



## Résumé :

L'utilisation des huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales remonte à des milliers d'années. Elles ont été utilisées dans différents domaines à travers le monde en raison de leurs propriétés thérapeutiques diverses. Cette étude avait pour objectif l'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle (HE) de *Bupleurum spinosum* L. Pour cela, nous avons réalisé une étude botanique et histo-anatomique sur les différentes parties de la plante (feuille, tige, racine) suivie d'une extraction de son huile essentielle par hydrodistillation via un appareil de type Clevenger. L'évaluation de l'activité antifongique de cette huile essentielle vis-à-vis de cinq espèces fongiques : *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon sp* et *Penicillium sp* a été réalisée par la détermination du diamètre d'inhibition (diffusion sur milieu solide), de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par micro-dilution sur microplaque et de la concentration minimale fongicide (CMF). D'après les résultats obtenus, les caractères morphologiques et histo-anatomiques de *B. spinosum* étaient similaires à ceux de la famille des Apiaceae. Le rendement de la plante en huile essentielle était de 0.06% (ml/g), beaucoup plus faible que ceux des autres espèces du genre *Bupleurum*. Les CMI et les CMF ont été déterminées et les résultats ont clairement montré une activité antifongique contre ces espèces, avec des diamètres d'inhibitions qui confirment le potentiel de cette plante en tant que source prometteuse de nouvelles thérapies antifongiques. *Cryptococcus neoformans* a été la plus sensible vis-à-vis de l'huile essentielle.

## Abstract:

The use of essential oils from aromatic and medicinal plants goes back thousands of years. They have been used in various fields throughout the world for their diverse therapeutic properties. The aim of this study was to evaluate the antifungal activity of the essential oil of *Bupleurum spinosum* L. To do this, we carried out botanical and histo-anatomical studies on the different parts of the plant (leaf, stem, root), followed by extraction of its essential oil by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus. The evaluation of the antifungal activity of this essential oil against five fungal species: *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon sp* and *Penicillium sp* was assessed by determining inhibition diameter (diffusion on solid medium), the minimum inhibitory concentration (MIC) by micro-dilution on microplate and the minimum fungicidal concentration (MFC). According to the results obtained, the morphological and histo-anatomical characters of *B. spinosum* were similar to those of the Apiaceae family. The plant's yield of essential oil was 0.06% (ml/g), much lower than that of other *Bupleurum* species. The MICs and the MFCs were determined, and the results clearly showed antifungal activity against these species, with inhibition diameters that confirm the potential of this plant as a promising source of antifungal compounds and new antifungal therapies. *Cryptococcus neoformans* was the most sensitive to the essential oil.

**Mots clés :** *Bupleurum spinosum* L. ; Hydrodistillation ; Huile essentielle ; Activité antifongique ; Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) ; Concentration Minimale Fongicide (CMF).

## 1- Introduction

L'Algérie est l'un des pays les plus riches en ressources végétales et sa situation géographique stratégique lui confère une flore très diversifiée décrivant 3139 espèces végétales (1). La famille des Apiaceae est l'une des familles les plus importantes des plantes à fleurs, représentant la très grande majorité de l'ordre des Apiales (2). C'est une famille de plantes Dicotylédones relativement homogène, caractérisée notamment par son inflorescence typique ; l'ombelle (3). En Algérie, elle est représentée par 55 genres dont fait partie le genre *Bupleurum* (Buplèvre) qui tire son origine du grec "bous" voulant dire bœuf et pleuron, ou plèvre, qui fait allusion à la consistance assez coriace des feuilles (1). Ce genre comprend environ 200 espèces répandues dans les régions semi-tropicales de l'hémisphère nord (Europe, Asie et Afrique du nord) et en particulier dans les régions méditerranéennes (4). En Algérie, ce genre est représenté par quatorze espèces dont cinq sont endémiques (*B. oligactis* Boiss., *B. balanasae* Boiss., *B. atlanticum* Murb., *B. plantagineum* Desf. et *B. montanum* Coss.) (5).

La plupart des espèces de *Bupleurum* sont riches en métabolites secondaires ce qui explique leur utilisation traditionnelle datant de 2000 ans en Chine, pour le traitement de diverses maladies (la grippe, la malaria, l'hépatite, etc.) (4,6). Des investigations scientifiques réalisées sur plusieurs espèces du genre *Bupleurum* ont permis de mettre en évidence l'efficacité des huiles essentielles (HE) extraites de ces plantes. Les HEs sont définies comme étant des produits odorants, généralement de composition complexe, obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage (7).

Les recherches scientifiques ont rapporté que les HEs extraites des différentes espèces de *Bupleurum* sont douées d'activités thérapeutiques diverses : cytotoxique, anti-inflammatoire, antiproliférative, hépato-protectrice, antibactérienne et antifongique (3–6,8,9). L'activité antifongique a un intérêt particulier vu le grand nombre d'affections fongiques chez l'homme (10). L'incidence des mycoses augmente et l'on recense actuellement environ 1500 000 morts liés à ces infections chaque année dans le monde (11). Près de 90% des mycoses humaines sont provoquées par des espèces appartenant aux genres *Aspergillus*, *Candida*, *Epidermophyton*, *Microsporum* et *Trichophyton* (12). En raison de la multiplication du nombre de patients fragiles (multi-opérés, immunodéprimés, etc.), des problèmes de résistance de certaines souches aux médicaments usuels et de la cytotoxicité des antifongiques systémiques, la recherche de nouveaux antifongiques s'est avérée nécessaire et s'est orientée vers les

molécules bioactives extraites de plantes médicinales et aromatiques (13).

*Bupleurum spinosum* L. (nom vernaculaire : Buplèvre épineux, Tafa en kabyle ou Choubreq en arabe) est une plante aromatique, appartenant à la famille des Apiaceae. C'est un buisson en coussinet, à tiges ligneuses et fortement épineuses, à feuilles entières et lancéolées, avec des ombelles composées.

En Algérie, l'espèce pousse sur les rocailles, dans les moyennes et hautes montagnes. Elle est assez commune dans les hauts plateaux et l'Atlas saharien mais rare sur les hautes montagnes du Tell (1,14). L'utilisation traditionnelle en Algérie de cette plante n'a pas été recensée et l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. à la différence des autres espèces du genre *Bupleurum* n'a jamais fait l'objet d'investigations scientifiques.

L'objectif de notre étude consiste en une valorisation de la flore Algérienne et de l'huile essentielle extraite de *Bupleurum spinosum* L. et une évaluation de son éventuelle activité antifongique pour la première fois.

Dans ce travail nous avons effectué l'étude des caractéristiques morphologiques et histo-anatomiques de *Bupleurum spinosum* L., l'extraction de l'huile essentielle de cette plante ainsi que l'étude de ses caractéristiques organoleptiques, la détermination de son rendement et de son indice de réfraction, la réalisation de l'antifongogramme, la détermination de la CMI et de la CMF.

## **2- Matériel et méthode**

### **2.1. Récolte du matériel végétal**

La plante *Bupleurum spinosum* L. a été récoltée dans les montagnes de Djurdjura à la station de col de Tirourda (Algérie) en décembre 2022 et mars 2023 à une altitude de 1750 mètres une longitude de 4°20'57'3''E et une latitude de 36°28'20'7''N (15) par Pr Dahmoune (Maitre de Conférences A en Botanique Médicale et Cryptogamie à la Faculté de Médecine, UMMTO). La plante entière (tige, feuille, racine) a été nettoyée, séchée et conservée à l'abri de la lumière dans des conditions optimales.

### **2.2. Etude botanique**

#### **Etude morphologique**

Une étude morphologique de la plante (feuille, tige et racine) a été réalisée à l'œil nu et à la loupe binoculaire.

#### **Etude histo-anatomique**

Des coupes histologiques des différentes parties de la plante ont été réalisées par la technique de double coloration (vert de méthyle- rouge Congo) (16,17). Les colorants permettent par leurs affinités différentielles de caractériser les tissus qui les constituent : les parois lignifiées sont colorées en vert et en bleu, les parois celluloses en rose, les parois cutinisées en jaune-verdâtre, les parois subérifiées en marron. Les coupes ont été observées au microscope optique en utilisant des grossissements adaptés (15).

### **2.3. Extraction de l'huile essentielle**

L'extraction de l'huile essentielle à partir des différentes parties de la plante (feuille, tige, racine) a été effectuée en suivant le principe d'hydrodistillation par entraînement à la vapeur d'eau à l'aide d'un appareil de type Clevenger (18,19). Une quantité de 50g de la plante sèche a été mise dans un ballon à fond rond, additionnée de 200 ml d'eau distillée et quelques morceaux de pierre ponce (servant à réguler l'ébullition). L'ensemble a été mis à ébullition pendant 03 heures, dans un chauffe-ballon relié à un réfrigérateur pour assurer la condensation de l'huile essentielle obtenue. Nous avons conservé cette dernière dans des flacons ambrés, à l'abri de la lumière à 4C° (8,20). Nous avons utilisé une quantité totale de 2.5kg de plante sèche dans ce processus d'extraction.

## **Calcul du rendement de l'extraction**

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le volume en huile extraite en (millilitre) et la masse de la plante sèche. Il est exprimé en pourcentage selon la formule Suivante :(28,29)

Rendement d'extraction (%) =(quantité d'huile essentielle obtenue / poids de la plante utilisée)X100

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle de la plante a été déterminé à partir d'un échantillon de 2.5kg de plante.

### **2.4. Détermination de l'indice de réfraction de l'huile essentielle**

La méthode décrite par l'association Française de normalisation (AFNOR) a été appliquée (AFNOR, 2000). Elle consiste à mettre (02) à (03) gouttes d'huile essentielle sur le prisme du réfractomètre d'Abbe et lire l'indice de réfraction à l'aide de l'oculaire à 20°C (21).

## **2.5 Evaluation de l'activité antifongique**

### **2.5.1 Méthode utilisée**

L'activité antifongique a été déterminée par la méthode de diffusion sur un milieu solide (8). Le principe de cette méthode repose sur la diffusion de l'huile essentielle sur une gélose déjàensemencée par un champignon.

### **2.5.2 Origine et choix des souches fongiques**

L'activité antifongique a été étudiée vis-à-vis de cinq (05) espèces fongiques :

*Candida albicans* ; *Trichosporon sp* ; *Cryptococcus neoformans* ; *Penicillium sp* ; *Aspergillus niger*. Ces espèces sont des souches pathogènes isolées des malades et ont été fournies par le Laboratoire de Parasitologie du CHU Nedir Mohammed de Tizi-Ouzou.

### **2.5.3 Choix des milieux de culture**

Le milieu de culture utilisé pour la préculture et l'ensemencement était le sabouraud/chloramphénicol (SC) (8,22).

### **2.5.4 Préparation des précultures**

Nous avons prélevé quelques colonies de souches conservées et réalisé des précultures sur sabouraud/chloramphénicol. L'incubation des précultures a été faite à une température de 30°C à 35°C (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Trichosporon sp*) et à 37°C (*Cryptococcus neoformans*) pendant 48h à 72h (8,22–24).

### 2.5.5 Réalisation de l'antifongigramme

Nous avons préparé des suspensions fongiques dans l'eau physiologique stérile à 0.9% en respectant la turbidité de 0.5 MF (McFarland) à partir des précultures (25). L'ensemencement des suspensions fongiques a été effectué sur les boîtes de pétri contenant de la gélose sabouraud/chloramphénicol à l'aide d'un écouvillon qui a été imbibé de la suspension et l'excès du liquide a été éliminé par rotation de l'écouvillon sur les parois du tube. Des stries serrées ont été réalisées à trois reprises sur la totalité de la surface de la gélose en faisant tourner la boîte d'un angle de 60°. Nous avons préparé deux solutions d'antifongiques de référence dans du Diméthylsulfoxyde (DMSO) : voriconazole (5.12mg/ml) utilisé pour *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Cryptococcus neoformans* et sertaconazole (5.12mg/ml) utilisé pour *Candida albicans*, *Trichosporon sp*. Trois disques de 6mm de diamètre ont été déposés à la surface de la gélose imbibés de 20µl de l'huile essentielle pure, 20µl de DMSO comme témoin négatif et 20µl de voriconazole ou sertaconazole comme témoin positif. Les boîtes ont été incubées à 35°C (pour *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Trichosporon sp*) et à 37°C (pour le *Cryptococcus neoformans*.) pendant 48h (8,15,23).

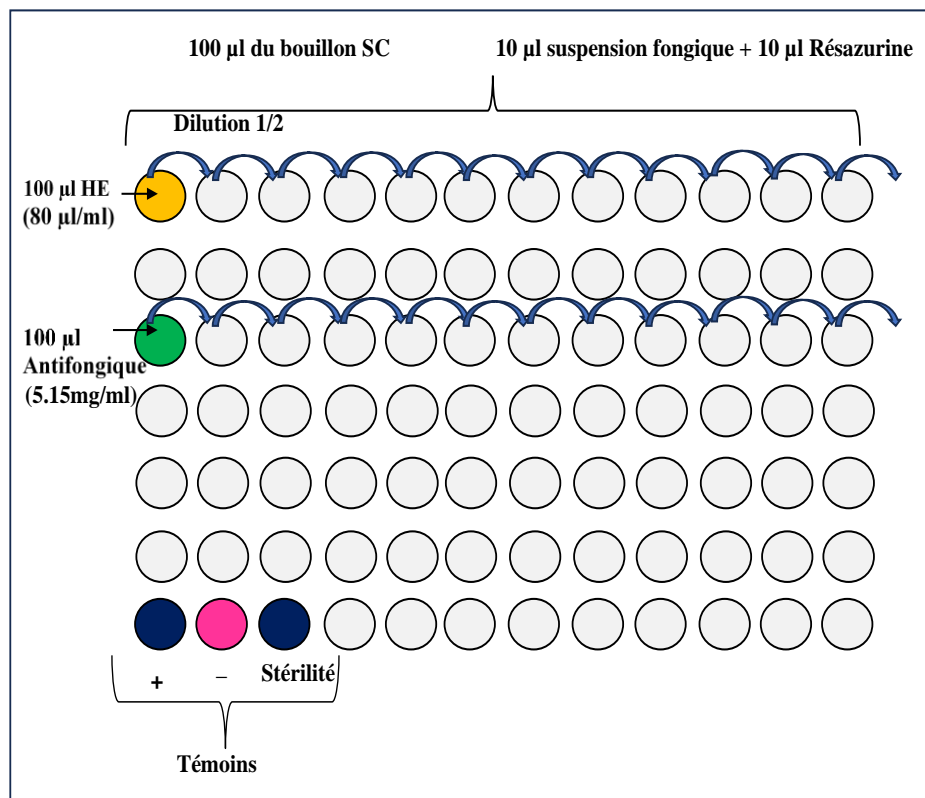
La lecture des résultats est assurée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en (mm) à l'aide d'un pied à coulisse.

### 2.5.6 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI de l'huile essentielle a été déterminée par la méthode de microdilution (8,22–25) dans des microplaques de 96 puits composées de huit séries identifiées de A à H, chacune comportant douze puits. La résazurine a été utilisée comme indicateur coloré d'oxydo-réduction, avec une couleur bleue qui vire vers le rose en présence d'une croissance fongique (8,15,27). Les dilutions de l'huile essentielle et en antifongiques ont été préparées dans du DMSO. Les concentrations en huile essentielle employées, étaient de 20 µl/ml pour *Cryptococcus neoformans* et 80 µl/ml pour le reste des espèces. Des solutions antifongiques de voriconazole et de sertaconazole ont été utilisées à des concentrations respectives de 1mg/ml et 5.15mg/ml. Des précultures ont été utilisées pour préparer la suspension cellulaire ajustée à  $1-2 \times 10^3$  cellules/ml pour les levures et  $1-2 \times 10^4$  cellules/ml pour les champignons filamenteux (24). La solution de résazurine a été préparée à une concentration de 6,76mg/ml. 100µl du bouillon sabouraud/chloramphénicol a été déposé dans chaque puit de la microplaque, 100µl de l'huile essentielle ont été additionnés au premier puit afin de réaliser des dilutions en demi pour obtenir des concentrations allant de 20 µl /ml à 0,0095 µl /ml pour *Cryptococcus neoformans* et de 80 µl /ml à 0,039 µl/ml pour le reste des espèces. 10 µl de résazurine et 10 µl de la suspension fongique ont été additionnée respectivement pour chaque puit de la microplaque. Pour les antifongiques, la CMI a été déterminée suivant le même protocole. Des témoins

positifs (bouillon sabouraud/chloramphénicol + résazurine + voriconazole ou sertaconazole + suspension fongique), négatifs (bouillon sabouraud/chloramphénicol + résazurine + suspension fongique) et de stérilité (bouillon sabouraud/chloramphénicol et résazurine) ont été lancés en parallèle pour chaque espèce fongique.

La microplaque a été scellée et incubée à 35°C pour *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Trichosporon sp* et 37°C pour *Cryptococcus neoformans* pendant 48h à 72h. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration d'huile essentielle qui inhibe complètement la croissance fongique et qui correspond au dernier puits qui n'a pas changé de couleur. Les différentes étapes de la réalisation de la CMI sont représentées dans la figure 01.



**Figure 01** : Schéma représentant les étapes de la réalisation de la CMI

### 2.5.7 Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF)

La concentration minimale fongicide a été déterminée par la mise des contenus prélevés sur les puits sans croissance fongique sur milieu sabouraud /chloramphénicol, les cultures ont été incubées à 35°C pendant 72h. La CMF c'est la concentration la plus faible de l'huile essentielle n'entraînant aucune croissance sur la gélose (25,26)

### 3. Résultats

#### 3.1 Etude botanique

##### Etude morphologique

*Bupleurum spinosum* L. (*B. spinosum*) se présente sous forme d'un buisson en coussinet comme illustrée dans la figure 02, à tiges très ramifiées ligneuses à la base, à rameaux fortement épineux. Les feuilles sont coriaces, entières de couleur vert-gris, longues de 3 à 5 cm, lancéolées, à nervation parallèle de 3-5 nervures. La racine est pivotante contenant une racine principale et des radicelles.



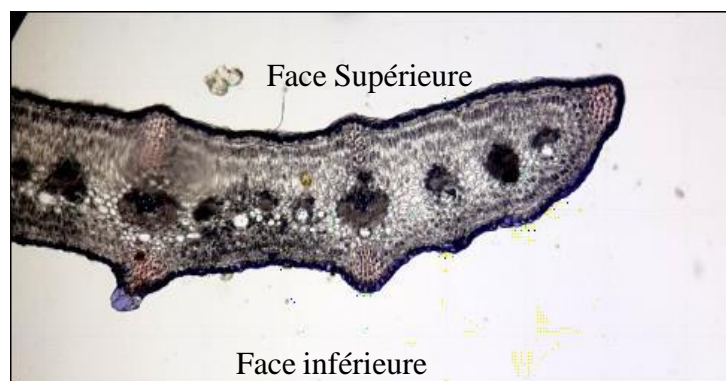
**Figure 02** : morphologie de *Bupleurum spinosum* L.

##### Etude histo-anatomique

Résultats des observations microscopiques de *Bupleurum spinosum* L.

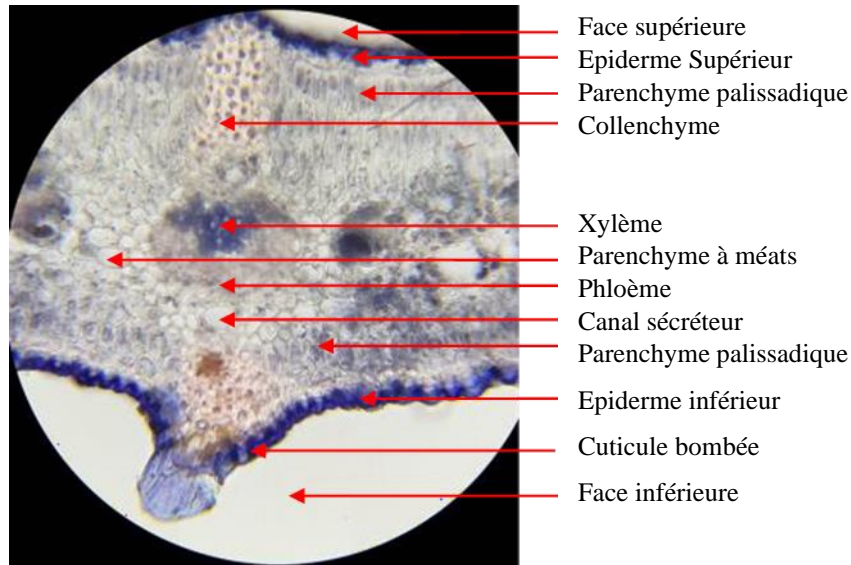
##### Etude anatomique de la feuille

La coupe transversale de la feuille a montré un organe aplati, à symétrie bilatérale, comme illustrée dans la figure (3,4).



**Figure 03** : Section transversale d'ensemble de la feuille de *Bupleurum spinosum* L. observée au microscope optique, G.10X10

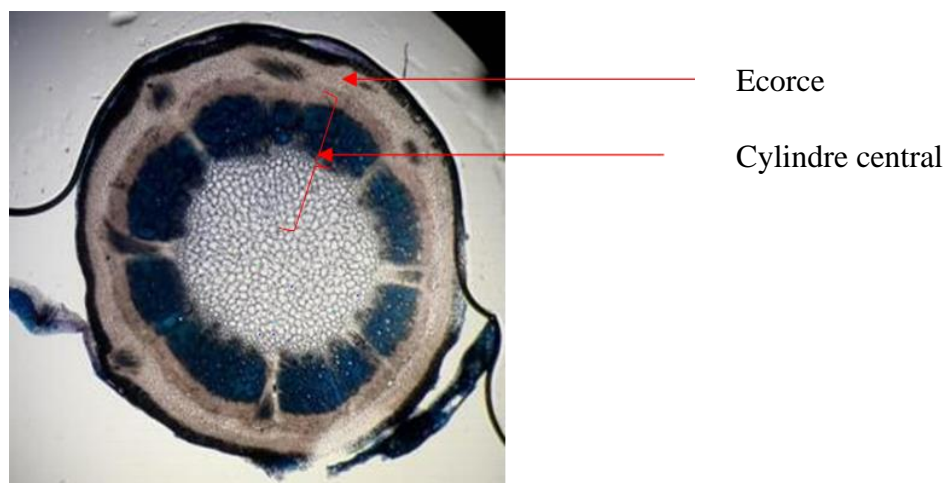
De la face supérieure vers la face inférieure de la feuille, on a distingué un ensemble de tissus composé d'un épiderme à cuticule bombée sur les deux faces de la feuille suivi d'un hypoderme, un parenchyme à méats situé entre les deux parenchymes palissadiques localisés du côté supérieur et inférieur de la feuille, la présence de tissus conducteurs d'origine primaires (phloème et xylème) au niveau des nervures parallèles, la présence d'un collenchyme angulaire localisé de part et d'autre des faisceaux conducteurs ainsi que des canaux sécréteurs au niveau des nervures parallèles et du limbe.



**Figure 04 :** Section transversale de la feuille de *Bupleurum spinosum* L. observée au microscope optique, G.40X10

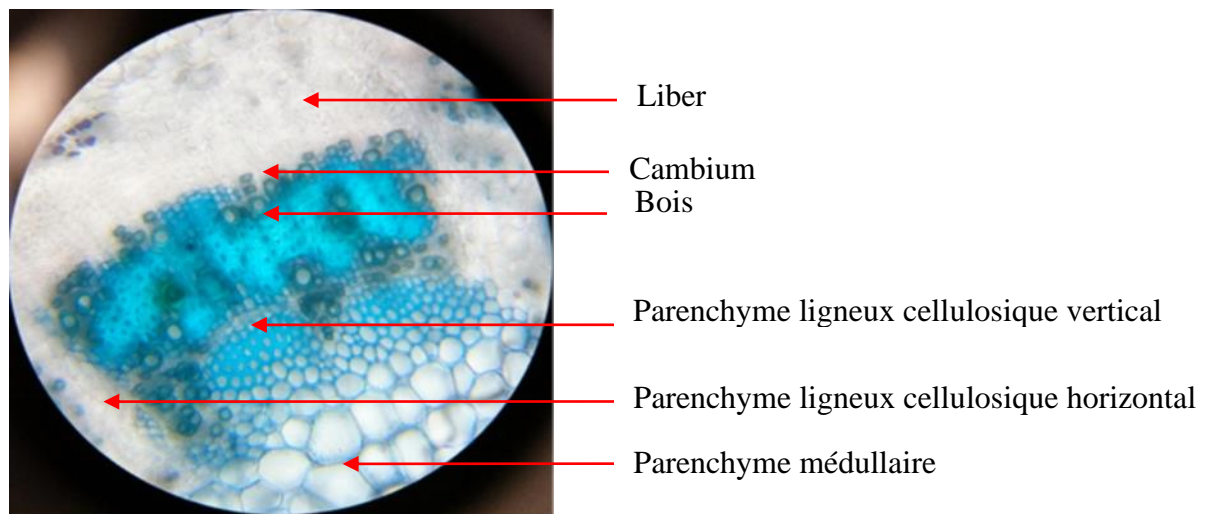
### Etude anatomique de la tige

La coupe transversale de la tige a montré une tige à section circulaire comme illustrée dans la figure (5) suivante :

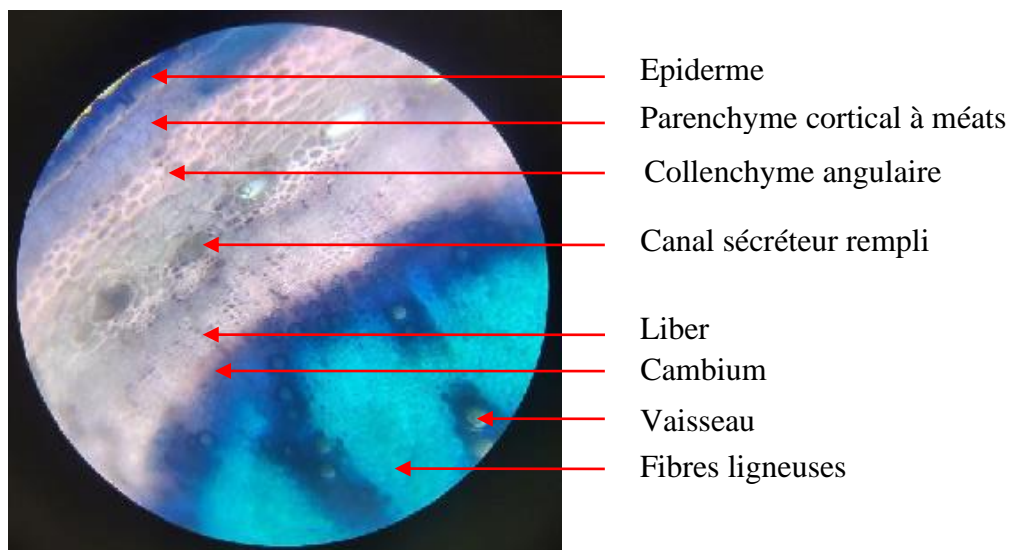


**Figure 05 :** Section transversale d'ensemble de la tige de *Bupleurum spinosum* L. observée au microscope optique, G 4X10.

De l'extérieur vers l'intérieur nous avons observé deux zones distinctes: l'écorce et le cylindre central. L'écorce est constituée d'un épiderme, un collenchyma de type angulaire sous forme de colonnes étroites rendant la feuille assez robuste, un parenchyme cortical à la périphérie de la tige comportant des canaux sécréteurs. Le cylindre central, est constitué de tissus conducteurs d'origine secondaires (liber, bois), un parenchyme médullaire très développé et une moelle à grosse cellules polyédriques. Les différents tissus de la tige sont illustrés dans les figures (6,7) suivantes:



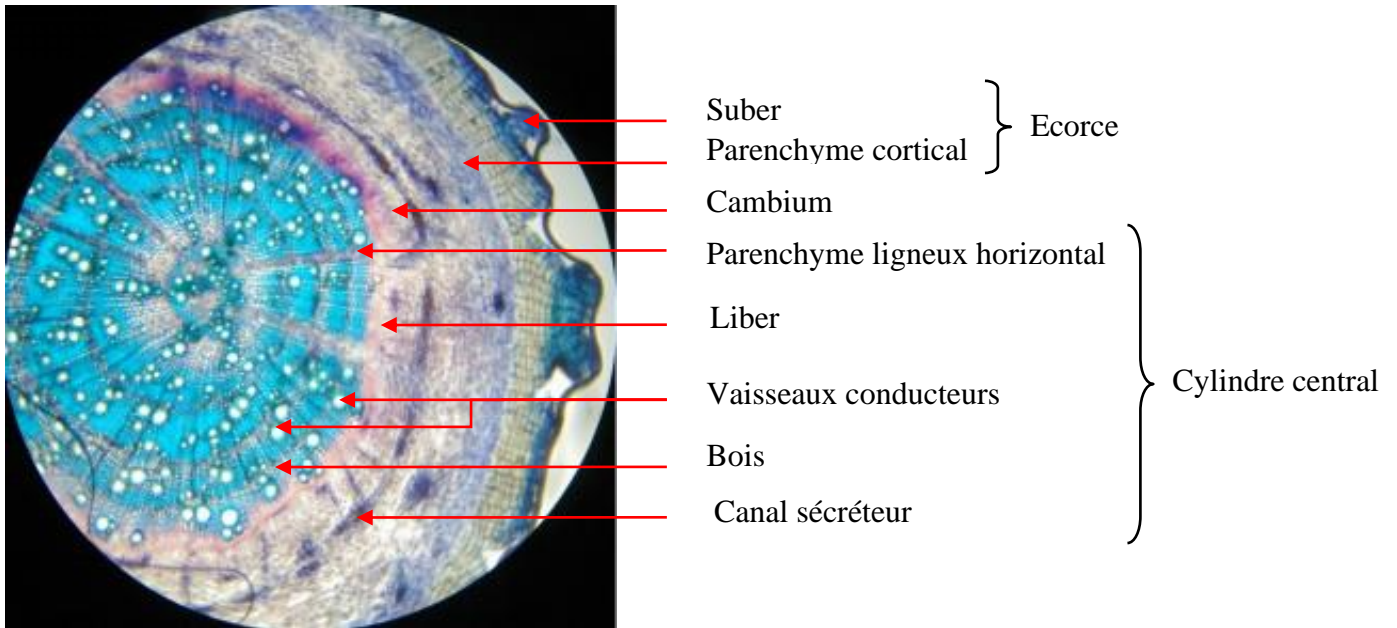
**Figure 06 :** Section transversale de la tige de *Bupleurum spinosum* L. montrant les tissus conducteurs au microscope optique, G.40X10



**Figure 07 :** Section transversale de la tige de *Bupleurum spinosum* L. montrant l'écorce et une partie du cylindre central, au microscope optique, G.40X10

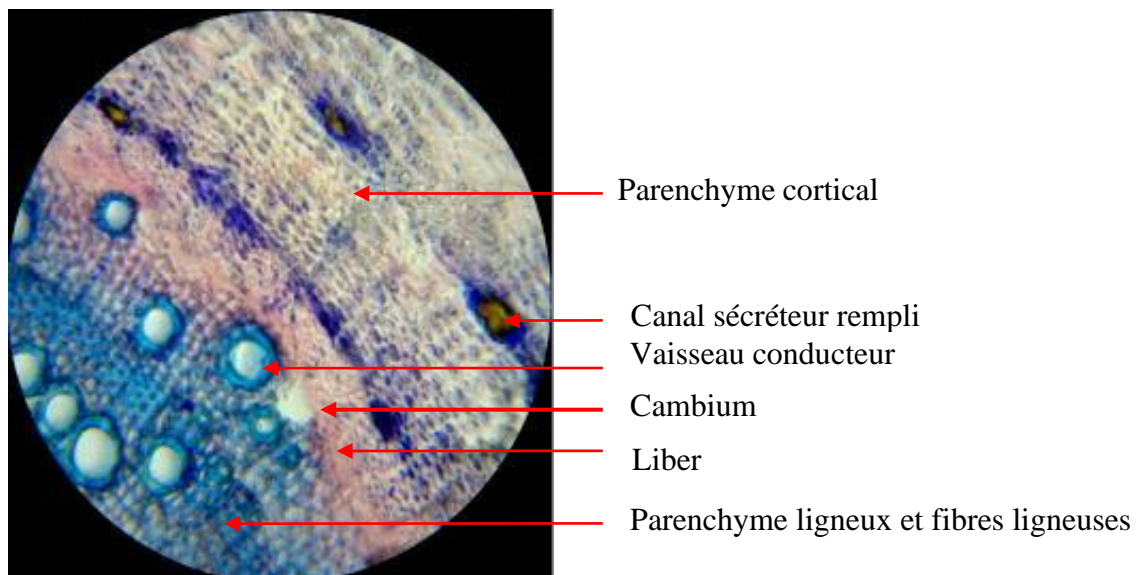
## Etude anatomique de la racine

La coupe transversale de la racine (figure 8,9) a permis d'observer les tissus suivants :



**Figure08** : Section transversale d'ensemble de la racine de *Bupleurum spinosum* L. observée au microscope optique, G.10X10

De l'extérieur vers l'intérieur nous avons observé deux zones distinctes : l'écorce, constituée d'un suber et un parenchyme cortical, et le cylindre central, comportant les tissus conducteurs d'origine secondaire organisés en pachyte continu contenant un liber à cellules polygonales, un bois hétéroxylé, un parenchyme ligneux bien apparent. Nous avons noté la présence de canaux sécréteurs au niveau du liber et du parenchyme cortical.



**Figure 09** : Section transversale de la racine de *Bupleurum Spinosum* L. montrant les tissus conducteurs au microscope optique, G.40X10

### 3.2. Extraction de l'huile essentielle

L'huile extraite, présente un aspect visqueux. Elle est solide à basse température et se liquéfie à une température de 30°C à 35°C, avec une couleur jaune foncé, une odeur caractéristique de la plante.

#### Calcul du rendement de l'extraction

Après le processus d'extraction, une quantité de 1.5 ml d'huile essentielle a été obtenue. Le rendement a pu être calculé en utilisant la formule suivante :

$$R (\%) = (1.5\text{ml} / 2500 \text{ g}) \times 100 = 0.06\%$$

### 3.3. Indice de réfraction de l'huile essentielle

L'indice est donné par lecture sur l'échelle du réfractomètre d'Abbe avec une valeur de 1,4215.

### 3.4. Evaluation de l'activité antifongique

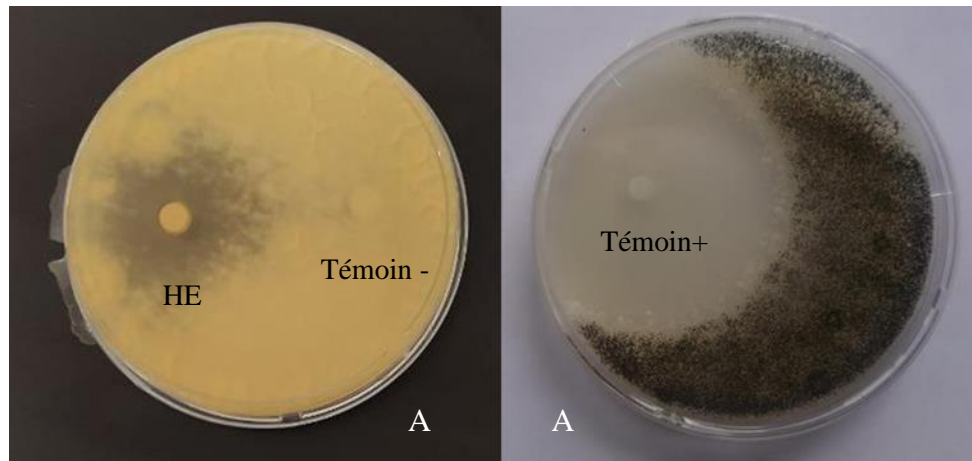
#### 3.4.1. Résultat de l'antifongigramme

Les résultats de l'antifongigramme sont représentés dans le tableau 01 ci-dessus et illustrés par la figure 10.

**Tableau 01 :** Résultats des diamètres d'inhibition (mm) de l'huile essentielle, voriconazole, sertaconazole et DMSO.

Espèces	Huile essentielle	Voriconazole	Sertaconazole	DMSO
<i>Aspergillus niger</i>	16	60	N. T	0
<i>Penicillium sp.</i>	20	72	N. T	0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	26	74	N. T	0
<i>Candida albicans</i>	18	N. T	9	0
<i>Trichosporon sp.</i>	17	N. T	11	0

N.T : Non Testé



**Figure 10 :** Résultats de l'activité antifongique de *Bupleurum spinosum* L. par la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé (Témoin négatif : DMSO; Témoin positif : Voriconazole ; HE : Huile Essentielle ; A : *Aspergillus niger*).

### 3.4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

Les CMI et les CMF de l'huile essentielle et des antifongiques obtenues avec les cinq souches fongiques sont résumées dans le tableau (2) ci-dessous et illustrés par les figures (11, 12, 13).

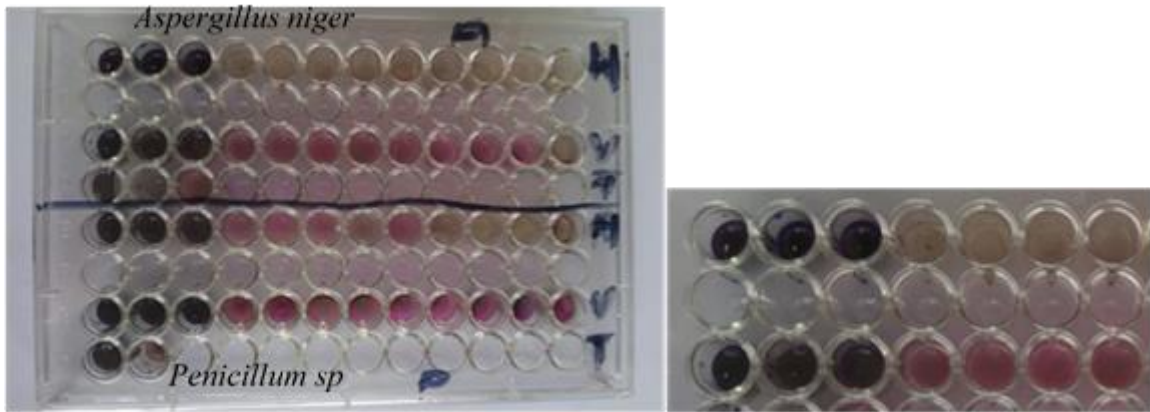
**Tableau 02 :** Résultats de la CMI et de la CMF de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L., du voriconazole et du sertaconazole.

Espèce	Huile Essentielle		Voriconazole		Sertaconazole	
	CMI <sup>1</sup>	CMF <sup>1</sup>	CMI <sup>2</sup>	CMF <sup>2</sup>	CMI <sup>2</sup>	CMF <sup>2</sup>
<i>Aspergillus niger</i>	20	80	0,25	1	N. T	N. T
<i>Penicillium sp</i>	20	80	0,25	0,5	N. T	N. T
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,25	2,5	0,025	0,1	N. T	N. T
<i>Candida albicans</i>	10	20	N. T	N. T	1,287	5,15
<i>Trichosporon sp</i>	40	80	N. T	N. T	1,287	5,15

CMI (1) et CMF (1) sont exprimées en µl/ml

N.T : Non Testé

CMI (2) et CMF (2) sont exprimées en mg/ml



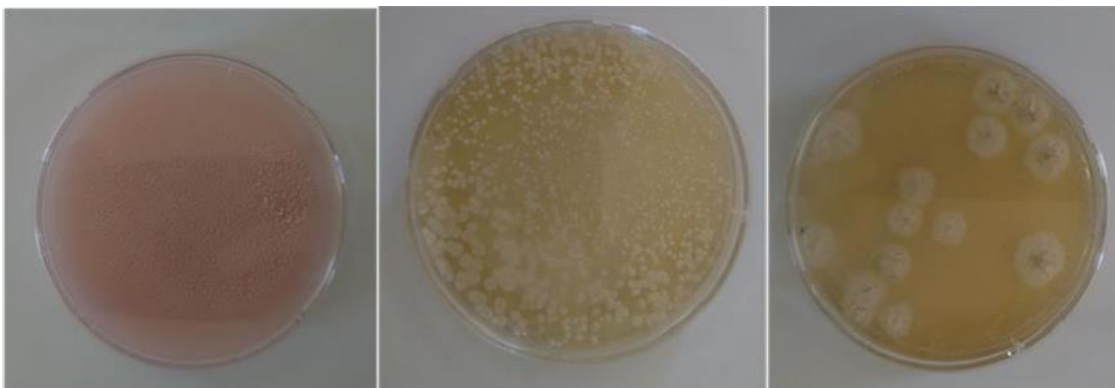
**Figure 11** : Résultats de la CMI d'*Aspergillus niger* et *Penicillium sp.* sur microplaque

### 3.4.3 Détermination de la concentration minimale fongicide

Les résultats de la CMF résumés dans le tableau (2) sont illustrés dans les figures (12, 13).



**Figure 12** : Résultats de la CMF de l'huile essentielle extraite sur la souche d'*Aspergillus niger*



**Figure 13** : Résultats de la CMF du voriconazole sur la souche d'*Aspergillus niger*

## 4. Discussion

### 4.1. Etude botanique

#### Etude morphologique

Les résultats de l'étude ont montré que les caractéristiques morphologiques de la plante correspondent à celle de la famille des Apiaceae du groupe des Dicotylédones à l'exception des feuilles qui sont entières à nervation parallèle (30).

La position systématique de la plante selon l'APG IV, 2016 est la suivante :

Règne : Plantae

Clade : Euangiospermes

Clade : Eudicotylédones

Clade : Astéridées.

Clade : Astéridées II.

Ordre : Apiales

Famille : Apiaceae

Sous-famille : Apioideae

Tribu : Bupleureae

Genre : *Bupleurum*

Espèce : *B. spinosum* L.

#### Etude histo-anatomique

Les caractères histo-anatomiques des différentes parties de la plante (feuille, tige, racine) ont montré des structures secondaires familières et la structure anatomique est de type classique des Dicotylédones (15). Cependant, nous avons remarqué quelques particularités telle que la présence d'un parenchyme palissadique sur les deux faces (supérieure et inférieure) de la feuille, d'un épiderme à cuticule bombée, la présence de colonnes de collenchyme angulaire et de canaux sécréteurs (31,32).

### 4.2. Extraction de l'huile essentielle

#### Détermination du rendement de l'HE

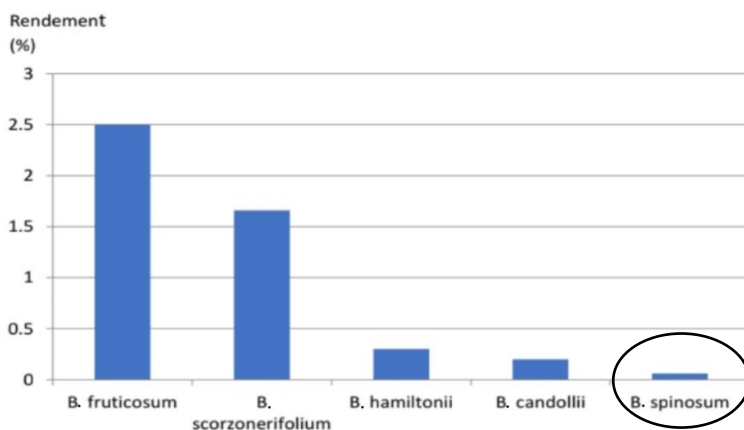
L'extraction de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. par hydrodistillation a donné un rendement de (0.06%). Cependant, il n'y a pas de travaux effectués auparavant sur cette espèce ni de résultats présents dans la littérature concernant son rendement. Nous avons comparé le rendement de

la plante à ceux obtenus avec d'autres espèces du genre *Bupleurum*, comme représentés dans le tableau 03 ci-dessous.

**Tableau 03 :** Valeurs des rendements en huile essentielle de quelques espèces du genre *Bupleurum*.

Espèces	<i>B. candolii</i>	<i>B. scorzonerifolium</i> Willd	<i>B. hamiltonii</i> Balak.	<i>B. fruticosum</i>	<i>B. spinosum</i> L.
<b>Rendement (%)</b>	0.2	1.66	0.2 - 0.3	2.5	0.06
<b>Référence</b>	(33)	(34)	(35)	(36)	

Nous avons également représenté graphiquement les rendements en huile essentielle de ces espèces afin de comparer leurs valeurs à la valeur du rendement *B. spinosum* L. comme illustré ci-dessous :



**Figure13 :** Représentation graphique des rendements en huile essentielle de certaines espèces du genre *Bupleurum*.

Selon l'histogramme, *Bupleurum spinosum* L. présente un faible rendement en huile essentielle de l'ordre de 0.06% par rapport aux autres espèces du genre *Bupleurum*.

#### 4.3. Indice de réfraction de l'huile essentielle :

Les recherches qui ont été déjà faites sur les huiles essentielles du genre *Bupleurum* n'ont pas rapportés leurs indices de réfraction, pour cela nous n'avons pas pu comparer l'indice de réfraction de l'huile essentielle extraite de *Bupleurum spinosum* L. qui est de 1,4215 aux autres genres.

#### 4.4. Evaluation de l'activité antifongique

Selon la bibliographie disponible, il n'existe pas des travaux déjà réalisés sur l'activité antifongique 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*.

Les champignons testés ont présenté une sensibilité vis-à-vis des antifongiques utilisés (voriconazole et sertaconazole), avec des diamètres d'inhibition : *Cryptococcus neoformans* (74 mm), *Penicillium sp* (72mm), *Aspergillus niger* (60mm), *Trichosporon sp* (11mm) et *Candida albicans* (9mm).

Quant à *Cryptococcus neoformans*, *Penicillium sp* et *Aspergillus niger*, l'huile essentielle a présenté un diamètre d'inhibition inférieur au diamètre d'inhibition de l'antifongique utilisé (voriconazole). Néanmoins, cela n'exclut pas l'efficacité de notre huile essentielle en tant qu'agent antifongique. Pour *Candida albicans* et *Trichosporon sp* présente le diamètre d'inhibition avec l'huile essentielle supérieur au diamètre d'inhibition avec l'antifongique (sertaconazole).

D'après les résultats, nous avons constaté une activité antifongique de l'huile essentielle contre les espèces fongiques testées avec des diamètres d'inhibition différents qui sont les suivants : (26mm), (20mm), (18mm), (17mm), (16mm) contre *Cryptococcus neoformans*, *Penicillium sp*, *Candida albicans*, *Trichosporon sp* et *Aspergillus niger* respectivement.

**Tableau 04 :** Les valeurs du diamètre d'inhibition (en mm) de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. et d'autres espèces.

Espèces	<i>B. spinosum</i> L.	<i>B. marginatum</i>	<i>B. montanum</i>	<i>B. plantagineum</i>
<i>Candida albicans</i>	18	12,3±2,5	23	18
<i>Aspergillus niger</i>	16	N. T	13	10
<i>Penicillium sp</i>	20	N. T	N. T	N. T
<i>Cryptococcus neoformans</i>	26	N. T	N. T	N. T
<i>Trichosporon sp</i>	17	N. T	N. T	N. T
<b>Référence</b>		(23) Ashour et al2009	(8) Laouer et al 2009	(8)Laour et al2009

N.T : Non Testé

D'après le tableau 04 nous avons constaté une différence entre les résultats de notre travail et ceux obtenus avec d'autres études. Le diamètre d'inhibition de notre huile essentielle vis-à-vis de *Candida albicans* était supérieur à celui obtenu avec l'huile essentielle de *Bupleurum marginatum*, égale au diamètre d'inhibition de l'HE de *Bupleurum plantagineum* et inférieur au diamètre d'inhibition de l'HE de *Bupleurum montanum*.

Pour le diamètre d'inhibition de l'*Aspergillus niger* obtenu avec l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L., il était supérieur aux diamètres d'inhibition obtenus avec les huiles essentielles de *B. montanum* et *B. plantagineum* dans l'étude de Laouer et al en 2009.

La variation de ces résultats pourrait s'expliquer par une différence de composition chimique entre les huiles essentielles, par le volume d'huile essentielle utilisé pour chaque étude, par la densité des suspensions fongiques utilisées et tout simplement ce ne sont pas les mêmes espèces.

Les antifongiques (voriconazole et sertaconazole) ont présenté des CMI vis-à-vis des champignons étudiés justifiant ainsi leur utilisation quotidienne en thérapeutique. Les résultats des CMI de l'HE ont montré que les cinq champignons testés étaient effectivement sensibles, comme représenté dans le tableau 05. La souche la plus sensible était *Cryptococcus neoformans* avec une CMI de 1,25 µl/ml, la même valeur était obtenue avec l'HE de *Bupleurum fruticosum* L. (24). Pour *Candida albicans*, l'HE a donné une CMI de 10 µl/ml supérieure à la valeur obtenue avec l'HE de *B. fruticosum* L. 5µl/ml. Pour *Aspergillus niger*, la CMI de l'HE 20µl/ml était supérieure à celle de l'HE de *B. fruticosum* L. 10µl/ml. L'HE a donné une CMI de 20µl/ml contre *Penicillium sp* et une CMI de 40µl/ml contre *Trichosporon sp*.

L'HE était fongicide vis-à-vis de toutes les espèces testées avec des valeurs allant de 2,5µl/ml à 80µl/ml comme représenté dans le tableau 05, la CMF la plus basse était constatée avec *Cryptococcus neoformans* 2,5µl/ml supérieure à la valeur obtenue avec l'HE de *B. fruticosum* L. 1,25µl/ml. Pour *Candida albicans* l'HE a donné une CMF de 20µl/ml supérieure à la valeur obtenue avec l'HE de *B. fruticosum* L. 5µl/ml. En ce qui concerne *Aspergillus niger*, l'HE a donné une CMF supérieure à celle obtenue avec l'HE de *B. fruticosum* L. >20µl/ml. Une CMF de 80µl/ml était constatée avec le *Penicillium sp* et *Trichosporon sp*.

**Tableau 05 :** les valeurs de résultat des CMI et CMF de l'huile essentielle de *B. spinosum* L. avec d'autres études

<b>Espèces</b>	<b>CMI de l'HE de <i>B. spinosum</i> L.</b>	<b>CMI de l'HE de <i>B. fruticosum</i> L.</b>	<b>CMF de l'HE de <i>B. spinosum</i> L.</b>	<b>CMF de l'HE de <i>B. fruticosum</i> L.</b>
<i>Candida albicans</i>	10	5	20	5
<i>Aspergillus niger</i>	20	10	80	>20
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,25	0,64-1,25	2,5	1,25
<i>Trichosporon sp</i>	40	N. T	80	N. T
<i>Penicillium sp</i>	20	N. T	80	N. T
<b>Référence</b>		(24)		(24)

N.T : Non Testé

L'activité antifongique de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. est rapportée pour la première fois dans cette étude, aucune étude antérieure n'a été réalisée sur son activité antifongique, ce qui constitue une originalité dans ce travail.

## 5 Conclusion

L'objectif de ce travail était de valoriser la flore algérienne et l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. de la famille des Apiaceae ainsi que l'évaluation de son activité antifongique.

Une étude botanique et histo-anatomique des différentes parties de la plante (racine, tige, feuille) ont été abordées, les résultats de cette étude ont confirmé que *Bupleurum spinosum* L. appartient à la famille des Apiaceae. Une extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil type Clevenger. Un rendement de 0,06% a été obtenu, ce rendement est très faible par rapport à ceux obtenus par les autres espèces du genre *Bupleurum*.

Nous avons évalué l'activité antifongique de l'huile essentielle par la détermination des diamètres d'inhibition (diffusion sur gélose), de la CMI (microdilution sur microplaque) et la CMF. Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. avait une activité antifongique vis-à-vis les cinq espèces : *Candida albicans*, *Aspergillus sp*, *Cryptococcus neoformans*, *Penicillium sp* et *Trichosporon sp*. L'activité antifongique était beaucoup plus marquée vis-à-vis du *Cryptococcus neoformans* avec une zone d'inhibition de 26mm, une CMI de 1,25µl/ml, similaire à celle obtenue avec l'huile essentielle de *Bupleurum fruticosum* L. et une CMF de 2,5µl/ml.

La flore algérienne est très riche en plantes aromatiques et médicinales qui peuvent être à l'origine de nouveaux remèdes contre plusieurs maladies, d'où l'intérêt de lancer des études plus poussées sur la composition chimique de ces dernières.

Une caractérisation approfondie de la composition de l'huile essentielle de *Bupleurum spinosum* L. peut être faite en utilisant des techniques analytiques telle que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/ SM) pour la réalisation d'un profil chimique détaillé. Il serait également pertinent d'évaluer l'activité antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire de l'HE. Ces études pourraient fournir des informations essentielles sur ses propriétés et ses applications potentielles, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles perspectives thérapeutiques et industrielles.

## Références

1. Quézel P, Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du Centre National de la recherche scientifique ; 1962. 626 p
2. Djouamaa A, Boutabia L, Ayari A, Mena M, Guellati K, Touarfia M, et al. ETHNOBOTANICAL SURVEY OF THE APIACEAE FAMILY SPECIES USED IN THE REGION OF SOUK-AHRAS (NORTHEASTERN ALGERIA). *Plant Arch.* 17oct 2022 ;22(2) :143-51
3. Li M, Li M, Wang L, Li M, Wei J. Apiaceae Medicinal Plants in China : A Review of Traditional Uses, Phytochemistry, Bolting and Flowering (BF), and BF Control Methods. *Molecules.* 2023 ;28(11) :4384.
4. Pan SL, éditeur. *Bupleurum* Species : Scientific Evaluation and Clinical Applications [Internet]. 1<sup>re</sup> éd. CRC Press ; 2006 [cité 25 juin 2023]. Disponible sur : <https://www.taylorfrancis.com/books/9781420009071>
5. Benahmed M, Akkal S, Elomri A, Laouer H, Vérité P, Seguin E. Constituents from *Bupleurum montanum* (Coss. & Dur.) (Apiaceae). *Arab J Chem.* déc 2014;7(6):1065-9.
6. Ashour ML, Wink M. Genus *Bupleurum*: a review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action. *J Pharm Pharmacol.* 24 févr 2011 ;63(3) :305-21.
7. Socasau C. Les huiles essentielles référencées à l'Agence Européenne du Médicament. Bordeaux : université de Bordeaux ;2017.101p.
8. 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.* Novembre 2009 ; 4(11) :1605-1610.
9. Zuzarte M, Correia PM, Alves-Silva JM, Gonçalves MJ, Cavaleiro C, Cruz T, et al. Antifungal and anti-inflammatory potential of *Bupleurum rigidum* subsp. *paniculatum* (Brot.) H. Wolff essential oil. *Antibiotics.* 17 mai 2021 ; 10(5) :592.
10. Botton B, Breton A, Fève M, Guy P, Larpent JP, Veau P. Moisissures nuisibles. Moisissures utiles et nuisibles-Importance industrielle. Masson. Paris ; 1985.
11. Bongomin F, Gago S, Oladele R, Denning D. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases—Estimate Precision. *JoF.* 18 oct 2017 ;3(4) :57.
12. Principaux antifongiques et antiparasitaires AFECT [Internet]. [Cité 9 juill 2023]. Disponible sur : <https://www.lavoisier.fr/livre/sciences-de-la-vie/principaux-antifongiques-et-antiparasitaires/afect/descriptif-9782852068377>
13. Koffi AM, Tonzibo ZF, Delort L, Ruiz N, Caldefie-Chézet L, Chalchat JC. Corrélation entre la composition chimique et l'activité antifongique des huiles essentielles à prédominance thymol sur *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*. *Phytothérapie.* Avril 2013 ;11(2) :134-9.
14. Barrero AF, Haïdour A, Munoz-Dorado M, Akssira M, Sedqui A, Mansour I. Polyacetylenes, terpenoids and flavonoids from *Bupleurum spinosum*. *Phytochemistry.* Août 1998 ;48(7) :1237-1240.

15. Dahmoune-Akkouch A. Recherche de composés bioactifs à partir de plantes médicinales issues de la biodiversité algérienne [PhD Thesis]. Tizi-ouzou : université Mouloud Mammri, Faculté De Médecine Tizi-ouzou ; 2021.389.
16. Feknous S, Saidi F, Said RM. Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). Nature & Technology. Juin 2014;(11) :7 -13.
17. Boukhatem MN, Hamaidi MS, Saidi F, Hakim Y. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Nature & Technology. Juin 2010 ; (3) : 37- 45.
18. Clevenger JF. Apparatus for the determination of volatile oil. The Journal of the American Pharmaceutical Association (1912). Avril 1928 ;17(4) :345-349.
19. Rustaiyan A, Masnabadi N, Masoudi S, Samadzadeh M, Firouznia A, Larijani K. Composition of the Essential Oils of *Bupleurum falcatum* L. and *Bupleurum gerardi* All. from Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 11 juillet 2010 ;13(6) :727-31.
20. Shi B, Liu W, Wei S peng, Wu W jun. Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activity of the Essential Oil of *Bupleurum longiradiatum*. Natural Product Communications. Juill 2010 ;5(7) :1139-1142.
21. Likibi BN, Tsiba G, Mabika ABM, Ossibi AWE, Nsikabaka S, Ouamba JM. Composés carbonylés majeurs et indices physico-chimiques des huiles essentielles de deux espèces du genre *Cymbopogon* (Poaceae) du Congo-Brazzaville. International Journal of Engineering and Applied Sciences (IJEAS). 2019 ;6(10) :2394-3661.
22. Casiglia S, Bruno M, Senatore F, Senatore F. Chemical Composition of the Essential Oil of *Bupleurum Fontanesii* (Apiaceae) Growing Wild in Sicily and its Activity on Microorganisms Affecting Historical Art Crafts. Natural Product Communications. Janvier 2016 ;11(1) :105-108.
23. 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). JPP.2009 ;61 :1079-1087.
24. 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 ;5(2) :92-93
25. Abolfazl M, Hossein N, Sohrab I, Hadi A. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from some medicinal plants of Iran. IJPSR. 2014 ;5(2) :376-382.
26. Bellete B, Raberin H, Morel J, Flori P, Hafid J, Manh Sung RT. Acquired resistance to voriconazole and itraconazole in a patient with pulmonary aspergilloma. Medical Mycology. 2010 ;48(1) :197-200.
27. Drummond AJ, Waigh RD. The development of microbiological methods for phytochemical screening. Recent research developments in phytochemistry. 2000 ;4 : 143-152.
28. Ghanmi M, Satrani B, Aafi A, Isamili MR, Houti H, El Monfalouti H, et al. Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche

(*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental). *Phytothérapie*. 2010 ;8(5) : 295-301.

29. Lorente I, Ocete MA, Zarzuelo A, Cabo MM, Jimenez J. Bioactivity of the essential oil of *Bupleurum fruticosum*. *Journal of natural products*. 1989 ;52(2) :267-272.

30. David C. Etude anatomique du genre *Bupleurum*. Paris : école supérieure de pharmacie.1901.104p.

31. Dupont F, Guignard JL. Botanique : systématique moléculaire, 4<sup>ème</sup> édition. France : Édition Elsevier Masson ; 2007.

32. Blanca G, Cabezudo B, Cueto M, Torres CM, Salazar C, Flora Vasculare de Andalucía Oriental, 2<sup>ème</sup> édition. Édition Spanish; 2011.

33. Joshi RK, Pande C. Essential Oil Composition of the Aerial Parts of *Bupleurum Candollii*. *Natural Product Communications*. nov 2008;3(11):1919-1920.

34. Tykheev Z, Zhigzhitzhapova S, Zhang F, Taraskin V, Anenkhnov O, Radnaeva L, et al. Constituents of Essential Oil and Lipid Fraction from the Aerial Part of *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. (Apiaceae) from Different Habitats. *Molecules*. 20 juin 2018 ; 23(6) :1-16.

35. Pande C, Tewari G, Singh C, Singh S. Chemical composition of the essential oil from the flowering aerial parts of *Bupleurum hamiltonii* Balak from Uttarakhand, India. *Natural Product Research*. 1 août 2012 ; 26 (15) :1442-1445.

36. Chizzola R. Composition of the fruit essential oil of *Bupleurum fruticosum* grown in Southern France. *Chem Nat Compd*. nov 2008;44(6):792-793.