



Université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCCEN

Département de Chimie



MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Par : **Melle. GHERMAOUI Amina**
Melle. BECHROUL Khawla Nihel

Sur le thème



Composition chimique et évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'*Eryngium triquetrum* en combinaison aux références de synthèse

Soutenu publiquement le 4 juin 2023 à Tlemcen devant le jury composé de :

M. SELLES Chaouki	Professeur	Université de Tlemcen	Président
M. SELKA Mohammed Adil	MCA	Université de Tlemcen	Examinateur
M. BENSALD Okkacha	Professeur	Université de Tlemcen	Encadrant
M. DIB Mohammed Amine	Professeur	Université de Tlemcen	Co-encadrant

Année universitaire : 2022/2023

Remerciement

On remercie ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé ; la force ; la volanté d'entamer et de terminer ce mémoire, et nous tenons à remercie tout ce qui ont participé à la rédaction de ce document. Plus particulièrement de :

Monsieur BENSALD Okkacha professeur au département de Chimie, Université de Tlemcen pour sa disponibilité et la qualité de son encadrement.

Monsieur SELLES Chawki, professeur au département de Chimie, Université de Tlemcen, pour avoir bien voulu accepter de présider ce mémoire.

Monsieur SELKA Mohamed Adil, MCA aux départements de pharmacie, faculté de médecine, Université de Tlemcen, de me fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Monsieur DIB Mohamed Amine chef de département de chimie, université de Tlemcen pour leur générosité et sa patience malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Ce travail ne serait pas riche sans l'aide de Mlle. ABBOU fayza docteur en biochimie appliqué université de Tlemcen, département de biologie (SNV) et son soutien moral et ses encouragements.

Melle FELLAHI Manel et Safaa doctorantes en chimie, université de Tlemcen pour son aide pratique et sa disponibilité.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail À mes très chers parents, source de vie, d'amour et d'affection de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour, mon support dans ma vie.

À Mon oncle Houcine, dieu le garde et lui confère une bonne santé,

Ma tante Khadija, pour son amour, soutien et encouragement

À ma chère sœur Leila, Fayza, Jéma, Wahiba ; mes chers frères

Mohammed, Ibrahim, Abdelhak, Djilali, pour leur amour et compréhension, leur soutien moral et intellectuel tout au long de mes études.

À toutes les personnes de ma famille, ma cousine Hadjer, mon cher binôme que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

À mon fiancé et sa famille, mes collègues et meilleure amie Hadjer, Soumia, Souad, Merci pour votre soutien et vos encouragements, Que tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce travail, trouvent ici mes sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.

Amina.

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

À celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour éternel qui ma bénie par ces prière que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir...mima Hadzhacini Khadra.

À mon support dans ma vie, à la mère des sentiments fragile qui m'a appris supporter et dirigé vers la victoire ...maman la femme solide je t'aime.

À toi mon père pour l'effort qu'il a suscité en moi.

À toute ma famille surtout mes chères tantes zoubida, waffa, youssra qui m'avez soutenu et encouragé durant ces années.

À mon cher petit frère louey.

À mes meilleurs amis khadidja, hadjer, hiba ; soyez comme des sœurs pour moi, pour leur soutien moral et précieux conseils.

À mon cher binôme pour son entente et sympathie.

Son oublier tous les professeurs qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours universitaire.

Khawla Nihel.

Table des matières

Remerciement.....	i
Dédicace	ii
Table des matières	iv
Liste des figures.....	vii
Liste des tableaux	viii
Liste des abréviations	ix
Introduction générale.....	1
partie 1 : synthèse bibliographique	
Chapitre 1 : Généralité sur la plante	4
1 Généralités sur la plante étudiée	4
1.1 Généralités sur la famille d’Apiaceae	4
1.2 Généralités sur genre <i>Eryngium</i> :	4
1.3 Généralités sur <i>Eryngium triquetrum</i>	4
1.3.1 Description Botanique	4
1.3.2 Classification de l’espèce <i>Eryngium triquetrum</i>	5
1.3.3 Répartition géographique	5
1.3.4. Composition chimique.....	6
1.3.5 Propriétés pharmacologiques	6
Chapitre 2 : généralités sur les huiles essentielles	8
1 Les huiles essentielles	8
1.1 Définition	8
1.2. Composition chimique des huiles essentielles	8
1.2.1. Les monoterpènes	8
1.2.2. Les Sesquiterpènes	8
1.2.3. Les composés aromatiques	8

1.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	9
1.3.1. Extraction par hydrodistillation	9
1.3.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	9
1.3.3. Extraction par solvant organique	9
1.4. Méthodes d'identification chimique des huiles essentielle	10
1.4.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	10
1.4.2. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM)	10
1.5. Toxicité des huiles essentielles	10
1.6. Activités biologiques	11
1.6.1. L'activité antioxydant	11
1.6.2. L'activité antimicrobienne	11
1.6.3. L'activité anti-inflammatoire	12
1.7. Les méthodes d'évaluations de l'activité antioxydantes	12
1.7.1. Test de blanchiment du β -carotène	12
1.7.2. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)	12
1.7.3. FRAP (ferric reducing Antioxidant Power Assay).....	12

Partie 2 : partie expérimentale

Chapitre 1 : matériel et méthodes	16
I. Matière végétale	16
II. Etude phytochimique	17
II.1. Préparation des extraits	17
II.1.1. Extraction de l'huile essentielle d' <i>E. triquetrum</i>	17
II.1.2. Calcul du rendement	17
II.2. Composition chimique	18
II.2.1. Analyse chromatographique des constituants de l'huile essentielle :	18
III. Etude biologique	18
III.1. Évaluation de l'activité antioxydante	18

III.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH	18
III.1.1.1. Principe	18
III.1.1.2. Mode opératoire	18
III.1.2. Réduction du Fer: Ferric reducing antioxidant power (FRAP)	19
III.1.2.1. Principe	19
III.1.2.2. Mode opératoire	19
III.2. Évaluation de l'activité anti inflammatoire	20
III.2.1. Principe	20
III.2.2. Mode opératoire	20
Chapitre 2 : Résultats et Discussions.....	23
I. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles	23
II. Rendement	23
III. Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>E. triquetrum</i>	24
IV. Évaluation des activités biologiques	26
IV.1. Évaluation de l'activité antioxydant de l'huile essentielle d' <i>E.triquetrum</i>	26
IV.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH	26
IV.1.2. Réduction de fer: Ferric reducing antioxidant power (FRAP).....	30
IV.2. Évaluation de l'activité anti inflammatoire	31
Conclusion générale	35
Références	38

Liste des figures

Figure 1: l'espèce <i>Eryngium triqueteum</i>	5
Figure 2: schéma de la méthode d'extraction par hydrodistillation	9
Figure 3: schéma de la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau	9
Figure 4: la plante d' <i>Eryngium triquetrum</i> séchée (prise de vue personnelle)	16
Figure 5: montage expérimentale de l'hydrodistillation	17
Figure 6: spectrophotomètre UV visible.....	20
Figure 7: structure chimique des composés majoritaire de l'huile essentielle d' <i>E.triquetrum</i>	24
Figure 8: activité antiradicalaire de l'huile essentielle <i>E.triquetrum</i> et l'étalon de référence BHT	27
Figure 9: activité antiradicalaire de l'HE d' <i>E.triquetrum</i> en combinaison avec l'étalon BHT et l'étalon BHT	29
Figure 10: protocole expérimentale de la méthode du DPPH de l'HE d' <i>E.triquetrum</i>	30
Figure 11: l'activité antiradicalaire de l'HE et du l'étalon BHT	31
Figure 12: protocole expérimentale de la méthode du FRAP de l'HE et l'étalon BHT ...	31
Figure 13: pourcentages d'inhibition de la dénaturation de BSA par l'HE d' <i>E.triquetrum</i> et le diclofénac.....	32
Figure 14: pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA par l'HE en combinaison avec diclofénac	33

Liste des tableaux

Tableau 1: noms vernaculaire en arabe d'E.triquetrum	4
Tableau 2: la taxonomie de l'espèce E.triquetrum	5
Tableau 3: caractéristiques organoleptiques de l'HE d'E.triquetrum	23
Tableau 4: pourcentage de rendement d'extraction de l'HE d'E.triquetrum	23
Tableau 5: identification de la composition chimique de l'HE d'E.triquetrum par la technique CPG.....	25
Tableau 6: pourcentage d'inhibition du BHT et l'HE d'E.triquetrum.....	26
Tableau 7: Les CI₅₀ de l'HE d'E.triquetrum et l'étalon BHT	27
Tableau 8: Pourcentage d'inhibition de l'HE d'E.triquetrum en combinaison avec l'étalon BHT(methode)	28
Tableau 9: Les CI₅₀ de l'HE d'E.triquetrum en combinaison avec l'étalon BHT	29
Tableau 10: La densité optique du l'étalon BHT et de l'HE d'E.triquetrum	30
Tableau 11: pourcentage d'inhibition de l'HE d'E.triquetrum et le diclofénac	32
Tableau 12: CI₅₀ de l'HE d'E.triquetrum et le diclofénac	33
Tableau 13: Effet de la dénaturation d'albumine par l'HE d'E.triquetrum en combinaison avec le diclofénac.....	33
Tableau 14: CI₅₀ de l'HE d'E.triquetrum en combinaison avec diclofénac	34

Liste des abréviations

BSA : *Albumine sérique bovine*

CI₅₀ : *concentration d'inhibition à 50%.*

DO : *densité optique*

E.triquetrum : *Eryngium triquetrum*

TCA : *d'acide trichloracétique*

[(K₃Fe(CN)₆)]:*ferricyanure de potassium*

BHA : *l'hydroxyanisole butylé*

BHT : *l'hydroxytoluène butylé*

CI : *intégration continue*

CPG : *chromatographe en phase gazeuse*

CPG/SM *La spectrométrie de masse par chromatographie en phase gazeuse*

DEQM : *Direction de la Qualité du Médicament & Soins de Santé du Conseil*

DPPH : *le 2,2- diphényle-1-picrylhydrazyl*

FeCl₃ : *Chlorure de fer(III)*

FRAP *fer Ferric reducing antioxidant power*

GLC : *chromatographie gaz-liquide*

GSC : *chromatographie gaz-solide*

HE : *huile essentielle*

iNOS : *l'oxyde nitrique synthase inductible*

OMS : *Organisation mondiale de la Santé*

SM : *spectromètre de masse*

TPA : *l'acétate de 12-O-tétradécanoylphorbol*

Introduction Générale

Introduction générale

Aujourd'hui, malgré les progrès de la pharmacologie, l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales est très présente dans certains pays, notamment dans les pays en développement. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que plus de 80% de la population mondiale ont recours à la médecine traditionnelle [1].

Le monde végétal est considéré comme la source majeure de médicaments, grâce à sa richesse en molécules dites métabolites secondaires [2]. Les composés phénoliques qui constituent une classe importante de ces métabolites secondaires possèdent de nombreuses activités biologiques dont l'activité antifongique, antimicrobienne, antidiabétique, anti-inflammatoire et antioxydante [3].

Les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans différents domaines ; pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire. [4].

L'Algérie, par sa biodiversité climatique et végétale constitue un véritable réservoir des espèces spontanées et endémiques dont un grand nombre de plantes sont considérées comme aromatiques et médicinales, elles sont largement utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de différentes maladies. La valorisation des plantes médicinales de la flore nationale sera d'un grand apport pour l'industrie pharmaceutique algérienne et aura un impact économique certain. Cette flore regorge de plusieurs espèces de plantes encore peu ou pas étudiées mais dotées de réelles propriétés pharmacologiques, c'est le cas de *Eryngium triquetrum* (Apiacées).

L'objectif de ce travail de recherche vise à élargir les connaissances sur la composition chimique l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'*Eryngium triquetrum* et en combinaison aux références de synthèse.

Ce travail comprend deux parties :

La première partie porte sur l'étude bibliographique :

- ✓ Des Généralités sur *Eryngium triquetrum*.
- ✓ Des notions sur l'huile essentielle

- ✓ L'activité antioxydante de l'huile essentielle et les différentes méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.
- ✓ L'activité antiinflammatoire.

La deuxième partie est réservée à l'étude expérimentale d'*Eryngium triquetrum* qui consiste en :

- ✓ l'extraction de l'huile essentielle d'*Eryngium triquetrum* par la méthode d'hydrodistillation par Clevenger ;
- ✓ l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Eryngium triquetrum* ;
- ✓ Une évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de l'huile essentielle par les tests du pouvoir de réduction du fer (FRAP) et de piégeage du radical le 2,2diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ;
- ✓ Une évaluation de l'activité antiinflammatoire de l'huile essentielle des parties aériennes en combinaison avec le diclofénac.

Partie 1 :

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur la plante

Chapitre 1 : Généralités sur la plante

1 Généralités sur la plante étudiée :

1.1 Généralités sur la famille d'Apiaceae :

La famille des Apiaceae (Umbelliferae) comprend des plantes aromatiques utilisées comme aliments, épices et pour leur utilité en pharmacie, en agriculture et en cosmétique. Les apiacées sont des sources précieuses d'huiles essentielles qui sont extraites à la vapeur ou par hydrodistillation de fleurs, de graines, de feuilles, de tiges, d'écorces et de racines de plantes. Les principaux constituants des huiles essentielles d'Apiaceae sont les monoterpènes, les sesquiterpènes et les phénylpropanoïdes [5].

1.2 Généralités sur genre *Eryngium* :

Le genre *Eryngium* est un membre important de la famille des Apiaceae et contient environ 317 espèces réparties dans les régions tempérées de chaque continent, principalement en Eurasie, en Afrique du Nord, en Amérique du Nord et du Sud, et en Australie [6]. Parmi eux *E. triquetrum*, est une espèce endémique de l'Afrique du Nord ainsi que d'autres espèces comme *E. dichotomum* Desf, *E. maritimum* L., *E. campestre* L., et *E. tricuspdatum* [5].

1.3 Généralités sur *Eryngium triquetrum* :

Eryngium triquetrum est une plante qui appartient à la famille des Apiacées et connue par plusieurs noms vernaculaires (tableau 01)

Tableau 1: noms vernaculaire en arabe d'*E.triquetrum*

Nom commun en arabe		
Chouk zerga	Zernidj	Nounkhar
Bou neggar	Guendoudou	Aneggar

1.3.1 Description Botanique :

E. triquetrum est une plante annuelle appartenant au sous-genre *Eryngium* [7]. La plante vivace verte devient bleuâtre-violacé à maturité. Les tiges sont ramifiées de 20 à 40 cm avec des branches angulaires. Les feuilles radicales sont en forme de rosette oblongue, dentée ou lobées. Les feuilles semiamplexicaul, palmatipartite et épineux. Les involucre présentent trois bractées triangulaires et peu de fleurs [6].



Figure 1: l'espèce *Eryngium triquetrum*

1.3.2 Classification de l'espèce *Eryngium triquetrum* :

La taxonomie de l'espèce *E.triquetrum* est présentée dans le tableau suivant [8] :

Tableau 2: la taxonomie de l'espèce *E.triquetrum*

Règne	Plante
Sous règne	viridae
Classe	equisetopsida
Sous classe	magnoolidae
Ordre	apiales
Famille	apiacea
Genre	Eryngium
Espèce	Eryngium triquetrum

1.3.3 Répartition géographique :

Le genre *Eryngium* est présent dans les régions tempérées de tous les continents. Cependant, les espèces de ce genre sont inégalement réparties entre les hémisphères. Dans chaque hémisphère, deux centres de diversité des *Eryngium* sont reconnus : le centre-ouest du Mexique et le centre-est de l'Amérique du Sud (sud du Brésil, nord-est de l'Argentine et d'Uruguay) d'une part ; et la méditerranée occidentale et le Sud-Ouest de l'Asie d'autre part. Environ deux tiers des espèces de ce genre sont présents sur le continent Américain [9].

Choukzerk (*Eryngium triquetrum*) est une plante endémique, originaire de la région méditerranéenne, dont le nord-ouest de l'Afrique (Maroc, Algérie, Tunisie). Cette plante pousse particulièrement dans les pâturages rocheux [10].

1.3.4. Composition chimique :

Le genre *Eryngium* a fait l'objet d'un nombre important de travaux phytochimiques et sa grande richesse en composés biologiquement actifs est régulièrement reportée. Les parties aériennes des espèces du genre *Eryngium* sont connues pour contenir principalement des mono- et des sesquiterpènes, des flavonoïdes et des saponines, tandis que les racines contiennent, des mono- et des sesquiterpènes, des saponines triterpénoïdes, des composés acétyléniques, des composés phénoliques (flavonoïdes, acides phénoliques, coumarines) et des oligosaccharides [11].

Medbouhi et al [6] ont montré que Le falcarinol (39,6 % et 36,5 %) et l'octanal (28,5 % et 32,7 %) sont les principaux composants des huiles essentielles des tiges et des fleurs de *E. triquetrum*, respectivement. Le falcarinol (91,5 %) est le principal composant de l'huile de racine. Les mêmes composants majoritaires ont été mentionnés dans l'étude réalisée par Merad et al [10] sur HEs de la partie aérienne fraîche d'*E. triquetrum* mais avec des rendements différents, le falcarinol (74,8%) et l'octane (5,6%).

1.3.5 Propriétés pharmacologiques :

Plusieurs propriétés biologiques ont été reportées pour les espèces du genre *Eryngium*, ils sont utilisés comme remède populaire pour le traitement de divers troubles inflammatoires, et comme une infusion émétique, antidote pour les poisons, hypoglycémique, antitussif et diurétiques [12,13].

L'étude réalisée par Khalfallah et al [14] a montré que l'extrait n-butanolique d'*E. triquetrum* a une bonne activité de piégeage des radicaux. De plus, l'extrait butanolique de cette espèce a montré une activité antibactérienne significative contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Morganella morganii* (diamètre d'inhibition entre 20 et 30 mm).

Chapitre 2

Généralités Sur Les huiles

Essentielles

Chapitre 2 : généralités sur les huiles essentielles :

1 Les huiles essentielles :

1.1 Définition :

Les essences ou huiles essentielles sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu solubles dans l'eau, plus ou moins solubles dans l'alcool et dans l'éther, incolores ou jaunâtres, inflammables qui s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. [15]. Ils sont définis par l'ANSM comme : « Produit odorant, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. » [16].

1.2. Composition chimique des huiles essentielles :

1.2.1. Les monoterpènes :

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%) et qui Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques [17].

1.2.2. Les Sesquiterpènes :

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Ils comportent trois unités d'isoprène et leur formule est (C₁₅H₂₄). Elle contient plus de 3000 molécules qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycyclique [18].

1.2.3. Les composés aromatiques :

Ces composés dérivent du phénylpropane (C₆-C₃) et ils sont moins fréquents que les terpènes. Les composés aromatiques sont généralement responsables des caractères olfactifs des HEs comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol et l'estragol. Ces composés sont abondants dans les huiles essentielles des Apiaceae [19, 20].

1.3. Méthodes d'extraction des Huiles essentielles :

1.3.1. Extraction par hydrodistillation :

Le principe de l'hydrodistillation consiste à immerger la matière végétale dans un alambic rempli d'eau (aujourd'hui remplacé par un Clevenger), qui est ensuite portée à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques avec la vapeur d'eau sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'hydrolat par différence de densité. Cette méthode est simple dans son principe et son appareillage n'est pas coûteux [21].

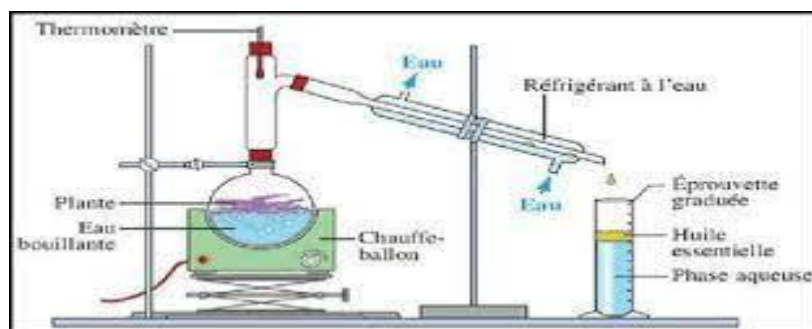


Figure 2: schéma de la méthode d'extraction par hydrodistillation [22]

1.3.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HEs [23]. Dans ce système d'extraction, le matériel végétales soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse HA et une phase organique HEs [24].

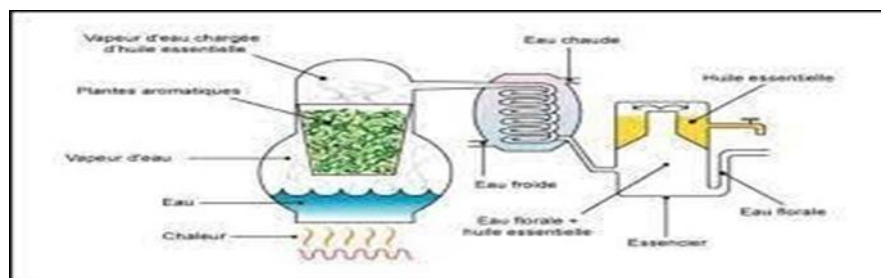


Figure 3: schéma de la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau [25]

1.3.3. Extraction par solvant organique :

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone [26]. La technique d'extraction par solvant organique, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules

aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique [27].

1.4. Méthodes d'identification chimique des huiles essentielle :

1.4.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. C'est la technique de séparation la plus utilisée pour l'analyse de la composition chimique des huiles essentielles [28]. La CPG est basée sur la répartition du produit analysé entre la phase gazeuse mobile et la phase stationnaire liquide GLC ou solide GSC. Les substances séparées sont affichées sur le chromatogramme, et chaque pic est caractérisé par un temps de rétention et une surface permettant ainsi de déterminer l'identité et le pourcentage de chaque constituant [29].

1.4.2. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM)

Le couplage de (CPG) avec la SM permet de séparer, d'identifier et de quantifier des mélanges complexes de produits chimiques. Pour qu'un composé soit analysé par la spectrométrie de masse par chromatographie en phase gazeuse (CPG/SM), il doit être suffisamment volatil et thermiquement stable. De plus, les composés fonctionnalisés peuvent nécessiter une modification chimique avant l'analyse, pour éliminer les effets d'adsorption indésirables qui affecteraient autrement la qualité des données obtenues [30].

1.5. Toxicité des huiles essentielles :

Les huiles essentielles présentent une source inépuisable de remèdes naturels mais qui doivent être utilisées avec une grande prudence. Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol) et allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique ; les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux [31].

1.6. Activités biologiques :

L'utilisation des plantes dans le traitement des troubles de santé est connue depuis la plus haute antiquité. Les huiles essentielles ont des propriétés médicinales nombreuses et variées.

La plupart des constituants des huiles essentielles ont un pouvoir antimicrobien d'où leur usage comme antiseptiques [32]. D'autres possèdent des propriétés antispasmodiques, antivirales, antiparasitaires, anticancéreux, antiinflammatoires et antioxydants, ...etc [33].

1.6.1. L'activité antioxydante:

L'effet antioxydant est due à des propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes [34, 35].

Les antioxydants sont des molécules capables de neutraliser les pro-oxydants et de lutter contre le stress oxydatif. Ils existent sous deux formes, endogène (enzymatique) qui regroupe la catalase, la superoxide dismutase, la glutathione peroxidase, la peroxidase; et exogène (non enzymatique) représenté par la glutathion, l'acide ascorbique, α -tocophérol, β -carotène et les polyphénols. D'autres antioxydants de synthèse, représentés par (BHA) et (BHT) connus sous le code E320 et E321, respectivement, sont largement utilisés en cosmétique et dans l'industrie alimentaire [36].

L'huile essentielle *d'E. triquetrum* a montré une capacité de piégeage intéressante de radical DPPH avec une CI_{50} de l'ordre 28,68 $\mu\text{g/ml}$ [6]. La capacité de piégeage des radicaux de l'huile essentielle pourrait être attribuée à la présence de falcarinol qui était le composant prédominant de l'huile [37].

1.6.2. L'activité antimicrobienne :

Les huiles essentielles sont recherchées pour leurs propriétés bactériostatiques, c'est-à-dire, leur capacité à inhiber la croissance bactérienne, ou pour leurs propriétés à provoquer la mort des bactéries c'est à dire l'effet bactéricide. L'huile essentielle des parties aériennes *d'E. triquetrum* est faiblement active contre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* ($125 < \text{CMI} < 250 \mu\text{g/mL}$) [9].

1.6.3. L'activité anti-inflammatoire :

Les anti-inflammatoires (stéroïdiens et non stéroïdiens) sont des molécules destinées à combattre une inflammation. Les plantes médicinales sont très utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde pour le soulagement des maladies inflammatoires tel que l'arthrite rhumatoïde, l'asthme, la bronchite l'eczéma, l'arthrose, la goutte, la rhinite allergique, les ulcères gastriques et duodénaux [38].

Les racines et parties aériennes de plusieurs espèces du genre *Eryngium* sont utilisées traditionnellement pour le traitement de divers troubles inflammatoires, de manière convergente à l'échelle mondiale. Différents extraits issus d'HE. Campestre ont montré une activité antiinflammatoire in vitro : ces extraits ont inhibé la synthèse de la cytokine TNF α , l'une des plus importantes cytokines pro-inflammatoires, et la synthèse de l'oxyde nitrique généré par (iNOS) dans les cellules endothéliales murines sans affecter la viabilité cellulaire. [39].

1.7. Les méthodes d'évaluations de l'activité antioxydantes :

1.7.1. Test de blanchiment du β -carotène :

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux peroxydes qui attaquent les onze doubles liaisons du β -carotène, ce qui entraîne une décoloration de ce dernier mesuré par spectrophotomètre à 470 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchiment du β carotène [40].

1.7.2. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) :

Le DPPH• est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH•, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon [41].

1.7.3. FRAP (ferric reducing Antioxidant Power Assay) :

Cette technique colorimétrique est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à convertir le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). Cette réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) à la couleur bleu-vert du fer ferreux (Fe^{2+}). L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.

Partie Expérimentale

Chapitre 1

Matériel et Méthodes

Chapitre 1 : matériel et méthodes :

Notre partie expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelle et Analyses (COSNA). La partie expérimentale regroupe deux parties, la première est consacrée à l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Eryngium triquetrum*. La deuxième partie, est consacrée à l'étude *in vitro* de l'activité antioxydante en utilisant la méthode de piégeage du radical (DPPH) et le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP), et l'activité anti inflammatoire par la méthode de dénaturation des protéines.

I. Matière végétale :

La partie aérienne d'*Eryngium triquetrum* a été collectée en mois de juillet 2022 dans la région de Nedroma dans la wilaya de Tlemcen. L'identification botanique d'*Eryngium triquetrum* a été effectuée au laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels, département de biologie, université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.

La partie aérienne récoltée a été séchée dans un endroit sec à l'ombre et à température ambiante pendant 15 jours, et en suite découpée en petits morceaux.



Figure 4: la plante d'*Eryngium triquetrum* séchée (prise de vue personnelle)

II. Etude phytochimique :

II.1. Préparation des extraits :

II.1.1. Extraction de l'huile essentielle d'*E. triquetrum* :

La méthode d'hydrodistillation est utilisée pour extraire les huiles essentielles à l'aide d'un appareil de Clevenger (figure 5). Le processus d'extraction dure entre 4 et 5 heures. 500 g de la matière végétale a été immergée dans un ballon rond, rempli de l'eau distillée puis chauffée, en suite l'huile essentielle a été entraînée par la vapeur d'eau. La vapeur a été condensée dans un réfrigérateur, et le liquide recueilli était un distillat avec une fine couche d'huile d'*Eryngium triquetrum* au-dessus. Une fois que le liquide s'est installé, la différence de densité fait que l'huile et l'eau se séparent ; les HEs formées sont mises dans des flacons opaques. Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) des HEs ont été répertoriées.



Figure 5: montage expérimental de l'hydrodistillation

II.1.2. Calcul du rendement :

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse de l'HE obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante

$$R = \frac{mHE}{mMV} \times 100$$

R : Rendement de l'extraction en %

mHE : masse de l'huile essentielle extraite en (g)

mMV : masse de matière végétale séchée en (g)

II.2. Composition chimique :

II.2.1. Analyse chromatographique des constituants de l'huile essentielle :

La CPG est utilisé comme technique d'analyse chromatographique pour l'identification des constitutions de l'HE. Elle a plusieurs avantages, notamment sa polyvalence, sa sensibilité, sa rapidité dans l'optimisation des nouvelles études et sa capacité à être automatisée, ce qui augmente l'attrait de la technique [42].

Elle s'applique aux composants volatils lorsqu'ils sont chauffés sans les faire décomposer [43]. La CPG est toujours un outil très efficace pour analyser et surveiller la qualité des huiles essentielles. Il est également utilisé pour les molécules plus lourdes (telles que les strobres et les triterpènes) et est progressivement utilisé dans les domaines clés de la chimie. Toutefois, à moins qu'une technique de spectroscopie complémentaire supplémentaire ne soit utilisée, elle ne peut être suffisante pour l'identification formelle [44].

III. Etude biologique :

III.1. Évaluation de l'activité antioxydante :

III.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

III.1.1.1. Principe :

Le DPPH (2,2- diphényle-1-picrylhydrazyl) se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables, ce qui donne lieu à une coloration violette de la solution, il absorbe en 517 nm. La réduction de ce dernier en diphényle picryl hydrazine par un composé possédant des propriétés antiradicalaires engendre une décoloration de la solution, dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité de l'antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron [45].

III.1.1.2. Mode opératoire :

L'effet antiradicalaire de l'HE d'*Eryngium triquetrum* a été évalué selon le protocole suivant. 1 ml de l'HE à différentes concentrations (1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 µg/mL) est ajouté à 1 ml de la solution éthanolique du DPPH. Après l'agitation, les tubes sont incubés à l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 517 nm par rapport à un contrôle négatif (1 ml d'éthanol + 1 ml de solution DPPH) et contre un blanc (l'éthanol).

Dans les mêmes conditions opératoires, Le BHT (Butylhydroxytoluène), un antioxydant synthétique de référence (contrôle positif) a été testé à différentes concentrations (1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 µg/mL).

➤ **Expression des résultats :**

• **Calcul du pourcentage d'inhibition :**

Les résultats du piégeage du radical DPPH sont exprimés en pourcentage selon la formule

$$\%(\text{inhibition}) = \frac{\text{DO (contrôle-)} - \text{DO (extrait)}}{\text{DO (contrôle-)}} \times 100$$

suivante :

• **Détermination des CI_{50}**

Les (CI_{50}) ont été calculées graphiquement pour chaque extrait à partir d'une courbe logarithmique du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testés. Elle correspond à la concentration de l'échantillon testée nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH.

III.1.2. Réduction du Fer : Ferric reducing antioxidant power (FRAP) :

III.1.2.1. Principe :

Le principe de cette technique est basé sur la mesure de la capacité des extraits testés à transférer des électrons par des réactions d'oxydo-réduction, et de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] en ions ferreux (Fe^{2+}). Cette réaction est révélée par l'utilisation du $FeCl_3$ qui forme avec le fer ferreux (Fe^{2+}) un complexe de couleur bleu-vert appelé le bleu de Prusse caractérisé par un maximum d'absorbance à 700 nm [46,47].

III.1.2.2. Mode opératoire :

Le protocole expérimental est déterminé via la méthode d'Oyaizu 1986 [48]. Tout d'abord, nous avons préparé la solution mère de l'HE (1 mg/ml) dans l'éthanol à une concentration de 1mg/ml, d'où nous avons effectué les différentes dilutions afin d'avoir des concentrations de (1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 µg/ml) pour l'HE. Ensuite, 1000 µl de l'HE à différentes concentrations est mélangé avec 500 µl d'une solution tampon

phosphate à 0,2 M (pH=6,6) et 500 μ l d'une solution de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] à 1 %. L'ensemble est incubé à 50°C pendant 20 min. Ensuite 500 μ l d'acide trichloracétique (TCA) à 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min. 1000 μ l du surnageant sont ajoutés à 1000 μ l d'eau distillée et 300 μ l d'une solution de chlorure de fer ($FeCl_3$) à 0,1 %. La lecture des absorbances se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 700 nm.

Dans les mêmes conditions opératoires, Le BHT (Butylhydroxytoluène), un antioxydant synthétique de référence (contrôle positif) a été testé à différentes concentrations (62,5 - 1000 μ g/mL).

III.2. Evaluation de l'activité anti inflammatoire :

III.2.1. Principe :

Afin d'évaluer l'activité anti inflammatoire *in vitro* de l'HE d'*Eryngium triquetrum*, nous avons appliqué le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine (BSA)).

III.2.2. Mode opératoire :

la première étape à réaliser est la prise de 1 ml de chaque concentration de l'HE (1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 ; 15,625 μ g/mL) est mélangé avec 1 ml de solution de BSA 0,2 % préparé dans la solution tampon (pH 6,6) après incubation à 37 C° pendant 15 min puis les tubes sont placés dans un bain marie à 70°C pendant 5 min. Après refroidissement, les absorbances sont lues à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Figure 6).



Figure 6: spectrophotomètre UV visible

Dans les mêmes conditions opératoires, Diclofénac, un anti-inflammatoire puissant utilisé comme témoin positif a été testé à différentes concentrations (1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 ; 15,625 µg/mL).

➤ **Expression des résultats :**

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$\%I = \frac{\text{abs échantillon}}{\text{abs contrôle}} - 1 \times 100$$

Avec :

% I : Le pourcentage d'inhibition

Abs échantillon : Absorbance d'échantillon

Abs contrôle : Absorbance du contrôle

Les résultats sont exprimées également en concentration de l'échantillon inhibant 50% de la dénaturation de BSA, qui est déterminée graphiquement à partir des courbes des *pourcentage d'inhibition=f(concentration échantillon)*

Résultats et discussion

Chapitre 2 : Résultats et Discussions :

I. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles :

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) sont des indications qui permettent d'évaluer la qualité d'une huile essentielle. L'HE de la partie aérienne de la plante *Eryngium triquetrum* a montré de nombreuses propriétés organoleptiques.

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle d'*Eryngium triquetrum* a un aspect visqueux de couleur jaunâtre et une forte odeur (tableau 3).

Tableau 3: caractéristiques organoleptiques de l'HE d'*E.triquetrum*

	Couleur	Aspect	Odeur
Caractéristiques organoleptiques	Jaunâtre	Visqueux	Forte odeur

II. Rendement :

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*Eryngium triquetrum* a été calculé à partir de la matière végétale sèche, les résultats obtenus sont représentés dans le (tableau 4) :

Tableau 4: pourcentage de rendement d'extraction de l'HE d'*E.triquetrum*

Masse matière sèche (g)	Masse de l'huile Essentielle (g)	Rendement (%)
500	0,96	0,19

Le rendement de l'huile essentielle extraite de la partie aérienne de la plante *Eryngium triquetrum* récoltée dans la région de Nedroma est de 0,19 %. Ce résultat est supérieur aux rendements obtenus de l'HE de la plante *Eryngium triquetrum* récoltée dans les trois autres stations : Bouhanak, Ain fezza, et Mefrouch qui sont de l'ordre de 0,05 %, 0,04 % et 0,03 %, respectivement [44]. L'HE extraite à partir des feuilles d'*Eryngium triquetrum* récoltée en Italie a montré un rendement de (0,07 %) très faible par rapport à nos résultats [7].

La différence entre les résultats de la présente étude et les autres résultats précités pourrait être expliquée par le choix notamment de la période de la récolte de la plante, l'origine géographique de la récolte de la plante, la période de séchage et la méthode d'extraction utilisée. Ce sont des facteurs qui peuvent avoir un impact sur les rendements en huiles essentielles [49].

III. Composition chimique de l'huile essentielle d'*E. triquetrum* :

L'huile essentielle d'*E. triquetrum* a été analysée en utilisant les techniques de chromatographie en phase gazeuse (GC) et GC/spectrométrie de masse (MS). Les résultats obtenus des analyses qualitatives et quantitatives de l'huile sont répertoriés par ordre d'élution dans la colonne Rtx-1 (tableau 5). A partir de ces données, 16 composés ont été identifiés représentant 92,9 % de l'huile totale. Les composés majoritaires de l'huile essentielle d'*E. triquetrum* sont le falcarinol (75,3 %), (E)-2-Octène (3,2 %), Nonanal (3,1 %), carvone(3,2%) et le (E)-2-Décanal (2,1 %) (Figure 7).

Figure 7: structure chimique des composés majoritaire de l'huile essentielle d'*E. triquetrum*

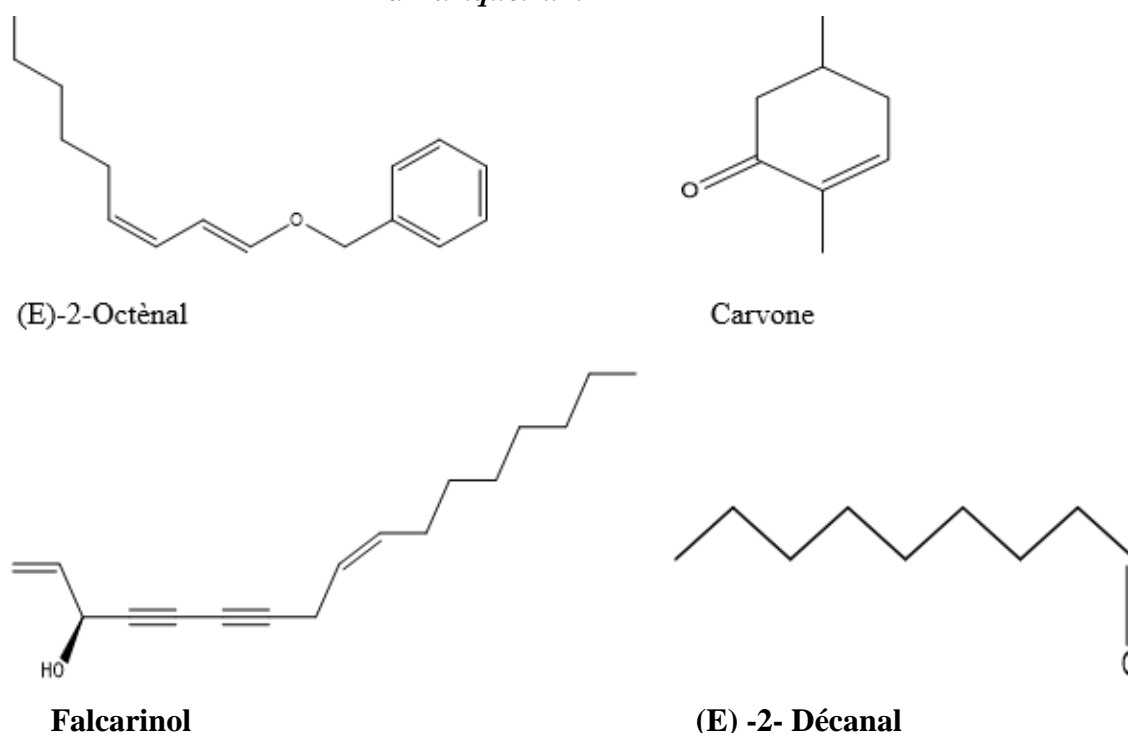


Tableau 5: identification de la composition chimique de l'HE d'*E.triquetrum* par la technique CPG

N.a	Composés	litIra b	Ira c	HE	Identification
1	(E)-2-Octéna1	1036	1039	3,2	Ir, SM
2	1-Octanol	1058	1063	Tr	Ir, SM
3	Nonan-2-one	1070	1077	0,4	Ir, SM
4	Nonanal	1083	1081	3,1	Ir, SM
5	(E)-2-Nonéna1	1136	1133	0,6	Ir, SM
6	Acide octanoique	1173	1174	1,3	Ir, SM
7	1-Décèna-3-ol	1172	1181	1,5	Ir, SM
8	Décanal	1185	1183	0,1	Ir, SM
9	3-Dodécèna-1-yne	1120	1214	0,7	Ir, SM
10	Carvone	1222	1225	3,2	Ir, SM
11	(E)-2-Décanal	1248	1251	2,1	Ir, SM
12	(E,E)-2,4-Décadiéna1	1290	1289	0,6	Ir, SM
13	ã-Undécalactone	1533	1524	0,5	Ir, SM
14	Acide dodécanoique	1556	1547	0,2	Ir, SM, Ref
15	Acide hexadécanoique	1962	1968	0,1	Ir, SM
16	Falcarinol	2028	2026	75,3	Ir, SM, Ref
	Total identification %			92,9	

L'étude réalisée par Ronaldo de Carvalho Augusto et al [50] a montré que les composés majoritaires de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*E. triquetrum* sont le falcarinol (86,9–93,1%), octanal (1,0–1,8%), et nonanal (0,2–0,4%) ; ainsi que 24 autres composants ont été identifiés, représentant 95% de l'huile totale [50]. De plus l'analyse chimique de l'HE des fleurs d'*Eryngium triquetrum* récoltée en Italie a permis l'identification de 20 composés représentant 96,8% de l'huile totale, dont le Falcarinol (86, 9%) et Octanal (1,8%) sont les composés majoritaires [7].

IV. Evaluation des activités biologiques :

IV.1. Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*E.triquetrum* :

Deux méthodes ont été utilisées pour évaluer le potentiel antioxydant de l'huile essentielle, le test d'oxydation des radicaux libre DPPH et la méthode de réduction du fer FRAP, avec l'étalon de référence BHT comme contrôle positif.

IV.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

Dans cette étude, nous avons choisi la méthode du piégeage du radical DPPH pour évaluer l'activité antioxydante de l'huile essentielle *d'E. triquetrum* en raison de sa stabilité sous forme radicalaire et la simplicité de l'analyse [51]. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'HE et de BHT. Les résultats sont indiqués dans le (tableau 6) et (la figure7) :

Tableau 6: pourcentage d'inhibition du BHT et l'HE d'*E.triquetrum*

Concentration (µg/ml)	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.62
% d'inhibition d'HE	22,44	9,94	8,46	7,25	4,03	3,76	5,91
% d'inhibition du BHT	91,93	88,97	86,96	80,24	65,99	51,34	39,78

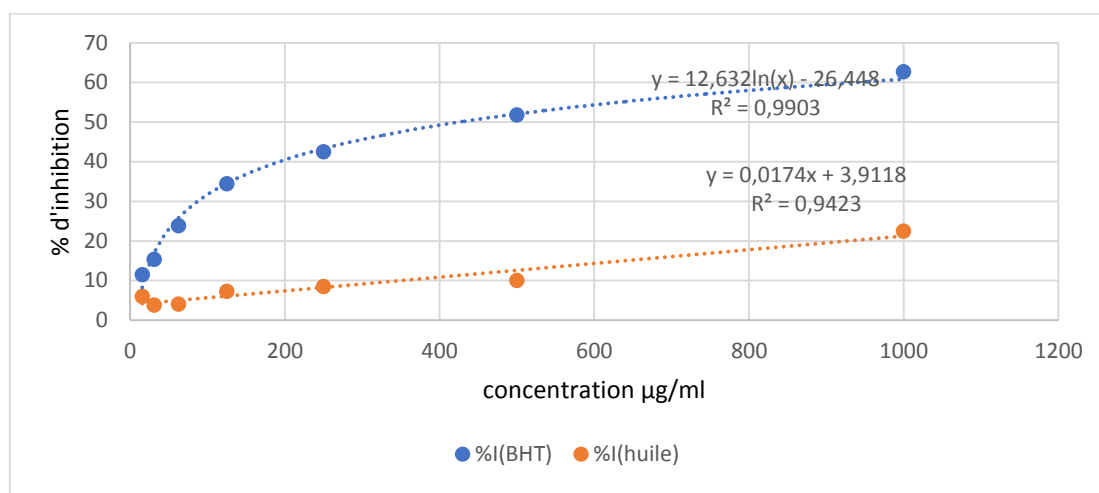


Figure 8: Activité antiradicalaire de l'huile essentielle *E. triquetrum* de l'étalon de référence BHT(DPPH)

Les résultats obtenus ont montré une augmentation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'HE d'*Eryngium triquetrum* et de BHT. A une concentration de 1000 µg/mL, nous avons constaté que l'HE d'*Eryngium triquetrum* a révélé un faible pourcentage d'inhibition de l'ordre 22,44 %, tandis que le BHT à cette même concentration arrive à 91,93 %.

Les CI_{50} (la concentration de l'échantillon testée nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH) sont calculées graphiquement à partir des équations de régressions logarithmiques de courbes tracées illustrées dans (la figure 8). Les résultats des CI_{50} sont représentés dans (le tableau7) :

Tableau 7: Les CI_{50} de l'HE d'*E. triquetrum* et l'étalon BHT

Echantillon	CI_{50}
HE	2570 µg/mL
BHT	20 µg/mL

En comparant les valeurs d' CI_{50} nous constatons que l'huile essentielle d'*E. triquetrum* a montré une faible capacité de piégeage du radical DPPH ($CI_{50} = 2570$ µg/mL) par rapport à celle de la référence BHT ($CI_{50} = 20$ µg/mL). La faible activité antioxydante observée pourrait être due à une capacité réduite des composés terpéniques à donner un atome d'hydrogène comme décrit précédemment par Mata et al [5].

D'autre part, nous trouvons dans la littérature que l'huile essentielle collective d'*E. triquetrum*, a montré une forte activité antiradicalaire contre le radical DPPH avec une CI_{50} de 28,68 $\mu\text{g/mL}$, ce qui est proche de la référence BHT, $CI_{50} = 17,90 \mu\text{g/mL}$ [6].

Des travaux réalisés sur d'autres espèces d'*Eryngium* indiquent que l'HE d'*E. pseudothoriifolium* et d'*E. thoriifolium* a enregistré une forte activité antiradicalaire contre le radical DPPH avec des CI_{50} de l'ordre de 31,02 $\mu\text{g/mL}$ et 57,96 $\mu\text{g/mL}$, respectivement [5].

Dans le but d'améliorer l'efficacité de l'activité antioxydante de l'HE de notre plante nous l'avons combiné avec le BHT et les résultats sont représentés dans le tableau (8) et la figure (8) :

Tableau 8: Pourcentage d'inhibition de l'HE d'*E.triquetrum* en combinaison avec l'étalon BHT(methode)

Echantillon		Activité antioxydant				
HE/BHT	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	250	125	62.5
	Pourcentage d'inhibition (%)	62.63	51.74	42.47	34.40	23.79
BHT	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	250	125	62.5
	Pourcentage d'inhibition (%)	91,935	88.978	86.962	65.994	51.344

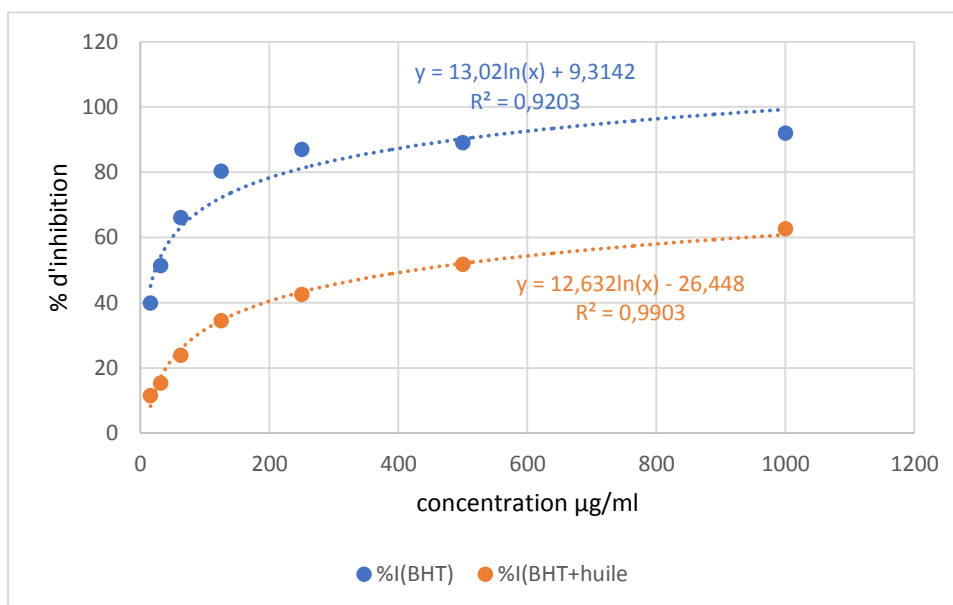


Figure 9: Activité antiradicalaire de l'HE d'*E.triquetrum* et en combinaison avec l'étalon BHT

D'après les résultats obtenus, nous avons noté une augmentation des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH en fonction des concentrations. A la concentration de 1000 µg/ml, la combinaison de l'huile essentielle avec le BHT atteint un pourcentage d'inhibition de 62,63 % comparé par rapport à l'huile seule qui donne un pourcentage d'inhibition de 22,44 % à cette même concentration.

Les CI₅₀ sont calculées graphiquement à partir des équations de régressions logarithmiques de courbes tracées illustrées dans la figure (8). Les résultats des CI₅₀ sont représentés dans le tableau (09).

Tableau 9: Les CI₅₀ de l'HE d'*E.triquetrum* en combinaison avec l'étalon BHT

Echantillon	CI ₅₀
HE/BHT	420 µg/mL
BHT	20 µg/mL

Nous constatons que la combinaison de l'huile essentielle avec le BHT a montré une capacité intéressante de piégeage du radical DPPH avec une valeur CI₅₀ de 420 µg/mL par rapport à celle de l'HE seule. Cette combinaison a indiqué un effet synergique très prometteur de piégeage du radical soit environ 5 fois plus élevé que l'HE seule.

Il est à noter que la capacité de piégeage du radical DPPH pourrait être attribuée à la présence de falcarinol qui était le composant prédominant de l'HE.

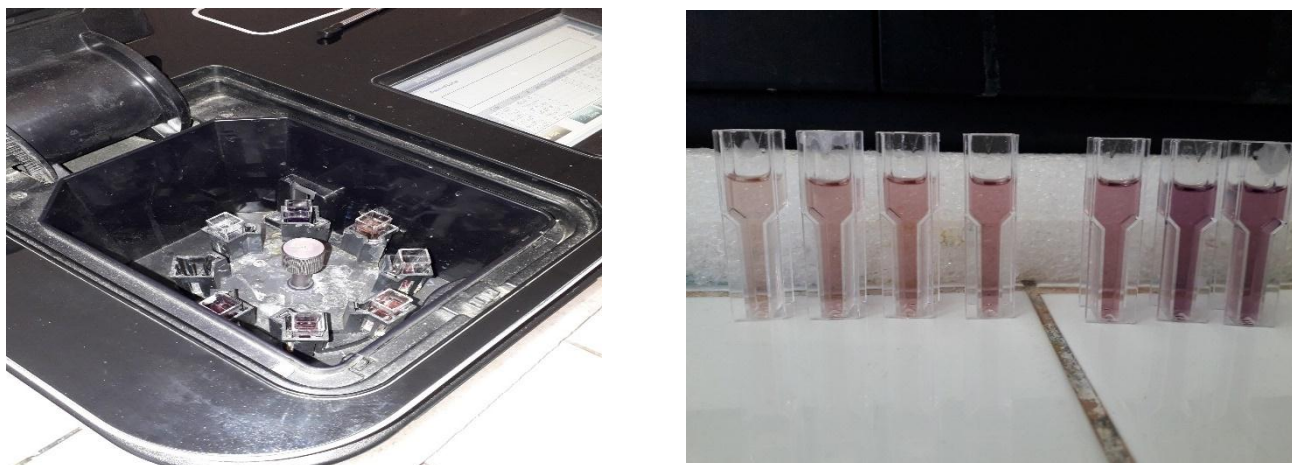


Figure 10: changement de couleur apparait de la méthode du DPPH de l'HE d'*E.triquetrum*

IV.1.2. Réduction de fer: Ferric reducing antioxidant power (FRAP):

Le pouvoir antioxydant de l'HE d'*Eryngium triquetrum* a été évalué par la méthode de FRAP qui consiste à mesurer leur capacité à réduire le complexe ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). Le tableau (10) et la figure (10) indique que l'augmentation de la réduction du fer par rapport la concentration de l'HE et de BHT.

Tableau 10: La densité optique de l'étalon BHT et de l'HE d'*E.triquetrum*

[] ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	250	125	62,5	31,25	15,625
DO(BHT)	0,902	0,876	0,7	0,52	0,403	0,2	0,125
DO (huile)	0,172	0,167	0,159	0,15	0,137	0,08	0,072

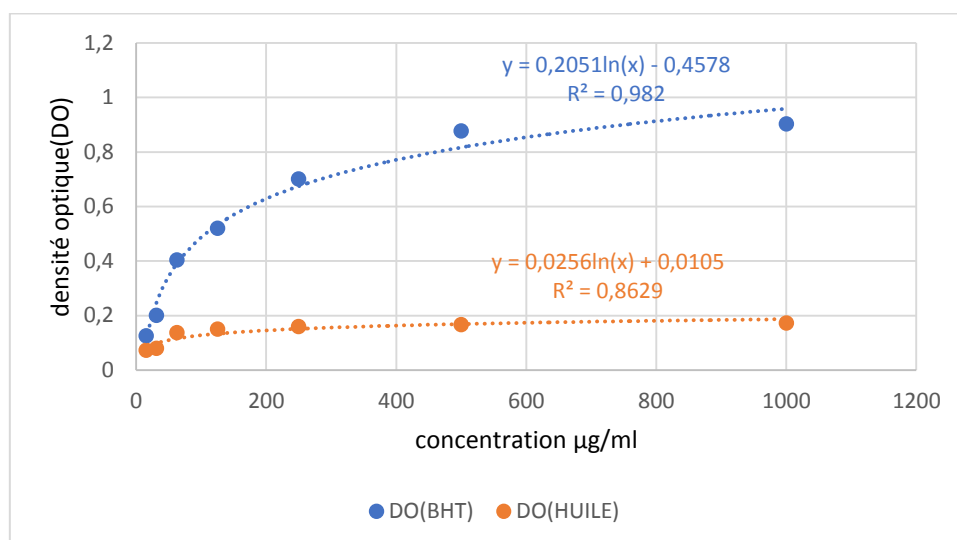


Figure 11: L'activité antiradicalaire de l'HE et du l'étalon BHT

D'après les résultats représentés dans la figure (10) on constate une augmentation de la densité optique (DO) correspondant à une augmentation du pouvoir réducteur de l'HE et du BHT.

A une concentration de 1000 µg/mL nous avons noté une DO de 0,172 pour l'EH et 0,90 pour le BHT. En comparant les DO de l'EH avec celle de BHT, il apparaît que l'HE *E.triquetrum* a enregistré un pouvoir réducteur du fer très faible par rapport à celui de BHT.



Figure 12: changement de couleur apparait de la méthode du FRAP de l'HE et l'étalon BHT

IV.2. Evaluation de l'activité anti inflammatoire :

Les plantes médicinales à propriétés anti-inflammatoires sont utilisées afin d'éviter les effets secondaires associés aux anti-inflammatoires synthétiques. De nombreuses études indiquent que les activités anti-inflammatoires des plantes pourraient être attribuées à leur contenu en composés phytochimiques.

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'HE d'*E. triquetrum* en comparaison avec celle du diclofénac a été estimée par le calcul des pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines comme le montre le tableau (11) et la figure (12).

Tableau 11: pourcentage d'inhibition de l'HE d'*E.triquetrum* et le diclofénac

[] (µg/mL)	1000	500	125	62,5
%I(HE)	52,99	44,7	33,17	25,8
%I(diclofénac)	51,51	36,36	23,5	16,12

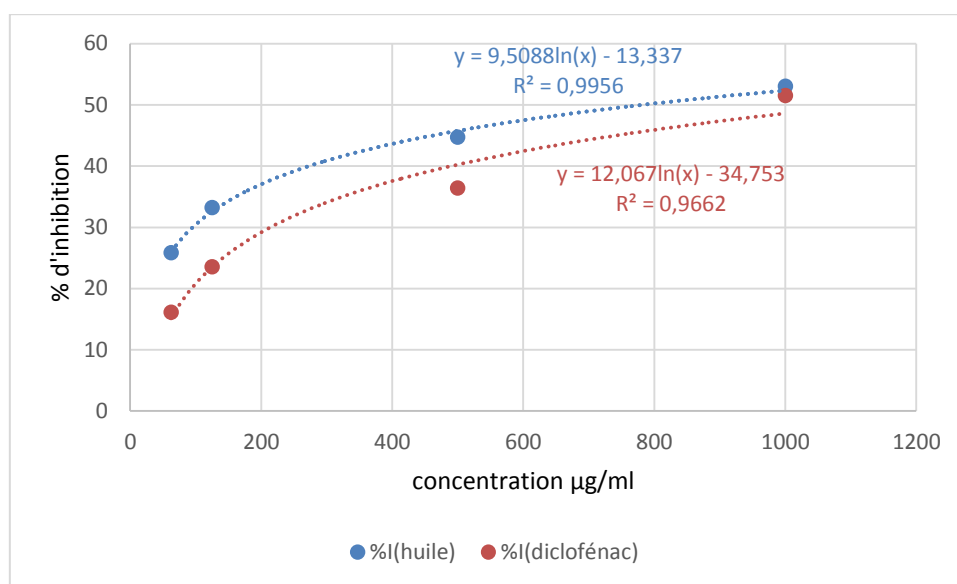


Figure 13: Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de BSA par l'HE d'*E.triquetrum* et le diclofénac

Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de BSA augmentent avec l'augmentation des concentrations de l'HE d'*E. triquetrum* et de diclofénac. Ces résultats révèlent que l'effet inhibiteur de l'HE d'*E. triquetrum* et de diclofénac est dose dépendant.

À la concentration de 62,5 µg/ml, les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de BSA sont de l'ordre de 16,12 % pour diclofénac et de 25,28 % pur l'HE. A 1000 µg/ml, nous avons constaté que l'HE et diclofénac arrivent à un pourcentage d'inhibition de 52,99 % et 51,51 %, respectivement.

Les CI₅₀ sont calculées graphiquement à partir des équations de régressions logarithmiques de courbes tracées illustrées dans la figure14. Les résultats des CI₅₀ sont représentés dans le tableau (12) :

Tableau 12: CI₅₀ de l'HE d'*Etriquetrum* et le diclofénac

CI ₅₀ diclofénac	1120 µg/mL
CI ₅₀ HE	780 µg/mL

Les résultats que nous avons enregistrés montrent que l'HE d'*E. triquetrum* possède une activité anti-inflammatoire (CI₅₀=780 µg/mL) proche à celui de diclofénac (CI₅₀= 1120 µg/mL).

Le suivi de l'effet inhibiteur de la dénaturation de l'albumine en fonction des concentrations de la combinaison entre HE et le diclofénac et comparés à ceux enregistrés par le diclofénac, sont résumés dans le tableau (13) et la Figure (13).

Tableau 13: Effet de la dénaturation d'albumine par l'HE d'*Etriquetrum* en combinaison avec le diclofénac

Concentration (µg/ml)	125	62,5	31,25	15,62
% d'inhibition (HE+ diclofénac)	91,5	89,57	73,74	59,84
%(diclofénac)	59,9	24,42	23,5	16,12

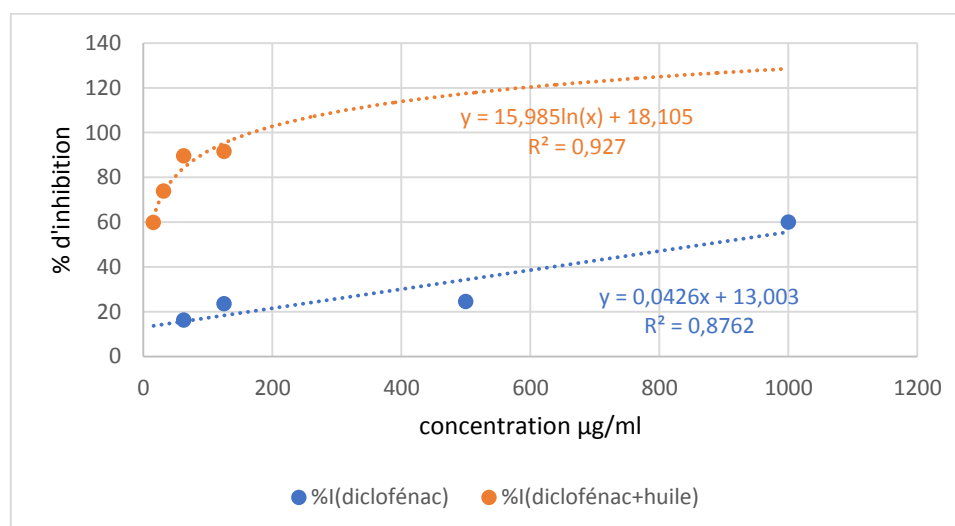


Figure 14: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA par l'HE en combinaison avec diclofénac

La combinaison de l'huile essentielle avec le diclofénac a montré un effet associé très actif ; pour une concentration de 125 µg/mL le pourcentage d'inhibition été de 91.5 % comparé par rapport à l'huile essentielle et le diclofénac seule respectivement 33,12 ; 23,5 qui met en évidence des résultats satisfaisants de l'évaluation de l'activité antiinflammatoire.

Les valeurs de CI_{50} sont représentées dans le tableau (14) :

Tableau 14: CI_{50} de l'HE d'*E.triquetrum* en combinaison avec diclofénac

Echantillon	CI_{50}
HE en combinaison avec diclofénac	7,35µg/mL

D'après les valeurs de CI_{50} obtenues, nous constatons que la combinaison de l'huile essentielle avec le diclofénac a montré une activité antiinflammatoire très intéressante avec une valeur CI_{50} de 7,35µg/mL . Cette activité est nettement supérieure à celle de l'HE et à celle diclofénac.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80% de la population mondiale ont recours aux traitements traditionnels à base de plantes médicinales [51]. De ce fait, les plantes médicinales et aromatiques suscitent un intérêt croissant dans la recherche scientifique à l'échelle mondiale, et sont de plus en plus exploitées dans le domaine pharmaceutique à des fins cosmétiques et thérapeutiques.

Les huiles essentielles sont connues par leurs propriétés biologiques nombreuses, beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antibactériennes, antiseptiques, antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires et antioxydantes [51]. Dans ce contexte, la présente étude a porté sur l'étude phytochimique et biologique de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*Eryngium triquetrum* (famille des Apiacées), récoltée dans la région de Nedrouma, wilaya de Tlemcen.

L'analyse chimique de l'huile essentielle d'*E. triquetrum* par la chromatographie en phase gazeuse (GC) et GC/spectrométrie de masse (MS) a montré la présence de 16 composés dont le falcarinol (75,3 %), (E)-2-l'Octène (3,2%), le Nonanal (3,1 %), le carvone (3,2%) et le (E)-2-Décane (2,1 %) sont les composés majoritaires.

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*, utilisant le test de piégeage du radical DPPH, révèle que la combinaison de l'huile essentielle avec le BHT a montré une forte capacité de piégeage du radical DPPH ($CI_{50}=420 \mu\text{g/mL}$) par rapport à celle de l'HE seule ($CI_{50}=2570 \mu\text{g/mL}$). Pour la méthode de réduction du Fer (FRAP), les résultats ont montré que l'HE d'*E. triquetrum* a enregistré un pouvoir réducteur du fer très faible par rapport à celui de BHT.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire réalisée par la méthode d'inhibition de dénaturation de BSA a montré que la combinaison de l'huile essentielle d'*E. triquetrum* avec le diclofénac a donné une activité anti-inflammatoire intéressante ($CI_{50}=7.35 \mu\text{g/mL}$) par rapport à celle de l'HE ($CI_{50}=780 \mu\text{g/mL}$) et le diclofénac seul ($CI_{50}=1120 \mu\text{g/mL}$).

Nous suggérons comme perspective de :

- Séparer, analyser et identifier les composés majoritaires de l'HE d'*eryngium triquetrum*
- Etudier la toxicité de l'HE d'*eryngium triquetrum* ;
- Etudier de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des composés majoritaires seuls et en combinaison aux références de synthèses

- Evaluer l'activité antioxydante par d'autres tests : APTS, blanchiment de beta carotène, CAT, CUPRAC
- Etudier l'activité antioxydante et anti-inflammatoire in vivo.

Références

Références :

- [1] N. Chaachouay, «Etude floristique et ethnomédicinale des plantes aromatiques et médicinales dans le Rif (Nord du Maroc),» Kénitra, 2020.
- [2] M. Eddouks., Ouahihi, M L., Farid O., Moufid A., Khalidi A., Lemhadri. L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. (2007). *Phytothérapie*, 5 : 194-203 .
- [3] Vermerris, W; Nicholson, R. Phenolic Compounds and Their Effects on Human Health. In: *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer, Dordrecht, (2006). 235-255.
- [4] BELOUFA Meriem. Etude chimique et activité antioxydante des huiles Essentielles du *Thymus fontanesii* , *Rosmarinus Officinalis* et *Artemisia herba alba* de la région de Tlemcen. Mémoire de master en chimie des produits naturels. Université Abou-Beker Belkaid– Tlemcen. 2018.
- [5] G. T. ÇAYAN ; M.E. DURU ,Chemical characterization and antioxidant activity of *Eryngium pseudothoriifolium* and *E. thoriifolium* essential oils. *Research in Pharmacy*, turkey, 2019. 6, 1106 – 1114
- [6] A.Medbouhi ; N.Merad ; A.Khadir ; M.Bendahou; N.Djabou ; J.Costa ; A.Muselli, Chemical Composition and Biological Investigations of *Eryngium triquetrum* Essential Oil from Algeria, Tlemcen. 2017. 15(1), e1700343
- [7] S.Casigliaa ; M.Brunoa ; S.Rossellia ; F.Senatoreb , Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Flowers of *Eryngium triquetrum* (Apiaceae) Collected Wild in Sicily. *Natural Product Communications*. Italy, 2016. (7) :1019-1024.
- [8] <https://inpn.mnhn.fr/accueil/index>. M. &. OFB, L'Inventaire national du patrimoine naturel.
- [9] A.Landoulsi ; V.Roumy ; C.Rivière ; S.Sahpaz ; J.Benhamida ; T.Hennebelle, Composition chimique et activités pharmacologiques des espèces tunisiennes du genre *Eryngium* L .(Apiaceae), *OpenScience*, 2018.

- [10] Nadjiya, Merad ; Vanessa ,Andreu ; Slimane ,Chaib ; Ronaldo , C, Augusto ; David ,Duval ;Cédric, Bertrand ; Yacine ,Boumghar ; André ,Pichette ; Nassim ,Djabou, Essential Oils from Two Apiaceae Species as Potential Agents in Organic Crops Protection, Antibiotics. 2021. 10, 636.
- [11] S. A. Erdem, S. F. Nabavi, I. E. Orhan, M. Daglia, M. Izadi, et S. M. Nabavi, Blessings in disguise: a review of phytochemical composition and antimicrobial activity of plants belonging to the genus *Eryngium*, Daru J. Pharm. Sci., 2015. 23,53/1-53/22,
- [12] S.D.Nusair ; M.I.Ahmad , Toxicity of *Vipera palaestinae* venom and antagonistic effects of methanolic leaf extract of *Eryngium creticum* lam. Toxicon. 2019,166:1–8
- [13] Medbouhi, A; Tintaru, A; Beaufay, C; Naubron, JV; Djabou, N; Costa, J; al. Structural elucidation and cytotoxicity of a new 17-membered ring lactone from Algerian *Eryngium campestre*. Molecules. 2018, 23123250
- [14] D. B.; Khalfallah,A 'Flavonoids, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Eryngium triquetrum*', Chem. Nat. Compd. 2014, 50
- [15] J.P. DURVELLE. Fabrication des essences et des parfums. Editeur J. FRITSCH, Paris, 1893
- [16] Desmares,C ; Laurent, A ; Delerme,C « Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles », mai 2008.
- [17] Khadir,A; Sobeh, Haidy,M; Gad,A; Benbelaid,F; Bendahou,M; Sporer, H, P, F;Ashour,M ;Wink,M Chapitre III Résultats et Discussions Page 48 Chemical composition and biological activity of the essential oil from *Thymus lanceolatus*, Zeitschrift für Naturforschung C, 2016 71(5-6):155-163.
- [18] KUBECZKA, K.-H. Chemical investigations of essential oils of umbellifers.Aromatic Plants. Springer .1982.
- [19] Golmakani, M,T; Rezaei, K. Comparison of microwave assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. Food Chemistry, 2008, 109, 925–930.
- [20] EL KALAMOUNI, C.Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Institut National Polytechnique de Toulouse. 2010.

- [21] Kaloustian.J, hadji-minaglo .F, La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie,livre, Edition Springer, Paris, 2012.
- [22] *Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques.* ResearchGate.https://www.researchgate.net/publication/343615181_Composition_chimique_a ctivite_antimicrobienne_et_antioxydante_de_trois_plantes_aromatiques (accessed 2023-07-02).
- [23] Pharmacopée Européenne Direction de la Qualité du Médicament & Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM), Strasbourg, France.
- [24] Raaman, N. Phytochemical techniques. New India Publishing, New Delhi, Inde (2006).
- [25] Goudjil, M. *Composition Chimique, Activité Antimicrobienne et Antioxydante de Trois Plantes Aromatiques.*, 2016. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11204.65926>.
- [26] Hubert, R. Epices et aromates. Edition Tec & Doc, Lavoisier, France. (1992).
- [27] DASTMALCHI, K., DORMAN, H. D., OINONEN, P. P., DARWIS, Y., LAAKSO, I. & HILTUNEN, R. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *LWT-Food Science and Technology*, 400p, 41 issue 3 .2008.
- [28] P. J. Marriott ; R. Shellie ; C. Cornwell, Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils , *J. Chromatogr. A*, p. 1–22, 2001. vol. 936.
- [29] M., Brattoli, E., Cisternino, P. R., Dambruoso, G., De Gennaro, P., Gingato, A.,Mazzone, J., Palmisani, M., Tutino. Gas chromatography analysis with olfactometric detection (GC-O) as a useful methodology for chemical characterization of odorous compounds. *Sensors*. 2013, 13, 16759-16800.
- [30] R.,Guba. Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potentiel. *International Journal of Aromatherapy*. 2001,11, 76-83.
- [31] A., Zambonelli, A., Zechini, A., D'aulerio, A., Bianchi, A.J., Albasni. *Phytopathology. Plant Disease* 1996,144, 491-494.
- [32] M., Lahlou. Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *FLAVOUR AND FRAGRANCE*. 2004, 19, 159–165.

- [33] R., Pulido, L., Bravo, F., Saura-Calixto. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, 48,8, 396-402.
- [34] R.J., Nijveldt, D.E., Nood Hoorn, P.G., Boelens, K., Norren, P., Leeuwe. Flavonoids : A review of probable mechanisms of action and potential application. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2001, 74,418-425.
- [35] Z., Pakkish, M. S., Tabatabaieia. The use and mechanism of NO to prevent frost damage to flower of apricot. *Scientia Horticulturae*. 2016, 198, 318–325.
- [36] Council of Europe, 'European Pharmacopoeia'. Ed. Strasbourg, 1997.
- [37] A.R., Setty, L.H., Sigal. Herbal Medications Commonly Used in the Practice of Rheumatology: Mechanisms of Action, Efficacy, and Side Effects. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 2005, 34, 773-784.
- [38] J., Kubola, et S., Siriamornpun. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chemistry*, 2008, 110,881-890.
- [39] I., Parejo F., Viladomat, J., Bastida, A., Rosas-Romero, G., Saavedra, M. A., Murcia, C., Codina, Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences*. 2003, 73, 1667-1681.
- [40] R., Amarowicz, R. B., Pegg, P., Rahimi-moghaddam, B., Barl, J. A., Weil. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 2004, 84, 551–562.
- [41] R., Kumar, A., Gupta, R., Ganguly, A. K., Pandey. In-vitro Models to Assess Antioxidant Potential. In Springer (Ed.), *Phytochemistry: An in-silico and in-vitro Update 2019*, 237–250.
- [42] M., Oyaizu. Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*. 1986, 44,307- 315.
- [43] F. Rouessac ET A. Rouessac, *Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques*. John Wiley & Sons, 2013.

- [44] J. Tranchant, J. Buzon, N. Guichard, J. Lebbe, A. Prévot, et J. Serpinet, « Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse », 1968
- [45] K. H. C. Baser ET G. Buchbauer, Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC press, 2009
- [46] B., MECHERNENE. Évaluation de l'activité antioxydante de quelques extraits de la racine de Bryonia dioica. 2014
- [47] TOSUN, G., YAYLI, B., ARSLAN, T., YASAR, A., KARAOGLU, S. A. & YAYLI, N. Comparative essential oil analysis of Calendula arvensis L. Extracted by hydrodistillation and microwave distillation and antimicrobial activities. Asian Journal of Chemistry, 2012. 24, 1955.
- [48] Ronaldo,C, Augusto; Merad,N; Rognon,A; Gourbal, B; Bertrand, C; Djabou,N; Duval, D; Molluscicidal and parasiticidal activities of Eryngium triquetrum essential oil on Schistosoma mansoni and its intermediate snail host Biomphalaria glabrata, a double impact.2020.
- [49] B., Bozin B, N., Mimica-Dukic, I., Samojlik, A., Goran, R., Igić. Phenolics as antioxydants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), Food Chemistry, 2008. 111, 925-929.
- [50] A. T. Mata, C. Proença, A. R. Ferreira, M. L. M. Serralheiro, J. M. F. Nogueira, et M. E. M. Araújo, « Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices », Food Chem. 2007,vol 103, 778-786.
- [51] M. Lahlou. Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. FLAVOUR AND FRAGRANCE. 2004, 19, 159–165.

Résumé

Notre travail porte sur l'étude de la composition chimique, l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante par la méthode DPPH et FRAP de l'huile essentielle d'*Eryngium triquetrum* et en combinaison avec la référence de synthèse BHT et l'évaluation de l'activité antiinflammatoire par le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine (BSA) de l'HE d'*Eryngium triquetrum* et en combinaison avec la référence de synthèse diclofénac.

Mots clés : *Eryngium triquetrum*, activité antiinflammatoire, activité antioxydante.

Abstract:

Our work focuses on the study of the chemical composition, the evaluation *in vitro* of the antioxidant activity by the DPPH and FRAP method of *Eryngium triquetrum* essential oil in combination with the BHT synthesis reference and the evaluation of the antiinflammatory activity by the thermal denaturation inhibition test of proteins (Bovine serum albumin (BSA) of *Eryngium triquetrum* essential oil and in combination with the diclofenac synthesis reference.

Key words : *Eryngium triquetrum*, anti-inflammatory activity, antioxidant activity.

ملخص

يركز عملنا على دراسة التركيب الكيميائي، و التقييم المخبري للنشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة DPPH و FRAP

للزيت الأساسي *Eryngium triquetrum* وبالاقتران مع المعيار المرجع BHT وتقييم النشاط

المضاد للالتهابات عن طريق اختبار تثبيط التحلل الحراري للبروتينات (ألبومين مصلى البقر (BSA)

لزيت الأساسي *Eryngium triquetrum* وبالاقتران مع المرجع ديكلوفيناك .

الكلمات المفتاحية: شوك الزريق , نشاط مضاد للالتهابات , نشاط مضاد للأكسدة .