

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement

وزارة التعليم و البحث العلمي

Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri

جامعة مولود معمري

Faculté de médecine

كلية الطب

Tizi-Ouzou

تيزي وزو

Département de Pharmacie

قسم الصيدلة



ⵜⴰⴳⴷⴰⵢⵜ ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵢⵜ ⵜⴰⵖⵔⴰⵢⵜ ⵜⴰⵙⵓⵔⴰⵢⵜ ⵜⴰⵖⵔⴰⵢⵜ ⵜⴰⵙⵓⵔⴰⵢⵜ

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

N° D'ORDRE : /FM/DP/2021

En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'HUILE
ESSENTIELLE EXTRAITE DE *Bupleurum spinosum* L.

Réalisé par :

CHAIBET Dalila

HAMEDOUNE Chahrazade

CHERFIOUI Nabila

SELMANE Rima

Encadré par :

Dr DAHMOUNE Amina

Membres du jury :

Dr. MOKRANI

MAHU

Faculté de Médecine

UMMTO

Président du
jury

Dr.DAHMOUNE

MAHU

Faculté de Médecine

UMMTO

Promotrice

Dr. LOUADJ

Enseignant

Faculté de Médecine

UMMTO

Examineur

Année : 2020 / 2021

Dédicaces

Je dédie ce travail,

A mes chers parents

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A mes frères, mes sœurs et ma belle-sœur qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

A mon neveu Rahim et ma chère nièce Lyna que Dieu vous protège.

A tous mes amis (es) et à tous ceux que j'ai connus qui m'ont aidée et soutenue.

DALILA CHAIBET



Dédicaces

Je dédie ce travail de fin d'études,

♦ *A mes chers parents*

Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de vos sacrifices, de l'amour et de l'affection dont vous n'avez jamais cessé de m'entourer tout au long de ces années d'étude. J'espère que vous trouviez dans ce travail un vrai témoignage de mon profond amour éternel reconnaissance.

♦ *A ma chère famille*

Mes chères sœurs : Fadhila, Djamila, Sabeh, Farida, Fatma, Salîha, Naima et leurs maris.

Mes chers frères : Lounis, Syad et sa femme Fatma, Ahmed et sa femme Sabiha ; qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir. Que Dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.

Mes adorables neveux et nièces : Morad, Massinissa, Moh Said, Amine, Abd Eraouf, Meriem, Younes, Hamza, Khadidja, Rayan, Med Yani, Sara, Akşel, Mohammed et Yacine ma source de joie et de bonheur.

A mes grands-parents, mes oncles et mes tantes. Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

♦ *A mes chères amies*

Chahra, Meriem, Malika, Fella et Dalila ; ma source de soutien moral, de joie et de bonheur ; et à qui je souhaite plus de succès.

♦ *A toute la famille Cherfioui.*

♦ *A vous chers lecteurs.*

NABILA CHERFIOUI



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail,

A mes merveilleux parents Karim et Yamina, qui m'ont toujours encouragé, sans eux je n'aurai pas pu être ce que je suis, par leurs sacrifices, leurs soutiens et leurs précieux conseils durant toute ma vie. Que Dieu vous bénisse et vous garde en bonne santé et à nos côtés longtemps encore.

A mon adorable sœur Nassima qui m'a toujours soutenue et son petit-fils Ilyan qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille, que Dieu vous protège où que vous soyez.

A ma petite sœur Sabiha, félicitations pour ta réussite au baccalauréat, je te souhaite beaucoup de succès dans ton cursus.

A mon cher frère Amine et sa femme Lydia, je vous remercie pour les sacrifices et efforts que vous avez fournis à mon égard, pour vos encouragements qui m'ont été d'un grand soutien.

A mes chers oncles Idir, Rabah et sa femme Sihem et mes tantes Nawel, Fatiha, Ouiza et Samia.

A mes adorables grands-mères Tassadit et Zhira, et à mon grand-père Ali, je vous remercie pour votre soutien moral, vos conseils précieux et votre compréhension.

A la mémoire de mon grand-père Amar ; puisse Dieu l'accueillir dans son vaste paradis.

A mes meilleures amies, Nabila, Malika, Meriem, Rima, Fella, Dalila, Linda, Sihem et Sophie.

A tous ceux que j'aime et que je respecte.

CHAHRAZADE HAMEDOUNE



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail,

A ma chère mère et mon père, que Dieu vous protège et vous garde et vous accorde une longue vie.

A mes deux sœurs Razika, Melissa et mes deux frères Meziane et Mohamed.

A toute ma grande famille.

A la mémoire de mon grand-père, puisse Dieu l'accueillir dans son vaste paradis.

A ma grand-mère et ma tante que Dieu vous protège et vous garde.

A mes amis(es).

A tous ceux qui me sont chère et que j'ai omis de citer.

RIMA SELMANE



Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier le Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné la santé, le bénévolat et la volonté pour achever ce modeste travail.

*A notre promotrice **Dr DAHMOUNE. A** Maître assistante en Botanique Médicale au département de Pharmacie de Tizi-Ouzou, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, sa patience, sa gentillesse, ses orientations, ses encouragements, et ses précieux conseils.*

*Au **Dr MOKRANI. B** Maître-Assistant en Botanique Médicale au département de Pharmacie de Tizi-Ouzou, pour son aide précieuse et toutes les notions enrichissantes, ainsi d'avoir accepté de présider le jury.*

*Au **Dr LOUADJ. L** responsable du module de pharmacognosie au département de Pharmacie de Tizi-Ouzou de nous avoir honorés de leur présence et d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Au **Pr MAMOU. M** Chef de département de Pharmacie de Tizi-Ouzou, qui a mis à notre disposition le matériel nécessaire pour le bon déroulement de notre étude.*

*Au **Dr DJEBBAR** Résidente en Microbiologie Médicale au CHU de Tizi-Ouzou, qui nous a aidées au cours de notre étude sur l'activité antibactérienne.*

*A **Dr CHERBAL** et Mr **THIGHIRINE** pour leurs informations et leurs innombrables conseils.*

*A **M^{me} BOUAMRA** Ingénieure du laboratoire de Botanique Médicale au département de Pharmacie de Tizi-Ouzou, pour ses encouragements et sa disponibilité.*

Nos remercions profondément, tous les enseignants du département de Pharmacie de la faculté de médecine de Tizi-Ouzou qui ont participé à notre formation, ainsi à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS.....	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES FIGURES.....	xiii
 INTRODUCTION.....	 1
OBJECTIFS.....	3
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : PHYTOTHERAPIE	
1. Définition de la phytothérapie.....	4
2. Types de phytothérapie	4
2.1. Gemmothérapie	4
2.2. Homéopathie.....	4
2.3. Aromathérapie	5
3. Plantes médicinales	6
4. Composés chimique des plantes médicinales	7
 CHAPITRE II: LES HUILES ESSENTIELLES	
1. Définition des huiles essentielles	11
2. La différence entre une huile essentielle et une huile grasse	11
3. Répartition des huiles essentielles dans le règne végétal	12
4. Localisation des huiles essentielles dans la plante	12
5. Stockage des huiles essentielles	12
6. Composition chimique des huiles essentielles	13
6.1. Terpénoïdes	13
6.2. Composés aromatiques	14
6.3. Composés d'origine divers	14
7. Méthodes d'extraction	14
7.1. Méthodes conventionnelles d'extraction.....	15
7.2. Méthodes innovantes d'extraction.....	19

8. Caractérisation des huiles essentielles.....	19
9. Propriétés des huiles essentielles	21
10. Conservation des huiles essentielles	26
11. Utilisations des huiles essentielles	27
12. Domaines d'application des huiles essentielles	27
13. Critères de qualité des huiles essentielle.....	29
14. Toxicité des huiles essentielles	32
15. Précaution d'emplois.....	33

CHAPITRE III: ÉTUDE BOTANIQUE

1. Famille des Apiacées	35
1.1. Généralités	35
1.2. Description botanique.....	35
1.3. Distribution géographique	36
1.4. Intérêt économique et thérapeutique.....	37
2. Genre <i>Bupleurum</i>	38
2.1. Distribution géographique	38
2.2. Description botanique.....	39
2.3. Utilisation en médecine traditionnelle	39
3. Etude botanique de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	40
3.1. Dénomination	40
3.2. Origine terminologique.....	40
3.3. Description botanique.....	40
3.4. Distribution géographique	41

CHAPITRE IV: ÉTUDES ANTÉRIEURES

1. Composition chimique du genre <i>Bupleurum</i>.....	42
2. Activités pharmacologique de quelques composés isolés du genre <i>Bupleurum</i>.....	46
3. Composition chimique de <i>Bupleurum spinosum</i> L.....	50
4. Activité antioxydante	51

4.1. Stress oxydant.....	51
4.2. Antioxydants.....	52
4.3. Types des systèmes antioxydants	52
4.4. Activité antioxydante des huiles essentielles.....	54
4.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	56
5. Activité antibactérienne	58
5.1. Résistance bactérienne aux antibiotiques	58
5.2. Définition de la résistance aux antibiotiques.....	58
5.3. Types des résistances aux antibiotiques	58
5.4. Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	59

PARTIE EXPÉRIMENTALE

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. CADRE D'ETUDE.....	63
II. MATÉRIELS	63
1. Appareillages et équipement.....	63
2. Produits	64
3. Matériel biologique.....	65
3.1. Matériel végétal	65
3.2. Microorganismes	65
III. METHODES.....	65
1. Etude botanique de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	65
2. Etude histo-anatomique de <i>Bupleurum spinosum</i> L	66
3. Etude microscopique de la poudre de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	70
4. Etude de l'huile essentielle de <i>Bupleurum spinosum</i> L.....	71
5. Analyses biologiques de l'huile essentielle extraite	74
5.1. Evaluation de l'activité antioxydante	75
5.2. Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne : Aromatogramme	80

RÉSULTATS

1. Etude botanique de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	87
---	----

2. Etude histo-anatomique de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	91
3. Etude microscopique de la poudre de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	96
4. Etude de l'huile essentielle de <i>Bupleurum spinosum</i> L.....	97
5. Analyses biologiques de l'huile essentielle extraite.....	97
5.1. Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle	97
5.2. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle.....	102
DISCUSSION	
1. Etude botanique de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	105
2. Etude histo-anatomique de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	105
3. Etude microscopique de la poudre de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	105
4. Rendement de l'huile essentielle de <i>Bupleurum spinosum</i> L.....	105
5. Analyse des activités biologiques de l'huile essentielle de <i>Bupleurum spinosum</i> L...	107
5.1. Evaluation de l'activité antioxydante	107
5.2. Evaluation de l'activité antibactérienne	107
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	110
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

LISTE DES ABRÉVIATIONS

[C] : concentration

°C: degré Celsius

μl : microlitre

μM :micro Molaire

A : Absorbance

Acétyl CoA : Acétyl Co-enzyme A

ADA : Association Dentaire Américaine

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

ADP : Adénosine Di Phosphate

AFNOR : Agence Française de Normalisation

APG : Angiosperm Phylogeny Group

ATCC: American Type Culture Collection

B.spinosum : *Bupleurum spinosum*

BHA : Butyl Hydroxynisole Acid

BHT : Butyl Hydroxy Toluene

CCl₄ : Tétrachlorure de méthane

COX-1 : Cyclooxygénase 1

CUH : Centre Hospitalier Universitaire

D : Densité Relative

DPPH : 2,2-diphényl-1- picryl hydrazyl

ERO : Espèces Réactive d'Oxygène

g: gramme

G: Grossissement

HAT: Hydrogen Atom Transfer

HBV : Hepatite B Virus

HCV : Hepatite C Virus

HE : Huile Essentielle

HETE : Acide 5-Hydroxy Eicosa Tétranoïque

HPV : Humain Papilloma Virus

HSV : Virus Herpès Simplex

IC50 : Concentration Inhibitrice médiane

IFN : Interféron

IL-10 : Interleukine 10

IL-2 : Interleukine 2

ISO: International Organisation for Standardization

LISTE DES ABRÉVIATIONS

KD: kilo Dalton
5LOX : Arachidonate-5-lipoxygénase
mg : milligramme
min : minute
ml : millilitre
mm : millimètre
MTT : Méthode de numération des cellules vivantes
NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NF : Norme Française
NMDA : Acide N-méthyle D-Aspartique
NT : Non Testé
OGM : Organisme Génétiquement Modifié
ORL : Oto-Rhino-Laryngologie
PAF : Platelets Activation Facteur plaquettaire
PGE2 : Prostaglandine E2
PM : Poids Moléculaire
R : Radical
R² : Coefficient de détermination
ROS : Reactive Oxygen Species
R-PE : R-phycoéthyne
SET : Singl Electron Transfer
SOD : Super Oxyde Dismutase
TNF : Tumor Necrosis Factor
TPA : Tetradécanoyl Phorbol Acétate
UMMTO : Universitaire Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou
VIH : Virus d'Immunodéficience Humaine

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Différentes propriétés thérapeutiques des huiles essentielles.	25
Tableau II: Répartition mondiale des genres d'Apiaceae.	37
Tableau III: Utilisation en médecine traditionnelle de quelques Apiaceae.	38
Tableau IV: Quelques saikosaponines isolés du genre <i>Bupleurum</i>	42
Tableau V: Quelques flavonoïdes isolés du genre <i>Bupleurum</i>	43
Tableau VI: Quelques lignanes isolés du genre <i>Bupleurum</i>	44
Tableau VII: Produits et milieux de cultures utilisés	64
Tableau VIII: Noms scientifiques et références des souches bactériennes utilisées.	81
Tableau IX: Absorbances de la solution méthanolique du DPPH	98
Tableau X: Valeurs des DO et du pourcentage d'inhibition du BHT en fonction des différentes concentrations.	100
Tableau XI: Valeurs des DO et du pourcentage d'inhibition de l'HE de <i>B. spinosum</i> en fonction des différentes concentrations.	101
Tableau XII: IC50 du BHT et de l'huile essentielle du <i>B. spinosum</i>	101
Tableau XIII: Résultats de l'aromatogramme d'huile essentielle pure de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	104
Tableau XIV: Rendement des autres genres de <i>Bupleurum</i>	106
Tableau XV: Comparaison entre les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE étudiée avec d'autres études	108

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Hydrodistillation simple.	15
Figure 2: Distillation à vapeur saturée.	16
Figure 3: Hydrodiffusion.....	17
Figure 4: Expression mécanique.	18
Figure 5: Inflorescence des Apiaceae.....	36
Figure 6: Répartition géographique mondiale des Apiaceae.....	36
Figure 7: Dessin représentant le <i>Bupleurum spinosum</i> L.....	41
Figure 8: Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.	52
Figure 9: Principales stratégies mises par les bactéries pour résister à l'action des antibiotiques..	59
Figure 10: Principaux sites d'action des huiles essentielles.....	60
Figure 11: Diagramme du travail expérimental.	63
Figure 12: Photographie du lieu de récolte de <i>Bupleurum spinosum</i> L. (village Tirourda)....	65
Figure 13: Loupe binoculaire.	66
Figure 14: Réalisation des coupes de <i>Bupleurum spinosum</i> L. au niveau de :.....	67
Figure 15: A- Coupes minces dans l'hypochlorite de sodium ; B - Coupes minces dans le Vert de méthyl.	68
Figure 16: A- Coupes minces dans le Rouge Congo ; B-Coupes après rinçage final.....	68
Figure 17: Coupes conservées dans l'eau et la Glycérine.	69
Figure 18: A- Coupes entre lame et lamelle; B- Microscope optique.....	69
Figure 19: Etapes de réalisation d'une lame pour l'observation microscopique de la poudre	70
Figure 20: Etapes préalables à l'extraction.....	71

LISTE DES FIGURES

Figure 21: Montage d'hydrodistillation manipulé (Clevenger)	72
Figure 22: Extraction de l'huile essentielle de <i>Bupleurum spinosum</i> L.....	73
Figure 23: Forme libre et réduite du DPPH.	75
Figure 24: Solution méthanolique du DPPH.....	76
Figure 25: Dilutions de la solution méthanolique du DPPH.....	77
Figure 26: A- Cuve du spectrophotomètre; B-. Spectrophotomètre d'absorption UV Visible	78
Figure 27: Principe de la diffusion sur disque.....	80
Figure 28: Ré-isolément des souches bactériennes.	82
Figure 29: Incubation des souches ré-isolées à l'étuve.	82
Figure 30: Préparation des suspensions bactériennes.....	83
Figure 31: Charge bactérienne mesurée à l'aide d'un densitomètre.	83
Figure 32: Ensemencement des souches bactériennes.	84
Figure 33: Dépôt des disques.	85
Figure 34: Dépôt de l'huile essentielle pure.....	85
Figure 35: Incubation des boîtes d'aromatogramme dans l'étuve.	86
Figure 36: Photographie de <i>Bupleurum spinosum</i> L. frais.....	87
Figure 37: A- Face intérieur de la feuille ; B- Face postérieur de la feuille.....	88
Figure 38: Diagramme et formule florale de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	89
Figure 39: Fleur de <i>Bupleurum spinosum</i> L. sous loupe binoculaire (vue de face).....	89
Figure 40: Ombellule de <i>Bupleurum spinosum</i> L. sous loupe binoculaire (Vue de profil)	90
Figure 41: Coupe longitudinale de l'appareil floral de <i>Bupleurum spinosum</i> L. sous loupe binoculaire	90

LISTE DES FIGURES

Figure 42: Coupe longitudinale de l’ovaire de <i>Bupleurum spinosum</i> L.....	91
Figure 43: Observation d’une coupe transversale de la racine de <i>Bupleurum spinosum</i> L. au microscope photonique (G 10X10).....	92
Figure 44: Observation d’une coupe transversale de la tige de <i>Bupleurum spinosum</i> L. au microscope photonique (G 10X40)	93
Figure 45: Observation d’une coupe transversale de la tige de <i>Bupleurum spinosum</i> L. au microscope photonique (G 10X40)	93
Figure 46: Observation d’une coupe transversale de la feuille de <i>Bupleurum spinosum</i> L. au microscope photonique (G 10X40)	95
Figure 47: Observation d’une coupe transversale de la feuille de <i>Bupleurum spinosum</i> L. au microscope photonique (G 10X40)	95
Figure 48: Observation de stomates anisocytiques (vue de face) au microscope photonique (G 10 X40).....	96
Figure 49: Photographie de l’aspect des vaisseaux au microscope photonique (G 10 X 40) A- vaisseau rayé ; B- vaisseau spiralé.	96
Figure 50: Huile essentielle de <i>Bupleurum spinosum</i> L.	97
Figure 51: Courbe des absorbances du DPPH en fonction des concentrations.....	98
Figure 52: Virage de coloration du BHT après réduction du DPPH.....	99
Figure 53: Virage de coloration de l’huile essentielle de <i>Bupleurum spinosum</i> L. après réduction du DPPH.....	99
Figure 54: Évolution des pourcentages d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations du BHT	100
Figure 55: Évolution des pourcentages d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l’HE de <i>B. spinosum</i>	101
Figure 56: Résultats de ré-isollement des souches bactériennes.....	102

LISTE DES FIGURES

Figure 57: Résultat de l'aromatogramme de <i>Staphylococcus aureus</i>	102
Figure 58: Résultat de l'aromatogramme d' <i>Escherichia coli</i>	103
Figure 59: Résultat de l'aromatogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	103
Figure 60: Histogramme en cylindres illustrant le rendement en huile essentielle du genre <i>Bupleurum</i>	106

A horizontal rectangular graphic with a marbled paper texture. The left and right edges are decorated with scroll-like folds. The word "INTRODUCTION" is centered in a bold, black, serif font.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes permettent à l'homme non seulement de se nourrir, se vêtir, se loger, se chauffer, se parfumer, mais aussi de maintenir son équilibre, soulager ses souffrances, préserver la santé et soigner les maladies qui nuisent à sa santé [1]. L'utilisation des plantes pour leurs vertus médicinales est une pratique très ancienne. Elle trouve ses origines dans les plus grandes civilisations de l'orient et de l'occident [2, 3].

Actuellement, l'utilisation des plantes représente un potentiel inestimable pour la recherche de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et/ou antioxydant. Ainsi les huiles essentielles, suscitent un intérêt croissant comme source potentielle de molécules naturelles bioactives pouvant être employées comme alternatives à certaines substances synthétiques [4].

La famille des Apiacées est l'une des familles de la flore Algérienne qui sont riches en métabolites secondaires tels que les huiles essentielles [5]. Le *Bupleurum* l'un des genres de cette famille ; occupe une place privilégiée dans la phytothérapie, grâce à ses propriétés médicinales et sa richesse en composés bioactifs.

Ce travail a pour but de valoriser l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. qui n'a pas encore fait l'objet d'une étude biologique, et d'étudier l'activité antioxydante et antibactérienne de cette huile essentielle.

Notre étude sera scindée en deux parties :

➤ Une partie théorique comprenant quatre chapitres. Le premier chapitre décrira le contexte global de la phytothérapie, l'aromathérapie et les composés actifs des plantes médicinales. Le second chapitre dressera une revue de littérature sur les huiles essentielles. Les procédés d'extraction, la composition et les propriétés biologiques et pharmacologiques des huiles essentielles y sont présentés. Le troisième chapitre concernera l'étude botanique de la famille des Apiacées, du genre *Bupleurum* et de l'espèce *Bupleurum spinosum* L. Des études antérieures sur la composition chimique, l'activité biologique du genre *Bupleurum*, de l'espèce *Bupleurum spinosum* L. et l'étude des activités : antioxydante et antibactérienne seront présentées dans le quatrième chapitre.

➤ Une partie expérimentale qui se déroulera selon deux axes :

Le premier axe illustrera le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail à savoir l'étude histo-anatomique de la plante, l'hydrodistillation, la caractérisation organoleptique et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle.

INTRODUCTION

Le deuxième axe sera consacré à la présentation des différents résultats obtenus et leur discussion par rapport aux références issues d'une recherche bibliographique.

Enfin, cette étude s'achèvera par une conclusion générale résumant l'ensemble des résultats obtenus et dégagant les principales perspectives futures.

OBJECTIFS

L'objectif de notre étude est de valoriser l'huile essentielle de la plante médicinale *Bupleurum spinosum* L. et de mettre en évidence son éventuelle activité antioxydante et antibactérienne.

Pour cela, nous avons choisi d'étudier les points suivants :

- + Etude des caractéristiques morphologiques et histo-anatomiques de *Bupleurum spinosum* L. ;
- + Extraction de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. ;
- + Détermination du rendement de l'huile extraite ;
- + Etude des caractéristiques organoleptiques de cette huile essentielle ;
- + Evaluation de ses activités biologiques dont :
 - L'activité antioxydante par le test de piégeage des radicaux libre DPPH ;
 - L'activité antibactérienne vis-à-vis de quelques souches bactériennes.



SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

A horizontal banner with a marbled pattern, featuring a scroll-like design on the left and right ends. The text is centered within the banner.

CHAPITRE I

PHYTOTHÉRAPIE

1. Définition de la phytothérapie

Du grec « phyton » signifie plante et « therapein » signifie soigner [6], c'est le traitement curatif ou préventif des maladies et des troubles subjectifs par l'utilisation de préparations obtenues à partir des plantes entières ou d'organes de plantes : feuilles, fleurs, racines, fruits et graines. Les plantes sont communément appelées plantes médicinales. La plante ou l'organe utilisé pour ses propriétés médicinales renferme une immense diversité des principes actifs [7].

2. Types de phytothérapie

2.1. Gemmothérapie

La gemmothérapie vient du grec « gemo » signifiant bourgeon, est une médecine qui utilise les bourgeons et plus particulièrement les tissus embryonnaires frais des plantes. C'est en effet dans le bourgeon qu'on trouve des groupes des cellules embryonnaires qui contiennent une grande quantité d'acides nucléiques et renferment des minéraux, oligoéléments, vitamines, enzymes...

La gemmothérapie appelée également phytoembryologie constitue une des nombreuses branches de la phytothérapie. La méthode de fabrication a été mise au point par Pol Henry (1960), fondateur de la phytoembryologie [8].

2.2. Homéopathie

En 1997, la commission d'étude sur l'homéopathie proposée par Bernard Glorion, président du Conseil national de l'ordre des médecins, conclut à la définition suivante :

Le terme homéopathie provient de deux termes grec « homion = analogue ou semblable », et « pathos = souffrance ou maladie ». L'homéopathie est une méthode thérapeutique basée sur le trépied conceptuel d'Hahnemann : similitude, globalité, infinitésimalité. Elle consiste à une administration à des doses très faibles ou infinitésimales des substances susceptibles de provoquer à des concentrations différentes chez l'homme en bonne santé (pathogénésie), des manifestations semblables aux symptômes présentés par le malade [9].

2.3. Aromathérapie

2.3.1. Définition

L'aromathérapie vient du grec « aroma » signifie odeur et de « therapeia » signifie soin. Il s'agit d'un art et d'une science qui utilise des huiles essentielles qui mettent les arômes et les bienfaits des plantes au service de la santé [10].

2.3.2. Histoire de l'aromathérapie

Il y a 40 000 ans, certaines civilisations Aborigène utilisaient déjà les feuilles de *Melaleuca alternifolia* (tea tree) dont l'huile essentielle (HE) est couramment utilisée à nos jours [11].

4 500 ans avant Jésus-Christ, c'est au tour des Egyptiens d'utiliser les HE. Cette civilisation est aujourd'hui considérée comme la créatrice de l'aromathérapie.

Un peu plus tard, vers l'an 4 000 avant Jésus-Christ, l'utilisation des HE arriva au Moyen-Orient pour soigner l'esprit avant la rencontre avec les dieux et de préparer une renaissance. Ils les utilisait également pour soigner les problèmes cutanés tels que les démangeaisons et les boutons [2].

Vers 3500 avant notre ère, fût découvert pour la première fois le procédé d'extraction des HE à partir de plantes infusées. Puis, les Perses seraient quant à eux les inventeurs de la distillation (1 000 ans avant notre ère) [11].

Vers l'an 300 avant Jésus-Christ, c'est Alexandre le Grand qui importera les HE de Grèce. A cette même époque, de nombreux ouvrages ont été rédigés : *Des aphorismes* par Hippocrate répertoriant 230 plantes ; *Histoire des plantes* par Théophraste expliquant les différentes utilisations des plantes médicinales.

Après la naissance de Jésus-Christ, à l'époque du Moyen-âge, c'est Paracelse, médecin Suisse qui a joué un rôle considérable dans l'histoire de la médecine, en revalorisant le pouvoir des HE.

C'est lors de la renaissance moyen-orientale qu'Avicenne produisit la première HE pure de *Rosa centifolia* (le rosier cent-feuille) avec l'invention du serpentín permettant le refroidissement rapide de la vapeur aromatique [2].

Le nom « aromaterii » donné aux apothicaires vers le XV^{ème} siècle donne une idée de la place occupée par les plantes aromatiques et leurs extraits dans la médecine à cette époque [11].

Une grande évolution dans le monde de l'aromathérapie a eu lieu le 25 juillet 1910 lorsqu'un prénommé René-Maurice Gattefossé se brûla à la tête et sur les mains lors de la réalisation d'une expérience dans son laboratoire, il plongea alors ses mains dans un seau rempli d'HE de lavande vraie et ressent alors un soulagement immédiat et une cicatrisation rapide apparaît. C'est à partir de cette expérience qu'il s'intéresse de plus en plus aux propriétés des HE d'un point de vue thérapeutique. René-Maurice Gattefossé est considéré comme le père de l'aromathérapie moderne. Son premier ouvrage, intitulé *Aromathérapie*, paraît en 1931, dans lequel il a décrit les relations structures-activité de chaque HE [2].

Ensuite, un prénommé Jean Valnet découvre les propriétés anti-infectieuses des huiles essentielles lors de la guerre d'Indochine, il publie un ouvrage en 1964 : *Aromathérapie : traitement des maladies par les essences des plantes* qui explique la posologie de chaque HE pour tels ou tels types d'affections.

De nos jours, l'aromathérapie est maintenant une pratique développée dans le monde entier [12].

3. Plantes médicinales

3.1. Définition

Selon la pharmacopée britannique 2013 : « Les plantes médicinales sont principalement des plantes entières, fragmentées ou brisées, des algues, des champignons ou des lichens, non transformés, généralement sous forme séchées mais parfois fraîches. Certains exsudats qui n'ont pas fait l'objet d'un traitement spécifique sont également considérés comme des plantes médicinales. Les médicaments à base de plantes sont précisément définis par le nom scientifique botanique selon le système binominal (genre, espèce, variété et auteur) » [13].

La pharmacopée française X^{ème} édition publié en 2019 donne une définition plus précise des plantes médicinales tout en admettant leur usage comme produits condimentaires, alimentaires ou hygiéniques « Sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses » [14].

3.2. Classification des plantes médicinales

Selon la réglementation Française, ces différentes plantes sont classées selon les deux listes suivantes :

- La liste A : plantes médicinales utilisées traditionnellement.
- La liste B : plantes médicinales utilisées traditionnellement en l'état ou sous forme de préparation dont les effets indésirables potentiels sont supérieurs aux bénéfices thérapeutiques attendus [14].

4. Composés chimiques des plantes médicinales

Les composants biochimiques sont naturellement présents dans les plantes de manière inégale et de nature déférente. Ils lui confèrent leurs activités thérapeutiques. On les classe en deux groupes :

- Métabolites primaires : les matériaux nécessaires à la vie végétale qui ne présentent qu'une activité pharmacologique de base (les glucides comme la cellulose, l'amidon et les lipides, les enzymes...)
- Métabolites secondaires ou spécialisés : les substances sont plus complexes. Parmi celles-ci on peut citer quelques grandes familles chimiques : les polyphénols, les terpénoïdes et les alcaloïdes.

Ce dernier groupe a également un intérêt pour la plante, en effet elles protègent des rayons du soleil, des oxydations et elles interviennent comme signaux d'échange avec son environnement [15].

4.1. Composés du métabolisme primaire

❖ Glucides

Les glucides sont des constituants universels des organismes vivants. Parfois ils sont appelés hydrates de carbone. Ce sont, en première approximation, des composés organiques carbonylés (aldéhydrique ou cétonique) polyhydroxylés. On englobe dans le groupe des glucides leurs dérivés d'oxydation ou de réduction (acides uroniques, polyols), leurs esters et leurs éthers, leurs dérivés aminés (osamines).

Chez les végétaux, on rencontre les glucides comme :

- Des éléments de soutien, participants à la structure de l'organisme (cellulose et autres polysaccharides pariétaux) ;
- Des réserves énergétiques, sous formes de polymères (par exemple l'amidon) qui stocke l'énergie solaire captée par le processus photosynthétique ;
- Des constituants de métabolites variés : acides nucléiques et coenzymes, mais aussi hétérosides multiples dont le rôle n'est que rarement connu ;
- Des précurseurs obligés de tous les autres métabolites : formés en premier au cours de la photosynthèse à partir de dioxyde de carbone et de l'eau, ils sont à la base de tous les composés organiques du monde vivant [4].

❖ **Lipides**

Les lipides sont des substances naturelles des esters d'acides gras et d'un alcool ou d'un polyol. Ils constituent des structures cellulaires comme les phospho- et les glycolipides membranaires, des éléments de revêtement comme les cires ou les cutines, ce sont aussi des substances de réserve et des sources d'énergie cellulaire.

Ils sont des substances hydrophobes et parfois amphiphiles, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires, non volatiles [4].

❖ **Protéines**

Les protéines constituées principalement d'acides aminés. Elles jouent un rôle fonctionnel (les enzymes) et un rôle dans la structure du végétal. Le rôle diététique des protéines végétales est loin d'être négligeable mais également leur utilisation en pharmacie aussi bien dans le domaine médicale ou industriel (chimique ou agroalimentaire) [4].

4.2. Composés du métabolisme secondaire

❖ **Alcaloïdes**

Les alcaloïdes initialement définis comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte. Ils ont une structure complexe : leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative.

Ils existent à l'état de sels, ils sont biosynthétiquement formés à partir d'un acide aminé. Ces éléments caractérisent ce que l'on peut appeler les alcaloïdes vrais [4].

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique ; ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés [4].

❖ Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits et parfois des feuilles. Ils sont très largement répandus dans le règne végétal et on les trouve en abondance dans les organes jeunes : feuilles et boutons floraux.

Les flavonoïdes dérivent tous de la flavone (ou 2-phénylchromone) et existent le plus souvent à l'état naturel sous forme d'hétérosides : les flavonosides [16].

❖ Terpénoïdes

Les terpénoïdes sont des molécules avec un nombre de carbones multiple de 5, de formule brute générale $(C_5H_8)_n$ et dont le précurseur est l'isoprène ($n=1$). Ce sont des lipides synthétisés à partir de l'acétyl-CoA, ce sont donc des molécules hydrophobes. Ils sont stockés dans les vacuoles au niveau des épines, des racines, ou encore des feuilles. Ils sont produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont des composés majeurs de la résine et de l'essence végétale [16].

❖ Saponosides

Les saponosides ou saponines sont des hétérosides de PM élevé, constitués d'un ou plusieurs oses et d'une génine stéroïdique à 27 atomes de carbone. Ils sont caractérisés principalement par leurs propriétés tensioactives. Ces propriétés se traduisent notamment par la formation de mousse par agitation dans l'eau (pouvoir aphrogène). De plus, la plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques [17].

❖ Tanins

Les tanins sont définis comme étant des composés polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 kD (polymères), ayant la propriété de tanner la peau

(la rendre imputrescible). Cette propriété est liée à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines, polysaccharides). On distingue :

- Les tanins hydrolysables ou galliques : ce sont des esters d'un sucre ; généralement le glucose ou d'un polyol et d'un acide phénol : acide gallique.
- Les tanins condensés ou catéchiques : ce sont des dérivés non hydrolysables, résultant de la polymérisation de plusieurs unités « flavane ». Ce groupe, n'ayant pas tous des propriétés tannantes [16].

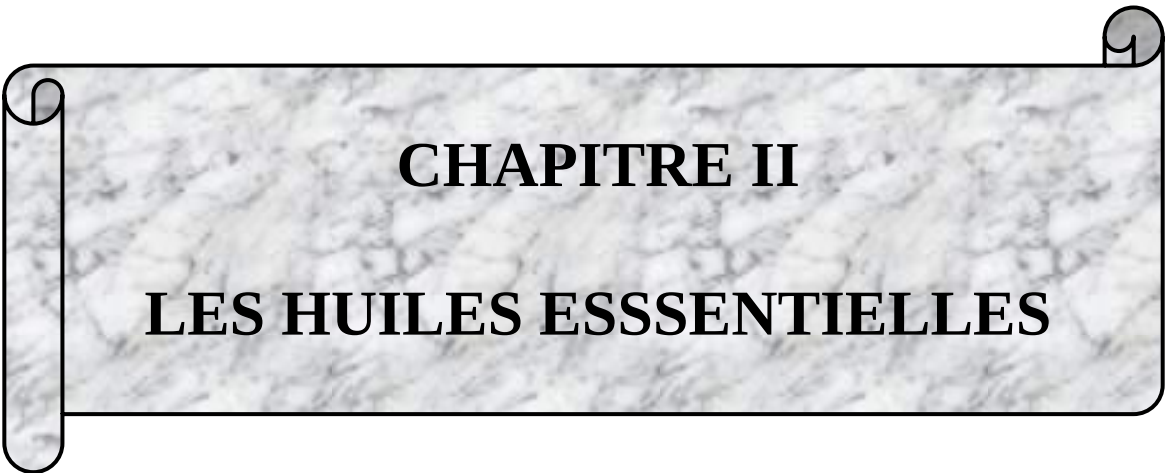
❖ Huiles essentielles

Les huiles essentielles ou essences végétales sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles contenues dans les végétaux. Elles sont largement réparties dans le règne végétal et certaines familles en sont particulièrement riches [6].

❖ Coumarines

Les coumarines ont été isolées pour la première fois en 1820 ; Ce sont des 2H-1-benzopyran-2-one que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-Z-cinnamiques [4].

Elles sont présentes en quantités plus faibles dans plusieurs plantes comme le mélilot, la sauge sclérée et la lavande. Les coumarines sont des composés phénoliques des végétaux, portant un noyau benzopyrone dans leur structure [18].

A horizontal banner with a marbled pattern, featuring scroll-like details at the top and bottom corners.

CHAPITRE II

LES HUILES ESSENTIELLES

1. Définition des huiles essentielles

Pour la 8ème édition de la Pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (= essences = huiles volatiles) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales : celui par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leurs organes, et celui par expression ». La Pharmacopée précise ensuite que le second procédé est recommandé pour obtenir les essences des fruits du genre *Citrus*. Depuis la 9ème édition (1972), la Pharmacopée n'utilise plus que le terme « huile essentielle » [4].

Plus récemment, les normes AFNOR NF T 75-006 et AFNOR ISO 9235 ont donné la définition suivante d'une huile essentielle : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [par exemple, redistillation, aération, ...] » [4].

2. La différence entre une huile essentielle et une huile grasse

L'huile végétale grasse est un corps gras, non odorant, non volatil, constituée à 100 % de graisse, issue d'une noix, d'un fruit ou d'une graine oléagineuse. Elle est obtenue par une extraction mécanique à basse température pour ne pas la dénaturer afin de préserver la teneur en acide gras essentiels (Oméga 3, 6, et 9), en vitamines liposolubles (vitamine A, D, E et K) et en antioxydants naturels (vitamine E) [19].

Contrairement à l'huile grasse, l'huile essentielle n'est pas une matière grasse, elle correspond à la fraction odorante volatile de certains végétaux et elle s'évapore facilement. Elle présente un poids moléculaire moins important par rapport à l'huile grasse. Elle est extrêmement concentrée, utilisée en raison d'une ou deux gouttes seulement diluées dans une large cuillère à soupe d'huile végétale, par exemple pour un massage [20].

3. Répartition des huiles essentielles dans le règne végétal

Dans le règne végétal dont les représentants, les plantes, sont bien au-delà d'un million d'espèces, seuls 10% ont la possibilité de synthétiser une essence aromatique. La majorité des plantes aromatiques appartiennent aux ordres suivants, chez les angiospermes : Lamiales , Astérales, Apiales, Laurales, Magnoliales, Rutales et Sapindales ; chez les gymnospermes : à la classe des conifères [11].

4. Localisation des huiles essentielles dans la plante

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante.

Les essences peuvent être localisées dans des :

- ❖ Cellules sécrétrices isolées des Lauraceae ou des Zingiberaceae ;
- ❖ Poils sécréteurs des Lamiaceae, labiées ;
- ❖ Poches sécrétrices schizogènes ou schizolysigènes des Myrtaceae ou des Rutaceae ;
- ❖ Canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae [4, 21].

5. Stockage des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Lawrence, 17500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les HE sont réparties dans un nombre limité de familles, ex. : Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae... [21].

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux :

- ❖ Fleurs: oranger, lavande, rose;
- ❖ Feuilles: eucalyptus, citronnelle, menthe;
- ❖ Ecorces: cannellier;
- ❖ Bois: bois de rose, camphrier, santal;
- ❖ Rhizomes: curcuma, gingembre;
- ❖ Racines : vétiver [21] ;

- ❖ Fruits secs : badiane, anis, persil ;
- ❖ Graines: muscade [4].

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation. Ainsi, dans le cas de l'oranger amer (*Citrus aurantium* L, Rutaceae), le « zeste », c'est-à-dire le péricarpe frais du fruit, fournit l'HE d'orange amère ou « essence de Curaçao », la fleur fournit « l'essence de Néroli » et l'hydrodistillation de la feuille, des ramilles et des petits fruits conduit à « l'essence de petit grain bigaradier ». La composition de ces trois HEs est différente [4].

6. Composition chimique des huiles essentielles

Les différents procédés d'extraction des huiles essentielles permettent de définir plusieurs termes qui sont utilisés dans la pratique courante : les concrètes, les résinoïdes, les pommades florales, l'absolu, l'eau florale et l'hydrolat. Chaque extrait présente une composition chimique différente par rapport à l'autre [4].

Du point de vue chimique, les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane [4].

6.1. Terpénoïdes

Les terpénoïdes constituent le plus vaste connue de métabolites secondaires des végétaux. Ils sont formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonées ramifiées dérivées du 2-méthylbutadiène. En 1887, O. Wallach envisageait que les terpènes devaient être construits à partir d'unités isopréniques et, quelques dizaines d'années plus tard (1953), L. Ruzicka, après plus de trente années consacrées à l'étude des terpènes, transformait cette hypothèse en une règle générale dont le principe a été, depuis, confirmé expérimentalement : Chaque groupe de terpènes est issu de la condensation " tête-à-queue " d'un nombre variables d'unités isopréniques [4].

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue :

- Les terpènes proprement dits où on trouve : les monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes en C₂₀, les triterpènes en C₃₀, les tetraterpènes en C₄₀ ;

- Les polyterpènes ($C_{\sim 4000}$) [4].

6.1.1. Monoterpènes

Les monoterpènes sont des hydrocarbures aliphatiques, saturés ou insaturés [22]. Ils sont issus du couplage de deux unités isopréniques ($C_{10}H_{16}$). Ils peuvent être cycliques (pinènes, camphène) ou acycliques (myrcène, ocimène) et même aromatiques (*p*-cymène).

Les monoterpènes constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (citrus, térébenthine) [4].

6.1.2 Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des hydrocarbures de formule C_{15} , formés par l'assemblage de trois unités isopréniques [23]. Les composés actuellement décrits se rattachent à plus de 100 squelettes différents. Cependant leur structure ainsi que leur fonction restent similaires à celles des monoterpènes [4].

6.2. Composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les HE. Ce sont très souvent des allyles et de propénylphénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines HE d'Apiaceae : anisaldéhyde, apiol, méthyl-chavicol [= estragole]), eugénol, safrole, asarones, cinnamaldéhyde. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en C6-C1 comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'anthranilate de méthyle. Les lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines) étant, au moins pour les plus simples ; d'entre elles, entraînaient par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles [4].

6.3. Composés d'origine divers

En général, les composés d'origines divers sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles, d'origines lipidiques, terpéniques, azotés, soufrés ou hétérosidiques [4].

7. Méthodes d'extraction

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. Le choix de la technique dépend principalement de la matière première utilisée : son état original et ses caractéristiques. Selon tel ou tel procédé d'extraction, les caractéristiques physiques de l'HE seront différentes. Comme dit précédemment, selon la Pharmacopée

Européenne, « 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 ». Le mode d'extraction conditionne donc plus ou moins sa composition chimique [24].

7.1. Méthodes conventionnelles d'extraction

7.1.1. Entraînement à la vapeur d'eau

➤ Hydrodistillation simple

L'hydrodistillation est la plus archaïque (environ 80% des cas) car elle est la plus économique [11]. Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité [4]. (Figure 1)

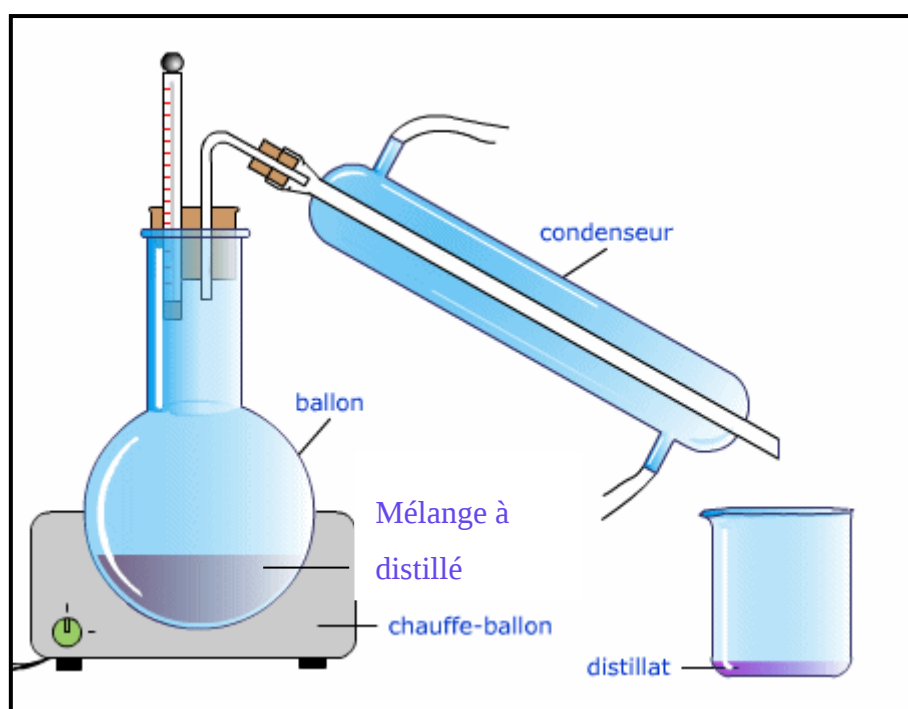


Figure 1: Hydrodistillation simple [12]

➤ Distillation à vapeur saturée

À la différence de l'hydrodistillation, la distillation à vapeur saturée ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. L'huile essentielle est récupérée des plantes en faisant passer à travers la masse végétale disposée sur des plaques perforées un courant de vapeur d'eau

[4]. Ce procédé apporte une amélioration certaine de la qualité des produits obtenus [11].
(Figure 2)

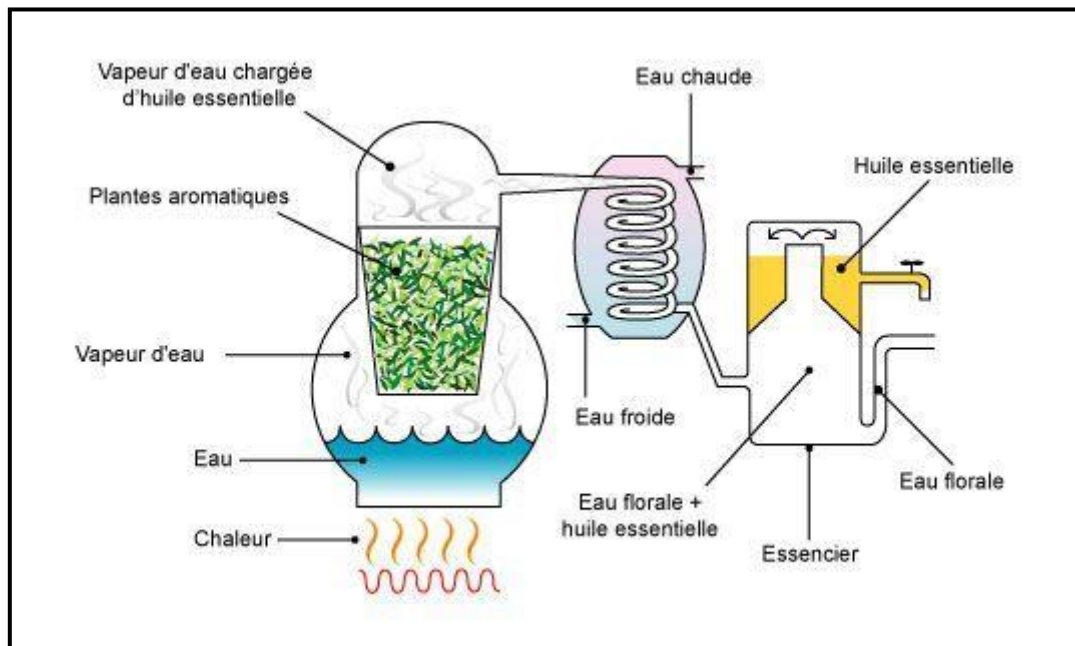


Figure 2: Distillation à vapeur saturée [12]

➤ Hydrodiffusion

Ce nouveau procédé, appelé aussi "percolation" consiste à envoyer la vapeur d'eau à très faible pression (0.02-0.15 bar) à travers la masse végétale, de haut en bas (à l'inverse de la distillation). L'hydrodiffusion permet une économie d'énergie et un gain de temps. (Figure 3)

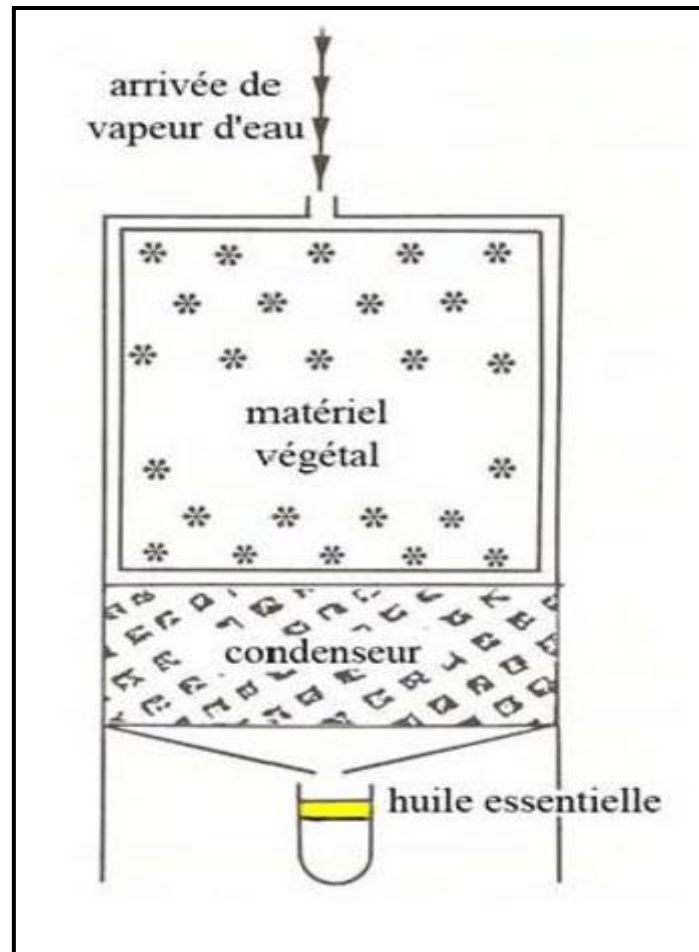


Figure 3: Hydrodiffusion [12]

7.1.2. Expression mécanique

Ce mode d'obtention particulier est réalisé uniquement pour les fruits de la famille des Rutaceae (orange, citron, pamplemousse, mandarine, etc.). Les fruits, entiers et lavés au départ, sont soumis à une action abrasive sur la surface du fruit grâce à des râpes ou des micro-pics métalliques (picots) de manière à faire éclater les cellules contenant l'huile essentielle. Les zestes sont déchirés et les molécules aromatiques sont séparées de la phase aqueuse par centrifugation [4]. Quand ce procédé est utilisé, on ne parlera pas d'huile essentielle mais d'essence comme par exemple l'essence de citron [25]. (Figure 4)



Figure 4: Expression mécanique [12]

7.1.3. Enfleurage

L'enfleurage est une ancienne méthode d'extraction manuelle des essences. Elle est particulièrement adaptée aux fleurs fragiles (jasmin, tubéreuse, narcisse, muguet). Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Les plantes sont disposées à température ambiante sur des plaques de graisse qui ont pour but d'absorber le parfum [25]. Les pommades florales ainsi obtenues sont soit employées telles quelles, dans la fabrication des cosmétiques, soit épuisées par l'alcool absolu; en résultent des extraits alcooliques aux fleurs, concentrables en essences par évaporation sous vide [11].

7.1.4. Extraction par les solvants

La plante entière ou la partie de la plante utilisée pour l'extraction est sous forme divisée : contusée, hachée, concassée ou réduite en copeaux, ou en poudre dans le cas des plantes séchées [22]. Cette méthode est pratiquée au niveau industriel en utilisant des solvants selon des paramètres techniques et économiques (sélectivité, stabilité, inertie chimique). Les solvants les plus utilisés sont les hydrocarbures aliphatiques : éther de pétrole, hexane, mais aussi propane ou butane liquides (sous pression). On a également recours aux solvants halogénés (dérivés chlorés et fluorés du méthane et de l'éthane) et à l'éthanol [4].

7.2. Méthodes innovantes d'extraction

7.2.1. Extraction par les gaz supercritiques

Un fluide supercritique est défini comme étant une substance prise dans des conditions opératoires de température et de pression supérieure à sa température (T_c) et sa pression (P_c) critiques [26].

Le dioxyde de carbone présente de multiples avantages qui ont fait de lui le fluide le plus utilisé. Il est peu coûteux, non toxique, ininflammable et chimiquement inerte [25]. A cet état, il présente la particularité de dissoudre de nombreux composés organiques exactement comme les solvants organiques classiques [22].

L'extraction par le CO_2 supercritique consiste à faire passer dans la masse végétale un courant de CO_2 qui, par augmentation de la pression, fait éclater les poches à essence et entraîne les substances aromatiques [24]. A la fin de la manipulation, le CO_2 s'évapore complètement et il ne laisse aucun résidu toxique dans l'extrait [22].

7.2.2. Extraction par micro-onde

Le procédé d'extraction par micro-onde appelé également Vacuum Microwave Hydro Distillation (VMHD), consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-onde d'énergie constante et d'une séquence de mise sous-vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Cette eau entre brutalement en ébullition sous l'effet conjuguée du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction.

Le contenu des cellules est donc transféré vers l'extérieur du tissu végétal, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats [27].

8. Caractérisation des huiles essentielles

8.1. Caractérisation organoleptique

- **Aspect** : les huiles essentielles sont liquides à température ambiante, rarement visqueuses (myrrhe), certaines se cristallisent partiellement ou totalement à plus faible température (anis : anéthole ; menthe des champs : menthol ; thym saturéioïde :

boméol) ; de même qu'à basse température (eucalyptus : eucalyptole). Elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes. Elles sont volatiles, ce qui les oppose aux huiles grasses (huiles fixes) ; cette volatilité est d'ailleurs à l'origine de leur caractère odorant et permet leur entraînement à la vapeur d'eau [11].

- **Couleur** : Elles ne sont que très rarement colorées. Il existe cependant quelques exceptions (ex. les HE à azulène, de coloration bleue ou jaune pâle quand elles viennent d'être préparée) [4].
- **Odeur** : agréable, aromatique [28].
- **Saveur** : douce, piquante, caractéristique, fruitée, fraîche ... [28].

8.2. Caractérisation physique

- **Pouvoir rotatoire** : définit l'activité optique, qui est une caractéristique des molécules énantiomères (chirales), c'est-à-dire qu'elles existent sous deux configurations spatiales différentes et non superposables [22]. Elles sont actives sur la lumière polarisée ; certaines, comme *Pinus sylvestris* et *Citrus sinensis* sont dextrogyres, d'autres telles que *Cinnamomum verum* (écorces) et *Mentha piperita* sont lévogyres [11].
- **Densité relative** : représente le rapport de la masse d'un volume de liquide (HE dans notre cas) par la masse du même volume d'eau. Elle est sans unité et varie selon la température. La densité relative est mesurée par deux appareils : le densimètre (ou aéromètre) et le pycnomètre [22]. Leur densité est en générale inférieure à celle de l'eau [4]. Quelques HE ont cependant une densité supérieure ou voisine à celle de l'eau, ainsi l'HE d'écorces de *Cinnamomum verum* : $D_{25} = 1,01$ à $1,03$; ainsi que celles de sassafras, du clous de girofle, et des graines de carotte [11].
- **Indice de réfraction** : Elles possèdent un indice de réfraction élevée [4].

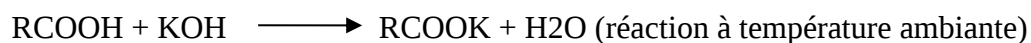
8.3. Solubilité des huiles essentielles

- **Dans l'eau** : elles ne sont naturellement pas, ou très peu, solubles dans l'eau ; certains composants sont néanmoins plus solubles que d'autres (verbénone du romarin officinal, lavandulol de la lavande vraie) ; quelques-unes ont des constituants particulièrement solubles, ce qui entraîne, durant la distillation des écorces de cannelle, l'obtention habituelle d'émulsions [11].
- **Dans les huiles fixes** : elles sont totalement solubles dans les huiles grasses (meilleurs solvants des huiles essentielles) [11].

- **Dans les solvants organiques** : les HE se solubilisent très bien dans les solvants organiques usuels, dans les alcools de titres élevés (différence avec les lipides) [4].

8.4. Caractérisation chimique

- **Indice d'acide** : IA est le nombre de milligramme (mg) de potasse nécessaire pour neutraliser les acides libres dans 1 gramme (g) d'HE selon la réaction :



- **Indice d'ester** : IE est le nombre de milligramme (mg) de potasse nécessaire pour saponifier les esters présents dans 1 gramme (g) d'HE selon la réaction :



- **Indice de saponification** : IS est le nombre de milligramme (mg) d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides libres et saponifier les acides estérifiés contenus dans un gramme d'HE [28].

9. Propriétés des huiles essentielles

9.1. Intérêt physiologique des huiles essentielles pour la plante

L'intérêt des huiles essentielles pour la plante n'a pas pu être clairement démontré. En effet, on considère qu'il s'agit de déchets du métabolisme. Toutefois, certains auteurs présentent que la plante utilise son HE pour repousser les insectes et pour se protéger contre les herbivores et les rongeurs, ou au contraire pour attirer les abeilles et les insectes et favoriser la pollinisation. D'autres les considèrent comme une ressource énergétique, facilitant certaines réactions chimiques et d'autre part, elles conservent l'humidité nécessaire à la vie des plantes exposées à des climats désertiques [29]. Alors que les autres confirment qu'il s'agit des supports de communication en transférant les messages biologiques sélectifs, et peuvent servir de solvants bioactifs des composés lipophiles [30].

9.2. Propriétés thérapeutiques des huiles essentielles

Les propriétés médicinales des HE sont nombreuses. Avant de les citer, il faut savoir que l'activité d'une HE peut être différente de celle dont elle est issue, ainsi l'HE de romarin est antibactérienne alors que l'infusé de la même espèce est traditionnellement utilisé pour le traitement symptomatique des troubles digestifs divers [4].

Quelques propriétés fondamentales se dégagent cependant :

❖ **Activité antibactérienne**

Les huiles essentielles exercent une activité antibactérienne à l'encontre des bactéries pathogènes variées, y compris des souches habituellement antibiorésistantes tel que : le staphylocoque, le bacille de Koch ou le bacille typhique. Les HE ont une double action contre des microbes : effet bactéricide et effet bactériostatique [4].

Les molécules possédant le coefficient antibactérien le plus élevé sont (par ordre décroissant) : le carvacrol, le thymol, et l'eugénol ; elles appartiennent toutes les trois au groupe des phénols ; l'australol, et le gáiacol font également partie de ce groupe, mais les huiles essentielles les recelant sont ici moins actives [11].

❖ **Activité antivirale**

L'activité antivirale découle de la liposolubilité des HE, ce qui leur permet de pénétrer dans l'enveloppe virale riche en lipides. Les HE sont plus actives sur les virus enveloppés car ils sont plus fragiles que les virus nus. Ils sont donc particulièrement efficaces envers les virus *herpès simplex*, VHS-1 (herpès labial) et VHS-2 (herpès génital) [11].

Les composés aromatiques et les phénols monoterpéniques arrêtent le développement des virus et facilitent l'élimination du mucus tout en stimulant le système immunitaire [25].

❖ **Activité antifongique**

Les infections fongiques sont très fréquentes dans notre société. Cette extension est largement favorisée par la prescription de manière abusive des antibiotiques, issus en premier lieu de champignons microscopiques. Certaines huiles cétoniques sont utiles pour lutter contre les infections mycosiques, en particulier celle du *Rosmarinus officinalis verbenoniferum*

intéressante dans les candidoses. Les groupes de molécules aromatiques citées comme agents antibactériens sont également actifs sur les champignons et les levures.

Parmi les HE ayant une activité antifongique, on peut citer celle de *Melaleuca alternifolia* (arbre à thé), *Syzygium aromaticum* (giroflie), *Rosmarinus officinalis verbenoniferum* (romarin) ou celle de l'encore de *Cinnamomum verum* (cannelle de Ceylan) [4,11].

❖ **Activité antiparasitaire**

Les phénols présentent l'action la plus puissante contre les parasites, suivis par les alcools monoterpéniques. Certains oxydes comme l'ascaridol sont très spécifiques dans la lutte antiparasitaire et constituent de bons antihelminthiques. Enfin les cétones ont une activité antiparasitaire bien établie, mais leur utilisation doit se faire avec précautions car ils présentent une certaine neurotoxicité. Cette action est renforcée par l'association cétones/lactones dans l'HE [25].

❖ **Activité anti-inflammatoire**

Les huiles essentielles constituent une alternative aux traitements allopathiques classiques de type AINS (Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens).

Les molécules concernées sont notamment les aldéhydes monoterpéniques : citrals, citronellals, cuminal. Ils sont utilisés par voie externe. Ils interviennent par une action hyperhémique en favorisant les mécanismes physiologiques de défense anti-inflammatoire naturelle impliquant les leucocytes. Ils modulent également la réponse immunitaire par voie interne [25].

La menthe poivrée est en mesure d'anesthésier les douleurs au niveau du crâne, le clou de girofle calme les douleurs dentaires et le thym agit au niveau de coude, tandis que la citronnelle, le romarin ou l'eucalyptus sont efficaces en cas de piqures d'insectes. Toutes ces plantes présentent une activité anti-inflammatoire puissante [11].

❖ **Activité Antihistaminique**

Certaines huiles essentielles inhibent la synthèse des leucotriènes et empêchent donc la libération de l'histamine responsable des réactions allergiques. On retrouve parmi elles, l'HE du basilic tropical qui soulagera certains symptômes liés à une réaction allergique [25].

❖ Activité antispasmodique

L'huile essentielle de la menthe poivrée et le basilic exotique, sont réputées efficaces dans le soulagement des spasmes gastro-intestinaux. Cette propriété est en partie liée à leur effet carminatif qui entraîne une toxicité sur les bactéries du côlon. Cette toxicité contribue à diminuer la production gazeuse des bactéries et favoriser le soulagement des douleurs gastro-intestinales. Un certain nombre d'HE (de : menthe, thym, mélisse, girofle, basilic) a exercé, in vitro, une action spasmodytique importante sur l'iléon isolé de cobaye (ou cochon d'Inde) ainsi que sur la trachée du même animal. Il semblerait que cette activité soit liée à une inhibition de l'entrée du calcium dans les cellules entraînant une relaxation des fibres musculaires [4].

❖ Activité endocrinorégulatrice

La sauge est l'amie de l'appareil génital féminine, le gingembre est l'ami de l'appareil génital masculin, le pin sylvestre et le basilic agissent sur les glandes surrénales. Les HE ont la capacité de réguler l'action de nos glandes. Les mécanismes mis en jeu par ses dernières étant véritablement complexes.

Certaines HE ont aussi une action stimulante sur la sexualité. La sarriette, par exemple, est particulièrement efficace pour les hommes [25].

Ces HE seront contre-indiquées chez une patiente ayant des antécédents de cancers hormonodépendants [24].

❖ Activité analgésique, antalgique et anesthésique locale

On différencie l'activité antalgique qui va atténuer la douleur de l'activité analgésique qui va permettre d'inhiber la douleur. Certaines huiles essentielles possèdent ces activités [24].

L'HE de camomille noble est utilisée en anesthésie locale ou en pré- anesthésie et celle de la menthe poivrée pourra être utilisée lors des migraines [11].

❖ Propriété désodorisante

Les huiles essentielles de la lavande, d'eucalyptus, du romarin et du bois de cèdre présentent des propriétés désodorisantes et purifiantes [11, 25].

❖ Activité neurotrope

Les huiles essentielles peuvent calmer, détendre et faciliter le sommeil ou au contraire, stimuler le système nerveux. On retrouve l'huile essentielle de Lavande fine citée au-dessus pour potentialiser l'immobilité ; elle présente également une action sédatrice [11].

Tableau I: Différentes propriétés thérapeutiques des huiles essentielles

Activités	Huiles essentielles	Références
Activités bactéricide	Huile essentielle de Thym à thymol Huile essentielle de Menthe poivrée Huile essentielle de Girofle	[11]
Activité antivirale	Huile essentielle d'Hysope Huile essentielle de l'Arbre à thé	[11]
Activité antifongique	Huile essentielle de l'Arbre à thé Huile essentielle de Girofle Huile essentielle de Cannelle de Ceylan Huile essentielle de Romarin	[4, 11]
Activité antiparasitaire	Huile essentielle de Chénopode blanc	[25]
Activité anti-inflammatoire	Huile essentielle de la Citronnelle Huile essentielle d'eucalyptus Huile essentielle de Thym Huile essentielle de Menthe poivrée Huile essentielle de Girofle Huile essentielle de Romarin	[11, 25]
Activité antihistaminique	Huile essentielle de Basilic	[25]

Activité antispasmodique	Huile essentielle de Thym Huile essentielle de Menthe Huile essentielle de Mélisse Huile essentielle du Girofle	[4]
Activité endocrinorégulatrice	Huile essentielle de la Sauge Huile essentielle de pin sylvestre Huile essentielle de Basilic Huile essentielle de Sarriette Huile essentielle du Gingembre	[25]
Activité analgésique et anesthésique locale	Huile essentielle de la Camomille Huile essentielle de Menthe poivrée	[11]
Activité désodorisante	Huile essentielle de la Lavande Huile essentielle d'Eucalyptus Huile essentielle de Romarin Huile essentielle de Cèdre	[11, 25]
Activités neurotrope	Huile essentielle de Lavande	[11]

10. Conservation des huiles essentielles

L'instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles implique des précautions particulières pour leur conservation. En effet, les possibilités de dégradation sont nombreuses, facilement objectivées par la mesure d'indices chimiques (indice de peroxyde, indice d'acide...), par la détermination de grandeurs physiques (indice de réfraction, pouvoir rotatoire, miscibilité à l'éthanol, densité...) et/ou par l'analyse chromatographique. Les conséquences sont multiples par exemple : la photo-isomérisation, la photocyclisation, la coupure oxydative,

la peroxydation, la décomposition en cétones et alcools, la thermo-isomérisation, l'hydrolyse et la transestérification. Pour éviter ces dégradations qui modifient les propriétés :

- Les HE doivent être conservées dans des flacons en aluminium vernissé, en acier inoxydable ou en verre teinté anti-actinique pour les protéger de la lumière et de la chaleur ;
- Les flacons doivent être bien fermés, sinon l'HE peut s'évaporer et presque entièrement remplis (l'espace libre étant rempli d'azote ou d'un autre gaz inerte) ;
- Il faut les conserver en position verticale car les HE peuvent attaquer le codigoutte ;
- Les HE peuvent se conserver de 5° à 35° C. Elles se conservent 5 ans sauf les agrumes (citron, orange, etc.) et les conifères (pin, cyprès, etc.) qui se conservent 3 ans [31, 32].

11. Utilisations des huiles essentielles

En aromathérapie, il existe plusieurs voies d'utiliser les HE comme : la voie olfactive (diffusion atmosphérique, inhalation humide ou sèche), la voie orale [33], la voie vaginale (ovule ou crème gynécologique) [19], la voie rectale (suppositoire ou solution) [11] ou par voie cutanée (massage, bain, compresse) [33]. Selon la composition chimique et les applications thérapeutiques de chaque HE, il est possible d'en déterminer les moyens d'absorption idéals et ceux qui doivent être proscrits. Il faut savoir que certains composants sont irritants ou toxiques pour les muqueuses cutanées et respiratoires, ce qui proscrit les voies cutanée et olfactive. D'autres sont toxiques pour le foie ou le système nerveux. Ces constatations montrent l'importance de connaître la composition chimique de chaque HE, afin de les utiliser en toute sécurité [33].

12. Domaines d'application des huiles essentielles

12.1. En cosmétologie

Les premières synthèses organiques des arômes utilisées en parfumerie remontent à la première moitié du XIX^e siècle [22]. C'est le débouché principal des huiles essentielles, des concrètes, des absolues et autres résinoïdes fournis par ces drogues. L'industrie des cosmétiques et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier, pour les formulations de grande diffusion, les produits synthétiques. On notera aussi la présence d'HE dans les préparations pour bains (bains « calmants » ou « relaxants ») [4].

L'utilisation des HE dans des produits cosmétiques, telles que les crèmes et les gels, est non seulement dans le but de les parfumer, mais aussi pour la conservation de ces produits [34].

12.2. En pharmacie

C'est le débouché principal des huiles essentielles. Ce sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques, antifongiques, calmantes, relaxantes ...

La tendance actuelle serait l'utilisation bénéfique de cette activité antiseptique, notamment, pour purifier l'air atmosphérique dans les centres de soins (hôpitaux, cliniques) et aussi dans les maisons par diffusion d'huiles essentielles dans l'air.

Souvent, les HE sont rajoutées dans la formulation des spécialités pharmaceutiques, pour masquer le mauvais goût des médicaments (aromatisation) et pour donner un caractère plus agréable à leur consommation [22].

12.3. En agroalimentaire

Les huiles essentielles sont utilisées en agroalimentaire comme rehausseurs de goût et pour améliorer la saveur des produits alimentaires élaborés. Depuis peu, les industriels ont souhaité l'utilisation des HE comme conservateurs, au détriment des molécules de synthèse classiques couramment utilisées, telles quelques parabènes [22].

12.4. Dans l'industrie chimique

L'huile essentielle est un mélange très complexe. Il est possible d'isoler des molécules d'intérêt, soit pour un usage ultérieur en tant que produit naturel présent sous une seule forme énantiomorphe, soit pour la réalisation d'hemisynthèse avec l'obtention finale de nouvelles molécules, économiquement plus rentables que la synthèse chimique classique qui présente des rendements faibles au bout de nombreuses étapes réactionnelles [22].

12.5. En dentisterie

Grâce à leurs propriétés aromatisantes et antiseptiques, les huiles essentielles ont été largement utilisées dans les bains de bouche conçus pour l'hygiène buccodentaire. Les préparations à base du thymol, d'eucalyptol et du menthol sont parmi les plus utilisées depuis longtemps dans le monde, surtout aux États-Unis. Cependant, c'est juste en 1987 que les bains de bouche préparés à base d'HE ont été approuvés par l'association dentaire américaine (ADA), attribuer à leur

efficacité antimicrobienne et leur sûreté. Parmi les bains de bouche les plus connus au monde, on donne l'exemple de la Listerine® qui est une solution constituée d'HE de thymol et d'eucalyptol utilisée pour le lavage de la cavité orale et les dents [34].

13. Critères de qualité des huiles essentielle

L'aromathérapie, qui met en œuvre les huiles essentielles, fait partie des thérapeutiques complémentaires vers lesquelles les patients se tournent de plus en plus en raison d'une méfiance grandissante à l'égard de certains médicaments allopathiques.

Les HE sont commercialisées en officine, mais également en dehors du circuit pharmaceutique (grandes surfaces, marchés, magasins "bio", internet). Pour garantir la qualité d'une HE employée en thérapeutique, il faut respecter plusieurs critères : identité de la plante, culture, récolte, extraction de l'HE [35].

➤ L'espèce botanique

La certification botanique doit apparaître selon la nomenclature internationale sous son nom latin précisant le genre, l'espèce et la sous-espèce [11].

➤ Partie de la plante utilisée

Certaines plantes peuvent produire des HE différentes selon les parties distillées [11].

➤ L'origine géographique

Cela permet de connaître l'environnement dans lequel grandit la plante et de caractériser ainsi l'HE obtenue [36].

➤ Chimiotype (ou chémotype)

En fonction de l'origine de la plante (climat, pays, altitude, saison...), une plante de même espèce botanique peut élaborer des HE de composition chimique différente donc avec des propriétés différentes [37].

➤ La culture et la récolte de la plante

Les plantes dédiées à la production des HE peuvent provenir de trois types de culture :

- La culture conventionnelle qui utilise des engrais et des pesticides ;
- La culture biologique (label "AB" qui suit un cahier des charges n'autorisant pas l'emploi de produits phytosanitaires) ;
- Les plantes sauvages [35].

Le mode de culture définit si la plante est cultivée ou sauvage. Il est souvent représenté par un label si la plante provient d'une culture biologique. Les seuls labels autorisés sont ceux délivrés par le Ministère de l'Agriculture. Il en existe plusieurs :

- Le label BIO garantie une HE certifiée par l'organisme ECOCERT afin de garantir l'origine biologique de l'HE.
- Le label ECOCERT garantie qu'une HE est soumise au contrôle régulier d'un organisme de certification agréé par les pouvoirs publics ;
- Le label HEBBD (Huile Essentielle Botaniquement et Biochimiquement Définie) signifie que l'HE possède un bulletin d'analyse établi avec le CNRS. C'est un label de qualité des HE ;
- Le label AB correspondant à Agriculture Biologique, certifie que l'huile essentielle possède au minimum quatre-vingt-quinze pour cent d'ingrédients issus de l'Agriculture Biologique, c'est-à-dire cultivée sans engrais, ni pesticides, et ne contenant pas d'O.G.M [36].

Les plantes sauvages ou labellisées AB doivent être privilégiées pour garantir des HEs de qualité maximale car elles sont exemptes de produits phytosanitaires. Cependant, la majorité des HE sont issues des plantes cultivées selon la méthode conventionnelle.

La récolte de la plante se fait au moment où les principes actifs les plus intéressants sont à leurs concentrations maximales ou à l'inverse, lorsque les composés toxiques sont les moins concentrés [35].

➤ **Extraction de l'huile essentielle**

Il est préférable de distiller la plante fraîche, cette opération se faisant généralement près des lieux de culture. Cependant, il est également possible de sécher la plante pour l'entreposer et la transporter avant de pratiquer l'extraction de l'HE.

La température du chauffage et la pression constituent des éléments importants. Les composés aromatiques étant fragiles, un équilibre entre la pression (entre 0,01 et 0,05 bars) et la température doit être trouvé pour les préserver au mieux. Par exemple, la couleur de l'HE de *Thymus vulgaris* est rouge clair lorsqu'elle est obtenue à basse pression et rouge brun foncé quand la pression s'élève.

Les cuves de distillation doivent être en matériau inoxydable.

Le temps de distillation est un critère déterminant. Sous basse pression, il est nécessairement plus long. Or, une distillation prolongée permet de recueillir l'ensemble des fractions, dites "de tête" et "de queue".

Une fois la distillation de la plante réalisée, plusieurs procédés peuvent être appliqués sur l'HE obtenue :

- La rectification est une opération qui a pour but d'augmenter artificiellement la concentration d'un principe actif en particulier ;
- La déterpénation consiste à ôter une partie des terpènes contenus dans l'HE pour en diminuer la toxicité (risques épiléptogène ou photosensibilisant) ;
- La falsification consiste à un assemblage de plusieurs HE provenant de différentes sources afin d'obtenir une composition fixée. Cette pratique est interdite dans le domaine pharmaceutique [35].

14. Toxicité des huiles essentielles

14.1. Dermocausticité

Les phénols, les aldéhydes ainsi que les phénols méthyle éthers présentent une agressivité importante pour la peau. Cette dermocausticité va d'une activité irritante à une activité nécrosante qui détruit l'intégralité des cellules. Les huiles essentielles qui contiennent ces molécules doivent être absolument diluées.

Les HE contenant des terpènes peuvent irriter la peau, et donc il est conseillé de les diluer dans des huiles végétales. Les hydroperoxydes terpéniques formés durant le stockage des HE riches en monoterpènes (térébenthine non rectifiée) sont allergisants par voie externe.

Les HE concernées sont celle du : basilic, cannelle (écorce), citron, clou de girofle, cyprès de provence, genévrier, gingembre, mandarine verte, mélisse, muscade, myrte citronnée, myrte verte, orange douce, origan, pamplemousse, pin sylvestre, poivre noir, romarin à cinéole, sarriette des montagnes, thym à feuilles de sarriette, thym à thymol, verveine exotique, verveine odorante.

Lors d'un usage durant de très longues périodes, toute HE est susceptible d'entraîner des réactions de sensibilisation [11, 38].

14.2. Photosensibilité

Certaines molécules provoquent une réaction de la peau au soleil. Ce sont des huiles essentielles qui appartiennent à la famille biochimique des coumarines. Pour éviter l'apparition de taches, il faudra éviter ces HE. Elles sont donc à utiliser avec précaution avant une exposition au soleil.

Les HE de : bergamote, angélique, camomille matricaire, cannelle (écorce), citron, fenouil doux, khella, livèche, mandarine verte, orange douce, pamplemousse et verveine odorante [38] sont photosensibilisantes.

14.3. Hépatotoxicité

Certaines molécules présentent une toxicité pour le foie si elles sont intégrées sur de longue période. Les HE contenant un taux d'aldéhyde et phénol sont interdites par voie orale pour les personnes ayant une sensibilité hépatique ainsi que chez les enfants en dessous de 10 ans. Il faut associer systématiquement une HE hépatotoxique avec une HE hépatotonique des plantes suivante : *Rosmarinus officinalis* (contient le verbénone et le cinéole), *Citrus limonum*, *Mentha piperita*, *Ocimum basilicum*.

Les HE de la cannelle (écorce), clou de girofle, coriandre (graine), khella, lavande, muscade, origan romarin à camphre, sauge, thym sont hépatotoxique [11, 38].

14.4. Neurotoxicité

Les molécules qui présentent une toxicité pour le système nerveux, sont les cétones, les lactones, les dioxydes et les éther-oxydes. Ces molécules peuvent franchir les enveloppes de protection autour du cerveau, surtout si elles sont appliquées autour de la tête, elles peuvent déstructurer la gaine de myéline si elles sont appliquées sur des zones à risques, telles que les

tempes. De plus toutes les molécules neurotoxiques peuvent provoquer une fausse couche chez la femme enceinte ou perturber le développement neuronal du fœtus.

Dans ces familles biochimiques, on peut donc retrouver : l'huile essentielle d'aneth, carvi, cèdre de l'Atlas, coriandre, curcuma, eucalyptus globulus, fenouil doux, lavande aspic, menthe verte, muscade, myrte citronnée, romarin, sauge, tanaïsie annuelle, thym.

Ces HE sont contre indiquées pour la femme enceinte, les enfants ainsi que pour les patients ayant des antécédents d'épilepsie [11, 38].

14.5. Néphrotoxicité

Certaines huiles essentielles peuvent provoquer une inflammation des reins qui serait la conséquence d'une irritation due à leur élimination [31]. Ce sont les HE riches en monoterpènes et en terpènes qui renforcent l'activité des corticosurrénales. Elles sont plus conseillées en massage qu'en prise orale.

Les HE déconseillées en prises orale sont celle d'aneth, cyprès de provence, genévrier, menthe poivrée, mandarine verte, pin douglas, pin sylvestre, sapin baumier, sapin de Sibérie. Ces huiles essentielles doivent être utilisées sur avis médical et sur courte durée [38].

15. Précaution d'emploi

Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées à des fins thérapeutiques, mais beaucoup trop de patients pratiquent l'automédication, sans bénéficier de conseils avisés.

Compte tenu de leur efficacité reconnue, les HE ne sont pas anodins et doivent être utilisées dans le respect de règles bien précises.

L'officine est le lieu privilégié pour se renseigner sur le mode d'administration, la posologie, les précautions d'emploi et la conservation [35, 39].

Les HE sont des substances très actives, dont l'utilisation réclame certaines précautions :

- Utiliser exclusivement des HE 100% naturelles et 100% pures ;
- Choisir les excipients appropriés à chaque voie d'administration surtout pour la voie orale, avec interdiction d'utilisation des HE par voie intraveineuse et intramusculaire [40] ;

- Vérifier les mentions sur l'emballage. Ne jamais prendre des huiles synthétiques intitulées « huile parfumée », « huile odorante », « mélange à base d'huiles essentielles ». Toutes HE vendues dans un flacon en plastique, ou dans un flacon en verre non coloré et foncé, ne doit pas être considérée comme de qualité pharmaceutique. Se détourner de ces HE qui ne présentent pas d'intérêt thérapeutique ;
- Ne pas utiliser chez la femme enceinte ou allaitante. Mais plus précisément c'est pendant les 3 premiers mois de grossesse que les HE sont interdites. Seul un médecin aromathérapeute peut en prendre la responsabilité [31] ;
- Ne pas utiliser chez l'enfant de moins de 6 ans et chez la personne âgée sans un avis médical [31] ;
- Ne pas utiliser en cas d'épilepsie, d'asthme et d'allergies aux molécules aromatiques ;
- Les HE riches en phénols et en aldéhydes sont très agressifs à l'état pur pour la peau et les muqueuses. Elles sont à diluer à 20% avec de l'huile végétale, un Disper ou de l'alcool [41] ;
- Le respect des posologies revêt une importance capitale avec les HE plus qu'avec tout autre produit naturel. Pour éviter tout problème, le patient doit donc bien utiliser les doses conseillées par son pharmacien [39] ;
- Tout contact d'une HE pure avec les muqueuses (les yeux, la bouche, le nez, le vagin et l'anus), ainsi qu'avec une zone irritée ou sensible doit être évité. Le cas échéant, il faut conseiller d'enduire la surface avec une huile végétale la plus grasse possible et de contacter le centre antipoison le plus proche [39].

A horizontal rectangular graphic with a marbled pattern in shades of grey and white. The left and right edges are decorated with scroll-like flourishes. The text is centered within the rectangle.

CHAPITRE III
ETUDE BOTANIQUE

1. Famille des Apiacées

1.1. Généralité

La famille des Apiacées (Apiaceae), anciennement appelée Ombellifères (Umbelliferae), contient environ 3000 espèces [42]. Les plantes de cette famille sont largement utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés pharmacologique et économiques en raison de la présence des métabolites secondaires bioactifs tels que : les saponines, les alcaloïdes les huiles essentielles, les polyphénols, les flavonoïdes, les coumarines (Furano et pyranocoumarins) et les polyacétylènes [43].

1.2. Description botanique

La famille des Apiaceae est une famille de plantes dicotylédones relativement homogène, caractérisée notamment par son inflorescence typique, l'ombelle [44].

- Appareil végétatif : les Apiaceae sont, à quelques exceptions près, toutes herbacées, rarement ligneuses et arbustives, à plan floral fixe, annuelles, bisannuelles ou vivaces [44].
- L'appareil souterrain : racines pivotantes, dures (persil, fenouil) pouvant même se tubériser (carotte) [42].
- La tige : est ordinairement cannelée et creuse par résorption précoce de la moelle au cours de la croissance ; elle est dite fistuleuse [45].
- Les feuilles : sont alternes, sans stipules, généralement découpées et parfois entières, notamment chez les genres *Hydrocotyle* et *Bupleurum* [42].
- Les Fleurs : forment une grappe dense et aplatie, sont en effet groupées en ombelles simples et plus souvent, en ombelles composées, munies de bractées appelées involucelles à la base (Figure 5). Elles sont généralement blanches et plus rarement jaunâtres, verdâtres ou rosées. La disposition des fleurs en inflorescence relativement condensée explique qu'elles soient généralement de petite taille. Leur simplicité et leur régularité caractérisent les Apiacées [45].
- Le pistil unique possède un ovaire infère composé de 2 carpelles, chacun contenant un ovule. La fleur des Apiaceae présente cinq pétales, cinq étamines libres, un calice très réduit, et un stylopode contenant les deux styles [46].

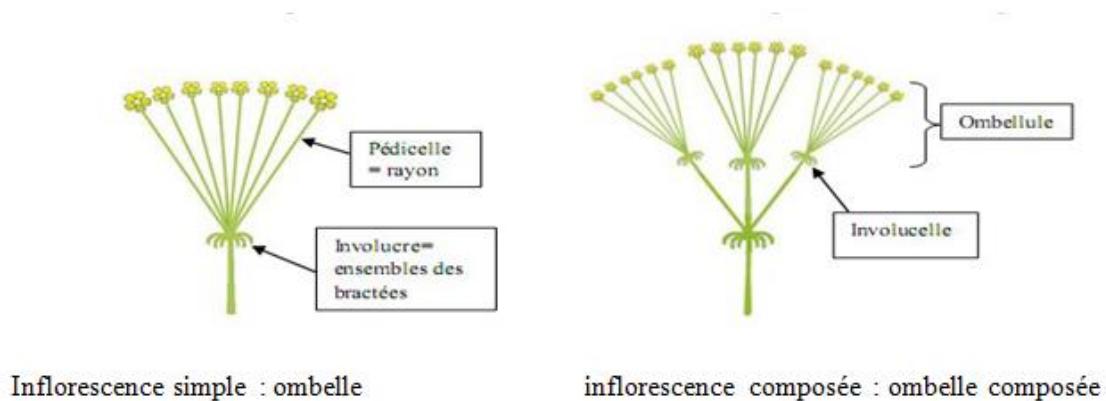


Figure 5: Inflorescence des Apiaceae [44]

Le fruit : est un diakène ou double méricarpe indéhiscents [42].

1.3. Distribution géographique

Les Apiacées sont l'une des familles les plus connues parmi les plantes à fleurs, elles sont réparties sur la majeure partie du globe, plus commune dans les régions tempérées, mais surtout dans l'hémisphère Nord [47]. Les genres présentent une répartition entre les divers continents, avec une prédominance pour le continent asiatique (Figure 6) [48].

La famille des Apiacées occupe une place importante dans la flore Algérienne, elle est représentée par 55 genres [5], 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces [48].

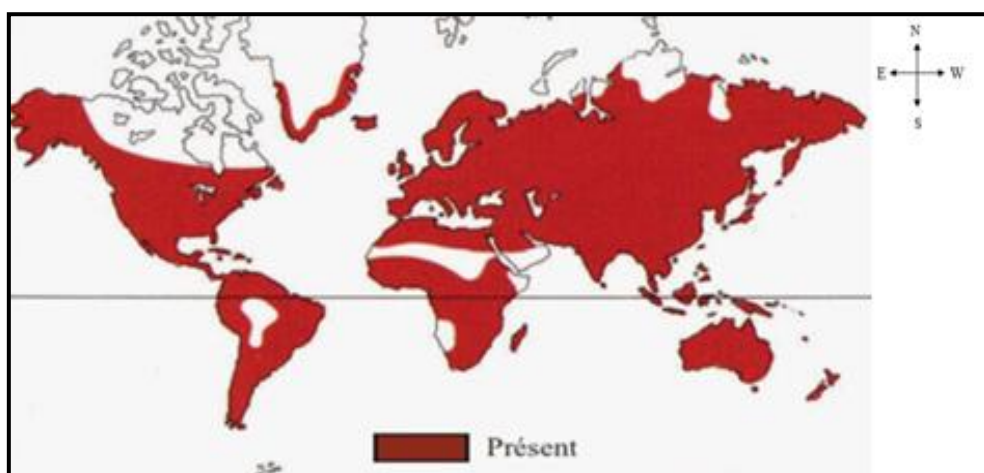


Figure 6: Répartition géographique mondiale des Apiaceae [48]

Tableau II: Répartition mondiale des genres d'Apiaceae [44]

Continent	Genre	Endémique
Afrique	126	50
Amérique	197	52
Asie	265	159
Australie	36	11
Europe	139	29

1.4. Intérêt économique et thérapeutique

➤ Intérêt économique

Les Apiaceae renferment de nombreuses plantes alimentaires et aromatiques :

Anethum graveolens L. (l'aneth), *Apium graveolens* L. (le céleri), *Carum carvi* L. (le carvi), *Coriandrum sativum* (coriandre), *Cuminum cyminum* (le cumin), *Daucus carota* (la Carotte), *Foeniculum vulgare* (le fenouil), *Pastinaca sativa* L. (le panais), *Petroselinum crispum* (le persil) [42].

Certaines espèces sont utilisées comme condiments ou épices, comme :

Carum carvi (le cumin), *Anethum graveolens* (l'aneth), *Pimpinella anisum* (l'anis) *Petroselinum sativum* (le persil), *Foeniculum vulgare* var. (le fenouil) et *Coriandrum sativum* (la coriandre) [47].

D'autres sont utilisées pour liquoristerie et confiserie tel est le cas :

Archangelica officinalis L (l'angélique), *Pimpinella anisum* L. (l'anis) [47].

Certains espèces sont cependant très toxiques, comme : *Aethusa cynapium* (la petite ciguë), *Conium maculatum* (la grande ciguë), *Cicuta virosa* (la ciguë aquatique) [44].

➤ Intérêt thérapeutique

Tableau III: Utilisation en médecine traditionnelle de quelques Apiaceae

Espèces	Utilisation
<i>Ammi majus</i>	Traitement du psoriasis [47].
<i>Ammi visnaga</i>	Antispasmodique, vasodilatateur coronarien, diurétique, antiasthmatique [47].
<i>Anethum graveolens</i>	Antispasmodique digestif ; eupeptique et diurétique [42].
<i>Carum carvi</i>	Traitement de l'indigestion, de la pneumonie Apéritif, galactagogue, carminatif Diurétiques, expectorantes et fortifiantes [49].
<i>Foeniculum vulgare</i>	Antispasmodique, stimulant digestif [42].
<i>Bupleurum sp</i>	Traitement de la grippe A, anti-inflammatoire et régulant le système immunitaire [47].
<i>Petroselinum crispum</i>	Antihypertenseur, diurétique, antispasmodique [42].

2. Genre *Bupleurum*

2.1. Distribution géographique

Bupleurum L. constitue l'un des plus vastes genres de la famille des Apiacées comprend environ 200 espèces réparties dans l'hémisphère nord de la planète, présent en Europe, en Afrique du Nord, en Asie et en Amérique du Nord [50].

En Algérie, le genre *Bupleurum* compte quatorze espèces, dont une endémique stricte et localisée dans le massif de Gouraya et ses environs (Nord-est Algérien) : *plantagineum* Desf et quatre endémiques du Nord-Africain : *B. atlanticum* Murb, *B. montanum* Cosson, *B. balansae* Boiss et Reut et *B. oligactis* Boiss. [5].

2.2. Description botanique

Les Buplèvres comprennent des plantes vivaces, annuelles essentiellement herbacées, arborescentes et rarement arbustives. Les racines sont généralement courtes et ligneuses. La tige est alterne ou à ramifications dichotomiques, verte ou glauque. Les feuilles sont alternes, entières, glabres, limbe membraneux, herbacé ou coriace généralement à nervures parallèles. Les feuilles caulinaires souvent sessiles, agrippantes ou perfoliées.

L'inflorescence est lâche, composée d'ombelles terminales et latérales ; bractées en forme de feuilles avec de nombreuses bractéoles. Dents de calice absentes. Elles contiennent cinq pétales jaunes, rarement violacés oblongs à orbiculaires. Le style est court souvent réfléchi avec un stigmate de forme conique ou discoïde. Le fruit est de type akène plus précisément diakène oblong de forme ovoïde-oblong ou ellipsoïde [5, 51].

2.3. Utilisation en médecine traditionnelle

En Chine depuis 2000 ans, ils ont constatées que les racines de plusieurs espèces de genre *Bupleurum* sont fréquemment utilisées dans les prescriptions en médecine traditionnelle orientale pour le traitement de la rhume avec fièvre, la grippe, la malaria, l'hépatite, ainsi que le syndrome de ménopause [52].

3. Etude botanique de *Bupleurum spinosum* L.

3.1. Dénomination

- Nom scientifique : *Bupleurum spinosum* L.
- Nom vernaculaire : Nom français : Buplèvre épineux
Nom arabe : شبرك, تافا [53]
Nom kabyle : Taffa
- Systématique : selon la classification APG III, *Bupleurum spinosum* L se trouve dans la position systématique suivante :
 - Clade : Angiospermes.
 - Clade : Dicotylédones vraies.
 - Clade : Asteridées.
 - Clade : Campanulidées/Euastéridées II.
 - Ordre : Apiales.
 - Famille : Apiaceae.
 - Genre : *Bupleurum*.
 - Espèce : *Bupleurum spinosum* L.

3.2. Origine terminologique

Le nom *Bupleurum* tire son origine du grec « bous » voulant dire bœufs et pleurons, ou plèvre, qui fait allusion à la consistance assez coriace des feuilles. *Spinosum* fait référence au fait que la plante est recouverte d'épines [53].

3.3. Description botanique

Arbustes épineux pouvant atteindre 40cm de hauteur. La tige est très ramifiée, ligneuses à la base. Les feuilles sont de couleur vert-gris persistantes, étroites, linéaires, coriaces, entières, en forme de lance à 3-5 nervures. Les ombelles présentent 2-7 rayons qui deviennent raides et épineux après la fructification, portant 3 à 6 bractées linéaires. Les ombellules portent 3 à 6 bractéoles. Les fleurs sont jaunâtres avec cinq petits sépales. Le fruit ovoïde de couleur vert-jaune possède des côtes primaires filiformes. La graine possède un endosperme plat (Figure 7) [54, 55].

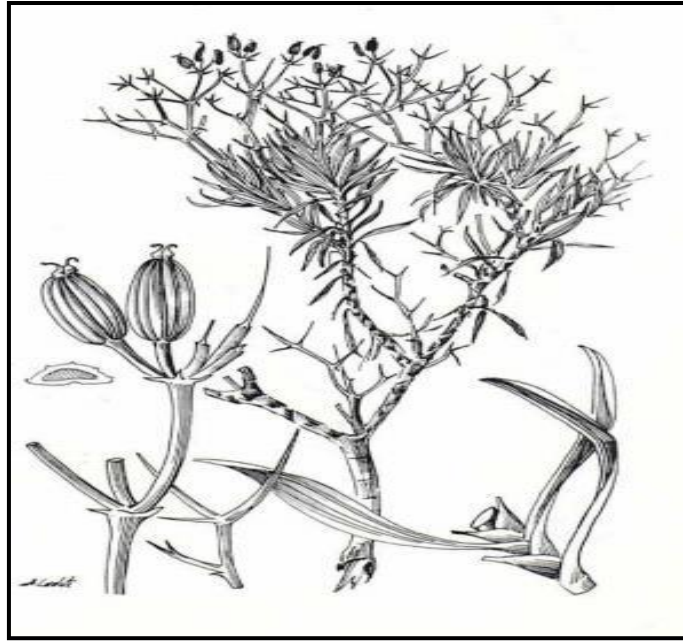


Figure 7: Dessin représentant le *Bupleurum spinosum* L. [55]

3.4. Distribution géographique

Le Buplèvre épineux est présent dans les terrains rocaillieux, fourrés, steppes à xérophytes épineux des moyennes et hautes montagnes, calcaires ou siliceuse [54]. On retrouve cette espèce dans certains pays méditerranéen (hautes montagnes de Nord Afrique) et certains pays d'Europe méridionale. Elle est très commune dans le Tell Algérien [53].

A horizontal rectangular graphic with a marbled paper texture. The left and right edges are decorated with scroll-like folds. The text is centered within the rectangle.

CHAPITRE IV

ÉTUDES ANTÉRIEURES

1. Composition chimique du genre *Bupleurum*

Le genre *Bupleurum* occupe une place importante dans la littérature phytochimique en raison de sa diversité botanique. Il est riches en métabolites secondaires : les saponosides, les flavonoïdes, les lignanes, les coumarines, les stéroïdes, les polyacétylènes, les acides gras [56], les polysaccharides, les acides organiques, les huiles essentielles et plus de 220 composées ont été identifiés dans ces huiles essentielles [57].

1.1. Saponosides

Les saponines tritérpéniques, la classe des composés chimique la plus caractéristique de la famille des Apiaceae. Ils se retrouvent dans la plupart des parties de la plante : dans les racines, les feuilles, le bois, les écorces et les fruits [58, 59].

Dans le genre *Bupleurum*, les saponines ont été les premiers composés étudiés. Ils sont appelés aussi Saikosaponines dérivées du nom japonais "Saiko", le nom commun des *Bupleurum spp.* Ils sont des glycosides triterpènes de la série oléane [60, 61] ou de la série ursane [59]. Les sucres habituellement attachés à la génine sont le glucose, le fucose, le rhamnose, et rarement le xylose.

Tableau IV: Quelques saikosaponines isolés du genre *Bupleurum*

Espèces	Noms des composés	Références
<i>B. chinense</i>	Saikosaponine a, b, d, c	Li 2015 et al [62]
	Prosaikogénine A, D, F, G	Wang 2017 et al [63]
	2''-O-Acétylsaikosaponine a	Yu 2013 et al [64]
	3''-O-Acétylsaikosaponine a	
	6''-O-Acétylsaikosaponine a	
	23''-O-Acétylsaikosaponine a	
<i>B. falcatum</i>	Saikosaponine b2	Shimoaka 1975[65]
	Saikosaponine b3	Ishi 1998 [66]

	Saikosaponine b4 Saikosaponine f Hydroxy saikosaponine a, c, b	Li 2015 et al [62] Ebata 1996 [67]
<i>B. marginatum var Sténophyllum</i>	Saikosaponine a, c, d, h	Ding 1986 et al [68] Fang 2017 [69]
<i>B. scorzonerifolium</i>	Bupleuroside I, III, VI, IX, XIII Saikosaponine u, v	Matsuda1997 [70] Li 1999 [71]

1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes occupent une grande partie des métabolites secondaires. Ils se retrouvent à l'état libre ou sous forme d'hétéroside dont les sucres constituant la partie osidique sont habituellement : le glucose, le galactose, le rhamnose ou l'arabinose [72].

Tableau V: Quelques flavonoïdes isolés du genre *Bupleurum*

Espèces	Noms des composés	Références
<i>B. chinense</i>	Kaempférol Quercitine	Zhang 2010 [73]
<i>B. affine</i>	Kaempférol Quercitine Rutine Narcissine Isorhamnetine-3-glucoside	Gevrenova 2015 [74]
<i>B. fructisum</i>	Kaempférol-3- rutinoside Kaempférol-3-glucoside Quercitine-3-glucoside	Bencheraiet 2011 [75]

1.3. Coumarines

L. Pistelli et ses collègues (1996) ont pu isoler neuf composés de coumarine dans leurs études phytochimiques sur les racines des espèces de *B. fructisum* : Prenyletine, Capensine, Fraxetine, Aescultine, 7-(3-méthyl-2-butenyloxy-6-méthoxycoumarine, 7-(2-hydroxy-3-méthyl-3-butenyloxy)-6-méthoxycoumarine, 5,7-dihydroxy-6-méthoxy-8-(3-méthyl-2-butenyl) coumarine [76].

1.4. Lignanes

Les lignanes sont des composés dimériques, essentiellement formés par la combinaison de deux molécules d'un dérivé de phénylpropane. Les lignanes isolés du genre *Bupleurum* sont de type arylnaphtalène, dibenzyl butyrolactone et furanofuranique [72].

Tableau VI: Quelques lignanes isolés du genre *Bupleurum*

Espèces	Noms des composés	Références
<i>B. salicifolium</i>	Salicifoloil Isokaerophylin Busalicifol Bosaliol	González 1990 [77]
<i>B. acutifolium</i>	(R, Z)-3-(3,4-diméthoxybenzyl)-2-(3,4-diméthoxybenzyl)-γ-butyrolactone (2R, 3S)-2-acétoxy-2, 3bis (3,4-diméthoxybenzyl)-γ-butyrolactone	Barrero 1999 [78]

1.5. Polyacétylènes

Les travaux de Hang et al (2004) réalisés sur *B. longiradiatum* ont permis de mettre en évidence la présence des polyacétylènes tels que: Beupleurotoxine, Acétyl bupleurotoxines, Bupleuronol, Bupleurnol [79].

La présence des polyacétylènes dans *B. chinense* est mis en évidence par Cao et al (2020), qui a isolé le (2Z, 8E)-heptadécadiène-10-oxo-4,6-diyn-1-ol [80].

Barrero et Al (1998) a pu isoler 2 polyacétylènes du *B. spinosum* :

(5 E, 7 E) -Pentadéca-5,7-diène-9,11,13-triyn-2-one et le (8 Z) -Décène-4,6-diyn-1-ol [81].

1.6. Huiles essentielles

Plusieurs études relatives à la composition chimique de l'huile essentielle du genre *Bupleurum* ont été publiées. Parmi les composants de cette huile on trouve :

Les hydrocarbures : α -Pinène, β -Pinène, Δ -3-Carène, Limonène, Myrcène, α -Phellandrene [82].

Les alcools : Terpinen-4-ol [82] géraniol [83].

Les phénols : thymol, carvacrol [83].

2. Activités pharmacologiques de quelques composés isolés du genre *Bupleurum*

2.1. Activités pharmacologique des saikosaponines

La majeure partie de l'activité des *Bupleurum* est due aux saikosaponines. Parmi lesquelles les saikosaponines A, C, D sont les plus actives [84].

2.1.1. Saikosaponine A

La saikosaponine A a un effet immunosuppresseur en supprimant la production d'IL-2, d'IFN- γ et de TNF- α stimulée par la concanavaline A (Con A) dans les cellules T de souris [84].

La saikosaponine A inhibe de manière significative la réaction d'anaphylaxie cutanée passive chez les rats et supprime également la bronchoconstriction asthmatique chez les cobayes sensibilisés [85].

Elle pouvait sensibiliser les cellules cancéreuses à l'apoptose induite par le cisplatine par l'accumulation des espèces réactives d'oxygène (ROS), ce qui peut être attribué à la combinaison des saikosaponines avec le cisplatine. Il s'agit d'une stratégie thérapeutique efficace [84].

La saikosaponine A est également un antioxydant potentiel dans le corps biologique. Il a été étudié que la supplémentation en saikosaponine-A diminuait significativement les activités de l'alanine aminotransférase (ALT) et de l'aspartate aminotransférase (AST), ainsi que les niveaux du cholestérol et des triglycérides du foie dans le plasma de rats présentant des lésions hépatiques induites par le CCl₄ [84].

2.1.2. Saikosaponine D

La saikosaponine présente un effet hépatoprotecteur, en inhibant les lésions hépatiques aiguës et de la peroxydation lipidique induites par une dose aiguë de CCl₄ dans le foie des rats prétraités par la saikosaponine D [86].

Un test in vitro a montré que la saikosaponine-D agit comme un phytoestrogène faible [84].

Elle est un puissant activateur de macrophages.

La saikosaponine D est également dotée d'une puissante cytotoxicité, et il semble que cette activité puisse être bénéfique pour soigner certaines maladies [84].

2.1.3. Saikosaponine C

La structure chimique de cette saikosaponine est différente des autres saikosaponines citées avant, ce qui peut conduire à des activités pharmacologiques différentes :

Il a été démontré que la saikosaponine C présente un effet néphroprotecteur plus puissant que les saikosaponines A et D après injection du sérum néphrotoxique aux cobayes [87].

La saikosaponine-C possède une cytotoxicité, qui pourrait jouer un rôle dans l'inhibition de la réplication de l'ADN du HBV. De plus, elle possède la capacité de stimuler la prolifération cellulaire [84].

2.1.4. Autre saikosaponines

Les saikosaponines B1, B2 et B4 ont un effet inhibiteur sur la pompe $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPase}$ [84].

La saponine IV de *buddleja* et la saponine IV de *malonyl buddleja* se sont avérées posséder des effets hépatoprotecteur [88].

2.2. Activités pharmacologiques des flavonoïdes

Des études pharmacologiques ont démontré que les flavonoïdes des espèces du genre *Bupleurum* avaient des effets inhibiteurs sur le virus de la grippe. Les flavonoïdes totaux de la partie aérienne de *B. chinense* pouvaient soulager de manière significative les processus pathologiques pulmonaires des souris infectées.

Les flavonoïdes contenus dans *B. scorzonerifolium* ont été reconnus pour leurs utilités thérapeutiques dans le traitement des maladies neurodégénératives du système nerveux central [84].

2.3. Activités pharmacologiques des polysaccharides

Les polysaccharides bruts extraits de *Bupleuri radix* peuvent améliorer les activités phagocytaires et inhiber la production de médiateurs pro-inflammatoires induits par le lipopolysaccharide [84].

Les polysaccharides de *B. chinense* protègent les cardiomyocytes contre l'apoptose via l'inhibition du stress oxydatif et de l'apoptose intrinsèque médiée par les mitochondries [89].

La fraction polysaccharidique du *B. falcatum* a un effet antiulcéreux induits par l'acide acétique chez les rats [90].

Les polysaccharides ont un effet immunorégulateur en améliorant les fonctions phagocytaires des macrophages, et en inhibant la production de NO.

Un polyacétylène provenant des feuilles de *B. salicifolium* a montré une puissante activité antibiotique.

En outre, les polysaccharides bruts ont été bénéfiques pour le traitement du lupus érythémateux systémique [91].

2.4. Activités pharmacologiques des extraits

Les extraits de *Bupleurum* ont été évalués in vitro pour déterminer leurs activités antivirale contre le virus de l'herpès simplex, la rougeole [92], HBV, HCV [93] et le virus de l'influenza A [69]. En effet, les extraits ainsi que les saikosaponines ont un effet inhibiteur et plus puissant que la ribavérine contre ces virus [69].

L'extrait méthanolique de *B. fructescens* présente un effet anti inflammatoire en inhibe la production de LTB₄ et de 5HETE ainsi qu'une double action sur la 5LOX et la COX-1[94].

Les extraits éthanolique et aqueux de *B. chinense* ont été examinés pour leur effet antiulcéreux ; l'extrait éthanolique a une action anti-*Helicobacter pylori* plus prononcée que celle de l'ampicilline utilisée comme référence, alors que l'extrait aqueux n'a aucun effet [62]. S'ajoute l'effet analgésique dans les douleurs induites par le formol [94].

2.5. Activités pharmacologiques des huiles essentielles

En tant que groupe de constituants dominants des espèces du genre *Bupleurum*, les huiles essentielles s'avèrent être la matrice pour plusieurs activités pharmacologiques.

L'activité anti-inflammatoire est attribuée aux α -pinène, β -pinène, β -caryophyllène et au Δ -3-carène ; qui sont efficaces contre l'œdème de la patte arrière induit par la carragénine chez les rats ectomisés surrénaliens [82, 83].

Ashour 2009 a évalué l'effet de l'HE de *B. marginatum* sur l'arrêt de la production de PGE2 ainsi que l'inhibition de la lipoxygénase [95].

L'huile essentielle de *B. fruticosum* a montré une activité anti-inflammatoire contre l'inflammation chronique proliférative provoquée par l'implantation du coton dans un modèle d'inflammation proliférative subchronique [96].

Les huiles volatiles ont présenté une activité antimicrobienne significative in vitro contre les germes pathogènes bactériens (Gram positif et Gram négatif) et fongiques. Cette activité peut être attribuée à la présence de benzencarbinol, borneol, verbénone, thymol, paeonol et trans-Z- α -bisabolène époxyde ; ces composants agissent en détruisant l'intégrité cellulaire par inhibition du processus de respiration dans la cellule microbienne [97]. L' α -pinène, myrcène et limonène sont avérés également avoir une activité antibiotique significative [98].

L'huile volatile de *B. fruticosum* présente une activité antifongique contre les levures, les souches de dermatophytes et d'*Aspergillus* [99].

Cependant, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle peut aussi être corrélée aux effets synergiques de tous composants chimiques présents dans l'huile [95].

L'huile essentielle de *B. longiradiatum* présente une activité antioxydante évaluée par le test radicalaire de DPPH [96]. L'inhibition de la peroxydation lipidique induite par FeSO₄, H₂O₂ et CCl₄ a été évaluée en mesurant les produits de l'oxydation lipidique tels que les espèces réactives de l'acide thiobarbiturique (TBARS) et les résultats ont montré que l'huile essentielle inhibe la formation de TBARS [98].

L'effet de sédation des huiles volatiles a été vérifié, car il a montré une activité antispasmodique sur les contractions utérines de rat provoquées par l'ocytocine [96].

Les huiles essentielles possèdent une forte cytotoxicité contre de nombreuses cellules cancéreuses. L'essai MTT a montré que la valeur IC₅₀ de 46,01 μ g/mL indique la plus haute activité dans la cellule CCRF-CEM activité dans la lignée cellulaire CCRF-CEM après 24 heures de traitement [95].

3. Composition chimique de *Bupleurum spinosum* L

Les études phytochimiques effectuées sur *Bupleurum spinosum* ont révélé leur richesse en métabolites secondaires. La plupart de ces métabolites secondaires isolés appartiennent aux classes des saikosaponines, parmi ces dernières on cite : Saikosaponines a, Saikosaponines b3[100] ;

Acide 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-β-D-fucopyranoside, 3β, 16α, 23,28-tétrahydroxyoléane-11,13(18)-diène-30-oïque 3)-β-D-fucopyranoside ;

3β, 16α, 23, 28,30-pentahydroxyoléane-11,13(18)-diène 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-β-D-fucopyranoside[100].

Les études effectuées sur l'espèce algérienne ont révélé la présence de ces saikosaponines :

3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl-3β, 16β, 23,28-tétrahydroxyoléane-12-ène.

3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl-3β, 16β, 28-trihydroxy-23-oxooléane-12-ène.

Acide 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[α-L-rhamnopyranosyl(1→4)]-β-D-glucopyranosyl-3β,16β,28-trihydroxyoléane-12-ène-23-oïque [101] .

D'autres études ont permis de mettre en évidence les flavonoïdes (tamaréxetine et l'isorhamnetine), les polyacétylènes, le bétuline et le germacrène [81].

4. Activité antioxydante

4.1. Stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme étant l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces pro-oxydantes suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue de ces espèces, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante [102]. Ce déséquilibre peut endommager certaines macromolécules (acides nucléiques, lipides et protéines) et conduisant à l'apparition des diverses maladies [103].

❖ Espèces pro-oxydantes

Toute espèce qui provoque ou induit une oxydation, en inhibant un système anti-oxydant ou en produisant des espèces réactives de l'oxygène ou de l'azote. Parmi ces dernières, figurent les radicaux libres.

L'origine des pro-oxydants est endogène (respiration mitochondriale ; enzymes telles que cytochromes P450, NADPH oxydases,...) et exogène (xénobiotiques : polluants et médicaments, électrophiles et rayonnements) [104].

❖ Radicaux libres

Il s'agit d'un atome ou d'une molécule qui contient un ou plusieurs électrons non pairés, suite à la perte d'un ou plusieurs électrons de l'orbite externe, aboutissant à la formation d'une demi-liaison qu'il faut satisfaire par un pillage local d'électrons. Les radicaux libres ont une demi-vie très courte (quelques nanosecondes à quelques millisecondes) [105].(Figure 8)

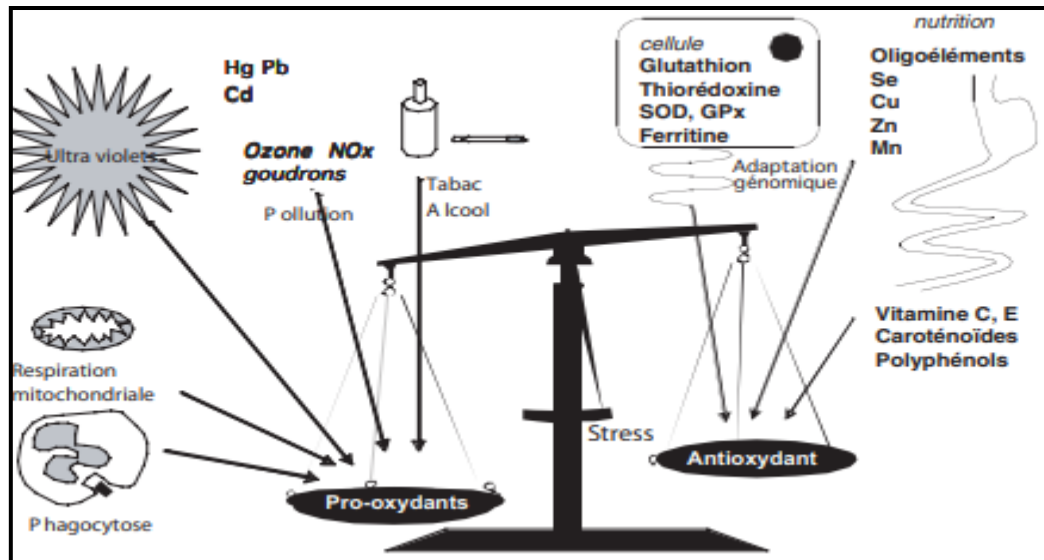


Figure 8: Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants [106]

4.2. Antioxydants

4.2.1. Définition des antioxydants

Les antioxydants sont des substances d'origine endogène ou exogène qui servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour les neutraliser et minimiser les dommages oxydatifs [104].

Les antioxydants sont utilisés en très faible quantité (<1% généralement 1-1000 mg/L) par rapport à la quantité de matière qu'ils doivent protéger [107].

4.3. Types des systèmes antioxydants

A. Systèmes de défense enzymatique

❖ Les superoxyde dismutases (SOD) : sont des métalloprotéines, représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène [108].



❖ Les glutathion peroxydases (GPxs) : une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Elle est appelée

"antioxydant principal" et se trouve dans chaque cellule du corps. Son rôle principal consiste à l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés [109]. Elle maximise également l'activité de tous les autres antioxydants [110].



❖ Le système thiorédoxine : l'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit. La thiorédoxine régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR), possède un groupement sélénocystéine dans son site actif. Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique [109].

B. Systèmes de défense non enzymatiques

❖ Glutathion et les protéines-thiols : La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements « thiols » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées [111].

❖ La vitamine C : un excellent piègeur des ROS ($\text{HO}\cdot$ ou $\text{O}_2\cdot^-$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. L'homme doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits [109].

❖ La vitamine E : C'est une vitamine liposoluble ; existe sous deux formes l' α - et le γ -tocophérol. Elle se localise dans les membranes cellulaires ou dans les transporteurs de lipides répartis dans les différentes lipoprotéines plasmatiques.

Elles jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes ($\text{ROO}\cdot$) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique. Si l' α -tocophérol est le plus abondant, il semble que le γ -tocophérol soit le plus efficace à ce niveau [112].

❖ Les caroténoïdes : sont des molécules liposolubles. Les plus connus sont l'astaxanthine, le lycopène, la beta-carotène, la lutéine et la zéaxanthine. Le chef de file des caroténoïdes est cependant la β -carotène, également appelée provitamine A. Elle participe à l'arrêt du processus de la peroxydation lipidique [113].

❖ Le coenzyme Q10 : présente un caractère lipophile qui lui permet de s'insérer dans les membranes et les lipoprotéines. Il joue un rôle essentiel dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons et dans la peroxydation lipidique en synergie avec la vitamine E [109].

❖ L'acide urique : produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il se trouve majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux ($\text{OH}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$, $\text{NOO}\cdot$...). L'acide urique peut être oxydé en différents produits dont le prédominant est l'allantoïne qui augmente dans les muscles en cas d'effort puis elle sera régénérée par la vitamine C [109].

❖ La bilirubine : est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. Elle est capable de piéger les radicaux peroxy ($\text{ROO}\cdot$) et l'oxygène singulet. Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires [109].

❖ Les polyphénols : sont d'excellents piègeurs des ROS et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre. Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. Ils sont présents sous forme d'anthocyanine, de flavonoïdes et sous forme d'épicatéchine [109].

❖ Les oligoéléments : sont des micronutriments qui sont fortement impliqués dans l'homéostasie énergétique. Parmi ces oligoéléments on trouve le cuivre, le zinc, le sélénium, le manganèse ; servent notamment de cofacteurs des enzymes antioxydantes [114].

4.4. Activité antioxydante des huiles essentielles

Les espèces réactives d'oxygène provoquent l'oxydation des macromolécules essentielles pour nos cellules notamment les protéines, les acides aminés et l'ADN ; et produisant des altérations moléculaires liées au vieillissement, à l'athérosclérose, au cancer, à l'Alzheimer et au diabète.

Pour rétablir l'équilibre entre ces radicaux libres et les antioxydants, un apport externe d'antioxydant est nécessaire [115].

L'utilisation des HE en tant qu'antioxydants naturels suscite un intérêt croissant car certains antioxydants synthétiques, tels que le BHA et le BHT, sont désormais soupçonnés d'être potentiellement dangereux pour la santé humaine [107].

L'activité antioxydante de 423 huiles essentielles de 48 familles botaniques différentes a été évaluée ; en tant qu'agents de piégeage des radicaux libres en utilisant la méthode du 1,1-

diphényl-2-picrylhydrazyl. Soixante-treize huiles ont montré une inhibition de 50 % ou plus à une concentration de 1,25 mg/ml.

Toutes les huiles essentielles testées peuvent être classées selon leur pouvoir de piégeage des radicaux libres en 3 groupes allant de faiblement actif à extrêmement actif.

Les huiles essentielles de Frankincensea, Lamiaceae, Lauraceae, Leguminosae, Magnoliaceae, Myrtaceae, Scrophulariaceae, et Zingiberraceae se sont révélées les huiles essentielles les plus actives sur le plan antioxydant.

Les huiles essentielles des familles Annonaceae, Apiaceae, Asteraceae, Burseraceae, Cucurbitaceae, Cupressaceae, Myristicaceae, Piperaceae, Poaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Schisandraceae, Solanaceae, Thymelaeaceae et Valerianaceae se sont révélées modérément actives.

Tandis que les huiles essentielles des familles Acoraceae, Alliaceae, Anacardiaceae, Betulaceae, Burseraceae, Canellaceae, Cannabaceae, Cistaceae, Clusiaceae, Cyperaceae, Elaeagnaceae, Ericaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Meliaceae, Onagraceae, Pinaceae, Rutaceae, Saccharomycetaceae, Santalaceae, Verbenaceae et Vitaceae se sont révélées inactives ou faiblement actives.

Toutes les huiles essentielles qui ont montré une forte inhibition à l'essai du DPPH ont également été trouvées actives dans le test de blanchiment du β -carotène, avec une inhibition supérieure à 95% [116].

➤ Les composants responsables de l'activité antioxydante des huiles essentielles

Cette activité est due à la capacité inhérente de certains composants, en particulier les phénols, d'arrêter ou de retarder l'oxydation aérobie de la matière organique. Même si le procédé d'obtention de l'huile à partir de la matière première ; (hydrodistillation) limite la teneur en phénoliques dans la matrice finale car de nombreux composés de ce type sont non volatils. Cependant, il existe des HE sans phénol qui expriment un comportement antioxydant. Ce comportement est dû à la chimie des radicaux de certains terpénoïdes et d'autres constituants volatils tels que les alcools monoterpéniques, les cétones, les aldéhydes, les hydrocarbures et les éthers, les composants soufrés [111, 112].

L'eugénol, l' α -pinène, le sabinène, le myrcène, le limonène, le cinéole, le linalol, le tanéthole, le benzoate de benzyle, le cinnamate de benzyle, le β -caryophyllène, l' α -copaène, les monoterpènes et les sesquiterpènes sont les plus antioxydant [111, 112].

4.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes ont été développées pour estimer la capacité antioxydante. Leur principe de fonctionnement se base sur la réaction fondamentale d'oxydation-réduction impliquant soit un transfert d'électron soit un transfert d'un atome d'hydrogène [117].

Suivant les réactions d'oxydoréduction impliquées, la majorité des méthodes d'évaluation de la capacité antioxydante peut être divisée en deux catégories. La première catégorie est SET (Single Electron Transfer) : ces méthodes sont basées sur le transfert d'électron. Elles mesurent la capacité d'un antioxydant à transférer un électron non accompagné d'un atome d'hydrogène pour réduire les ERO. La seconde catégorie est HAT (Hydrogen Atom Transfer): ces méthodes sont basées sur le transfert d'un atome d'hydrogène. Elles mesurent donc la capacité d'un antioxydant à neutraliser les ERO par le don d'hydrogène [118].

D'autres méthodes utilisent les deux principes à la fois le transfert d'électron et le transfert d'hydrogène [103].

4.5.1. Méthodes utilisant les mécanismes de transfert d'hydrogène

Les méthodes HAT consistent à mesurer la capacité d'un antioxydant à neutraliser les radicaux libres par transfert d'hydrogène [119].



a. ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity Méthod)

Cette méthode est utilisée pour tester le pouvoir antioxydant contre le radical induit par le dichlorhydrate de 2,2'-azobis-(2-amidino-propane) (AAPH) en utilisant la β -phycoérythrine (β -PE) ou la fluorescéine comme molécule cible [120].

b. TRAP (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter)

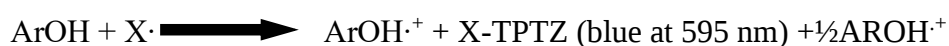
Elle est basée sur la protection fournie par les antioxydants sur la décroissance de fluorescence de la R-phycoérythrine (R-PE) éteinte par l'ABAP (chlorure de 2,20-azo-bis(2-amidino-propane)) pendant une réaction de peroxydation contrôlée [121].

c. HORAC (Hydroxyl Radical Averting Capacity)

Cette méthode mesure la capacité de l'activité chélatrice des métaux antioxydants pour atteindre les radicaux OH générés par un système type fenton à base d'un complexe Cu(II) mélangés avec de la fluorescéine [120].

4.5.2. Méthodes utilisant les mécanismes de transfert d'un électron unique (SET)

Les méthodes SET mesurent la capacité d'un antioxydant à réduire un oxydant [119].



a. CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity Method)

C'est la capacité des antioxydants mélangés avec le CuSO₄ et le néocuproïne à réduire le Cu(II) en Cu(I) [120].

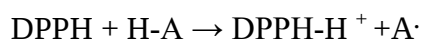
b. FRAP (Potassium Ferricyanide Reducing Power)

Une technique colorimétrique basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à réduire un complexe ferrique (Fe (III)) et le chlorure de 2,3,5-triphényl-1,3,4-triaza-2-azoniacyclopenta-1,4diène en forme fer ferreux (Fe (II)) à faible pH, en mesurant les changements d'absorption à l'aide d'un spectrophotomètre à barrettes de diodes [120].

4.5.3. Méthodes utilisant le transfert d'électron et d'hydrogène

a. DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

C'est une méthode simple, rapide et peu coûteuse. basée sur la capacité d'un antioxydant (utilise le trolox comme antioxydant standard) à réduire la 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl en présence d'un donneur d'hydrogène (AH) en DPPH réduit (DPPHH) accompagné de sa décoloration du violet au jaune [120, 110].



Violet

Jaune

b. ABTS (2,2-azinobis (3-éthylbenzthiazolin-6-sulfonique))

Elle mesure la capacité des antioxydants à neutraliser le cation radical stable : 2,2-azinobis (3-éthylbenzthiazolin-6-sulfonique) en ABTS cationique (ABTS^{•+}) sous l'action de persulfate de potassium ou de dioxyde de manganèse [120].

5. Activité antibactérienne**5.1. Résistance bactérienne aux antibiotiques**

Depuis leur découverte au milieu du siècle passé et jusqu'à ces dernières années, les antibiotiques ont été considérés comme des médicaments dont l'efficacité clinique n'était quasiment jamais mise en défaut. Cela n'est plus vrai aujourd'hui, car les bactéries pathogènes, suite à leur flexibilité et plasticité génétique, sont capables de mettre en place un programme de résistance spécifique contre un antibiotique particulier. En effet, certaines souches arrivent à rétablir une multirésistance vis-à-vis de plusieurs antibiotiques à la fois donnant lieu à ce qu'on appelle les bactéries multirésistantes aux antibiotiques [122].

Les conséquences collectives et individuelles de la résistance bactérienne sont très grave en termes d'échec thérapeutique, de morbidité, de mortalité, mais aussi par leur poids considérable de consommation de soins, d'examens et de journées d'hospitalisation [123].

5.2. Définition de la résistance aux antibiotiques

Un germe est dit résistant quand la concentration d'antibiotique qu'il est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre in vivo [124].

5.3. Type des résistances aux antibiotiques

On distingue deux situations principales :

- La résistance naturelle (ou intrinsèque) est celle qui est présente dans toutes les souches de l'espèce considérée. Elle est censée préexister à l'usage des antibiotiques. Elle constitue donc une caractéristique propre à l'espèce et délimite en fait le spectre d'activité des antibiotiques.
- La résistance acquise résulte, quant à elle, de l'utilisation des antibiotiques et ne concerne qu'un certain nombre de souches, qui se distinguent ainsi des souches sauvages au sein d'une espèce bactérienne donnée [123].

Pour acquérir une résistance, les bactéries mettent en jeu quatre types de stratégies (Figure 1) qui sont toutes sous contrôle génétique. Dans la première dite offensive, la bactérie produit une enzyme appelée β -lactamase capable d'inactiver l'antibiotique. La deuxième stratégie dite d'évitement consiste à une modification de la cible de l'antibiotique qui rend ce dernier inefficace. Dans la troisième dite de contournement l'antibiotique atteint sa cible et interagit avec elle, mais la bactérie est capable d'utiliser d'autres voies métaboliques pour compenser le manque d'activité de la cible primaire et enfin la quatrième stratégie consiste soit à empêcher l'entrée de l'antibiotique dans la bactérie, soit à l'expulser, c'est le phénomène d'efflux actif [124, 125]. (Figure 9)

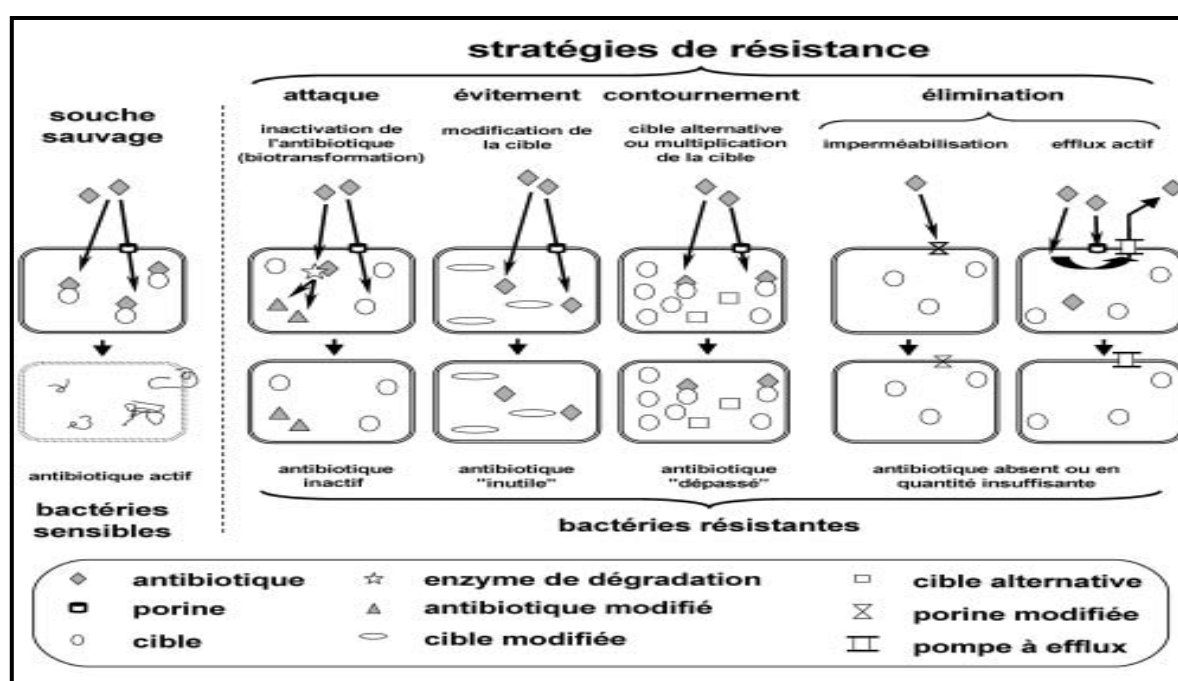


Figure 9: Principales stratégies mises par les bactéries pour résister à l'action des antibiotiques [123]

5.4. Activité antibactérienne des huiles essentielles

Les propriétés antibactériennes des HEs sont connues depuis longtemps et aujourd'hui, un bon nombre de publications importantes ont confirmé leur effet bactériostatique et bactéricide contre des souches bactériennes pathogènes même parfois à de très faibles concentrations [126].

L'action des HEs s'exerce sur un large spectre de bactéries, incluant les bactéries Gram positifs et les bactéries Gram négatifs [127].

Plusieurs molécules présentes dans les HE sont douées de propriétés antibactériennes, en particulier les phénols (tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol), les alcools (tels que le linalool), les aldéhydes (tels que le cinnamaldéhyde) et les hydrocarbures (tel que le limonène et le *p*-cymène) [128].

➤ **Site d'action des huiles essentielles**

La structure chimique des constituants des HE conditionne leur mode d'action antibactérienne. Compte tenu du nombre de différents groupes de composés chimiques présents dans les HE, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuée à un mécanisme spécifique mais qu'il y ait plusieurs cibles dans la cellule [128]. (Figure 10)

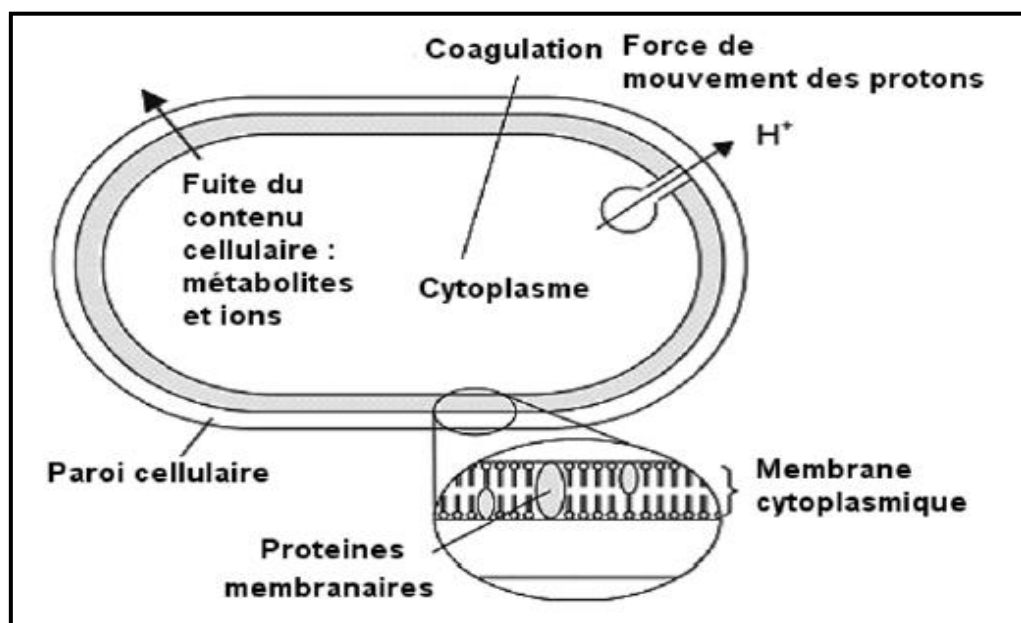


Figure 10: Principaux sites d'action des huiles essentielles [128]

a. Action sur la membrane cellulaire

Le caractère lipophile des molécules constituant les HE les rend capables de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane cellulaire et de s'accumuler entre les phospholipides, entraînant des changements de conformation et éventuellement un manque de régulation de la membrane cellulaire, ce qui perturbe ainsi le transport membranaire des substances nutritives. Le transport membranaire peut aussi dysréguler via la perturbation du gradient ionique de deux côtés de la membrane cytoplasmique [122].

b. Action sur la paroi cellulaire bactérienne

Les HE exercent cette action par entraînement d'une fuite de la membrane cellulaire et par augmentation de leur perméabilité. Cette perméabilité sera l'origine d'une perte d'ions, d'une réduction du potentiel membranaire [129].

c. Action sur les acides gras membranaires

Les HE, grâce à leurs caractères hydrophobes affectent la biosynthèse des lipides, y compris les acides gras insaturés, et modifient ainsi la structure de la membrane cellulaire. Cela cause légèrement des perturbations au niveau de l'enveloppe externe de la cellule traduisant ainsi des modifications structurales de la membrane.

Les HE affectent également les enzymes responsables de la biosynthèse de ces derniers, en inhibant par différents mécanismes la désatérase et le cis-trans isomérase ; enzymes impliquées dans l'anabolisme et la conversion des acides gras [122].

d. Action sur les protéines

Les différents composants des HE peuvent agir sur les protéines présentes dans les bactéries et peuvent affecter la division cellulaire. Le cinnamaldéhyde, par exemple, est capable d'inhiber la séparation des cellules de *Bacillus cereus* ainsi que la division cellulaire [122].

e. Mode d'action contre l'ATP

La modification dans la membrane cellulaire affecte légèrement le processus du couplage énergétique conduisant à une perturbation entre l'équilibre du pool d'ATP intra- et extracellulaire. Par exemple, l'utilisation de l'HE d'origan contre *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* a réduit significativement le taux d'ATP intracellulaire via la perturbation de la chaîne respiratoire au niveau membranaire [122].

f. Action contre le quorum sensing (QS)

Le quorum sensing appelé encore phéromone bactérienne, est l'ensemble des molécules qu'utilisent les bactéries pour coordonner et assurer la communication entre elles. Cette communication assure un certain nombre de fonctions cellulaires telles que l'expression des facteurs de virulence, la bioluminescence, la sporulation, la formation de biofilms et l'accouplement.

Certains composés isolés des HE ont montré leur efficacité contre le QS. La cinnamaldéhyde a inhibé la bioluminescence chez *Vibrio harveyi* BB170 et l'eugénol chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Chromobacterium violaceum* via l'inhibition de la production des facteurs de virulence tels que le violacéine, l'élastase, la pyocyanine et le biofilm [122].

A horizontal rectangular graphic with a marbled paper texture. The left edge is a vertical strip, and the top and bottom edges are slightly curved. The text is centered within the main body of the graphic.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

A horizontal rectangular graphic with a marbled paper texture. The left edge is a vertical strip, and the right edge has a small circular detail at the top. The text is centered within the main body of the graphic.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Cadre d'étude

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de botanique médicale de la faculté de médecine UMMTO et du laboratoire de microbiologie du CHU Nedir Mohammed de Tizi-Ouzou ; durant la période de Mars à Juin 2021 (Figure 11).

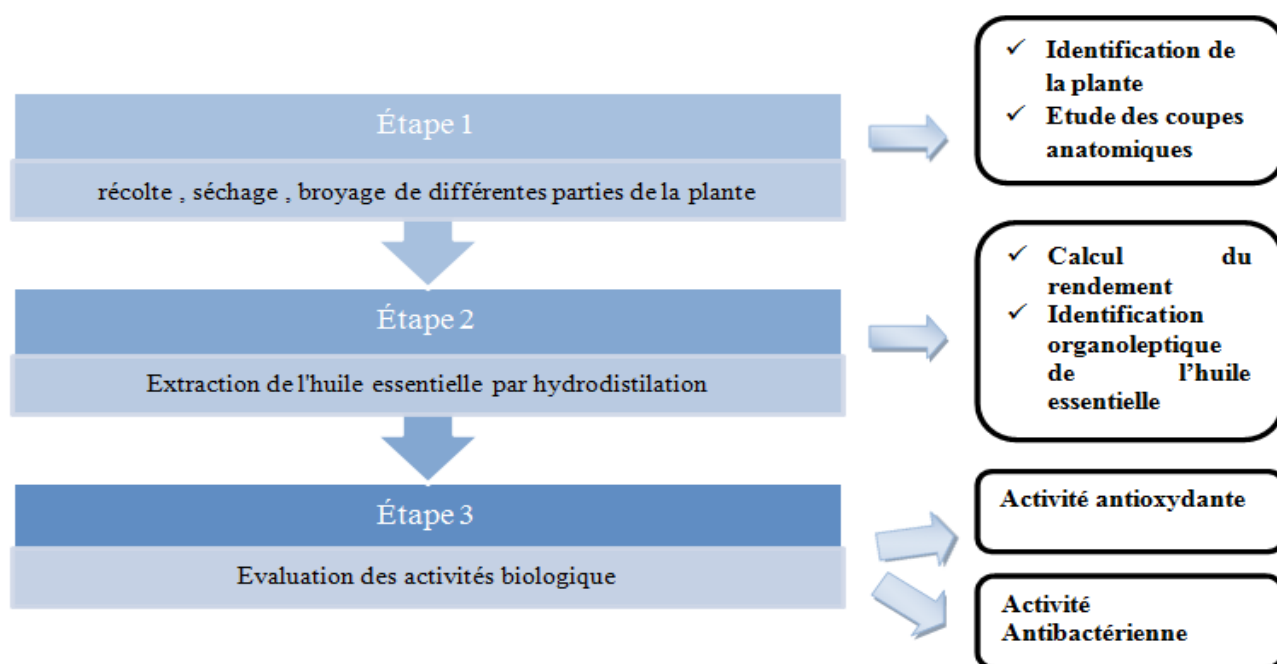


Figure 11: Diagramme du travail expérimental

II. Matériels

1. Appareillages et équipements

- Microscope optique
- Loupe binoculaire
- Balance analytique
- Hydrodistillateur
- Chauffe ballon
- Spectrophotomètre UV-Visible
- Vortex
- Etuve

MATÉRIELS ET MÉTHODES

- Densitomètre
- * **Équipement et consommables**
- Verreries
- Micropipettes
- Boîtes de Pétri
- Ecouvillons
- Disques en papier buvard
- Disques d'antibiotiques

2. Produits

Les produits et les milieux de culture utilisés sont cités dans le tableau suivant (Tableau VII).

Tableau VII: Produits et milieux de cultures utilisés

Produits Chimiques	Bleu de méthyle Rouge Congo Réactif de Gazet Glycérine Solution méthanolique de DPPH Solution méthanolique du BHT
Solvants	Hypochlorite de sodium Eau distillée Méthanol Eau physiologique
Milieux de culture	Gélose nutritive Milieu Chapman Milieu Hecktoen Milieu Muller Hinton Agar

3. Matériel biologique

3.1. Matériel végétal

La plante *Bupleurum spinosum* L., provienne du village Tirourda, commune d'Ifarhounène dans la wilaya de Tizi-Ouzou (Figure 12). La plante fraîche est récoltée au mois d'Avril 2021 par Dr Dahmoune (Maitre assistante en botanique médicale et cryptogamie à la faculté de médecine, UMMTO).



Figure 12: Photographie du lieu de récolte de *Bupleurum spinosum* L. (col de Tirourda)

3.2. Microorganismes

Les 3 souches bactériennes ATCC (American Type Culture Collection) Gram- : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et Gram+ : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 utilisées nous ont été fournies gracieusement par le laboratoire de Microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou.

III. Méthodes

1. Etude botanique de *Bupleurum spinosum* L.

La reconnaissance de la plante est faite au niveau du laboratoire de Botanique Médicale, en présence de Dr Dahmoune (Maitre assistance en botanique médicale et cryptogamie à la faculté de médecine, UMMTO).

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les fleurs sont préalablement ramollies dans l'eau. Les ombelles de *B. spinosum* ont été étudiées à l'aide d'une loupe binoculaire.

➤ Loupe binoculaire

La loupe binoculaire est un instrument d'optique donnant une image agrandie et en relief de l'objet observé, à travers deux oculaires donc avec les deux yeux. Elle permet d'observer des objets qui peuvent être épais et ne demandent aucune préparation, la mise au point se faisant par une molette qui déplace le tube le long de la colonne (Figure 13).



Figure 13: Loupe binoculaire

2. Etude histo-anatomique de *Bupleurum spinosum* L.

Afin de mettre en évidence les spécificités morphologiques et histo-anatomiques de la plante, des coupes histologiques ont été réalisées au niveau de la tige, de la racine et des feuilles puis colorées par la technique de la double coloration et observées.

2.1. Technique de double coloration

Parmi les techniques de coloration, une seule reste plus utilisée ; c'est la technique de double coloration. Elle permet de réaliser la différenciation de certains tissus en utilisant le Vert de méthyle - Rouge Congo [130].

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Cette coloration consiste, en général, en une coloration des parois celluliques en rouge grâce au Rouge Congo, les tissus lignifiés en vert grâce au Vert de Méthyle, les parois subérifiées en marron et la cuticule en jaune.

Les réactifs de la double coloration ont été préalablement préparés comme suit :

- Vert de méthyle : nous avons dissout 0.5g de Vert de Méthyl dans 50 ml d'acide acétique puis, nous avons dilué la solution dans 500 ml d'eau distillée.
- Rouge Congo : nous avons dissout 0.5g de Rouge Congo dans 50 ml d'ammoniaque puis nous avons dilué la solution dans 500 ml d'eau distillée.

2.2. Réalisation des coupes

A l'aide d'une lame à rasoir bien affûtée et une lame en verre, nous avons réalisé une série de coupes transversales très fine et plane au niveau de la tige, de la racine et des feuilles. Les feuilles sont préalablement ramollies dans l'eau (figure 14).

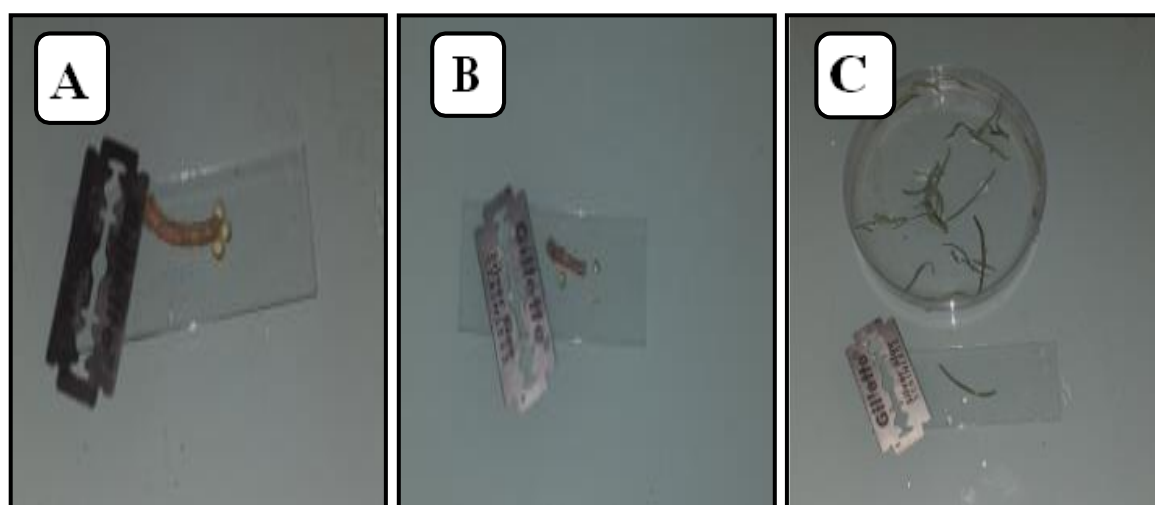


Figure 14: Réalisation des coupes de *Bupleurum spinosum* L. au niveau de : **A-** la tige ; **B-** la racine ; **C-** la feuille

- Destruction du contenu cellulaire, par immersion des coupes dans un verre de montre contenant une solution d'hypochlorite de sodium pendant 15 à 20 minutes (Figure 15-A) ;
- Rinçage soigneux des coupes, en les faisant passer successivement dans l'eau afin d'éliminer toutes traces d'hypochlorite de sodium ;
- Coloration au Vert de méthyle pendant 4 minutes (Figure 15-B).

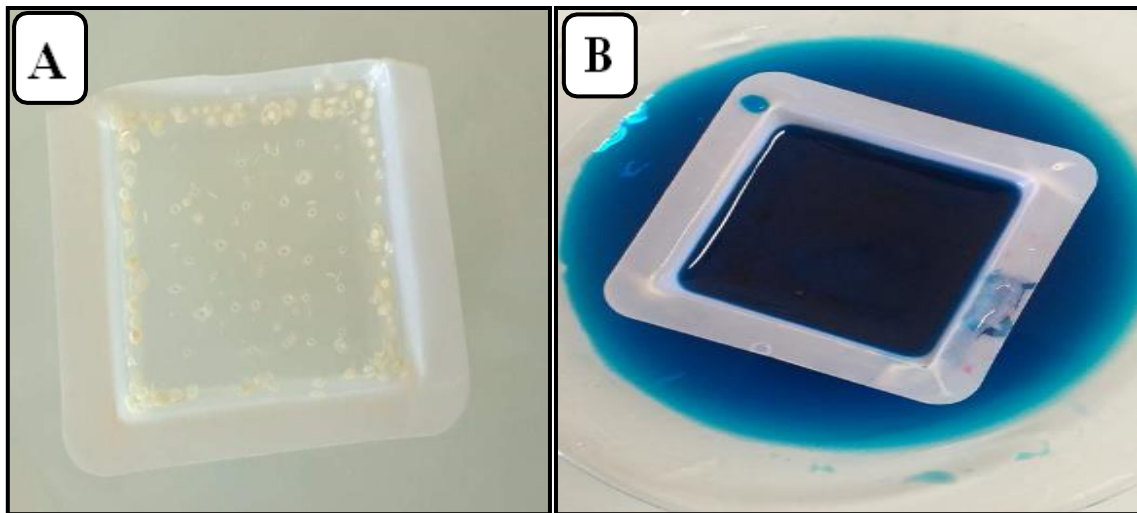


Figure 15: **A-** Coupes minces dans l'hypochlorite de sodium ; **B -** Coupes minces dans le Vert de méthyl

- Rinçage répété à l'eau distillée pour éliminer l'excès de colorant ;
- Coloration au Rouge Congo pendant 3 minutes et 30 secondes (Figure 16-A) ;
- Rinçage final répété à l'eau de robinet (Figure 16-B).

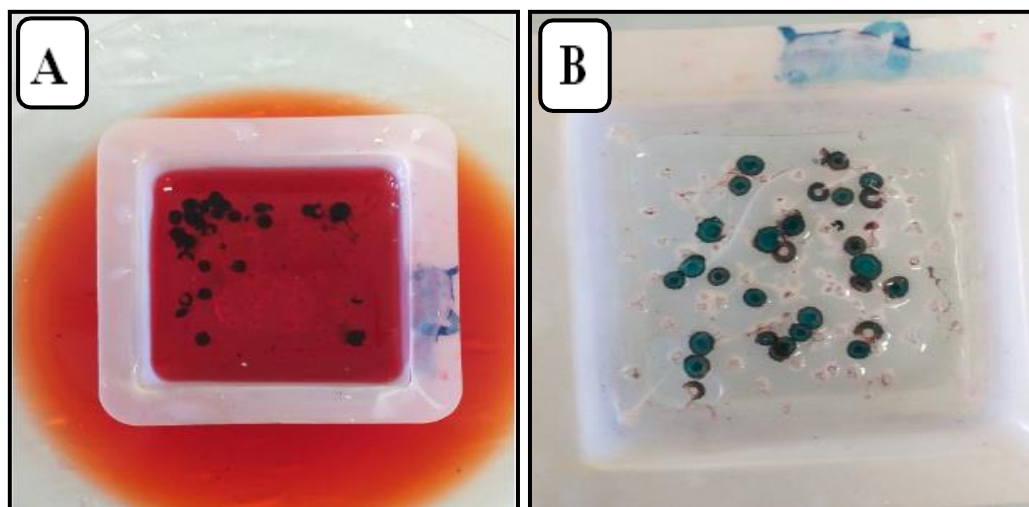


Figure 16: **A-** Coupes minces dans le Rouge Congo ; **B-**Coupes après rinçage final

2.3. Conservation des coupes

Afin d'observer ultérieurement les coupes anatomiques réalisées, elles sont conservées dans l'eau et la glycérine pour éviter leurs déshydratation (Figure 17).

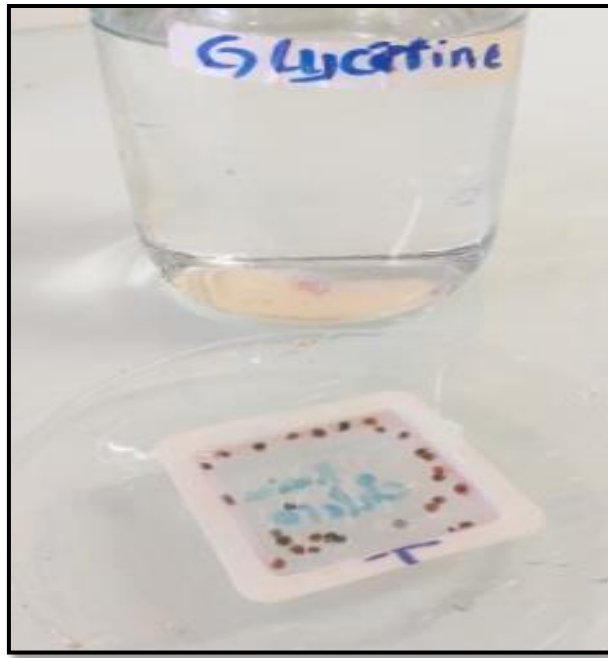


Figure 17: Coupes conservées dans l'eau et la Glycérine

2.4. Montage des coupes

Il y a lieu de choisir les coupes les plus fines, à insérer entre lame et lamelle à l'aide d'une pince, sans oublier de les immerger dans une goutte d'eau et les observer au microscope optique avec les différents grossissements (G 10x4), (G 10x10) et (G 10x40). Les meilleures coupes observées ont été prises en photos (Figure 18).

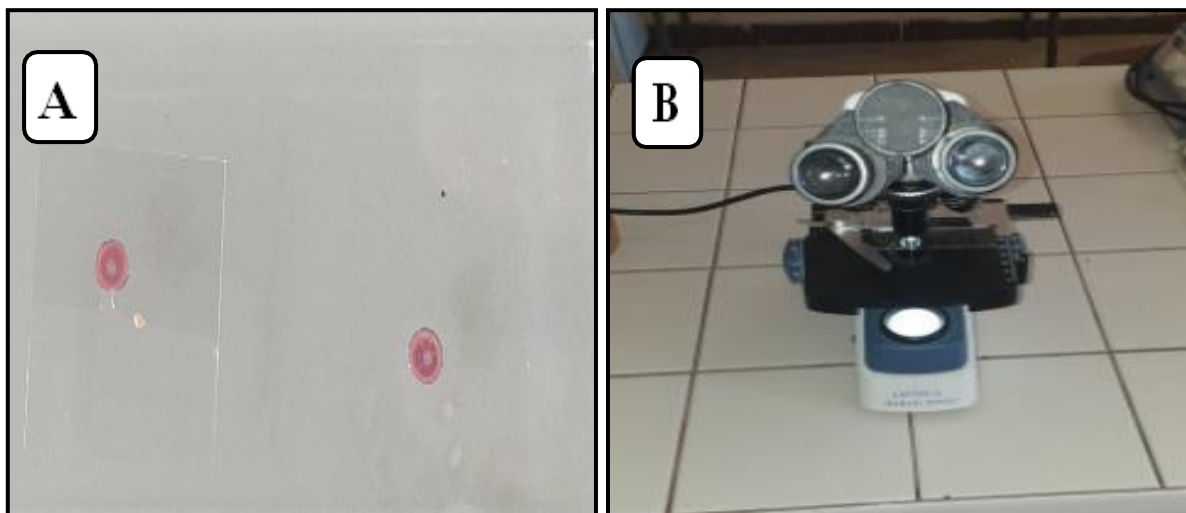


Figure 18: A- Coupes entre lame et lamelle; B- Microscope optique

3. Etude microscopique de la poudre de *Bupleurum spinosum* L.

Sur une lame porte objet, une fine couche de la poudre de la plante entière de *B. spinosum* a été déposée, à laquelle est ajoutée une goutte du réactif de GAZET jusqu'à ce que la poudre soit mouillée. Ensuite elle est couverte d'une lamelle en appuyant légèrement avec le doigt. Enfin, elle est observée par le microscope optique (Figure 19).

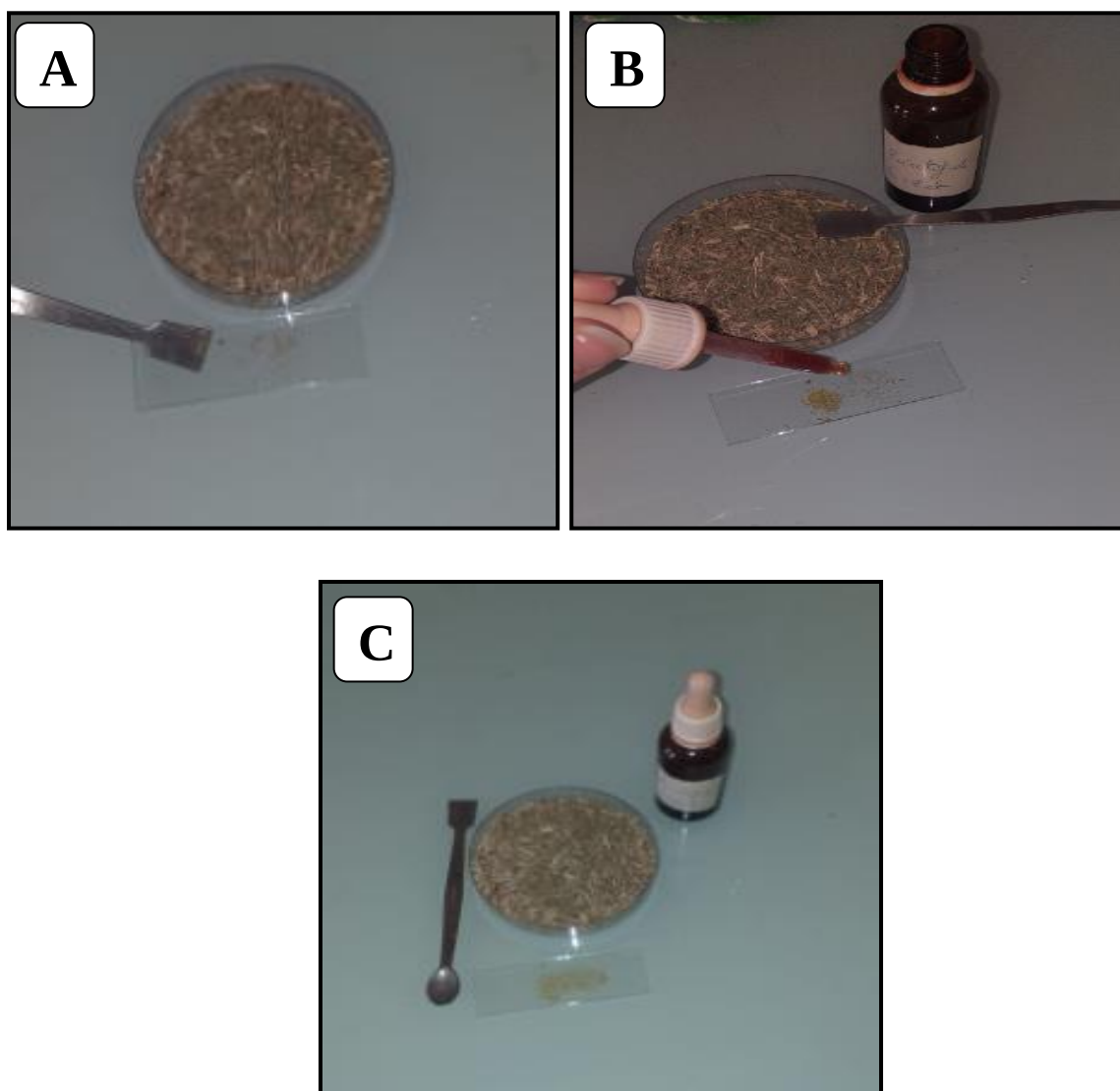


Figure 19: Etapes de réalisation d'une lame pour l'observation microscopique de la poudre :
A - Couche mince de poudre sur une lame ; **B** - Ajout du réactif de Gazet ; **C** - Lame prête à être observer.

4. Etude de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L.

4.1. Préparation de la matière végétale

Nous avons séché la plante destinée pour l'extraction à l'air libre et à température ambiante jusqu'à dessiccation complète. Après séchage, les coussinets de *Bupleurum spinosum* L. ont été coupés en petit morceaux par un sécateur à fin de les broyer à l'aide d'un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre (Figure 20).

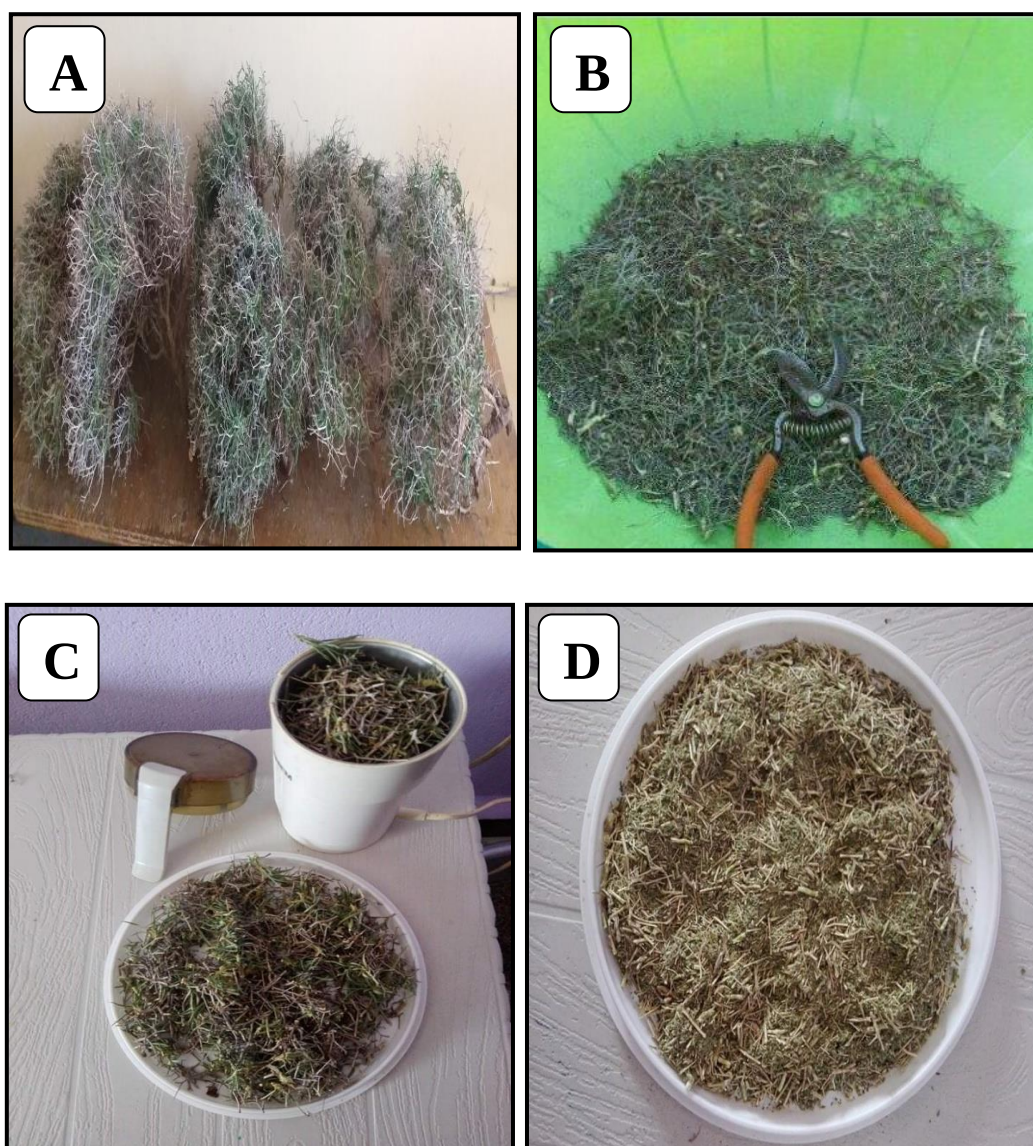


Figure 20: Etapes préalables à l'extraction: **A**-Séchage de la plante à l'air libre ; **B** - Couper la plante en petits morceaux ; **C**- Broyage à l'aide d'un broyeur à café ; **D**- Poudre de *Bupleurum spinosum* L.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

4.2. Dispositif d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger au niveau du laboratoire de Botanique Médicale de la faculté de médecine UMMTO. L'installation comporte un chauffe ballon, d'un ballon où placer le matériel végétal et de l'eau distillée, d'une colonne réfrigérante et un collecteur qui reçoit les extraits de la distillation (Figure 21).

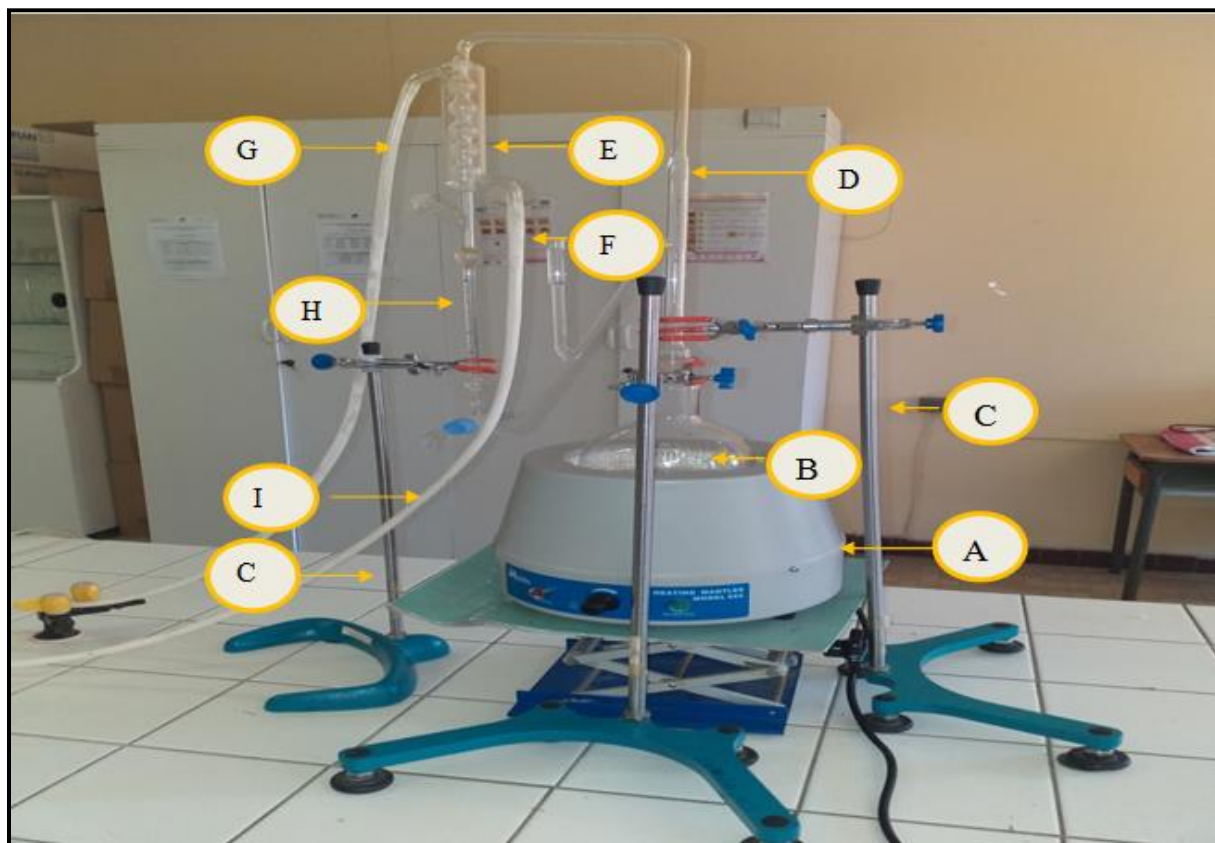


Figure 21: Montage d'hydrodistillation manipulé (Clevenger) ;

- | | |
|------------------------------|-------------------------|
| A- Chauffe-ballon ; | F- Entrée d'eau ; |
| B- Ballon ; | G- Sortie d'eau ; |
| C- Support métallique ; | H- Ampoule à décanter ; |
| D- Colonne de distillation ; | I- Robinet d'accueil. |
| E - Colonne réfrigérante ; | |

4.3. Principe de l'extraction de l'huile essentielle

L'huile essentielle du *Bupleurum spinosum* L. a été extraite par le procédé d'hydrodistillation simple. Cette technique est basée sur l'émersion d'un échantillon solide (végétal) dans l'eau

MATÉRIELS ET MÉTHODES

portée à ébullition. Les vapeurs saturées d'huile essentielle sont condensées au moyen d'un réfrigérant pour donner le distillat qui est composé de l'eau et de l'huile essentielle.

4.4. Mode opératoire

Dans un ballon de 1 litre, nous avons introduit 60 g de la matière végétale broyée. Puis, nous avons ajouté un volume d'eau qui correspond à 1/3 de la capacité du ballon. Ensuite, nous avons adapté le ballon à l'appareil de condensation et alimenté le réfrigérant en eau. Le ballon et son contenu sont mis sur un chauffe-ballon. La température du chauffe ballon est réglée pour permettre une stabilité de l'extraction. Les huiles essentielles entraînées par les vapeurs d'eau générées dans le ballon sont dirigées vers la colonne de distillation qui relie le ballon au réfrigérant. L'huile essentielle est récupérée dans un pilulier.

Le temps d'extraction est mesuré à partir de la chute de la première goutte dans l'ampoule. La durée totale de l'extraction est estimée à 2 h (Figure 22). L'opération a été répétée plusieurs fois.



Figure 22: Extraction de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L.

4.5. Conservation

Notre huile essentielle est récupérée et conservée dans un pilulier transparent recouvert par le papier aluminium, hermétiquement fermé et stocké dans un endroit frais (+4°C) à l'abri de la lumière.

4.6. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M) [131].

Le rendement est exprimé en pourcentage, il est donné par la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

4.7. Caractérisation organoleptique de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L.

L'analyse sensorielle est une source d'information essentielle qui, reflète les attentes et les tendances des consommateurs. L'analyse a été effectuée en observant et en inhalant directement l'huile essentielle. La couleur et l'aspect d'huile essentielle sont des paramètres très importants pour certaines applications.

5. Analyses des activités biologiques de l'huile essentielle extraite

Afin de déterminer la valeur et évaluer la qualité pharmacologique de notre huile essentielle, nous proposons de tester leurs effets antioxydant et antibactérien *in vitro* comme analyses primaires pour donner un aperçu initial sur ses propriétés médicinales.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

5.1. Evaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour évaluer le pouvoir antioxydant *in vitro*, parmi elles nous avons choisi d'appliquer la méthode de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) vu sa simplicité, rapidité, sensibilité et sa reproductibilité, selon le protocole décrit par Coelho et Al (2011) [132].

5.1.1. Principe

Le DPPH est un radical de substitution, libre et stable possède une coloration violette intense. Lorsqu'il est réduit par un antioxydant (composé à propriété anti radicalaire) en diphényle picryl hydrazine, sa coloration devient jaune (Figure 23). Le DPPH a une bande d'absorption importante dans la plage de 515-520 nm, ce qui fait de la spectrophotométrie un outil facile à utiliser pour mesurer le changement de couleur et déterminer le degré de réduction. L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu [133].

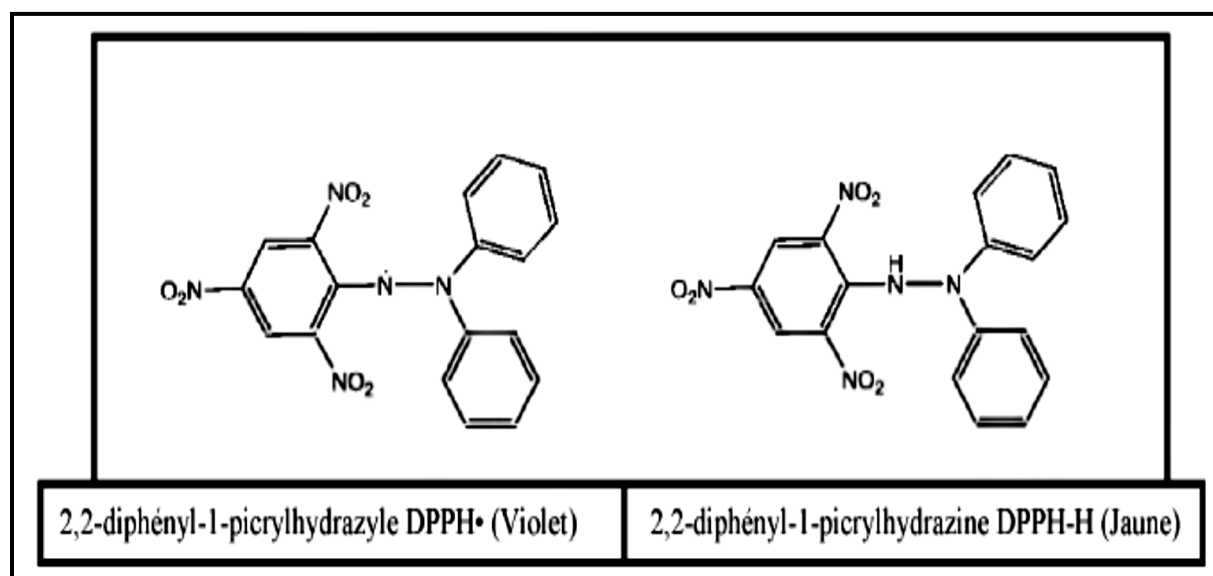


Figure 23: Forme libre et réduite du DPPH [133]

5.1.2. Mode opératoire

a. Préparation de la solution mère de DPPH

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 2.4mg de DPPH dans 100ml de méthanol absolu (99,9%) afin d'obtenir une solution de 60µM (Figure 24). Ensuite nous avons mesuré l'absorbance de la solution par le spectrophotomètre UV Visible à 517 nm.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

La solution est conservée durant une semaine à une température de -18°C .



Figure 24: Solution méthanolique du DPPH

b. Préparation de la solution mère du BHT

Le Butylhydroxytoluène (BHT) a été utilisé comme antioxydant synthétique de référence (contrôle positif) préparé en solubilisant 2 mg de BHT dans 10 ml du méthanol.

Comment préparer une solution méthanolique du BHT de 5 mg/l ?

Dans le tube : $C_i = X$; $V_i = 50\mu\text{l}$ Avec C_i : Concentration initiale, V_i : Volume initial

Dans la cuve : $C_f = 5 \text{ mg/l}$; $V_f = 2\text{ml}$ Avec C_f : Concentration finale, V_f : Volume final

$$C_i \times V_i = C_f \times V_f \quad C_i = \frac{C_f \times V_f}{V_i} \longrightarrow$$

$$C_i = \frac{2 \times 10^{-3} \times 5}{50 \times 10^{-6}} = 200 \text{ mg/l}$$

$$200 \text{ mg} \longrightarrow 1000 \text{ ml}$$

$$2 \text{ mg} \longrightarrow 10 \text{ ml}$$

Nous avons solubilisé 2 mg de la poudre du BHT dans un volume de 10 ml du méthanol pour obtenir une solution avec une concentration de 5mg/l dans la cuve.

c. Préparation des dilutions du DPPH

Différentes dilutions sont préparées à partir de la solution mère du DPPH avec des concentrations de : 0.5, 0.25, 0.125, 0.1, 0.075 mg/l. Cette étape a pour but de vérifier la stabilité de notre solution (Figure 25).

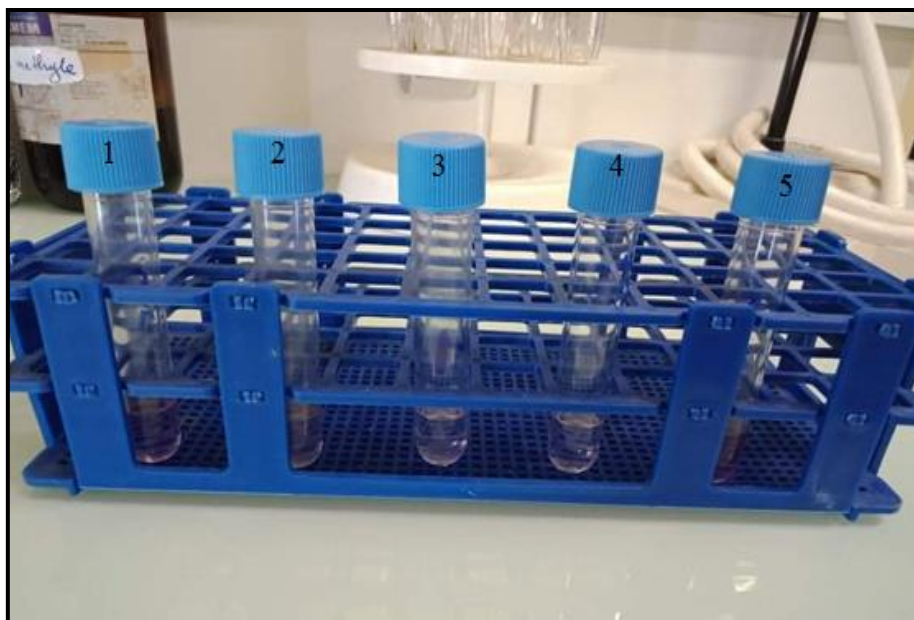


Figure 25: Dilutions de la solution méthanolique du DPPH ;
(1) : 0.5, (2) : 0.25, (3) : 0.125, (4) : 0.1, (5) : 0.075 mg/l

➤ Courbe d'étalonnage

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative et qualitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution.

Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert : $A = \epsilon \cdot l \cdot C$ [134] (Figure 26) avec : A : Absorbance ; ϵ : coefficient d'absorption molaire ; l : longueur du trajet optique ; C : concentration de la solution.

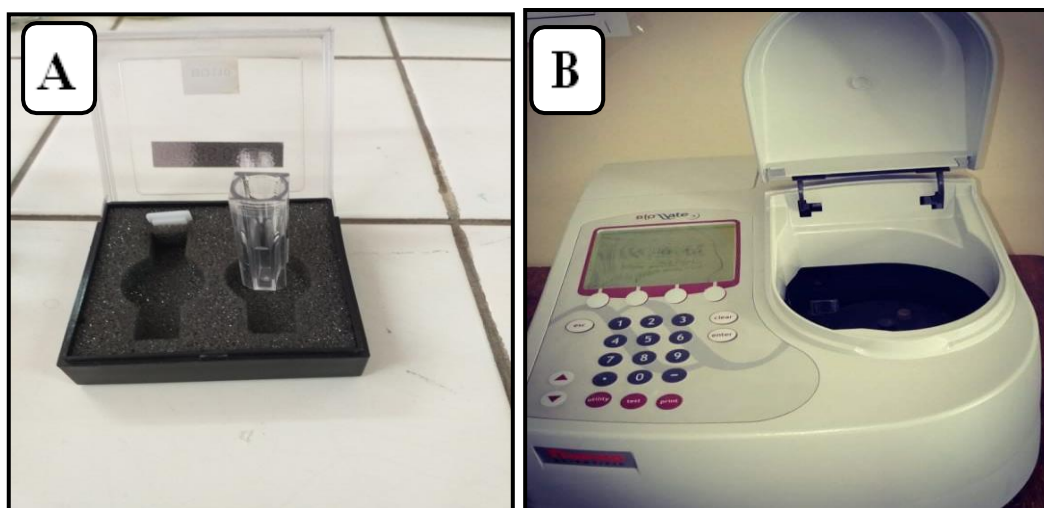


Figure 26: A- Cuve du spectrophotomètre; B- Spectrophotomètre d'absorption UV Visible

La courbe d'étalonnage est un moyen très utilisé dans le dosage des différentes solutions, ainsi que pour examiner la fiabilité des instruments de mesure. En effet, nous avons vérifié la fiabilité du spectrophotomètre utilisé, ainsi que la stabilité de la solution du DPPH préparée en traçant la courbe d'étalonnage des absorbances de la solution méthanolique du DPPH mesurées à 517nm en fonction des différentes concentrations (0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,1 et 0.075 μ M).

d. Préparation des dilutions du BHT

En utilisant le protocole de Coelho et al (2011) cité précédemment, nous avons préparé des dilutions à partir de la solution mère préparée avec des concentrations de : 2.5, 2, 1.5 et 1 mg/l.

Puis, dans des tubes à essais nous avons rajouté 1950 μ l de la solution méthanolique du DPPH à 50 μ l de chaque dilution du BHT. Ensuite nous avons laissé les tubes à la température du laboratoire 30°C pendant 30 minutes à l'obscurité.

e. Préparation des dilutions de l'huile essentielle

La solution mère est préparée dans le méthanol à une concentration de 8 g/l, en pesant 320 mg de l'HE par une balance analytique (précision 0.001 g).

Pour préparer les dilutions méthanolique de l'huile essentielle nous avons procédé comme suit :

- Introduire 750 μ l du tube (1) dans le tube (2) contient 250 μ l du méthanol pour obtenir une concentration de 6 g/l ;

MATÉRIELS ET MÉTHODES

- Introduire 830 µl du tube (2) dans le tube (3) contenant 170 µl du méthanol avec une concentration de 5 g/l ;
- Introduire 800 µl du tube (3) dans le tube (4) contenant 200 µl du méthanol avec une concentration de 4 g/l ;
- Introduire 750 µl du tube (4) dans le tube (5) contenant 250 µl du méthanol avec une concentration de 3 g/l ;
- Introduire 660 µl du tube (5) dans le tube (6) contenant 340 µl du méthanol avec une concentration de 2 g/l ;
- Introduire 500 µl du tube (6) dans le tube (7) contenant 500 µl du méthanol avec une concentration de 1 g/l.

Un volume de 25 µl de chaque dilution a été ajouté à 975 µl de la solution méthanolique du DPPH, le mélange réactionnel est incubé ensuite pendant 30 min à l'obscurité pour éviter la dégradation du radical libre et à la température du laboratoire. Les absorbances ont été mesurées à 517 nm contre le blanc.

* Le blanc : est un mélange du réactif avec le solvant (dans notre cas nous avons utilisé le méthanol), permet l'élimination de la densité optique du réactif.

Notre blanc est composé de 975 µl de la solution méthanolique du DPPH additionné à 25 µl du méthanol.

5.1.3. Expression des résultats

L'activité antioxydante est définie par l'indice de la réduction de l'activité antiradicalaire en pourcentage suivant cette relation :

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

Où :

%I : pourcentage inhibition.

Abs contrôle : Absorbance du blanc, qui contient tous les réactifs excepté le composé d'essai.

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon, qui contient les réactifs et le composé à tester.

5.1.4. Estimation des IC50

La grandeur IC50 est définie comme étant la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•, appelée aussi EC50 (concentration équivalente à 50% de DPPH réduit) [132]. Les IC50 sont déterminés graphiquement par régression linéaire des graphes tracés (taux d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées).

5.2. Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne : Aromatogramme

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. est évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide, appelée aromatogramme ; car c'est une technique rapide, peu coûteuse, fiable, facilement reproductible et ne nécessite pas un équipement de laboratoire sophistiqué.

Le principe de cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles sur le milieu solide dans une boîte de Pétri. L'apparition et l'importance du diamètre de la zone d'inhibition reflète l'impact des huiles essentielles sur les souches bactériennes. Ainsi, ces dernières seront qualifiées de résistantes, sensibles ou très sensibles (Figure 27) [1].

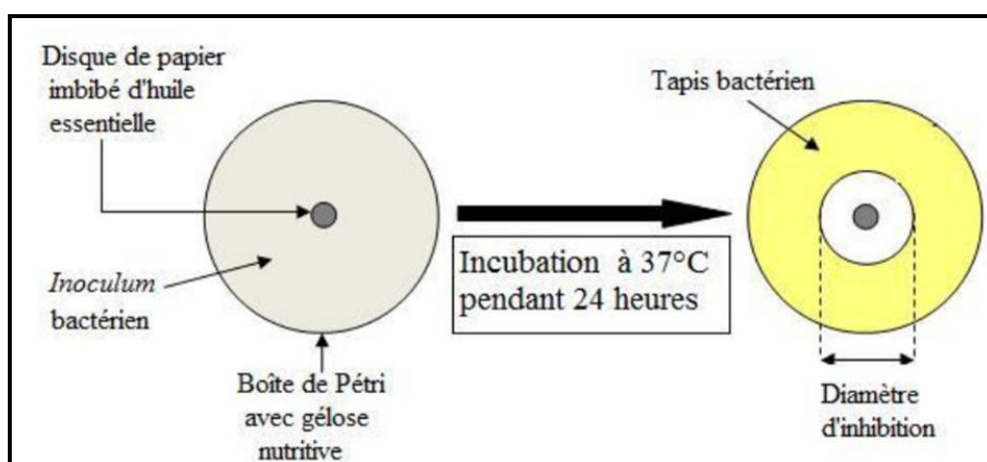


Figure 27: Principe de la diffusion sur disque [1]

5.2.1. Origine et choix des souches bactériennes

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *B. spinosum* a été évaluée sur trois souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *staphylococcus aureus*) (Tableau VIII). Ces dernières de collection internationale ATCC (American Type Culture Collection) ont été fournies par le laboratoire de microbiologie du CHU Nedir Mohammed de Tizi-Ouzou.

Tableau VIII: Noms scientifiques et références des souches bactériennes utilisées

Bactéries	Souches	Références
Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853

5.2.2. Choix des milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour le ré-isolément sont des milieux sélectifs pour chaque groupe de bactérie :

- Milieu Hecktoen pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* ;
- Milieu Chapman pour *Staphylococcus aureus*.

Le milieu Mueller Hinton, est le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.

5.2.3. Ré-isolément des souches bactériennes

a. Principe de ré-isolément

Le ré-isolément est une technique qui permet de séparer les bactéries d'un échantillon en utilisant des milieux de culture sélectifs pour les différencier. L'isolement permet d'obtenir des colonies différentes, espacées les unes des autres, pures et jeunes.

b. Mode opératoire

Les ré-isolements ont été effectués selon la méthode des stries, avec la pipette Pasteur sur le milieu Hecktoen pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* ; et le milieu Chapman pour *Staphylococcus aureus* (Figure 28); puis ils sont incubés à 37 °C pendant 24 heure (Figure 29).

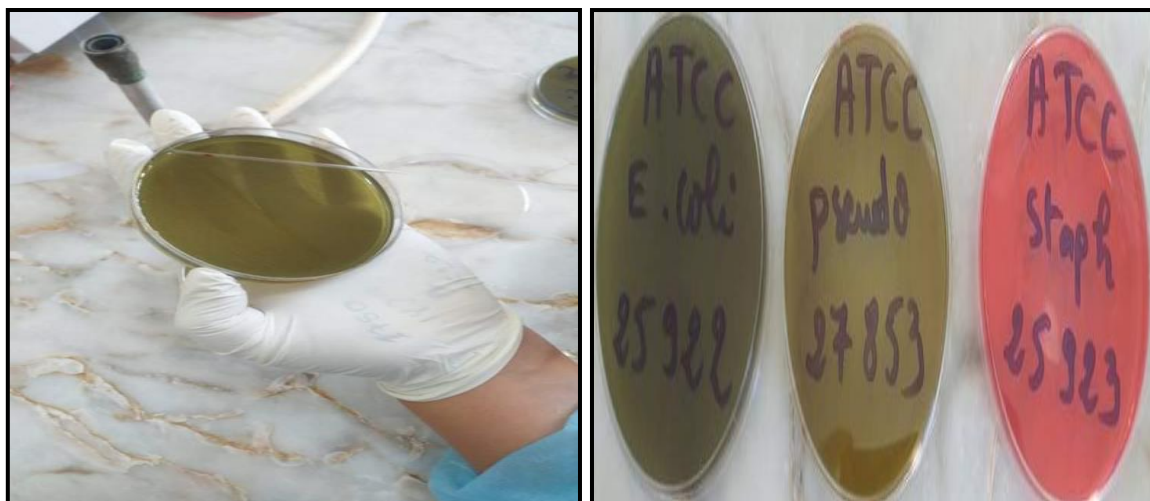


Figure 28: Ré-isollement des souches bactériennes



Figure 29: Incubation des souches ré-isolées à l'étuve

c. Préparation des suspensions bactériennes

A l'aide d'une pipette pasteur, une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans 5 ml d'eau physiologique (Figure 30), après homogénéisation au vortex, la charge bactérienne équivalente à 0.5 Mc Ferland a été mesurée à l'aide d'un densitomètre. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort (Figure 31).

L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

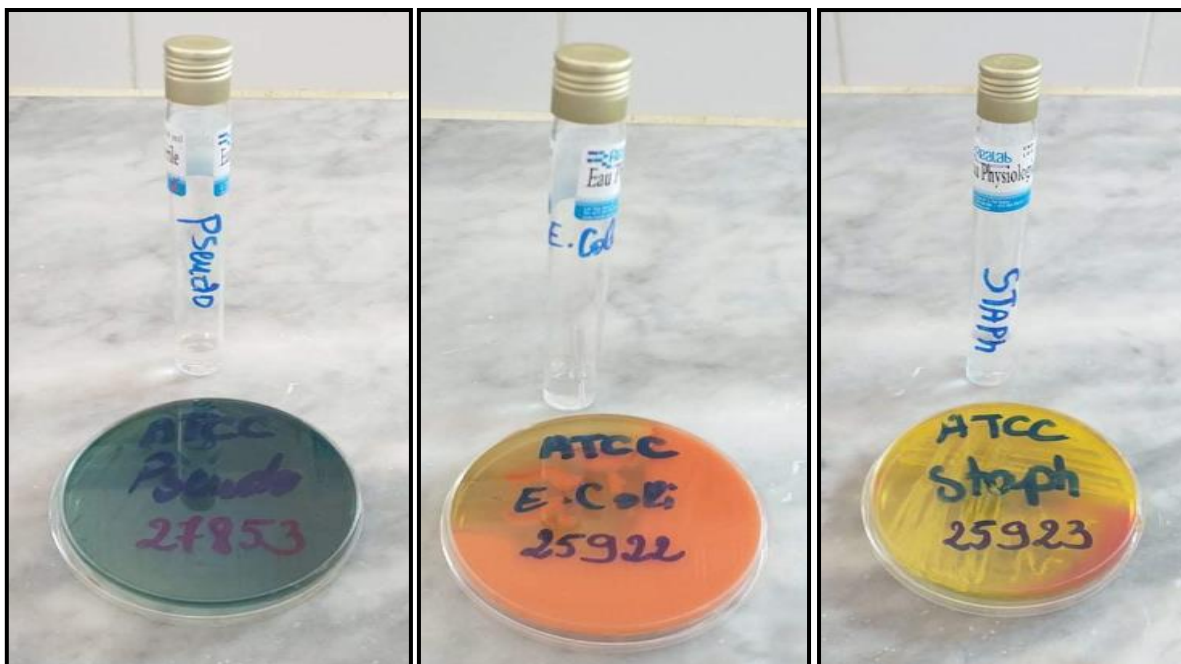


Figure 30: Préparation des suspensions bactériennes



Figure 31: Charge bactérienne mesurée à l'aide d'un densitomètre

5.2.4. Aromatogramme

a. Ensemencement

Un écouvillon stérile a été imbibé dans la suspension bactérienne et a été essoré en le pressant fermement, sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

La démarche suivante est d'étaler en frottant l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose Muller Hinton de haut en bas en stries serrées à trois reprises (Figure 32), en tournant la boîte à chaque fois d'un angle de 60° (2 fois).

Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

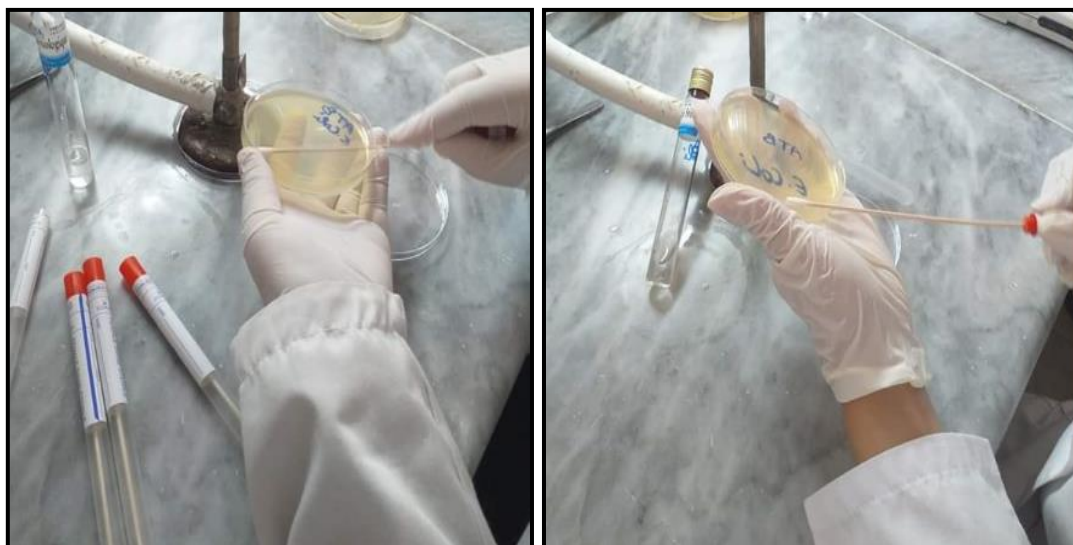


Figure 32: Ensemencement des souches bactériennes

b. Dépôts des disques

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince flambée au Bec Bunsen, un disque d'antibiotique de chloramphénicol utilisé comme témoin positif, des disques en papier buvard d'un diamètre de 6 mm vides utilisés comme témoins négatifs (figure 33) et un autre disque en papier buvard imprégné de 20µl d'huile essentielle (figure 34) sont déposés à la surface de chaque boîte de Mueller-Hinton précédemment ensemencée. Les boîtes ont été maintenues à +4°C pendant 1 heure pour que l'huile essentielle puisse diffuser.

Les disques en papier buvard et les emboues utilisés ont été stérilisés.



Figure 33: Dépôt des disques



Figure 34: Dépôt de l'huile essentielle pure

c. Incubation

Les boîtes d'aromatogramme précédemment préparées sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour la lecture (Figure 35).



Figure 35: Incubation des boîtes d'aromatogramme dans l'étuve

5.2.5. Expression des résultats

À la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne s'est traduite par un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile, dont le diamètre a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse y compris le diamètre de disque.



RÉSULTATS

1. Etude botanique de *Bupleurum spinosum* L.

C'est un arbrisseau sphérique et épineux à tiges très ramifiées, ligneuses à la base (Figure 36) ;



Figure 36: Photographie de *Bupleurum spinosum* L. frais (Photo originale)

➤ Appareil végétatif

La racine est pivotante comprenant une racine principale avec des radicelles.

Les feuilles sont de couleur vert-gris, sessiles, linéaires, lancéolées la pointe est aigue La nervation est parallèle (Figure 37) ;

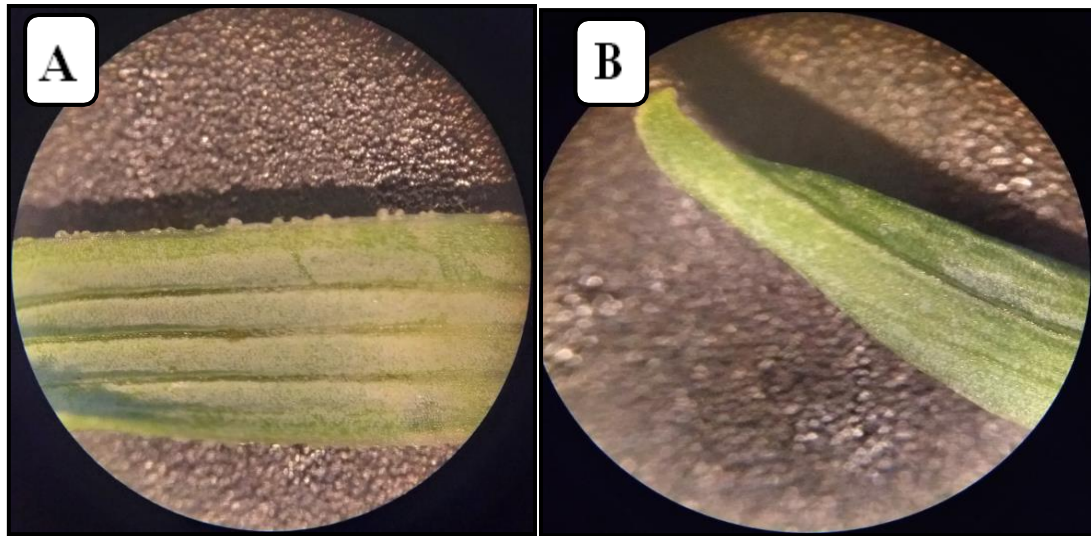


Figure 37: **A-** Face ventrale de la feuille ; **B-** Face dorsale de la feuille

➤ Appareil reproducteur

L'inflorescence est une ombelle d'ombellules composées ;

Les fleurs sont de petite taille, jaunes, actinomorphes, hermaphrodites, ovaire infère hétéroclamide pentamères, tetracycliques ;

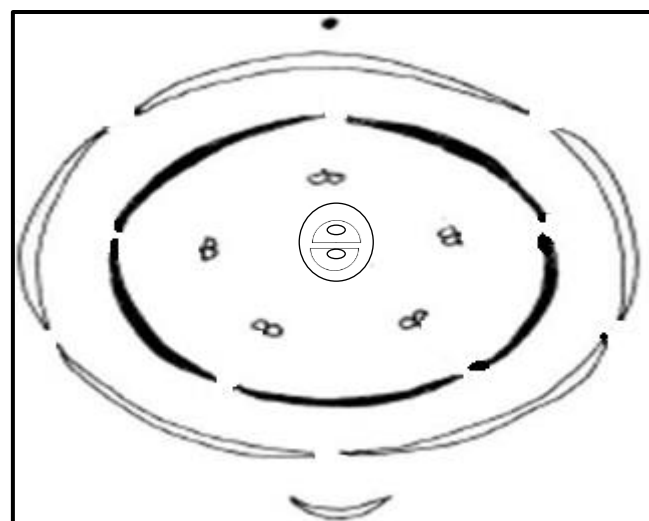
Calice constitué de 5 sépales libres ;

Corolle constituée de 5 pétales libres ;

Androcée isostémone, anthère à déhiscence longitudinale introrse ;

Gynécée à 2 carpelles soudés, chaque loge contient 1 seul ovule, avec un stylopode nectarifère caractéristique des apiacées (Figures 39,40, 41, 42).

Le diagramme floral et la formule florale sont représentés comme suit (Figure 38) :



$$FF : \otimes : (5S) + (5P) + (5E) + \overline{(2C^2_2)} ; \text{diakène}$$

Figure 38: Diagramme et formule florale de *Bupleurum spinosum* L.

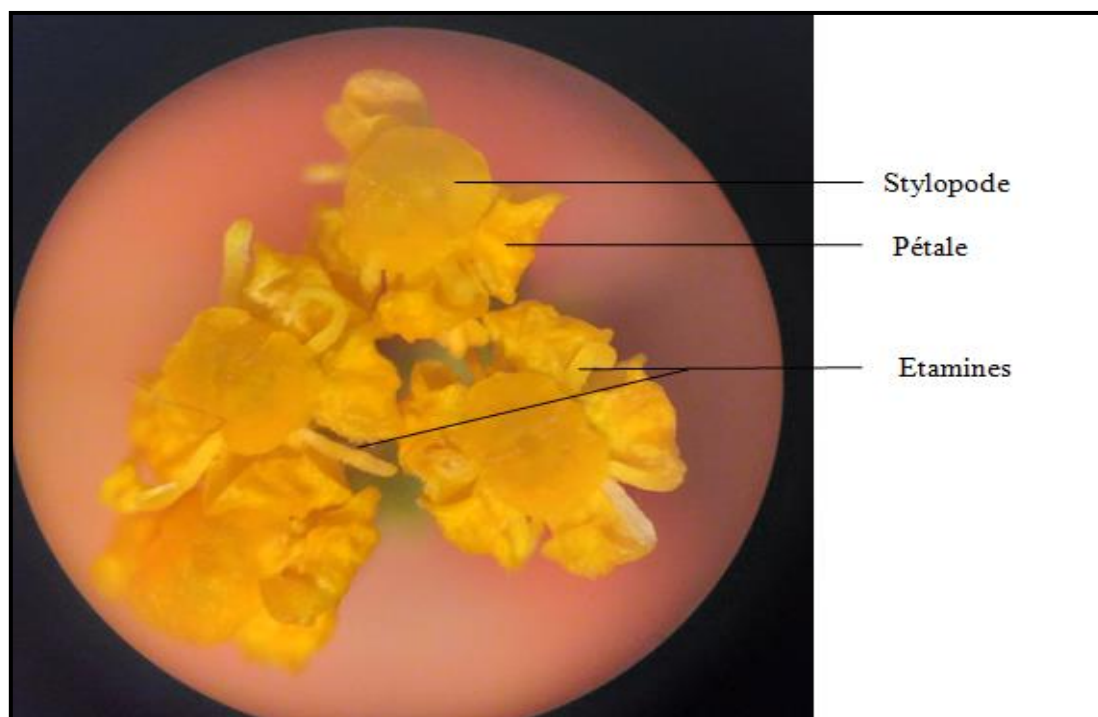


Figure 39: Fleur de *Bupleurum spinosum* L. sous loupe binoculaire (vue de face)

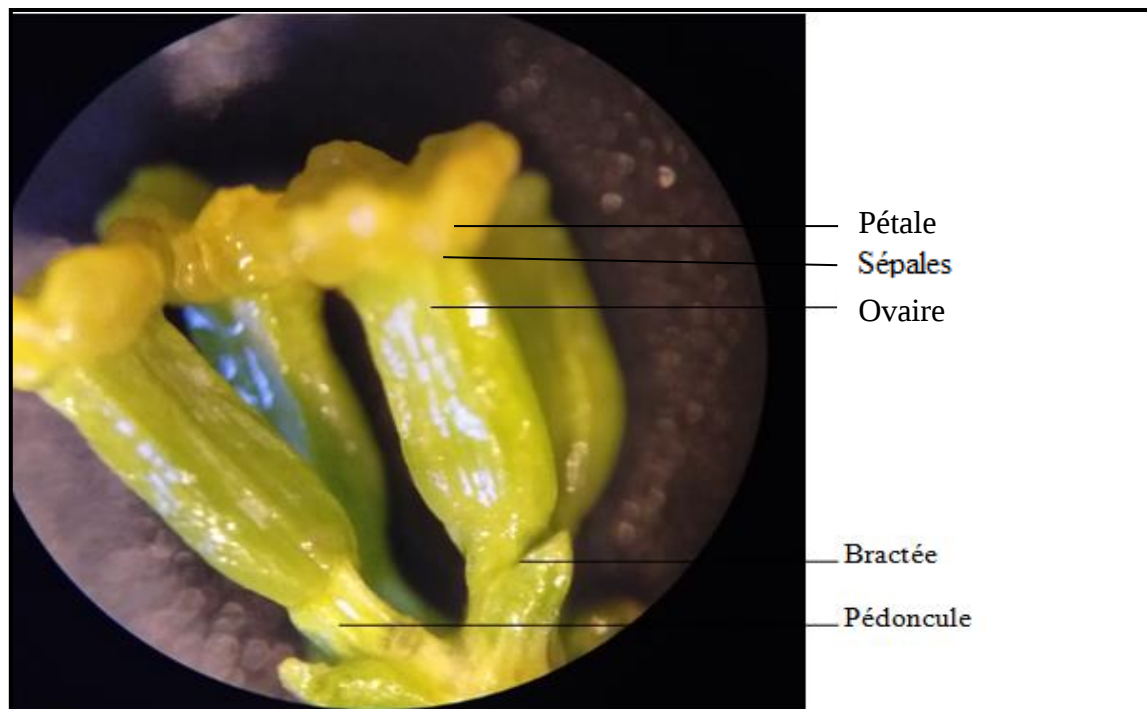


Figure 40: Ombellule de *Bupleurum spinosum* L. sous loupe binoculaire (Vue de profil)



Figure 41: Coupe longitudinale de l'appareil floral de *Bupleurum spinosum* L. sous loupe binoculaire



Figure 42: Coupe longitudinale de l'ovaire de *Bupleurum spinosum* L.

- Le fruit est un diakène

2. Etude histo-anatomique de *Bupleurum spinosum* L.

2.1. Etude histo-anatomique de la racine de *Bupleurum spinosum* L.

L'observation des coupes de la racine de *Bupleurum spinosum* L. (Figure 43) sous microscope, a permis d'observer les tissus suivants :

- Ecorce : constitue la couche de cellules la plus externe recouvrant la racine :
 - Suber : un tissu de revêtement secondaire périphérique mort de l'écorce et imprégné de subérine ;
 - Parenchyme cortical : constitué de cellules vivantes arrondies, à parois pecto-cellulosiques, relativement petites comparées à celles du parenchyme médullaire ;
- Le cylindre central comprend les tissus conducteurs qui assurent la conduction de la sève brute et la sève élaborée. Ils sont formés du liber et du bois.
 - Le liber est constitué des cellules vivantes de l'écorce, déposées en files radiales ;
 - Le cambium : assise génératrice ;

RÉSULTATS

- Le bois est constitué des cellules mortes qui se superposent et se lignifient. Le bois conduit la sève brute qui circule à l'intérieur des vaisseaux et qui jouent le rôle d'un tuyau.
- Canaux sécréteurs situés dans le liber et le parenchyme cortical.

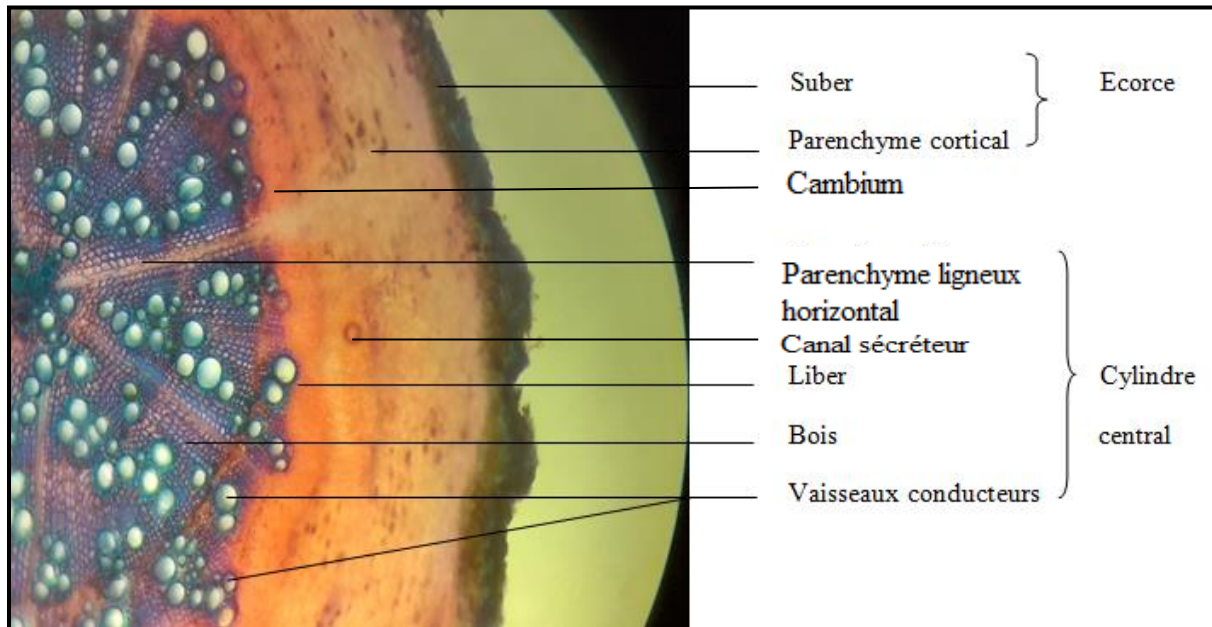


Figure 43: Observation d'une coupe transversale de la racine de *Bupleurum spinosum* L. au microscope photonique (G 10X10)

2.2. Etude histo-anatomique de la tige de *Bupleurum spinosum* L.

L'observation microscopique des coupes transversales de la tige (Figure 44, 45) met en évidence les caractéristiques d'une structure secondaire :

- **Epiderme** : constitue la couche de cellules la plus externe cellulosique cutinisées, recouvrant la plante, son importance est la protection des tissus internes. Il est formé d'une seule assise d'origine primaire, constitue un tissu de revêtement.
- **Parenchyme cortical** : tissu fondamental constitué de cellules vivantes, vacuolisées, qui sont intimement liées aux activités physiologiques essentielles de la plante (photosynthèse et stockage). Les cellules sont disposées de manière anarchique mais plus petite que celles du parenchyme médullaire.
- **Collenchyme** : c'est un tissu de soutien, caractérisé par des cellules vivantes à parois épaisses. Il est localisé dans les angles de la tige. Il donne l'aspect polygonal pour la tige.
- Les tissus conducteurs d'origine secondaire (xylème et phloème) :

RÉSULTATS

- Xylème : ce sont des cellules rangé en file radiale, dont le rôle est conduction de la sève brute ;
- Phloème : tissus vasculaire assurant la conduction de la sève élaborée dans la plante.
- Parenchyme médullaire très développé, à grandes cellules arrondies.
- Canaux sécréteurs.

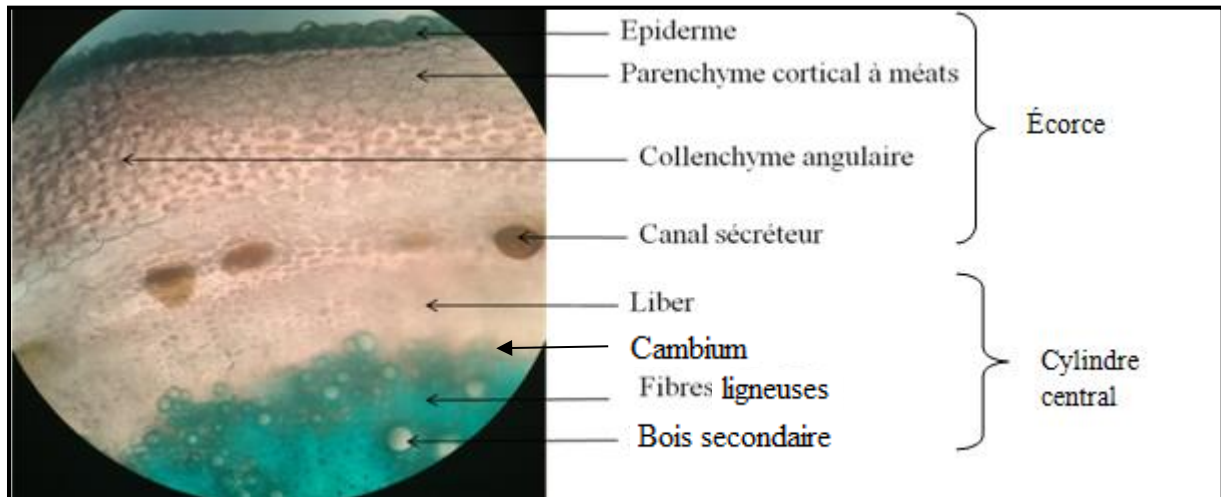


Figure 44: Observation d'une coupe transversale de la tige de *Bupleurum spinosum* L. au microscope photonique (G 10X40)

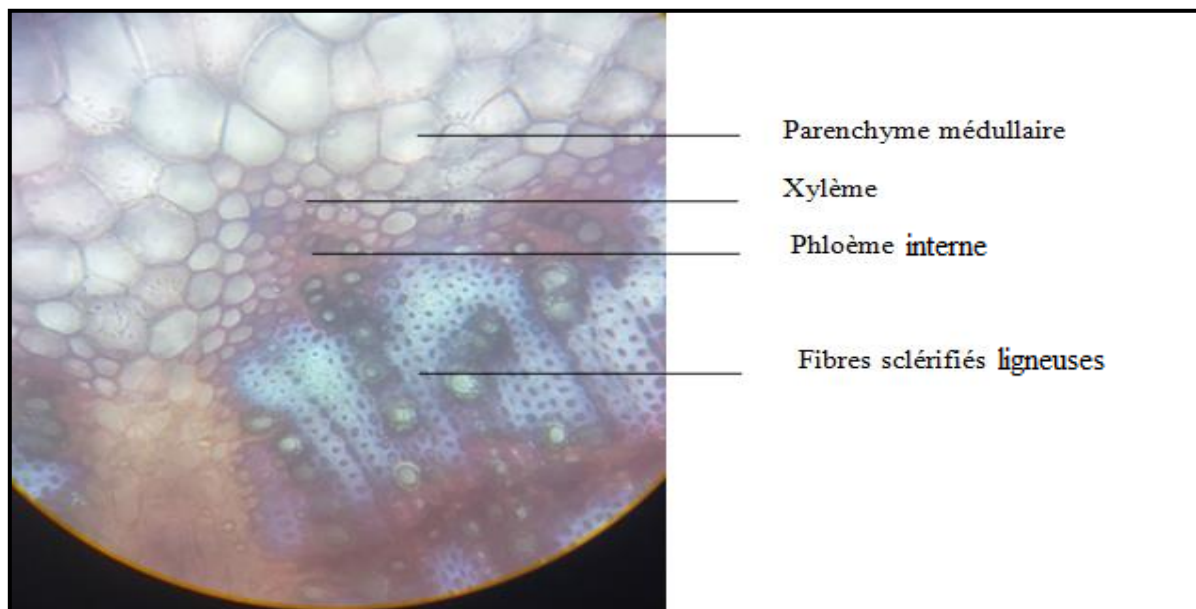


Figure 45: Observation d'une coupe transversale de la tige de *Bupleurum spinosum* L. au microscope photonique (G 10X40)

2.3. Etude histo-anatomique de la feuille de *Bupleurum spinosum* L.

La coupe transversale de la feuille (Figure 46, 47) montre un organe aplati à symétrie bilatérale :

De la face supérieure vers la face inférieure nous avons observé les tissus suivants :

- Deux épidermes cutinisés ; un inférieur et un autre supérieur représentés par une seule assise de cellules vivantes à fines parois cellulodiques.
- Un parenchyme palissadique : ce sont des cellules allongées à parois fines, du côté de la face supérieure et de la face inférieure. Les cellules sont disposées les unes sur les autres en forme de palissade avec deux assises de cellules.
- Un parenchyme à méats : constitué de grandes cellules arrondies entre les deux parenchyms palissadique.

Dans les nervures parallèles nous avons distingué les tissus conducteurs (phloème et xylème) et le collenchyme angulaire :

- Phloème : ce sont des petites cellules arrondies à paroi épaisse, cellulodique ;
- Xylème : constitué des cellules polygonales d'origine primaire à paroi épaisse lignifiée colorée en vert ;
- Le collenchyme angulaire : localisé de part et d'autre des faisceaux conducteurs et sous les épidermes.

Nous avons noté également la présence des canaux sécréteurs au niveau du parenchyme à méat et de part et d'autre des tissus conducteurs.

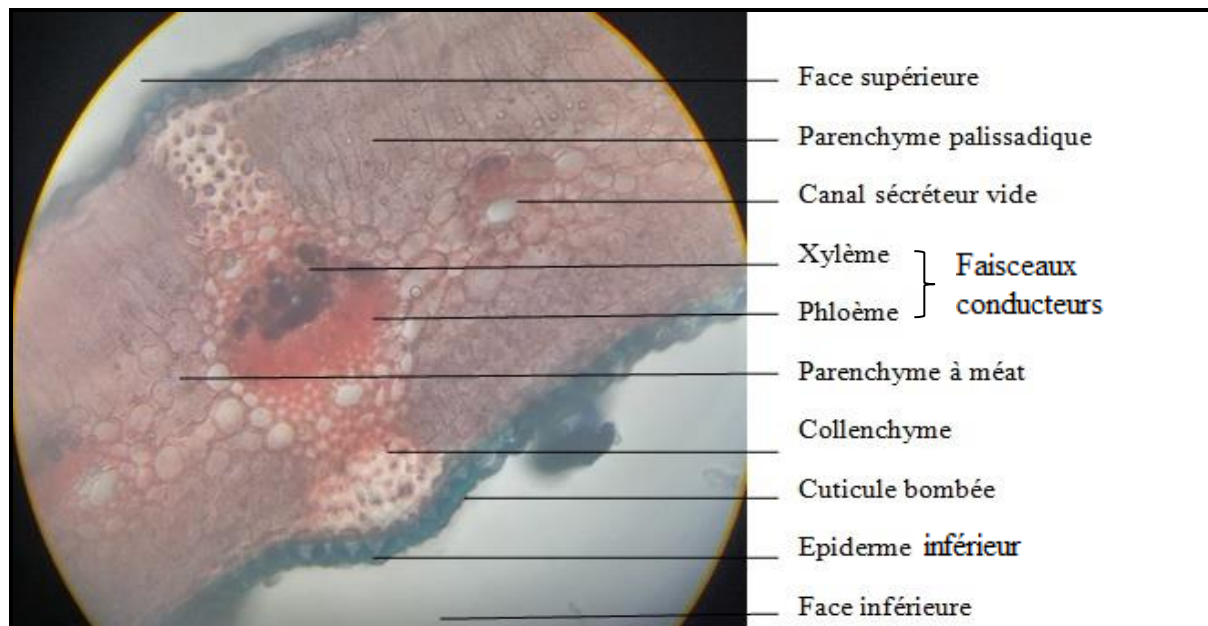


Figure 46: Observation d'une coupe transversale de la feuille de *Bupleurum spinosum* L. au microscope photonique (G 10X40)

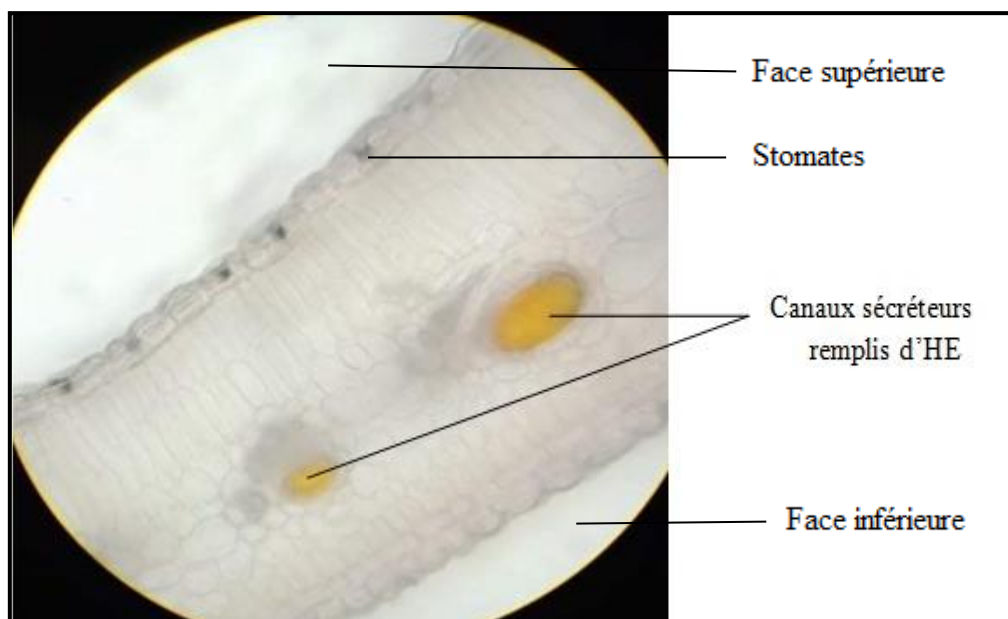


Figure 47: Observation d'une coupe transversale de la feuille de *Bupleurum spinosum* L. au microscope photonique (G 10X40)

2.4. Aspect de face des stomates au niveau de la feuille

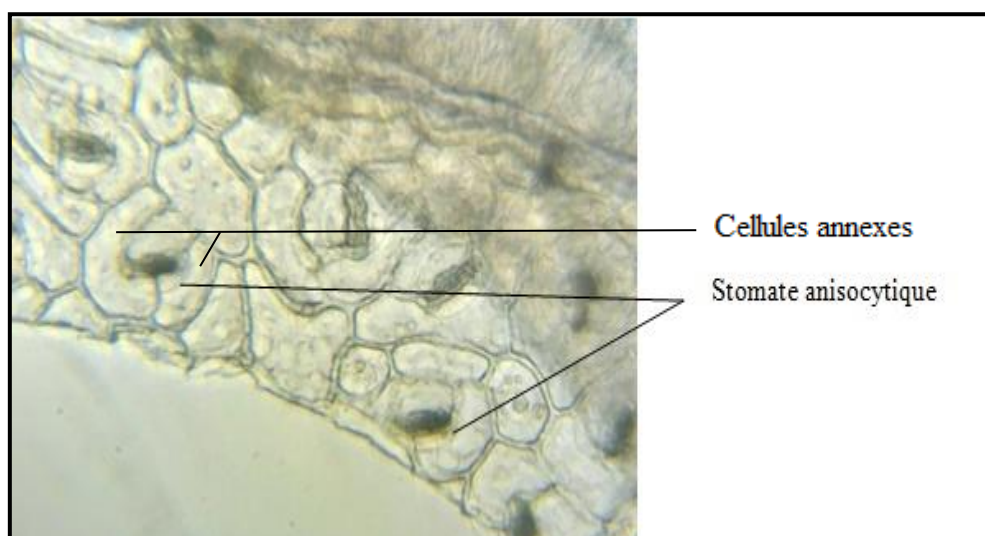


Figure 48: Observation de stomates anisocytiques (vue de face) au microscope photonique (G 10X40)

3. Etude microscopique de la poudre de *Bupleurum spinosum* L.

Poudre de couleur marron, d'odeur aromatique caractéristique, nous avons observé au microscope optique les éléments suivants :

- Fragment de cellules et tissus ;
- Vaisseaux rayé (Figure 49-A) ;
- Vaisseaux spiralés (Figure 49-B).

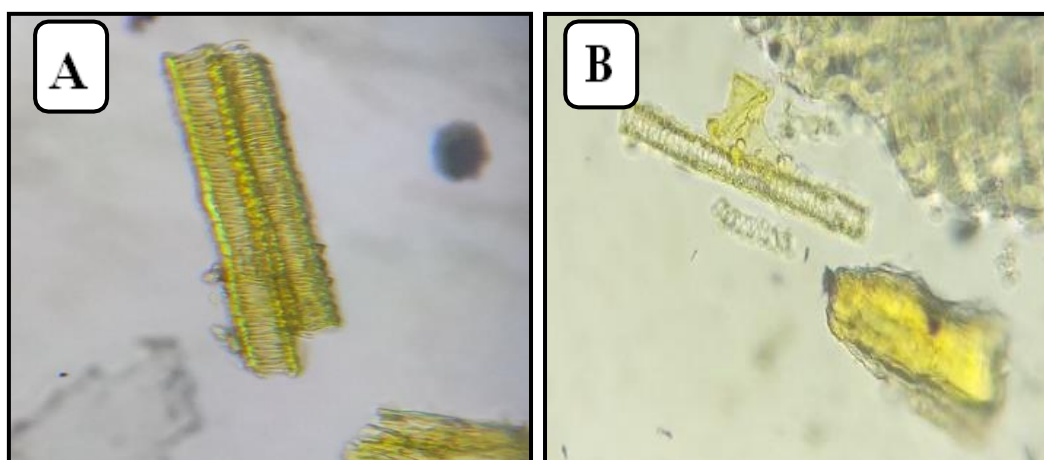


Figure 49: Photographie de l'aspect des vaisseaux au microscope photonique (G 10 X 40)
A- vaisseaux rayés ; B- vaisseaux spiralés

4. Etude de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L

4.1. Détermination du rendement

Au total, 1,190 kg de la matière séchée a permis d'obtenir 0.354 g d'huile essentielle ce qui correspond à 0.03 %.

4.2. Caractérisation organoleptique

L'aspect : liquide mobile, limpide ; onctueuse

La couleur : jaune foncé ;

L'odeur : caractéristique et semblable à celle de la plante de *B. spinosum* (Figure 50).



Figure 50: Huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L.

5. Analyses biologiques de l'huile essentielle extraite

5.1. Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle

Nous rappelons que l'activité antioxydante de l'huile essentielle extraite à partir de la plante étudiée a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical libre DPPH.

RÉSULTATS

5.1.1. Vérification de la conformité de la solution méthanolique du DPPH

Le DPPH est un radical libre nous permettant de déterminer le potentiel de piégeage de notre huile essentielle grâce à sa sensibilité à détecter les composants actifs à des basses concentrations. L'activité antiradicalaire a été estimée spectrophotométriquement en suivant la réduction du DPPH à 517nm.

Les résultats obtenus après la mesure des DO sont résumés dans le tableau suivant (Tableau IX, Figure 51)

Tableau IX: Absorbances de la solution méthanolique du DPPH

C mg/l	0.075	0.1	0.125	0.25	0.5
DO	0.068	0.087	0.112	0.132	0.504

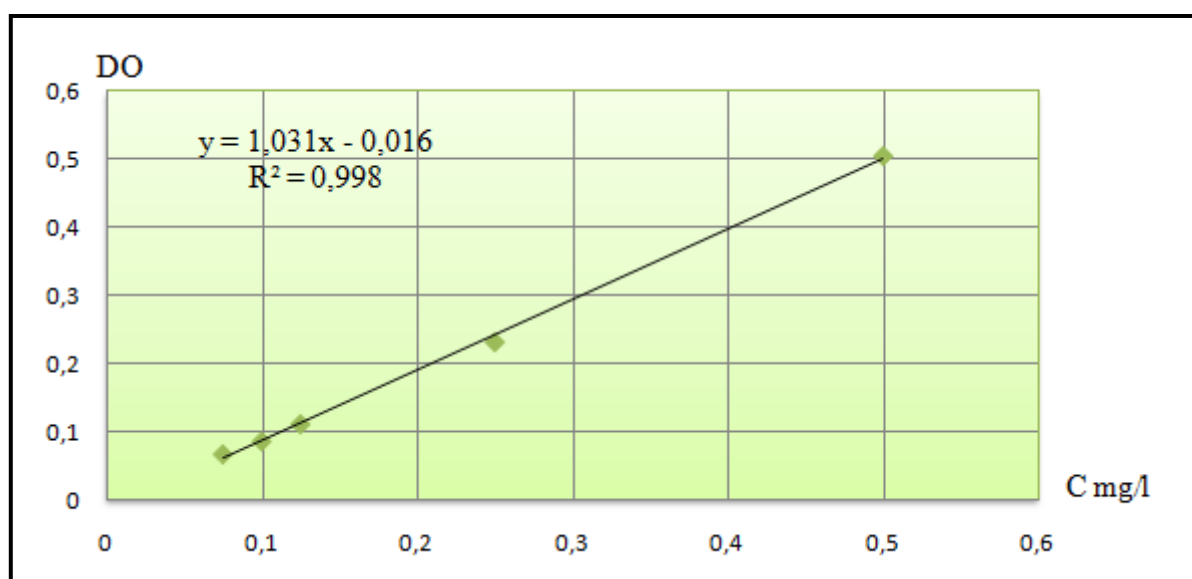


Figure 51: Évolution des absorbances du DPPH en fonction des concentrations

L'absorbance du DPPH mesuré à 517 nm montre une augmentation dans tout l'intervalle de concentration entre 0.075 mg/l et 0.5 mg/l; d'après le graphe nous avons le coefficient de détermination $R^2 = 0.998$ proche de 1, ce qui assure la crédibilité des résultats expérimentaux.

RÉSULTATS

5.1.2. Evaluation de l'activité antioxydante du BHT et de l'huile essentielle

Les solutions préparées en mélangeant le DPPH avec différentes concentrations de BHT et de l'huile essentielle sont incubées pendant 30 min, la couleur violette vire vers le jaune résultant d'une activité antioxydante comme la figure indique (Figure 52, 53).

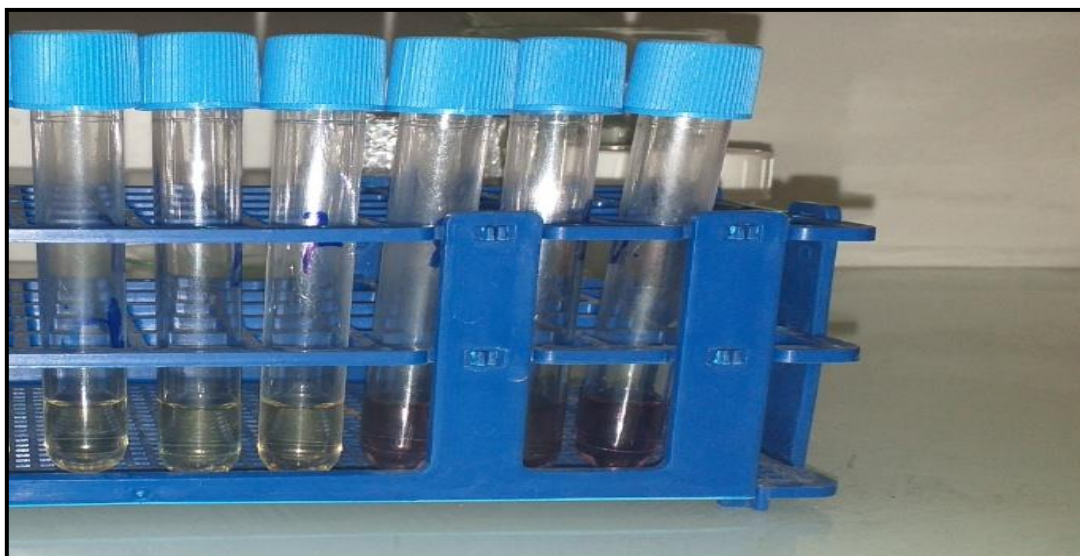


Figure 52: Virage de coloration du BHT après réduction du DPPH



Figure 53: Virage de coloration de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. après réduction du DPPH

RÉSULTATS

5.1.3. Estimation des IC50

Les absorbances des différentes solutions ont été mesurées à 517 nm contre le blanc. Les résultats sont représentés dans les tableaux ci-dessous (Tableau X, XI).

Les valeurs du pourcentage d'inhibition du radical DPPH par le BHT et l'HE ; obtenues ont permis de tracer les courbes du pourcentage d'activité antiradicalaire représenté ci-dessous (Figure 54, 55)

a. Détermination de l'IC 50 du BHT

Tableau X: Valeurs des DO et du pourcentage d'inhibition du BHT en fonction des différentes concentrations

C mg/l	1	1.5	2	2.5	5
DO	0.551	0.464	0.414	0.300	0.145
A %	44.73	53.46	58.47	69.91	85.46

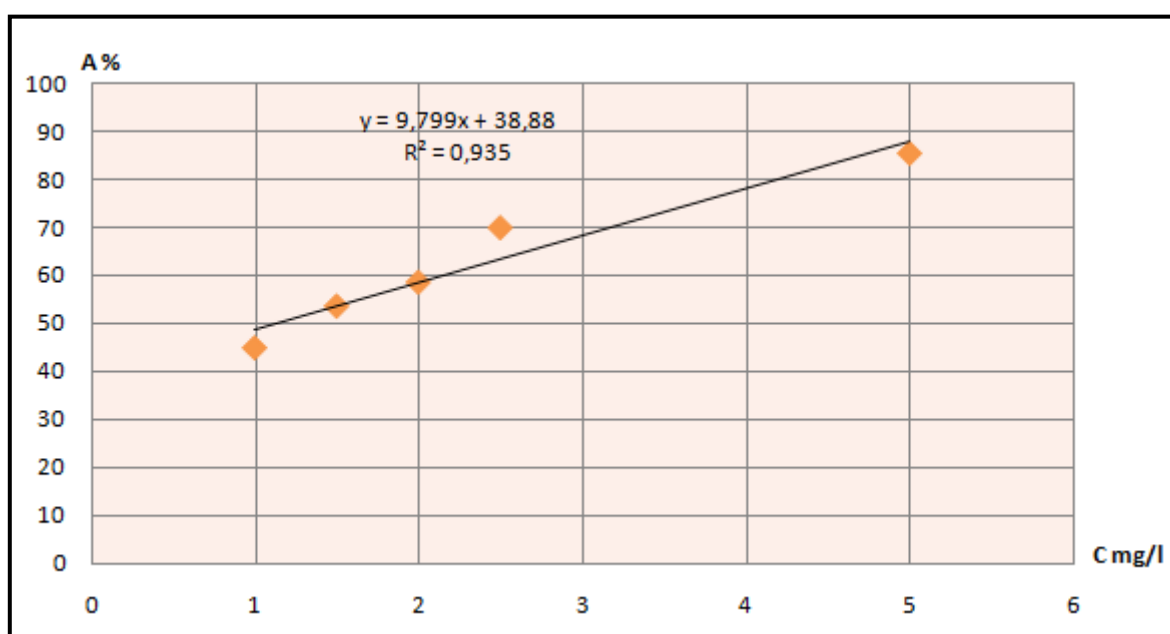


Figure 54: Évolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations du BHT

RÉSULTATS

b. Détermination de l'IC 50 de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L.

Tableau XI: Valeurs des DO et du pourcentage d'inhibition de l'HE de *B. spinosum* en fonction des différentes concentrations

C g/l	1	2	3	4	5	6	8
DO	0.727	0.650	0.626	0.489	0.405	0.354	0.274
A %	27.92	34.80	37.21	50.95	59.38	64.49	72.52

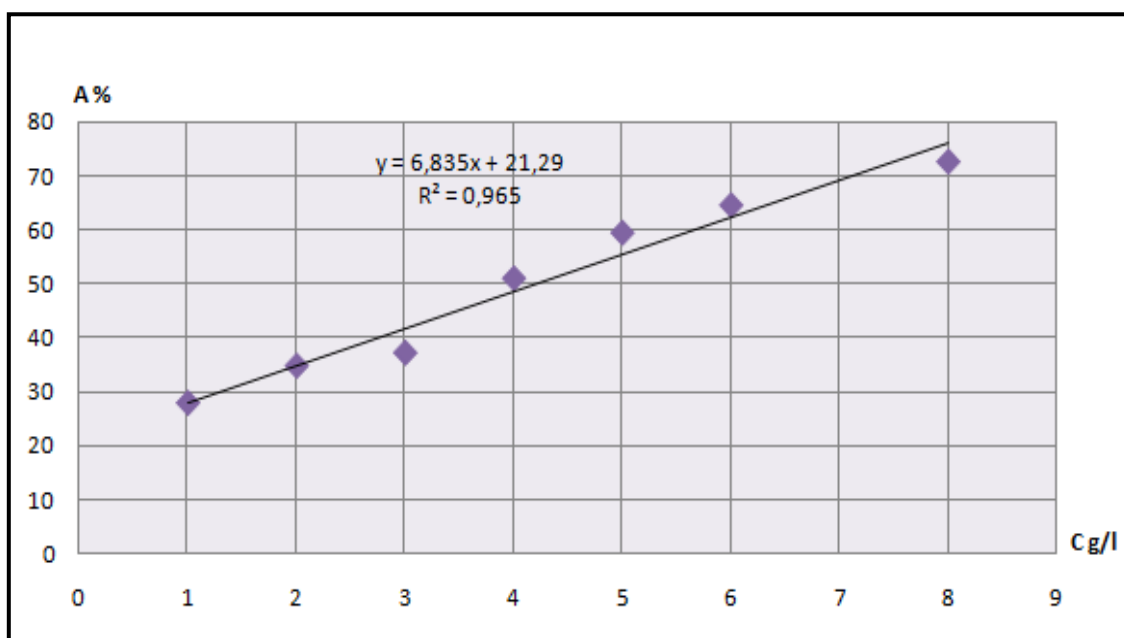


Figure 55: Évolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE de *B. spinosum*

A partir des courbes, nous avons déduit les IC50

Tableau XII: IC50 du BHT et de l'huile essentielle du *B. spinosum*

Solutions	BHT	HE de <i>B. spinosum</i>
IC50	1.14 mg/l= 0.000114 g/l	4.20 g/l

5.2. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle

5.2.1. Ré-isolement des souches bactériennes

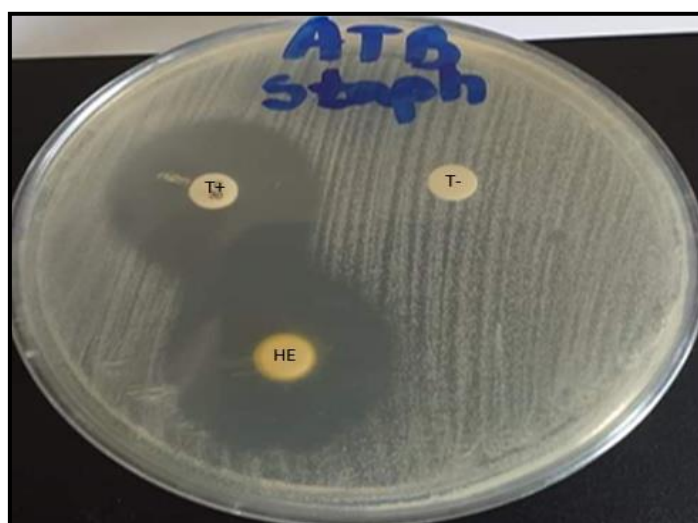
Les ré-isolements effectués sur les trois souches bactériennes ont permis d'obtenir des souches pures (Figure 56).



Figure 56: Résultats du ré-isolement des souches bactériennes

5.2.2. Résultats de l'aromatogramme

Les résultats de l'aromatogramme se sont manifestés sous forme d'halos d'inhibition dont les diamètres ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse (Figure 57, 58, 59), les diamètres sont présentés dans le tableau XIII.



RÉSULTATS

Figure 57: Résultat de l'aromatogramme de *Staphylococcus aureus*



Figure 58: Résultat de l'aromatogramme d'*Escherichia coli*



Figure 59: Résultat de l'aromatogramme de *Pseudomonas aeruginosa*

HE : Huile essentielle ; T+ : Témoin positif ; T- : Témoin négatif

RÉSULTATS

Tableau XIII: Résultats de l'aromatogramme d'huile essentielle pure de *Bupleurum spinosum* L.

Souches bactériennes	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Diamètre d'inhibition du Chloramphénicol (T+)	29 mm	33 mm	< 06 mm
Diamètre d'inhibition du témoin négatif (T-)	< 06 mm	< 06 mm	< 06 mm
Diamètre d'inhibition (huile essentielle)	31mm	6 mm	13 mm
Conclusion (sensibilité ou résistance de la bactérie)	31 mm > 6 mm très sensible	= 6 mm résistante	13 mm > 6 mm sensible



1. Etude botanique de *Bupleurum spinosum* L.

En se référant à la source : « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales » [5]; les résultats de cette étude montrent que les caractéristiques morphologiques du *B. spinosum* correspondent réellement à celles de la famille des Apiaceae du groupe des dicotylédones.

2. Etude histo-anatomique de *Bupleurum spinosum* L.

Les résultats obtenus par notre étude relèvent que les caractéristiques histo-anatomiques du *B. spinosum* concordent avec celles de la famille des Apiaceae, ainsi qu'avec les données des littératures trouvées [135, 136].

3. Etude microscopique de la poudre de *Bupleurum spinosum* L.

La présence des débris cellulaires dans la poudre du *B. spinosum* est un caractère non spécifique. Ils sont présents chez de nombreuses espèces de la famille des Apiaceae.

4. Rendement de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L.

Nous rappelons que l'huile essentielle de *B. spinosum* a été extraite par hydrodistillation, une technique très reconnue pour l'obtention des huiles essentielles. Le tableau XIV résume les rendements en huiles essentielles issues des autres espèces.

DISCUSSION

Tableau XIV: Rendement en huiles essentielles des autres genres de *Bupleurum*

Plante	<i>B. fruticosum</i>	<i>B. montanum</i>	<i>B. plantagineum</i>	<i>B. gibralticum</i>	<i>B. marginatum</i> (6h)	<i>B. marginatum</i> (24)	<i>B. frutescens</i>	<i>B. spinosum</i>
Rendement %	1.85	0.30	0.21	3.5	0.053	0.094	0.055	0.03
Référence	[96]	[98]	[98]	[96]	[95]	[95]	[83]	Notre étude

A partir de ces données, nous avons tracé un histogramme comparatif

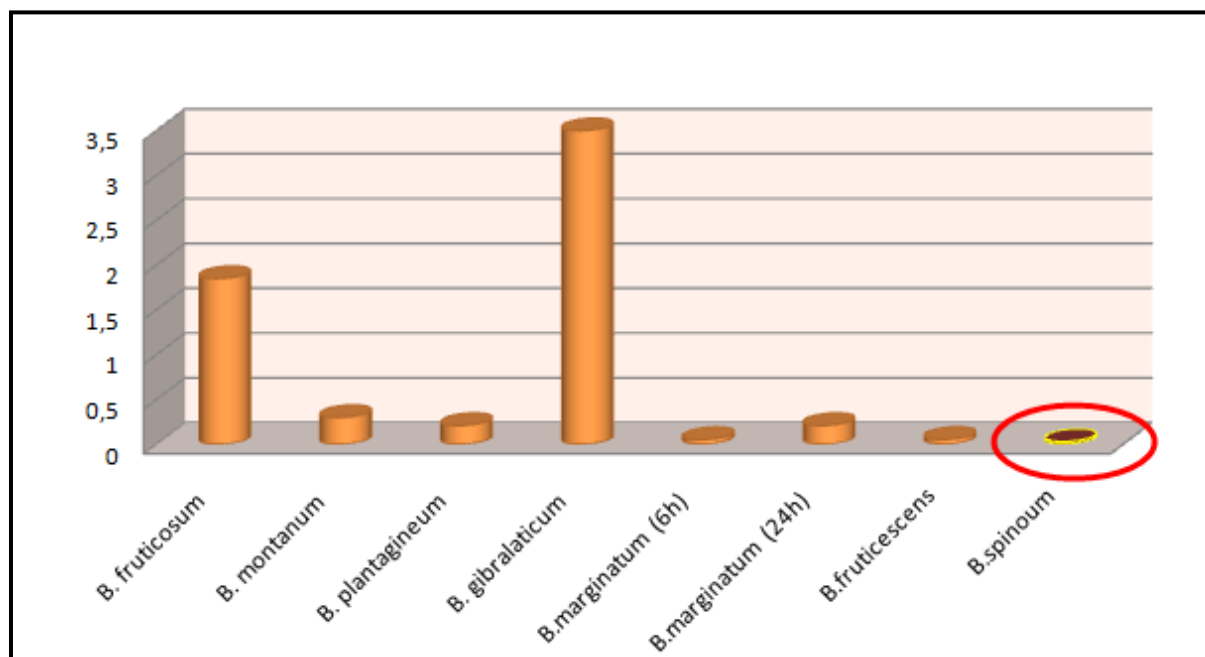


Figure 60: Histogramme en cylindres illustrant le rendement en huile essentielle du genre *Bupleurum*

L'extraction de l'HE de *B. spinosum* par hydrodistillation révèle à une valeur du rendement de l'ordre de 0.03%. Selon histogramme représenté dans la figure 60, nous n'avons constaté que *B. spinosum* présente le plus faible rendement en huile essentielle (dans les limites des

DISCUSSION

conditions d'extraction que nous avons réalisé) par rapport aux autres espèces de *Bupleurum* étudié jusqu'à présent.

5. Analyses des activités biologiques de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L.

Selon la bibliographie disponible, il n'existe pas des travaux déjà réalisés sur l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. ; pour cela, les résultats de cette étude ont été comparés à ceux obtenus par les autres espèces du genre *Bupleurum*.

5.1. Evaluation de l'activité antioxydante

D'après les résultats représentés dans les tableaux (X, XI) et les graphes (Figure 54, 55), nous avons constaté que l'activité antiradicalaire est dose dépendante car elle est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons.

L'IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse plus l'échantillon présente un pouvoir antioxydant plus important.

Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle du *B.spinsum* exprimé en IC₅₀ = 4.20g/l, attestant l'existence d'une activité antioxydante moins importante que celle de l'antioxydant de référence le BHT, qui présente un IC₅₀ de 1.14 mg/l ; mais elle est plus au moins similaire à celle de *Bupleurum marginatum* dont l'IC₅₀ est de 4.42g/l rapportée par l'étude d'Ashour et al (2009) [95].

5.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

Les espèces microbiennes testées présentent des diamètres d'inhibition différents vis-à-vis de l'huile essentielle du *B. spinosum*.

A partir de l'aromatogramme, nous avons constaté que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *B. spinosum* varie en fonction des souches bactériennes testées. Elle présente une forte activité antibactérienne envers *staphylococcus aureus* et une activité modérée envers *Pseudomonas aeruginosa*. Par contre *Escherichia coli* s'est avérée résistante contre cette huile.

DISCUSSION

Tableau XV: Comparaison entre les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE étudiée avec d'autres études

	Notre étude	Ashour et al (2009) [95]	Laouer et al (2009) [98]	
Espèces Souches bactériennes	<i>Bupleurum spinosum</i> 20µl	<i>Bupleurum marginatum</i> 3.2 mg/disc	<i>Bupleurum plantagineum</i> 5µl d'une dilution de ½	<i>Bupleurum montanum</i> 5µl d'une dilution de ½
<i>Staphylococcus aureus</i>	31	10.3	20	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	8	NT	NT
<i>Escherichia coli</i>	6	10	12	11

D'après le tableau XV, une nette différence a été constatée entre les résultats trouvés dans notre travail sur *Bupleurum spinosum* L. et celles de *Bupleurum marginatum*, de *Bupleurum plantagineum* et de *Bupleurum montanum*. Les divergences entre ces résultats pourraient s'expliquer par :

- Une variation de la densité de la suspension bactérienne ;
- Une variation du volume, de la masse et de la concentration d'huile essentielle utilisée pour chaque étude ;
- Une différence du chémotype de l'huile essentielle, par conséquent une différence d'activité ;
- Le diamètre d'inhibition de *Staphylococcus aureus* obtenu avec l'huile essentielle de *B. spinosum* est supérieur à celui de *B. marginatum* et de *B. montanum* et *B. plantagineum*.
- Le diamètre d'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* testé est supérieur à celui trouvé par Ashour et al (2009) [95].
- Tandis que, le diamètre d'inhibition d'*Escherichia coli* testé est inférieur à celui trouvé par Ashour et al (2009) [95], ainsi qu'à celui trouvé par Laouer et al (2009) [98].

DISCUSSION

L'huile essentielle de *B. spinosum* exerce une bonne activité sur les bactéries Gram positif et une faible activité sur les bactéries Gram négatif, tandis que l'huile essentielle de *Bupleurum marginatum* présentent une faible activité sur les bactéries à Gram positif et Gram négatif.

Les résultats de la présente étude ont montré que *S. aureus* ; qui est une bactérie Gram positif ; est plus sensible que *E. coli* et *P. aeruginosa*, qui sont des bactéries Gram négatif.

Cette différence de sensibilité aux huiles essentielles pourrait s'expliquer également par le fait que les bactéries Gram négatif possèdent une résistance intrinsèque aux agents antimicrobiens, qui est en relation avec la nature de leur paroi bactérienne. Le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique. De plus la membrane est plus riche en lipopolysaccharides (LPS) qui la rendent plus hydrophile et empêchant les terpènes hydrophobe d'y adhérer.

Cependant chez les bactéries Gram positif, le peptidoglycane est très épais et associé à des protéines pariétales [137].

A decorative graphic of a scroll with a marbled paper texture. The scroll is horizontal and has a black outline. The top-left and top-right corners are rolled up, and the bottom-left corner is also rolled up. The marbled pattern consists of swirling, organic shapes in shades of grey, white, and light blue.

CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des composés actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Parmi eux, les huiles essentielles qui sont des substances de composition chimique complexe. Elles sont caractérisées par des activités biologiques importantes, notamment l'activité antibactérienne et antioxydante, ce qui permet de les utiliser dans le domaine de l'industrie pharmaceutique, de la cosmétique et de l'industrie alimentaire.

L'objectif de ce travail de fin d'étude était la valorisation de l'huile essentielle extraite de *Bupleurum spinosum* L. de la famille des Apiaceae. Une plante miraculeuse qui est très utilisée par la population Chinoise et Japonaise pour se remédier de plusieurs maladies.

Dans la première partie de ce travail, une étude botanique et histo-anatomique de la racine, la tige et la feuille de *Bupleurum spinosum* L. a été abordée. Il ressort des analyses effectuées que les caractéristiques observées sont similaires à celle de la famille des Apiaceae. Puis, une extraction de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. a été réalisée par la technique d'hydrodistillation simple à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger. Un rendement de 0.03 % a été obtenu, ce rendement est très faible par rapport à celui obtenu par les autres espèces du genre *Bupleurum* tel que le *Bupleurum fruticosum* qui a présenté un rendement de 1.85%.

Dans la deuxième partie de cette étude, une évaluation des activités biologiques de cette huile ont été réalisées.

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. a été évaluée par la méthode du DPPH•. L'IC 50 de l'huile essentielle a été estimé à 4.20 g/l. Ce résultat témoigne que cette huile présente un potentiel antioxydant moins important que celui de l'antioxydant de référence le BHT, dont son IC 50 était de 1.14 mg/l, mais plus au moins similaire à celui obtenu par l'huile essentielle de *Bupleurum marginatum* qui était de 4.42 g/l.

L'activité antimicrobienne, a été évaluée in vitro par la méthode d'aromatogramme, sur une gamme de micro-organismes fournis par le laboratoire central de microbiologie du CHU Nedir Mohammed. Les résultats de l'aromatogramme ont montré que l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. avait un effet inhibiteur important contre la souche bactérienne Gram positif *Streptococcus aureus* (ATCC 25923), avec un diamètre d'inhibition de 31 mm comparé à celui du chloramphénicol qui a été 29 mm. En revanche cette huile a montré une activité antibactérienne modérée contre *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) avec un diamètre de 13 mm. Alors que *E. coli* (ATCC 25922) s'est avérée résistante à l'huile essentielle de

CONCLUSION GÉNÉRALE

Bupleurum spinosum L. avec un diamètre de 6 mm, en le comparant à celui du chloramphénicol qui a été 33 mm.

Perspectives et recommandations :

- Utiliser d'autres techniques d'extraction afin d'optimiser le rendement ainsi que la qualité de l'huile essentielle ;
- Etudier l'activité antimicrobienne en testant d'autres souches bactériennes et des souches fongiques ;
- Elargir le panel des tests d'activités antioxydantes (FRAP, ABTS, CUPRAC...) ;
- Etudier d'autres activités biologiques.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Ouis N. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de Corandre, de Fenouil et de Persil [Thèse]. Oran:Université d'Oran; 2015.
- [2] Baudoux D. Aromathérapie 100 huiles essentielles. Édition : Dunod ; 2017.
- [3] Ames B. Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radical and degenerative diseases. 1983 ; vol 221, p. 1256-1263.
- [4] Bruneton J. Pharmacognosie ; phytochimie ; plantes médicinales 4^{ème} édition. Paris : Éditions Tec & doc ; 2009.
- [5] Quezel P, Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris : Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique. 1963. Tome 2, p 643.
- [6] Catier O, Roux D. Botanique Pharmacognosie Phytothérapie 3^{ème} édition. Édition : Wolters Kluwer ; 2007.
- [7] Fintelmann V, Weiss RF. Manuel pratique de Phytothérapie. Édition : vigot éd ; 2004.
- [8] Andrianne Ph. La gemmothérapie : passé, présent et avenir. 2008 ; 6(1), p. 29-32.
- [9] Sarembaud A, Poitevin B. Homéopathie. Pratiques et bases scientifiques 3^{ème} édition. Édition : Elsevier-masson-abreges de médecine ; 2001.
- [10] Masso R. L'aromathérapie et les huiles essentielles ; 2007.
- [11] Franchomme P, Jollois R, Pénoiel D. L'aromathérapie exactement. Édition : Roger Jolloir ; 2001.
- [12] Histoire des huiles essentielles [En ligne]. 2021 [consulté en Fév 2021]. Disponible sur : <https://www.compagnie-des-sens.fr>
- [13] British pharmacopoeia 2013 volume IV: herbal drugs, herbal drug preparations and herbal medicinal products [En ligne]. 2021 [consulté en Fév 2021]. Disponible sur : <https://www.pharmacopoeia.com>
- [14] Bureau L. Plantes, compléments alimentaires et nutraceutique, une réglementation complexe. Édition : Actual. Pharm. ; 2016 ; 55(561) : 34-38.
- [15] Pasedeloup Granez E. Phytothérapie exemple de pathologie courante à l'officine : fatigue, insomnie, stress, constipation, rhum, douleur et inflammation. [Thèse]. Lille : Université de Lille ; 2019.
- [16] Ghesten A. Le préparateur en pharmacie. Édition : Tec et Doc ; 2001.
- [17] Benslama A. Substance d'origine végétale. [Cour] 2016 2015.
- [18] Alignan M. Déterminisme de la tolérance de l'hôte à la maladie. [Thèse]. Toulouse : Université de Toulouse ; 2006.
- [19] Velé H. Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments. [Thèse]. Angres : Université d'Angres ; 2015.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [20] Festy D. Les huiles essentielles ça marche ! Édition : LEDUC ; 2011.
- [21] Moyes RP. Précis de matières médicales. Tome 1, Paris : Édition Masson ; 1976.
- [22] Kaloustian J, Hadji Minaglou F. La connaissance des huiles essentielles: qualitologie et aromathérapie. Paris : Édition Springer ; 2012.
- [23] Boughendjioua H. Les plante médicinales utilisées pour les soins de la peau, Compositin chimique, activité antioydante et antimicrobiènnne des huilee essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Thymus numidicus*. [Thèse]. Skikda : Université de Skikda ; 2015.
- [24] Vangelder V. L'aromathérapie dans la prise en charge des troubles de santé mineurs chez l'adulte à l'officine. [Thèse]. Lille : Université de Lille ; 2017.
- [25] Moro A, Buronzo A. Grand guide des Huiles essentielles. Édition : HACHETTE; 2008.
- [26] Zermane A. Etude de l'extraction supercritique Application aux systèmes agroalimentaire. [Thèse]. Constantine : Université de Constantine ; 2010.
- [27] Chouitah O. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. [Thèse]. Oran : Université d'Oran ; 2011.
- [28] Kachter L, Sahmi A. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite des fruits de *Coriandrum sativum* L. [Mémoire]. Tizi-Ouzou : Université UMMTO ; 2017.
- [29] Biotechnologie végétale[En ligne] 2021 [consulté en Juil 2021]. Disponible sur: <http://mira-biotechnologievgtale.blogspot.com>
- [30] Al haib A. Valorisation des terpènes naturels issus de plante marocaine par transformation catalytique. [Thèse]. Toulouse : Université de Toulouse ; 2011.
- [31] Mariani S, Bozek V. Le petit atelier des huiles essentielles saison par saison ; 2014.
- [32] Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [En ligne] 2021 [consulté en Fév 2021]. Disponible sur : <https://www.ansm.sante.fr>
- [33] Fabre N. Conseils et utilisation des huiles essentielles les plus courantes en officine. [Thèse]. Toulouse : Université de Toulouse ; 2017.
- [34] Benbelaid F. Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcus faecalis* responsable d'infections d'origine dentaire. [Thèse]. Tlemcen : Université de Tlemcen ; 2015.
- [35] Laurain-Mattar D. Critères de qualité des huiles essentielles. Actual. Pharm. Nov 2018 ; 57(580) : 18-20.
- [36] Mayer F. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite. [Thèse]. Lorraine : Université de Lorraine ; 2012.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [37] Nowicki J. Les dangers de l'utilisation abusive des huiles essentielles. [Thèse]. Lille : Université de Lille ; 2019.
- [38] Attanasio D. Toxicité des huiles essentielles chez les enfants. [Thèse]. Toulouse : Université de Toulouse ; 2018.
- [39] Couic-Marinier F. Les huiles essentielles en pratique, administration et précautions d'emploi. Actual. Pharm. Nov 2018 ; 57(580) : 26-29.
- [40] Rulliere M, Porraz A. Conseils en aromathérapie à l'officine: création d'un site internet destiné aux pharmaciens d'officine. [Thèse]. Grenoble : Université Joseph Fourier ; 2015.
- [41] Lardry JM, Haberkorn V. Les huiles essentielles: principes d'utilisation. Kinésithérapie Rev. Janv. 2007; 7(61) : 18-23.
- [42] Spichiger RE, Vincent S, Figeat M, Jeanmonod D. Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicale. 3^{ème} édition ; 2000.
- [43] Bruneton J. Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales 3^{ème} édition. Paris : Éditions Tec et doc ; 1999.
- [44] Lakhdar DJ. Contribution à l'étude des huiles essentielles et des métabolites secondaires de trois plantes algériennes de la famille des Apiacées : *Daucus reboudii* Coss. ex Batt. & Trab., *Kundmannia sicula* L. DC., et *Elaeoselinum thapsioides* Maire. [Thèse]. Constantine : Université des Frères Mentouri–Constantine1; 2011.
- [45] Berrohouch I. Étude Phytochimique et Biologique de deux plantes médicinales de la famille des Apiacées : *Physospermum verticillatum* (Waldst & Kit) et *Ferula lutea* (Poir) Maire). [Thèse]. Constantine : Université des Frères Mentouri-Constantine1 ; 2017.
- [46] Glimn-lacy J, Kauffman P.B. Botany illustrated. Introduction to plants, Major groups, flowering plants families. 2^{ème} édition. Édition Springer US ; 2006.
- [47] Bruneton J. Plante toxique végétaux dangereux pour l'homme et les animaux 2^{ème} édition. Paris : Édition Tec et Doc ; 2001.
- [48] Lamamra M. Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'*Ammiopsis aristidis* Coss. (Syn. *Daucus aristidis* Coss.) et d'*Achillea santolinoides* Lag. [Thèse]. Sétif : Université Ferhat Abbas Sétif 1 ; 2018.
- [49] Larousse des plantes médicinales.
- [50] Cauwet AM. Le genre *Bupleurum* L (Umbelliferae) dans le bassin occidental de la méditerranée. Principales caractéristiques anatomiques de l'ensemble du sous-genre *Tenoria* (SPRENGL). 1979 ; p. 151-168.
- [51] M. Urgamal M, Sanshir CH, Zhang ML. Classification and distribution of *Bupleurum* L. (Umbelliferae JUSS.) in Mongolia. Bulletin of Botanical Research. 2007; vol. 27, No1, /1. p.20-24.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [52] Ömer K. Essential Oil Composition and Potential Usefulness of Two *Bupleurum* L. Species from. 2014 ; vol .1. p.445-449.
- [53] Guide illustré de la flore algérienne.
- [54] Blamey M, Grey-Wilson C. Toutes les fleurs de méditerranée ; 2000.
- [55] Valdes B, Talavera S, Fernandez-Galiano E. Flora Vascular de Andalucía Occidental. *Bupleurum*. Kretes édition Barcelona ; 1987.
- [56] Si-Qi L, Long-Ze L, Cordell GA. Lignan glucosides from *Bupleurum wenchuanense*. *Phytochemistry*. Apr 1993 ; 33(1) : 193-196.
- [57] Sánchez-Contreras S, Díaz-Lanza AM, Matellano LF, Bernabé M, Ollivier E, Balansard G, et Al. Minor sulfated saikosaponins from the aerial parts of *Bupleurum rigidum* L. *J. Nat. Prod.* Nov 1998 ; 61(11) : 1383-1385.
- [58] Ono M, Yoshida A, Ito Y, Nohara T. Phenethyl alcohol glycosides and isopentenol glycoside from fruit of *Bupleurum falcatum*. *Phytochemistry*. Jul 1999; 51(6) : 819-823.
- [59] Fujioka T, Yoshida K, Fujii H, Nagao T, Okabe H, Mihashi K. Antiproliferative Constituents from Umbelliferae Plants. VI. New Ursane-Type Saikosaponin Analogs from the Fruits of *Bupleurum rotundifolium*. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 2003 ; 51(4) : 365-372.
- [60] Akai E, Takeda T, Kobayashi Y, Ogihara Y. Sulfated triterpenoid saponins from the leaves of *Bupleurum rotundifolium* L. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 1985; 33(9) : 3715-3723.
- [61] Pistelli L, Cammili A, Manunta A, Marsili A, Morelli I. Triterpenoid saponins and flavonoid glycosides from *Bupleurum falcatum* subsp. *Cernuum* *Phytochemistry*. Aug 1993 ; 33(6) : 1537-1539.
- [62] Li DQ, Wu J, Liu LY, Wu YY, Li LZ. Cytotoxic triterpenoid glycosides (saikosaponins) from the roots of *Bupleurum chinense*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* Sep 2015 ; 25(18) : 3887-3892.
- [63] Wang Y, Guo Q, Cheng Z, Zeng K, Liang H, Tu P, et al. New saikosaponins from the roots of *Bupleurum chinense*. *Phytochem. Lett.* Sep 2017; vol. 21, p. 183-189.
- [64] Yu JQ, Deng AJ, Wu LQ, Zhang ZH, Liu Y, Wang WJ et al. Osteoclast-inhibiting saikosaponin derivatives from *Bupleurum Chinense* . *Fitoterapia*. Mar 2013 ; vol. 85, p. 101-108.
- [65] Shimaoka A, Seo S, Minato H. Saponins isolated from *Bupleurum falcatum* L.; components of saikosaponin b. *J. Chem. Soc. Perkin.* 1975 ; 1(20) : 2043.
- [66] Ishii H, Nakamura M, Seo S, Tori K, Tozjo T, Yoshimura Y. Isolation, Characterization, and Nuclear Magnetic Resonance Spectra of New Saponins from the Roots of *Bupleurum falcatum* L. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 1980 ; 28(8): 2367-2373.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [67] Ebata N, Nakajima K, Hayashi K, Okada Minoru, Maruno Masao. Saponins from the root of *Bupleurum falcatum*. *Phytochemistry*.1996; 41(3): 895-901.
- [68] Ding JK, Fujino H, Kasai R, Fujimoto N, Tanaka O, Zaho J et al. Chemical evaluation of *Bupleurum* species collected in Yunnan, China. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 1986 34(3): 1158-1167.
- [69] Fang W, Yang YJ, Guo BL, Cen S. Anti-influenza triterpenoid saponins (saikosaponins) from the roots of *Bupleurum marginatum* var. *stenophyllum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* Apr 2017; 27(8): 1654-1659.
- [70] Matsuda H, Murakami T, Ninomiya K, Inadzuki M, Yoshikawa M. New hepatoprotective saponins, bupleurosides III, VI, IX, and XIII, from Chinese *Bupleuri Radix*: Structure-requirements for the cytoprotective activity in primary cultured rat hepatocytes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* Sep 1997; 7(17): 2193-2198.
- [71] Li T, Yuying Z, Guangzhong T, Bin W, Shaoping C, Ruyi Z. Saikosaponins from roots of *Bupleurum scorzonnerifolium*. *Phytochemistry*. Jan 1999 ; 50(1) : 139-142.
- [72] Laraoui H. Étude phytochimique de l'extrait chloroformique de *bupleurum atlanticum*. [Thèse]. Batna : Université de Batna ; 2007.
- [73] Zhang TT, Zhou JS, Wang Q. HPLC Analysis of Flavonoids from the Aerial Parts of *Bupleurum* Species. *Chin. J. Nat. Med.* Mar 2010 ; 8(2) : 107-113.
- [74] Gevrenova R, Kondeva Burdina M, Denkov N, Zheleva Dimit D. Flavonoid profiles of three *Bupleurum* species and in vitro hepatoprotective activity of *Bupleurum flavum* Forsk. *Pharmacogn. Mag.* 2015 ; 11(41) : 14.
- [75] Bencheraiet R, Kabouche A, Kabouche Z, Touzani R, Jay Maurice. Flavonol 3-O-Glycosides from Three Algerian *Bupleurum* Species. 2012 ; p. 4.
- [76] Pistelli L, Bertoli A, Bilia AR, Morelli I. Minor constituents from *Bupleurum fruticosum* roots. *Phytochemistry*. Apr 1996 ; 41(6): 1579-1582.
- [77] González AG, Esttvez-Reyes R, Mato C, Estévez-Braun AM. Three lignans from *Bupleurum salicifolium*. *Phytochemistry*. 1990; 29(6): 1981-1983.
- [78] Barrero AF, Herrador MM, Akssira M, Arteaga P, Romera JL. Lignans and Polyacetylenes from *Bupleurum acutifolium*. *J. Nat. Prod.* 1999 ; 62(7) : 946-948.
- [79] Hang HQ, Zhang X, Xu ZX, Su J, Yan sk, Zhang WD. Fast determination of saikosaponins in *Bupleurum* by rapid resolution liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *Analytical Chemistry*. 2004 ; 76(14).
- [80] Cao TQ, Vu NK, Woo MH, Min BS. New polyacetylene and other compounds from *Bupleurum chinense* and their chemotaxonomic significance. *Biochem. Syst. Ecol.* Oct 2020 vol. 92, p. 90-104.
- [81] Barrero AF, Haïdour A, Muñoz-Dorado M, Akssira M, Sedqui A, Mansour I. Polyacetylenes, terpenoids and flavonoids from *Bupleurum spinosum*. *Phytochemistry*. Aug 1998 ; 48(7) :1237-1240.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [82] Ocete MA, Risco S, Zarzuelo A, Jimenez J. Pharmacological activity of the essential oil of *Bupleurum gibraltaricum*: Anti-inflammatory activity and effects on isolated rat uteri J. Ethnopharmacol. May 1989 ; 25(3) : 305-313.
- [83] Martin S, Padilla E, Ocete M, Galvez J, Jiménez J, Zarzuelo A. Anti-Inflammatory Activity of the Essential Oil of *Bupleurum fruticosens*. Planta Med. Dec1993; 59(06) : 533-536.
- [84] Yao RY, Zou YF, Chen XF. Traditional Use, Pharmacology, Toxicology, and Quality Control of Species in Genus *Bupleurum* L. Chin. Herb. Med. Nov 2013 ; 5(4) : 245-255.
- [85] Park KH, Park J, Koh D, Lim Y. Effect of saikosaponin-A, a triterpenoid glycoside, isolated from *Bupleurum falcatum* on experimental allergic asthma. Phytother. Res. 2002 ; 16(4) : 359-363.
- [86] Abe H, Sakaguchi M, Odashima S, Arichi Shigeru. Protective effect of saikosaponin-d isolated from *Bupleurum falcatum* L. on CCl 4 -induced liver injury in the rat. Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol. Sep 1982 ; 320(3) : 266-271.
- [87] Chen SM, Sato N, Yoshida M, Satoh N, Ueda S. Effects of *Bupleurum scorzonerae folium*, *Bupleurum falcatum*, and saponins on nephrotoxic serum nephritis in mice. J. Ethnopharmacol. Mar 2008 ; 116(3) : 397-402.
- [88] Guinea M, Parellada J, Lacaille-Dubois M, Wagner H. Biologically Active Triterpene Saponins from *Bupleurum fruticosum*. Planta Med. Apr. 1994 ; 60(02) : 163-167.
- [89] Gong JH, Liu XQ, Ouyang WL, Zhu HT, Ding XJ, Tang JF et al. Effect of polysaccharide from the root of *Bupleurum chinese* DC and *Bupleurum scorzoneraefolium* Willd on hydrogen peroxide-induced myocardial apoptosis. Trop. J. Pharm. Res. Apr 2020 ; 19(2).
- [90] Matsumoto T, Sun XB, Hanawa T, Kodaira H, Ishii K, Yamada H. Effect of the antiulcer polysaccharide fraction from *Bupleurum falcatum* L. on the healing of gastric ulcer induced by acetic acid in rats. Phytother. Res. Feb 2002; 16(1): 91-93.
- [91] Kiliç O. Essential Oil Composition and Potential Usefulness of Two *Bupleurum* L. Species from Turkey. p. 5; 2014.
- [92] Ushio Y, Abe H. Inactivation of Measles Virus and Herpes Simplex Virus by Saikosaponin d. Planta Med. Apr 1992; 58(02): 171-173.
- [93] Yin F, Pan R, Chen R, Hu L. Saikosaponins from *Bupleurum chinense* and Inhibition of HBV DNA Replication Activity Nat. Prod. Commun. Feb 2008 ; 3(2) : 1934.
- [94] Xu Y, Yu Y, Wang Q, Li W, Zhang S, Liao X et al. Active components of *Bupleurum chinense* and *Angelica biserrata* showed analgesic effects in formalin induced pain by acting on Nav1.7 .J. Ethnopharmacol. Apr 2021; vol. 269, p. 113736.
- [95] Ashour ML, El-Readi M, Youns M, Mulyaningsih S, Sporer F, Efferth T, et al. Chemical composition and biological activity of the essential oil obtained from *Bupleurum marginatum* (Apiaceae). J. Pharm. Pharmacol. Jan 2021 ; 61(8) : 1079-1087.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [96] Lorente I, Ocete MA, Zarzuelo A, Cabo MM, Jimenez J. Bioactivity of the Essential Oil of *Bupleurum fruticosum*. J. Nat. Prod. Mar 1989 ; 52(2) : 267-272.
- [97] Shi B, Liu W, Wei WJ. Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activity of the Essential Oil of *Bupleurum longiradiatum*. Nat. Prod. Commun. Jul 2021; 5(7) :193.
- [98] Laouer H, Hirèche-Adjal Y, Prado S, Boulaacheb N, Akkal S, Singh G et al. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Bupleurum montanum* and *B. plantagineum*. Nat. Prod. Commun. Nov 2009 ; 4(11) : 578.
- [99] Maxia A, Frau MA, Marongiu B, Piras A, Porcedda S, Falconieri D et al. Biological Assays and Chemical Composition of Volatile Oils of *Bupleurum fruticosum* L. (Apiaceae). Rec Nat Prod. 2011 ; p. 8.
- [100] Barrero AF, Haïdour A, Sedqui A, Mansour AI, Rodríguez-García I, López A, et al. Saikosaponins from roots of *Bupleurum gibraltarium* and *Bupleurum spinosum*. Phytochemistry. Aug 2000 ; 54(8) : 741-745.
- [101] Dahmoune A, Smati D, Mitaine-Offer A C, Miyamoto T, Tanaka C, Paululat T, et al . Triterpene saponins from the roots of *Bupleurum spinosum* Gouan. Phytochemistry Letters. 2020. Vol 39,157-161.
- [102] Defraigne JO, Pincemail J. Stress oxydant et antioxydants.Rev Med Liège. 2008; p. 10.
- [103] Pisoschi AM, Pop A, Cimpeanu C, Predoi G. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review.Oxid. Med. Cell. Longev. 2016; vol 16, 1-36.
- [104] Leroy P. Les composants du stress oxydant et les radicaux libres. Hegel. 2016 ; 2(2) : 218-219.
- [105] Leverve X. Stress oxydant et antioxydants.Cah. Nutr. Diététique. Oct 2009; 44(5): 219-224.
- [106] Favier A. Stress oxydant et pathologies humains. Ann. Pharm. Nov 2006; 64(6): 390-396
- [107] Amorati R, Foti MC, Valgimigli L. Antioxidant Activity of Essential Oils. J. Agric. Food Chem. Nov 2013; 61(46): 10835-10847.
- [108] Johnson F, Giulivi C. Superoxide dismutases and their impact upon human health. Mol. Aspects Med. Aug 2005; 26(4): 340-352.
- [109] Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP. Le stress oxydant. Rev Med Liege. 2007; p. 628-638.
- [110] Dontha S. A review on antioxidant methods. Asian J Pharm Clin Res. 2016; 9(2): 14-32.
- [111] Nordberg J, Arnér ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. Free Radic. Biol. Med. 2001; 31(11): 1287-1312.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [112] Wolf R, Wolf D, Ruocco V. Vitamin E: the radical protector. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 1998 ; 10(2) : 103-117.
- [113] El-Agamey A, Lowe GM, McGarvey DJ, Mortensen A, Phillip DM, Truscott TG et al. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch. Biochem. Biophys.* 2004 ; 430(1) : 37-48.
- [114] Berger MM. Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutr. Clin. Métabolisme.* Mar 2006 ; 20(1) : 48-53.
- [115] Edris AE. Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother. Res.* Apr 2007; 21(4) : 308-323.
- [116] Anthony KP, Deolu-Sobogun S, Saleh MA. Comprehensive Assessment of Antioxidant Activity of Essential Oils. *J. Food Sci.* Aug 2012; 77(8): 839-843.
- [117] Walker DA. Like clockwork-an unfinished story. *Oxygraphics, Limited.* 2000; p. 125.
- [118] Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53(6): 1841-1856.
- [119] Pisoschi AM, Pop A, Cimpeanu C, Predoi G. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. Oct 2016.
- [120] Negulescu GH P, Pisoschib A M. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. Oct 2011.
- [121] Alam N, Bristi J N, Rafiquzzaman. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Jun 2012.
- [122] Bouyahya A, Bakri Y, Et-Touys A, Telbaoui A, Khouchlaa A, Charfi S et al. Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie.* 2017; p. 1-11.
- [123] Mesaros N, Van Bqmbeke F, Avrain L, Glupczynski G, Vanhoof R, Plésiat P et al. L'efflux actif des antibiotiques et la résistance bactérienne: état de la question et implications. *Lett. L'infectiologue.* 2005 ; vol. 4, p. 117-126.
- [124] Guillot JF. Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. in *Annales de recherches vétérinaires*; 1989; 20(1): 3-16.
- [125] Aujard Y, Gendrel D, Raymond J, Bingen E, Les résistances bactériennes en Pédiatrie. Paris; 1997.
- [126] Bouyahya A, Bakri Y, Edaoudi F, Telbaoui A, Et-Touys A, Abrini J et al, « Antibacterial, antioxidant and antitumor properties of Moroccan medicinal plants : A review », *Asian Pac. J. Trop. Dis.* Jan 2017; vol. 7, p. 57-64.
- [127] Oussalah M, Caillet S, Sausier L, Lacroix M. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *MeatSci.* Jun 2006; 73(2): 236-244.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [128] Goetz P, Ghedira K. Phytothérapie anti-infectieuse, p. 383. Paris ; 2012.
- [129] Akthar MS, Degaga B, Azam T. Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: a review. J. Issues. ISSN. 2014 ; vol. 2350, p. 1588 .
- [130] Barka F. Tp 4: la double coloration. [En ligne] 2021 [Consulté en Juil 2021]. Disponible sur: <https://elearn.univ-tlemcen.dz>
- [131] Fekih N. Propriétés chimique et biologique des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie. [Thèse]. Tlemcen : Université d'Abou Beker Belkaid; 2014.
- [132] Coelho MT, Gonçalves JC, Alves V, Moldao-Martins M. Antioxidant activity and phenolic content of extracts from different *Pterospartum tridentatum* populations growing in Portugal. Procedia Food Sci. 2011; vol. 1, p. 1454-1458.
- [133] Romanet R, Coelho C, Liu Y, Bahut F, Ballester J, Nikolantonaki M et Al. The antioxidant potential of white wines relies on the chemistry of sulfur-containing compounds: An optimized DPPH assay. Molecules. 2019; vol. 24, n° 7, p. 1353.
- [134] Yaacoub R, Tlidi I. Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des grains de *Cuminum cyminum* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. extraite par hydrodistillation et CO₂ supercritique: Etude comparative. [Mémoire]. Oum El Bouaghi : Université de Larbi Ben M'Hidi ; 2018.
- [135] Blanca G, Cabezudo B, Cueto M, Torres CM, Salazar C, Flora Vascular de Andalucía Oriental, 2^{ème} édition. Édition Spanish; 2011.
- [136] Dupont F, Guignard JL. Botanique Systématique moléculaire, 4^{ème} édition. France : Édition Elsevier Masson ; 2007.
- [137] Boukhatem.MN, Ferhat.MA, Saidi.F. Valorisation de l'essence aromatique du Thym *Tymus vulgaris* en aromathérapie anti-infectieuse. Oct 2014 ; vol 8, p. 1418-1431.

Résumé

Ce travail de fin d'étude rentre dans le cadre de la valorisation de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. Cette plante provient de la région d'Ifarhounène dans la wilaya de Tizi-Ouzou.

De ce fait, des études botanique et histo-anatomique ont été réalisées sur la tige, la racine la feuille de *Bupleurum spinosum* L. Puis une extraction de son huile essentielle a été effectuée par la technique d'hydrodistillation simple. Enfin nous avons évalué l'activité antioxydante par la méthode du DPPH• ainsi que l'activité antibactérienne par la méthode de l'aromatogramme.

D'après les résultats obtenus, les caractères morphologiques et histo-anatomiques du *Bupleurum spinosum* L. sont similaires à celles de la famille des Apiaceae. Le rendement obtenu était de 0.03%. Il est considéré faible par rapport aux autres rendements des autres genres de *Bupleurum* étudiés jusqu'à présent.

Le pouvoir antioxydant exprimé en IC 50 = 4.20 g/l était similaire à celui de l'huile essentielle de *Bupleurum marginatum* mais moins important par rapport à celui de l'antioxydant synthétique : le BHT ; qui a présenté un IC 50 = 1.14 mg/l. En outre l'évaluation de l'activité antibactérienne a révélé une inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de 31mm et 13mm respectivement. Pour *Escherichia coli* une résistance bactérienne a été constatée.

Mots clé : *Bupleurum spinosum* L., Hydrodistillation, Huile essentielle, Activité antioxydante, DPPH, IC50, Activité antibactérienne.

Abstract

This work of end of study comes within the framework of the valorization of the essential oil of *Bupleurum spinosum* L. This plant comes from the region of Ifarhounène in the province of Tizi-Ouzou.

Therefore, a botanical and histo-anatomical study was carried out on the stem, the root and the leaf of *Bupleurum spinosum* L. Then an extraction of its oil was carried out by the simple hydrodistillation technique. Finally we evaluated the antioxidant activity by the DPPH- method and the antibacterial activity by the aromatogram method.

According to the results obtained, the morphological and histo-anatomical characters of *Bupleurum spinosum* L are similar to those of the Apiaceae family. The yield obtained was 0.03%. It is considered low compared to other yields of other *Bupleurum* genera studied so far.

The antioxidant power expressed in IC 50 = 4.20 g/l was similar to that of the essential oil of *Bupleurum marginatum* but less important compared to that of the synthetic antioxidant: BHT ; which presented an IC 50 = 1.14 mg/l. In addition the evaluation of antibacterial activity revealed an inhibition of the growth of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* with a diameter of 31mm and 13mm respectively. For *Escherichia coli* a bacterial resistance was found.

Key words: *Bupleurum spinosum* L., Hydrodistillation, Essential oil, Antioxidant activity, DPPH, IC50, Antibacterial activity.