

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche**  
**Scientifique**



Université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCEM  
Faculté des Sciences  
Département de Chimie  
Laboratoire des substances naturelles et bioactives

## **MEMOIRE**

Présenté pour obtenir le diplôme de **MASTER EN CHIMIE**

Option : **Chimie des Produits Naturels**

Présenté Par : *Melle BENYETTOU Wafaà*

**Thème**

**Criblage phytochimique et activités antibactérienne et  
antioxydante d'*Athamanta sicula L. (Keledj)* récoltée à  
Tlemcen**

Soutenu le : 27 Septembre 2020

Devant les membres du jury

Présidente	Amel BENDIABDELLAH	Docteur	Université de Tlemcen
Examinatrice	Amina TABET ZATLA	Docteur	Université de Tlemcen
Encadreur	Mourad BENDAHOU	Professeur	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2019-2020**

# Dédicace

A mes très chers parents,

Aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude et l'amour que je vous porte.

Je mets entre vos mains, le fruit de longues années d'étude, vous serez toujours le modèle de détermination, de force d'honnêteté, de bonté, de patience et d'amour.

Merci pour tous vos sacrifices pour que vos enfant grandissent et prospèrent, merci de trimer sans relâche, malgré les péripéties de la vie au bien être de vos enfants et d'être tout simplement mes parents.

Puisse mon dieu, le tout puissant, vous protège et vous accorde meilleure santé et longue vie.

A ma chère grand-mère que dieu bénisse et prolonge votre vie

A mes chers frères, ABDERAHMAN et FETHALLAH

A ma chère sœur, SELMA

A mon fiancé, MOHAMED

A mes cousines, ZINEB, YOUSRA, NIHEL, BOUCHRA, AMEL

A tous les membres de famille, BENYETTOU et BOUABDELLAH

A mes amies, FATIMA, SELMA, YASMINE, SARRA, MERIEM

Je vous remercie pour votre aide et votre soutien, et merci d'être présent lorsque j'en avais besoin.

Wafaà BENYETTOU

# Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la force et le courage de réaliser ce modeste travail, malgré la crise de Covid- 19.

Ce travail a été réalisé au laboratoire des substances naturels bioactives (LASNABIO) et au laboratoire de microbiologie appliqué à l'agro-alimentaire au biomédical et à l'environnement (LAMMABE), sous la direction de monsieur Mourad BENDAHOU professeur au département de biologie, Faculté SNV/STU, université ABB de Tlemcen. Je tiens à le remercier de fonds de mon cœur d'avoir accepté de me guider pour la réalisation de ce travail, sans lui je n'arriverai jamais à réaliser ce projet.

Je remercie Madame A. BENDIABDELLAH, maître de conférences B au département de chimie, faculté des sciences, université ABB de Tlemcen d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de mon mémoire de master.

Je remercie infiniment madame A. TABET ZATLA, maître de conférences A au département de chimie, faculté des sciences, université ABB de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle a fait d'avoir acceptée de siéger à mon jury de mémoire.

Je remercie également le professeur A. MUSELLI, directeur du laboratoire de Chimie des Produits Naturels, UMR-CNRS 6134, Corti, France, pour l'analyse de l'HE par CPG/Ir et CPG/SM.

Mes grands remerciements à Monsieur BENZIANE Mohammed Yasmine doctorant à LAMAABE pour son assistance à la réalisation des tests phytochimiques et du pouvoir antibactérien.

Merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce mémoire.

## Résumé

L'examen phytochimique d'*Athamanta sicula* récoltée à Béniboublène (Tlemcen) au stade de non floraison a permis de mettre en évidence la présence des huiles volatiles, des flavonoïdes, des tanins, des stérols et stéroïdes. L'huile obtenue par hydrodistillation et analysée par CPG/Ir et CPG-SM contient comme composés majoritaires la myristicine (48,1%), le bicyclogermacrène (25,4%) et l'apiol (15,3%). L'huile essentielle est active sur les bactéries positives mais possède un pouvoir antiradicalaire très faible.

**Mots-clés :** *Athamanta sicula*, phytochimie, huile essentielle, pouvoirs antibactérien et anti-radicalaire.

## Abstract

The phytochemical examination of *Athamanta sicula* collected in Béniboublène (Tlemcen) at the non-flowering stage shows the presence of volatile oils, flavonoids, tannins, sterols and steroids. The oil obtained by hydrodistillation and analyzed by CPG/Ri et CPG-MS contains as majority compounds myristicin (48,1%), le bicyclogermacrene (25,4%) et apiole (15,3%). The essential oil is active on positive bacteria but has very low anti-free radical power.

**Keywords:** *Athamanta sicula*, phytochemistry, essential oil, antibacterial and anti-free radical powers.

## ملخص

أظهر الفحص الكيميائي النباتي الذي تم جمعها في بني بوبلان (تلمسان) في المرحلة الغير مزهرة وجود الزيوت الستيروولات و الستيرويدات, الزيت الذي تم الحصول عليه CPG-IR, CPG-SM الطيارة و الفلافونويد و العفص و عن طريق عملية التقطير المائي و تحليله بواسطة  
يحتوي على أغلب المركبات التالية: ميريسيتيسين 48.1, بيسكلوجامكخان (24.5) و الايبول (15.3). الزيت العطري فعال على البكتيريا الايجابية ولكن لديه قوة منخفضة جدا على الجذور الحرة

## الكلمات المفتاحية

*Athamanta Sicula*, التحليل الكيميائي النباتي, الزيوت الأساسية, نشاط ضد الجراثيم و الجذور الحرة

## Liste des abréviations

**A. sicula** : *Athamanta sicula*.

**HE** : Huile essentielle.

**%** : Pourcentage

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**CPG-SM** : Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse

**IR** : Infra rouge

**mm** : millimètre

**mL** : millilitre

**µL** : microlitre

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

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Distribution géographiques du genre <i>Athamanta</i> .....	3
<b>Figure 2</b> : <i>Athamanta sicula</i> L.....	4
<b>Figure 3</b> : Répartition géographique d' <i>Athamanta sicula</i> L .....	5
<b>Figure 4</b> : Structure des flavonoïdes .....	10
<b>Figure 5</b> : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les espèces oxygénées réactives .....	14
<b>Figure 6</b> : Photo d' <i>Athamanta sicula</i> L. avant floraison récoltée à Beni Boublène (Tlemcen, Mars 2020) .....	17
<b>Figure 7</b> : Montage d'hydrodistillation type « Clevenger » utilisé pour l'extraction d'huile essentielle d' <i>Athamanta sicula</i> L .....	21
<b>Figure 8</b> : Profil chromatographique de l'huile essentielle d' <i>A. sicula</i> (tiges+feuilles) récoltée à Beniboublène, Mars 2020 .....	38
<b>Figure 9</b> : Distribution en fonction du pourcentage des différents composants existant dans l'HE d' <i>A.sicula</i> L.....	28
<b>Figure 10</b> : Représentation graphique du diamètre d'inhibition en mm vis-à-vis des bactéries testés de l'HE d' <i>A. sicula</i> (tiges et feuilles) et de la Gentamicine .....	30
<b>Figure 11</b> : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de BH. 31	
<b>Figure 12</b> : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations d'HE d' <i>A. sicula</i> L.....	32

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Principaux composés d'HE d' <i>A. sicala</i> .....	<b>7</b>
<b>Tableau 2</b> : Résultats des tests phytochimiques de la partie aérienne (tiges et feuilles) de la plante <i>A. sicala</i> .....	<b>26</b>
<b>Tableau 3</b> : Le rendement des différents constituants chimique identifiés d'HE d' <i>A. sicala</i> .....	<b>27</b>
<b>Tableau 4</b> : Diamètres d'inhibitions en mm de l'HE et de la Gentamicine (GEN).....	<b>29</b>

## Table des matières

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>2</b>
<b>CHAPITRE I: Etude de la plante <i>Athamanta sicula</i> L.....</b>	<b>3</b>
I.1. Introduction.....	3
I.2. Présentation de la plante .....	4
I.3. Classification botanique .....	4
I.4. Origine et répartition .....	5
I.5. Usage traditionnelle.....	5
<b>CHAPITRE II: Travaux phytochimiques et biologiques antérieures.....</b>	<b>5</b>
<b>II.1. Travaux phytochimiques antérieures .....</b>	<b>6</b>
<b>II.2. Travaux biologiques antérieures .....</b>	<b>7</b>
II.2.1. Activité antimicrobienne .....	7
II.2.2. Activité antiproliférative .....	8
II.2.3. Activité antioxydant .....	8
<b>CHAPITRE III: Les huiles essentielles et les flavonoides .....</b>	<b>8</b>
<b>III.1. Généralités sur les huiles essentielles.....</b>	<b>8</b>
III.1.1. Définition .....	8
III.1.2. Composition chimique .....	9
III.1.3. Domaines d'utilisation .....	9
III.1.4. Toxicité .....	9
<b>III.2. Généralités sur les flavonoides .....</b>	<b>10</b>

III.2.1. Définition .....	10
III.2.2. Classification.....	10
III.2.3. Intérêts thérapeutiques .....	11
<b>III.3. Activité antimicrobienne et capacité antioxydante .....</b>	<b>12</b>
III.3.1. Activité antimicrobienne.....	12
III.3.2. Capacité antioxydante .....	13
<b>PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>16</b>
<b>CHAPITRE I : Matériel et méthode .....</b>	<b>17</b>
I.1. Récolte de la plante <i>A. sicula</i> L .....	17
I.2. Préparation des extraits et les tests phytochimiques.....	17
I.3. Extraction des HE par hydrodistillation .....	21
I.4. Analyse de la composition chimique d'HE d' <i>A.sicula</i> L .....	21
I.5. Etude de l'activité antibactérienne.....	23
I.6. Etude de pouvoir antiradicalaire par la méthode du piégeage du radical libre DPPH.....	24
<b>CHAPITRE II : Résultats et discussion.....</b>	<b>26</b>
II.1. Test phytochimiques.....	26
II.2. Rendement et analyse partielle d'HE par CPG-Ir et CPG-SM.....	27
II.3. Résultat de l'activité antibactérienne par la méthode de Vincent .....	29
II.4. Résultat du pouvoir anti radicalaire du piégeage du radical libre DPPH.....	31
<b>CONCLUSION GENERALE .....</b>	<b>33</b>
<b>REFERANCE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>34</b>
<b>ANNEXE.....</b>	<b>38</b>

## Introduction

L'utilisation des plantes médicinales et aromatiques par l'homme comme alternatif aux médicaments est une pratique ancestrale dans le traitement des maladies infectieuses et dans la conservation des aliments. Mais cette utilisation reste populaire et nécessite un diagnostic scientifique. La santé des citoyens et la sécurité alimentaire sont une réelle préoccupation pour les responsables en raison des maladies causées par les micro-organismes de plus en plus résistants et par la toxicité des substances de synthèse utilisées comme additifs alimentaires.

Les préparations traditionnelles sous forme de macération ou de décoction des plantes ont montré empiriquement beaucoup d'intérêt comme source potentielle de substances naturelles bioactives. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à l'évaluation du pouvoir antibactérien et antioxydant d'*Athamanta sicula* L. (Keledj) qui appartient à la famille des ombellifères très riches en métabolites secondaires actifs [1].

La sélection de cette plante ombellifère « *Athamanta sicula* L. » s'est faite sur les critères suivants :

- C'est une plante abondante utilisée par la population locale
- La plante est très peu étudiée sur le plan chimique
- Comparer l'activité et la composition chimique de cette plante récoltée à Tlemcen aux échantillons d'autres régions.

Pour cela, notre travail est structuré comme suit :

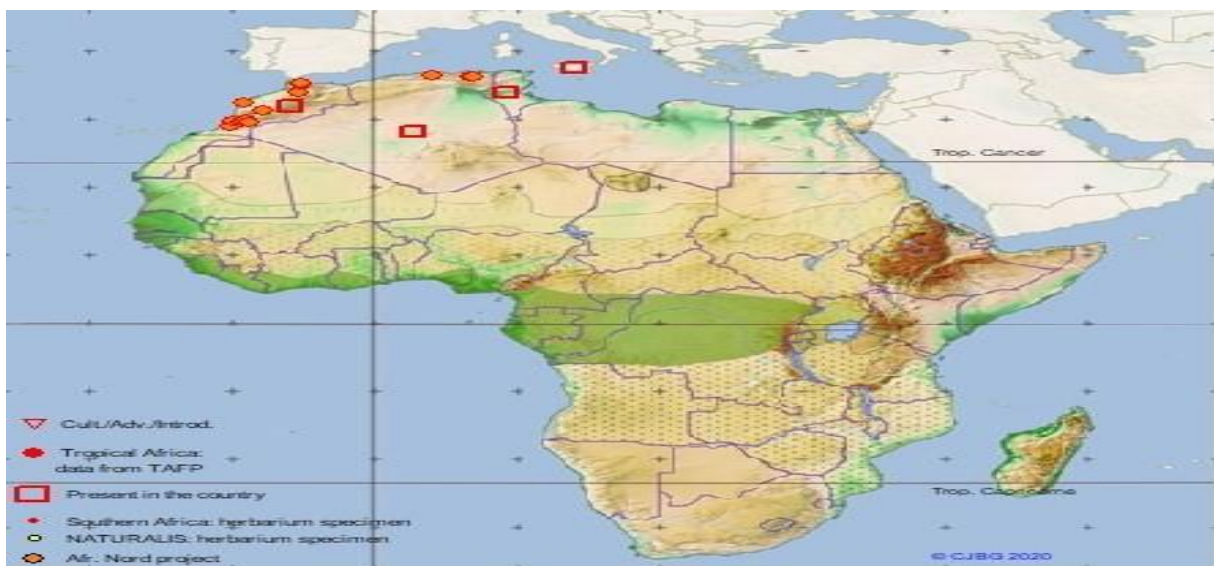
- (i) Une synthèse bibliographique sur *Athamanta sicula* L., les huiles essentielles, les flavonoïdes et les activités biologiques.
- (ii) Une partie expérimental, criblage phytochimique, analyse de l'huile essentielle et évaluation des propriétés antibactériennes et antiradicalaires de l'huile.
- (iii) Présentation des résultats obtenus et discussion.

## **Synthèse bibliographique**

## Chapitre I : Etude de la plante *Athamanta sicula* L.

### I.1. Introduction

Le genre *Athamanta* de la famille des ombellifères est constitué de 9 espèces réparties principalement dans le sud-Est d'Europe et dans le nord d'Afrique [2]. Ce sont des plantes herbacées qui appartiennent à la famille des Apiaceae. On connaît entre autres les espèces : *Athamanta cretensis*., *Athamanta mutellinoides*, *Athamanta cortiana*, *Athamanta densa*, *Athamanta macedonica*, *Athamanta sicula*, *Athamanta turbith*.....[3] (fig. 1)..



**Figure 1** : Distribution géographique de genre *Athamanta* [3].

Selon le site Eflora Maghreb [4], quatre espèces d'*Athamanta* sp. sont rencontrées en Afrique du nord à savoir : *Athamanta cervariifolia* (DC.) DC., *Athamanta montana* (Webb ex Christ) Spalik, Wojew. & Downie, *Athamanta vayredana* (Font Quer) C. Pardo et *Athamanta sicula* L.

## I.2. Présentation de la plante

**Nom scientifique :** *Athamanta sicula* L. (= *Tinguarra sicula* L. Benth et Hook.) [5].

**Nom vernaculaire:** keledje, škūṭa dial-ħjar, tafrifrāne [6].

L'espèce *Athamanta sicula* L. est une plante vivace de 20 à 60 cm de long (**fig. 2**). Entièrement grisâtre et tomenteuse. Ses feuilles sont tripennatiséquées, molles à division très nombreuses, ovales, oblongues et fortement crénelées. Involucre et involucelle à 2-5 bractées ± lancéolées. Les fleurs sont disposées en ombelles à 10-20 rayons de couleur blanche. Les fruits sont très hispides. *Athamanta sicula* L. est rencontrée dans tous les types de sols (acide, neutre ou alcalin), sa partie souterraine pousse vigoureusement dans des supports à texture sableuse [5].



**Figure 2 :** *Athamanta sicula* L. [7]

## I.3. Classification botanique

Selon **Quézel et Santa** [5], *A. sicula* appartient :

- Règne : végétale
- Embranchement : spermaphytes
- Sous embranchement : angiospermes
- Classe : dicotylédones
- Ordre : Apiales
- Famille : Apiaceae
- Genre : *Athamanta*
- Espèce : *Athamanta sicula* L.

#### I.4. Origine et répartition

En Algérie, on ne trouve que l'espèce *Athamanta sicula* L. répartie dans toute la partie tellienne (fig.3).



Figure 3 : Répartition géographique d'*Athamanta sicula* L. [4]

#### I.5. Usage traditionnelle

Les espèces du genre *Athamanta* sont utilisées dans la médecine traditionnelle comme étant antiseptique, diurétique, nervins, emménagogue, spasmodique, contre les toux chroniques, la flatulence, les coliques et dans la thérapie de scléroses [2,8].

*Athamanta sicula* L. est connue en médecine populaire sicilienne sous le nom de « spaccapietre ». Ces racines fraîches sont indiqués comme diurétique et utilisées comme traitement des maladies urinaires pour dissoudre les calculs rénaux [2].

## Chapitre II : Travaux phytochimiques et biologiques antérieures

### II.1. Travaux phytochimiques antérieures

En Mars 2003, Camarda et al., ont réalisé une étude sur l'huile essentielle des feuilles et des fruits d'un échantillon frais d'*Athamanta sicula* récolté dans la région de Madonie

du centre de Sicile (Italie). L'analyse par CPG/SM a révélé que l'HE des feuilles est riche en myristicine (97.6%), alors que l'HE des fruits contient aussi la myristicine comme composé majoritaire mais seulement 41.3% avec le  $\delta$ -3-carène (22.6%) et le terpinolène (20.5%) [9].

Une autre étude réalisée en **2008** par les mêmes auteurs mais sur un autre échantillon d'*Athamanta sicula* récolté dans la région de Monte Pellegrino à côté de Palermo (Italie) a montré que l'HE de la partie aérienne (tige, feuilles et fleurs) est très riche en Apiol (85.2%, 80.41%, et 87.8% respectivement) accompagné de petite quantité de myristicine (4.1%, 4.5%, et 4.8% respectivement) [2].

En Algérie, le premier travail sur *Athamanta sicula* date de **2008**. C'est une étude réalisée par **Lamamra** [1] sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne et antioxydant de l'huile essentielle d'un échantillon récolté au niveau des rochers calcaires de la montagne de Gouraya (Bejaia-Algérie). L'HE contient 25 composés chimiques dont l'Apiol est le composé majoritaire (56,8%). Une autre étude a été effectuée en juin **2012** sur la composition chimique de l'HE d'un échantillon récolté dans la région de Didouche Mourad (Constantine, Algérie) [10]. L'analyse chromatographique a indiqué la présence de 14 composés chimiques dont le Germacrène B est le composé majoritaire (88.5%), en plus de l'Apiol (4.9%) et le Germacrène D (1.7%).

**El-Ouadi et al.**, ont rapporté la composition de l'HE de la partie aérienne de *A. sicula* récolté à Bekira (Constantine-Algérie). Les constituants identifiés sont la myristicine (23.43%), l'alloarmadendrène oxide (4.92%), et le germacrène D (4.49%) [11].

Le tableau **1** résume les principaux composés identifiés de l'HE d'*A. sicula*

**Tableau 1** : Principaux composés de l'HE d'*A. sicula*

La région	Composé majoritaire	Structure
Madonie (Italie) [9]	Myristicine (97.6%)	
Palermo (Italie) [12]	Apiol (≈84%)	
Béjaia (Algérie) [1]	Apiol (56,8%)	
Constantine (Algérie) [10]	Germacrén B (88.5%)	
Bekira (Algérie) [11]	Myristicine (23.43%)	

Dans son travail de thèse de 3<sup>ème</sup> cycle LMD, **Bouratoua** a mis en évidence quatre composés de la fraction dichlorométhane : Stigmasterol, anthriscinol, myristicine, et apiol. Par contre de la fraction acétate d'éthyle, elle a isolée 3 flavonoïdes aglycones : Apigénine , Lutéoline, Diosmétine et un flavonoïde glycosylé isolé de la fraction n-butanol : Lutéoline 7-O-β-D-glucoside [16].

## II.2. Travaux biologiques antérieures

### II.2.1. Activité antimicrobienne

**Stefano et al.**, ont testé l'extrait acétonique d'*A. sicula L.*, l'apiol et la myristicine in vitro contre les souches bactériennes gram positif et gram négatif. Les résultats ont montré qu'il n'y a aucune sensibilité des souches [12].

En effet, même l'HE d'*A. sicula* riche en Apiol récolté à Béjaia par **Lamamra** s'est montré inactif sur des souches bactériennes Gram positif et Gram négatif [1].

Par contre, l'HE d'origine constantinoise riche en Germacrène B s'est montré très active vis-à-vis des souches *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 [10].

### **II.2.2. Activité antiproliférative**

Les tests réalisés sur l'activité antiproliférative des extraits acétoniques, l'apiol et la myristicine d'*A. sicula* contre des lignées cellulaires, (leucémie myéloïde chronique humain, tumeur pulmonaire humaine, et adénocarcinome du sein humain) ont montré un effet antiprolifératif significatif. Ils ont trouvés aussi que l'apiol et la myristicine ont une cytotoxicité contre toutes les lignées cellulaires utilisés [12].

L'évaluation de l'activité anti cholinestérase des fractions éther de pétrole et butanolique d'*A. sicula* ont montré une activité modérée contre l'enzyme cholinestérase AChE. Alors que l'activité cytotoxique de la myristicine contre les cellules fibrosarcomas (HT1080) a montré une activité avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de 45µM [16].

**II.2.3. Activité antioxydant :** Le seul travail réalisé est celui de **Lamamra** sur l'évaluation par DPPH du pouvoir antiradicalaire de l'HE d'*A. sicula* riche en apiol dont elle a trouvé un pouvoir inhibiteur de 32.9% [1].

## **Chapitre III : Les huiles essentielles et les flavonoïdes**

### **III.1. Généralités sur les huiles essentielles**

#### III.1.1. Définition

Une huile essentielle est définie par la pharmacopée européenne comme étant un produit odorant, volatil et de nature hydrophobe totalement soluble dans les alcools. Elle est extraite par entraînement à la vapeur, par distillation ou par d'autre méthode d'extraction à partir d'une matière végétale [13].

Une huile essentielle est formée dans la cellule végétale et s'accumule dans les divers organes de la plante (racine, rhizome, écorce, fruit, feuilles, fleur ...) [14].

### III.1.2. Composition chimique

La composition chimique d'une huile essentielle est constituée d'un mélange complexe de constituants hétérogènes : groupe des terpènes et des terpénoïdes et groupe des composés aromatiques dérivés de phénylpropane. Elle peut aussi avoir des constituants non volatiles issus de la dégradation des composés [14].

Les composés terpéniques ont un point en commun qui est la présence dans leur squelette l'unité de base isoprénique ( $C_5H_8$ ). Ces terpènes sont classés suivant leur nombre d'unité isoprène, ils peuvent être cycliques ou acycliques. Parmi les composés terpéniques, il y a les monoterpènes ( $C_{10}$ ), les sésquiterpènes ( $C_{15}$ ), les diterpènes ( $C_{20}$ ), les triterpènes ( $C_{30}$ ), les tétraterpènes ( $C_{40}$ ), et les polyterpènes.

### III.1.3. Domaine d'utilisation

Les huiles essentielles sont des essences aromatiques qui peuvent être utilisées dans divers domaines industrielles, elles peuvent servir à la fabrication de plusieurs produits d'aromathérapies à cause de la forte activité antioxydante, antivirale, et anticancéreuse [27].

En cosmétologiques, elles sont utilisées pour la fabrication des crèmes, des parfums, des savons et même du shampoing. En alimentation les HEs sont utilisés pour parfumer les aliments, et à la réduire la prolifération des micro-organismes [1].

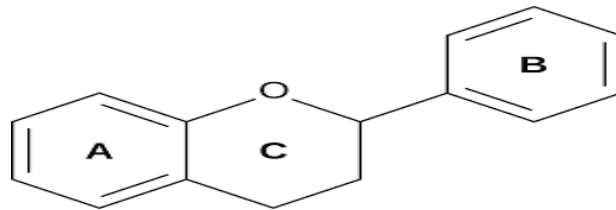
### III.1.4. Toxicité

La majorité des intoxications par les plantes sont dues à un surdosage (accumulation) provoquant dans l'organisme des affections dégénératives et des effets secondaires comme le vomissement, les vertiges et les syncopes [30].

## III.2. Généralités sur les flavonoïdes

### III.2.1. Définition

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires de la plante, ils ont un squelette de base formés par 3cycles, dont il y a deux cycles C6 (cycle A et B) relié entre eux par une chaîne en C3 souvent fermés en un hétérocycle oxygéné (le cycle C) [15] (fig.4).



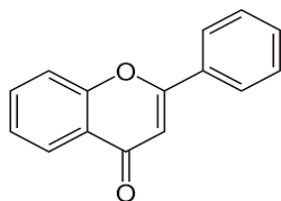
**Figure 4** : structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent le groupe le plus diversifié des polyphénols. Dans l'an 2000 plus de 6500 flavonoïdes différents ont été identifiés. Ce sont des pigments responsables des couleurs jaune, rouge, bleu, des fleurs et parfois même les feuilles [16].

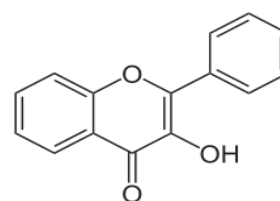
### III.2.2. Classification

Selon les détails structuraux, les flavonoïdes peuvent être classés comme suit [15] :

- Flavones et flavonols : deux hydroxyles phénoliques sont substitué dans le cycle A.

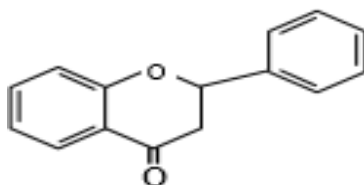


Les flavones



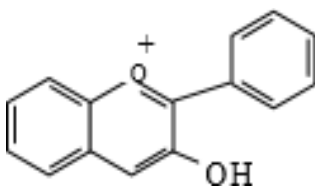
Les flavonols

- Flavanones et hydroflavonol : Absence de la double liaison entre C2 et C3



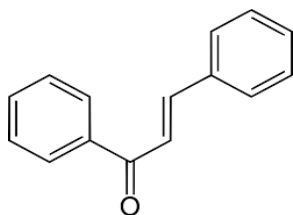
Les flavonones

- Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols : hydroxylés en C3 et absence du groupe carboxyle en C4

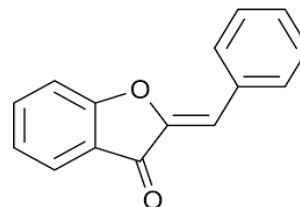


Anthocyanidols

- Chalcones et aurones :



Les chalcones



Les aurones

### III.2.3. Intérêts thérapeutiques

Les flavonoïdes protègent les tissus contre les effets du rayonnement solaire

L'apéginine est un flavonoïde qui a été décrit comme un composé bactéricide, et bactériostatique très efficace. De même, ils ont été utilisés pour le traitement des cataractes d'origine diabétique afin d'inhiber l'aldose réductase.

Concernant l'activité des flavonoïdes vis-à-vis du cancer, la quercétine prévient la cancérogenèse (cancer de peau et du colon) [15].

### III.3. Activité antimicrobienne et capacité antioxydante

#### III.3.1. Activité antimicrobienne

Un antimicrobien (proche de l'antibactérien) est l'ensemble de composé qui ont le pouvoir de réduire la prolifération des microbes (les bactéries, les virus, les mycètes ou les parasites).

D'une façon générale l'activité antimicrobienne des HEs est en fonction de leur composition chimique et particulièrement la nature de leurs composés volatils majeurs. L'action des HEs sur les moisissures, et les levures est plus importante que sur les bactéries [17].

L'activité antimicrobienne des flavonoïdes à démontrer de nombreuses études, elle est due à la capacité de ces molécules d'inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes [18].

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de plusieurs bactéries, ils s'attaquent à un nombre de bactéries avec une intensité différente [29].

Chaque composé des flavonoïdes agit différemment, par exemple : l'apéginine a une faible activité que contre *Staphylococcus aureus*, alors que le galangine a une très forte activité sur cette bactérie [19].

Généralement, le pouvoir antimicrobien est évalué par deux méthodes :

##### 1. Technique par contact direct

C'est une méthode simple qui consiste à mettre en contact l'extrait et les micro-organismes et observer la croissance de ces derniers.

##### 2. Méthode de micro dilution

Cette méthode permet de calculer la CMI ou la CMD de l'extrait vis-à-vis de souches testées [31].

### III.3.2. Capacité antioxydante

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, ayant des électrons non appariés très instable et avec une forte énergie, et qu'avant qu'ils soit neutralisés ils détruisent ce qu'ils rencontrent [28].

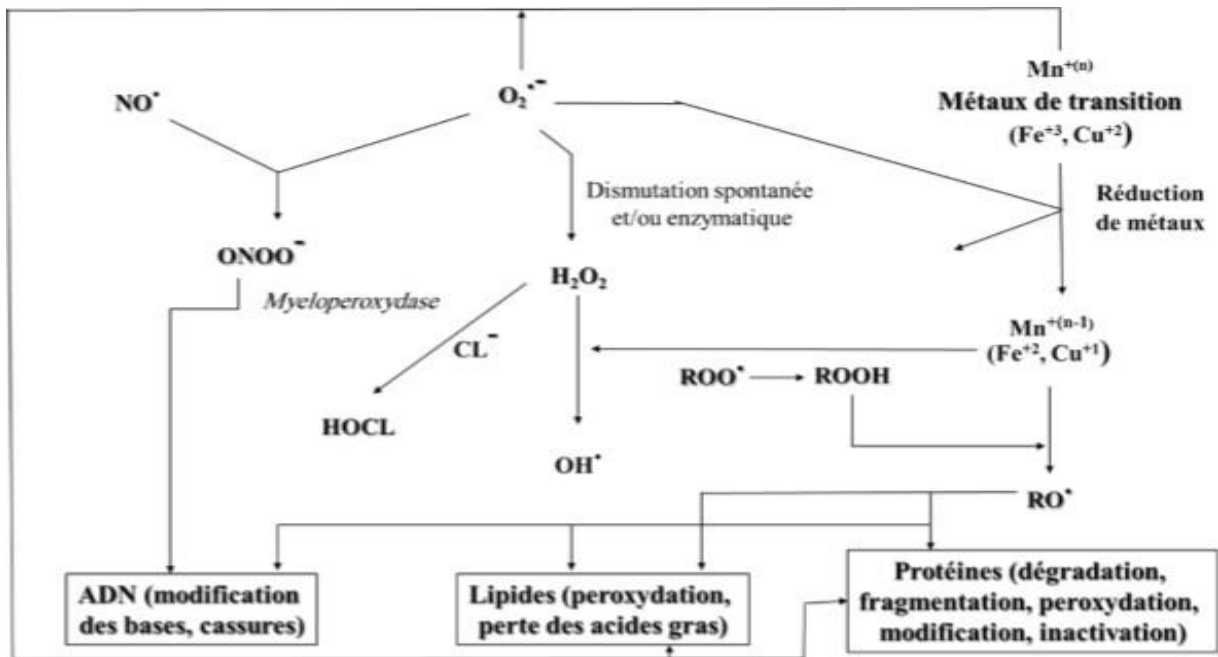
Lorsqu'on respire, des espèces réactive de l'oxygène vont être générer et qui peuvent être à l'origine des radicaux libres. Ces derniers sont responsables de grands dommages cellulaires [21].

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) se sont les espèces radicalaires les plus actives, qui dérivent de la molécule d'oxygène par une addition d'électron.

Parmi les espèces réactives de l'oxygène il y a : Anion superoxyde  $O_2^-$  , Peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée ( $H_2O_2$ ), Radical libre hydroxyle :  $OH\cdot$ ... Etc [20].

Les radicaux libres, et le stress oxydatif, sont deux termes de plus en plus utilisés pour expliquer les différentes atteintes pathologiques. Le stress oxydatif est la cause principale de plusieurs maladies tel que : le diabète, le rhumatisme, l'Alzheimer, cataracte, les inflammations gastro-intestinales... Etc [21].

On appelle un antioxydant tout composé ou substance qui ont la capacité de retarder l'oxydation des substrats biologiques et aussi qui peuvent réagir simplement avec les radicaux libres et les rendent sans danger [22]. Ce système de protection et de défense est parfois déborder lorsque les agressions sont multiples sous plusieurs effets parmi eux : le stress oxydatif, et la mauvaise alimentation qui n'apporte pas une bonne quantité des antioxydants (**Fig.5**).



**Figure 5 :** Cibles biologiques et endommagements oxydatifs induits par les espèces oxygénées réactives [25]

Les antioxydants ont trois origines : (i) Une origine endogène représentée par des enzymes, exemple : les superoxyde-dismu-tases, (ii) Les protéines non enzymatiques, exemple : albumine, (iii) L'alimentation, exemple : les fruits, les légumes, les flavonoïdes... [23].

Les études qui ont été faites sur l'activité antioxydant des flavonoïdes ont montré que ces substances sont des puissants antioxydants. La catéchine est un flavonoïde très abondant dans le thé, et qui inhibe certaines réactions d'oxydation donnant un ADN anormale, elle a été démontrée plus active que la vitamine E sur les radicaux libres [15].

De même, les HEs essentielles ont aussi montré une bonne activité antioxydantes, en particulier les HEs riches en thymol et carvacrol, le linalool, et le 1,8-cinéole.... [24].

La mesure de la capacité antioxydante peut être réalisée par plusieurs méthodes, les plus utilisées sont :

- **DPPH** : Le radical DPPH<sup>•</sup> (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) : Ce radical présente une couleur bleu caractéristique. Les antioxydants présents dans l'échantillon le réduisent entraînant une décoloration facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm.
- **ORAC** : Oxygen Radical Absorbance Capacity : C'est une méthode qui mesure la dégradation de la fluorescéine, induite par la décomposition thermique d'AAPH en deux radicaux, la présence de l'antioxydant dans l'échantillon retarde la dégradation.
- **FRAP** : En présence d'antioxydant, le complexe ferrique-tripyridyltriazine se réduit et il perd sa couleur jaune pour un bleu foncé. Cette activité est donc mesurée à 595nm, et elle sera proportionnelle à la concentration d'antioxydant présent dans l'échantillon.
- **ABTS** ou **TEAC** : En réagissant l'ABTS + K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (persulfate de potassium), il se forme le radical ABTS<sup>•+</sup>, de couleur bleue, lorsqu'on ajoute un antioxydant, ce radical va se réduire et se décolore. Cette décoloration est mesurée à 734nm par un spectrophotomètre et cela est proportionnel à la concentration en antioxydant [26].

## **Partie expérimentale**

## **Chapitre I : Matériel et méthode**

### **I.1. Récolte de la plante *A. sicula* :**

L'espèce *A. sicula* L. a été récoltée dans la région de « Beniboublène » Mansourah, wilaya de Tlemcen durant la première quinzaine de mois de Mars 2020 en période de non floraison (tiges et feuilles). Le matériel végétal a été conditionné après séchage dans du papier de Kraft. L'identification botanique a été faite par monsieur le professeur Boumedienne MEDJAHEDI du département de foresterie université de Tlemcen.



**Figure 6 :** Photos d'*A. sicula* L. avant floraison récoltée à Beniboublène, (Tlemcen, Mars 2020)

### **I.2. Préparation des extraits et tests phytochimiques**

Les tests phytochimiques ont été réalisés selon les méthodes décrites dans la bibliographie [33, 34, 36, 38, 39, 40, 41, 47,48]. Ces examens sont basés sur la solubilité des constituants, les réactions de coloration et de précipitation pour mettre en évidence les principales familles chimiques existantes dans la plante. Pour cela, l'espèce *A. sicula* (tiges et feuilles) a été soumise à trois extractions différentes (eau, éthanol, éther diéthylique).

**Extrait aqueux** : l'utilisation d'eau comme solvant est basé sur la polarité de ce solvant avec les différents composés présents dans la plante. 50 g de la partie de la plante broyée à la main sont introduits dans un ballon contenant 300ml d'eau distillé. Le mélange est soumis sous reflux pendant 60 min, puis filtrer. Le filtrat est récupéré puis évaporer à sec.

**Extrait éthanolique** : 50g de matériel végétal broyé a la main sont mélangés avec 300 ml d'éthanol dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant. L'ensemble est porté à reflux pendant 60 minutes. Le mélange est filtré et l'extrait éthanolique est soumis aux différents tests.

**Extrait éthérique** : 50g de matériel végétal sont mis en contact avec 300 mL d'éther diéthylique dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant. L'ensemble est porté à reflux pendant 1 heure. Le mélange est filtré et l'extrait éthérique est soumis aux différents tests.

### **Tests phytochimiques :**

❖ Tests effectués sur les extraits éthanoliques et aqueux :

**Les flavonoïdes** : 5 mL de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes d'HCl concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange [33].

**Les tanins** : Un volume de 2 mL de chacun des deux extraits, est additionné à 2 à 3 gouttes de la solution de  $FeCl_3$  à 1%. Après quelques minutes d'incubation, le chlorure ferrique développe une coloration verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques ou bleu-noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques [33].

**Saponosides** : Mettre 3mL d'extrait dans un tube à essai, puis agiter fortement pendant 30 secondes et laisser reposer 20minutes. Si la mousse persiste pendant cette période cela signifie qu'il y a des saponosides.

-Pas de mousse = test négatif                      -Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif

-Mousse de 1-2 cm = test positif -Mousse plus de 2 cm = test très positif [34].

**Amidon:** Chauffer 5 mL de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain marie jusqu'à l'ébullition, puis ajouter le réactif d'amidon. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée [35].

**Les anthraquinones:** 1g du matériel végétal avec 10 mL de KOH (0,5N) et 1 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dilué à 5%, bouillir et refroidir le mélange, filtrer, puis acidifier le filtrat avec de l'acide acétique, extraire la solution acide obtenue avec 10 ml de toluène, Agiter l'extrait de toluène en présence de 5 mL de NH<sub>4</sub>OH. Une réaction positive est révélée par formation d'une couleur rouge au niveau de la couche alcaline.

**Les alcaloïdes sels :** Leur détection consiste à évaporer à sec 20 mL de l'extrait éthanolique puis on a ajouté 5 ml d'HCl (10%) au résidu obtenu, puis chauffer dans un bain marie, filtrer le mélange et l'alcaliniser avec quelques gouttes d'une solution de NH<sub>4</sub>OH (10%) jusqu'au pH= 9 ; Extraction de la solution avec l'éther diéthylique, ensuite concentration à sec. Dissoudre le résidu dans du HCl (2%) et on a testé la présence des alcaloïdes par quelques gouttes de réactif de Mayer et Wagner afin d'obtenir un précipité blanc et un précipité brun respectivement indiquant leur présence [36].

**Les stérols et Stéroïdes :** Deux essais ont été effectués :

Essai 1 : il consiste à l'évaporation à sec de 10 mL d'extrait éthanolique puis Traitement du résidu obtenu avec 10 mL de chloroforme anhydre puis filtrer, on a mélangé 5 ml de la solution chloroformique avec 5 mL d'anhydride acétique et on a ajouté quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, agiter, puis laisser la solution reposer. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 minutes à 21°C).

Essai 2 : Il consiste aussi à l'évaporation à sec l'extrait éthanolique correspondant à 10 mL, puis la Dissolution du résidu obtenu dans 0,5 mL d'anhydride acétique et 0,5 mL de chloroforme, puis filtrer, on a traité le filtrat par la réaction de Liebermann-Burchardt. Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et verte-violette, elle indique la présence des hétérosides stéroïdiques et triterpéniques respectivement [37].

**Les coumarines** : Evaporer à sec 5 mL d'eau chaude, puis diviser le volume en deux parties; Prendre le demi volume comme témoin et ajouter à l'autre volume en 0,5 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10), être deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière UV La présence des coumarines est indiquée par une fluorescence intense [38].

**Les anthracénosides et les anthocyanosides :**

Pour mettre en évidence ces composés, il faudra suivre les étapes suivantes : Ajouter 15 ml d'HCl (10%) à 25 ml de l'extrait éthanolique, porter l'ensemble à reflux pendant 30 minutes , refroidir la solution et l'extraire 3 fois avec 15 mL d'éther , ensuite, chacune de ces familles est détectée séparément :

- **Les anthracénosides** : elle est réalisée par le réactif de Bornträger, en traitant 8ml de la solution extractive éthérique par ce dernier. Un test positif est révélé par l'apparition d'une teinte vive variant de l'orangée-rouge au violet- pourpre.

- **Les anthocyanosides** : Le test effectué consiste à doser la solution aqueuse acide avec une solution NaOH. Les anthocyanosides ont des colorations variant en fonction du pH. De rouge stable en  $\text{pH} < 3$ , elles varient au bleu en milieu alcalin [41].

❖ Tests effectués sur les extraits éthériques :

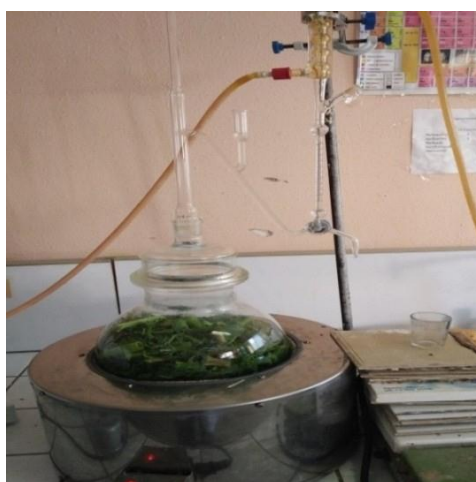
**Les huiles volatiles** : Evaporer à sec 20 mL de l'extrait éthérique puis dissoudre le résidu obtenu dans de l'alcool, concentrer à sec la solution alcoolique obtenue. Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu arôme.

**Les acides gras** : Concentrer à sec 20 mL de la solution éthérique , puis dissoudre le résidu obtenu dans de l'alcool , le traitement de la solution alcoolique avec une solution base de soude ou de potasse , ajouter un peu d'eau et extraire la solution avec l'éther diéthylique, concentrer à sec la solution éthéré. Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu gras.

**Les alcaloïdes bases:** Evaporer à sec 10 mL de l'extrait éthérique, dissoudre le résidu obtenu dans 1,5 ml d'HCl (2%), ajouter 1 à 2 gouttes de réactif de Mayer. La formation d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes bases.

### I.3. Extraction des HE par hydrodistillation

L'extraction des HE a été réalisée par hydrodistillation de type Clevenger. Pour cela 510g de la partie aérienne de la plante *A. sicula* (tiges et feuilles) broyer à la main sont immergés dans un ballon avec 3,75L d'eau et surchauffé par un chauffe ballon pendant 4heures. Les vapeurs d'eau chargées en huiles essentielles sont ensuite condensés et séparées par la différence de densité. Les huiles obtenues ont été déshydratées sur le sulfate de magnésium ( $MgSO_4$ ) et conservées à 4 °C et à l'abri de la lumière (**Fig. 7**).



**Figure 7:** Montage d'hydrodistillation type « Clevenger » utilisé pour l'extraction d'huile essentielle d'*Athamanta sicula* L.

### I.4. Analyse de la composition chimique de l'HE d'*A. sicula* par CPG/Ir et CPG-SM

- **Analyse par CPG/Ir :** Nous avons utilisé un chromatographe de type Perkin Elmer Autosystem GC, équipé de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID), et d'un injecteur diviseur. Le chromatographe est composé des pièces suivantes :

- deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i ; épaisseur du film : 0,25  $\mu$ m) respectivement polaire (Rtx-Wax, polyéthylèneglycol) et apolaire (Rtx-1, polydiméthyl-siloxane) permettant la détection des composés.

- Le gaz vecteur utilisé est l'hélium (1 mL/min) avec une pression en tête de colonne de 25 psi.

- La température de l'injecteur est de 250°C et celle du détecteur de 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C, à 2°C/min, puis un palier de 45 min à 230°C.

- L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/50. La quantité d'huile injectée est de 0,2µL. La quantification a été faite par intégration électronique directe des aires des pics.

• **Analyse par couplage CPG/SM** : L'analyse a été réalisée en utilisant un chromatographe Perkin Elmer, autosystem XL, fonctionnant en mode impact électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV, et doté d'un injecteur automatique. L'appareil est équipé :

- de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i ; épaisseur du film : 0,25 µm) polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplé à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass.

- Le gaz vecteur est toujours l'hélium (1 mL/min) avec une pression en tête de colonne de 25 psi. La température de l'injecteur est de 250°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C, à 2°C/min, puis en un palier de 35 min à 230°C.

- L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80. La quantité d'HE injectée est de 0,2µL.

- La détection se fait par un analyseur quadripolaire constitué d'un assemblage de quatre électrodes parallèles de section cylindrique.

- La température de la source est de 150°C

• **Méthodes d'identifications** : Les constituants sont identifiés :

- par comparaison de leur spectre de masse à ceux des bibliothèques informatisés (**NBS, NIST, Adams**), la bibliothèque du laboratoire de Corse et les spectres de masse publiés dans la littérature.

- Par les indices de rétention polaires et apolaires calculés à partir des temps de rétention d'une série d'alcanes de C9 à C25 [42].

## I.5. Etude de l'activité antibactérienne

**Les souches testées :** L'activité antibactérienne de l'HE a été déterminé contre quatre souches de référence ATCC dont deux à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922 (Ec) et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 (K<sub>p</sub>)) et deux Gram positif (*Bacillus subtilis* ATCC 6633 (Bs), *Staphylococcus aureus* 25923 (Sa)).

**Conservation des souches :** Les souches ont été conservées à 4°C dans des tubes contenant de la gélose nutritif.

**Préparation des précultures :** sur une boîte de Pétrie contenant le milieu gélose nutritif, les souches sont ensemencées par stries. Après 18h d'incubation à 37°C, 3 à 4 colonies bien isolées, sont prélevées et émulsionnées dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. Bien homogénéiser au vortex. Après, on effectue des dilutions afin de standardiser la suspension bactérienne. L'inoculum est ajusté à 0,5 Mc Farland correspondant à une D.O de (0,08 à 0,10) à 625 nm [49]. La concentration finale de l'inoculum est de 10<sup>8</sup> UFC/ml.

**Méthode de Vincent (Aromatogramme) :** L'activité antimicrobienne de l'HE a été réalisée par la technique modifiée de Kirby–Bauer [50]. Des boîtes de pétries (9 cm de diamètre) remplies par 15 mL de gélose Muller–Hinton sont ensemencées par écouvillonnage à partir des suspensions standardisées (10<sup>8</sup> ufc/mL). Ensuite, des disques en papier Whatman stériles (No. 3) (6mm) sont imprégnés par 10 µL d'HE puis déposés sur la surface de la gélose pré-ensemencée. Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24h. Après incubation, les diamètres d'inhibition sont mesurés en millimètres, disques inclus, à l'aide d'un pied à coulisse. Les expériences ont été réalisées en trois exemplaires. La lecture des résultats se fait par la mesure du Ø de la zone d'inhibition en mm selon la fourchette proposée par Ponse [51] comme suit :

Ø ≤ 8 mm : non sensible

9 mm ≤ Ø ≤ 14 mm : sensible

14 mm ≤ Ø ≤ 20 mm : très sensible

Ø ≥ 20 mm : extrêmement sensible.

## **I.6. Etude de pouvoir antiradicalaire par méthode du piégeage du radical libre DPPH**

La méthode DPPH consiste à mesurer la capacité d'un antioxydant à réduire le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphénylpicrylhydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu. Pour cela, 50µL des extraits méthanoliques à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95mL de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/L). Au même temps un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µl de méthanol avec 1,95mL de la solution méthanolique du DPPH. Après une période d'incubation de 30 minutes à la température de laboratoire, l'absorbance est lue à 517nm. Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{Abs\ c - Abs\ e}{Abs\ c} \times 100$$

Abs c: Absorbance du contrôle

Abs e: Absorbance de l'échantillon testé

Pour chaque extrait, on détermine la valeur IC<sub>50</sub> qui est la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH [43] [44].

## **Résultats et discussion**

## **Chapitre II : Résultats et discussion**

**II.1. Tests phytochimiques** : Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne de la plante *A. sicula* (tiges et feuilles) épuisée par l'eau, l'éthanol et l'éther diéthylique sont consignés dans le tableau suivant :

**Tableau 2** : Résultats des tests phytochimiques de la partie aérienne (tiges et feuilles) de la plante *A. sicula*

Les familles chimiques recherchées	Résultats		
	Extrait Aqueux	Extrait Ethanolique	Extrait Ethérique
Les flavonoïdes	/	+++	/
Les tanins	+++	/	/
Les saponosides	++	/	/
Stérols et stéroïdes	/	+++	/
Alcaloïdes sels	-	/	/
Les coumarines	/	-	/
Amidon	-	/	/
Anthraquinones	-	-	/
Anthracénosides	/	-	/
Anthocyanosides	/	-	/
Huiles volatils	/	/	+++
Acides gras	/	++	++
Alcaloïdes bases	/	/	-

- : Test négatif    ++: Test positif    +++ : Test fortement positif    / : Non testé

Selon le tableau ci-dessus la recherche des coumarines, des anthraquinones, des anthracénosides, des anthocyanosides, des alcaloïdes sels et de l'amidon s'est montrée négative alors que celle des flavonoïdes, des tanins, des huiles volatils, des stérols et stéroïdes s'est montrée fortement positive. Les saponosides, et les acides gras sont faiblement présents.

Nos résultats sont en accords avec les travaux antérieurs [43, 44, 45, 46] qui ont mis en évidence la présence des coumarines, des flavonoïdes et des acides gras. D'autres études

phytochimiques sur l'espèce *A.sicula* rapportent la présence des terpènes et des flavonoïdes aglycones et glycosylés [16].

## II.2. Rendement et analyse partielle de l'huile essentielle par CPG/IR et CPG/SM

Les résultats de l'analyse par CPG/IR et CPG-SM de la composition chimique de l'HE d'*A. sicula* obtenue par hydrodistillation sont reportés dans le **tableau 3** et illustré par la **fig.8** (annexe 1) :

**Tableau 3** : Le rendement des différents constituants chimique identifiés d'HE d'*A. sicula*

TR (min)	Constituants	IR <sub>a</sub>	IR <sub>b</sub>	%	Identification
11.48	$\alpha$ -Pinène	931	1022	0.5	IR,SM
13.15	Sabinène	966	1120	Tr	IR,SM
13.39	$\beta$ -Pinène	971	1110	0.9	IR,SM
15.68	p-cymène	1014	1268	2.2	IR,SM
16.11	Limonène	1020	1199	0.6	IR,SM
24.8	$\beta$ -phellandrène	1020	1208	Tr	IR,SM
31.17	$\alpha$ -Terpinéol	1181	1700	0.5	IR,SM
42.14	$\beta$ -élémane	1389	1551	0.7	IR,SM
46.19	Myristicine	1487	2180	<b>48.1</b>	IR,SM
49.64	bicyclogermacrène	1494	1490	<b>25.4</b>	IR,SM
56.27	Apiol	1590	2360	<b>15.3</b>	IR,SM
	<b>Total</b>			<b>94.2</b>	
	<b>Teneurs en % (P/P) d'HE</b>			<b>0.9-1.0</b>	
	<b>Monoterpènes hydrocarbonés</b>			<b>4.2</b>	
	<b>Monoterpènes oxygénés</b>			<b>0.5</b>	
	<b>sesquiterpenes hydrocarbonés</b>			<b>25.4</b>	
	<b>phénylpropanoïdes (Arylpropènes)</b>			<b>63.4</b>	

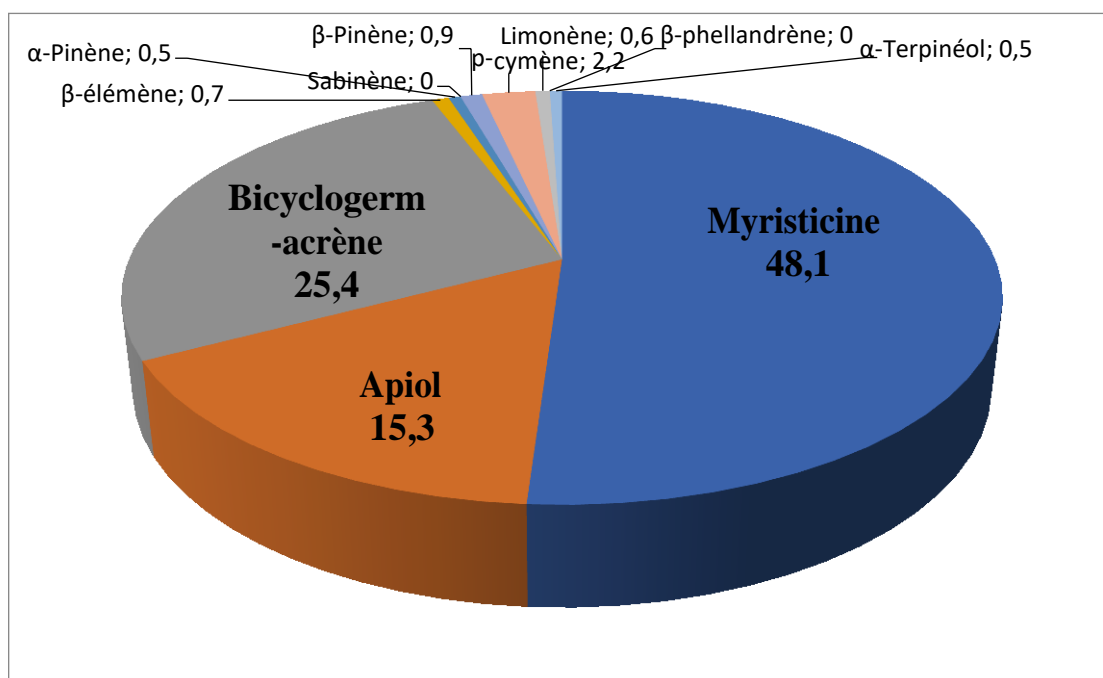
IR : Indices de rétention calculés sur colonne apolaire (a) et sur colonne polaire(p).

Les abondances sont données sur colonne apolaire. TR : temps de rétention ; tr : trace < 0,1%

Le rendement en huile essentielle de la partie aérienne d'*A. sicala* est de l'ordre de 0,9-1,0 % (P P) avec une odeur aromatique et une couleur jaune clair. Ce rendement est comparable avec celui obtenu par **Lamamra [1]** qui est de 1,1%, par contre **Camarda et al.**, ont obtenu des rendements faibles en HE des fruits et des feuilles de la même espèce 0,37% et 0,28% respectivement.

Cette différence des rendements en huile peut être attribuée à plusieurs facteurs comme l'origine du matériel végétal, le stade phénologique, le moment de récolte, le mode de conservation de la plante, la technique d'extraction, .....etc [53, 54, 55, 56].

L'utilisation des indices de rétention de Kovats et le couplage CPG/SM nous a permis d'identifier 11 composants chimiques représentant 94,2% d'huile essentielle. Les constituants majoritaires identifiés sont des dérivés de phénylpropanoïdes dont la myristicine (48,1%), l'apiol (15,3%) et un sesquiterpène hydrocarboné le bicyclogermacrène (25,4%). Par contre la fraction monoterpène hydrocarbonée est faiblement présente (4,2%) (**fig. 9**).



**Figure 9:** Distribution en fonction du pourcentage des différents composants existant dans l'HE d'*A. sicala* L.

En comparant nos résultats avec les travaux d'**EL ouadi**, nous remarquons que notre espèce récoltée à Tlemcen est plus riche en myristicine (48,1%) que celle d'origine constantinoise (Algérie) avec un pourcentage de 23,43% [11]. Le même produit majoritaire (myristicine) a été trouvé dans les feuilles et les fleurs d'*A. sicula* d'origine italienne avec un pourcentage de 97,6 % et 41,3% respectivement [9].

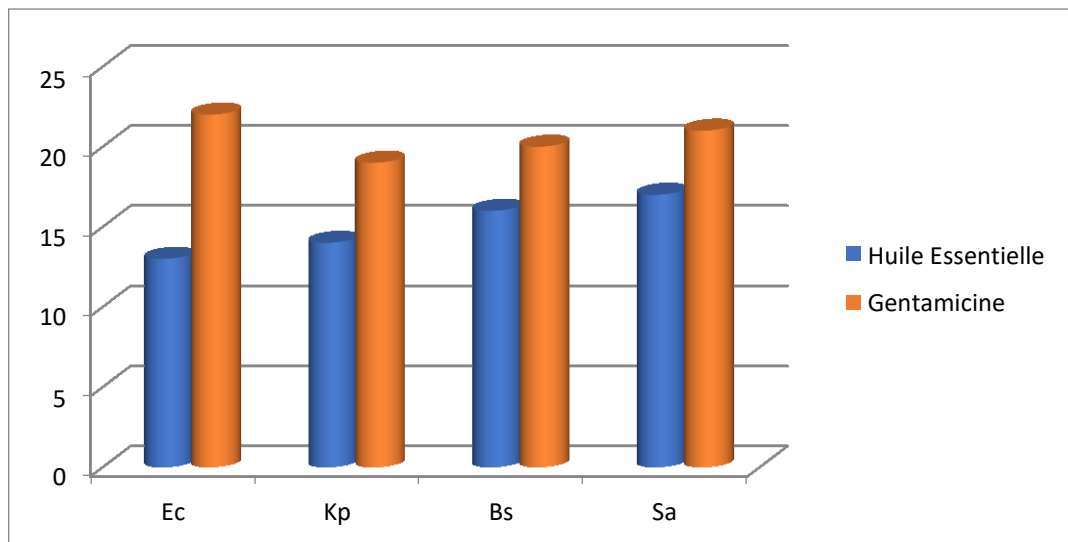
Par contre l'HE de la même espèce récoltée à Constantine en 2012 par **Labed et al.**, contient le Germacrène B comme composé majoritaire (88,5%) [10]. Alors qu'un échantillon récolté à Bejaia a fourni une HE riche en apiol avec un pourcentage de 56,8% [1]. Aussi, l'HE des tiges, feuilles, et fleurs d'*A. sicula* d'origine italienne est riche en apiol avec des pourcentages de 85.2%, 80.41%, et 87.8% respectivement [2].

### II.3. Résultat de l'activité antibactérienne par la méthode de Vincent

Les résultats de l'activité antimicrobienne sont présentés dans le **Tableau 4** et illustré graphiquement par la **fig.10**.

**Tableau 4** : Diamètres d'inhibitions en mm de l'HE et de la Gentamicine (GEN)

<b>Souches</b>	<b>HE et GEN</b>	<b>HE (10µl)</b>	<b>GEN (15µg)</b>
<i>Escherichia coli</i> <b>ATCC 25922 (Ec)</b>		13	22
<i>Klebsiella pneumoniae</i> <b>ATCC 70603 (Kp)</b>		14	19
<i>Bacillus subtilis</i> <b>ATCC 6633 (Bs)</b>		16	20
<i>Staphylococcus aureus</i> <b>25923 (Sa)</b>		17	21



**Figure 10** : Représentation graphique du diamètre d'inhibition en mm vis-à-vis des bactéries testées de l'HE d'*A. sicula* (tiges et feuilles) et de la Gentamicine

Selon les résultats renseignés dans le **Tableau 4** et illustrés graphiquement par la **figure 10**, on observe de faibles écarts dans les diamètres des zones d'inhibition allant de 13 à 17 mm pour un volume de 10  $\mu$ L d'HE. Comparer à l'antibiotique gentamicine, l'HE d'*A. sicula* exerce une légère activité sur les souches testées. De point de vue sensibilité des souches à l'HE et au regard de l'échelle proposé par **Ponse** [52], les souches, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (Bs) et *Staphylococcus aureus* 25923 (Sa) sont très sensibles à l'HE d'*A. sicula* avec 16 mm et 17 mm respectivement. Par contre, les souches *Escherichia coli* ATCC 25922 (Ec), et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 (Kp) sont moins sensibles à l'HE soit 13 mm et 14 mm respectivement.

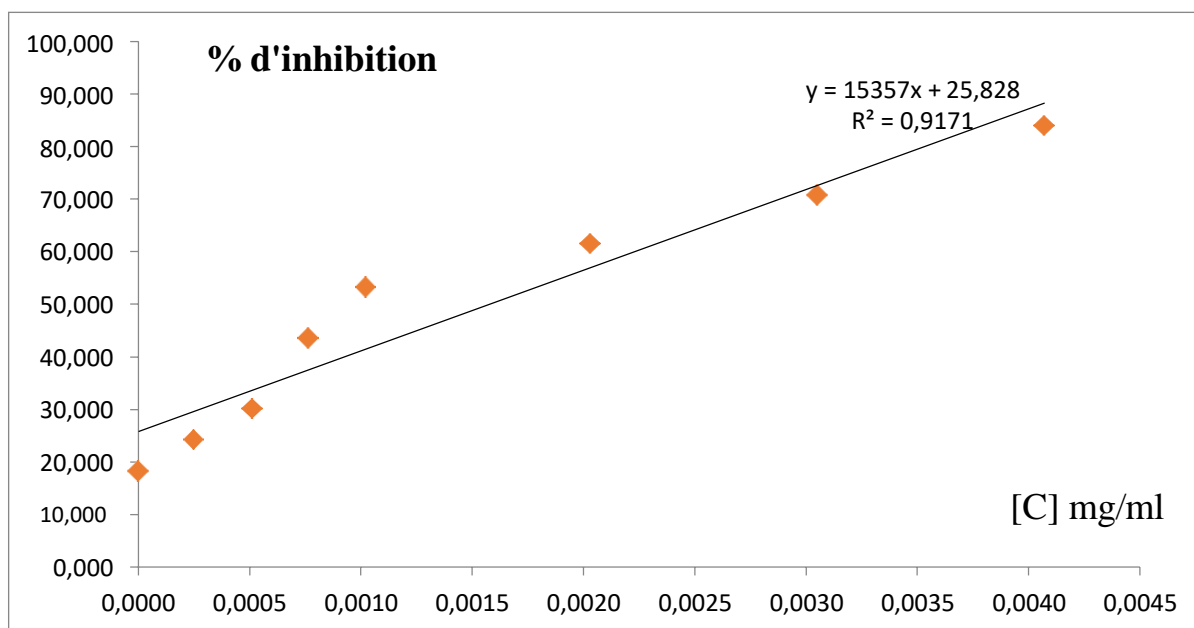
**Lamamra** dans son travail de magister rapporte que l'HE d'*A. sicula* récoltée à Béjaia est dépourvue d'activité contre les bactéries : *Pseudomonaea aeruginosa* ATCC 27853, *Staphiloccocus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 [1]. Par contre les tests antibactériens de l'HE d'*A. sicula* d'origine constantinoise ont montré des diamètres de zones d'inhibitions supérieurs aux diamètres trouvés soit 18-20 mm [10]. Cette différence d'activité de l'huile peut être expliquée par la nature des composés de l'huile essentielle. En effet, l'absence de groupes fonctionnels et le manque d'action synergique entre les composés peuvent expliquer l'inactivité de l'HE [57]. **Duke,**

**Stefano et al.**, rapportent que la myristicine et l'apiol sont dépourvus d'activités antibactériennes [58, 12].

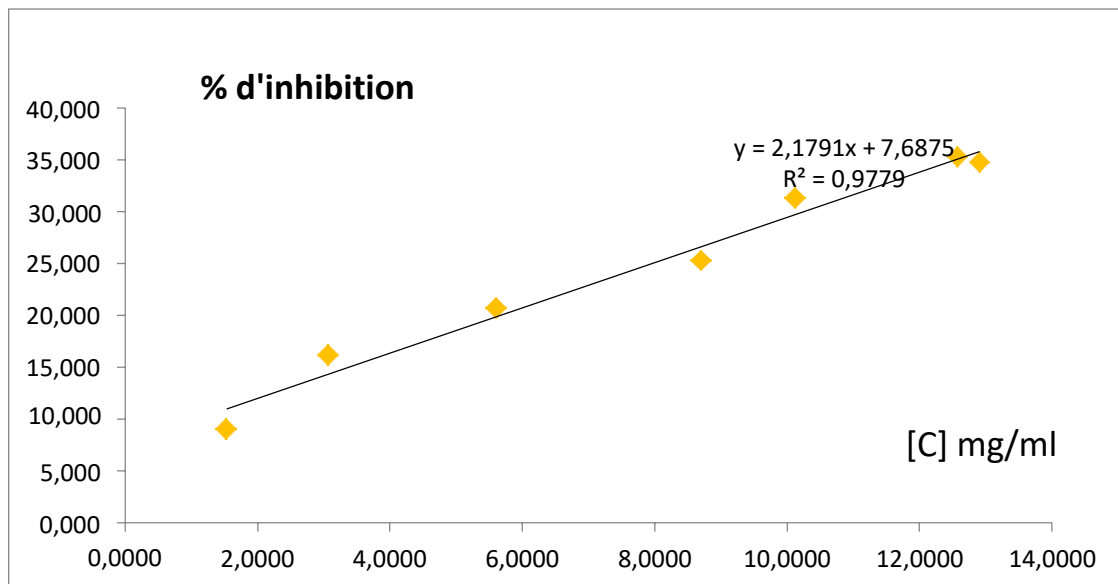
Notre HE s'est montrée active sur les bactéries Gram positif testées, ceci peut s'expliquer par la présence du bicyclogermacrène (un dérivé du Germacrène B) actif sur les bactéries Gram négatif et gram positif [10].

#### **II.4. Résultat du pouvoir antiradicalaire par la méthode du piégeage de radical libre DPPH**

Les résultats du pouvoir antiradicalaire au DPPH en fonction des concentrations d'HE et de BHT sont présentés par les **figures 11** et **12**.



**Figure 11:** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de BHT



**Figure 12:** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations d'HE d'*A. sicula*

D'après les figures ci-dessus, nous observons que le pourcentage d'inhibition d'absorbance du DPPH en présence de l'huile essentielle d'*Athamanta sicula* à différentes concentrations est très faible soit 37,7% à la concentration de 13 mg/ml. La détermination de son  $IC_{50}$  était impossible. Par contre le  $IC_{50}$  de BHT était expressive soit 0,00157 mg/ml.

Le même résultat a été obtenu par **Lamamra**, l'HE d'*A. sicula* possède un pourcentage d'inhibition d'environ 33% à la concentration de 10 mg/ml [1].

## Conclusion générale

Les plantes médicinales et aromatiques représentent un potentiel très important pour la découverte et l'isolement de différentes substances actives à divers propriétés biologiques qui sont utilisées depuis longtemps pour le traitement des maladies infectieuses et la conservation des aliments.

Les objectifs assignés à ce travail visent un examen phytochimique de l'espèce *A. sicula* et l'évaluation du pouvoir antibactérienne et antiradicalaire de son huile essentielle.

Les résultats du criblage phytochimique ont révélés que :

- La plante d'*A. sicula* L. est riche en huile essentielle, en flavonoïdes et en tanins,
- L'extraction d'huile essentielle par hydrodistillation à donner un rendement d'environ 1% (P/P),

L'analyse de l'HE par CPG/Ir et CPG-SM a montré que l'huile est riche en phénylpropanoïdes notamment en myristicine (48,1%) et en apiol (15,3%) et en un dérivé sesquiterpénique le bicyclogermacrène (25,4%).

L'huile essentielle d'*A. sicula* s'est montrée très active sur les bactéries Gram positif alors que les bactéries Gram négatif étaient résistantes. Quant au pouvoir antiradicalaire, l'HE possède un pouvoir d'inhibition au DPPH très faible comparé au BHT.

Ce modeste travail n'est qu'une ébauche sur l'étude de cette plante et nous souhaitons comme perspectives d'approfondir son étude (stade florale) pour la mise en évidence d'autres métabolites et d'autres propriétés biologiques.

## Références bibliographiques

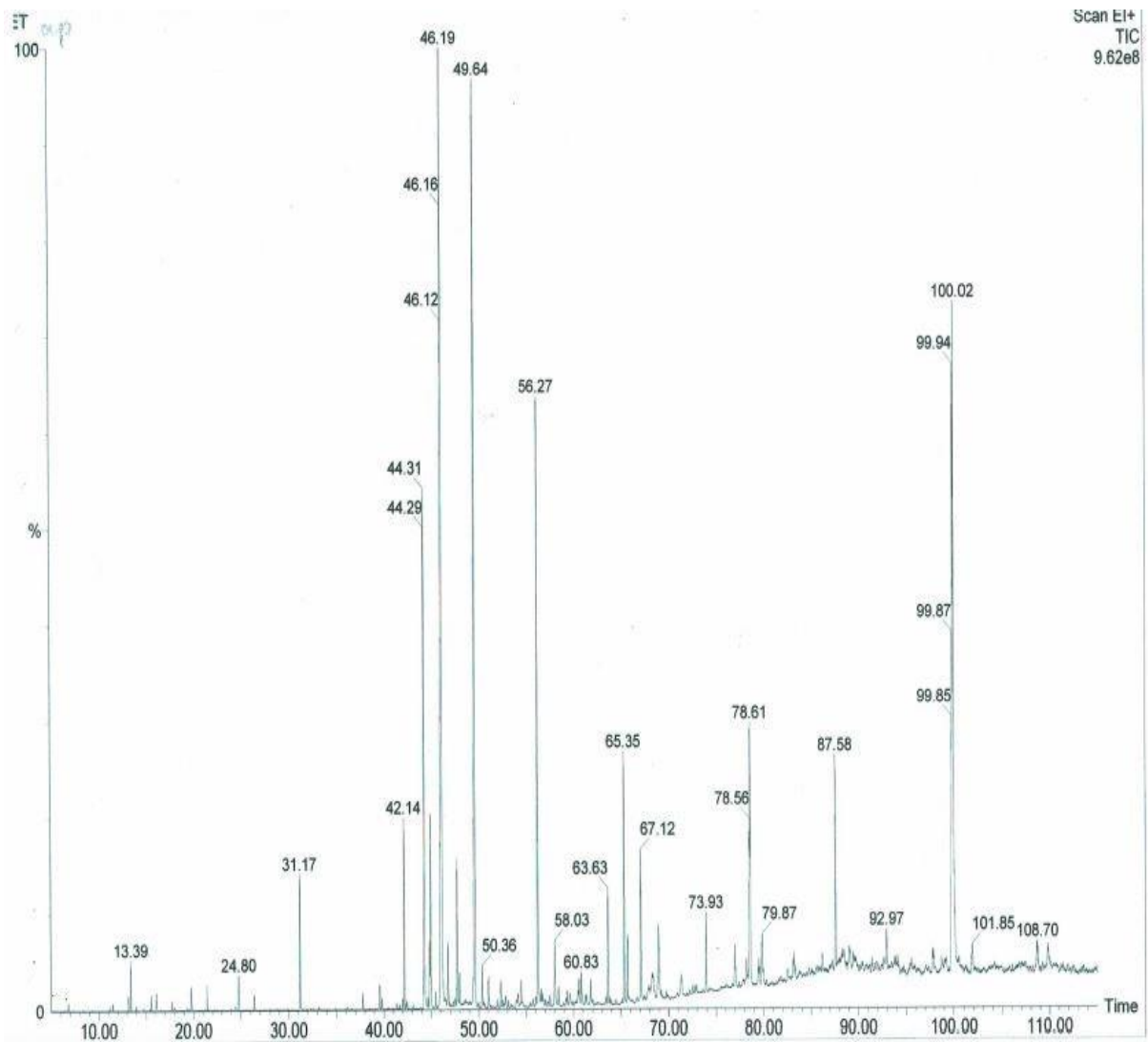
- [1] M. Lamamra, Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Magister, université FERHAT Abbas, Sétif, 2018.
- [2] L. Camarda, V. Di Stefano, et R. Pitonzo, Chemical composition of essential oils from *Athamanta sicula*. *Chemistry of Natural compounds*, vol. 44, no 4, p. 532–533, 2008
- [3] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Athamanta>
- [4] [www. E-flora Maghreb.org/specie/154304](http://www.E-flora-Maghreb.org/specie/154304), 2020.
- [5] P. Quézel et S. Santa, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Éditions du Centre national de la Recherche scientifique, 1962.
- [6] J. Bellakhder, « pharmacopée traditionnelle du maroc », 2018.
- [7] B. Medjahdi, 000, 8.1.2007, Oued Honiane , falaise ombragées – TLM
- [8] P. Fournier, Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. Tome I, Ed. Lechevalier. Paris, 1947.
- [9] L. Camarda et V. Di Stefano, « Essential oil of leaves and fruits of *Athamanta sicula* L.(Apiaceae) », *Journal of Essential Oil Research*, vol. 15, no 2, p. 133–134, 2003.
- [10] I. Labeled et al., « Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Athamanta sicula* L.(Apiaceae) from Algeria », *Journal of Chemistry*, vol. 9, no 2, p. 796–800, 2012.
- [11] Y. El ouadi Y., Bouratoua A., Bouyenger A., Kabouche Z., « Effect of *Athamanta sicula* oil on inhibition of mild steel corrosion in 1M HCl », Morocco, 2015, 7 (2):103-111.
- [12] Di Stefano, Vita, Rosa Pitonzo, et Domenico Schillaci. « Antimicrobial and antiproliferative activity of *Athamanta sicula* L.(Apiaceae) ». *Pharmacognosy magazine* 7, no 25, 2011.
- [13] A.Gadenne, « Bien choisir ses huiles essentielles, journal : plante et santé »,OJD :34576, Jan 2017.
- [14] J. Bruneton - Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris,1999.
- [15] S. Akroum., « Etude analytique et biologiques des flavonoïdes naturels », Thèse, Université Mentouri de Constantin, 2011.
- [16] A. Bouratoua, « Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques des espèces algériennes *Athamanta sicula* L. et *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier et Maury (Apiaceae) », Thèse 2018.
- [17] Bey –Ould Si Said, « Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus* » thèse, Béjaïa, Algérie, 2014.

- [18] K. Ulanowska, Traczyk A, Konopa G, Wegrzym G. Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. Arch. Microbiol. 2006, 184 (5): 271-8.
- [19] A. Basile, Giordano S, Lopez Saez JA, Cobianchi BC. Antibacterial activity of pure flavonoïds isolated from mosses. Phytochem. 1999, 2 (8): 1419-82.
- [20] M. Fethoun, R. Saheb, « Evaluation de l'activité antioxydant de différents extraits de *Foeniculum vulgare* », université A.MIRA, Béjaia, 2015
- [21] A. Favier – Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 108-115, 2003.
- [22] G. Vansant, Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone, 2004.
- [23] J.P. Curtay et J.M. Robin, intérêt des complexes antioxydants. Nutrithérapie Info. Centre d'étude et de développement de la nutrithérapie, 2000.
- [24] P. C. Braga Dal Sasso M., Culici M., GaSastri L., Marceca M. X. and Guffanti E. E. Antioxidant Potential of Thymol Determined by Chemiluminescence Inhibition in Human Neutrophils and Cell-Free Systems. Pharmacology. 76 (2): 61-68, 2006.
- [25] R. Kohen and A. Nyska, Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants Redox Reactions and Methods for their Quantification. Toxicol Pathol. 30 (6): 620-650, 2002.
- [26] « Centre de développement de l'in vitro, polyphénols-antioxydants, mesure de la capacité antioxydante », Institut de Botanique (B22), Liège Université, N°entreprise : BE 0429 047 92.
- [27] J. Grysole - La commercialisation des huiles essentielles. Manuel pratique des huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 139-14, 2004.
- [28] B. Halliwell, Antioxydants: The Basics – What they are and how to evaluate them. Adv Pharmacol. 38 (0): 3-20, 1997.
- [29] M. Didrak, Antimicrobial activities of the extracts of various plants (Valex, Mimosa bark, Gallnut powders, Salvia sp and Phlomis sp). J. Biol. 1999, 23: 241-8.
- [30] J. VALNET., Aromathérapie « traitement des maladies par les essences de plantes ». Ed. Maloine S.A, Paris, 1984.
- [31] P. Belaiche, Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme, 1979.
- [32] A. Hadj Moussa, Contribution à l'étude in vitro de l'effet des extraits de feuilles de *Retama raetam* sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase, Université Abou bekr belkaid, Tlemcen, Algérie, 2012.
- [33] Y. Karumi, P.A. Onyeyili, V.O. Ogugb uaja, Identification of active principales of balsamina (Balsam apple) leaf extract. J. Med. Scien. 4: 179-182, 2004.

- [34] E. Trease et W.C. Evans, *Pharmacognosie*, Billiaire Tindall. London 13th ed., 1987
- [35] J. L. Guignard, *Abrégé de botanique*, 2ème Edition. Paris: Masson, 1979
- [36] J. Memelink, R. Verpoorte, et J. W. Kijne, « ORCANization of jasmonate-responsive gene expression in alkaloid metabolism », *Trends Plant Sci.*, vol. 6, no 5, p. 212-219, mai 2001.
- [37] W. C. Evans, D. Evans, et G. E. Trease, and Evans *pharmacognosy*. Edinburgh; New York: Saunders/Elsevier, 2009
- [38] J. Bruneton, *h g i hy hi i i i .* Paris; Cachan: d. Tec doc ; d. médicales internationales, 2009.
- [39] J. G. R. TM Upson, « Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. », *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 28, no 10, p. 991-1007, 2001.
- [40] C. Sanchez-Moreno' et J. A. Larrauri, « Principales metodos para la determinacion de la oxidacion lipidica Main methods used in lipid oxidation determination », *Food Sci. Technol. Int.*, vol. 4, no 6, p. 391-399, 1998.
- [41] R. M. Samarth, M. Panwar, M. Kumar, A. Soni, M. Kumar, et A. Kumar, « Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extracts », *Food Chem.*, vol. 106, no 2, p. 868-873, janv. 2008.
- [42] J. Hubert, « Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja : étude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines », phd, 2006.
- [43] G. K. Nikonov, N. E. Ermatov, and S. B. Davidyants, *Dokl. Akad. Nauk Tadzh. SSR*, 8, 22 (1965).
- [44] O. Halpern, P. Waser, and H. Schmid, *Helv. Chim. Acta*, 40, 758 (1957).
- [45] Kh. M. Kamilov and G. K. Nikonov, *Khim. Prir. Soedin.*, 663 (1971).
- [46] A. Tomic, S. Petrovic, M. Pucarevic, S. Sobajic, M. Ristic, and M. Niketic, *Chem. Nat. Comp.*, 42, 391 (2006).
- [47] R.R Paris., H. Moyse. *Matière Médicale*. Tome I. 2eme Ed : Masson, Paris. 406 p, 1976.
- [48] A. Bouquet,. *Plantes Médicinales du Congo Brazzaville*. Ed: O.R.S.T.O.M, 1972.
- [49] M. Debray, H. Jacquemin, R. Razafindrambo. *Travaux et documents de Précis de matière médicale, pharmacognosie spéciale dicotylédones (tome III)*. Pp 32-52, 1971.
- [50] Clsi . "Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically." *Clinical and Laboratory Standards Institute* 26(2) 2006.
- [51] M. Jacob J. Pelleueur et R. Tomeri. Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique, *Rivisa Italiana EPPOS*. 11, 26-30, 1979.
- [52] A. Ponce , R. Fritz ,C. Del Valle et S.I Roura. "Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard." *LWT -Food Sci. Technol.* 36(7): 679–684, 2003.

- [53] M. Khajeh, Y. Yamini, F. Sefidkon, and N. Bahramifar - Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, 86:587-591, (2004).
- [54] M. Khajeh, Y. Yamini, N. Bahramifar, F. Sefidkon . and Pirmoradei M.R. - Comparison of essential oil composition of *Ferula assafoetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrosistillation methods. *Food Chemistry*, 91:639-644, 2005.
- [55] A.M. Viljoen, B. Denirci , K.H.C. Baser, Potgieter C.J. and Edwards T.J. - Micro distillation and essential oil chemistry- a useful tool for detecting hybridisation in *Plectranthus* (lamiaceae). *South African Journal of Botany*, 72:99-104, 2006.
- [56] F. Sefidkon, K. Abbasi, Z. Jamzad and S. Ahmadi – The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* jamzad. *Food chemistry*, 100: 1054-1058, 2007.
- [57] M. Oussalah, S. Caillet , Saucier L. and Lacroix M. – Antimicrobial activity of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Science* 73: 236-244. 2006.
- [58] J. Duke – Phytochemical and ethnobotanical database. USDA-ARS- NGRI, Beltsville Agricultural research center ([grin.gov/duke/](http://grin.gov/duke/)) 2009.

## Annexe 1



**Figure 8** : Profil chromatographique de l'huile essentielle d'*A. sicula* (tiges+feuilles) récoltée à Beniboublène, Mars 2020