe pour leur confiance et leur franche collaboration ;
- à l'Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo, à L'Ecole Doctorale GPSIAA, de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo ainsi qu'aux étudiants que j'ai encadrés ;
- aux Organismes et Programmes tels que ICBG, PNUD, ONUDI, USAID, ASNAPP, OMPI, SARIMA, ASF, ... pour leur soutien financier, pour m'avoir donné l'occasion de réaliser des stages et des formations tant à Madagascar qu'à l'extérieur.

Je tiens à présenter mes sincères remerciements au Directeur du CNARP, Monsieur Ratsimbason Michel, qui n'a cessé de m'encourager à persévéérer dans mes travaux.

Je ne saurai oublier de remercier tous les chercheurs, les techniciens, le personnel d'appui du CNARP, pour leur participation, de près ou de loin, dans l'aboutissement de ce travail.

Toute ma gratitude et ma reconnaissance vont particulièrement à Rachel Razafimbelo pour sa gentillesse d'avoir consacré beaucoup de temps lors de l'édition de cet ouvrage.

Je ne saurai terminer mes remerciements sans souligner ici ma famille pour son soutien moral et ses encouragements sans relâche.

TENY FISAORANA

Ny fahatontosan'ny asa atolotra etoana dia vokatry ny fiaraha miasa isan-tsokajiny, koa dia tolorana fisaorana sy fankasitrahana.

Tolorako fisaorana eram-po eran-tsaina :

- Andriamatoa Profesora Ramanoelina Panja, Prezidan'ny Universite an' Antananarivo,
- Andriamatoa Randrianaharison Yvon, Talen'ny ESPA,
- Andriamatoa Ratsimbason Michel, Talen'ny CNARP,
- Andriamatoa Rakotomaria Etienne, Profesora Emerita, ESPA,
- Ramatoa Ravelomanantsoa Ramanambe Nicole, Profesora ESPA
- Andriamatoa Andrianary Philippe, Profesora, ESPA

Noho izy ireo nanaiky hanome tombana sy hitsara izao asa hahazoana ny « HDR » (Fahafahana hitarika fikarohana).

Tsy adinoko koa misaotra betsaka ireo mpiara-miasa nanatanteraka fitiliana CPG/SM, RMN sy SM, koa tsongaina manokana :

- Prof. James Simon sy Prof. Hector Rodolfo Juliani, ao amin'ny Laboratoara « New Use Agriculture and Natural Plant Products », Universite Rutgers, New Jersey, USA;
- Dr. Roman Kaiser ao amin'ny Laboratoire Givaudan, Suisse ;
- Dr Pierre Franchomme, Filohan'ny fikambanana « Aromathérapie sans Frontières », Frantsa ;
- Prof. David Kingston, Departementa Simia, Universite “Virginia Polytechnic Institute and State University”, USA;
- Profesora isany : Sylvie Michel, Brigitte Deguin sy Dr HDR Raphaël Grougnet ao amin'ny « Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université Paris Descartes », Frantsa ;
- Profesora isany : Elisabeth Seguin sy Philippe Vérité, ao amin'ny « Laboratoire de Pharmacognosie » Université ao Rouen, Frantsa ;

Fankasitrahana koa no atolotro an'Andriamatoa Randriambololona Charles, Filohan' fikambanana SYPEAM/PRONABIO, sy ny mpikambana ao aminy, noho ny fahatokisana amin'ny fiaraha miasa.

Tolorana ny fisaorana ihany koa ny « Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo », ny « Ecole Doctorale GPSIAA », ny « Faculté des Sciences » ny Oniversite an'Antananarivo ary ireo mpianatra natao tan-tSOROKA tao amin'ny CNARP.

Tsy adinoko ny misaotra ny Programa sy ny Fikambanana iraisam-pirenenana isany : ICBG, PNUD, ONUDI, USAID, ASNAPP, OMPI, ASF, SARIMA... niantoka ny fiofanana teto Madagasikara sy tany ivelany.

Tiako ny manantitra etoana ny fisaorana tanteraka :

- ny talen'ny CNARP, Andriamatoa Ratsimbason Michel, amin'ny fanohanana sy famporisihina hatrany eo amin'ny asa fikarohana,
- ireo namana Mpikaroka, Teknisanina, sy Mpiara-miasa rehetra eto amin'ny CNARP tamin'ny fahatontosan'izao asa izao.

Manolotra ny fankasitrahana feno ho an'ny namako Rachel Razafimbelo noho ny fanampiana betsaka tamin'ny fanontana izao asa izao.

Ny hamaranako ny teny fisaorana dia ny fanolorako ny fankatelemana ny ankohonako sy ny fianakaviako tamin'ny fanohanana ara-tsaina sy ny fankaherezena sesilany.

AVANT-PROPOS

Les principaux thèmes de recherche auxquels je me suis toujours impliquée sont rattachés en général aux travaux d'identification et de caractérisation des huiles essentielles et des plantes médicinales. C'est ainsi, qu'au CNARP, j'ai été en charge du contrôle de qualité des huiles essentielles et de l'étude chimique de nouvelles plantes aromatiques en vue d'identifier de nouvelles huiles essentielles de Madagascar présentant des intérêts thérapeutiques et économiques utilisables dans la formulation de phytomédicaments ou de produits parapharmaceutiques et en aromathérapie permettant de donner une nouvelle impulsion à la filière huile essentielle.

Par ailleurs, mes activités se sont également tournées vers la promotion de la qualité en vue de l'épanouissement de la filière huile essentielle en relation directe avec les producteurs et promoteurs. C'est dans ce contexte que j'ai accepté la responsabilité de Secrétaire Général du Syndicat Professionnel des Producteurs d'Extraits Aromatiques Alimentaires et Médicinaux de Madagascar rallié au Groupement Professionnel des Opérateurs en Agri-Business des Produits Naturels et Biologiques de Madagascar (SYPEAM/PRONABIO) afin d'apporter ma contribution en termes techniques et scientifiques dans l'amélioration de la qualité des produits du syndicat pour dynamiser leur commercialisation.

Dans le contexte actuel du marché international, les notions de propriété intellectuelle et de normalisation sont incontournables pour que la balance commerciale des produits destinés à l'exportation penche en faveur des producteurs malgaches. C'est la raison pour laquelle j'ai entrepris de suivre divers cycles de formations dispensées par l'Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle, pour maîtriser ce nouvel état d'esprit et apporter ma contribution dans l'intégration de ces notions que ce soit au niveau des chercheurs qu'au niveau des producteurs nationaux afin d'améliorer la visibilité des produits malgaches. C'est également dans cette vision que s'intègre la mise en place du label « Natiora ».

Dans ce mémoire est présenté un aperçu de mes travaux de recherche s'étendant sur 30 ans d'activités en tant que chercheur-enseignant au sein du Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques (CNARP), en parallèle avec ceux que j'ai menés lors de mes co-encadrements à l'Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo et à la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo. Ces travaux de recherches et d'enseignement mettent en exergue l'aspect commercial et économique auxquels doit aboutir toutes recherches, d'où l'orientation de mes activités sur la propriété intellectuelle, les normes et la standardisation.

Chapitre I : CURRICULUM VITAE

Nom et prénom RANARIVELO *née* RANAIVOARISON Lalasoanirina

Adresse Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques (CNARP),
professionnelle rue RP Rahajarizafy A. de Padoue, Ambohijatovo Ambodivoanjo, 101,
Antananarivo.

(+261) 32 02 473 81

Contact lranarivelo@yahoo.com

Connaissances Français : lu, écrit, parlé
linguistiques Anglais : lu, écrit, parlé.

I.1 CURSUS UNIVERSITAIRE

- 1984 Diplôme Universitaire d'Etudes Techniques en 1984. Etablissement d'Enseignement Supérieur Polytechnique EESP actuel Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo (ESPA), Filière Génie chimique
- 1986 Diplôme d'Ingénieur en Génie Chimique. SPA. Filière Génie chimique
Titre du mémoire d'ingénieur : « Étude sur un secteur d'application des huiles essentielles : La composition en parfumerie ».
Directeur de Mémoire : Dr BOUCHET Philippe
- 1989 Diplôme d'Etudes Approfondies en Génie chimique. SPA. Option: Mise en valeur des Ressources Naturelles.
Titre du mémoire de DEA : « Contribution à l'étude de deux *Ocimum* cultivés sur les Hauts Plateaux ».
Directeur de Mémoire : Dr. RANDRIAMIHARISOA Philippson Robert

2006 Diplôme de Docteur Ingénieur en Génie Chimique. ESPA. Option : Mise en valeur des Ressources Naturelles. Titre du mémoire : « Contribution à la différentiation des huiles essentielles de Ravintsara: *Cinnamomum camphora* T.&Eberm et *Ravensara aromatica* Sonnerat de Madagascar ». Directeurs de Thèse :
- Pr. RASOLONDRAMANITRA VALISOLALAO Jocelyne
- Pr. RAMANOELINA Panja

I.2 STAGES ET FORMATIONS

I.2.1 *Stages sur les plantes aromatiques et les huiles essentielles*

- 1989 Advanced courses in Modern Method of Diagnosis and Prevention of Plant Diseases. International Cell Research Organization (ICRO). Novembre. Antananarivo/ Antsirabe. Novembre 1989
- 1990 Contrôle de qualité des huiles essentielles :
Mai- POLLENA-AROMA, Varsovie, Pologne
Mai- Société CHARABOT, Grasse, France
Juin- Société ADRIAN, Marseille, France.
Juin- Juillet- Université de St-Jérôme, Marseille, France
- 1992 Stage de formation sur les techniques de chromatographie, Laboratoire SAC/STARCHROM, Antananarivo du 01 au 30 Juin 1992.
- 1995 « International Training Program in New Crops: Aromatic and Medicinal Plants», Purdue University, Indiana, USA du 15 au 30 Juin 1995.
- 2000 « International Training Program in New Crops: Aromatic and Medicinal Plants », Purdue University, Indiana, USA du 15 au 30 Juin 2000.
- 2007 Formation sur les produits biologiques : « *Standard de qualité et Coopération commerciale sur les Produits biologiques de Madagascar* ». Munich, Bavière ; Allemagne du 15 au 28 Avril 2007.
- 2013 « *L'Aromathérapie en Infectiologie Tropicale* ». Aromathérapie sans

Frontières. Antsirabe du 23 au 27 Septembre 2013.

- 2014 « L’Aromathérapie dans les Pathologies Infectieuses et la Dermatologie ». Aromathérapie sans Frontières. Antsirabe du 15 au 19 Septembre 2014.
- 2016 « *L’Aromathérapie et gestion de la douleur* ». Aromathérapie sans Frontières (ASF). Antsirabe du 7 et 9 Septembre 2016.

I.2.2 *Stages sur la chimie des produits naturels et les tests biologiques*

- 1990 Stage de perfectionnement en chimie et essais biologiques des extraits de plantes médicinales et aromatiques, Avril- Research Institute of Medicinal Plants, Poznan, Pologne.06 Avril au 15 Mai 1990.
- 2003 « *Fractionnement, Isolement et identification de principes actifs de plantes* ». Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, USA. Projet ICBG, du 04 avril au 30 Septembre 2003.
- 2008 Formation sur le test antimalarial utilisant Sybr Green. ICBG/ Georgetown/CNARP. Antananarivo du 13 au 17 Octobre 2008.
- 2011 Formation sur les techniques de fractionnement et d’isolement des produits naturels- ICBG-VPISU/CNARP. Antananarivo du 10 au 25 Octobre2011.

I.2.3 *Formations sur la Propriété intellectuelle*

Initiée aux Services d’Appui à l’Innovation en 2004, j’ai suivi des cours et des ateliers sur la propriété intellectuelle. Depuis 2014, je représente le point focal du Centre d’Appui à la Technologie et l’Innovation (CATI) au CNARP.

- 2004 Atelier sur les Services d’Appui à l’Innovation et leur Gestion. OMPI/DDC/Institut Fédéral de la Propriété Intellectuelle. 29 Novembre au 10 Décembre 2004. Suisse
- 2005 Cours général de Propriété Intellectuelle. Enseignement à distance OMPI, 1^{er} Mars au 15 Avril 2005.
- 2011 Atelier de l’OMPI sur les stratégies et techniques de recherche d’informations en matière de brevets. OMPI/OMAPI. 25 au 27 Juillet 2011, Antananarivo.

2012	Atelier de l'OMPI relatif au Centre d'Appui à la Technologie et à l'Innovation (CATI). Deuxième atelier sur les stratégies et techniques de recherche d'informations en matière de brevets et lancement du CATI. OMPI/OMAPI. 09 et 10 Mai 2012, Antananarivo.
2014	<ul style="list-style-type: none"> • Atelier sur la rédaction des demandes de brevet d'invention. OMPI/OMAPI. 17 au 19 Juin 2014, Antananarivo. • Cours général de Propriété Intellectuelle. Enseignement à distance OMPI, 1er Octobre au 17 Novembre 2014.
2015	<ul style="list-style-type: none"> • Cours avancé sur « les Marques, les Dessins Industriels et les Indications Géographiques ». Enseignement à distance OMPI, 09 Septembre au 24 Novembre 2015. • Cours avancé sur « les Brevets ». Enseignement à distance OMPI, 07 Mai au 28 Juillet 2015.
2016	<ul style="list-style-type: none"> • Atelier « Fundamentals of Research and Innovation Management ». SARIMA/CNARP. 22-23 Juin 2016. Antananarivo. • Cours avancé sur « la Gestion de la Propriété Intellectuelle ». Enseignement à distance OMPI, 01 Septembre au 6 Décembre 2016. • « Wipo South Africa Advanced Summer School on Intellectual Property and Transfer of Technology ». WIPO /NIPMO/CIPC/Gouvernement du Japon/Gouvernement RSA. 05 au 15 Décembre 2016. Cape Town, Afrique du Sud.

I.3 EXPERIENCES PROFESSIONNELLES

Décembre 1987 à Juin 1990	Collaborateur technique, Responsable de l'Unité Pilote d'extraction des plantes médicinales et aromatiques au Centre National de Recherches Pharmaceutiques (CNARP).
Depuis 1990 à ce jour	Chercheur au département de chimie, responsable du contrôle de qualité des huiles essentielles.

I.3.1 *Travaux de consultance*

- 1990 *Consultante du PNUD/ONUDI* – Projet DP/MAG/89/017
Assistance technique de Petits et Moyens Producteurs d'huiles essentielles et d'extraits aromatiques de Madagascar pour la mise au point et l'amélioration de la production : Sociétés SOMCIA Toamasina (girofle, niaouli), SOCOFEN Fenerivo-Atsinanana (girofle), SEP Antalaha (girofle), SODICROIVAL Anjozorobe (géranium).
- 1993 *Consultante de ONUDI* Projet ONUDI/DDIA/XA/RAF/93/617 : « Promotion de la Qualité Industrielle des Huiles Essentielles, Epices et Arômes de la Région de l'Océan Indien ».
- L'Atelier Régional de formation consistait à présenter les monographies de quelques huiles essentielles et épices de la Région. Organisé par ONUDI/CNARP. Octobre-Novembre 1993.
- 2002 *Consultante auprès du PNUD* : Responsable de la formation des membres de Groupements professionnels nationaux de la filière Huiles Essentielles en contrôle de qualité de leurs produits. PNUD MAG/97/007- DAPI- Composante « Appui au secteur privé ». Décembre 2002
- Consultante représentant le CNARP* dans l'équipe scientifique travaillant sur la mise en place du label Natiora (Label de Qualité des Produits Naturels de Madagascar) sous la tutelle de Landscape Development Interventions LDI/Chemonics International et Pronabio-Sypeam. Mai à Juillet 2002 et Décembre 2002.
- 2003 *Consultante auprès de LDI/Chemonics International* : Coordination et suivi des tests en laboratoires en vue de la mise en place du label Natiora. Mars 2003

I.3.2 *Activités pédagogiques*

De 2013 à 2015 : cours de Phytochimie en DEA de Chimie Appliquée à l'Industrie et à l'Environnement de l'ESPA, intitulé : « A la recherche de principes actifs ».

a) *Encadrements d'étudiants en DEA de Chimie Appliquée à l'Industrie et à l'Environnement - SPA*

1. Harizafy Henintsoa : « Etudes chimique et biologique de *Psychotria bridsoniae* (Rubiaceae) de Madagascar », soutenu le 03 Février 2015.

2. Razafindralambo Mbolahanta : « Etudes chimique et biologique de *Psychotria oreotrephe*s (Rubiaceae) endémique de Madagascar », soutenu le 03 Février 2015.
3. Andrianarison Harizo Angela : « Etudes phytochimique et biologique des extraits de *Citrus hystrix* (Rutaceae) », soutenu le 27 Février 2015
4. Rabearison Niary Iriantsoa : « Etudes phytochimiques de quelques *Citrus* Malgaches (Rutacées) », soutenu le 27 Février 2015.

b) Encadrements d'étudiants en DEA : Laboratoire de Chimie Organique/Spectre de Masse de la Faculté des Sciences

1. Rakotoarivelo Joël : « Analyse de l'huile essentielle, isolement du stigmastérol et étude des activités biologiques de *Beilschmiedia microphylla* (Lauraceae) », soutenu le 13 Mars 2015
2. Rakotoarivelo Henintsoa : « Isolement, Analyse structurale par Spectrométrie de masse et Identification du type d'échantillon d'Ambre », soutenu le 30 Octobre 2015.

c) Jury de soutenance de Mémoire

DEA en Chimie Appliquée à l'Industrie et à l'Environnement (ESPA)

1. Harizafy Henintsoa « Etudes chimique et biologique de *Psychotria bridsoniae* (Rubiaceae) de Madagascar », soutenu le 03 Février 2015.
2. Rabearison Niary Iriantsoa. « Etudes phytochimiques de quelques *Citrus* Malgaches (Rutacées) », soutenu le 27 Février 2015.

DEA en Chimie des Substances Naturelles (Faculté des Sciences)

3. Joël Rakotoarivelo. « Analyse de l'huile essentielle, isolement du stigmastérol et étude des activités biologiques de *Beilschmiedia microphylla* (Lauraceae) », soutenu le 13 Mars 2015.

J'ai aussi participé à l'encadrement de thésard :

RANDRIAMIALINORO Faliarivony. Etudes chimique et biologique de deux *Cryptocaria* endémiques de Madagascar : *Cryptocaria dealbata* Baker et *Cryptocaria rigidifolia* Van der Werff (Lauraceae). Thèse de Doctorat. Chimie des Produits Naturels. Ecole Doctorale : Valorisation des Ressources Renouvelables. Faculté des Sciences. Université d'Antananarivo, soutenue le 24 Août 2016.

I.4 ACTIVITES ADMINISTRATIVES

- Au CNARP, depuis 1990, étant la première responsable du laboratoire de contrôle de qualité des huiles essentielles, j'assure le bon fonctionnement du laboratoire qui réalise les analyses physiques et chimiques des huiles essentielles suivant les normes AFNOR et ISO.

- En tant que Secrétaire général de SYPEAM depuis 2002 et également étant la représentante du CNARP, je participe à la promotion et à l'assistance scientifique des opérateurs de la filière. C'est également dans ce cadre que j'ai activement participé au lancement du Label Natiora aux USA et en Afrique du Sud.
- Dans le Projet Biodivalor, j'ai été le Coordonnateur Scientifique au cours des années 2000 et 2001. J'ai dirigé une équipe qui s'est occupée de la collecte, du montage d'herbiers pour la détermination botanique des plantes et la préparation des échantillons pour des tests d'activités biologiques.

1.5 PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES

Les travaux de recherche et les collaborations scientifiques ont conduit à la publication de **13 articles** dont 8 de niveau international 5 dans des revues scientifiques et 3 dans des chapitres d'ouvrages et 4 articles de niveau national, **13 communications scientifiques** présentées dans des réunions scientifiques de niveau international.

I.5.1 *Publications de notoriété internationale*

- 1- Cao S, **Ranarivelo L**, Ratsimbason M, Randrianasolo S, Ratovoson F, Andrianjafy M, Kingston DG.(2006). Antiplasmodial activity of compounds from *Sloanea rhodantha* (Baker) Capuron var. *rhodantha* from the Madagascar rain forest. *Planta Med.*; **72**(15), 1438-1440. .
- 2- H. Rodolfo Juliani, Adolfina Koroch, James E. Simon, Nicholas Hitimana, Angel Daka, **Lalasoa Ranarivelo**, Petrus Langenhoven. (2006). Quality of Geranium Oils (*Pelargonium* Species): Case Studies in Southern and Eastern Africa. *J. Essent. Oil Res.*, **18**, 116-121 (Special Edition 2006).
- 3- Tiana Sylvia Rasoarivelo Ralambonirina, Oliva Jaconnet Andrianaivoravelona, Mbolahanta Razafindralambo, Vahinalahaja Eliane Razafintsalam, Faliarivony Randriamialinoro, Stéphan Rakotonandrasana, Andriamalala Rakotondrafara, Edouard Ravalison Andrianarison, Michel Ratsimbason, **Lalasoa Ranarivelo**, Philippe Antoine Andrianary (2015). Premières investigations chimique et biologique sur *Psychotria oreotrephes* A. Davis & Govaerts, Rubiaceae endémique de Madagascar. *Afrique science*, **11**(6), 266-281. ISSN : 1813-548X.

<http://www.afriquescience.info/>

- 4- Oliva Jaconnet Andrianaivoravelona, **Lalasoa Ranarivelo**, Henintsoa Harizafy, Vahinalahaja Eliane Razafintsalam, Faliarivony Randriamialinoro, Stéphan Rakotonandrasana, Andriamalala Rakotondrafara, Edouard Ravalison Andrianarison ,

Michel Ratsimbason , Tiana Sylvia Rasoarivelo Ralambonirina, Philippe Antoine ANDRIANARY.(2015).Premières investigations chimique et biologique sur *Psychotria bridsoniae* A.P. Davis & Govaerts, Rubiaceae de Madagascar : Isolement et identification de deux iridoïdes. 2015. *Afrique science*, **11**(6), 250-257. ISSN : 1813-548X.
<http://www.afriquescience.info/>

- 5- **Lalasoa Ranarivelo**, Faliarivony Randriamialinoro, Vahinalahaja Eliane Razafintsalam, Stephan Rakotonandrasana , Henintsoa Rakotoarivelo , Michel Ratsimbason, Sylvia Tiana Rasoarivelo Ralambonirina. (2016). Activités antiplasmodiale et antioxydante des extraits de *Helichrysum gymnocephalum* (DC.) Humbert, (Asteraceae). Isolement de la cardamomin. *Afrique science*,**12**(6),223-232. ISSN : 1813-548X
<http://www.afriquescience.info/>

Chapitres d'ouvrages

- 6- Koroch, A., **L. Ranarivelo**, O. Behra, H.R. Juliani, and J.E. Simon (2007). Quality Attributes of Ginger and Cinnamon Essential Oils from Madagascar. In: Janick, J and Whipkey (eds), The 6th New Crops Symposium: Creating Markets for Economic Development of New Crops and New Uses, 338-341.
<https://hort.purdue.edu/newcrop/ncnu07/pdfs/koroch338-341.pdf>
- 7- **L. Ranarivelo**, P. Ramanoelina, H. R. Juliani, J. E. Simon. (2009). Characterization of Essential Oils from *Cinnamomum camphora* T. Nees & Eberm and *Ravensara aromatica* Sonnerat from Madagascar. In: African Natural Plant Products: New Discoveries and Challenges in Chemistry and Quality. Chi Tang Ho and Simon, J.(Eds). American Chemical Society Book (ACS) Symposium Series 1021. ACS, Washington D.C. Chapter 22, 391-400.
- 8- M. Ratsimbason, **L. Ranarivelo**, H.R. Juliani, J.E. Simon. (2009). Antiplasmodial Activity of Twenty Essential Oils from Malagasy Aromatic Plants. In: African Natural Plant Products: New Discoveries and Challenges in Chemistry and Quality. Chi Tang Ho and Simon, J.(Eds). American Chemical Society (ACS) Symposium Series 1021. ACS, Washington D.C.2009. Chapter 11, 209-215.

I.5.2 *Publications de notoriété nationale*

- 1- Andrianaivoravelona, Andrianarison Andrianary., Rakotosaona, Ralambondrahety **Ranarivelo Ranaivoarison**, Randriamialinoro, Ratsimbason, Razafintsalam. (2015).« Activités antimicrobienne, antioxydante et variabilité des huiles essentielles de *Citrus hystrix* D.C. (Rutaceae) de trois régions de Madagascar». *Revue de la Commission Nationale de l'Unesco pour Madagascar*. Revue Edition 2015, 168-172.

- 2- **Lalasoa Ranarivelo**, Tiana Sylvia Rasoarivelo Ralambonirina, Oliva Jaconnet Andrianaivoravelona, Henintsoa Harizafy, Faliarivony Randriamialinoro, Stéphan Rakotonandrasana, Andriamalala Rakotondrafara, Edouard Ravalison Andrianarison, Marylin Lecsö, Philippe Antoine Andrianary, Michel Ratsimbason, Vahinalahaja Eliane Razafintsalam. (2016). Activités biologiques des extraits de *Psychotria bridsoniae* A. Davis & Govaerts (Rubiaceae) de Madagascar. *MADA-HARY*, **5**, 1-11. ISSN 2410-0315.
- 3- Vahinalahaja Eliane Razafintsalam, Rojoniaina Ambinintsoa Rakotoarison, Mbolatiana Abigaela Rakotoarisoa, Danielle Aurore Doll Rakoto-Ranoromalala, **Lalasoa Ranarivelo**, Faliarivony Randriamialinoro, Michel Ratsimbason, Sylvia Tiana Rasoarivelo Ralambonirina.(2016). Etudes des activités antimicrobienne et antioxydante de l'extrait de racine d'*Anthospermum perrieri* (RUBIACEAE). *MADA-HARY*, **5**,12-18. ISSN 2410-0315.
- 4- Mbolatiana A. Rakotoarisoa, Henintsoa Rakotoarivelo, Stephan Rakotonandrasana, Jesuka R. Rasolofomanana, Faliarivony Randriamialinoro, **Lalasoa Ranarivelo**, Michel Ratsimbason, Vahinalahaja Eliane Razafintsalam, Sylvia T. R. Ralambonirina. (2016). Etudes chimique et biologique de sept plantes médicinales de Madagascar de la famille Rubiaceae.*MADA-HARY*, **5**, 38-48. ISSN 2410-0315.

I.5.3 *Communications Scientifiques*

- 1- M. Ratsimbason, H. Andriamanantoanina, **L. Ranarivelo**, J. Maharavo, S. Rakotonandrasana (2008). Microfluorometric Method to Identify New Antiplasmodials from Madagascan Biodiversity. Keystone Symposia on Translating New Technologies to Improve Public Health in Africa. Mai 15-20, 2008, Kampala, Uganda.
- 2- Ratsimbason M., Rakotomaniraka H., **Ranarivelo L.**, Ranaivo-Harimanana L., Rasamison V., Rakotonandrasana S., Rakotobe E. (2010). Antiplasmodial Activities of β-Carboline Alkaloids: Harman, Harmin, Harmol. Keystone Symposia on Malaria: New Approaches to Understanding Host-Parasite Interactions. April 11-16, 2010, Colorado, USA.
- 3- **Lalasoa Ranarivelo**, Andriamalala Rakotondrafara, Hanitra Rakotomaniraka, Stephan Rakotonandrasana, Harison Rabarison, Sylvain Razafimandimbison, Milijaona Randrianarivelojosia, H. Rodolfo Juliani, James E. Simon and Michel Ratsimbason. (2012). The essential oil of *Cedrelopsis* species: antimalarial and antifungal activities. Keystone Symposia on Drug Discovery for Protozoan Parasites. January 15-20 2012, Santa Fe, New Mexico, USA. <http://www.keystonesymposia.org/12J1>
- 4- Randriamialinoro F., **Ranarivelo L.**, Grouignet R., Michel S., Rakotonandrasana S., Razafintsalam V. E, Razanamahefa B., Ratsimbason M., Deguin B., Ralambonirina S.

- (2014). Nouvelles pyrones isolées de *Cryptocarya dealbata* et de *Cryptocarya retusa* (Lauraceae), endémiques de Madagascar. Semaine doctorale, La Réunion. Mai 2014.
- 5- V. Razafintsalama, S. Ralambonirina, F. Randriamialinoro, B. Payet, **L. Ranarivelo**, S. Rakotonandrasana, M. Rakotoarisoa, A. Rakotondrafara, R. Rakotondrajaona, M. Ratsimbason, T. Petit. (2014). Criblage des activités antibactérienne et antioxydante de quinze Plantes Médicinales de Madagascar. 4^{ème} Journées Qualireg, Antananarivo. Novembre 2014.
http://www.qualireg.org/index.php/content/download/15436/214916/version/1/file/livret_02_1214.pdf
- 6- M. Raharimanana, T. Ramarotany, F. Randriamialinoro, S. Ralamboniriana, **L. Ranarivelo**, S. Rakotonandrasana, A. Rakotondrafara, R. Rakotondrajaona, M. Ratsimbason, B. Payet, T. Petit, V. Razafintsalama. (2014). Etudes chimique et biologique des extraits de *Mystroxylon aethiopicum* Loes. (Celastraceae), Plante Médicinale Malgache. 4^{ème} Journées Qualireg, Antananarivo. Novembre 2014.
http://www.qualireg.org/index.php/content/download/15436/214916/version/1/file/livret_02_1214.pdf
- 7- S. Ralambonirina, V. Razafintsalama, **L. Ranarivelo**, S. Rakotonandrasana, A. Rakotondrafara, F. Randriamialinoro, B. Payet, T. Petit, S. Michel, B. Deguin, M. Lecsö, M. Ratsimbason (2014). Activités biologiques des produits de *Razafimandimbisonia sambiranensis* (Rubiaceae) : Premières données chimiques et biologiques sur ce genre végétal endémique de Madagascar. 4^{ème} Journées Qualireg, Antananarivo. Novembre 2014.
http://www.qualireg.org/index.php/content/download/15436/214916/version/1/file/livret_02_1214.pdf
- 8- F. Randriamialinoro, **L. Ranarivelo**, R. Grounet, S. Michel, S. Rakotonandrasana, A. Rakotondrafara, V. Razafintsalama, B. Razanamahefa, M. Lecso, M. Ratsimbason, B. Deguin, S. Ralambonirina (2014). Etude phytochimique et évaluation antibactérienne des molécules isolées de *Cryptocarya dealbata* Baker et *Cryptocarya retusa* Willd, plantes médicinales endémiques de Madagascar. 4^{ème} Journées Qualireg, Antananarivo. Novembre 2014.
http://www.qualireg.org/index.php/content/download/15436/214916/version/1/file/livret_02_1214.pdf
- 9- N. Ranarivelo, S. Ralambonirina, **L. Ranarivelo**, V. Razafintsalama, F. Randriamialinoro, B. Payet, T. Petit, S. Rakotonandrasana, A. Rakotondrafara, R. Rakotondrajaona, M. Ratsimbason. (2014). Activités antibactérienne et antioxydante de trois espèces de

Hyperacanthus (Rubiaceae) endémiques de Madagascar. 4^{ème} Journées Qualireg, Antananarivo. Novembre 2014.

http://www.qualireg.org/index.php/content/download/15436/214916/version/1/file/livret_02_1214.pdf

- 10-H. Rakotoarivelو, S. P. Rafanomezantsoa, M. Rakotoarisoa, V. E. Razafintsalama, F. Randriamialinoro, **L. Ranarivelو**, S. Rakotonandrasana, M. Ratsimbason, N. Ralambomanana, R. D. Razafimahefa Ramilison, S. T. R. Ralambonirina. (2016). Valorisation des activités biologiques et détermination structurale des constituants de *Razafimandimbisonia minor* (Rubiaceae) endémique de Madagascar. Symposium International « Chimie Ecologique, Ecologie Chimique pour un Développement Durable dans l’Océan Indien », Novembre 2016, Antananarivo.
- 11-**Lalasoа Ranarivelо**, Stephan Rakotonandrasana, Mbolatiana Rakotoarisoa, Falarirovony Randriamialinoro, Vahinalahaja Razafintsalama, Michel Ratsimbason, Elisabeth Seguin, Philippe Vérité, Sylvia Tiana Rasoarivelо Ralambonirina. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne de l’huile essentielle de feuilles de *Tetradenia nervosa* Codd (Lamiaceae), endémique de Madagascar. Symposium International « Chimie Ecologique, Ecologie Chimique pour un Développement Durable dans l’Océan Indien », Novembre 2016, Antananarivo.
- 12-S. T. R. Ralambonirina, B. Deguin, V. E Razafintsalama, F. Randriamialinoro, **L. Ranarivelо**, S. Rakotonandrasana, T. Petit, S. Michel, S. Ratsimbason (2016). Identification et évaluation biologique des iridoïdes et composés phénoliques de *Razafimandimbisonia sambiranensis*. Symposium International « Chimie Ecologique, Ecologie Chimique pour un Développement Durable dans l’Océan Indien », Novembre 2016, Antananarivo.
- 13-R. A. Rakotoarison, V. E. Razafintsalama, F. Randriamialinoro, S.T. Ralambonirina, D. Andriamamonjisoa, **L. R. Ranarivelо**, S. Rakotonandrasana, M. Ratsimbason, V. Jeannoda (2016). Activité antibactérienne de six plantes médicinales Malgaches contre des germes indésirables dans les aliments. 5^{ème} Journées Qualireg, La Réunion. Novembre 2016.

I.6 AUTRES ACTIVITES DE RECHERCHE

J’ai aussi participé à des missions de recherches scientifiques avec des équipes pluridisciplinaires et réalisé des communications orales sur la qualité des huiles essentielles de Madagascar :

2001 Mission « Radeau des cîmes » intitulée « Search for new scent molecule and new scent

concept in Nature » au Cap Masoala. Deux missions sur terrain de 15 jours chacune en Octobre 2001 et Décembre 2001 financées par Givaudan, une grande firme de parfumerie basée en Suisse.

La nature est énormément riche en variétés de senteurs et peut fournir des molécules olfactivement intéressantes et nouvelles, valant la peine d'être développées pour aboutir à un nouvel article de parfumerie.

L'objectif est de capturer, *in situ*, le parfum de plante et de leurs organes telles que fleurs, feuilles, écorce.

Méthodologie : une nouvelle technique spéciale de prélèvement de senteurs de type « headspace » permet de capturer une faible quantité de parfum. Givaudan a développé une méthode efficace pour la capture de telles senteurs, utilisant une méthode non destructive de la source et dans son environnement naturel. Elle n'endommage ni la fleur, ni les autres organes sources de prélèvement.

La senteur de l'air ambiant immédiat entourant les fleurs, par exemple, est capturée au moyen d'un dispositif approprié. L'échantillon d'odeurs prélevées est analysé par CPG/SM au laboratoire de Givaudan pour définir leurs compositions quantitative et qualitative. Seulement 10 ng à 500 ng d'échantillons ont été emmenés au laboratoire d'analyse.

Résultats : une cinquantaine d'échantillons de senteurs de différentes parties de plantes ont été prélevée et emmenée pour analyse CPG/SM au laboratoire de Givaudan, Suisse. Les résultats ne peuvent être communiqués dans ce document étant donné que nous sommes tenus par un contrat de confidentialité.

2003 Lalasoa Ranarivelo. Natiora and the newly proposed Program to improve Malagasy Quality Control of essential oils, spices and other Natural Products. Table ronde Cook College, New Jersey, USA.

Mon intervention a porté sur la présentation du label « Natiora », la marque appartenant au groupement SYPEAM/PRONABIO sur les huiles essentielles qui ont fait l'objet du label « Natiora » : HE de girofle (clous, griffes, feuilles), HE de poivre noir, HE de *Ravensara aromatica* et de *Cinnamomum camphora*, HE de gingembre frais et de HE écorce de cannelle .

2006 Lalasoa Ranarivelo. Madagascan Essential oils: rural community, production and the environment. Mini symposium on Medicinal and Aromatic Plants ASNAPP (Agribusiness in Sustainable Natural African Plant Products), Stellenbosch, Afrique du Sud, 27 Feb- 02 March 2006.

Madagascar est célèbre pour ses huiles essentielles, mais pour produire assez avec une qualité excellente et constante reste un défi pour les producteurs d'HE pendant une longue période.

En conséquence, dans le commerce international, les huiles malgaches ne sont pas compétitives. Non seulement, dans le cas des espèces en voie de disparition, mais aussi les inconvénients de l'utilisation de la récolte (sauvage ou traditionnelle) sont les menaces sur la biodiversité liée à l'insuffisance de la quantité de plantes sauvages pour le marché local ou international. Parmi les solutions proposées, il convient de renforcer la collaboration entre les producteurs d'HE et les agriculteurs des communautés rurales afin d'accroître leur production en matériel végétal et d'améliorer la qualité de la production.

2013 **Lalasoa Ranarivelo.** Le contrôle de qualité des huiles essentielles : Importance et enjeux. Journées scientifiques du Consortium des Laboratoires Agroalimentaires de Madagasikara (CLAM), 12 et 13 novembre 2013, Akademia Malagasy, Antananarivo.

La présentation a porté sur :

- 14- Les généralités sur les HE : Définition, mode d'obtention, localisation, utilisation, caractérisation, variabilité, fiches techniques, normalisation ;
- 15- Le contrôle de qualité des huiles essentielles (HE) concerne la caractérisation : la détermination des constantes physicochimiques et la détermination de la composition chimique par analyse en Chromatographie en phase gazeuse
- 16- Les analyses physico-chimiques, compositions chimiques par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).

L'importance du contrôle de qualité réside sur l'appréciation de la qualité même du produit, sa stabilité et sa conformité ou non-conformité aux exigences du client. Ceci est un atout pour défendre ou négocier le prix de l'huile essentielle sur le marché.

I.7 COLLABORATIONS

J'ai participé à divers projets et accords de collaboration du CNARP avec d'autres universités ou laboratoires ainsi que des relations issues des collaborations antérieures. Dans le cadre de ces recherches, ma contribution s'est faite en tant que chercheur ou responsable scientifique ou encadreurs de mémoires.

1) Chercheur et/ou collaboratrice

- Dans le « Projet International Cooperative Biodiversity Group (ICBG) dirigé par le Professeur David Kingston, Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, USA » ;
- CNARP/Rutgers dirigés par les Professeurs James Simon et Hector Juliani ;
- CNARP/Université de Rouen- Laboratoire de Pharmacognosie dirigé par les Professeurs. Elisabeth Seguin et Philippe Vérité ;

- CNARP/Université Paris Descartes dirigé par Pr Brigitte Deguin et Dr_HDR Raphaël Grougnet.

2) Responsable scientifique

- Dans le « Projet Biodivalor » ;
- CNARP/SYPEAM ;
- CNARP/Aromathérapie sans Frontières.

3) Encadreurs d'étudiants en Master 2

- CNARP/Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo (CNARP/ESPA).
- CNARP/Laboratoire de Chimie Organique-Spectre de Masse (CNARP : LCO-SM).

4) Co-encadreur de thésard : CNARP/GPSIAA

Chapitre II :SYNTHESE DES TRAVAUX

II.1 INTRODUCTION GENERALE

Madagascar a toujours été reconnu par la richesse de sa biodiversité en plantes médicinales et en plantes aromatiques. Cette biodiversité représente un intérêt scientifique très prometteur pour toute la communauté nationale et internationale étant donné qu'il y a encore beaucoup d'exploration à réaliser. Les plantes ont toujours occupé une très grande place dans la médecine traditionnelle et dans les us et coutumes malgaches sans que des études scientifiques approfondies aient confirmées leurs réelles activités biologiques.

Par ailleurs, l'exportation de ces HE constitue une source de devises non négligeable pour Madagascar. Or depuis la libéralisation du marché dans les années 80, une détérioration de la qualité des produits d'exportation a été observée. La distillation anarchique des plantes aromatiques a explosé sur tout le territoire malgache. Sur le marché se sont déversées toutes sortes d'HE, de qualités diverses, ce qui a fortement détruit l'image de la qualité des produits de Madagascar. C'est dans ce contexte qu'ont été menés les travaux présentés dans cette synthèse dont l'objectif principal est de remettre à la place qu'elles méritent les HE et plantes médicinales de Madagascar.

Les producteurs malgaches n'étant pas encore en mesure de fournir des HE en quantité et en qualité, un autre objectif des travaux présentés dans cette synthèse, consiste encore à stabiliser et à améliorer la qualité des essences déjà commercialisées d'une part, et d'autre part à étudier au CNARP les plantes aromatiques et médicinales non encore exploitées mais présentant un intérêt économique et thérapeutique non négligeable. Les travaux consistent à rechercher leurs propriétés et/ou leurs principes actifs en vue d'une optimisation de leurs utilisations.

C'est ainsi que cette synthèse présente les principaux travaux que j'ai menés en tant que chercheur au sein du CNARP et en tant que consultante de diverses sociétés qui exploitent les plantes aromatiques pour la mise au point et l'optimisation des rendements en HE de leur unité d'extraction et le contrôle de qualité de leurs productions.

Mes activités de recherches portent sur la chimie des produits naturels, en particulier sur l'étude chimique et l'étude biologique des plantes médicinales et aromatiques. Ces travaux consistent à l'extraction, au fractionnement et isolement de produits actifs d'extraits de plantes.

Pour les plantes aromatiques, il s'agit de mettre au point la distillation et de déterminer la composition chimique de l'huile essentielle. Ensuite d'étudier la variation de la composition chimique en fonction des critères de variabilité tels que le lieu de culture, la période de récolte, le temps balsamique...

Les activités biologiques réalisables au CNARP ont été aussi effectuées afin de valoriser l'HE et d'établir les caractéristiques de HE et de son application en aromathérapie ou à des spécialités pharmaceutiques.

Ces HE ont été choisies soit

- Parce qu'elles sont déjà commercialisées mais dont on ne dispose pas de données fiables quant à leur composition chimique et leurs activités biologiques pour lesquelles elles sont utilisées,
- Qu'elles suscitent un intérêt particulier parce qu'elles n'ont pas encore été étudiées ou qu'elles présentent un intérêt dans le domaine de la recherche et de leur champ d'applications.

II.2 PARCOURS DANS LA RECHERCHE SUR LES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES

Recrutée au CNARP en 1987, en tant qu'Ingénieur en Génie Chimique, j'ai été affectée au Département de Chimie et d'Extraction. Ayant occupé le poste de Collaborateur technique, j'ai assumé la responsabilité de la production d'extraits de plantes médicinales, d'extraits aromatiques, d'huiles essentielles, d'oléorésines dans l'Usine Pilote du CNARP.

II.2.1 Période de la préparation du DEA : « Plantes aromatiques et Contrôle de qualité des HE »

En 1988, j'ai été affectée au laboratoire de Contrôle de Qualité du Département de Chimie dirigé par le Dr Randriamiharisoa Robert. Mon rôle consistait à contrôler la qualité des HE à travers les analyses physiques, chimiques et l'analyse chromatographique en phase gazeuse. C'est ainsi que dans le cadre de mon DEA j'ai réalisé dans ce laboratoire, l'étude de 2 genres *d'Ocimum* : *Ocimum canum* et *Ocimum basilicum* [Ranaivoarison, 1989].

Les deux plantes ont été cultivées au CNARP.

La détermination de la durée de distillation par la cinétique de la distillation a été réalisée au moyen d'un appareil de type Clevenger. Il s'agissait d'effectuer des coupes suivant le stade végétatif de la plante et faire la distillation de ces deux plantes aromatiques pour en déduire la variation du rendement suivant le temps balsamique.

La composition chimique des huiles essentielles a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse. L'identification des constituants a été faite par 2 méthodes : l'ajout de produits de référence et le calcul d'indice de rétention des pics identifiés, lequel indice est comparé à celui décrit dans la littérature [Jennings et Shibamoto, 1980].

Le camphre a été isolé de l'huile essentielle *d'Ocimum canum* et a été caractérisée par analyse en spectrophotométrie Infrarouge et en spectrométrie Ultraviolet.

Après cette initiation à la recherche, j'ai étendu mon champ d'investigation aux principales huiles essentielles produites et exportées par Madagascar. Dans le cadre d'un projet financé par le PNUD/ONUDI, DP/MAG/89/008 « Technologie et valorisation des plantes médicinales et aromatiques », j'ai pu suivre des stages de perfectionnement en vue de me familiariser avec le contrôle de qualité des HE auprès des sociétés POLLENA-AROMA, CHARABOT et ADRIEN et Cie qui travaillent sur les HE et les matières premières utilisées pour la parfumerie, les cosmétiques, les arômes alimentaires et la pharmacie :

- La société POLLENA-AROMA en Pologne produit plus de 100 formulations et arômes chimiques utilisées en parfumerie, en cosmétologie, et en savonnerie. Durant mon stage, j'ai passé en revue l'importance de l'exercice olfactif, la classification des matières premières suivant leur volatilité et l'accord de base d'une note donnée ;
- La société CHARABOT, créée vers 1908, à Grasse est très connue par sa production florale. Le stage a été effectué essentiellement au laboratoire de contrôle de qualité par chromatographie en phase gazeuse (CPG). L'HE de vétiver, de géranium de type Bourbon et de lemongrass ont été analysées.

Pour les essences nouvelles ou les compositions dont on ne connaît pas les constituants, on a recours à l'analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). Pour ce faire on se réfère aux informations de la bibliothèque des données.

- La société ADRIEN et Cie à Marseille créée vers 1939, est une société de type Import-Export en matières premières aromatiques. Le laboratoire de contrôle de qualité s'occupe essentiellement des matières premières comprenant les produits naturels (HE, absolues...), mais aussi les produits synthétiques et semi-synthétiques.

Les déterminations suivent les normes de l'Association Française de Normalisation (AFNOR), les normes ISO et celles de l'Association des Parfumeurs de Grasse de 1959. Le laboratoire possède un fichier chromatogrammes-types pour chaque produit.

Les analyses effectuées sur le contrôle de qualité des huiles essentielles avant leur utilisation ou leur commercialisation ont été appliquées au CNARP pour les producteurs d'HE de Madagascar qui ont sollicité la prestation de service du CNARP de leurs HE dont j'ai été responsable.

L'exportation des HE telles que l'ylang-ylang, le girofle, le poivre ...constitue une source de devises non négligeable pour Madagascar. Cependant, les producteurs malgaches ne sont pas en mesure de fournir des HE en quantité et en qualité. La stratégie consiste d'une part à stabiliser et améliorer la qualité des essences déjà commercialisées, et d'autre part à étudier les plantes aromatiques non encore exploitées mais présentant un intérêt économique.

J'ai aussi été sollicitée pour fournir une assistance technique aux opérateurs de la filière huiles essentielles. L'objectif est pour la mise au point et l'optimisation des rendements en HE de leur unité d'extraction, de girofle par les sociétés SOMCIA et SEP, de géranium de type Bourbon pour la société Sodicroval... où la qualité de leur production a été aussi contrôlée. Les relations que j'ai eues avec les opérateurs regroupés au sein du groupement Syndicat Professionnel des Producteurs d'Extraits Aromatiques, Alimentaires et Médicinaux de Madagascar (SYPEAM) dans

le cadre de prestations de service ou d'assistance technique m'ont imprégnée des difficultés pratiques auxquelles les agents du développement sont confrontés. Parmi les irrégularités sur la qualité des HE de Madagascar figurent l'identification de la plante elle-même qui peut être confondue à une autre plante.

II.2.2 Période de la préparation du doctorat : label « Natiora » et caractérisation des HE « *Cinnamomum camphora* et *Ravensara aromatica* »

Un sujet important a été monté avec l'appui financier du programme Landscape Development Interventions LDI/Chemonics. en collaboration avec le Laboratoire Industries Agroalimentaires de l'Ecole Supérieure Sciences Agronomiques (IAA/ESSA), le Laboratoire de l'Institut Malgache des Recherches Appliquées (IMRA), le laboratoire des Produits Naturels (LPN) de la faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo, le Laboratoire de Microbiologie du Ministère du Commerce, le Laboratoire de contrôle de qualité du CNARP et de l'Université de Rutgers (USA), en vue de mettre au point le Label « Natiora » des huiles essentielles commercialisées de Madagascar, marque collective de SYPEAM. Il a été demandé au pool de laboratoires d'établir les fiches techniques-produits pour la mise en place du label « Produits Naturels de Madagascar ». La période retenue s'étend sur onze ans, soit de 1991 à 2001.

Les résultats proviennent des analyses CPG des échantillons fournis par des opérateurs économiques les plus divers. Ils reflètent fidèlement dans certains cas, l'ensemble de ce qui existe à Madagascar pour chaque produit, Par conséquent, pour l'établissement du label, l'intervalle le plus large possible a été adoptée, tout en respectant les normes en vigueur, ainsi que les remarques des opérateurs. Cette considération est basée sur la réalité. En effet, nul n'ignore la destination multiple d'un « produit aromatique », souvent médicinale. On peut citer à cet égard : l'agroalimentaire, la pharmacie, la parfumerie et la cosmétique, l'aromathérapie, qui a pris un essor considérable ces dernières années. L'existence de nombreuses normes et réglementation nationales et internationales dans le domaine, citées dans cette étude, en témoigne également : normes malagasy, suisse, française.

A la demande particulière de quelques opérateurs, l'utilisation spécifique de Label « Natiora » a été suggéré, label pour lequel les limites de l'intervalle sont plus restrictives. C'est dans ce cadre que j'ai assuré la coordination et le suivi des tests en laboratoires en vue de la mise en place de ce label Natiora.

Les fiches techniques des HE de girofle (clous, feuilles, griffes), de rhizomes gingembre frais, de poivre noir, de cannelles écorces, de feuilles de Ravintsara et de feuilles de *Ravensara*

aromatica ont été définies à partir de l'étude statistique des résultats d'analyses. Des analyses croisées effectuées par ces laboratoires ont été validées.

Par ailleurs la confusion et l'ambiguïté entre les HE de ravintsara (*Cinnamomum camphora* et *Ravensara aromatic*a) a été soulevée en démontrant leurs différences aussi bien du point de vue identification botanique, de leurs compositions chimiques, de leurs chémotypes et de leurs activités antibactériennes.

Les fiches techniques des HE de *Cinnamomum camphora* de Madagascar et de *Ravensara aromatic*a ont été élaborées afin de lever les ambiguïtés dues à la désignation commerciale de « HE de ravintsara » qui fait référence au nom vernaculaire commun à ces deux espèces.

Les caractéristiques botaniques de *Cinnamomum camphora* et de *Ravensara aromatic*a ont été vérifiées et sont bien distinctes : les feuilles, les fleurs et les fruits sont morphologiquement dissemblables. L'analyse en CPG de leurs HE a également mis en évidence les différences notables dans leur composition chimique. Si les HE de *Cinnamomum camphora* peuvent contenir jusqu'à 73% de 1,8-cinéole, celle de *Ravensara aromatic*a n'en contient pas plus de 6%. Les analyses multidimensionnelles ACP et AFD des données chimiques de 199 HE de *Cinnamomum camphora* ont permis de classer ces HE dans le type 1,8-cinéole, et celles réalisées sur 130 HE de *Ravensara aromatic*a ont révélé l'existence de 3 chémotypes : le chémotype à sabinène-limonène auquel appartient la plupart des échantillons, le chémotype à méthyleugénol et le chémotype à méthylchavicol, ce dernier étant nouvellement identifié dans les feuilles de *Ravensara aromatic*a.

Ces travaux ont pu être présentés dans le cadre de mon doctorat d'ingénieur en 2006 et publiés dans un article du journal *Perfumer and Flavorist* [Juliani et al. 2005]., dans un chapitre d'ouvrage American Chemical Society Book [Ranarivelo et al., 2009]

II.2.3 Période post doctorale 2006

Après le doctorat, j'ai été beaucoup plus engagée dans le contrôle de qualité des huiles essentielles destinées à la commercialisation. Il s'agit du lancement du label « Natiora » des HE de Madagascar en Afrique du Sud, pendant lequel atelier, j'ai exposé la volonté des opérateurs malgaches à mettre sur le marché des HE de qualité. L'HE de géranium de Madagascar été comparée à d'autres origines Afrique, Chine, La Réunion. Il se trouve que l'HE de géranium dont les boutures sont issues de géranium type Bourbon de l'île de La Réunion conserve ses qualités d'origine.

En 2013, 2014 et 2016 j'ai participé aux formations sur l'aromathérapie, octroyées par l'Association « Aromathérapie sans frontières » (ASF). L'utilisation des HE dans les maladies

tropicales, dans les pathologies infectieuses et en Dermatologie ont étoffé mes connaissances sur d'autres applications des HE.

Vu mon intérêt sur le sujet par le fait que le CNARP a pour mission la recherche et le développement des plantes médicinales, des plantes aromatiques et des huiles essentielles, et l'intérêt de l'ASF à faire analyser les HE de Madagascar, la collaboration entre CNARP et ASF a été effective en 2014. Dans ce cadre et dans la limite de ses moyens et capacités, la participation du CNARP consiste à réaliser les récoltes, l'identification des plantes les tests d'activités biologiques, les analyses physico-chimiques et le contrôle de qualité des différents extraits de plantes.

L'ASF a pour finalité le développement de l'aromathérapie et des plantes aromatiques d'intérêt médical, en particulier. Elle souhaite entreprendre avec le CNARP un projet répondant à ses objectifs suivant l'accord cadre de collaboration dont je suis la responsable scientifique.

Les HE produites à Madagascar telles que l'HE de girofle, de l'écorce de cannelle, de niaouli, de palmarosa, de basilic, de *Cedrelopsis grevei*... sont reconnues pour leur efficacité et entrent dans les formulations indiquées en aromathérapie. Mais la recherche de nouvelles HE ainsi que la détermination de leur composition chimique et leur activité antimicrobienne sont toujours d'actualité.

J'ai participé, avec deux botanistes du CNARP, d'un aromatologue et d'une anthropologue de l'ASF, à une mission de collecte effectuée du 29 novembre au 10 décembre 2014 dans le Faritany de Toliara. L'objectif de cette mission est de rechercher de nouvelles espèces de plantes aromatiques. Avant la descente sur le terrain, des recherches bibliographiques ont été effectuées ce qui nous a permis de localiser les forêts de Ranobe, des Mikea (Belavenoka) et la baie de St Augustin comme sites potentiels de collecte. C'est ainsi que 19 parties de plantes appartenant à 6 genres et 14 espèces ont été collectées.

Les herbiers de référence ont été montés pour identification, leurs distillations ont été effectuées au laboratoire du CNARP, les analyses CPG/SM ont été réalisées par l'ASF, et les chercheurs du CNARP. Le dépouillement de ces résultats est encore en cours.

La finalisation de l'identification de la composition chimique, ainsi que les analyses microbiologiques de ces huiles essentielles figurent en perspective. Suivant leurs activités, les mises au point de formulation pour l'utilisation en aromathérapie sont aussi envisagées conjointement avec l'équipe de l'ASF.

Parallèlement avec mes travaux sur les plantes aromatiques, je me suis aussi impliquée dans la préparation des extraits, des travaux de fractionnement et de purification des composés bioactifs.

Le projet International Cooperative Biodiversity Group ICBG, dirigé par le Pr. David Kingston, principal investigator, a financé ces travaux ainsi que les stages que j'ai suivis à l'Université de Virginia Polytechnic Institute and State University (VPISU) et au CNARP.

En 2008, j'ai suivi la formation sur le test d'activité antiplasmodiale par la méthode de Sybr Green I, dispensé par Dr John Alumasa de l'Université de Georgetown dans les locaux du CNARP. Cette étude est fondée sur la mesure de la fluorescence des globules rouges parasités par *Plasmodium falciparum* pendant la phase érythrocytaire de son développement. L'ajout de Sybr Green I conduit à la formation d'un complexe fluorescent avec l'ADN double brin du parasite [Bennett *et al.* 2004]. J'ai intégré l'Unité Malaria du CNARP et ai prêté main forte à l'équipe jusqu'en 2016, en menant les préparations des échantillons, les tests et le calcul des valeurs des IC₅₀ des fractions et produits isolés des recherches sur la malaria. J'ai ainsi participé à la réalisation de plus de 2500 tests durant ce projet.

II.2.4 Encadrements d'étudiants

La collaboration avec les collègues du CNARP et des autres laboratoires nous ont permis de mener à terme l'encadrement d'étudiants préparant leur Diplôme d'Etudes Approfondies DEA ou de Master 2 en chimie des substances naturelles et la thèse de Randriamialinoro Faliarivony, chercheur du CNARP.

Les travaux de recherche sont axés sur trois volets :

- la partie botanique comportant entre autres, l'identification botanique de la plante étudiée et sa répartition géographique sur Madagascar,
- l'étude chimique comprenant les travaux chimiques : extraction, isolement, identification, caractérisation
- l'étude des activités biologiques des extraits, des HE, des fractions et des produits isolés.

a) Encadrement de mémoire de Master 2

1. Nombanjanahary Zoherinjina Minosoa. Etudes chimique et anatomique de deux espèces du genre *Tetradenia* Benth. (Lamiaceae) de Madagascar : *Tetradenia goudotii* Briq. et *Tetradenia nervosa* Codd. Mémoire de Master 2 en Systématique et Gestion Durable de la Diversité Végétale (SYGEDUR). Université d'Antananarivo, soutenu le 24 Novembre 2016.

Résumé :

Les espèces de *Tetradenia* sont des plantes à la fois médicinales et aromatiques. Contrairement aux espèces africaines, peu d'éléments sur les propriétés chimiques et anatomiques des espèces sont disponibles. Une espèce aromatique *Tetradenia nervosa* et une autre non aromatique, *Tetradenia*

goudotii ont fait l'objet de cette étude. Les analyses chimiques ont montré la présence de composés phénoliques et dérivés, stérols et des polysaccharides chez les deux espèces. Néanmoins, *Tetradenia nervosa* se distingue par la présence des terpénoïdes volatils tandis que *T. goudotii* par des leucoanthocyanes. Les études au niveau des jeunes tiges, du pétiole et du limbe ont montré la présence de collenchyme angulaire, d'arrangement des faisceaux libéro-ligneux en arc au niveau du pétiole et de la nervure principale de la feuille et en cercle au niveau de la tige et le type diacytique des stomates permettant de confirmer l'appartenance de *Tetradenia* à la famille des Lamiaceae. Histo chimiquement, *Tetradenia goudotii* et *T. nervosa* présentent des flavonoïdes au niveau de l'épiderme supérieur des feuilles et des tanins au niveau des poils sécréteurs et des cellules épidermiques de la tige. La différence histochimique se rencontre au niveau des poils sécréteurs : chez *T. nervosa*, l'espèce aromatique, les poils sécréteurs produisent deux composées en même temps : des tanins et des terpènes. Cette étude a permis la mise en évidence des propriétés chimiques des espèces de *Tetradenia* de Madagascar permettant leur gestion et leur valorisation durable en tant que produits pharmaceutique et cosmétique.

2. Andrianarison Harizo Angela. « Etudes phytochimique et biologique des extraits de *Citrus hystrix* (Rutacées) ». DEA en CAIE/ESPA, soutenu le 27 Février 2015.

Résumé :

Le *Citrus hystrix* (Rutacées) se rencontre dans différentes régions de Madagascar. Les analyses effectuées sur les huiles essentielles des feuilles et les zestes des fruits du *C. hystrix* issus de trois régions de la grande île (Antsiranana : Ivoloina ; Boeny : Ankarafantsika ; Amoron'i Mania : Ambositra), collectés durant différentes saisons ont montré que ces huiles essentielles n'ont pas les mêmes caractéristiques physico-chimiques (densité, pouvoir rotatoire, indice d'acide, indice d'ester...).

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse des huiles essentielles des feuilles montrent des similarités avec celles d'Indonésie, de l'île de la Réunion et de l'île Maurice, avec un taux de citronellal supérieur à 70%. Une variation de la teneur en citronellal est remarquée d'un site à l'autre et d'une saison à une autre. Cette teneur en citronellal varie en fonction inverse avec celle du citronellol. Ce qui n'est pas le cas pour les huiles essentielles des zestes des fruits et dont la teneur en citronellal est faible (<50%).

Du point de vue microbiologique, les diamètres des halos d'inhibition de l'HE de zestes sont impressionnantes avec des valeurs de l'ordre de 25mm sur *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteriditis* et *Candida albicans*. L'extrait dichlorométhane est très actif sur *Candida albicans* (+44mm).

3. Rabearison Niary Iriantsoa. « Etude chimique et biologique comparative de trois *Citrus* : *C.medica* (L.), *C. aurantium* (L.), *C. sinensis* (L.) Osbeck ». DEA en CAIE/ESPA, soutenu le 27 Février 2015.

Résumé :

Citrus medica, *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium* appartiennent à la famille des Rutaceae. Les rendements moyens en HE obtenus par hydrodistillation des feuilles sont de 0,32% pour *C.medica*, 0,23% pour *C.sinensis*, et légèrement supérieur de 0,43% pour *C. aurantium* ; et ceux des zestes sont de 1,13% pour *C. medica*, 1,35% pour *C. sinensis* et 1,07% pour *C. aurantium*.

Les rendements en extraits des feuilles par une extraction aux solvants de polarité croissante (hexane, DCM, MeOH) sont supérieurs à 1%.

L'analyse en CPG a révélé que le limonène constitue le composé majoritaire des HE des zestes avec une teneur de 75,51% pour *C. medica*, 74,63% pour *C. aurantium*, et 77,64% pour de *C. sinensis*. Les HE des feuilles présentent une teneur appréciable en limonène et en sabinène. Les deux composés majoritaires dans les HE de feuilles de *C. sinensis* sont le linalol (34,35%) et le terpinène-4-ol (29,09%).

Leurs activités biologiques sont intéressantes. Les extraits de feuilles et les HE des zestes et des feuilles possèdent une bonne activité antioxydante par la méthode bioautography. Les HE des zestes et des feuilles présentent des activités antibactériennes et antifongiques intéressantes contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*. En particulier, l'HE des zestes de *C. aurantium* présentent un diamètre d'halo d'inhibition remarquable de 28±0,5mm contre *S.aureus*.

4. Harizafy Henintsoa « Etudes chimique et biologique de *Psychotria bridsoniae* (Rubiaceae) de Madagascar » (Singiramantingoro fotsy ; Harongambelona), Mémoire de DEA en Chimie Appliquée à l'Industrie et à l'Environnement (CAEI), ESPA, soutenu le 03 Février 2015.

Résumé

L'isolement de principes actifs et la recherche d'activités antimicrobienne et des extraits de *Psychotria bridsoniae*, plante endémique de Madagascar, ont été menés dans cette étude. Le screening phytochimique a surtout révélé des composés phénoliques et des terpénoïdes. L'extraction de la poudre de feuilles et d'inflorescences de la plante par macération au solvant a donné un extrait de dichlorométhane avec un rendement de 2,22% et un extrait méthanolique avec un rendement de 13,89%, Le fractionnement de l'extrait méthanolique par chromatographie sur colonne ouverte a mené à l'isolement de cinq molécules dont l'acide aspérolulosidique et l'aspéroluloside, molécule rencontrée chez quelques espèces de *Psychotria*. Leurs identifications ont été faites par analyse spectrale RMN¹H.

Les tests antibactériens ont permis de révéler que l'extrait méthanolique inhibe essentiellement les bactéries à Gram (+), en particulier *Streptococcus pyogenes* avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 39,06 μ g/ml et une concentration minimale bactéricide (CMB) de 78,13 μ g/ml. L'extrait méthanolique de la plante possède également un pouvoir antioxydant, avec une valeur élevée de 3568mM Trolox/mg/l d'extrait par la méthode ORAC, et une valeur de 22,59mM Trolox/mg/l d'extrait par la méthode DPPH.

5. Razafindralambo Mbolahanta « Etudes chimique et biologique de *Psychotria oreotrephe*s (Rubiaceae) endémique de Madagascar ». DEA en CAEI/ESPA, soutenu le 03 Février 2015.

Résumé

Notre étude consiste à la première recherche chimique et biologique sur les rameaux feuillés de *Psychotria oreotrephe*s, Rubiaceae endémique de Madagascar. Le criblage chimique préliminaire a mis en évidence la présence de composés phénoliques dont coumarines, flavonoïdes et tanins, ainsi que des terpénoïdes tels que stéroïdes et iridoïdes. L'extraction par lixiviations de poudre végétale avec des solvants de polarité croissante a donné 2,09% d'extrait CH₂Cl₂ / Hexane et 20,46% d'extrait MeOH. Le fractionnement et purification de l'extrait méthanolique par des chromatographies successives ont permis d'isoler 4 produits dont un identifié comme l'aspéruloside grâce aux analyses en spectroscopie de RMN.

L'évaluation biologique des extraits a montré l'activité antibactérienne des extraits moyennement polaires et méthanolique : 37 sur 47 bactéries inhibées, une CMI de 27,34 μ g/ml, et une CMB de 109,37 μ g/ml observées sur *Streptococcus pyogenes*. L'extrait MeOH possède en plus une potentialité antioxydante intéressante : par la méthode DPPH, le pouvoir antioxydant de l'extrait MeOH est évalué à 3345 Trolox équivalent (mM/mg/L d'extrait) et la méthode ORAC indique une activité antioxydante de l'ordre de 20,82 équivalent Trolox.

6. Rakotoarivelo joël, intitulé : « Analyse de l'huile essentielle, isolement du stigmastérol et étude des activités biologiques de *Beilschmiedia microphylla* (Lauraceae) ». DEA de Chimie « Produits Naturels ». Faculté de Sciences. Université d'Antananarivo, soutenu le 13 Mars 2015.

Résumé

Cette première étude chimique effectuée sur *Beilschmiedia microphylla* (Lauraceae), endémique de Madagascar, confirme son caractère aromatique. L'huile essentielle des feuilles, analysée par couplage CPG/SM, révèle que les composés majoritaires sont constitués de β -

caryophyllène (12,34%), du limonène (8,18%), de β -myrcène(6,22%) et de β -ocimène(4,65%). Le stigmastérol a été isolé de l'extrait.

Cette première étude biologique réalisée sur *Beilschmiedia microphylla* montre que la plante est douée des propriétés suivantes : antioxydante et antipaludéenne. Les tests microbiologiques effectués sur l'extrait brut alcoolique révèlent son caractère antibactérien vis-à-vis des souches, *L.monocytogene*, *Clostridium perfringens*, *Streptococcus pyogenes*. Son activité antifongique est prépondérante pour *Fusarium monoliforme*.

7. Rakotoarivelo Henintsoa. « Isolement, Analyse structurale par SM et Identification du type d'échantillon d'Ambre ». DEA de Chimie « Produits Naturels ». Faculté de Sciences. Université d'Antananarivo, soutenu le 30 Octobre 2015.

Résumé

Ce travail de recherche consiste à l'isolement et à l'identification des constituants d'un produit résineux de Madagascar en utilisant diverses méthodes chromatographiques et spectrales (CCM, chromatographie sur colonne, CGP/SM, RMN).

Les constituants volatils ont été obtenus par hydrodistillation du produit résineux avec un rendement de 0,97%, l'huile essentielle est analysée par CPG. Elle est constituée de molécules monoterpéniques et sesquiterpéniques.

Ces résultats ont permis de poser l'hypothèse de la myrrhe, origine végétale comme identité de l'échantillon.

b) Encadrement de thèse de doctorat

RANDRIAMIALINORO Faliarivony. Etudes chimique et biologique de deux *Cryptocaria* endémiques de Madagascar : *Cryptocaria dealbata* Baker et *Cryptocaria rigidifolia* Van der Werff (Lauraceae). Thèse de Doctorat. Chimie des Produits Naturels. Ecole Doctorale : Valorisation des Ressources Renouvelables. Faculté des Sciences. Université d'Antananarivo, soutenue le 24 Août 2016.

Résumé

Madagascar dispose d'une grande richesse en matière de diversité biologique, environ 80% de la faune et de la flore sont endémiques. *Cryptocarya dealbata* Baker et *Cryptocarya rigidifolia* van der Werff (Lauraceae) sont parmi ces plantes endémiques. Des études chimique et biologique ont été entreprises pour les deux *Cryptocarya*.

L'étude phytochimique bioguidée par des tests d'activité antiplasmodiale a été réalisée sur les extraits éthanoliques de fruits de *C. dealbata* et d'écorces de *C. rigidifolia*. Les structures des molécules isolées ont été caractérisées par l'utilisation des techniques spectrales RMN, SM, IR et

UV.

Deux nouvelles pyrones dénommées **Dealbacryptone I** et **Dealbacryptone II** ainsi que deux produits connus une pyrone la Caryalactone A et un flavonoïde la Pinocembrine ont été isolés et identifiés à partir de la fraction AcOEt de fruits de *C.dealbata*. Dealbacryptone I et Caryalactone A présentent des activités antiplasmodiales *in vitro* sur la souche chloroquine-résistante *Plasmodium falciparum* FCM29 presque similaires avec des IC₅₀ respectives 5,51 µM et 6,67 µM. **Dealbacryptone II** montre une activité antiplasmodiale intéressante avec une IC₅₀ = 1,12 µM . En plus, Dealbacryptone I et Caryalactone A sont dotées d'activités antioxydantes moyennes vis à vis du radical libre DPPH.

L'étude phytochimique bioguidée de la fraction AcOEt d'écorces de *C. rigidifolia* a mis en évidence quatre pyrones : trois connues et une en cours de confirmation.

Les produits isolés et identifiés des deux plantes appartiennent aux familles chimiques caractéristiques de *Cryptocarya*. La recherche sur ces plantes sera poursuivie en procédant à la mise au point de phytomédicaments.

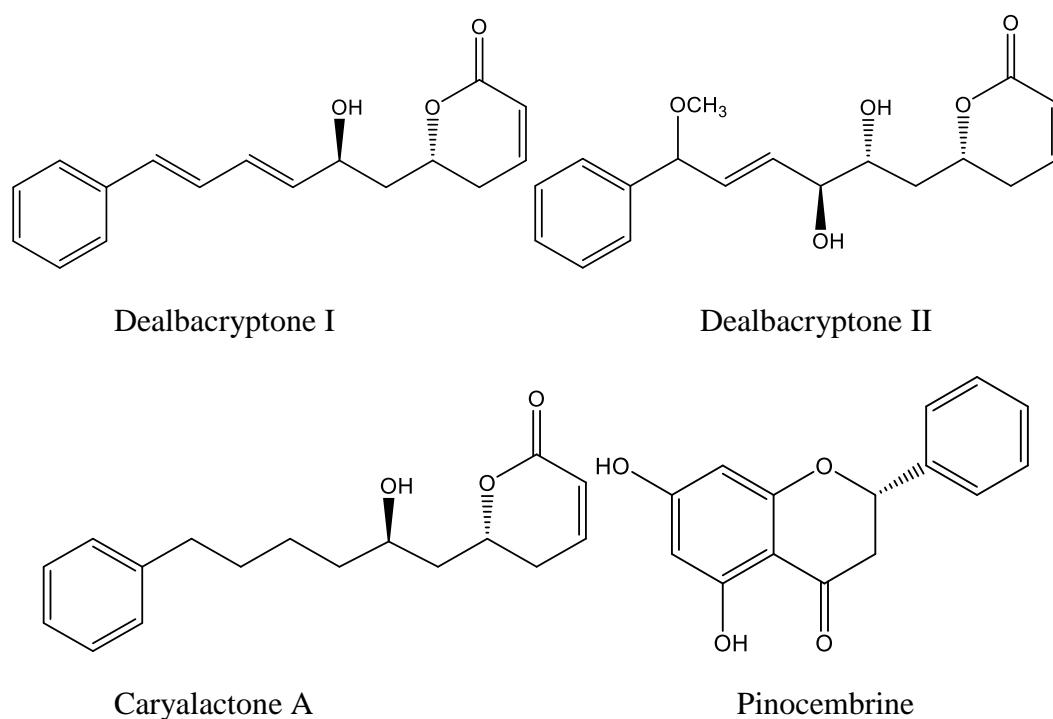


Figure 1 : Structures des composés identifiés de *C. dealbata*

II.3 SYNTHESE DES RESULTATS DES TRAVAUX SUR LES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES

II.3.1 Présentation de la problématique

Madagascar approvisionne en HE les industries occidentales des parfums et des arômes alimentaires. Si depuis les années 70-80, ce secteur industriel a plus ou moins dépéri en raison des facteurs nationaux (politiques, techniques, financiers) et internationaux (chute des cours mondiaux, baisse des demandes...), il conserve toujours des potentialités. La recherche de diversification des produits d'exportation ainsi que l'utilisation des HE en aromathérapie sont toujours d'actualité pour justifier les études menées dans le domaine des HE, aussi bien pour les HE traditionnelles que les « HE nouvelles ».

Au niveau du commerce international, la qualité est un critère important de performance, face à l'exigence des demandeurs. Or les sources végétales des HE subissent naturellement des fluctuations. En outre, les méthodes de traitement des matières premières, la période et/ou le lieu de culture génèrent des produits de qualités diverses et inconstantes.

Pour une plante déterminée du point de vue botanique, la démarche consiste alors :

- À définir les spécifications de son HE : caractéristiques physico-chimique, détermination de la composition chimique,
- À étudier les critères de variation de sa composition chimique et de ses spécifications,
- À étudier les activités biologiques : antimalariale, antimicrobienne, antioxydante,
- Contrôle de qualité : fiche technique.

Nous donnons ci-après trois exemples sur les HE :

1. La qualité de l'HE de géranium de Madagascar,
2. Les résultats des tests d'activité antiplasmodiale de 20 HE de Madagascar,
3. Et l'activité antiplasmodiale et antifongique de six espèces de *Cedrelopsis*.

Sont également présentés les travaux menés sur l'extrait d'*Helichrysum gymnocephalum*.

II.3.2 Contrôle de qualité de l'HE de géranium

Comme plusieurs pays d'Afrique subsaharienne entrent dans la production commerciale d'huiles essentielles de géranium, ce travail a cherché à caractériser la qualité des HE de *Pelargonium* sp. basée sur les propriétés organoleptiques, physico-chimiques et les compositions chimiques de différents pays de l'Afrique du Sud et de l'Afrique de l'Est afin de souligner l'importance de la sélection de matériel génétique dans la production commerciale d'huiles et de développer des informations sur le rendement de base.

Le genre *Pelargonium* (Geraniaceae), indigène de L'Afrique Australe, contient un grand nombre d'espèces avec des feuilles aromatiques très parfumées. Une espèce de *Pelargonium* la plus populaire est le *P. graveolens*, qui comprend les cultivars à parfum rose. Leurs huiles essentielles possèdent une odeur tenace rosée avec diverses nuances, telles que les nuances d'agrumes et de menthe. Souvent utilisé comme un substitut à l'HE de rose, très couteuse ; l'HE de géranium est d'une grande importance dans les formulations en parfumerie et en cosmétique (Gauvin1).

La composition chimique d'HE de géranium des différents pays producteurs a été largement étudiée et révisée [Lawrence, 1989 ; Rao, 2002 ; Babu, 2005]. La Chine est un principal producteur d'huile de géranium, suivi par l'Egypte, l'Algérie, le Maroc et la Réunion. L'HE de la Réunion est considérée comme l'une des huiles de la plus haute qualité et est commercialement connue sous le nom de Bourbon géranium [Anonymous Bulletin commercialization, 1998, Guenther, 1950, 1982].

Comme plusieurs pays d'Afrique subsaharienne entrent dans la production commerciale d'huiles essentielles de géranium, et suite au mini symposium sur les plantes aromatiques de l'Afrique en Afrique du Sud en mars 2006, l'effort de Madagascar, du Rwanda et de Zambie de mettre sur le marché international une HE de géranium type Bourbon de qualité a été retenue. L'étude sur la qualité des HE de géranium produites dans ces pays a été menée avec l'Université de Rutgers afin de mettre en évidence l'importance de la sélection de matériel génétique dans la production commerciale.

a) Méthodologie

La culture du géranium de type Bourbon a été intensifiée à Madagascar dans les années 90. Le CNARP a fait des analyses sur la qualité des HE de géranium des sites d'Anjozorobe, Antsirabe, Ambohimadana, Fianarantsoa, de Moramanga et sur les plantations des hauts plateaux.

Le choix des deux échantillons d'HE de géranium de Madagascar, s'est porté sur le géranium issu des boutures provenant de l'île de La Réunion (d'où le nom « Bourbon »), cultivées à Antsirabe et Moramanga. Leur contrôle de qualité basé sur les caractéristiques organoleptiques, l'indice de réfraction et l'analyse CPG a été comparé à d'autres HE de géranium-type du commerce international et fournies par Mastertaste, Teterboro, New Jersey, USA. Par ailleurs, un échantillon d'HE provenant d'un producteur artisanal de la Réunion a été également pris comme référence.

b) Résultats

Le tableau 1 représente les spécifications organoleptiques et l'indice de réfraction des HE de géranium de différentes sources.

Tableau 1 : Odeur, couleur, indice de réfraction des variétés de géranium de source commerciale, de Madagascar et de l'île de La Réunion

Variété	Odeur (première note)	Couleur	Indice de réfraction
Bourbon ¹	Fortement rosée, note florale élevée	Vert foncé	1,4656
Biologique ¹	Rosée, sucrée	Vert clair	1,4691
Egypte ¹	Rosée, sucrée	Jaune clair	1,4674
Chine ¹	Rosée, sucrée	Vert moyen	1,4630
Moramanga ²	Caractéristique bourbon, fortement rosée, note florale élevée	Vert jaunâtre	1,4689
Antsirabe ²	Caractéristique bourbon, fortement rosée, note florale élevée	Vert jaunâtre	1,4675
La Réunion ³	Fortement rosée, note florale élevée	Vert jaunâtre	1,4659

1. source commerciale : Mastertaste (Teterboro, New Jersey, USA) ; 2. Madagascar; 3. La Réunion (ferme locale).

L'HE de type Bourbon, de type Egypte et de type Chine se différencient nettement par leurs caractéristiques organoleptiques.

L'HE de géranium type Bourbon est caractérisée par sa couleur vert foncé tandis que l'HE de géranium type Chine est vert moyen, celle de type Egypte est de couleur jaune clair. L'HE de géranium de type Bourbon biologique est de couleur vert clair (Tableau 1). Les échantillons ont été caractérisés olfactivement par leur note rose. Le géranium Bourbon a montré un profil caractéristique complexe avec des notes florale, fruitée et mentholée, tandis que le type Egypte et le type Chine étaient moins complexes, note rose avec un caractère doux. Les indices de réfraction varient de 1,463 à 1,4674.

Le tableau 1 montre bien que les spécifications de l'HE de Madagascar et celles de la Réunion sont similaires.

Les analyses CPG/SM ont permis d'identifier les compositions chimiques et les résultats sont donnés dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Composition chimique d'huiles essentielles de géranium de Madagascar, de l'île de la Réunion et des échantillons de géranium type Bourbon, Biologique, type Egypte, type Chine du Commerce.

RI	Constituant	Bourbon ¹	Bio. ¹	Egypte ¹	Chine ¹	Moramanga ²	Antsirabe ²	Reunion ³
1033	limonène	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3
1040	(Z)-β-ocimène	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
1051	(E)-β-ocimène	0,3	0,3	0,1	-	0,1	0,1	0,2
1077	Oxyde de linalol	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3
1091	terpinolène	0,2	0,3	0,1	-	0,1	0,1	0,1
1098	linalol	10,3	11,6	6,0	3,0	6,0	5,3	7,8
1113	rose oxyde (cis + trans)	0,6	1,2	1,1	2	1,2	0,9	1,2
1169	isomenthone	6,1	6,5	5,2	5,1	5,5	4,9	5,4
1193	α-terpinéol	1,1	1,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,7
1230	citronellol	22,6	5,7	29,2	38,2	23,4	20,8	21,7
1245	néral	0,4	0,4	0,6	0,2	0,5	0,6	0,4
1257	géraniol	18,9	6,5	19,3	8,7	17,2	17,3	17,5
1273	géranial	0,6	0,6	0,9	0,4	0,7	0,9	0,8
1277	formate de citronellyle	7,5	4,8	5,8	10,0	8,3	9,9	8,2
1302	formate de géranyle	5,8	2,8	3,5	2,1	5,7	7,6	6,1
1382	acétate de géranyle	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3
1384	β-bourbonène	0,4	0,6	0,5	0,2	0,4	0,4	0,5
1427	β-caryophyllène	0,9	0,7	1,0	1,3	1,2	1,0	0,9
1450	guaiadiène-6,9	5,5	0,2	0,2	6,0	6,6	6,6	5,8
1476	propionate de géranyle	1,2	0,7	0,7	0,7	1,0	1,2	1,4
1488	isobutyrate de citronellyle	0,6	0,9	1,5	1,4	0,8	0,5	0,6
1530	butyrate de citronellyle	0,8	1,2	1,4	1,9	1,1	1,4	1,2
1562	butyrate de géranyle	1,0	1,0	1,1	0,8	1,2	1,3	1,4
1588	2-phenylethyl tiglate	0,5	1,1	1,0	0,7	0,6	0,7	0,6
1625	10 epi-γ- eudesmol	-	5,8	5,8	0,2	-	-	-
1661	tiglate de citronellyle	-	1,3	1,1	-	-	0,1	0,1
1702	tiglate de géranyle	1,1	1,5	1,5	1,3	1,4	1,7	1,4

1. Mastertaste (Teterboro, New Jersey, USA); 2. Madagascar; 3. La Réunion (ferme locale).

Le profil chimique de l'HE de géranium type Bourbon trouvé dans le commerce est caractérisé par citronellol (22,6%) et géraniol (18,9%), linalol (10%), formate de citronellyle (7,5%), formate de géranyle (5,8%) et guaiadiène-6,9 (5,5%) (Tableau2). Alors que les HE de géranium Bourbon biologique, de type Egypte et de type Chine ont montré des teneurs plus élevées de citronellol (respectivement 25,7%, 29,2% et 38,2%) et des teneurs plus faibles en géraniol (respectivement 16,5%, 19,3%, 8,7%,) et en linalol (respectivement 11,6%, 6,0% et 3,0%).

Comme on pouvait s'y attendre, l'huile provenant d'une ferme locale de la Réunion est étroitement liée à celle provenant de la société commerciale américaine Mastertaste (Tableaux 1 et 2). Les huiles de Madagascar (Moramanga et Antsirabe) sont regroupées en groupes homogènes et semblables aux HE de la Réunion ce qui confirme leur appartenance au même type Bourbon. Le profil de l'arôme et l'indice de réfraction sont similaires aux huiles de Bourbon, tandis que la couleur des huiles de Madagascar est verte jaunâtre, alors que les deux huiles de Bourbon commerciale et artisanale, sont respectivement vert foncé et vert jaunâtre (Tableau I). Le profil chimique des HE malgaches partage le même profil chimique que celui du type Bourbon de haute

qualité, c'est-à-dire des teneurs similaires de citronellol et de géraniol et des teneurs inférieures de linalol, de formiate de citronellyle et de guaiadiène 6,9 (Tableau 2). Les normes ISO ont également montré que les propriétés physico-chimiques et chimiques des huiles de géranium Bourbon et Malagasy sont très semblables [Juliani et al. 2004].

Ces résultats démontrent clairement que, pour une huile essentielle destinée au commerce mondial, la sélection et l'introduction d'une souche spécifique ou d'un chémotype avec les profils organoleptiques et chimiques acceptables sont parmi les facteurs clés nécessaires pour obtenir des huiles essentielles de haute qualité qui répondent aux attentes et aux normes internationales.

Ces résultats sont publiés dans *Journal of Essential Oil Research*, **18**, 116-121. [Juliani et al. 2006]

II.3.3 Activité antiplasmodiale de 20 huiles essentielles de Madagascar

Le paludisme est une maladie parasitaire mortelle transmise par les moustiques. On signale que le paludisme entraîne en Afrique subsaharienne près d'un million de décès par an, dont la majorité est des enfants de moins de cinq ans [Korenromp, 2005]. Le contrôle des maladies est entravé par l'apparition et l'augmentation de souches multi-pharmacorésistantes du parasite du paludisme *Plasmodium* sp.

L'identification de nouveaux composés bioactifs avec une activité antipaludique est nécessaire pour fournir de nouvelles pistes ou de nouveaux composés pour le développement de médicaments. Les antipaludiques actuels proviennent en grande partie de produits naturels provenant de plantes, de la quinine et de l'artémisinine, chacun isolé de *Cinchona* sp. (Rubiaceae), une plante péruvienne, et *Artemisia annua* (Asteraceae), une plante chinoise. L'alcaloïde quinine et les produits non-volatils sesquiterpènes lactone artémisinine, sont actifs sur le cycle de vie des parasites au stade érythrocytaire. Alors que la tazopsine, un alcaloïde semblable à la morphine, isolée de la plante forestière de Madagascar *Strychnopsis thouarsii* (Menispermaceae) [Carraz et al. 2006], cible la forme du stade hépatique du parasite. Ainsi, les composés bioactifs dérivés des plantes ont été efficaces dans le développement de médicaments antipaludiques modernes. Un bref examen des plantes africaines traditionnelles utilisées pour lutter contre le paludisme met en évidence un large éventail d'espèces prometteuses [Mohammed, 2009].

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles ont été utilisées par les sociétés pour leur valeur médicinale reconnue depuis l'Antiquité. Utilisées comme sources de saveurs, de parfums, de cosmétiques, de produits de soins de santé personnels, de produits industriels, d'aromathérapie, de guérison et pour les cérémonies religieuses et spirituelles, les huiles essentielles ont des antécédents

établis d'utilisation dans le traitement des maladies respiratoires et comme agents antimicrobiens. L'intérêt accru pour les activités antimicrobiennes des huiles essentielles provient en partie de l'apparition de souches de bactéries et de champignons résistantes aux antibiotiques disponibles sur le marché [Fanci et al. 2005 ; Swinne et al, 2005].

A Madagascar, de nombreuses plantes aromatiques et huiles essentielles ont présenté des activités répulsives contre les insectes [Voarisoa, 1998], ce qui a eu un impact indirect sur la prévalence du paludisme. Dans les soins de santé traditionnels malgaches, si des plantes aromatiques ont été utilisées pour le traitement de la fièvre, l'utilisation spécifique d'huiles essentielles à cette fin, comme antiplasmodiale, n'a pas été mentionnée dans la littérature [Zafara, 1986 ; Rakotobe et al. 1993].

De plus, plusieurs rapports ont étudié les propriétés antipaludiques des huiles essentielles extraites de différentes espèces à travers le monde, y compris, mais sans s'y limiter, *Tetradenia riparia* [Campbell et al. 1997], *Cochlospermum tinctorium* et *C. planchonii* [Benoit-Vical et al. 1999], *Virola surinamensis* [Lopes et al. 1999], *Xylopia phloiodora*, *Pachypodanthium confinement*, *Antidesma laciniatum*, *Xylopia aethiopica* et *Hexalobus crispiflorus* [Boyom et al. 2003], *Cymbopogon citratus* et *Ocimum gratissimum* [Okunadeet al. 2004], *Salvia* sp. [Tchoumbougnang et al. 2005] et les constituants oléaniques de *Lantana cujabensis* [Kamatou et al. 2005]. *Artemisia annua* est également une source d'huile essentielle bien caractérisée [Charles et al. 1991], bien que ce soit le terpène non volatil qui présente l'activité antipaludique [Charles et al. 1990 ; Morales et al. 1993] et dont proviennent les médicaments dérivés de l'artémisine moderne. Ces rapports et la découverte de l'artémisinine d'*Artemisia annua*, un sesquiterpène partageant la même voie métabolique que la majorité des composants d'huiles essentielles [Ferreira et al. 1997], nous ont amenés à étudier l'activité antiplasmodiale *in vitro* de vingt huiles essentielles de Madagascar.

a) Matériel et Méthodes

Des analyses antiplasmodiales *in vitro* peuvent être réalisées grâce à la culture continue de *Plasmodium falciparum* établie par Trager et Jensen. Auparavant, le moyen traditionnel de détecter la croissance du parasite était l'examen microscopique des frottis sanguins en utilisant la coloration de Giemsa ou le test d'incorporation d'hypoxanthine [³H] hypoxanthine standard [Desjardins et al. 1979]. Cette dernière méthode exige des matières radioactives qui posent des problèmes de sécurité et d'évacuation et comporte plusieurs étapes qui sont techniquement exigeantes et onéreuses. Récemment, au lieu d'incorporer le composé radiomarqué dans l'ADN, de nouvelles sondes non radioactives ont émergé, en utilisant des colorants d'ADN pour rendre compte et mesurer la croissance des parasites [Corbett et al. 2004 ; Quashie et al. 2006 ; Baniecki et al. 2007 ; Smilkstein

et al. 2004]. L'utilisation de marquage d'ADN pour détecter l'ADN du parasite a amélioré la facilité des tests de sensibilité aux médicaments. Développée en premier au Panama, la méthode de marquage d'ADN par le Picogreen® a été utilisée pour l'évaluation des huiles essentielles présentées. La technique a été transférée et utilisée à Madagascar pour évaluer les extraits de plantes antiplasmodiales [Cao et al. 2006]. Le procédé est basé sur l'intercalation du fluorochrome PicoGreen® dans l'ADN de *Plasmodium*. Le PicoGreen® est un colorant fluorescent ultrasensible pour la mesure de l'ADN bicaténaire (dsDNA) en solution et permet de détecter des quantités aussi faibles que 25 pg / mL d'ADNdb avec un spectrofluoromètre utilisant des longueurs d'onde d'excitation et d'émission respectivement de 485 nm et 518 nm [Corbett et al. 2004].

Vingt huiles essentielles ont été ciblées pour déterminer la concentration inhibant 50% de croissance de culture (IC_{50}). Les huiles volatiles aromatiques ont été obtenues par hydrodistillation en utilisant un piège Clevenger. Les vingt huiles essentielles étaient composées de treize huiles essentielles extraites de différentes plantes aromatiques : *Schinus terebenthifolius* (Anacardiaceae); *Pelargonium* sp. (Geraniaceae); *Ocimum canum*, *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae); *Cinnamomum camphora* (Lauraceae); *Myristica fragrans* (Myristicaceae); *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae); *Piper nigrum* (poivre noir) (Piperaceae); *Elionurus tristis*, *Cymbopogon citratus* (Poaceae); *Vepris eliotii*, *Citrus hystrix* (Rutaceae); et *Lantana camara* (Verbenaceae); et trois chémotypes de *Ravensara aromatica* (Lauraceae), deux chémotypes de *Melaleuca viridiflora* (Myrtaceae) et deux HE de *Pimenta dioica* (Piperaceae) dont une fraîche et une autre sèche.

b) Résultats et discussion

Les résultats sont donnés dans le Tableau 3. Ils ont montré que l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* (citronnelle) et *Lantana camara* étaient les plus actives contre le *Plasmodium*. *Cymbopogon citratus* a présenté l'activité antiplasmodiale la plus élevée avec une CI_{50} égale à $27 \pm 1,69 \mu\text{g/mL}$. L'huile essentielle de *L. camara* a montré une activité de $31,6 \mu\text{g/mL}$. Les deux huiles ont montré une activité similaire à celle trouvée dans la chloroquine ($25 \mu\text{g/mL}$), l'un des deux contrôles utilisés dans cette étude. Cependant, ces deux huiles ont montré une activité beaucoup plus faible que la quinine ($3,3 \mu\text{g} / \text{mL}$). Les huiles essentielles restantes ont montré des activités allant de l'absence d'activité à une IC_{50} de $73,5 \mu\text{g/mL}$.

Sachant que d'importantes différences sont attendues entre les espèces végétales et la chimie de l'huile essentielle sur l'activité antiplasmodiale, cette étude montre également l'extension de cette hypothèse : que le chémotype (constituants majeurs) dans les espèces ainsi que la chimie finale de l'huile essentielle aurait également un impact sur l'activité antimalaria. L'huile essentielle de *Ravensara aromatica*, dominée par le sabinène et le limonène, n'a montré aucune activité, tandis

que les huiles contenant du méthyleugénol et du méthylchavicol ont présenté une activité antiplasmodiale respectivement de 75 µg/mL et 73 µg/mL.

Tableau 3 : Constituants majoritaires et activité antiplasmodiale de 20 huiles essentielles contre *Plasmodium falciparum* FCM29

Huile essentielle	Constituants majeurs	IC ₅₀ µg/ml
<i>Cinnamomum camphora</i> *	1,8 cinéole, sabinène [Juliani et al, 2005]	173,3 ± 22,3
<i>Ravensara aromatica</i> *	Méthyleugénol [Mollenbeck et al, 1997]	74,7 ± 3,3
<i>Ravensara aromatica</i> *	Méthylchavicol	73,1 ± 3,4
<i>Ravensara aromatica</i> *	Sabinène, limonène	NA
<i>Schinus terebinthifolius</i> **	α-pinène [Morton, 1978], α-phellandrine	NA
<i>Myristica fragrans</i> ***	Sabinène [Singh et al, 2005]	NA
<i>Vepris elliotii</i> *	Linalol [Poitou et al, 1995]	117,6 ± 9,0
<i>Melaleuca viridiflora</i> *	1,8 cinéole	NA
<i>Melaleuca viridiflora</i> *	Viridiflorol	135,5 ± 17,2
<i>Piper nigrum</i> ***	β- caryophyllène [Mollenbeck et al, 1997 ; Juliani et al, 2004]	120,3 ± 15,3
<i>Citrus hystrix</i> *	Limonène, β- pinène [Hongratanaworakit et al, 2007]	119,5 ± 11,5
<i>Elionurus tristis</i>	Non identifié	65,7 ± 8,1
<i>Pelargonium</i> sp*	Géraniol, citronellol [Juliani et al, 2006]	225,7 ± 13,0
<i>Eucalyptus globulus</i> *	1,8 cinéole [Poitou et al, 1995]	142,8 ± 25,9
<i>Cymbopogon citratus</i> *	Néral, géranial	27,3 ± 1,6
<i>Pimenta dioica</i> (frais)*	Eugénol [Park et al, 2007]	NA
<i>Pimenta dioica</i> (sec)*	Eugénol [Park et al, 2007]	165,8 ± 18,6
<i>Lantana camara</i> *	β- caryophyllène, α-pinène [Mollenbeck, 1997 ; Rana, 2005]	31,6 ± 1,9
<i>Ocimum canum</i> *	Camphre [Chagonda et al, 2000]	156,7 ± 9,4
<i>Rosmarinus officinalis</i>	α-pinène, camphre [Wang et al. 2008]	NA
Quinine		3,3 ± 0,5
Chloroquine		25,2 ± 1,4

NA : non actif, IC₅₀ moyenne de trois tests.

Partie utilisée : *feuille, ** baie, *** grain

L'huile essentielle de *Schinus terebenthifolius* également dominée par les hydrocarbures monoterpènes [Baniecki et al. 2007] n'a pas non plus montré d'activité.

L'huile essentielle *Melaleuca viridiflora*, dominée par 1,8 cineole (éther cyclique), n'a montré aucune activité, tandis que l'huile dominée par l'alcool sesquiterpénique (viridiflorol) a présenté une activité antiplasmodiale.

Ces résultats sont confirmés par l'observation selon laquelle les huiles essentielles (*E. globulus*, *C. camphora*) dominées par le 1,8 cinéole présentaient habituellement des activités plus faibles (143-177 µg/mL). Nous notons également que le traitement du matériel végétal peut également affecter la chimie de l'activité antiplasmodiale des HE puisque l'huile de *Pimenta dioica*

fraîchement distillée n'a montré aucune activité tandis que l'huile provenant de la matière végétale séchée a montré une activité sur le parasite (Tableau 3).

II.3.4 Activité antiplasmodiale et antifongique des huiles essentielles de Katrafay

Contexte et buts visés

Dans sa mission de développer la pharmacopée malagasy et la médecine traditionnelle, les différents départements du CNARP collaborent étroitement dans l'identification des plantes susceptibles d'être utilisées dans les problèmes de santé publique nationale.

Cedrelopsis ou *Katrafay* (Rutaceae) est un genre endémique de Madagascar et comprend huit espèces d'arbres et d'arbustes qui poussent sur différents types de substrat et dans des écosystèmes primaires et/ou modifiés. L'évaluation écologique permet de comprendre les pressions et menaces qui pèsent sur les populations et de définir leurs statuts de conservation ainsi que d'établir la stratégie de gestion pour les pérenniser de façon durable.

Selon l'étude menée par Rabarison et al., en 2010, environ 65 à 100% de sous populations de *Cedrelopsis* se trouvent dans des sites qui n'ont aucune mesure de conservation appropriée. Selon cette étude, *Cedrelopsis procera* est en danger critique d'extinction ; *C.gracilis* ; *C. longibracteata*, *C. ambanensis* et *C. rakotozafyi* sont en danger d'extinction (EN) ; *C. trivalvis*, *C. grevei* et *C. microfoliolata* sont vulnérables (VU). La gestion de leurs populations et habitats naturels impose la participation effective des acteurs environnementaux.

Le Katrafay est utilisé comme plante médicinale antifatigue et tonifiant (tisane), contre les maux d'estomac et de ventre (tisane ou infusion). Il est également utilisé en massage en aromathérapie contre les contractures musculaires ; il sert aussi en tant que bois de construction.

Ces différentes formes d'utilisation constituent entre autres des pressions sur les populations de *Cedrelopsis*. Ses habitats sont menacés par les feux de brousse, la culture itinérante sur brûlis et l'exploitation forestière.

Les études menées sur ces espèces ont surtout porté sur la partie non volatile de Katrafay : des triterpènes ont été trouvés dans *C.gracilis* [Mulholland et al. 2004], des limonoïdes dans *C. grevei* [Mulholland et al. 1999] ; la présence de coumarines a été signalée dans *C. longibracteata* [Randrianarivelojosia, 2005] et dans *C. grevei* [Mulholland et al. 2002].

Concernant les HE, à notre connaissance l'étude de la composition chimique des HE de Katrafay concerne seulement les HE de feuilles et d'écorces de *Cedrelopsis grevei* [Gauvin et al. 2004 ; Andrianoelisoa, 2014].

a) Les huiles essentielles de Katrafay (figure 2)

Les huit espèces de *Cedrelopsis* sont réparties dans plusieurs sites naturels sans statut ni mesures de protection ou de conservation appropriées. Parmi eux *C.gracilis* ; *C. longibracteata*, et *C. rakotozafyi* sont en danger d'extinction; *C. trivalvis*, *C. grevei* et *C. microfoliolata* sont vulnérables. Leurs études et propriétés biologiques pourraient être utiles pour leur conservation (statut IUCN).

Parmi les huit espèces, seules six espèces ont été localisées et leurs écorces ont été distillées à la vapeur d'eau par la méthode de Clevenger. Leurs huiles essentielles ont été testées pour leur activité

- Antiplasmodiale, sur *Plasmodium falciparum* FCM29, souche résistante à la chloroquine utilisant la méthode par Fluorescence au Sybr Green I. [Bennett et al. 2004],
- Antifongique, sur *Candida albicans*, par la méthode des disques [Ponce et al. 2003].

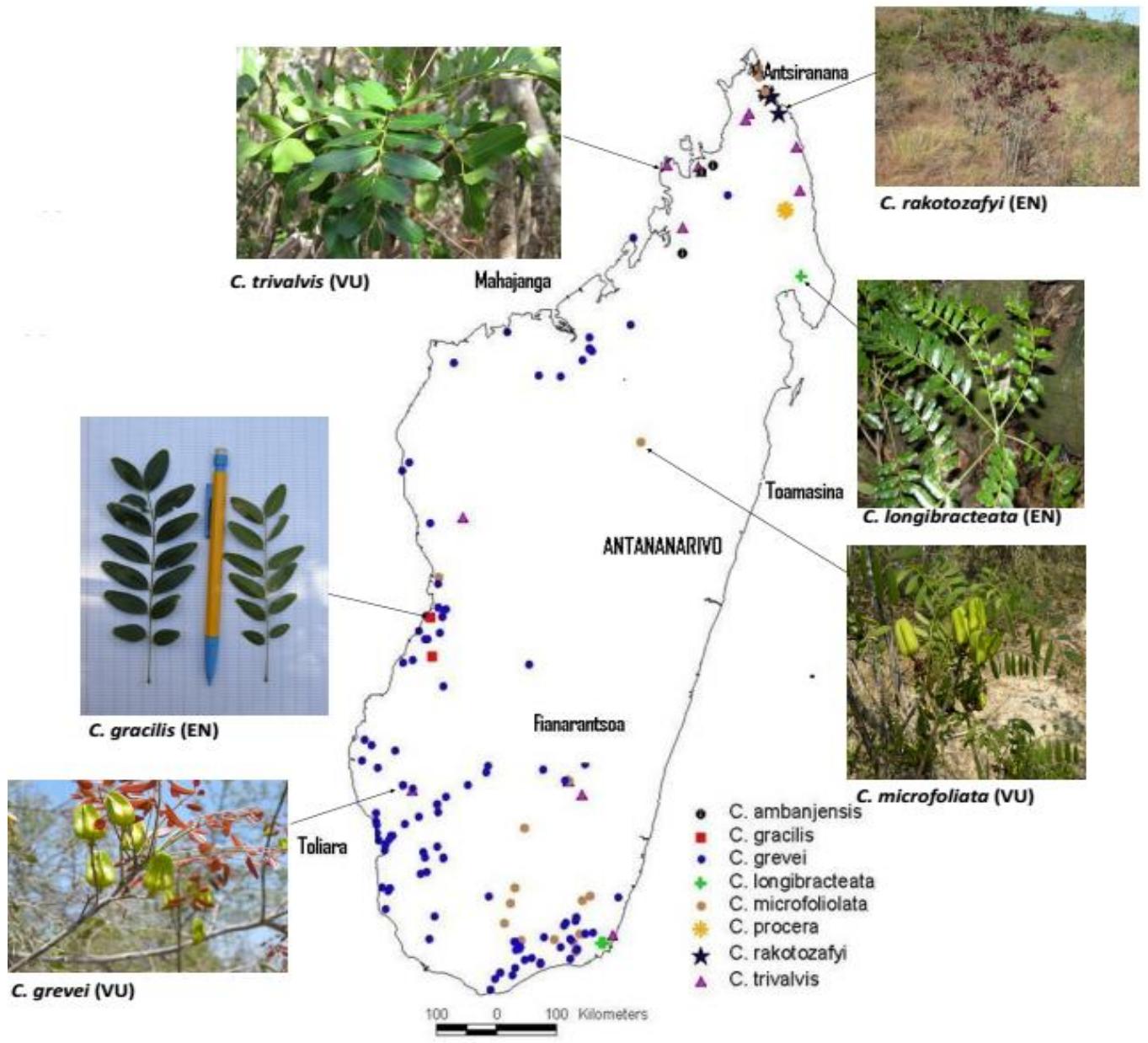


Figure 2: Distribution des espèces de *Cedrelopsis* à Madagascar

b) Résultats

Les résultats sont donnés dans le tableau 4. L'évaluation de l'activité antiplasmodiale des HE de *Cedrelopsis* a montré des IC₅₀ comprises entre 15µg/mL et 43 µg/mL, et leurs halos d'inhibition mesurent entre 12mm à 22mm de diamètre. Ces résultats indiquent leur activité antifongique très intéressante.

Tableau 4 : Résultats préliminaires sur les HE de *Cedrelopsis*.

Espèce	Rendement en HE%(m/m)	Activité antiplasmodialeIC ₅₀ (µg/mL)	Diamètre d'inhibition <i>Candida albicans</i> (mm)
<i>C. trivalvis</i>	1,86	38	Inactif
<i>C. gracilis</i>	1,60	37	20
<i>C. grevei</i>	0,23	15	16
<i>C. rakotozafyi</i>	1,07	43	10
<i>C. longibracteata</i>	0,25	35	22
<i>C. microfoliolata</i>	0,39	27	20

La détermination de la composition chimique de ces HE par analyse CPG/SM et les analyses microbiologiques permettant la formulation de spécialités pharmaceutiques sont en cours.

II.3.5 Activités antiplasmodiale et antioxydante des extraits de *Helichrysum gymnocephalum* (DC.) Humbert, (Asteraceae). Isolement de la cardamomin

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de l'extrait de dichlorométhane des parties aériennes de *Helichrysum gymnocephalum* de Madagascar en tant qu'antiplasmodial et antioxydant. Le screening phytochimique de cet extrait a révélé la présence des composés phénoliques et dérivés, qui sont représentés par des flavonoïdes dont les flavonols, des coumarines et des tanins condensés et des terpénoïdes dont les stéroïdes et les stérols insaturés.

Les fractionnements guidés par l'activité antiplasmodiale de l'extrait dichlorométhane ont conduit à l'isolement d'une chalcone, la cardamomin. Sa structure chimique a été établie par analyse en spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire mono et bi dimensionnelle. L'activité antiplasmodiale a été mesurée in vitro contre *Plasmodium falciparum* FCM29, une souche résistante à la chloroquine. L'extrait dichlorométhane présente une activité antiplasmodiale avec une IC₅₀ égale à 29,67µg/ml et la cardamomin une IC₅₀ à 43µM. La méthode appliquée pour

mesurer l'activité antioxydante est celle du piégeage des radicaux libres à l'aide du DPPH. L'extrait dichlorométhane réduit le DPPH à 95,21% et la cardamomin à 52,89%.

Introduction

Les Asteraceae sont composées de plus de 22 700 espèces cosmopolites dans le monde [Mabberley, 2000]. A Madagascar, parmi les 540 espèces existantes, 88% sont endémiques [Callmander et al. 2011]. *Helichrysum*, un important genre de cette famille, comprend environ 600 espèces provenant des régions chaudes, en particulier en Europe et en Afrique [Mabberley, 2000]. A Madagascar, ce genre compte actuellement 112 espèces, toutes natives, dont 98,2% sont propres à l'île [Gautier et al. 2013] parmi laquelle figure *Helichrysum gymnocephalum* (DC) Humbert.

Cette plante est connue localement sous le nom de Rambiazina vavy. Selon la description de Humbert en 1962, c'est un arbuste pouvant atteindre jusqu'à 4 m de hauteur. Les rameaux ultimes sont couverts d'un tomentum aranéen blanchâtre et très fin. Les feuilles sont lancéolées et longuement atténues vers la base en pétioles courts, non ailées dans sa partie inférieure, couvertes sur les deux faces d'un tomentum aranéen. Les fleurs sont petites et groupées en inflorescences composées. Les fruits sont des akènes papilleux.

La floraison s'étale de Février à Mai. La plante pousse sur les sols ferrallitiques sur roches siliceuses de la région centrale de Madagascar, dans les formations végétales rocheuses et secondaires au-dessus de 800 m d'altitude.

C'est une plante très utilisée localement. Les utilisations dans la littérature sont très diverses. On la trouve vendue chez les marchands de plantes médicinales [Miarisoa, 2012 ; Randriamiharisoa et al. 2012]. L'enquête menée par ces auteurs montre que la décoction des feuilles est fébrifuge et aphrodisiaque ; elle permet de soigner l'albumine, la toux. Elle permet également de traiter les maladies cardiaques et l'asphyxie. Elle est aussi réputée cicatrisante [Miarisoa, 2012 ; Randriamiharisoa et al. 2012].

Son huile essentielle est utilisée en aromathérapie pour ses vertus antimicrobienne, [Ramanolima et al. 1987], antalgique, antiinflammatoire, analgésique, stomachique [Boiteau, 1986, 1993 ; Razafindrakoto, 2016]. Elle est utilisée en tant qu'expectorant et anti mucolytique [Lemesle, 2011]. Les travaux chimiques ont montré que l'huile essentielle contient du 1,8 cinéole comme constituant majoritaire variant de 47.3% à plus de 70% [Möllenbeck et al. 1997 ; Cavalli et al. 2001 ; de Medici et al.].

Les plantes médicinales sont des sources de molécules ayant des activités thérapeutiques et la découverte de la quinine et de l’artémisinine justifie l’utilisation empirique des plantes contre la fièvre et le paludisme. Par ailleurs, Il a été montré que les plantes et les composés ayant une activité antioxydante peuvent diminuer l’infection paludéenne et probablement éviter ses séquelles [Tarkang et al. 2013]. Chez l’animal, Reis et al. ont prouvé en 2010 que les antioxydants empêchent le développement des complications cérébrales provoquées par le paludisme.

En 2011, Samia Afoulous et al. ont publié les activités cytotoxique, antimalariaie et antioxydante de l’huile essentielle de *H. gymnocephalum*. Ils ont établi une corrélation entre l’activité biologique de l’huile essentielle et les constituants responsables de cette activité : β -sélinène, α -terpinolène et aromadendrene ont présenté une forte corrélation avec l’activité anticancéreuse. Calamenène a montré une corrélation significative pour l’activité antiplasmodiale.

Le présent travail repose encore sur la valorisation scientifique de la médecine traditionnelle et porte cette fois-ci sur l’évaluation des activités antimalariales et antioxydantes des extraits de *H. gymnocephalum* ainsi qu’à l’isolement et à la purification de la cardamomin. L’activité antioxydante a été abordée du fait de l’effet bénéfique des antioxydants sur le stress oxydatif induit chez les sujets infectés. [Tarkang et al. 2013 ; Reis et al. 2010].

Matériels et méthodes

1) Collecte et identification

Les parties aériennes de *Helichrysum gymnocephalum* ont été récoltées à Manjakandriana Antananarivo en octobre 2014, dans le district de Manjakandriana , de la Région Analamanga. Un herbier de référence sous le code HE1076 est déposé à l’Herbarium du CNARP.



Figure 3 : *Helichrysum gymnocephalum*
(Photo: Rakotonandrasana, CNARP)

2) Criblage phytochimique

Les criblages phytochimiques ont été réalisés pour détecter les familles de molécules présentes dans la plante [Bruneton, 1993]. Les méthodes sont basées sur l'utilisation des réactifs spécifiques pour chaque famille à détecter. Les réactions chimiques sont basées par la formation de complexes insolubles ou de complexes colorés à partir de poudre de plante ou d'extrait hydroéthanolique.

3) Préparation des extraits

Les parties aériennes de *H. gymnocephalum* ont été séchées, broyées puis macérées dans l'éthanol pendant 24h à la température ambiante. Le filtrat est débarrassé du solvant par évaporation sous vide. L'extrait éthanolique brut est dissout dans le mélange méthanol/eau (60/40) puis soumis au partage liquide-liquide avec l'hexane. La solution méthanolique est débarrassée du méthanol par évaporation sous vide puis l'extrait sec est redissout dans l'eau et soumis à un fractionnement avec le dichlorométhane (5 fois). Les extraits hexanique, dichlorométhane et aqueux sont évaporés à sec

4) Fractionnement et isolement

Les fractionnements de l'extrait dichlorométhane ont été effectués sur des colonnes chromatographiques en utilisant le gel de silice comme phase fixe et des solvants de polarités différentes comme phase mobile. La chromatographie sur couche mince (CCM) a été utilisée pour les suivis des fractionnements. La purification et l'isolement du produit ont été réalisés par chromatographie sur couche mince préparative d'épaisseur de phase 500µm.

5) Analyses spectrales

Les analyses spectrales ont été réalisées au sein du Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université Paris Descartes. Les spectres de RMN (¹H, ¹³C, COSY, COSY-LR, HMBC, HSQC) ont été enregistrés sur un appareil Bruker Avance 400 et les spectres de masse sur un appareil ZQ 2000 Waters à source d'électronébulisation Z-Spray (ESI-MS).

6) Analyses biologiques

- *Activité antimalariaie*

Cette étude est fondée sur la mesure de la fluorescence de la solution contenant le parasite *Plasmodium falciparum* par ajout d'un fluorophore, le SYBR Green I.

Un mélange de 200 µl, composé de 100 µl de suspension de globules rouges infectés par la souche FCM29 de *P. falciparum* (1% de parasitémie et 2% d'hématocrite dans un milieu RPMI 1640 complété avec 20% de sérum humain), de 50 µl du produit à tester dilué en série et de 50 µl de milieu non enrichi en sérum humain, est réparti dans une microplaquette à 96 trous. La microplaquette est ensuite incubée dans une atmosphère microaérophile à 37°C pendant 72 h.

Après incubation, un volume de 50 µl de solution de SYBR Green I (Microprobes, Oregon, États-Unis), dilué 20 fois dans un milieu supplémenté avec du sérum humain, est ajouté dans chaque puits. Les solutions résultantes sont mélangées et laissées au repos pendant 60 min à l'abri de la lumière à 37°C. La fluorescence est lue à deux longueurs d'ondes $\lambda_1 = 485$ nm, longueur d'onde d'excitation et $\lambda_2 = 518$ nm, longueur d'onde d'émission (Biotek - Lecteur de microplaques FLX800). Le taux de fluorescence est considéré comme proportionnel à la quantité de *P. falciparum* respective dans chaque puits. Les valeurs d'IC₅₀, les concentrations de médicaments qui réduisent de 50% le taux de fluorescence, donc la croissance, sont ensuite déduites selon le calcul décrit par Bennett et al. 2004.

- *Activité antioxydante par la méthode de DPPH*

Le radical libre DPPH est connu pour sa couleur violet-foncé et sa forte absorbance à 517 nm une fois dissous dans le méthanol. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical DPPH de couleur violette pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte. Ainsi, le pouvoir antioxydant des extraits de plantes est mis en évidence en suivant la disparition de la couleur violette, au cours du temps, d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH. La mesure de la décroissance de coloration se fait par la mesure de l'absorbance de la solution par spectrophotométrie. Cette activité est déterminée selon la méthode d'Awika, 2003.

25 mg de DPPH sont dissous dans 100 ml de méthanol et gardés à -20 °C à l'abri de la lumière avant utilisation. Dans des tubes secs, 200 µl de la solution à tester sont introduits, puis 3800 µl de la solution de DPPH à 25% sont ajoutés. Pour chaque concentration, un blanc constitué de 3800 µl de DPPH, additionné de 200 µl de méthanol est préparé. Après 30 min d'incubation à l'obscurité à la température ambiante, une mesure de l'absorbance à $\lambda = 517$ nm a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre. L'activité antioxydante qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol. Elle est donnée par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage(%) d'Inhibition de DPPH} = (\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{test}} / \text{Abs}_{\text{control}}) \times 100$$

- Où Abs désigne l'absorbance à la longueur d'onde de $\lambda = 517$ nm. [Yoo et al.2008]
- Les résultats ont été exprimés par la moyenne de 3 mesures \pm écart type.
- Le pourcentage d'inhibition ainsi calculé a été comparé en utilisant deux courbes d'étalonnage de l'α-tocophérol des valeurs compris entre 6,25 µM à 100 µM et 150 µM à 600 µM.

Résultats et discussions

1) Rendement de l'extraction

120 g de poudre de plante (feuilles et tiges) ont donné 17,01g d'extrait éthanolique soit un rendement de 14,2%. Le fractionnement liquide-liquide de 5,69 g d'extrait éthanolique a donné 0,78 g d'extrait hexanique. 1,38 g d'extrait dichlorométhane (rendement = 24,3%), indiquant une proportion significative de pigments apparentés à la chlorophylle, et 3,39 g d'extrait aqueux (rendement = 59,6%).

2) Criblage phytochimique

Les résultats obtenus lors du screening phytochimique de *H. gymnocephalum* sont donnés dans le Tableau 5. Ainsi, les métabolites secondaires détectés dans *H. gymnocephalum* comprennent :

- des composés phénoliques et dérivés, qui sont surtout représentés par des flavonoïdes dont les flavonols, des coumarines et des tanins condensés ;
- des terpénoïdes dont les stéroïdes et les stérols insaturés.

Tableau 5 : Résultats du criblage phytochimique des parties aériennes de *H. gymnocephalum*

FAMILLES CHIMIQUES	REACTIFS DE CARACTERISATION	RESULTATS
COMPOSES PHENOLIQUES		
Coumarines	NaOH, lampe U.V. de λ 254 nm et 366 nm	+
Flavones	HCl, Mg	-
Flavonols	HCl, Mg, Alcool isoamyllique	+++
Flavanones, flavanonols	HCl, Mg	-
Anthocyanes	HCl, NH ₄ OH	-
Leucoanthocyanes	HCl à chaud	-
Anthraquinones libres	Eau, Benzène, NH ₄ OH	-
Hétérosides anthracéniques	HCl, CHCl ₃ , NH ₄ OH	-
Tanins	NaCl, Gélatine	+++
Tanins condensés	FeCl ₃	+++
Tanins hydrolysables	FeCl ₃	-
Polyphénols	Gélatine 1%, H ₂ O NaCl	++
Phénols, flavanes	Vanilline chlorhydrique	+
TERPENOÏDES		
Stérols insaturés	H ₂ SO ₄	+++
Stéroïdes lactoniques	Acide picrique, NaOH, Acide 3,5-dinitrobenzoïque, KOH	+++ +++
Stéroïdes	Anhydride acétique, H ₂ SO ₄	+++
Iridoïdes	HCl, Ethanol, Glycérol, CuSO ₄	-
Saponines	Hauteur mousse	-
Cardénolides	H ₃ PO ₄ , Acide trichloracétique, lampe U.V.	++
Hétérosides désoxy-2-sucres	FeCl ₃ , Acide acétique	-
AUTRES		
Alcaloïdes	KI, I ₂ , HgCl ₂ , Bi(NO ₃) ₃ , Acide tartrique	-
Hétérosides cyanogènes	CHCl ₃ , Picrate de sodium	-
Polysaccharides	Ethanol	-

- : test négatif : aucune réaction observée

+ : faible coloration ou formation de peu de précipité

++ : Coloration franche ou précipité abondante ou mousse abondante

+++ : Coloration intense ou flocculation immédiate ou hauteur de mousse supérieure à 5cm.

3) Fractionnement et isolement

Le fractionnement de 1 g d'extrait dichlorométhane de *H. gymnocephalum* sur colonne ouverte de gel de silice avec un gradient de CHCl₃/EtOAc [98:2 à 93:7], puis 100% EtOAc a permis d'obtenir 5 fractions numérotées DCL11 à DCL15.

La fraction DCL12 (967,2mg) a subi un deuxième fractionnement sur colonne ouverte de gel de silice avec un gradient de CHCl₃/EtOAc de 99 :1 à 100% EtOAc pour donner 5 autres sous fractions notées DCL121 à DCL 125.

Le produit DCL124b (21mg) a été obtenu par chromatographie sur couche mince préparative de la fraction DCL 124 (56mg), utilisant l'éluant CHCl₃/MeOH [95 :5].

4) Détermination structurale du produit isolé DCL 124b

Le produit isolé a été soumis aux analyses RMN 1D et 2D dans MeOD et dans DMSO (1H, COSY, HSQC, HMBC, RMN 13C), et en spectrométrie de masse.

Son spectre RMN 1H montre des signaux à 6.02 et 5.95 ppm avec J = 2.1 Hz qui sont caractéristiques des protons H-6 et H-8 d'un flavonoïde. On remarque les signaux à 7.94 et 7.71 ppm avec J = 15.6 Hz caractéristiques de deux protons éthyléniques voisins (confirmés par leurs corrélations COSY). Ces protons éthyléniques sont enchaînés avec un C=O (à 192,3 ppm) d'après le spectre HMBC. Les multiplets entre 7,4 et 7,7 ppm correspondent aux protons d'un cycle aromatique. La position du méthoxyle est obtenue grâce à la corrélation HMBC du CH₃ avec le carbone à 163,4 ppm (C-9). L'ensemble de ces données permet d'écrire la structure de la chalcone suivante : [1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one]. Il s'agit d'une chalcone connue appelée aussi cardamomin (figure 3).

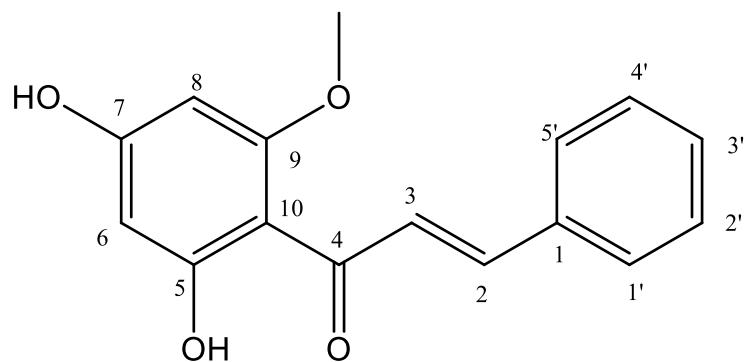


Figure 4 : Structure du cardamomin

Relevés spectraux du produit isolé cardamomin :

ESI+/MS : m/z 293 [M+Na]⁺, M = 270 g/mol, C₁₆H₁₄O₄

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ ppm 7.94 (d, J = 15.6 Hz, 1H, H-2), 7.71 (d, J = 15.7 Hz, 1H, H-3), 7.68 – 7.63 (m, 2H, H-1' et H-5'), 7.43 (m, 3H, H-2', H-3' et H-4'), 6.02 (d, J = 2.1 Hz, 1H, H-8), 5.95 (d, J = 2.2 Hz, 1H, H-6), 3.95 (s, 3H, O-CH3).

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ ppm 7.84 (d, J = 15.7 Hz, 1H, H-2), 7.71 (dd, J = 7.5, 1.7 Hz, 2H, H-1' et H-5'), 7.65 (d, J = 15.7 Hz, 1H, H-3), 7.51 – 7.39 (m, 3H, H-2', H-3' et H-4'), 6.01 (d, J = 1.9 Hz, 1H, H-8), 5.91 (d, J = 2.1 Hz, 1H, H-6), 3.87 (s, 3H, O-CH3).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD) δ ppm 192.3 (C-4), 163.4 (C-9), 141.3 (C-3), 135.6 (C-1), 129.7 (C-1', C-5'), 128.6 (C-2', C-4'), 127.9 (C-3'), 127.5 (C-2), 95.8 (C-6), 91.30 (C-8), 54.9 (O-CH3).

5) Activités biologiques

• Activité antiplasmodiale

L'extrait dichlorométhane présente une activité antiplasmodiale *in vitro* avec une IC₅₀ égale à 29,67µg/ml et la cardamomin IC₅₀= 43µM contre *Plasmodium falciparum*, souche résistante à la chloroquine. Le produit de référence quinine a une IC₅₀=0,0037µM.

• Activité antioxydante

Le Tableau 6 indique que l'extrait brut éthanolique à 1mg/ml, qui est équivalent en α-Tocophérol à 553 µM/mg/ml d'extrait a réduit le DPPH à 95,21% est doté d'une activité antioxydante très élevée. Le produit isolé cardamomin seul, à 1mg/ml équivalent à 59,16 µM/mg/ml de α-Tocophérol réduit le DPPH à 52,89%. Cette forte activité de l'extrait brut peut être due aux composés phénoliques présents dans l'extrait brut éthanolique et confirmés lors du criblage phytochimique de *H. gymnocephalum*. (Tableau 5). Tanaka et al. ont suggéré que les composés polyphénoliques ont des effets inhibiteurs sur la mutagenèse et la cancérogenèse (des maladies dues aux radicaux libres) chez l'homme.

Tableau 6:Activité antioxydante des extraits de *H. gymnocephalum* et du composé isolé DCL124b testés à 1mg/mL

	% d'inhibition de DPPH	Equivalent α-Tocophérol (µM/mg/mL d'extrait)
extrait brut éthanolique	95,21	556,63
extrait dichlorométhane	89,78	477,46
DCL124b (cardamomin)	52,89	59,16

Discussion

L'activité antiplasmodiale est vérifiée scientifiquement dans cette plante car l'extrait de dichlorométhane ($IC_{50}=29,67\mu\text{g}/\text{ml}$), la cardamomin isolée ($IC_{50}= 43\mu\text{M}$) présentent des activités antiplasmodiales *in vitro* contre *Plasmodium falciparum* FCM29, souche résistante à la chloroquine. Le produit de référence quinine a une $IC_{50}= 0,0037\mu\text{M}$.

Les composés phénoliques dont les flavonoïdes sont couramment rencontrés chez les plantes du genre *Helichrysum*. *H. arenarium* contient par exemple plus d'une dizaine de séries de flavonoïdes [Sawilska et al. 2009]. *H. pamphylicum* contient des flavonoïdes à potentialité anticancéreuse [Bryksa-Godzisz et al. 2006].

Ainsi, à part le fait que ce genre végétal soit connu pour les huiles essentielles [Afoulous et al. 2011 ; Bougatsos et al. 2004], les flavonoïdes peuvent aussi être considérés comme leurs marqueurs chimiotaخonomiques.

Ce travail est le premier rapport sur l'isolement de la chalcone cardamomin dans *H. gymnocephalum*. Elle a été isolée pour la première fois dans les graines d'*Amomum subulatum* par Bheemasankara et al. en 1976. Cardamomin a été isolée et représente le constituant majeur dans des plantes de la famille Zingiberaceae, notamment du genre *Alpinia* [Tram et al. 2007 ; Xiao et al. 2011], mais aussi dans *Boesenbergia* [Yadnya-Putra et al. 2014 ; Ching et al. 2007] et *Syzygium samarangense* (Bloom) de la famille des Myrtaceae. [Simirgiotis et al. 2008].

L'activité antioxydante que nous avons détectée de *H. gymnocephalum* peut être reliée avec sa richesse en composés phénoliques, dont les flavonoïdes. En effet, plusieurs recherches ont montré que ce genre végétal est connu pour cette activité biologique [Gouveia-Figueira et al. 2014 ; Albayrak et al. 2010].

L'étude de l'activité antioxydante que nous avons effectuée a montré que l'activité du cardamomin représente plus de la moitié de l'activité de l'extrait brut. Ce résultat est conforme aux données de la littérature sur cette molécule, en effet, elle est connue pour ses propriétés antioxydantes et anticancéreuses [Xiao et al. 2011 ; Gouveia-Figueira et al. 2014 ; Lü et al. 2013].

Conclusion partielle

Les travaux sur *H. gymnocephalum* (Asteraceae) endémique de Madagascar portent sur l'étude chimique de ses extraits.

Le screening phytochimique a révélé la présence des composés phénoliques tels que des flavonoïdes en particulier des flavonols, des coumarines et des tanins condensés, mais également des terpénoïdes dont les stéroïdes et les stérols insaturés.

L'extraction du broyat de la partie aérienne de la plante, suivie du fractionnement et de la purification de l'extrait dichlorométhane par diverses techniques chromatographiques ont conduit à l'isolement de la cardamomin. Le profil chimique du produit isolé, obtenu par analyses spectrales est en accord avec les résultats du criblage phytochimique.

L'extrait de dichlorométhane et la cardamomin présentent des activités antiplasmodiales *in vitro* contre *Plasmodium falciparum* FCM29, souche résistante à la chloroquine avec respectivement IC₅₀= 29,67µg/ml et IC₅₀= 43µM, celle de la quinine étant de 0,0037µM

Par la méthode DPPH, l'analyse des activités antioxydantes a montré la potentialité de l'extrait brut éthanolique, avec une valeur importante car il réduit le DPPH à 95,21% et la cardamomin seule, le réduit à 52,89%.

La valorisation scientifique de la médecine traditionnelle doit aboutir notamment à la mise au point de médicaments à base de plantes. L'ensemble de ces résultats ouvre des perspectives sur la valorisation de cette plante, déjà utilisée localement pour ses vertus médicamenteuses, par la mise au point de phytomédicaments. Il s'ensuit des tests *in vivo*, sur les animaux afin de déterminer la toxicité, les doses efficaces....

II.4 RECHERCHES EN COURS ET PERSPECTIVES

La qualité des résultats de nos collaborations avec les laboratoires nationaux et internationaux encourage l'équipe de recherche du CNARP à persévérer dans cette voie de recherche sur les plantes médicinales et les plantes aromatiques.

Actuellement, les principaux thèmes de recherche en cours au CNARP, sont axés sur :

- L'identification de la composition chimique des huiles essentielles pour leur utilisation en aromathérapie, ou à d'autres fins (économiques, ...),
- L'isolement et l'identification des composés bioactifs des plantes.

Les tests d'activités biologiques sur lesquels nos fractionnements sont bioguidés concernent l'activité antiplasmodiale, les activités antibactériennes et antioxydante. Les modèles testés proviennent d'extraits bruts, d'huiles essentielles, de fractions et de produits isolés.

Ces travaux peuvent faire l'objet de plusieurs sujets de recherche pour les étudiants encadrés actuellement au CNARP.

II.4.1 Travaux de recherche sur *Tetradenia nervosa*

Les travaux préliminaires sur l'HE de *Tetradenia* ont fait l'objet du mémoire de Master 2 en Systématique et Gestion Durable de la Diversité Végétale (SYGEDUR) de Nombanjanahary Zoherinjina Minosoa qui a été soutenu le 04 Novembre 2016 dernier, ainsi qu'un poster sur les constituants majoritaires de l'HE présenté lors Symposium International « Chimie Ecologique, Ecologie Chimique pour un Développement Durable dans l'Océan Indien », Novembre 2016, Antananarivo.

Les espèces de *Tetradenia* sont des plantes à la fois médicinales et aromatiques. Contrairement aux espèces africaines, peu d'éléments sur les propriétés chimiques et anatomiques des espèces sont disponibles. L'espèce aromatique *Tetradenia nervosa* a montré la présence de composés phénoliques et dérivés, stérols et des polysaccharides. Les études au niveau des jeunes tiges, du pétiole et du limbe ont permis de confirmer l'appartenance de *Tetradenia* à la famille des Lamiaceae. L'HE se trouve dans les cellules des poils sécrétateurs des feuilles.

Le rendement en HE est de l'ordre de 0,1% et les constituants majoritaires sont α - pinène (50%), 1,8 cinéole (20%) et fenchone (10%).

Les analyses CPG/SM de l'HE ont été déjà effectuées au laboratoire de Pharmacognosie de Rouen. L'identification complète de la composition chimique est en cours. L'étude de la composition chimique de l'HE suivant les critères de variation, ainsi que l'étude chimique et biologique de l'extrait font partie du sujet de mémoire en cours de M. Raharison Rija Hawkings.

II.4.2 Travaux de recherche sur *Helichrysum gymnocephalum*.

La détermination de la composition chimique de l'HE de *Helichrysum gymnocephalum* a fait l'objet de deux articles publiés en 1997 et 2001.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de l'extrait de dichlorométhane des parties aériennes de *Helichrysum gymnocephalum* de Madagascar en tant qu'antiplasmodial et antioxydant. Le screening phytochimique de cet extrait a révélé la présence des composés phénoliques et dérivés, qui sont représentés par des flavonoïdes dont les flavonols, des coumarines et des tanins condensés et des terpénoïdes dont les stéroïdes et les stérols insaturés

Les fractionnements guidés par l'activité antimalariale de l'extrait dichlorométhane ont conduit à l'isolement d'une chalcone, la cardamomin. Sa structure chimique a été établie par analyse en spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire mono et bi dimensionnelle. L'activité antiplasmodiale a été mesurée in vitro contre *Plasmodium falciparum* FCM29, une souche

résistante à la chloroquine. L'extrait dichlorométhane présente une activité antiplasmodiale avec une IC₅₀ égale à 29,67µg/ml et la cardamomin une IC₅₀ à 43µM.

La méthode appliquée pour mesurer l'activité antioxydante est celle du piégeage des radicaux libres à l'aide du DPPH. L'extrait dichlorométhane réduit le DPPH à 95,21% et la cardamomin à 52,89%.

Ces résultats ont fait l'objet d'un article publié en 2016.

L'isolement d'autres composés bioactifs de *Helichrysum gymnocephalum* est actuellement l'objet du mémoire de Master de Ranaivoarisoa Rina Hasina, ainsi qu'une partie de la thèse de Rakotoarivelo Henintsoa.

II.4.3 Autres travaux

- ✓ Les travaux sur les huiles essentielles de *Cedrelopsis sp* portent sur l'identification de leurs compositions chimiques. Les analyses CPG/SM ont été déjà effectuées au laboratoire de Rutgers University et au Laboratoire de Pharmacognosie de Rouen. Le dépouillement des résultats d'identification est encore en cours actuellement.
- ✓ L'identification de la composition chimique des huiles essentielles obtenues durant de la mission de collecte dans le Faritany de Toliara est en cours. En perspective sont envisagées les analyses microbiologiques des huiles essentielles qui entrent dans la gamme des HE utilisées dans l'aromathérapie, ou dans la composition de spécialités pharmaceutiques.
- ✓ Les travaux préliminaires sur le genre *Cryptocaria*, *Hyperacanthus* ont donné des résultats encourageants sur leurs activités biologiques. L'isolement de produits actifs pour le genre *Cryptocaria*, a fait l'objet respectivement :
 - Du sujet de la thèse de Randriamialinoro Faliarivony, chercheur du CNARP, soutenue le 24 août 2016,
 - D'articles publiés en 2016 et de deux posters dont un présenté lors de la semaine doctorale, La Réunion, Mai 2014, par exemple,
 - Pour le genre *Hyperacanthus*, les travaux sur trois espèces de *Hyperacanthus* sont confiés à Ranarivelo Njakarinala, Doctorant de GPSIAA, comme thème de recherche dans le cadre de sa thèse.

II.4.4 Perspectives sur l'exploitation de la Propriété intellectuelle

Les résultats de recherche sur les plantes médicinales et aromatiques ont comme finalité leur application dans la vie quotidienne de la population. Que ce soit sous la forme de spécialités pharmaceutiques, de produits cosmétiques ou sous toute autre forme, leur mise sur le marché remet en question leur authenticité quant à l'origine de la production et leur vente. Depuis que le CNARP a fait partie de SARIMA en 2011, l'idée de mettre les résultats de la recherche accessibles à la population, qui est la définition même du mot « innovation », a fait son chemin, depuis. Dans ce cadre, les points suivants sont à signaler :

- Plus pour la traçabilité du produit que sa protection, la concrétisation de cette démarche a commencé par l'enregistrement du logo du CNARP auprès de l'Office Malgache de la Propriété Intellectuelle (OMAPI) déposé en Février 2016 et le certificat d'enregistrement a été délivré le 11 Février 2017 ;
- La création d'un « bureau de transfert de technologie » qui est une structure adaptée pour gérer l'exploitation du paquet technologique est tout à fait nouvelle pour Madagascar. La notion de gestionnaire, de gestion de la recherche et de l'innovation est une notion récemment mise en exergue dans le cadre de la recherche malgache en 2016 grâce à l'atelier de sensibilisation sur la notion de « bureau de transfert de technologie ». Un atelier de sensibilisation, appuyé par SARIMA sur ce thème, a eu lieu au CNARP en juin 2016. Atelier qui a vu la participation de chercheurs des divers Centres de recherche et de laboratoires de recherche des Universités, tous dépendants du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique ;
- Le futur développement de partenariat avec le secteur privé pour la commercialisation des produits du CNARP figure dans ses perspectives. Un des rôles assignés à ce « bureau de transfert de technologie » est de cadrer ce transfert de technologie vers une structure privée dans une convention « gagnant – gagnant ».

CONCLUSION GÉNÉRALE

C'est depuis les années 90 que le marché des HE a explosé à Madagascar mais cela s'est fait sans considération des exigences du marché international. La production s'est fortement multipliée jusqu'à l'apparition d'une maladie qui a décimée une grande partie des plantations de géranium. C'est depuis cette période qu'a été lancée la rumeur sur la mauvaise qualité des produits malgaches. Malgré ce fait, les HE de bonne qualité ont toujours trouvé preneurs. Ce qui en d'autres termes signifient qu'une production qui suit les normes internationales trouve toujours des acheteurs.

Malgré les rumeurs pour essayer de dénigrer l'Huile Essentielle de géranium de Madagascar, un aperçu des résultats des travaux présentés dans cette synthèse, a permis de démontrer que le géranium malgache, originaire de la Réunion, a gardé ses propriétés d'HE de haute qualité de la même classe que celle du type Bourbon.

NOMBREUSES SONT ENCORE LES HE Malgaches QUI DÉTIENNENT DE FORTES POTENTIALITÉS MAIS QUI SONT EN PASSE DE DISPARAÎTRE À CAUSE DES FEUX DE BROUSSE OU D'UNE MAUVAISE GESTION DES MILIEUX QUI RECÈLENT CES PLANTES. PARMI ELLES, SIX AUTRES ESPÈCES DE *Cedrelopsis*, ENDÉMIQUES DE MADAGASCAR, ONT ÉTÉ LOCALISÉES DANS DES ZONES À RISQUE. LEURS HE PRÉSENTENT DES ACTIVITÉS ANTIPLASMODIALES ET ANTIFONGIQUES. CES PLANTES MÉRITENT D'ÊTRE PROTÉGÉES ET D'ÊTRE RÉGÉNÉRÉES POUR QUE LA RECHERCHE CONTRE LE PALUDISME PUISSE SE DÉVELOPPER SACHANT QUE CETTE MALADIE TUE DES MILLIERS DE PERSONNES CHAQUE ANNÉE.

LES PERSPECTIVES PORTENT SUR LA SUITE DES TRAVAUX DE RECHERCHE EN COURS. ENTRE AUTRES, LA DÉTERMINATION DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE SIX ESPÈCES DE *Cedrelopsis*, L'ÉTUDE DE LA VARIATION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *Tetradenia nervosa*, L'ISOLEMENT DE PRINCIPES ACTIFS DE L'EXTRAIT DE *Helichrysum gymnocephalum* ET LA MISE AU POINT DE SPÉCIALITÉS PHARMACEUTIQUES. CES ÉTUDES FERONT L'OBJET DE MÉMOIRES DE MASTER ET DE THÈSE.

ON PEUT RÉSUMER CES TRAVAUX, SUR LE FAIT QUE BEAUCOUP DE CHAMPS SONT ENCORE EN FRICHE CONCERNANT L'ÉTUDE DU POTENTIEL DES PLANTES AROMATIQUES DE MADAGASCAR. MAIS IL NE FAUT PAS OUBLIER QUE LES RÉSULTATS, LA QUALITÉ, LA COMMERCIALISATION DE TOUTES CES HE DOIVENT RENTRER DANS UN CADRE DE NORMALISATION ET DE PROTECTION POUR QUE LE PAYS PUISSE EN TIRER UN AVANTAGE CERTAIN SUR LE PLAN SANTÉ, ÉCONOMIQUE ET SOCIAL, C'EST-À-DIRE POUR UN DÉVELOPPEMENT DURABLE DE MADAGASCAR.

RÉFÉRENCES

A. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

B. WEBOGRAPHIE

A. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ADAMS R. P. 1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL.
2. AFOULOUS S., FERHOUT H., RAOELISON E. G., VALENTIN A., MOUKARZEL B., COUDERC. F. and BOUAJILA J. 2011. *Helichrysum gymnocephalum* Essential Oil: Chemical Composition and Cytotoxic, Antimalarial and Antioxidant Activities, Attribution of the Activity Origin by Correlations. *Molecules*, **16**, 8273-8291.
3. ALBAYRAK S., A. AKSOY, O. SAĞDIC, U. BUDAK. 2010. Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, Turkey. *Turk. J. Biol.* **34**, 463-473.
4. Anonymous, Commercialization Bulletin #14 Geranium Oil. Agribusiness Development Centre (ADC). Kampala. Uganda (1998).
5. Association des Parfumeurs de Grasse de 1959. Commission de Normalisation du Syndicat National des Fabricants et Importateurs d'Huiles Essentielles et Produits Aromatiques Naturels de Grasse. 1959. Méthodes d'analyse et constantes analytiques des huiles essentielles. Syndicat des Fabricants et Importateurs d'Huiles Essentielles ET Produits Aromatiques Naturels (Ed.), 7, rue Gazan, GRASSE.
6. AWIKA J.M.2003. Screening method to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum products. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 6657-6662.
7. BABU K.G.D. and KAUL V.K. (2005). Variation in essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium* sp.) distilled by different distillation techniques. *Flav. Fragr. J.*, **20**, 222-231.
8. BANIECKI M.L., WIRTH D.F., CLARDY J. 2007. High-throughput *Plasmodium falciparum* growth assay for malaria drug discovery. *Antimicrob. Agents Chemother*, **51**, 716-723.
9. BENNETT.N., PAGUIO M., GLIGORIJEVIC B., SEUDIEU C., KOSAR A. DAVIDSON D.E., and ROEPE P.D. 2004. Novel, Rapid, and Inexpensive Cell-Based Quantification of Antimalarial Drug Efficacy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48** (5), 1807–1810.
10. BENOIT-VICA F., VALENTIN A., MALLIE M., BASTIDE J.M., BESSIÈRE J.M. 1999. In vitro antimalarial activity and cytotoxicity of *Cochlospermum*

- tinctorium* and *C. planchonii* leaf extracts and essential oils. *Planta Med.*, **65**, 378-381.
11. BHEEMASANKARA R.C., NAMOSIVA R.T., SURYAPRAKASAMS. Cardamonin and alpinetin from the seeds of *Amomum subulatum*. 1976. *Planta Medica*, **29**(4), 391-392.
 12. BOITEAU P. 1986. Médecine traditionnelle et Pharmacopée. *Précis de matière médicale Malgache*. ACCT.
 13. BOITEAU Pierre, ALLORGE-BOITEAU Lucile. 1993. Plantes médicinales de Madagascar : cinquante-huit plantes médicinales utilisées sur le marché de Tananarive (Zoma) à Madagascar. Edition KARTHALA, page 46.
 14. BOUGATSOS C., NGASSAPA O., RUNYORO D.K.B., and CHINOU I. B. 2004. Chemical Composition and *in vitro* Antimicrobial Activity of the Essential oils of two *Helichrysum* Species from Tanzania. *Z. Naturforsch.* **59c**, 368-372.
 15. BOYOM F.F, NGOUANA V., ZOLLO P.H., MENUT C., BESSIÈRE J.M., GUT J., ROSENTHAL P.J. 2003. Composition and antiplasmodial activities of essential oils from some Cameroonian medicinal plants. *Phytochemistry*, **64**, 1269-1275.
 16. BRUNETON J.J. 1993. Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales. 2^{ème} édition. Paris, Lavoisier.Technique-Documentation.
 17. BRYKSA-GODZISZ M., WEGLARZ Z., PRZYBYL V.2006. Phenolic compounds in yellow everlasting (*Helichrysum arenarium*) growing wild in the middle part of the Bug river valley. *Herba Polonica*, **52**(4), 26-31.
 18. CALLMANDER M. W., PHILLIPSON P. B., SCHATZ G. E., ANDRIAMBOLOOLONERA S., RABARIMANARIVO M., RAKOTONIRINA N., RAHARIMAMPIONONA J., CHATELAIN C., GAUTIER L. and LOWRY P. P II. 2011. The endemic and non-endemic vascular flora of Madagascar updated. *Plant Ecology and Evolution*, **144**(2), 121-125.
 19. CAMPBELL W.E., GAMMON D.W., SMITH P., ABRAHAMS M., PURVES T.D. 1997. Cannabinoids as Therapeutics. *Planta Med.*, **63**, 270-272.
 20. CAO S., RANARIVELO L., RATSIMBASON M., RANDRIANASOLO S., RATOVOSON F., ANDRIANJAFY M., KINGSTON D.G. 2006. Antiplasmodial activity of compounds from *Sloanea rhodantha* (Baker) Capuron var. *rhodantha* from the Madagascar Rain Forest. *Planta Medica* ;**72**(15), 1438-1440. .
 21. CARRAZ M., JOSSANG A., FRANETICH J-F., SIAU A., CICERON L., HANNOUN L., SAUERWEIN R., FRAPPIER F., RASOANAIVO P.,

- SNOOUNOU G., MAZIER D., 2006. A plant-derived morphinan as a novel lead compound active against malaria liver stages *Plos Medicine*, **3**, 2392-2401.
22. CAVALLI J.F., RANARIVELO L., RATSIMBASON M., BERNARDINI F. and CASANOVA J. 2001. Constituents of the essential oil of six *Helichrysum* species from Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal*, **16**(4), 253-256.
23. CHAGONDA L. S., MAKANDA C. D., CHALCHAT J. C. 2000. The essential oils of *Ocimum canum* Sims (basilic camphor) and *Ocimum urticifolia* Roth from Zimbabwe. *Flavor Fragrance Journal*, **15**(1), 23-26.
24. CHARLES D. J., CEBERT E., SIMON J. E. 1991. Characterization of the essential oil of *Artemisia annua* L. *J. Essential Oil Res.*, **3**, 33-39.
25. CHARLES D. J., SIMON J. E., WOOD K. V., HEINSTEIN P. 1990. Germplasm variation in artemisinin content of *Artemisia annua* using an alternative method of artemisinin analysis from crude plant extracts. *J. Nat. Products*. **53**, 157-160.
26. CHING A. Y. L., WAH T. S., SUKARI M. A., LIAN G. E. C., RAHMANI M. and KHALID K. 2007. Characterization of flavonoid derivatives from *Boesenbergia rotunda* (L.). *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*.**11**(1), 154-159.
27. CORBETT Y., HERRERA L., GONZALEZ J., CUBILLA L., CAPSON T. L., COLEY P. D., KURSAR T. A., ROMERO L. I. 2004. A novel DNA-based microfluorimetric method to evaluate antimalarial drug activity. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **70**, 119-124.
28. De MEDECI D., PIERETTI S., SALVATORE G., NICOLETTI M., and RASOANAIVO P. 1992. Chemical analysis of essential oils of Malagasy medicinal plants by gas chromatography and NMR spectroscopy. *Flav. Fragr. J.*, **7**(5), 275-281.
29. DESJARDINS R. E., CANFIELD C. J., HAYNES J. D., CHULAY J. D. 1979. Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by a semiautomated microdilution technique. *Antimicrob. Agents Chemother.* **16**, 710-718.
30. DUVAL J. et SOUSSY C. J. 1990. Antibiothérapie. 4ème éd. Paris : Masson, 188p.
31. FANCI R., PECILE P. 2005. Central venous catheter-related infection due to *Candida membranaefaciens*, a new opportunistic azole-resistant yeast in a cancer patient: a case report and a review of literature. *Mycoses*; **48**, 357–359.

32. FERREIRA J. F. S., SIMON J. E., JANICK J. 1997. *Artemisia annua* L.: Botany, Horticulture and Pharmacology. In: Janick, J. (ed). *Hort. Rev.* **19**, 319-371. Printed 2/25/2009 7
33. GAUTIER L., CHATELAIN C., CALLMANDER M. W. and PHILLIPSON P. B. 2013. Richness, similarity and specificity of Madagascar flora compared with Sub-Saharan Africa. *Plant Ecology and Evolution*, **145**(1), 55-64.
34. GAUVIN A., LECOMTE A.H. and SMADJA J. 2004. Comparative investigations of the essential oils of two scented geranium (*Pelargonium* spp.) cultivars grown on Reunion Island. *Flav. Fragr. J.*, **19**, 455-460.
35. GAUVIN A., RAVAOMANARIVO H., SMADJA J. 2004. Comparative analysis by gas chromatography/mass spectrometry of the essential oils from bark and leaves of *Cedrelopsis grevei* Baill, an aromatic and medicinal plant from Madagascar. *J. Chromatogr. A*. **1029**, 279-282.
36. GOUVEIA-FIGUEIRA S. C., GOUVEIA C. A., CARVALHO M. J., RODRIGUES A. I., NORDING M. L. and CASTILHO P. C. 2014. Antioxidant Capacity, Cytotoxicity and Antimycobacterial; Activity of Madeira Archipelago Endemic *Helichrysum* Dietary and Medicinal Plants. *Antioxidants*, **3**, 713-729.
37. GROOPPO M., PIRANI J. R., SALATINO M. L. F., BLANCO S. R., KALLUNKI J. A. 2008. Phylogeny of Rutaceae based on two noncoding regions from cp DNA. *Am. J. Bot.* **95**, 985-1005.
38. GUENTHER E., 1950, reprint 1982. The Essential Oils. Vol. IV. RE Krieger Pub. Co., Malabar, FL.
39. HONGRATANAWORAKIT T.; BUCHBAUER G. 2007. Chemical composition and stimulating effect of *Citrus hystrix* oil on humans. *Flavour Fragr. J.*, **22**(5), 443- 449.
40. HUMBERT H. 1962. Compositae. Flore de Madagascar et des Comores. Tome II, 340-619.
41. IUCN, 2001. Catégories et critères de l’UICN pour la Liste Rouge. Commission de la sauvegarde des espèces de l’UICN, Gland. Suisse. Version 3.1. 32 pages.
42. JENNINGS W. and SHIBAMOTO T. 1980. Quality of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography. Academic Press, New York.
43. JULIANI H. R., BEHRA O., MOHARRAM H., RANARIVELO L., RALIJERSON B., ANDRIANTSIFERANA M., RANJATOSON N., RASOARAHONA J., RAMANOELINA P., WANG M., SIMON J. E. 2005.

Searching for the Real Ravensara (*Ravensara aromatica* Sonn.) Essential Oil. A case study for “NATIORA”, the Malagasy natural product label. *Perfumer and Flavorist*, **30**, 60-65.

44. JULIANI H. R., KOROCH A. R., SIMON J. E., HITIMANA N., DAKA, A.; RANARIVELO L.; LANGENHOVEN P. 2006. Quality of Geranium Oils (*Pelargonium* Species) : Case Studies in Southern and Eastern Africa. *J. Essent. Oil Res.* **18**, 116-121.
45. JULIANI H.R.; SIMON J.E.; RAMBOATIANA M.M.R.; BEHRA O.; GARVEY A.; RASKIN I. 2004. Malagasy Aromatic Plants: Essential Oils, Antioxidant and Antimicrobial Activities. *Acta Hort.*, **629**, 77-81.
46. KAMATOU G. P., VILJOEN A. M., GONO-BWALYA A. B., van ZYL R. L., van VUUREN S. F., LOURENS A. C., BASER K.H., DEMIRCI B., LINDSEY K.L., van STADEN J., STEENKAMP P. 2005. The *in vitro* pharmacological activities and a chemical investigation of three South African *Salvia* species *J. Ethnopharmacol.*, **102**, 382-390.
47. KOORBANALLY N. A., RANDRIANARIVELOJOSIA M., MULHOLLAND D. A., QUARLES van UFFORD, L., van den BERG, A. J., 2002. Bioactive constituents of *Cedrelopsis microfoliata*. *J. Nat. Prod.* **65**, 1349-1352.
48. KOORBANALLY Neil, RANDRIANARIVELOJOSIA Milijaona, MULHOLLAND Dulcie A, van den BERG Albert J. J. 2002. Bioactive constituents of *Cedrelopsis microfoliata*. *Journal of Natural Products*, **65**(9), 1349-1352.
49. KOORBANALLY Neil, RANDRIANARIVELOJOSIA Milijaona, MULHOLLAND Dulcie A , van den BERG Albert J. J. 2003. Chalcones from the seed of *Cedrelopsis grevei* (Ptaeroxylaceae). *Phytochemistry*, **62**(8), 1225-1229.
50. KORENROMP E. 2005. Malaria incidence estimates at country level for the year 2004. World Health Organization. Geneva. Switzerland.
51. LAWRENCE B.M. 1989. Essential oils (1981-1987). Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL.
52. LEMESLE S. 2011. Huiles essentielles et eaux florales de Madagascar : Guide pratique d'une aromathérapie innovante. Imp. Sologne Graphic, Lamotte Beuvron. ISBN : 978-2-7466-5697-2.
53. LOPES N. P., KATO M. J., ANDRADE E. H., MAIA J. G., YOSHIDA M., PLANCHART A. R., KATZIN A. M. 1999. *J. Ethnopharmacol.*, **67**, 313-319.

54. LÜ H. T., ZOU Y. L., DENG R. and SHAN H. 2013. Extraction, Purification and Antiradical Activities of Alpinetin and Cardamomin from *Alpinia katsumadai* Hayata. *Asian Journal of Chemistry*, **25** (17), 9503-9507.
55. MABBLEDLEY D. J. 2000. The plant book. A portable dictionary of the plants. 2nd edition. Cambridge University Press, Cambridge.
56. MIARISOA R. Inventaire des plantes médicinales des forêts aux alentours des zones de conservation du projet Ambatovy en vue de leurs valorisations. 2012. Mémoire de fin d'études, Université d'Antananarivo, ESSA/Forêt.
57. MOHAMMED Sayed Aly Mohammed. 2009. Traditional Medicinal Plants and Malaria in Africa. In “African Natural Plant Products: New Discoveries and Challenges in Chemistry and Quality”. Chi Tang Ho and Simon, J.(eds). American Chemical Society Book. Chapter 12. 217-230
58. MÖLLENBECK KÖNIG S., SCHREIER T., P., SCHWAB W., RAJAONARIVONY J. and RANARIVELO L. 1997. Chemical Composition and Analyses of Enantiomers of Essential Oils from Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal*, **12**(2), 63-69.
59. MORALES M. R., CHARLES D. J., SIMON J. E. 1993. Seasonal accumulation of artemisinin in *Artemisia annua* L. *Acta Hort.* **344**, 416-420.
60. MORTON J. F. 1978. Brazilian pepper-its impact on people, animals and the environment. *Economic Botany*, **32**(4), 353-359.
61. MULHOLLAND D., MAHOMEDH., KOTSOS M., RANDRIANARIVELOJOSIA M., LAVAUD C., MASSIOT G., NUZILLARD J.M. 1999. Limonoid derivatives from *Cedrelopsis grevei*. *Tetrahedron*. **55**, 11547- 11552.
62. MULHOLLAND D. A., KOTSOS M., MAHOMED H. A., KOORBANALLY N. A., RANDRIANARIVELOJOSIA M., van UFFORD L.Q., van den BERG A.J. 2002. Coumarins from *Cedrelopsis grevei* (Ptaeroxylaceae). *Phytochemistry*. **61**, 919-922.
63. MULHOLLAND D. A., Mc FARLAND K., RANDRIANARIVELOJOSIA M., RABARISON H. 2004. Cedkathryns A and B, pentanortriterpenoids from *Cedrelopsis gracilis* (Ptaeroxylaceae). *Phytochemistry*, **65**, 2929-2934.
64. MULHOLLAND D. A., NAIDOO D., RANDRIANARIVELOJOSIA M., CHEPLOGOI P. K., COOMBES P. H. 2003. Secondary metabolites from *Cedrelopsis grevei* (Ptaeroxylaceae). *Phytochemistry*, **64**, 631-635.

65. OKUNADE A. L., LEWIS W. H. 2004, Oleanene constituents of *Lantana cujabensis*. *Fitoterapia*. **75**, 327-331.
66. PARK I. K, KIM J., LEE S., SHIN S. 2007. Nematicidal Activity of Plant Essential Oils and Components from Ajowan (*Trachyspermum ammi*), Allspice (*Pimenta dioica*) and Litsea (*Litsea cubeba*) Essential Oils Against Pine Wood Nematode (*Bursaphelenchus Xylophilus*). *J Nematol.* **39**(3), 275.
67. POITOU F., MASOTTI V., VIANO J., GAYDOU E. M., ANDRIAMAHARAVO N. R., MAMITIANA A., RABEMANANTSOA A., RAZANAMAHEFA B. V.; ANDRIANTSIFERANA M. 1995. Chemical composition of *Vepris elliotii* essential oil. *J. Essent. Oil Res.*, **7**, 447-449.
68. PONCE A. G., FRITZ R., DELVALLE C. and ROURA S. I. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic swiss chard. *Lebensm. Wiss. u-Technol.*, **36**, 679-684.
69. QUASHIE N. B., de KONING H. P., RANFORD-CARTWRIGHT L. C. 2006. An improved and highly sensitive microfluorimetric method for assessing susceptibility of *Plasmodium falciparum* to antimalarial drugs in vitro. *Malaria J.* **5**, 95-101.
70. RABARISON H, RAKOTONDRAFARA A, RAZAFIMANDIMBISON S., RAKOTONANDRASANA S, RAJERIARISON C., RANDRIANARIVELOJOSIA M. 2010. Etude écologique, ethnobotanique et évaluation du risque d'extinction pour établir une stratégie de conservation du genre *Cedrelopsis* (Rutaceae- Sapindales), endémiques de Madagascar. In: Beau N., Dessein, S., and E., Robbrecht (Eds): *Proceedings of the XIX th AETFAT Congress held at Antananarivo, Madagascar, 26-30 April 2010. Scripta Botanica Belgica* **50**, 41-49.
71. RAKOTOBÉ E. A., RASOLOMANANA C. J. C., RANDRIANASOLO S. S. *Pharmacopées de l'Ambongo et du Boina*. 1993. Centre d'Information et de Documentation Scientifique et Technique, Antananarivo, Madagascar.
72. RAMANOELINA A. R. P., TERROM G. P., BIANCHINI J. P. et COULANGES P. 1987. Contribution à l'étude de l'action antibactérienne de quelques huiles essentielles extraites de plantes malgaches. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, **53**(1), 217-226.
73. RANA V. S., PRASAD D., BLAZQUEZ M. A. 200. Chemical composition of the leaves oil of *Lantana camara*. *J. Essent. Oil Res.* **17**, 198-200.

74. RANAIVOARISON L. 1989. Contribution à l'étude de deux *Ocimum* cultivés sur les Hauts Plateaux. Mémoire de DEA - Archives de l'ES Polytechnique, Antananarivo, Madagascar.
75. RANAIVOARISON RANARIVELO L. 2006. Contribution à la différentiation des huiles essentielles de Ravintsara : *Cinnamomum camphora* T. & Eberm et *Ravensara aromatica* Sonnerat de Madagascar. Thèse de Docteur-Ingénieur. Archives de l'Ecole Supérieure. Polytechnique d'Antananarivo, Madagascar.
76. RANARIVELO Lalasoa, RAMANOELINA Panja, JULIANI H. Rodolfo, and SIMON James E.. 2009. Characterisation of Essential oils from *Cinnamomum camphora* T. Nees & Eberm. and *Ravensara aromatica* Sonnerat from Madagasikara. In "African Natural Plant Products: New Discoveries and Challenges in Chemistry and Quality". Chi Tang Ho and Simon, J.(eds). American Chemical Society Book. 391-400.
77. RANDRIAMIHARISOA M. N., KUHLMAN A. JEANNODA R., V., RABARISON H., RAKOTOARIVELO N., RANDRIANARIVONY T., RAKOTOARIVONY F., RANDRIANASOLO A. and BUSSMANN R. W. Medicinal plants sold in the markets of Antananarivo, Madagascar. 2012. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, DOI 10.1186/s13002-015-0046.
78. RANDRIANARIVELOJOSIA M., MULHOLLAND D.A., Mc FARLAND K. 2005. Prenylated coumarins from *Cedrelopsis longibracteata* (Ptaeroxylaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* **33**, 301-304.
79. RAO R. B. R., KAUL P. N., SYAMASUNDAR K. V. and RAMESH S. 2002. Water soluble fractions of rose-scented geranium (Pelargonium species) essential oil. *Bioresource Technol.*, **84**, 243-246.
80. REIS P. A., COMIM C. M., HERMANI F., SILVA B., BARICELLO T., PORTELLA A. C., GOMES F. C. A., SAB I. M., FRUTUOSO V. S., OLIVEIRA M. F., BOZZA P. T., BOZZA F. A., DAL-PIZZOL F., ZIMMERMAN G. A., QUEVEDO J., CASTRO-FARIA-NETO H. 2010. Cognitive dysfunction is sustained after rescue therapy in experimental cerebral malaria, and is reduced by additive antioxidant therapy. *PLoS Pathogens*, **6**(6), Article ID e1000963.
81. SAWILSKA A. K., MIELCEREK S. 2009. The content of flavonoids and polyphenolic acids in inflorescences of Sandy Everlasting [*Helichrysum arenarium* (L.) Moench] from natural stands and plantations. *Herba Polonica*, **55** (3), 118-126.

82. SCHATZ, G. E., 2001. Generic Tree Flora of Madagascar. The Board of Trustees, Royal Botanic Gardens, Kew, Great Britain. 477 pages.
83. SIMIRGIOTIS M. J., ADACHI S., TO S., YANG H., REYNERTSON K. A., BASILE M. J., GIL R. R., WEINSTEIN I. B. and KENNELLY E. J. 2008. Cytotoxic chalcones and antioxidants from the fruits of *Syzygium samarangense* (Wax Jambu). *Food Chem.* **107**(2), 813–819.
84. SINGH G., MARIMUTHU P., HELUANI C. S., CATALAN C. 2005. Antimicrobial and Antioxidant Potentials of Essential Oil and Acetone Extract of *Myristica fragrans* Houtt. (Arial Part). *J. Food Sci.*, **70** (2), 141-148.
85. SMILKSTEIN M., SRIWILAIJAROEN N., KELLY J. X., WILAIRAT P., RISCOE M. 2004. Simple and inexpensive fluorescence-based technique for high-throughput antimalarial drug screening. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48**, 1803–1806.
86. SWINNE D., WATELLE M., NOLARD N. 2005. *In vitro* activities of voriconazole, fluconazole, itraconazole and amphotericin B against non *Candida albicans* yeast isolates. *Rev. Iberoam Micol.*, **22**, 24-28.
87. TANAKA M., KUEI C. W., NAGASHIMA Y., TAGUCHI T. 1998. Application of antioxydativeof antioxidativemaillrad reaction products from histidine and glucose to sardine products. *Nippon Suisan Gakkaishi*. **54**, 1409-1414.
88. TARKANG P. A., ATCHAN A. P. N., KUIATE J. R., OKALEBO F. A., GUANTAI A. N. and AGBOR G. A. 2013. Antioxidant Potential of a Polyherbal Antimalarial as an Indicator of Its Therapeutic Value. *Advances in Pharmacological Sciences*, Article ID 678458, 9 pages.
89. TCHOUMBOUGNANG F., AMVAM ZOLLO P. H., DAGNE E., MEKONNEN Y. 2005. *In vivo* antimalarial activity of essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Ocimum gratissimum* on mice infected with *Plasmodium berghei*. *Planta Medica*, **71**, 20-23.
90. TOPCU Z., OZTURK B., KUCUKOGLU O. and KILINC E. 2008. Flavonoids in *Helichrysum pamphylicum* Inhibit Mammalian Type I DNA Topoisomerase. *Z. Naturforsch.* **63c**, 69-74.
91. TRAGER W., JENSEN J. B. 1976. Human malaria parasites in continuous culture. *Science*, **193**, 673-675.

92. TRAM Le H., GIANG P. M., SON P. T. 2007. Further study on chemical constituents and biological activities of *Alpinia conchigera* Griff. (Zingiberaceae). *Journal of Chemistry*, **45**(2), 260-264.
93. VOARISOA. 1998. Silo National des Graines Forestières. 1998. Inventaire des pesticides naturels d'origine végétale à Madagascar., Antananarivo, Madagascar, 131-273.
94. WANG W., WU N., ZU Y. G., FU Y. 2008. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *J. Food Chem.*, **108**, 1019-1022.
95. XIAO X., SI X., TONG X., LI G. 2011. Preparation of flavonoids and diarylheptanoid from *Alpinia katsumadai hayata* by microwave-assisted extraction and high-speed counter-current chromatography. *Separation and Purification Technology*, **81**, 265-269.
96. YADNYA-PUTRA A. A G. R., CHAHYADI A. and ELFAHMI. 2014. Production of Panduratin A, Cardamomin and Sitosterol Using Cell Cultures of Fingerroot (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter). *Biosciences Biotechnology Research Asia*, **11**(1), 43-52.
97. YOO M. K., LEE H. C., MOON B. K., LEE Y. C. 2008. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry*, **106**, 929-936.
98. ZAFERA, R. 1986. *Pharmacopée de l'Alaotra*. Fanantenana Edition, Antananarivo.

B. WEBOGRAPHIE

1. ANDRIANOELISOA H. La valorisation et l'exploitation non destructive des écorces de *Cedrelopsis grevei*.
https://hal.inria.fr/file/index/docid/933941/filename/Hanitra_Andrianoelisoa_La_valorisation_et_1_exploitation_non_destructive_des_A_ecorces_de.pdf. Consulté le 6 Septembre 2015.
2. RAZAFINDRAKOTO F. Elaboration et formulations des HE et extraits aromatiques dans des produits cosmétiques à vertus : anti-âge.
http://www.univ-antananarivo.mg/IMG/pdf/razafindrakoto_fanoina_master2.pdf
Consulté le 7 Janvier 2016.

ANNEXES

- A. Certificat Aromathérapie Sans Frontières : 2013, 2014 et 2016
- B. Certificats PURDUE UNIVERSITY : 1995 et 2000
- C. Certificat AGRICULTURE BIOLOGIQUE Madagascar 1996
- D. Certificat AGRICULTURE BIOLOGIQUE Allemagne 2007
- E. Certificats WIPO : 2004, 2005, 2011, 2012, 2014, 2015(2) et 2016(2)
- F. Attestation SARIMA 2016
- G. Convention de Partenariat ESSA 2001
- H. Convention de Partenariat SYPEAM 2001
- I. Attestation de stage Marseille 1990



ASSOCIATION
AROMATHERAPIE SANS FRONTIERES
MADAGASCAR



CERTIFICAT DE FIN DE FORMATION

Pour: RANARIVELO RANAIVOARISON

Lalasoanirina

FORMATION CONTINUE EN AROMATHERAPIE

Session 1 : Pratique accélérée de l'Aromathérapie en infectiologie tropical Date : Septembre 2013

Session 2 : L'Aromathérapie dans les Pathologies Infectieuses et la Dermatologie Date : Juillet 2014

Session 3 : Gestions des Douleurs Aromathérapie Date : Septembre 2016

LES FORMATEURS

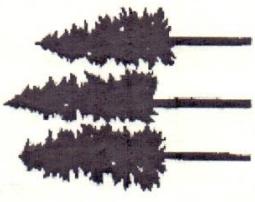
Pierre FRANCHOMME

Jean-Pierre WILLEM

Docteur William RAMAHADISON



Keystone Symposia Scholarship Certificate



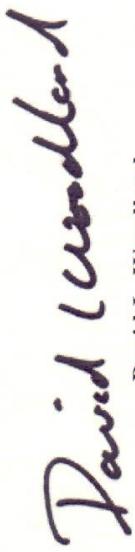
Awarded to

Lalasoanirina Ranaivoarison Ranarivelo

to attend the Keystone Symposium
Drug Discovery for Protozoan Parasites
Santa Fe, New Mexico
January 15 - January 20, 2012

A handwritten signature in black ink, appearing to read "James W. Aiken".

James W. Aiken,
Chief Executive Officer

A handwritten signature in black ink, appearing to read "David L. Woodland".

David L. Woodland,
Chief Scientific Officer

PURDUE UNIVERSITY

WEST LAFAYETTE, INDIANA



This certifies that

Lalasoanirina Ranarivelo

has completed the

INTERNATIONAL TRAINING PROGRAM IN NEW CROPS:
AROMATIC AND MEDICINAL PLANTS

JUNE 19-30, 1995

James E. Simon
James E. Simon
Program Chairman

Victor L. Lechtenberg
Victor L. Lechtenberg
Interim Dean of Agriculture

Michael Stiohl
Michael Stiohl, Dean
Dean, International Programs

PURDUE UNIVERSITY
WEST LAFAYETTE, INDIANA



This certifies that

LALASOANIRINA RANARIVELO

has completed the

INTERNATIONAL TRAINING PROGRAM IN NEW CROPS:
AROMATIC AND MEDICINAL PLANTS

JUNE 19-30, 2000

James E. Simon
James E. Simon
Program Chairman

Victor L. Lechtenberg
Victor L. Lechtenberg
Dean, School of Agriculture

Michael Stohl
Michael Stohl
Dean, International Programs



UNIVERSITÉ D'ANTANANARIVO
ÉCOLE SUPÉRIEURE DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DÉPARTEMENT AGRICULTURE

U.S.A.I.D / M.A.E.L.S.P
ABT ASSOCIATES

CERTIFICATE

ଶ୍ରୀମଦ୍ଭଗବତ

Le Coordonnateur de la formation continue du département Agriculture de l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques certifie que:

Madame RANARIVELO RANAIVOARISON LALASOANIZINA

a suivi avec assiduité la Formation Continue sur

"L'AGRICULTURE BIOLOGIQUE"

organisée du 22 Avril au 20 Mai 1996.

Antranikyan, le 20 Mai 1996

Le Gouvernement

INSTITUT NATIONAL D'HAÏTI
PORT-AU-PRINCE
HAÏTI
1962

Volume 1_CV & Synthèse_RANARIVELO RANAIVOARISON Lalasoanirina_2017



Perfectionnement Professionnel

Sur l'invitation du Ministère Bavarois de l'Economie,
des Infrastructures, des Transports et de la Technologie

Mme Lalasoanirina Ranarivelo Ranaivoarison

a reçu un perfectionnement professionnel dans le domaine:
"Standards de qualité et coopération commerciale concernant les
produits biologiques de Madagascar"
(16 Avril 2007 - 27 Avril 2007)

Il est certifié, que le perfectionnement était conclu avec succès.

Ministère Bavarois de l'Economie, des Infrastructures,
des Transports et de la Technologie

Pour le compte

A handwritten signature in blue ink that reads "G. Reichel".



DIRECTION DU DÉVELOPPEMENT ET
DE LA COOPÉRATION (DDC)
DÉPARTEMENT FÉDÉRAL DES
AFFAIRES ÉTRANGÈRES



ORGANISATION MONDIALE DE LA
PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

CERTIFICAT

Je certifie que

Lalasoanirina RANAIVOARISON RANARIVELO

a participé à

**L'ATELIER SUR LES SERVICES D'APPUI À L'INNOVATION
ET LEUR GESTION**

organisé par

l'Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI)
et

**la Direction du développement et de la coopération (DDC)
du Département fédéral des affaires étrangères (Suisse)**

avec le concours

de l'Institut Fédéral de la Propriété Intellectuelle (Suisse)

**Genève, Lausanne, Berne, Zurich
29 novembre - 10 décembre 2004**

Genève
décembre 2004

Kamil Idris
Directeur général de
l'OMPI

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE



ACADEMIE MONDIALE DE L'OMPI

C E R T I F I C A T

Je, Soussigné, certifie que

Lalasoanirina Ranaivoarison

a réussi le cours
d'enseignement à distance

Cours général de propriété intellectuelle

dispensé du 1 mars au 15 avril 2005

Kamil Idris
Directeur général

16124FR



MINISTÈRE D'ETAT CHARGE DE
L'ECONOMIE ET DE L'INDUSTRIE



OFFICE MALGACHE DE LA
PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE



OMPI
ORGANISATION MONDIALE
DE LA PROPRIÉTÉ
INTELLECTUELLE

ATELIER NATIONAL

CERTIFICAT

Nous soussignés, attestons que

Lalasoa Ranarivelo

a participé à

L'ATELIER DE L'OMPI SUR LES STRATEGIES ET TECHNIQUES
DE RECHERCHE D'INFORMATIONS EN MATIÈRE DE BREVETS

Organisé par

l'Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI),
le Ministère d'Etat chargé de l'Economie et de l'Industrie, et
l'Office Malgache de la Propriété Industrielle, Antananarivo

Antananarivo

25 au 27 juillet 2011

Christian Ravoaharison
Directeur général de l'Office
malgache de la Propriété
industrielle (OMAPI)



Jean-Paul Hoebreck
Conseiller principal auprès
du sous-directeur général
(OMPI)



OFFICE MALGACHE DE LA
PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE



ORGANISATION MONDIALE
DE LA PROPRIÉTÉ
INTELLECTUELLE

ATELIER NATIONAL

CERTIFICAT

Nous soussignés, certifions que

Ranarivelo Lalasoa.

a participé à

L'ATELIER DE L'OMPI RELATIF AUX CENTRES D'APPUI À LA
TECHNOLOGIE ET À L'INNOVATION (CATI) : DEUXIÈME ATELIER
SUR LES STRATÉGIES ET TECHNIQUES DE RECHERCHE
D'INFORMATIONS EN MATIÈRE DE BREVETS ET LANCEMENT
DU CATI

Organisé par

l'Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) et
l'Office malgache de la propriété industrielle (OMAPI)

**Antananarivo,
les 9 et 10 mai 2012**

M. Christian C. Ravoaharison
Directeur général
OMAPI

M. Alejandro Roca Campaña
Directeur principal
Division des services d'accès à
l'information et aux savoirs
OMPI



OMAPI
OFFICE MALGACHE DE
LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE



MINISTÈRE DE L'INDUSTRIE , DU
DEVELOPPEMENT DU SECTEUR
PRIVE ET DES PETITES ET
MOYENNES ENTREPRISES



OMPI
ORGANISATION MONDIALE
DE LA PROPRIÉTÉ
INTELLECTUELLE

CERTIFICAT

Nous soussignés, certifions que

Lalasoanirina RANARIVELO
RANAIVOARISON

A participé à l'

ATELIER SUR LA RÉDACTION DES DEMANDES DE BREVET
D'INVENTION

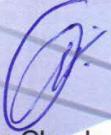
Organisé par

l'Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI)

en coopération avec

l'Office Malgache de la Propriété Industrielle (OMAPI)

À Antananarivo
du 17 au 19 juin 2014


Christian Claude RAVOARAHARISON
Directeur général
OMAPI


Patrick GENIN
Administrateur principal de
programme
OMPI



ACADEMIE DE L'OMPI

CERTIFICAT

Je soussigné, certifie que

**Lalasoanirina Ranarivelo
Ranaivoarison**

a réussi
le cours d'enseignement à distance

COURS AVANCÉ SUR LES BREVETS

dispensé du 7 Mai au 28 Juillet 2015

Marcelo Di Pietro

Marcelo Di Pietro
Directeur des opérations
Académie de l'OMPI



ACADEMIE DE L'OMPI

CERTIFICAT

Je soussigné, certifie que

**Lalasoanirina Ranarivelo
Ranaivoarison**

a réussi
le cours d'enseignement à distance

COURS AVANCÉ SUR LES MARQUES, LES DESSINS
INDUSTRIELS ET LES INDICATIONS GÉOGRAPHIQUES

dispensé du 9 Septembre au 24 Novembre 2015

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Saadallah".

Sherif Saadallah
Directeur exécutif
Académie de l'OMPI



Confirmation of Attendance

RANARIVELO Lalasoa

attended a Training Workshop on

FUNDAMENTALS OF RESEARCH AND INNOVATION
MANAGEMENT

22-23 June 2016

at

CNARP

Antananarivo, Madagascar

Prof Isaac Mapaure
SARIMA Committee Member

Michel Ratsimbason
Director: Centre National d'Application de
Recherches Pharmaceutiques





ACADEMIE DE L'OMPI

CERTIFICAT

Je Soussigné, certifie que

**Lalasoanirina Ranaivoarison
Ranarivelo**

a réussi
le cours d'enseignement à distance

COURS AVANCÉ SUR LA GESTION DE LA PROPRIÉTÉ
INTELLECTUELLE

dispensé du 1 Septembre au 6 Décembre 2016

Sherif Saadallah
Directeur exécutif
Académie de l'OMPI





SUMMER SCHOOL

CERTIFICATE

We hereby certify that

Lalasoanirina RANARIVELO RANAIVOARISON

Successfully completed the
WIPO-SOUTH AFRICA ADVANCED SUMMER SCHOOL ON
INTELLECTUAL PROPERTY AND TRANSFER OF TECHNOLOGY

Organized by
The World Intellectual Property Organization (WIPO)
in cooperation with the National Intellectual Property Management Office
(NIPMO) of the Department of Science and Technology (DST)
and the Companies and Intellectual Property Commission (CIPC) of the
Government of the Republic of South Africa
and with the assistance of the Japanese Government

Cape Town, South Africa

December 05 to 15, 2016

Phil Mjiwara
Director-General
DST

Kerry Faul
Head
NIPMO

Rory Voller
Commissioner
CIPC

Sherif Saadallah
Executive Director
WIPO Academy

A. R. Panja RAMANOELINA

ECOLE SUPERIEURE
DES SCIENCES AGRONOMIQUES (ESSA)

UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

Lalasoanirina
RANARIVELO

Centre National d'Application
des Recherches Pharmaceutiques
(CNARP)

CONVENTION DE PARTENARIAT

Entre:

- Madame Lalasoanirina RANARIVELO, Chercheur du Laboratoire de Contrôle de Qualité des Huiles Essentielles du Département de Chimie (Centre National d'Application des Recherches Pharmaceutiques), d'une part,

et

- Monsieur A. R. Panja RAMANOELINA, Enseignant-chercheur, du Laboratoire des Industries Agricoles et Alimentaires, du Département Industries Agricoles et Alimentaires (Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques - Université d'Antananarivo), d'autre part,

Il a été convenu et arrêté ce qui suit dans le cadre du projet de recherche,

« ETABLISSEMENT DE FICHES TECHNIQUES à but normatif
pour les HUILES ESSENTIELLES commercialisées par le SYPEAM :
Cas du Ravintsara (*Cinnamomum camphora*) »

Article premier: Objet de la convention:

La présente convention a pour objet le partenariat entre les parties contractantes, dans le cadre de la réalisation du sous-projet de recherche:

« ETABLISSEMENT DE FICHES TECHNIQUES à but normatif pour les HUILES ESSENTIELLES
commercialisées par le SYPEAM : Cas du Ravintsara (*Cinnamomum camphora*) »
notamment en ce qui concerne les obligations et engagements de chaque partie et l'organisation générale du partenariat.

Article 2: Obligations et engagements de chaque partie:

Chaque partie s'engage à:

1. Mettre à disposition du sous-projet les ressources intellectuelles, humaines et matérielles, telles que définies dans le dossier de sous-projet, en vue de la réalisation des objectifs.
2. Participer activement aux activités du projet.
3. Respecter le calendrier des travaux tel que défini dans le dossier de projet.
4. Rendre compte suivant le calendrier défini dans le dossier de projet des activités réalisées.
5. Rendre compte de l'utilisation des subsides et moyens fournis par les Bailleurs, suivant les procédures comptables agréées par ceux-ci.

Article 3: Personnel et matériels mis à disposition:

En ce qui concerne le matériel: chaque partie mettra à disposition pour la réalisation du projet les matériels spécifiques à l'analyse des Huiles Essentielles.

Article 4: Dispositions diverses

Pour toute interprétation concernant les dispositions d'application de la présente convention, il sera fait référence au dossier de projet, tel qu'agrémenté par le Ministère de tutelle en version définitive.

Fait à Antananarivo, le 18 Avril 2001

A. R. Panja RAMANOELINA

Lalasoanirina RANARIVELO

CONVENTION DE PARTENARIAT

Entre:

- SYPEAM (Syndicat Professionnel des Producteurs d'Extraits Aromatiques, Alimentaires et Médicinaux de Madagascar), d'une part,
- et
- Madame Lalasoanirina RANARIVELO, chercheur du laboratoire de Contrôle de Qualité des Huiles Essentielles du Département de Chimie (Centre National d'Application des Recherches Pharmaceutiques, d'autre part,

Il a été convenu et arrêté ce qui suit dans le cadre du projet intitulé

" ETABLISSEMENT DE FICHES TECHNIQUES à but normatif pour les HUILES ESSENTIELLES commercialisées par le SYPEAM:
Cas du Ravintsara (*Cinnamomum camphora*)"

Article premier: objet de la convention

La présente convention a pour objet le partenariat entre les parties contractantes, dans le cadre de la réalisation du projet:

" ETABLISSEMENT DE FICHES TECHNIQUES à but normatif pour les HUILES ESSENTIELLES commercialisées par le SYPEAM:
Cas du Ravintsara (*Cinnamomum camphora*)"

Notamment en ce qui concerne les obligations et les engagements de chaque partie et l'organisation générale du partenariat.

Article 2: obligations et engagements de chaque partie:

Chaque partie s'engage à

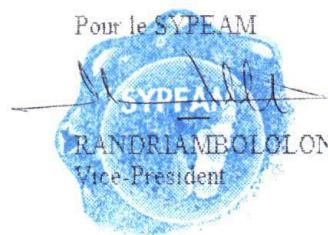
- mettre à disposition du projet les ressources intellectuelles humaines et matérielles, telles que définies dans le dossier du projet, en vue de la réalisation des objectifs,
- participer activement aux activités du projet: collecte, échantillonnage
- rendre compte suivant le calendrier défini dans le dossier de projet les activités réalisées

Article 3: dispositions diverses

Pour toute interprétation concernant les dispositions d'application de la présente convention, il sera fait référence au dossier de projet, tel qu'agréer par le Ministère de tutelle en version définitive.

Fait à Antananarivo le 18 avril 2001

Pour le SYPEAM



RANDRIAMBOLOLONA Charles
Vice-Président

L'intéressée

Lalasoanirina RANARIVELO

REPOBLIKAN'I MADAGASIKARA
FAHAFAHANA-TANINDRAZANA-FANDROSOANA
ooOoo

MINISTÈRE DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
--oOo--

DECISION N°070/1 MRS
Portant nomination du Coordonateur National
Du Projet du BIODIVALOR Madagascar

Le Ministre de la Recherche Scientifique,

- Vu la Constitution ;
- Vu le Décret 93-027 du 13 Mai 1993 relative à la réglementation des Hauts Emplois de l'Etat,
- Vu le Décret n° 76-132 du 31 Mars 1976, modifié et complété par les décrets n° 85-207 du 06 Juillet 1985 et n° 92-452 du 15 Avril 1992 portant réglementation des Hauts Emplois de l'Etat,
- Vu le Décret n° 98-522 du 23 Juillet 1998, portant nomination du Premier Ministre, Chef du Gouvernement,
- Vu le Décret 98-530 du 31 Juillet 1998, portant nomination des Membres du Gouvernement,
- Vu le Décret n° 98-724 du 09 Septembre 1998, fixant les attributions du Ministre de la Recherche Scientifique ainsi que l'organisation générale de son Ministère,
- Vu l'Accords de Siège, signé le 31 mars 2000 entre le Gouvernement Malgache et l'ONG Pro- Natura International à Madagascar.

DECIDE

Article 1.- Est nommée Coordonateur National du Projet Biodivvalor Madagascar Madame Lalasoanirina RANARIVELO née RANAIVOARISON , Assistant de Recherche au Centre National d'Application des Recherches Pharmaceutiques (CNARP).

Article 2.- A ce titre, elle est responsable vis à vis du Ministre de la Recherche Scientifique de la coordination, de l'animation scientifique et de la mise en œuvre de toutes les activités prévues dans le cadre du projet.

Article 3.- La présente décision sera publiée partout où besoin sera.

16 JUL 2001

Le Ministre de la Recherche
Scientifique

UNIVERSITÉ DE DROIT, D'ÉCONOMIE ET DES SCIENCES
D'AIX-MARSEILLE

FACULTÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DE SAINT-JÉRÔME

Laboratoire de PHYTOCHIMIE

AVENUE ESCADRILLE-NORMANDIE-NIEMAN - 13397 MARSEILLE CEDEX 13
TÉL : 91.98.39.01 ET 91.98.90.49
TELEX : FAST JE 402 876 F

E. GAYDOU
PROFESSEUR

Marseille le 7 Juin 1990

ATTESTATION

Je soussigné Emile GAYDOU, Professeur à l'Université d'Aix-Marseille III atteste que:

Madame Lalasoanirina RANAIVOARISON

effectue un stage dans mon laboratoire, du 5 Juin au 13 Juillet 1990, pour se perfectionner avec les techniques d'analyses et de dosage des Huiles Essentielles.

LABORATOIRE DE PHYTOCHIMIE
Rue H. Poincaré
13397 MARSEILLE Cedex 13
E. GAYDOU
Professeur,



E. GAYDOU

Fait pour servir et valoir ce que de droit.



UNIVERSITÉ D'ANTANANARIVO

ÉCOLE SUPÉRIEURE POLYTECHNIQUE D'ANTANANARIVO

Mpanoratra : RANARIVELO RANAIVOARISON Lalasoanirina

Adiresy : Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques (CNARP), rue RP Rahajarizafy A. de Padoue, Ambohijatovo Ambodivoanjo, 101, Antananarivo.

Tel : + 261 32 02 473 81

E-mailaka : lranarivelo@yahoo.com

Talen'ny « HDR » : Pr. RAMANOELINA Panja

Lohateny: «Asa simika sy biologika ny zavamaniry fanao fanafody eto Madagasikara manana tombotsoa ara-toekarena » (*Etudes chimiques et biologiques de plantes médicinales de Madagascar à intérêt économique*).

Isan'ny pejy : 68

Isan'ny tabilao : 06

Isan'ny sary : 04



FAMINTINANA

Ity asa ity dia fandravonana ireo asa fikarohana misongadina nandritra ny 30 taona niasako tao amin'ny « Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques ». Hanome vokatra manana kalitao, hifehy ny hatsarany sy ny habetsany araky ny fepetra takin'ny tsena anatin sy ny tsena iraisam-pirenena ny tanjona mba hamerenana ny toeran'ny zavamaniry fanao fanafody sy ny menaka manitra avy eto Madagasikara amin'ny toerana mampalaza azy.

Notiliana ireo hery ara-biologika ananan'izy ireo hanamarinana ny fampiasana azy amin'ny fitsaboana avy amin'ny zavamaniry fanao fanafody, ny fitsaboana avy amin'ny menaka manitra (aromathérapie), ny fampiharana azy amin'ny fanatsarana ny faritra ivelan'ny vatan'olombelona (cosmétique) ...

Mifantoka amin'ny fandalinana ny kalitaon'ny menaka manitra avy amin'ny « géranium Bourbon » maniry eto Madagasikara, ny hery « *antiplasmodial* » ana menaka manitra roapolo avy eto Madagasikara, ny asa tamin'ny karazana Katrafay enina « *Cedrelopsis* » ary ny hery biologikan'ny Rambiazina vavy (*Helichrysum gymnocephalum*) ity boky ity.

Teny manan-danja: “*Pelargonium* sp”, “*Cedrelopsis* sp”, “*Helichrysum gymnocephalum*”, Madagasikara, “*antiplasmodial*”, “*antimicrobial*”, “*antioxydant*”.



UNIVERSITÉ D'ANTANANARIVO ÉCOLE SUPÉRIEURE POLYTECHNIQUE D'ANTANANARIVO

Auteur : RANARIVELO RANAIVOARISON Lalasoanirina

Adresse de l'auteur : Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques (CNARP), rue RP Rahajarizafy A. de Padoue, Ambohijatovo Ambodivoanjo, 101, Antananarivo.

Tel : + 261 32 02 473 81

E-mail : lraranivelo@yahoo.com

Directeur du mémoire : Pr. RAMANOELINA Panja

Titre : « Etudes chimiques et biologiques de plantes médicinales de Madagascar à intérêt économique ».

Nombre de pages : 68, **Nombre de tableaux :** 06, **Nombre de figures :** 02, **Nombre de photos :** 02



RESUME

Cette synthèse porte sur les travaux de recherche que j'ai menés durant les 30 années au Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques. L'objectif est de fournir un produit de qualité, d'en assurer la stabilité et la quantité exigées par le marché national et le marché international afin de remettre les huiles essentielles et les plantes médicinales de Madagascar à la place qu'elles méritent. Les activités biologiques ont été étudiées et définies afin de justifier leur application en aromathérapie, en phytothérapie et pour la cosmétique...

Les thèmes principaux développés dans cet ouvrage portent sur l'analyse de la qualité de l'huile essentielle de géranium type Bourbon produite à Madagascar, l'activité antiplasmodiale de vingt huiles essentielles de Madagascar, l'étude des six espèces de *Cedrelopsis* ainsi que l'étude chimique, les activités antiplasmodiale et antioxydante de l'extrait de *Helichrysum gymnocephalum*.

Mots clés : *Pelargonium* sp, *Cedrelopsis* sp, *Helichrysum gymnocephalum*, antiplasmodial, antimicrobien, antioxydant.

ABSTRACT

This synthesis focuses on the research I have carried out at the Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques for thirty years. The objective is to provide a quality product, to ensure its stability and its quantity for the national market and international market in order to restore the essential oils and medicinal plants of Madagascar to the place that they deserve. Biological activities have been conducted to justify their application in aromatherapy, phytotherapy and cosmetics ...

The main themes developed concern the analysis of the quality of the essential oil of geranium type Bourbon produced in Madagascar, the antiplasmodial activity of twenty essential oils from Madagascar, the study of the six species of *Cedrelopsis* as well as chemical study, antiplasmodial and antioxidant activities of *Helichrysum gymnocephalum* extract.

Keywords: *Pelargonium* sp, *Cedrelopsis* sp, *Helichrysum gymnocephalum*, Madagascar, antiplasmodial, antimicrobial, antioxidant.