

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE : Des sciences

DEPARTEMENT : De Chimie

N° : .....



DOMAINE : Science de la matière

FILIERE : CHIMIE

OPTION : SYNTHESE ORGANIQUE  
ET PRODUITS NATURELES

Mémoire présenté pour l'obtention  
Du diplôme de Master Académique

Par : BOUAZIZ MAZEYA

Intitulé

**L'impacte de l'extraction sur la composition  
chimique et l'activité biologique d'une espèce  
algérienne**

Soutenu devant le jury composé de :

Djehaiche	Mokhtar	Université	M'sila	Président
Cheriet	Thamere	Université	M'sila	Rapporteur
Boulaghem	Houcine	Université	M'sila	Examineur

Année universitaire : 2016 /2017

## ***Dédicace***

*Je dédie ce mémoire à :*

*A ma chère mère tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse.*

*Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grande secours pour mener à bien mes études.*

*A mes très chère soeurs : Anissa ,baya, Samahe ,Razika .*

*A mes frères: Hocine ,Antre, Azzedine.*

*Et son épouse : zahiya ,farida.*

*A mes amies : Assia , Siham, Chahera , Ibetesam, Aziza,Hannane ,Marewa,Lamia.*

## ***Remerciements***

Cette mémoire de Master en chimie organique est le résultat d'un travail de collaboration entre trois laboratoires dont deux de l'université des Frères Mentouri de Constantine et un de l'université Mohamed Boudiaf de M'sila. La 1ère partie de cette recherche a été réalisée au sein de laboratoires pédagogique de l'université de M'sila et l'Unité de Recherche Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyse Physicochimiques et Biologiques (*VARENBIOMOL*) de l'université des Frères Mentouri, sous la direction du Docteur **CHERIET Thamere**, je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance et profonde gratitude pour m'avoir accueilli et de m'avoir permis de réaliser mes travaux de recherche dans les meilleures conditions. Je tiens à le remercier tout particulièrement pour tous ses efforts et ses encouragements et pour le soutien qu'il m'a témoigné tout au long de cette étude placée sous sa direction

Mes vifs remerciements vont également à Madame le docteur **BENABILA N.** de l'université Mohamed Boudiaf, M'sila pour l'honneur qu'elle a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance de mémoire de Master

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur le docteur **BOULAGHLEM H.** chef de département de sciences et techniques de l'université Mohamed Boudiaf, M'sila, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de juger ce travail

Je suis aussi très reconnaissante à toute les équipes des laboratoires où j'ai réalisé cette recherche pour leurs gentillesse, écoutes et disponibilités

J'exprime également mes remerciements à l'équipe de biologie avec qui j'ai eu l'honneur de travailler, **DR. KARA-ALI Mounira** et **Pr. KACEM CHAOUECHE Nouredine** de Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (*LaMyBAM*) pour l'activité antimicrobienne

# SOMMAIRE

Liste des figures .....	1
Liste des tableaux.....	3
Liste des abréviations.....	4
Introduction générale.....	6
Références .....	7

## Chapitre I : Recherche bibliographique

I.1.Description des familles <i>Hyacinthaceae</i> et <i>Asparagaceae</i> .....	9
I.2.Description du genre <i>Silla</i> .....	10
I.3.Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre <i>Silla</i> .....	11
I.3.1. Utilisation en médecine traditionnel.....	11
I.3.2. Activités biologiques .....	14
I.4.Propriété phytochimique .....	16
Références .....	23

## Chapitre II : Étude phytochimique et biologique

II.1. Les critères de choix de l'espèce étudiée.....	28
II.2. Place dans la systématique botanique .....	28
II.3. Description botanique de l'espèce étudiée.....	28
II.4. Matériels et méthodes utilisés pour l'étude phytochimique .....	29
. Matériels de laboratoire .....	29
. Solvants et Réactifs chimiques.....	29
. Chromatographie analytique sur couche mince(CCM).....	29
. Révélateur.....	29
. UV .....	29
. HPLC.....	29
. RMN .....	29
II.5. Étude Phytochimique de <i>Silla languata</i> .....	30

II.5.1. Extraction.....	30
a) Extraction par macération.....	30
b) Extraction par soxhlet.....	30
II.5.2. Screening phytochimique .....	32
a) Les alcaloïdes .....	32
b) Les saponines .....	32
c) Les tanins.....	32
. Tanins catéchiques.....	32
. Tanins galliques .....	32
d) Les flavonoïdes .....	32
II.5.3. Dosage des polyphénols.....	32
. Protocole expérimental .....	32
II.6. Étude biologique .....	33
II.6.1. Activité antibactérienne .....	33
II.6.1.1. Souches bactériennes .....	33
II.6.1.2. Milieu de culture.....	33
II.6.1.3. Méthode de diffusion en milieu gélose .....	33
. Principe .....	33
. Préparation de l'inoculum bactérien .....	33
. Ensemencement et incubation .....	34
. Préparation des disques.....	35
. Expression des résultats.....	35
II.6.2. Activité antifongique .....	35
II.6.2.1. Milieux de culture.....	35
II.6.2.2. Méthode de diffusion en milieu gélose .....	35
. Principe .....	35
. Expression des résultats.....	36
II.6.3. Activité hémostatique .....	36
Références .....	37

### **Chapitre III : Résultats et discussions**

III.1. Calcul de Rendement.....	39
III.2. Résultats du screening photochimique.....	39
III.2.1 Test des flavonoïdes .....	40
III.2.2 Test des alcaloïdes .....	40
III.2.3 Test des saponines .....	41
III.2.3 Test des tanins .....	41

III.3. Test plaques CCM .....	42
III.4. Dosage des polyphénols .....	45
III.5. Profile HPLC et Spectre RMN <sup>1</sup> H du précipité .....	46
III.6. Activité biologique .....	47
III.6.1. Activité antibactérienne .....	47
III.6.2. Activité antifongique .....	49
III.6.3. Activité hémostatique .....	49
Références .....	51
Conclusion .....	53

## Liste des figures

<b>Figure I.1 :</b> Répartition géographique des <i>Hyacinthacées</i> (en vert).....	9
<b>Figure I.2 :</b> Bulbe du genre <i>Scilla</i> .....	10
<b>Figure I.3 :</b> Feuille et fleur d'une <i>Scilla</i> .....	10
<b>Figure I.4 :</b> les principaux constituants des bulbes du genre <i>Scilla</i> .....	11
<b>Figure I.5 :</b> <i>Scilla natalensis</i> Planch.....	12
<b>Figure I.6 :</b> <i>Scilla persica</i> HAUSSKN .....	13
<b>Figure I.7:</b> <i>Scilla nervosa</i> (Burch.) Jessop.....	13
<b>Figure I.8 :</b> <i>Scilla scilloides</i> .....	13
<b>Figure I.9 :</b> scillascilloides E-1 .....	14
<b>Figure I.10 :</b> composants isolés de quelques <i>Scilla</i> .....	17
<b>Figure I.11 :</b> quelques nortriterpènes isolés du genre <i>Scilla</i> .....	18
<b>Figure I.12 :</b> quelques oligoglycosides isolés du genre <i>Scilla</i> .....	18
<b>Figure I.13 :</b> autres oligoglycosides isolés du genre <i>Scilla</i> .....	19
<b>Figure I.14 :</b> quelques composés du genre <i>Scilla</i> .....	20
<b>Figure I.15 :</b> différentes structures isolées du genre <i>Scilla</i> .....	21
<b>Figure I.16 :</b> Quelques bufadienolides isolées du genre <i>Scilla</i> .....	21
<b>Figure I.17 :</b> quelques homoisoflavanones et stilbénols du genre <i>Scilla</i> .....	22
<b>Figure II.1:</b> <i>Scilla lingulata</i> .....	28
<b>Figure II.2 :</b> Protocol d'extraction par macération.....	30
<b>Figure II.3 :</b> Protocol d'extraction par soxhlet.....	31
<b>Figure II.4 :</b> Montage d'extraction par soxhlet.....	31
<b>Figure II.5 :</b> le milieu culturel G. N .....	33
<b>Figure II.6 :</b> Les trois souches bactériennes utilisées.....	34
<b>Figure II.7 :</b> Boîte de pétrie contenant la Gélose Nutritive.....	34
<b>Figure II.8 :</b> Les disques préparés. ....	35
<b>Figure III.1 :</b> test de recherche des flavonoïdes dans extrait de <i>Scilla lingulata</i> .....	40
<b>Figure III.2 :</b> test de recherche des alcaloïdes dans extrait de <i>Scilla lingulata</i> .....	40
<b>Figure III.3 :</b> test de recherche des saponines pour <i>Scilla lingulata</i> .....	41
<b>Figure III.4 :</b> test de recherche des tanins dans les plants étudiés. ....	41
<b>Figure III.5 :</b> courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	45

## Liste des figures

<b>Figure III.6 :</b> histogramme représentatif de teneur des polyphénols des extraits de plante étudiée.....	45
<b>Figure III.7 :</b> Profile HPLC du produit séparé de l'extrait SLm.....	46
<b>Figure III. 8 :</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H du précipité (D <sub>2</sub> O, 400 MHz) .....	47
<b>Figure III.9 :</b> La diminution du temps de recalcification avec la croissance de dose des extraits des plantes étudiées. P1 : SLm, P2 : SLs.....	50

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1</b> : la structure de quelques oligoglycosides isolés du genre <i>Scilla</i> .....	19
<b>Tableau II.1</b> : classification botanique des espèces étudiées.....	28
<b>Tableau III.1</b> : résultats des réactions de caractérisation de différents classes de métabolites Secondaires.....	42
<b>Tableau III.2</b> : résultats des tests CCM.....	43
<b>Tableau III.3</b> : les produits probables selon les fluorescences des plaques CCM.....	44
<b>Tableau III.4</b> : quantité de polyphénol totaux dans les extraits étudiés.....	45
<b>Tableau III.5</b> : résultat de l'activité antibactérienne.....	47
<b>Tableau III.6</b> : résultat d'activité antifongique.....	49
<b>Tableau III.7</b> : résultat d'activité hémostatique .....	49
<b>Tableau III.8</b> : Le calcul de $R^2$ .....	50

## Liste des abréviations

<b>GF<sub>254</sub></b>	: Silica Gel GF <sub>254</sub> .
<b>C-18</b>	: colonne phase inverse.
<b>D<sub>2</sub>O</b>	: l'eau deutéré.
<b>CH<sub>3</sub>CN</b>	: cyanure de méthyle.
<b>°C</b>	: Degré Celsius.
<b>G</b>	: gramme.
<b>µl</b>	: Microlitre.
<b>mg</b>	: Milligramme.
<b>nm</b>	: Nanomètre.
<b>mm</b>	: Millimètre.
<b>mM</b>	: milimole
<b>Hz</b>	: Hertz.
<b>MHz</b>	: Mégahertz.
<b>%</b>	: Pourcentage
<b>UV</b>	: Ultra-violet
<b>RMN</b>	: Résonance magnétique nucléaire
<b>CCM</b>	: Chromatographie sur Couche mince
<b>HPLC</b>	: Chromatographie liquide à haute performance
<b>HCl</b>	: acide chlorhydrique.
<b>EtOH</b>	: Ethanol.
<b>H<sub>2</sub>O</b>	: Eau.
<b>CO<sub>3</sub>(Na)<sub>2</sub></b>	: Carbonate de Sodium .
<b>G.N</b>	: Gélose nutritive
<b>PDA</b>	: Potato Dextrose Agar.
<b><i>n</i>-BuOH</b>	: <i>n</i> -Butanol.
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	: chlorure de calcium.
<b>R</b>	: Rendement .
<b>M<sub>ext</sub></b>	: la masse de l'extrait après évaporation.
<b>M<sub>éch</sub></b>	: la masse sèche de la plante.
<b>SLm</b>	: <i>Scilla lingulata</i> Extrait par macération.
<b>SLs</b>	: <i>Scilla lingulata</i> Extrait par soxhlet.

# **Introduction générale**

## Introduction générale

Après la création de la terre et l'arrivée de l'homme sur terre, cette nouvelle espèce trouve tous ces besoins dans le règne végétal qui produit tout ce qui est important pour survivre comme l'oxygène, la nutrition, les vêtements et surtout les médicaments. L'homme a acquis dans son environnement les connaissances nécessaires à sa survie et au développement de son bien-être, avant même de posséder l'usage du langage, il pouvait transmettre l'expérience de la médecine et de tout type de remèdes naturels pour finalement élaborer ce que nous appelons aujourd'hui « la médecine traditionnelle ». L'étude de ces connaissances ancestrales par les sciences modernes révèle progressivement quelques secrets de la nature qui permettent à l'homme de poursuivre son évolution. C'est dans ce cadre que des disciplines hétérogènes telles que la botanique, la phytochimie, la biologie, l'anthropologie et bien d'autres sont mises en œuvre afin de décrire et d'interpréter les « pharmacopées traditionnelles ».

Depuis toujours, les humains ont utilisé leur environnement et en particulier les plantes pour se soigner. On estime que deux tiers des médicaments actuels sont d'origine naturelle [1], obtenus par héli-synthèse, à partir d'un pharmacophore ou par modification d'un produit naturel, composés issus des biotechnologies, vaccins, composés d'origine végétale, microbiologique ou animale. Seul un tiers des médicaments commercialisés possède donc une origine purement synthétique.

De par sa situation géographique, l'Algérie chevauche entre deux empires floraux : l'Holarctis<sup>1</sup> et le Paleotropis<sup>2</sup>. Cette position lui confère une flore très diversifiée par des espèces appartenant à différents éléments géographiques. Sur les 3139 espèces (5402 taxons en comptant les sous espèces, les variétés et les formes) décrites par Quezel et Santa (1962) dans la nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Zeraia (1983) dénombre 289 espèces assez rares, 647 rares, 640 très rares, 35 rarissimes et 168 endémiques. Molinier (Zeraia, 1983) signale 700 espèces endémiques dans la flore algérienne ; nous avons dénombré 653 sur la base de la flore de Quezel et Santa (1962-63). Le taux d'endémisme en Algérie est de 12.6 %. Parmi les espèces endémiques, nous pouvons distinguer 165 endémiques Nord-africaines, 270 endémiques algériennes, alors que l'UICN (Union Internationale de la Conservation de la Nature) et l'ANN ne signalent que 168 endémiques spécifiques à l'Algérie [2].

Cette mémoire est consacrée à l'étude phytochimique et pharmacologique d'une espèce Algérienne du genre *Scilla* : *Scilla lingulata*

---

<sup>1</sup> Holarctis est le plus grand Royaume floristique du monde. Il contient la plupart de l'hémisphère Nord. Holarctis est situé en Europe, une grande partie de l'Asie et l'Amérique du Nord, également de la marge nord de l'Afrique.

<sup>2</sup> Paleotropis couvre grande partie de l'Afrique (à l'exception de ses extrémités nord et au sud du continent), l'Inde, l'Asie du Sud et l'Indonésie - Paleotropis comprend toutes les régions tropicales de l'Ancien Monde. Cette zone est très riche dans le côté botanique; nous pouvons trouver ici 40 familles endémiques. Environ 50% de toutes les espèces tropicales est situé juste dans cette région floristique.

## Introduction générale

Le but de cette étude consiste à renforcer la connaissance phytochimique et biologique d'une espèce du genre *Scilla* et mettre en évidence des traceurs spécifiques et une possibilité d'utilisation de leurs extraits ultérieurement dans l'industrie.

Dans le premier chapitre, nous aborderons les différentes recherches bibliographiques et botaniques, l'utilisation de ce genre en médecine traditionnelle ainsi que le criblage biologique et phytochimique qui ont orienté le choix de notre étude pour cette espèce.

Le second chapitre sera consacré à nos études phytochimiques et biologiques de *S. lingulata*. Nous détaillerons les étapes de cette investigation, à commencer par la technique d'extraction (macération et soxhlet), le screening phytochimique, le dosage de polyphénols. On termine ce chapitre par un petit résumé rassemblant les activités biologiques et les protocoles utilisés pour l'évaluation.

Le dernier chapitre, décrira les résultats de comparaison entre les deux techniques d'extraction, en basant sur le calcul du rendement, le screening phytochimique, le dosage ainsi que les résultats des activités biologiques étudiées. Enfin, nous utiliserons tous ces résultats pour définir quels traceurs employés pour cette plante.

## Références

1. Newmann D, Cragg G.M. 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J. Nat. Prod.* 70:461–477
2. Chouaki S, Bessedik F, Chebouti A, Maamri F, Oumata S, Kheldoun S, Hamana M.F, Douzene M, Bellah F, Kheldoun A. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques. juin 2006.

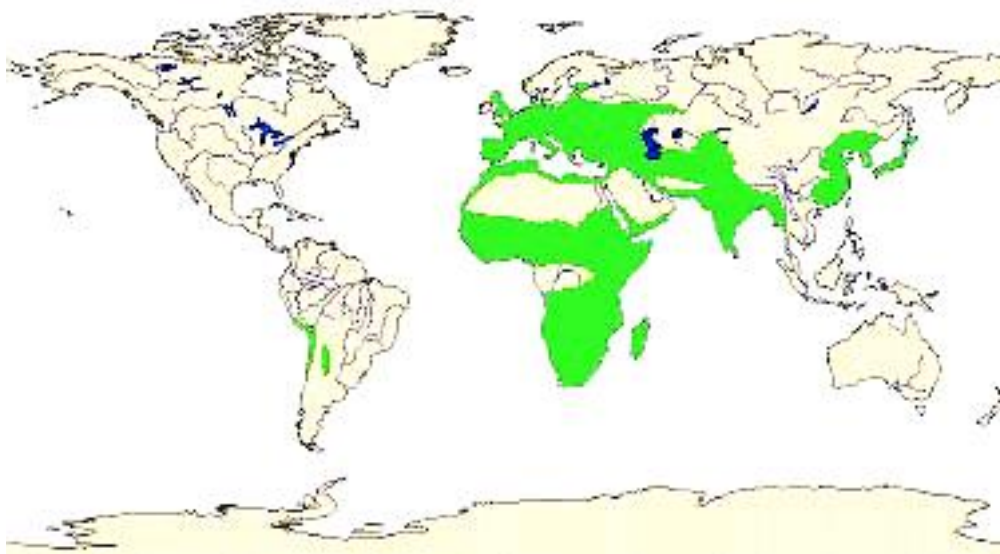


**Chapitre**

**Recherche bibliographique**

### I.1. Description des familles *Hyacinthaceae* et *Asparagaceae*

Au début, le genre *Scilla* est fait partie de la famille des *Hyacinthaceae* (Hyacinthacées) qui regroupe des plantes monocotylédones (Angiospermae) ; elle comprend entre 700-900 espèces de feuillus ou rarement à feuilles persistantes. Les espèces de cette famille sont des plantes à bulbe, avec des fleurs de couleurs vives. Cette famille est bien distribuée dans toute l'Afrique et la Méditerranée et près de l'Est en Inde, avec quelques espèces dans l'ouest de l'Amérique du Sud. La famille se trouve surtout dans les climats saisonniers avec une saison sèche prononcée et rare dans les plaines tropicales et les zones boisées [1-3].



**Figure I.1 :** Répartition géographique des *Hyacinthacées* (en vert).

Dans la première classification phylogénétique nommé APG I (1998), la famille des *Hyacinthaceae* toujours existe et elle est rattachée à l'ordre des *Asparagales*. Dans la deuxième classification phylogénétique APG II (2003), cette famille peut être supprimée, optionnellement. Dans ce cas, ses espèces sont classées parmi les *Asparagaceae* (*Asparagacée*) [4]. En 2009, avec la mise à jour de la classification phylogénétique (APG III), la famille *Hyacinthacées* avec d'autres familles ont été supprimées et ses genres sont incorporés dans une nouvelle famille nommée *Asparagaceae* [5]. Cette famille compte plus de 600 espèces végétales angiospermes monocotylédones réparties en 126 genres installées dans les climats chauds des régions tempérées et subtropicales du globe. Elles associent des plantes herbacées pérennes et rhizomateuses, des lianes et quelques arbrisseaux et dont la fonction chlorophyllienne est contenue dans les tiges principalement ou des rameaux nombreux et fusionnés ayant subi une transformation appelés cladodes [6].

Les plantes de la famille des *Asparagacées* sont munies d'un feuillage de taille réduite et dépourvu de stipules, car ses feuilles sont à l'état d'écaillés ayant l'aspect d'épines présentent une inflorescence en cyme, grappe voir en ombelles selon les espèces. Ses fleurs sont soit hermaphrodites soit monoïques ou dioïques, elles sont de petite taille, mais régulières et amènent un fruit charnu que l'on nomme baies contenant des graines endospermes [7].

## I.2. Description du genre *Scilla*

Le nom du genre *Scilla* vient du grec « *scillô* » qui signifie j'écorche, allusion au suc de certaines espèces irritant gravement la peau. Dans la classification de **Cronquist**, ce genre se trouve dans l'ordre des *Liliales* et la famille des *Liliacées* et non dans celui des *Asparagales*, d'abord dans la famille des *Hyacinthacées* (aujourd'hui invalide), puis dans celle des *Asparagacées* comme dans la classification phylogénétique APG III [8].

Ce genre (les scilles) comprend approximativement 81 espèces [9] de plante distribuée à travers l'Europe, l'Afrique et le Moyen-Orient. Quelques espèces sont également naturalisées en Australie, en Nouvelle-Zélande et en Amérique du Nord. Des plantes herbacées vivaces établies sur des bulbes de bonne taille, ovoïdes, ressemblant étrangement à ceux des jacinthes. Ce bulbe mesure de 1 à 1.5 cm de diamètre.



**Figure I.2 :** bulbe du genre *Scilla*

Il est vert ou crème, recouvert d'une tunique papyracée, parfois opaque et pourpre foncé, ou bien brun teinté de pourpre. On la récolte après que les feuilles de base ont flétri, un moment où les propriétés médicinales de bulbe sont à leur plus haut niveau.



**Figure I.3 :** feuille et fleur d'une *Scilla*

Les scilles sont des plantes hermaphrodites dont la floraison a lieu au printemps, en été ou en automne selon leur région d'origine. Leurs inflorescences sont des racèmes dressés terminaux d'une grande tige aphyllée. Leurs fleurs sont actinomorphes, en étoile, formées de 6 tépales ovales le plus souvent de couleur bleue (claire à foncée), 6 étamines aux anthères foncées, d'un pistil de la couleur des tépales et d'un ovaire supère.

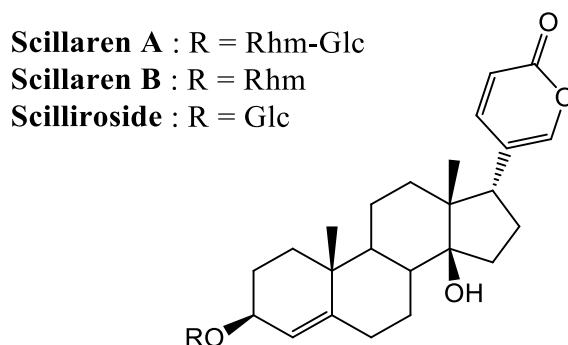
Les feuilles, les fleurs, les bulbes ainsi que les graines d'une *Scilla* sont tous toxiques. Les symptômes comprennent la diarrhée, les vomissements et les douleurs abdominales.

D'autres espèces *Scilla* peuvent provoquer une irritation de la peau sensible [10].

La majorité des *Scilla* sont présentes en Iran [11], l'Afrique du sud [12] et l'Algérie [13]. Dans la médecine populaire, les espèces *Scilla* sont utilisées pour promouvoir la circulation sanguine, réduisant l'inflammation, comme analgésique [14], et agent antibactérien [15]. Pour le traitement de l'antidote, activateur du circulatoire du sang et du réducteur d'abcès [16, 17].

### **I.3. Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre *Scilla***

Comme on a déjà mentionné, la plupart des plantes du genre *Scilla* sont des plantes toxiques à cause de leurs principaux constituants renfermés principalement par les bulbes et qui sont des hétérosides nommés scillarène A et B ainsi que scilliroside. Les principes actifs sont scillarène A et scillarène B. Ils sont aussi toxiques que l'**ouabaïne** et plus toxiques que la **digitaline** mais rapidement hydrolysés dans le sang. Ils ne s'accumulent donc pas et leur toxicité chez l'homme est faible.



**Figure I.4** : les principaux constituants des bulbes du genre *Scilla*

#### **I.3.1. Utilisation en médecine traditionnelle**

La médecine traditionnelle est largement utilisée par de nombreuses personnes en Afrique qui continuent à incorporer la phytothérapie dans leur vie quotidienne. Les plantes qui sont utilisées dans la médecine traditionnelle sont probablement et dans certains cas déjà connus, de contenir des composés pharmacologiquement actifs. Pour cette raison, les plantes médicinales sont devenues le centre d'une étude intense ces dernières années pour déterminer si leurs usages traditionnels sont soutenus par des effets pharmacologiques réels ou sont simplement basés sur le folklore. Avec l'acceptation croissante par les systèmes de santé occidentaux de la médecine traditionnelle comme une autre forme de soins de santé, il est urgent d'évaluer les méthodes traditionnelles de traitement. Une importance considérable a été accordée au criblage de plantes médicinales pour les composés actifs.

Le genre *Scilla* est connu dans la famille *Asparagaceae* à cause de plusieurs espèces réputées pour leurs vertus thérapeutiques tel que :

*S. natalensis* Planch. également connue aussi sous les noms *Merwillia natalensis* (Planch.) Speta ou *Merwillia plumbea* (Lindl.) est classé comme l'une des espèces populaires les plus vendus à de nombreux marchés médicaux en Afrique du Sud [18, 19]. Elle est distribuée dans toute la partie orientale de l'Afrique du Sud, y compris Lesotho, KwaZulu-Natal, Free-State, Swaziland, et la Province du Nord [20]. En Afrique du Sud, La plante est utilisée traditionnellement par



**Figure I.5 :** *Scilla natalensis* Planch

diverses cultures tel que Zoulou, Tswana, Swati et Sotho. Elle est connue sous le nom « **inguduza** » qui signifie « La recherche du corps pour la cause de la maladie » [21]. Les bulbes de *S. natalensis* sont vendus pour le traitement des affections gastro-intestinales qui comprennent les maux d'estomac, la constipation, les vers intestinaux, la diarrhée, la dysenterie, les nausées et l'indigestion [14]. Les extraits des bulbes sont connus pour leurs activités antibactérienne, anthelminthique, anti-inflammatoire, anti-schistosomal et utilisée comme onguent pour les plaies, les scarifications, comme un laxatif et comme un lavement [22]. Les bulbes ont utilisé traditionnellement en Afrique pour les entorses et les fractures, les tumeurs (cancéreuses), les douleurs menstruelles, l'infertilité, et de soutenir le processus d'accouchement chez la femme [14, 23-25]. Les bulbes cuisinés sont consommés avec d'autres aliments par les populations ethniques du sud du Sotho qui croyaient qu'il traite les "tumeurs internes" [26]. La matière sèche des bulbes est bouillie dans l'eau chaude et utilisée pour les furoncles, les plaies veld et l'eczéma. Les bulbes sont pris comme purgatifs ou comme un lavement pour les tumeurs internes, grumeaux ou autres gonflements qui peuvent ou peuvent ne pas être cancéreux [14, 22, 27]. Les décoctions sont également prises comme des lavements pour la fertilité féminine et pour augmenter la puissance masculine et la libido [14]. Comme beaucoup d'autres espèces de l'ancienne famille *Hyacinthaceae*, différentes espèces *Scilla* ont été reportées comme contenant des glycosides cardiaques [28]. L'étude de Kellermen et al. (1988) sur *S. natalensis* montre l'enregistrement des changements électrocardiographiques similaires à ceux de l'empoisonnement aux glycosides cardiaques [29]. Bien que la sève libérée de la plante peut brûler la peau des humains, onguent est préparé via la méthode de décoction à partir des bulbes frais ainsi que des écailles brûlées pour traiter les plaies externes, Furoncles, abcès et fractures.

Les cendres de la plante brûlée sont frottées en coupes et éraflures pour soulager [30].



**Figure 1.6 : *Scilla persica*  
HAUSSKN**

*S. persica* HAUSSKN est une plante vivace connu comme un aliment. Elle est importante dans la médecine traditionnelle pour favoriser la circulation sanguine, la réduction de l'inflammation, comme un analgésique [14] et un agent antibactérien [15].

*S. nervosa* (Burch.) Jessop est une plante vivace endémique au Botswana, naturalisé dans les prairies de la partie orientale de l'Afrique australe [27]. Les bulbes de la plante sont considérés comme une espèce médicinale précieuse utilisés par des guérisseurs traditionnels de différentes cultures pour traiter l'infertilité chez les femmes, la constipation, la dysenterie, les troubles nerveux, la fièvre rhumatismale et la douleur. Chez le bétail, elle est utilisée pour traiter la maladie de la vésicule [22]. Il a été démontré que les extraits préparés à partir de ses bulbes possèdent des propriétés anti-inflammatoires puissantes et ces résultats peuvent donc rationaliser l'utilisation traditionnelle de la plante comme un agent analgésique pour la fièvre rhumatismale [31]. Les bulbes écrasés sont ajoutés à la nourriture et administrés aux enfants en tant qu'apéritif [32]. Les Tswanas utilisent les bulbes cuits mélangés avec de la bouillie comme nourriture et la mangé trois à quatre fois par jour pendant un mois pour le traitement de l'infertilité chez les femmes [33].



**Figure 1.7 : *Scilla nervosa* (Burch.)  
Jessop**

*S. scilloides* (LIND.) DRUCE est une plante connue dans la médecine traditionnelle Chinoise utilisée pour le traitement de l'antidote, activateur de circulation sanguine et réducteur d'abcès. Les bulbes de cette plante ont été utilisés comme denrée alimentaire ainsi qu'un médicament traditionnel en tant qu'un agent anti-inflammatoire, un analgésique et à la dermatite [16, 17].



**Figure 1.8 : *Scilla scilloides***

Les bulbes de *S. india* (Wight) Baker. ont été utilisés comme expectorant, stimulant cardiaque et diurétique [34].

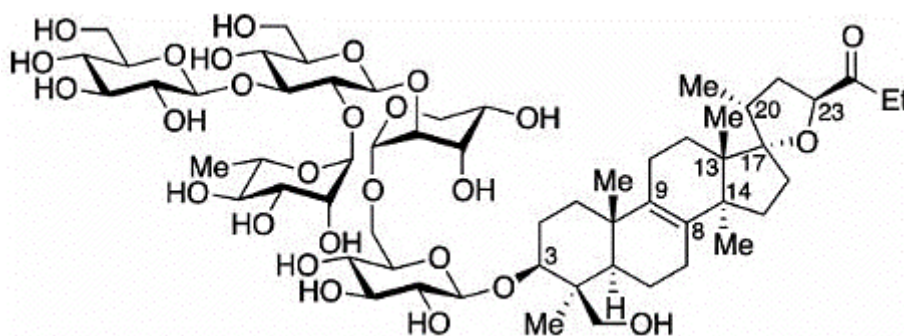
*S. indica* Bak. est une espèce connue sous le nom « **Kattuvella vengayam** » dans la région Namakkal district, Tamil Nadu en Inde. Le peuple de cette région trait la fièvre en utilisant le jus des bulbes mélangé avec du poivre [35].

Les bulbes de *S. bifolia* L. sont utilisés pour le traitement de cicatrisation et la hernie discale [36].

### I.3.2. Activités biologiques

Les produits naturels constituent une excellente source de structures chimiques possédant une large variété d'activités biologiques et en particulier la propriété anticancéreuse [37]. Cela oriente vers de nouveaux champs d'enquête sur le potentiel des composés anti-tumorale, qui sont déjà largement utilisés dans la chimiothérapie du cancer. Les modèles de la sélection cytotoxique fournissent d'importantes données préliminaires pour sélectionner des plantes possédant des composés ayant un potentiel anticancéreux [38]. Dans ce thème, une étude sur plusieurs homoisoflavonoïdes isolés de *S. persica* HAUSSKN a montrée une activité cytotoxique forte contre la ligne cellulaire AGS. La toxicité sur cette ligne cellulaire a été mesurée avec des valeurs IC<sub>50</sub> de 8.4, 30.5, 10.7 et 24.2 uM, respectivement [9].

Une étude phytochimique sur les bulbes de *S. scilloides* a mène à l'isolement de six eucosterol oligoglycosides, dans lequel un de ces composés (scillascillosides E-1) a montré une activité antitumoral la plus significative contre les cellules tumorales HT1080, B16(F-10), 3LL, MCF7, PC-3, HT29, LOX-IMVI et A549 avec une valeur d'ED 1.53-3.06 nM. Dans les expériences *in vivo*, ce composé apparemment augmenté la durée de vie de souris portant une cellule tumorale Sarcoma 180 avec une valeur T/C de 239 % à une dose de 3 mg/kg [39].



**Figure I.9 :** scillascillosides E-1

Les résultats d'une étude concernant l'effet cytotoxique de l'extrait aqueux des bulbes de *Scilla nervosa* sur des cellules hépatiques HepG2 cultivées (un système modèle pour investiguer la

toxicité des xénobiotiques) ont montrées que la viabilité cellulaire a diminué d'une manière dépendante de la concentration et l'IC<sub>50</sub> a été déterminée comme 0.03 mg/mL. Le traitement des cellules à IC<sub>50</sub> pendant 24 h a entraîné une augmentation des taux intracellulaires d'ATP, aucun changement significatif dans l'externalisation de la phosphatidylsérine, augmentation de l'activité caspase-8, diminution de l'activité caspase-9, pas de changement significatif dans le potentiel de la membrane mitochondriale, peroxydation lipidique accrue, évidence de la génotoxicité comme en témoignent la fragmentation de l'ADN, et une activité légèrement induite par le CYP3A4 [40].

L'extrait des bulbes de *S. scilloides* a présenté des effets inhibiteurs dans divers modèles d'oxydation (*in vitro*) tel que l'lipoxgénase et l'hyaluronidase. L'incubation des cellules en présence de cet extrait améliore la cytotoxicité induite par l'hydroperoxyde de t-butyle de 27% à 57% dans un modèle de macrophage. Les résultats peuvent indiquer le rôle potentiel de *S. scilloides* pour ses effets anti-inflammatoires et antioxydants [41].

L'extrait méthanol des bulbes de *S. nervosa* (Burch.) Jessop a été testé pour les activités anti-inflammatoire et antimicrobienne. Il a démontré un effet fort, mais à court terme, sur une dermatite de contact induite par un croton-huile dans une oreille de souris (réduction de 66% de l'œdème après 3 h) et les composants non polaires étaient actifs contre *Staphylococcus aureus* (IC<sub>50</sub> = 1.8 µg.ml<sup>-1</sup>), *Klebsiella pneumonia* (IC<sub>50</sub> = 2.0 µg.ml<sup>-1</sup>) et *Candida albicans* (IC<sub>50</sub> = 1.0 µg.ml<sup>-1</sup>). Une faible discrimination a été notée entre les bactéries Gram positive et Gram négatif, mais une certaine spécificité de la levure a été observée [31].

L'extrait des bulbes de *S. indica* Baker. a montré une certaine activité contre l'infections de *Neisseria gonorrhoeae* et a eu une activité antimicrobienne exceptionnelle qui leur est attribuée lors d'une enquête sur les plantes médicinales utilisées en Inde [42].

L'extrait des racines de *S. scilloides* a été évalué pour son potentiels antimicrobien, anti-inflammatoire et antioxydant, les résultats montrent que l'extrait inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* et *Candida parapsilosis* jusqu'à une concentration de 0.1%. L'activité antioxydante a été évaluée en observant l'inhibition de la hyaluronidase, une enzyme qui initie la dégradation de l'acide hyaluronique, associé à inflammation. L'inhibition a été observée à des concentrations de l'extrait de 0.1 (inhibition de 14.8%) à 1% (48.2% d'inhibition), mais pas au-dessous. L'activité antioxydante a été évaluée en surveillant l'oxydation de l'acide linoléique et une bonne activité a été observés (indice antioxydant de 33.2 à une concentration de 1%) [43].

Scillascilloside E-1 (38) et Scillascilloside E-3 (40) ont montrés une cytotoxicité puissante contre une gamme de cellules cancéreuses humaines (ED<sub>50</sub> de 1.5 à 3.0 nM et 1.6 à 5.9 nM, respectivement) [44,45]. Des brevets ont été déposés couvrant l'utilisation d'extraits de bulbes *S. scilloides* pour le traitement des infections fongiques [46] ainsi que pour le traitement du cancer [47]. L'extrait hydrométhanolique des bulbes de *S. japonica* a produit une action cardiaque sur un muscle cardiaque isolée du crapaud, bien que les composants actifs responsables n'aient pas été identifiés [48].

L'extrait éthanoïque des bulbes de *S. indica* Baker. (Une plante connue en tanque un agent antimicrobien puissant) [42] été trouvé pour avoir une bonne activité antioxydante (protection contre la peroxydation lipidique induite par le sulfate ferreux d'une manière dose-dépendante, avec 49% protection contre l'hydroxylation médiée par des radicaux hydroxyle à une concentration de 250 mg/ml) ainsi que pour posséder une activité cardiaque au pair avec ouabaine [49-51].

Le composé 5,7-dihydroxy-3-(3-hydroxy-4-methoxybenzyl)chroman-4-one (81) s'est avéré très actif contre le cancer du côlon (ligne cellulaire HT-26 ED<sub>50</sub> = 0.88 mg/ml) ainsi que le cancer du sein (ligne cellulaire MDA-MB 90 ED<sub>50</sub> = 0.42 mg/ml) [52]. Les dépôts d'ampoules inter-ampoules jaunes de cette sous-espèce ont également été étudiés et huit homoisoflavanones ont été isolés, dont deux étaient nouveaux (91-92) [53]. Des preuves ont été présentées pour indiquer que les bulbes peuvent causer des dommages aux cellules du foie [40]. Un homoisoflavanone (93) a été isolée de *S. plumbea* Lindl. C'est une espèce peu connue, ni toxique ni connue pour être utilisée par les guérisseurs traditionnels [12].

#### **I.4. Propriété phytochimique**

Le genre *Scilla* est connu pour la présence de diverses calasse de métabolites secondaires tel que les alcaloïdes, les terpénoïdes et les homoisoflavonoïdes.

Une étude sur l'extrait hydroéthanoïque des bulbes de *Scilla socialis* Baker a permis l'identification d'onze hyacinthacines (1-11) ainsi que deux pyrrolidines (12-13) et trois pipéridines (14-16). Ces composés ont été trouvés aussi dans *S. sibirica*, *S. Peruviana* et *S. campanulata* [54]. Les extraits dichlorométhane et méthanol des bulbes de *S. socialis* ont donnés des composés de type homoisoflavanones (17,18), phytol (19), stigmasterol (20) de type scillacillin et le dérivé de difurane polyhydroxylé, le polybotrine (21) [55].

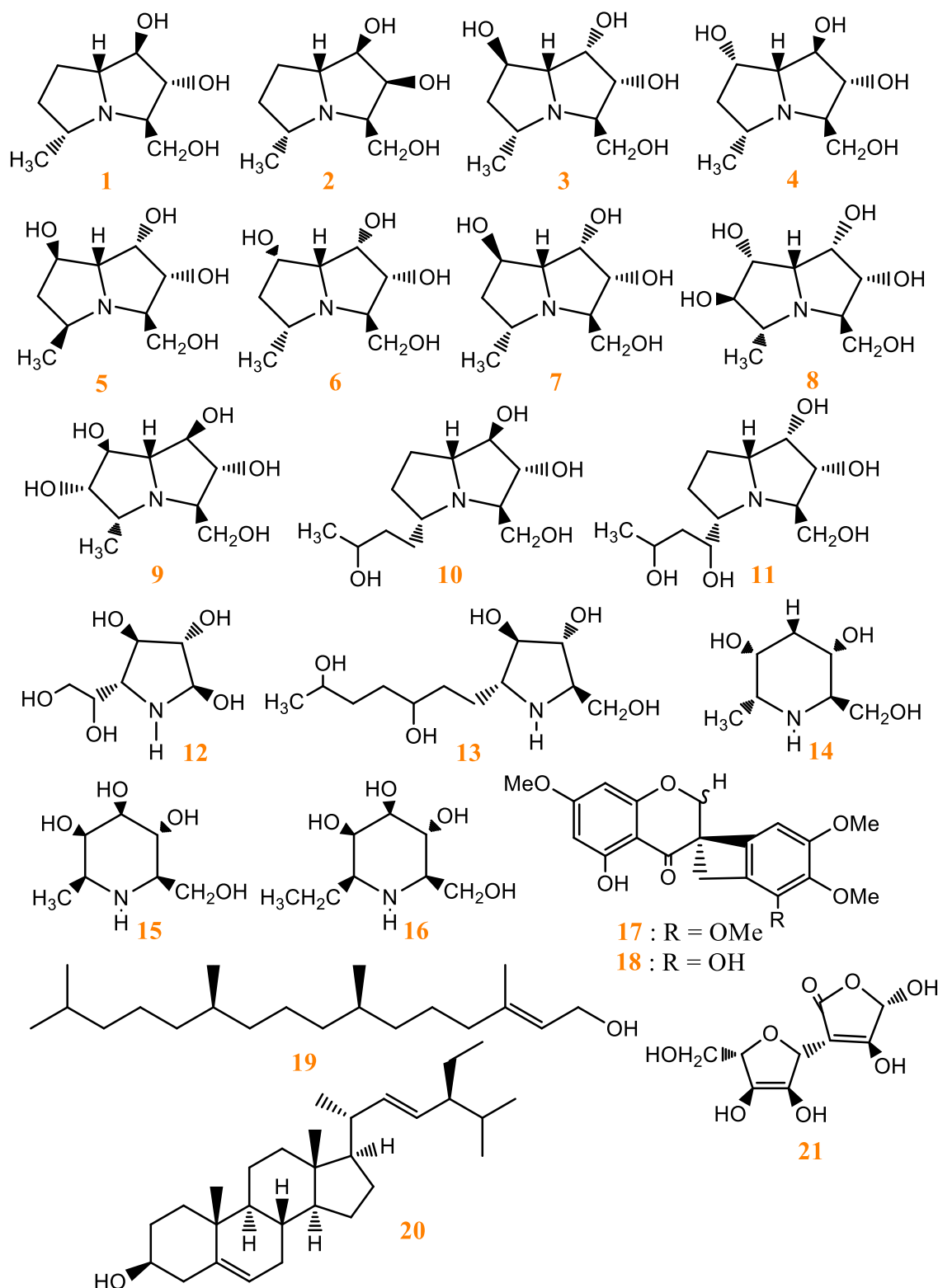
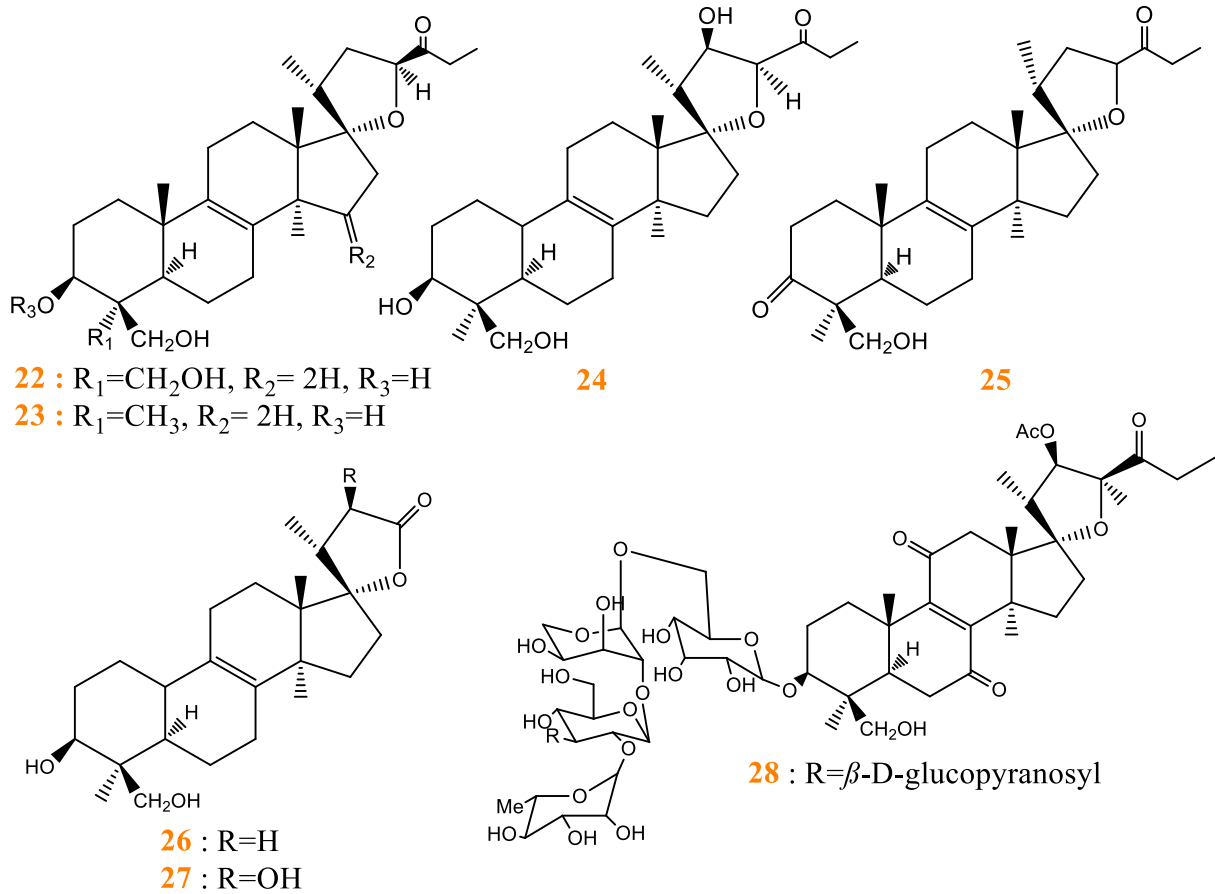


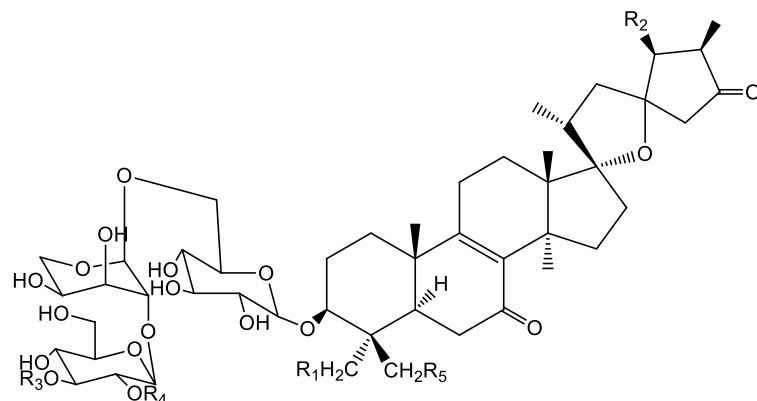
Figure I.10 : composants isolés de quelques *Scilla*

De nombreuses investigations phytochimiques des bulbes de *S. scilloides* permettent l'isolement de nortriterpènes de type spirocyclique (22-27) [56, 57], des oligoglycosides (28-47) [44, 45, 58, 59] et homoisoflavanones (48-50) [60]. Nishida et al., [61] ont rapportés l'isolement de seize composés à partir de l'extrait méthanolique des bulbes, dont trois

nortriterpènes (22, 23, 25) un lignane (51), une xanthone (52), deux homostilbenes (53, 54) et neuf homoisoflavanones (49, 55-61). Une enquête ultérieure sur le même extrait a entraîné l'isolement de deux triterpénoïdes glycosides de type norlanostane (62, 63), un phénylpropanoïde glycosylé 64 et deux alcaloïdes (65, 66) [62].



**Figure I.11** : quelques nortriterpènes isolés du genre *Scilla*



**Figure I.12** : quelques oligoglycosides isolés du genre *Scilla*

Tableau I.1 : la structure de quelques oligoglycosides isolés du genre *Scilla*

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>
29	H	H	$\alpha$ -L rhamnopyranosyl	H	OH	H
30	H	H	$\alpha$ -L-rhamnopyranosyl	$\beta$ -D-glucopyranosyl	OH	H
31	H	H	$\alpha$ -L-rhamnopyranosyl	$\beta$ -D-glucopyranosyl-(1→3)-galactopyranosyl(1→3)- $\beta$ -D-glucopyranosyl	OH	H
32	OH	H	$\alpha$ -L-arabinofuranosyl	$\beta$ -D-glucopyranosyl	OH	H
33	H	OAc	$\alpha$ -L-rhamnopyranosyl	$\beta$ -D-glucopyranosyl	OH	H
34	H	OAc	$\alpha$ -L-arabinofuranosyl	$\alpha$ -L-rhamnopyranosyl	OH	H
36	OH	H	$\alpha$ -L-rhamnopyranosyl	$\beta$ -D-glucopyranosyl	OH	H
38	H	H	$\alpha$ -L-rhamnopyranosyl	$\beta$ -D-glucopyranosyl	OH	H
39	OH	H	$\alpha$ -L-arabinofuranosyl	$\beta$ -D-glucopyranosyl	H	H
40	H	H	$\alpha$ -L-rhamnopyranosyl	$\beta$ -D-glucopyranosyl	OAc	H
62	H	H	$\beta$ -D-galactopyranosyl(1→3)- $\beta$ -D-glucopyranosyl	$\alpha$ -L-(1→2)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl	OH	OH

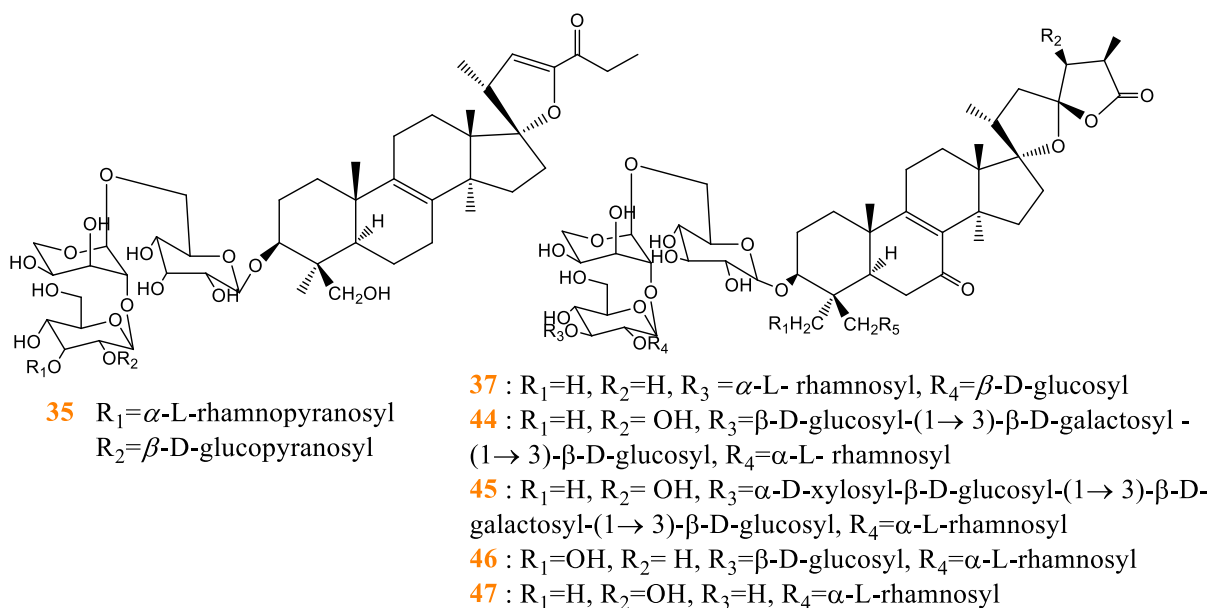
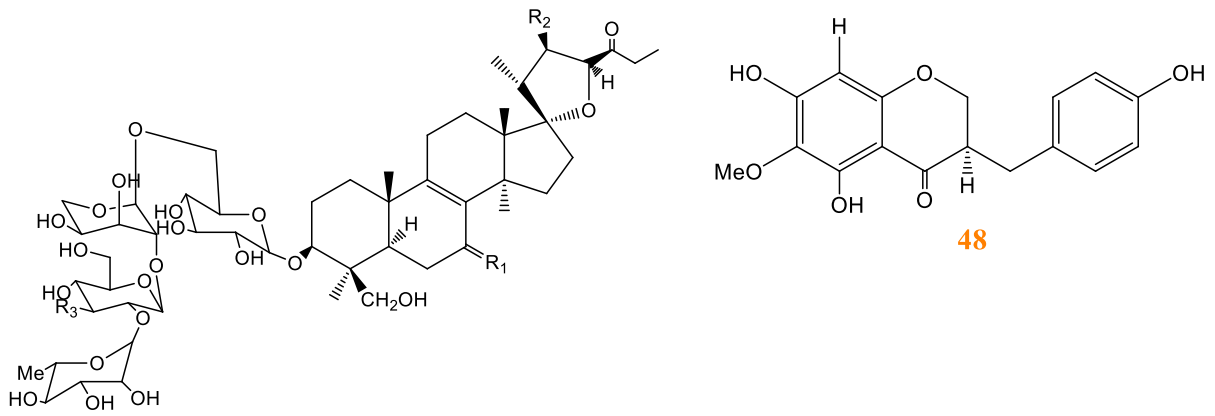


Figure I.13 : autres oligoglycosides isolés du genre *Scilla*



41 :  $R_1=OH$ ,  $R_2 = OAc$ ,  $R_3=-\beta$ -D-glucosyl

42 :  $R_1=2H$ ,  $R_2=H$ ,  $R_3=\alpha$ -D-xylosyl- $\beta$ -D-glucosyl-(1  $\rightarrow$  3)-galactosyl (1  $\rightarrow$  3)- $\beta$ -D-glucosyl

43 :  $R_1= 2H$ ,  $R_2=H$ ,  $R_3=\beta$ -D-glucosyl-(1  $\rightarrow$  3)- $\beta$ -D-galactosyl-(1  $\rightarrow$  3)- $\beta$ -D-glucosyl

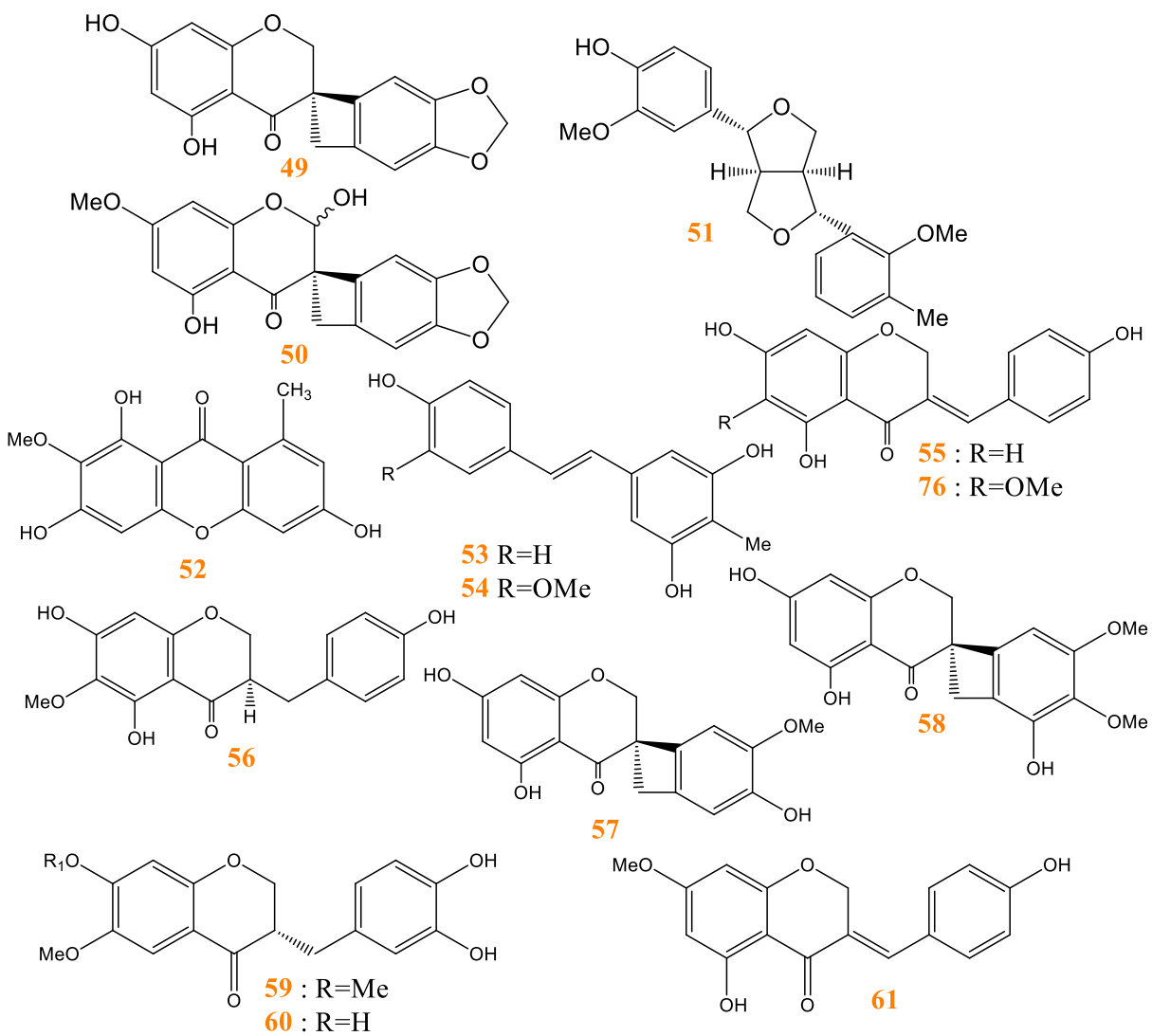


Figure I.14 : quelques composés du genre *Scilla*

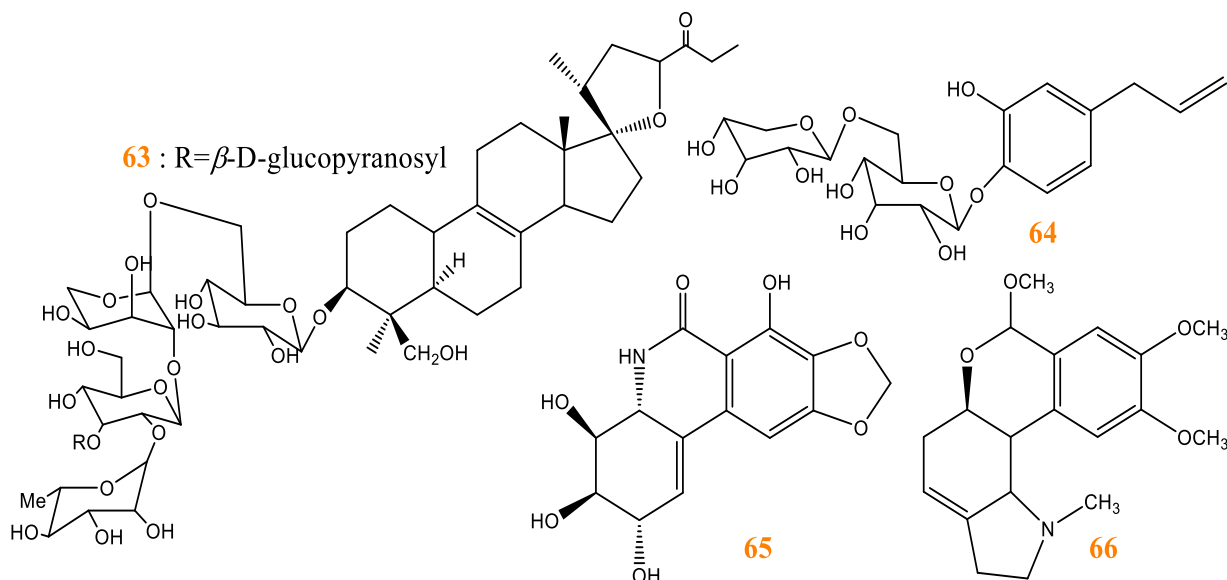


Figure I.15 : différentes structures isolées du genre *Scilla*

Rao et Rangaswami ont détectés des bufadienolides dans l'extrait des bulbes de *S. indica* Roxb. et ont isolés scillarène A (67) comme le principe actif [63, 64] avec proscillaridine A 68 [62, 65-68]. scilliphaeoside (69) a été isolé à partir de *S. maritima* [69, 70].

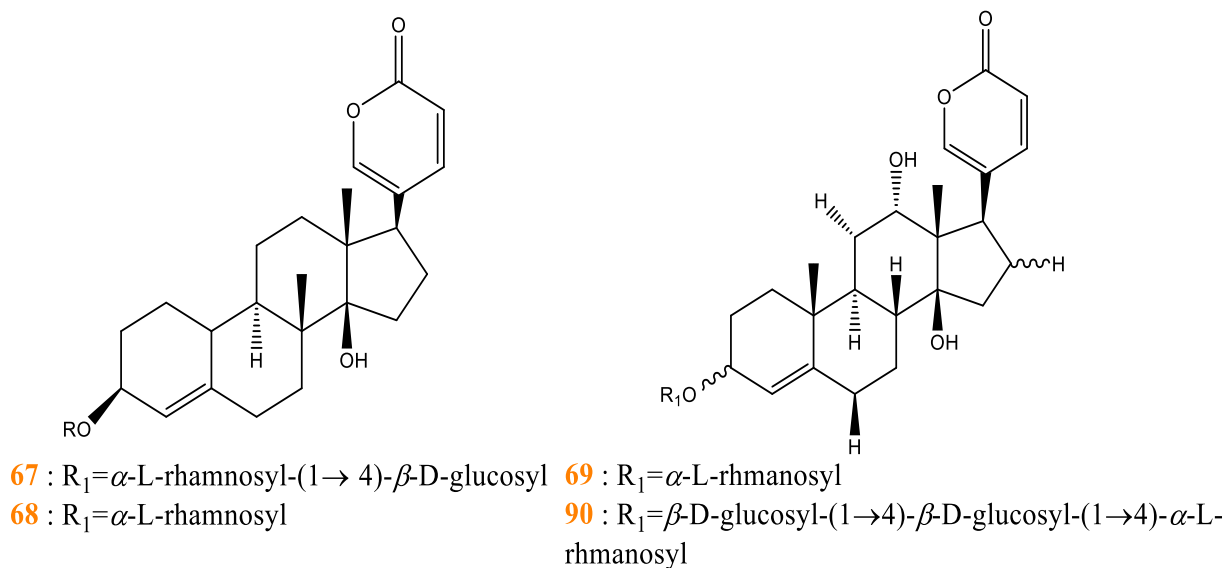
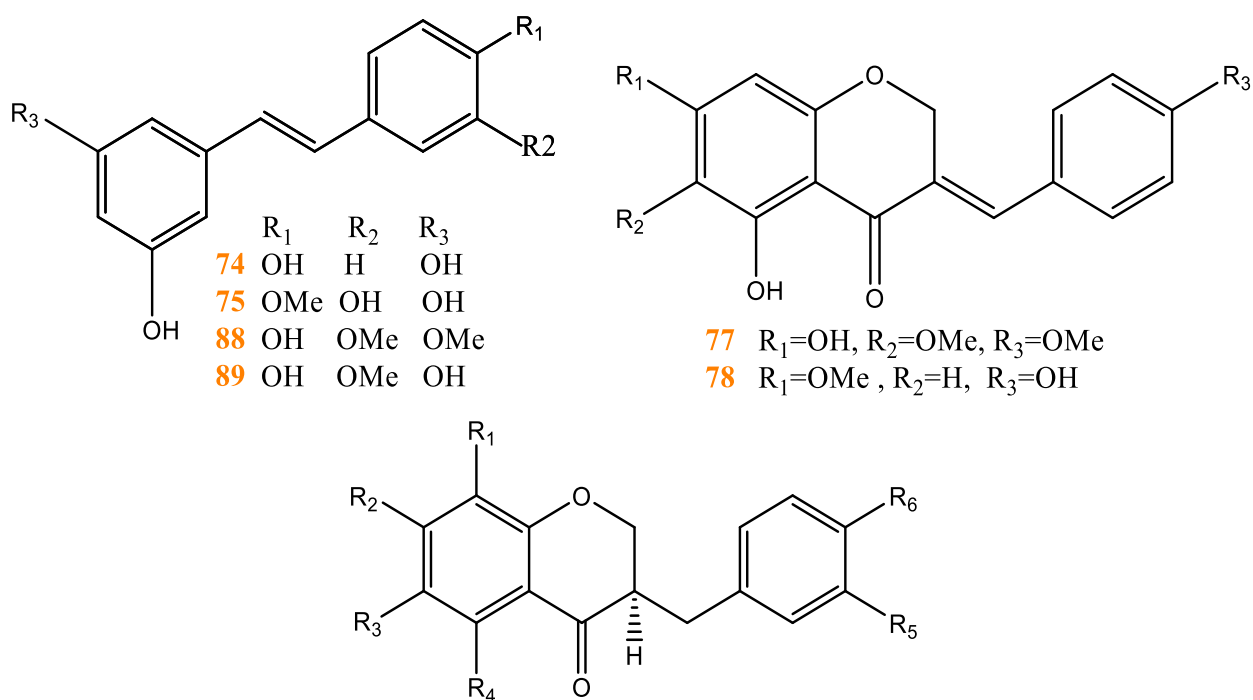


Figure I.16 : quelques bufadienolides isolées du genre *Scilla*

L'étude phytochimique des bulbes de *S. nervosa* montre la présence de cinq homoisoflavanones (55, 70-73), deux stilbenoids (74, 75) [71] ainsi que treize homoisoflavanones supplémentaires (55, 76-87) et trois stilbènes (75, 88-89) [52, 72].



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>
<b>70</b>	H	OMe	H	OH	H	OMe
<b>71</b>	H	OMe	H	OMe	OH	OMe
<b>72</b>	H	OMe	H	OMe	H	OH
<b>73</b>	H	OMe	H	OH	H	OH
<b>79</b>	H	OMe	H	OMe	H	OMe
<b>80</b>	H	OMe	H	OH	OMe	OH
<b>81</b>	H	OH	H	OH	OH	OMe
<b>82</b>	H	OMe	OMe	OH	OMe	OH
<b>83</b>	H	OH	OMe	OH	H	OMe
<b>84</b>	H	OH	H	OH	OMe	OMe
<b>85</b>	H	OMe	OH	OMe	H	OMe
<b>86</b>	H	OMe	OMe	OMe	H	OH
<b>87</b>	OH	OMe	H	OMe	H	OMe
<b>91</b>	H	OMe	OMe	OMe	H	OMe
<b>92</b>	H	OH	OMe	OMe	H	OMe
<b>93</b>	H	OH	OMe	OH	OH	OMe

**Figure I.17 :** quelques homoisoflavanones et stilbenoïds du genre *Scilla*

## Références

1. Manning J, Goldblatt P, Fay M. 2004. A revised generic synopsis of Hyacinthaceae in sub-Saharan Africa, based on molecular evidence, including new combinations and the new tribe Pseudoprosperae. *Edinburgh J. Bot.* 60:533–568
2. Manning J, Goldblatt P, Snijman D. 2002. *The color encyclopedia of Cape bulbs*. Timber Press, Oregon
3. Leistner OA. (ed.). 2000. *Seed plants of southern Africa: families and genera*. Strelitzia 10. National Botanical Institute, Pretoria.
4. The Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society.* 141:399–436
5. The Angiosperm Phylogeny Group. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society.* 161:105–121
6. [http://quelleestcetteplante.fr/description\\_familles.php?famille=Asparagac%E9es](http://quelleestcetteplante.fr/description_familles.php?famille=Asparagac%E9es)
7. <http://www.complements-alimentaires.co/les-plantes-de-la-famille-des-asparagacees/>
8. <http://quelleestcetteplante.fr/genres.php?genre=Scilla>
9. Hafez Ghoran S, Saeidnia S, Babaei E, Kiuchi F, Hussain H. 2015. Scillapersicene: a new homoisoflavonoid with cytotoxic activity from the bulbs of *Scilla persica* HAUSSKN. *Nat. Prod. Res.* 30:1309–1314
10. Bryant A. 1909. Zulu medicine and medicine-men. *Annals of the Natal Museum.* 2:1–103
11. Mozaffarian V. 1997. *Dictionary of the names of Iranian Plants*. Tehran: Farhang Moaser; pp. 489–490
12. Pohl T, Koorbanally C, Crouch NR, Mulholland DA. 2001. Secondary metabolites of *Scilla plumbea*, *Ledebouria cooperi* and *Ledebouria ovatifolia* (Hyacinthaceae). *Biochem. Sys. & Eco.* 29:857–860
13. Quezel P, Santa S. 1963. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. CNRS. Paris. Vol 2.
14. Hutchings A. 1989. A survey and analysis of traditional medicinal plants as used by the Zulu, Xhosa and Sotho. *Bothalia* 19:111–123
15. Hafez Ghoran S, Mighani H, Ebrahimi P. 2014. *In-Vitro* anti-bacterial activity of chloroform, ethyl acetate and hydroalcoholic extracts of *Scilla persica* Hausskn. *J. Gorgan Univ. Med. Sci.* 16:106–113
16. Namba T. 1993. *The Encyclopedia of Wakan-Yaku, Hoikusha, Osaka*, pp. 165
17. Igakuin KS, Kagaku S, Shuppansha G-j. 1978. *Chuyaku Daijiten*, pp. 2270
18. Cunningham AB. 1988. *An Investigation of the Herbal Medicinal Trade in Natal/KwaZulu*. Investigational Report 29. Institute of Natural Resources, South Africa.
19. Mander M. 1997. *The marketing of indigenous medicinal plants in South Africa: a case study in KwaZulu-Natal*. Investigational Report 164. Institute of Natural Resources, South Africa
20. Sparg SG, Jäger AK, Van Staden J. 2005. The effect of cultivation and plant age on the pharmacological activity of *Merwillia natalensis* bulbs. *South Afric. J. Bot.* 71:191–196
21. Williams VL, Raimondo D, Cunningham AB. 2007. Trade, bulb age and impacts on

- Merwillia plumbea*. South Afric. J. Bot. 73:321–322
22. Watt JM, Breyer-Brandwijk MG. 1962. The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. E & S Livingston Ltd, Edinburgh
  23. Sparg SG, Van Staden J, and Jager AK. 2002. Pharmacological and phytochemical screening of two Hyacinthaceae species: *Scilla natalensis* and *Ledebouria ovatifolia*. J. Ethnopharmacol. 80:95–101
  24. Gerstner J. 1941. A preliminary check list of Zulu names of plants with short notes. Bantu Studies 15, 369–383
  25. Hutchings A, Haxton Scott, AH, Lewis SG, Cunningham A. 1996. Zulu Medicinal Plants. An Inventory. University of Natal Press, Pietermaritzburg
  26. Moodley N, Mulholland DA, Crouch NR. 2004. Eucosterol-type Nortriterpenoids from *Merwillia natalensis*. J. Nat. Prod. 67:918–920
  27. Van Wyk BE, Van Oudtshoorn B, Gericke N. 1997. Medicinal Plants of South Africa. Briza Publications, Pretoria, pp. 232–233
  28. Kamano Y, Petit GR. 1974. Bufadienolides. Synthesis of scillarenin. J. Org. Chem. 39:2629
  29. Kellermen TS, Coetzer JAW, Naude TW. 1988. Plant Poisonings and Mycotoxicoses of Livestock in Southern Africa. Oxford University Press, Cape Town, pp. 95-96
  30. Notten A. *Merwillia plumbea* (Lindl.) Speta, 2001, <http://www.plantzafrica.com>
  31. Du Toit K, Kweyama A, Bodenstern J. 2011. Anti-inflammatory and antimicrobial profiles of *Scilla nervosa* (Burch.) Jessop (Hyacinthaceae). South Afric. J. Sci. 107:96–100
  32. Hedberg I, Staugard F. 1989. In Traditional medicinal plants: traditional medicine in Botswana. Gabarone: Ipelegeng Publishers, pp. 207
  33. Jacot Guillarmod A. 1971. In Flora of Lesotho. Lehre: Verlag von Cramer, pp. 451
  34. Gritto MJ, Nanadagopalan V, Doss A. 2015. Ethnobotanical survey of medicinal plants used by Traditional healers in Shobanapuram village of Pachamalai Hill, Tamilnadu. Advan. Appl. Sci. Res. 6:157–164
  35. Bhuvaneshwari R, Ramanathan R, Krishnapriya P, Madheswaran A, Dhandapani R. 2015. Survey of wild tuberous medicinal plants of Kolli hills in Namakkal district, Tamil Nadu, India. Inter. Nat. J. Herb. Med. 3:41–48
  36. Kultur S. 2007. Medicinal plants used in Kirklareli province (Turkey). J Ethnopharmacol. 111:341–364
  37. Cragg GM, Newman DJ. 2000. Antineoplastic agents from natural sources: achievements and future directions. Expert Opin. Investig. Drugs. 9:2783–2797
  38. Tundis R, Deguin B, Loizzo MR, Bonesi M, Statti GA, Tillequin F, Menichini F. 2005. Potential antitumor agents: Flavones and their derivatives from *Linaria reflexa* Desf. Bioorg. Med. Chem. Lett. 15:4757–4760
  39. Sang-Myung L, Hyo-Kon C, Choong-Hwan L, Byung-Sun M, Eun-Sook L, Yung-Hee K. 2002. Eucosterol Oligoglycosides Isolated from *Scilla scilloides* and Their Anti-tumor Activity. Chem. Pharm. Bull. 50:1245–1249
  40. Pillay P, Phulukdaree A, Chuturgoon AA, Du Toit K, Bodenstern J. 2013. The cytotoxic effects of *Scilla nervosa* (Burch.) Jessop (Hyacinthaceae) aqueous extract on cultured HepG2 cells. J. Ethnopharmacol. 145:200–204
  41. Yasuda S, Nishida Y, Wada K, Akiyama D, Toyohisa D, Tanaka T, Igoshi K, Ono M. 2013. Anti-inflammatory and antioxidative effects of a methanol extract from bulbs of *Scilla scilloides*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 77:1569–1571

42. Shokeen P, Bala M, Tandon V. 2009. Evaluation of the activity of 16 medicinal plants against *Neisseria gonorrhoeae*. Int. J. Antimicrob. Agents. 33:86–91
43. Yeo E-J, Kim K-T, Han Y.S, Nah S-Y, Paik H-D. 2006. Antimicrobial, Anti-inflammatory, and Anti-oxidative Activities of *Scilla scilloides* (Lindl.) Druce Root Extract. Food Sci. Biotechnol. 15:639–642
44. Lee S-M, Chun H-K, Lee C-H, Min B-S, Lee E-S and Y.-H. Kho, Chem Y-H. 2002. Eucosterol oligoglycosides isolated from *Scilla scilloides* and their anti-tumor activity. Chem. Pharm. Bull. 50:1245–1249
45. Lee S-M, Lee H-J, Chun H-K, Lee C-H, Kang S-J, Maeng H-Y, Kho Y-H. 2001. Saengyak Hakhoechi, 32:189–192
46. Lee HB, Lee SM, KR Pat. 2010-35527, 2010
47. Jun HG, Ko YH, Lee CH, Lee HJ, Lee S.M. 2001. 2001-1197, 2001
48. Kurihara T, Ito H.1968. Annu. Rep. Tohoku Coll. Pharm. 39–47
49. Thatoi HN, Panda SK, Rath SK, Dutta SK. 2008. Antimicrobial Activity and Ethnomedicinal Uses of Some Medicinal Plants from Similipal Biosphere Reserve, Orissa. Asian J. Plant Sci. 7:260–267
50. Tripathi YB, Singh AV, Dubey GP. 2001. Antioxidant property of the bulb of *Scilla indica*. Current Science 80:1267–1269
51. Rangaswami S, Subramanian SS. 1955. Isolation of a crystalline glycoside from commercial indian squill. J. Sci. Ind. Res. 14B:131
52. Abegaz B.M. 2002. Novel phenylanthraquinones, isofuranonaphthoquinones, homoisoflavonoids, and biflavonoids from African plants in the genera *Bulbine*, *Scilla*, *Ledebouria*, and *Rhus*. Phytochem. Rev.1:299–310
53. Famuyiwa SO, Sichilongo KF, Yeboah SO, Abegaz BM. 2012. Homoisoflavonoids from the inter-bulb surfaces of *Scilla nervosa* subsp. *rigidifolia*. Phytochem. Lett. 5:591–595
54. Kato A, Kato N, Adachi I, Hollinshead J, Fleet GWJ, Kuriyama C, Ikeda K, Asano N, Nash RJ. Isolation of Glycosidase-Inhibiting Hyacinthacines and Related Alkaloids from *Scilla socialis*. J. Nat. Prod. 2007:70:993–997
55. Waller C. P. PhD Thesis, University of Surrey, Guildford,UK, 2012.
56. Kouno I, Noda N, Ida Y, Sholichin M, Miyahara K, Komori T and Kawasaki T. 1982. Liebigs Ann. Chem. 306–314
57. Sholichin M, Miyahara K, Kawasaki T. 1982. Spirocyclic nortriterpenes from bulbs of *Scilla scilloides* II. New spirocyclic furanoid nortriterpenes and related tetranortriterpene spirolactones. Heterocycles 17:251–257
58. Sholichin M, Miyahara K, Kawasaki, T. 1985. Oligoglycosides of spirocyclic nortriterpenoids related to eucosterol. Chem. Pharm. Bull. 33:1756–1759
59. Ono M, Toyohisa D, Morishita T, Horita H, Yasuda S, Nishida Y, Tanaka T, Okawa M, Kinjo J, Yoshimitsu H, Nohara T. 2011. Three new nortriterpene glycosides and two new triterpene glycosides from the bulbs of *Scilla scilloides*. Chem. Pharm. Bull. 59:1348–1354
60. Kouno I, Komori T and Kawasaki T. 1973. Zur struktur der neuen typen homo-isoflavanone aus bulben von *scilla scilloides* druce. Tetrahedron Lett. 14, 4569–4572
61. Nishida Y, Eto M, Miyashita H, Ikeda T, Yamaguchi K, Yoshimitsu H, Nohara T, Ono, M. 2008. A New Homostilbene and Two New Homoisoflavones from the Bulbs of *Scilla Scilloides*. Chem. Pharm. Bull. 56:1022–1025
62. Ono M. Takatsu T.Y, Ochiai T, Yasuda S, Nishida Y, Tanaka T, Okawa M, Kinjo J,

- Yoshimitsu H, Nohara, T. 2012. Two new nortriterpenoid glycosides and a new phenylpropanoid glycoside from the bulbs of *Scilla scilloides*. Chem. Pharm. Bull. 60:1314–1319
63. Rangaswami S, Subramanian SS, J. Sci. Ind. Res. 1956., 15C, 80–81.
64. Rao RV, Rangaswami S. 1967. Scillarenin bis-L-rhamnoside a new cardiac glycoside from *scilla indica* roxb. Tetrahedron Lett. 8:4563–4565
65. Jha S, Sen S. 1983. Quantiation of principal budienolides kin different cytotypes of *Urginea indica*. Planta Med. 47:43–45
66. Rangaswami S, Subramanian SS. Sci J. 1954. Ind. Res. 13B, 150.
67. Jha S, Sen S. 1981. Bufadienolides in chromosomal races of Indian squill. Phytochemistry 20:524–526
68. Kopp B, Danner M. 1983. Sci. Pharm. 51:227–237
69. Jha S, Sen S. 1980. Sterol content in roots of diploid and tetraploid *Urginea indica* Kunth. Indian J. Exp. Biol. 18:291–292
70. Jha S, Sen S. 1981. Sterols in different cytological races of *Urginea indica*. Phytochemistry 20:1442–1443
71. Bangani V, Crouch N.R and Mulholland D.A. 1999. Homoisoflavanones and stilbenoids from *Scilla nervosa*. Phytochemistry 51:947–951
72. Silayo A, Ngadjui B.T and Abegaz B.M. 1999. Homoisoflavonoids and stilbenes from the bulbs of *Scilla nervosa* subsp. *rigidifolia*. Phytochemistry 52:947–955



**Chapitre**

**Étude**

**Phytochimique et  
Biologique**

## II.1. Les critères de choix de l'espèce étudiée

Les critères de choix de l'espèce, reposent essentiellement sur le fait que :

- ☐ C'est une espèce appartenant au genre *Scilla* (Asparagaceae), très connu pour son utilisation comme remède populaire en particulier les affections gastro-intestinales qui comprennent les maux d'estomac, la constipation, les vers intestinaux, la diarrhée, la dysenterie, les nausées, l'indigestion, la réduction de l'inflammation ainsi que analgésique [1], notant aussi que plusieurs études biologiques ont montrés des très bonnes résultats sur les activités cytotoxique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antioxydante et inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase [2].
- ☐ Les espèces de ce genre ont réputées par leur accumulation des métabolites secondaires de type homoisoflavonoïdes, triterpénoïdes, cardiaque glycosides et alcaloïdes [3-6].
- ☐ L'endémisme de *Scilla lingulata* pour l'Algérie et l'absence d'études phytochimique ou biologique sur cette espèce.

## II.2. Place dans la systématique botanique

Ce classement se réfère à la classification botanique [7] (Tableau II.1) :

**Tableau II.1:** classification botanique des espèces étudiées

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Viridaeplantae
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Liliopsida
<b>Sous-classe</b>	Liliidées
<b>Ordre</b>	Liliales
<b>famille</b>	Liliacées
<b>Genre</b>	<i>Scilla</i>
<b>L'espèce</b>	<i>Scilla lingulata</i>

## II.3. Description botanique de l'espèce étudiée

Toutes les parties de *S. lingulata* (racine, bulbe, tige, feuille et fleur) ont été récoltés durant la période Décembre 2016-Février 2017 dans la Wilaya d'Constantine, les environs d'El Khroube selon les coordonnées suivants : **36° 20' 24.94'' N** et **06° 41' 52.62'' E** avec une altitude de 694 m. La détermination botanique de cette espèce a été



Figure II.1 : *Scilla lingulata*

réalisée par monsieur le Dr. Sarri Djamel, du département de biologie, Université de M'Sila.

## **II.4. Matériels et méthodes utilisés pour l'étude phytochimique**

### **➤ Matériels de laboratoire**

Erlenmeyer (1 L, 500 ml et 100 ml), poire, papier filtre, entonnoir, montage de soxhlet, évaporateur rotatif, pipette pasteur, bucher, tubes à essayés, ballon de 1 l, ultrason, micropipette, boîtes pétris, Montage de soxhlet, évaporateur rotatif.

### **➤ Solvants et Réactifs chimiques**

Acétone  $C_3H_6O$ , chloroforme  $CHCl_3$ , éthanol  $C_2H_5OH$ , eau distillé  $H_2O$ , méthanol  $CH_3OH$ , isopropanol  $C_3H_7OH$ , acide sulfurique  $H_2SO_4$ , réactif de Dragen Dorff, chlorure de calcium  $CaCl_2$ , chlorure ferrique  $FeCl_3$ , L'acide chlorhydrique  $HCl$ , coupeaux de magnésium, Folin ciocalteau.

### **➤ Chromatographie analytique sur couche mince (CCM)**

L'analyse des extraits ont été faites sur plaques CCM avec la silice comme phase stationnaire, le type de plaques est 60 GF<sub>254</sub>**Merck**, 0.1 mm sur support d'aluminium (20 × 20 cm).

### **➤ Révélateur**

La révélation a été réalisée avec l'anisaldéhyde préparée comme suit :

En mélanger 0.5 ml d'anisaldéhyde (4-méthoxybenzaldéhyde) avec 10 ml d'acide acétique glacial. On ajoute 85 ml de méthanol et on termine par 5 ml d'acide sulfurique concentré. La solution ainsi obtenue est homogénéisée et gardée à 04 °C pendant toute la durée d'utilisation. On pulvérise le chromatogramme puis on chauffe à 100 °C pendant 10 minutes. Ce dernier peut être examiné à la lumière UV (365 nm).

### **➤ UV**

Les spectres UV-visibles ont été enregistrés sur un appareil Thermo Nicolet evolution I 300.

### **➤ HPLC**

Un précipité de l'extrait obtenu par soxhlet a été étudié en utilisant une HPLC SHIMADZU avec une colonne VP-ODS-C-18 (250 mm × 4.6 mm de diamètre, 5 µm), le solvant est d'acétonitrile-eau ( $CH_3CN/H_2O$  50/50), DAD 200-350, canal : 204, 220, 254, 280 nm avec un débit de 1 ml/min.

### **➤ RMN**

Les spectres ont été enregistrés sur un appareil à transformée de Fourier Brüker avance DP 400 (400 MHz pour le  $^1H$ , 100 MHz pour le  $^{13}C$ ) de l'université de Trento-Italie.

Les positions des pics (déplacement chimique) sont données en échelle  $\delta$  et exprimées en partie par millions (ppm), le TMS est utilisé comme référence interne ( $\delta=0$ ) dans la plupart des cas. Les spectres sont enregistrés dans l'eau deutéré D<sub>2</sub>O, et l'acétone deutéré. Les constantes de couplage ( $J$ ) sont exprimées en Hertz (Hz).

## II.5. Étude phytochimique de *Scilla lingulata*

### II.5.1. L'extraction

#### a) Extraction par macération

Nous avons macéré 90 g de la plante étudiée en utilisant 1 L d'une solution hydroalcoolique (EtOH/H<sub>2</sub>O : 70/30) pendant 72 heures à une température ambiante, ensuite on a filtré la solution hydroalcoolique pour obtenir le filtrat, ce dernier a été vaporisé en utilisant l'évaporateur rotatif, à une température de 38°C, afin d'obtenir l'extrait brut (5.7717 g).

Après l'étape de filtration, nous avons remarqué la présence d'un précipité dans le filtrat. La filtration de ce dernier a mène l'obtention de 102 mg de ce précipité.

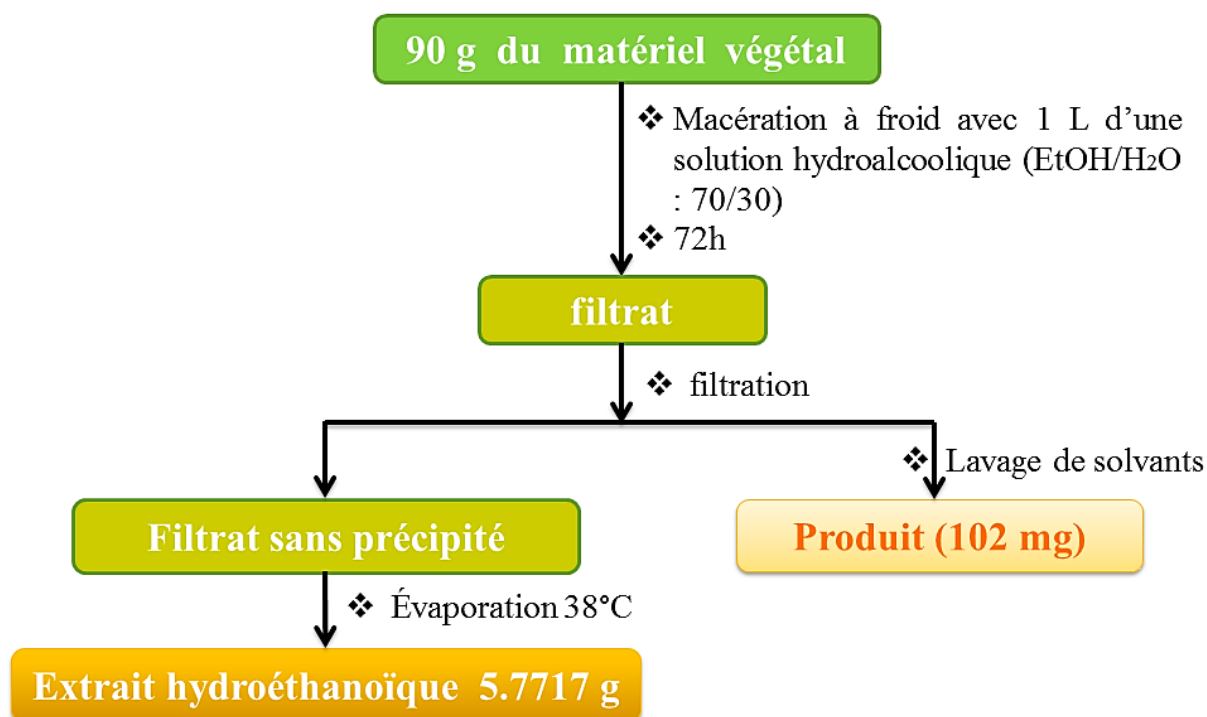


Figure II.2 : protocole d'extraction par macération

#### b) Extraction par soxhlet

21 g de la plante a été préparée dans 2 cartouches de soxhlet. L'extraction a été réalisée en utilisant un montage de soxhlet (figure II.4) avec un ballon de 1 L qui contient 500 ml d'éthanol dans un chauffe ballon réglé à 38°C. L'opération d'extraction a duré 3 jours (6 heures chaque

jour) pour arriver à l'épuisement de la matière végétale. La solution obtenue a été vaporisée en utilisant l'évaporateur rotatif à 38°C pour obtenir l'extrait éthanoïque (5.9221 g).

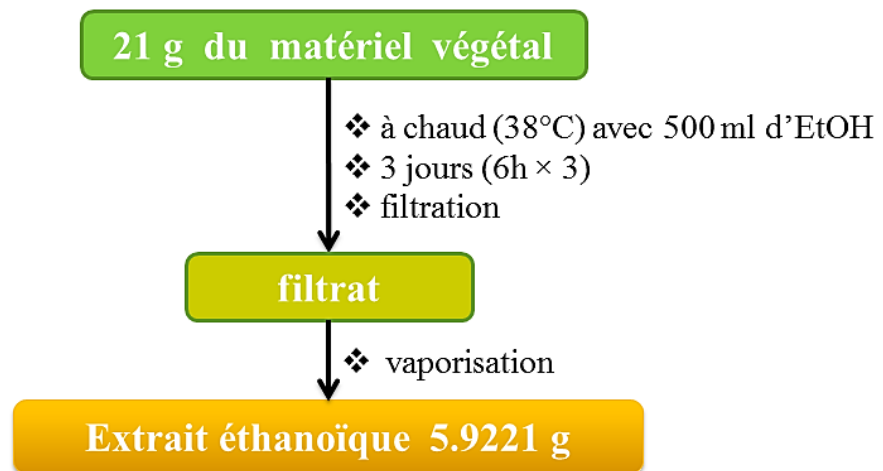


Figure II.3 : le protocole d'extraction par soxhlet



Figure II.4 : montage d'extraction par soxhlet

### **II.5.2. Screening phytochimique**

Cette étude permet la détection des métabolites secondaires présents dans la plante étudiée tel que les alcaloïdes, les polyphénols, les flavonoïdes ainsi que les terpénoïdes.

**Caractérisation** : La présence de ces derniers est attestée soit par la formation d'un précipité, soit par le changement de couleur de la solution.

#### **a) Les alcaloïdes :**

- Introduit 1 ml d'extrait dans un tube à essai
- Ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique dilué 10% et laisser le pour une durée de 24 heures
- Ajouter 3 gouttes du réactif de Dragen Dorff

#### **b) Les saponines :**

- Introduit 5 ml d'extrait dans un tube à essai puis agiter le pendant 5 minutes

#### **c) Les tanins :**

##### **✓ Tanins catéchiques :**

- 2 ml d'extrait est mis en tube à essai dans lequel on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique à 1%

##### **✓ Tanins galliques :**

- 2 ml d'extrait est mis en tube à essai, saturé en acétate de sodium puis rajouter quelques gouttes de chlorure ferrique à 1%.

#### **d) Les flavonoïdes :**

- 2 ml d'extrait est mis en tube à essai. Ajouter 5 ml de HCl concentré et des copeaux de magnésium.

### **II.5.3. Dosage des polyphénols**

Le dosage des polyphénols se fait avec le réactive de Folin ciocalteau qui, en milieu alcalin, se réduit en oxyde de tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue en présence de polyphénols.

#### **✓ Protocole expérimental**

- une prise de 125 µl de l'extrait dilué (selon le solvant et l'organe) est mélangé avec 500 µl d'eau distillée et 125 µl de réactive de Folin ciocalteau
- Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 minutes, une prise de 125 µl de  $(\text{Na})_2\text{CO}_3$  à 7 % est additionnée
- Le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml

- Après un repos de 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm.
- La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variables de 50, 100, 200, 300, 400, 500 mg/l

## II.6. Étude biologique

### II.6.1. Activité antibactérienne

Ce test est réalisé au niveau du Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (*LaMyBAM*), Université des Frères Mentouri-Constantine, sur les deux extraits (hydroalcoolique et éthanolique) de *S. lingulata*.

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion des disques [8].

#### II.6.1.1. Souches bactériennes

Le test antibactérien est effectué en utilisant trois bactéries de type Gram - fournies par *LaMyBAM*, il s'agit d'*Escherichia coli*, *Staphylocoque sp.* et *Pseudomonas sp.*

#### II.6.1.2. Milieu de culture

Deux milieux de cultures, destinés au développement bactérien, sont utilisés pour la réalisation des tests antibactériens, il s'agit de la Gélose Nutritive et de la gélose Mueller Hinton, leurs compositions en gramme par litre sont la suivante :

- Gélose nutritive (G.N : peptone 10 g, extrait de viande 5 g, chlorure de sodium 5 g, gélose 15 g, l'eau distillé 1 L)



Figure II.5: le milieu culturel G.N

#### II.6.1.3. Méthode de diffusion en milieu gélose

##### ✓ Principe

##### Préparation de l'inoculum bactérien

Chaque souche a été ensemencée en stries sur une gélose non inhibitrice (gélose nutritive et gélose Mueller Hinton) pour obtenir des colonies isolées. Après incubation de 24 heures à 37°C pour *Escherichia coli*, *Staphylocoque sp.* et 30 °C pour *Pseudomonas sp.*, 4 à 5 colonies bien isolées sont transférées à l'aide d'une anse de platine dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, cette préparation est bien homogénéisée en utilisant un vortex.



**Figure II.6:** Les trois souches bactériennes utilisées

### Ensemencement et incubation

Un volume de 0.1 ml est prélevé à partir de la solution bactérienne précédente et est déposé sur la surface des boîtes de Pétri contenant de la Gélose Nutritive. Un étalement de ce volume est effectué à l'aide d'un étaleur stérile à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dont le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. Les préparations sont incubées à 37°C pour *Escherichia coli* et *Staphylocoque* et à 30 °C pour *Pseudomonas sp.* Pendant 24 à 48 heures.



**Figure II.7 :** Boîte de pétrie contenant la Gélose Nutritive

### **Préparation des disques**

Les disques sont préparés à partir de papier d'wattman avec un diamètre de 6 mm. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave (Annexe 04) et conservés jusqu'à l'utilisation.



**Figure II.8 :** les disques préparés

### **Expression des résultats**

L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant, à l'aide d'une règle, le diamètre de la zone d'inhibition des différents extraits autour des puits.

## **II.6.2. Activité antifongique**

Ce test est effectué au sein du Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (*LaMyBAM*), Université des Frères Mentouri, Constantine. L'activité antifongique des extraits a été déterminée selon les méthodes de diffusion en milieu gélosé [9].

### **II.6.2.1. Milieux de culture**

Le milieu de culture utilisé dans le présent travail est favorable pour le développement de la souche fongique utilisée, il s'agit de milieu suivant :

- Potato Dextrose Agar (**PDA** : D-glucose 20 g, l'extrait de pomme de terre 200 g, gélose 20 g, eau distillé 1 L)

### **II.6.2.2. Méthode de diffusion en milieu gélose**

#### **✓ Principe**

Le test antifongique réalisé par la méthode de confrontation à distance, vis-à-vis d'*Fusarium oxysporum* est effectué selon le principe suivant :

Après avoir coulé la gélose PDA sur les boîtes de Pétri, un puits est formé sur la gélose à droite de la boîte de Pétri. Ensuite, un disque gélosé contenant la souche d'*Fusarium oxysporum* pure

et âgée de 6 jours, est placé à côté du puits précédant séparé d'une distance d'environ 3 cm. La présence de l'activité antifongique, se manifeste par l'inhibition de la croissance de la moisissure en développant une zone de lyse par le solvant testé qui va diffuser sur la gélose. Les préparations sont incubées à 30°C pendant 5 à 6 jours.

#### ✓ Expression des résultats

L'activité antifongique a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition développée sur la gélose.

### **II.6.3. Activité hémostatique**

Ce test a été effectué *in vitro* sur le plasma sanguin provenant d'une personne saine adulte femelle (25 ans) avec les deux extraits obtenus par macération (SLm) et soxhlet (SLs). Le principe de ce test consiste à mesurer le temps de coagulation d'un plasma décalcifié après recalcification [9]. Pour cela, Le sang est recueilli sur citrate de sodium chez des sujets sains. Le plasma est obtenu à partir du sang centrifugé à 3600 tours par minute, pendant 10 minutes. Ensuite, À l'aide d'une micropipette des volumes de 10 µl à 500 µl, nous avons reparti à raison de 10µl, 50 µl, 100 µl, et 200 µl des extraits SLm et SLs (100 mg/1 ml) dans des tubes à essai pour chaque volume. Un autre tube à essai vide a servi de témoin n'a reçu aucune dose de l'extrait. Les tubes sont maintenus au bain marie à 37° C. Nous ajoutons dans chaque tube 200 µl de plasma et 200 µl de chlorure de calcium (CaCl<sub>2</sub>) à 0,025M.

Le chronomètre a été déclenché dès la pénétration du plasma dans le tube. Les observations ont commencées dès toutes les 30 secondes au début, puis fréquemment par la suite, jusqu'à ce que l'on observe la prise en masse du caillot, en notant le temps de coagulation pour les 2 tubes de chaque dose. L'évaluation de la coagulation a été faite en penchant le tube sous un angle de 45° afin de constater la présence ou non d'un coagula. Le test est positif si le temps de coagulation d'un sang contenant un extrait est inférieur à celui du sang témoin.

## Références

1. Hutchings A. 1989. A survey and analysis of traditional medicinal plants as used by the Zulu, Xhosa and Sotho. *Bothalia* 19: 111–123
2. Dulcie A, Mulholland, Sianne L, Schwikkard, Neil R, Crouch. 2013. The chemistry and biological activity of the Hyacinthaceae. *Nat. Prod. Rep.* 30:1165-1210
3. Nishida Y, Eto M, Miyashita H, Ikeda T, Yamaguchi K, Yoshimitsu H, Nohara T, Ono M. 2008. A new homostilbene and two new homoisoflavones from the bulbs of *Scilla scilloides*. *Chem Pharm Bull.* 56:1022–1025.
4. Kato A, Kato N, Adachi I, Hollinshead J, Fleet GW, Kuriyama C, Ikeda K, Asano N, Nash RJ. 2007. Isolation of glycosidase-inhibiting hyacinthacines and related alkaloids from *Scilla socialis*. *J Nat Prod.* 70:993–997.
5. Kamano Y, Pettit GR. 1974. Bufadienolides. 26. Synthesis of scillarenin. *J Org Chem.* 39:2629–2631.
6. Hafez Ghoran S, Saeidnia S, Babaei E, Kiuchi F, Dusek M, Eigner V, Dehno Khalaji A, Soltani A, Ebrahimi P, Mighani H. 2014. Biochemical and biophysical properties of a novel homoisoflavonoid extracted from *Scilla persica* HAUSSKN. *Bioorg Chem.* 57:51–56.
7. Cronquist A. *The Evolution and Classification of Flowering Plants* (1968, 1988).
8. Cheriet T, Youcef-Ali M, Mancini I, Chalard P, Kacem Chaouche N, Seghiri R, Benayache S, Benayache F. 2015. Chemical constituents and antimicrobial activities of Petroleum ether and *n*-butanol extracts from *Linaria tingitana* Boiss. & Reut. *J. Mater. Environ. Sci.* 6:1411-1416
9. Perez C, Paul M, Bazerque P. 1990. An antibiotic assay by agar-well diffusion method. *Acta. Biol. Med. Exp.* 15:113–115
10. Brummel KE, Paradis SG, Butenas S, Mann KG. 2002. Thrombin functions during tissue factor-induced blood coagulation. *Blood* 100:148-152



**Chapitre**

**Résultats**

**et discussion**

### III.1. Calcul de rendement

✚ Le rendement (R) des extraits a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = 100 \times M_{\text{ext}}/M_{\text{éch.}}$$

Où  $M_{\text{ext}}$  : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g

$M_{\text{éch}}$  : la masse sèche de la plante en g

Le rendement des techniques utilisées pour l'extraction est comme suit :

✚ Extraction par macération :

Nous avons obtenu 5.7717 g d'extrait hydroéthanoïque dont le rendement est calculé comme suit :

$$R\% = (5.7717 \times 100) / 90 = \mathbf{6.413 \%}$$

✚ Extraction par Soxhlet :

Nous avons obtenu 5.9221 g d'extrait éthanoïque, donc le rendement sera :

$$R\% = (5.9221 \times 100) / 21 = \mathbf{28.20 \%}$$

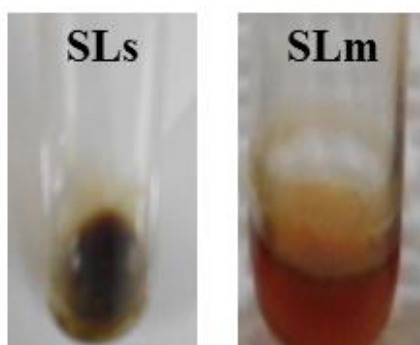
La première observation est celle de la différence entre le rendement obtenu par chaque technique d'extraction, nous avons remarqué que le rendement de l'extrait obtenu par soxhlet (SLs) est supérieure 4 fois de celle de l'extrait obtenu par macération (SLm) malgré que la quantité de la matière végétale utilisée pour la macération (90 g) est supérieure presque 4 fois que celle utilisée pour soxhlet (21 g). Ces résultats confirment l'importance de la technique d'extraction par soxhlet mais la question qui se pose, est-ce que la technique d'extraction a une importance dans la composition chimique de la plante étudiée ?

La réponse de cette question est dans les parties suivantes où on va investiguer la composition chimique de chaque extrait obtenu.

### III.2. Résultats de screening phytochimique

Le screening phytochimique de la plante étudiée a permis, qualitativement, la mise en évidence les différentes classes des métabolites secondaires présents dans les deux extraits obtenus par macération (hydroéthanoïque : **SLm**) et soxhlet (éthanoïque : **SLs**) dont les résultats sont :

### III.2.1. Test des flavonoïdes

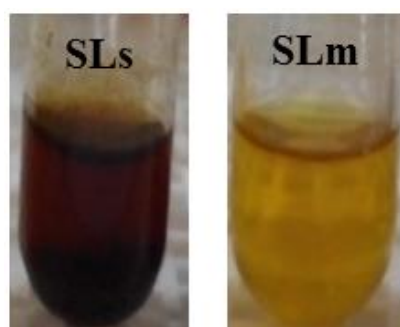


**Figure III.1 :** test de recherche des flavonoïdes dans l'extrait de *S. lingulata*

- ✚ **Résultat :** D'après la figure III.1, un changement de couleur pour l'extrait SLm indique la présence des flavonoïdes

L'extrait de *S. lingulata* obtenu par macération (SLm) contient des flavonoïdes contrairement à celui obtenu par Soxhlet (SLs), ce qui signifie la présence des flavonoïdes très polaires (polyglucosides) dans cette plante et c'est à cause du solvant utilisé dans la macération (30 % d'eau). Le solvant utilisé pour le Soxhlet est l'éthanol pur et pour cela on n'a pas trouvé les flavonoïdes polyglycosylés de cet extrait [1].

### III.2.2. Test des alcaloïdes

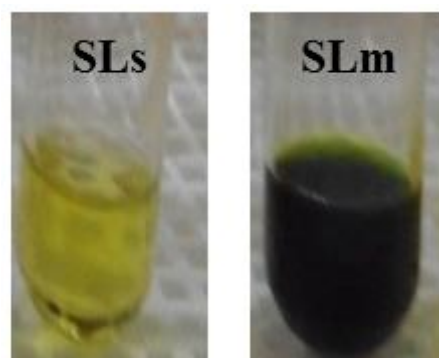


**Figure III.2 :** test de recherche des alcaloïdes dans l'extrait de *S. lingulata*

- ✚ **Résultat :** D'après la figure III.2, un changement de couleur et la présence d'un précipité indiquent la présence des alcaloïdes dans les deux extraits.

Les deux extraits de *S. lingulata* contiennent des alcaloïdes. Nos résultats sont en accord avec la littérature [2].

### III.2.3. Test des saponines

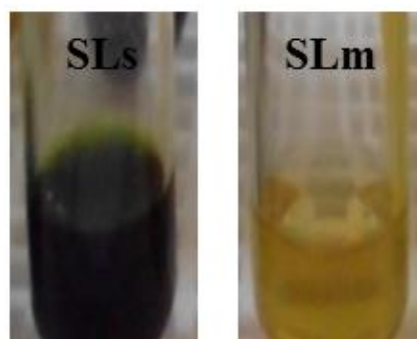


**Figure III.3 :** test de recherche des saponines pour *Scilla lingulata*.

- ✚ **Résultat :** D'après la figure III.3, l'absence d'une mousse indique l'absence des saponines dans nos extraits.

On remarque l'absence des saponines pour les deux extraits de *S. lingulata*. Cette information est confirmée par la littérature qui indique que seulement les bulbes de *S. natalensis* sont connus pour la présence des saponines détectés par screening [3].

### III.2.4. Test des tanins



**Figure III.4:** test de screening des tanins pour *S. lingulata*

- ✚ **L'observation :** D'après la figure III.4, on remarque un changement de couleur indique la présence des tanins (catéchiques et galliques) dans les extraits.

On remarque la présence des tanins gallique dans l'extrait de macération (SLm) contrairement à celle de Soxhlet (SLs) ce qui indique la présence des composés de type tanins très polaires (polyhydroxylé ou polyglycosylés). La présence de cette classe est nouvelle pour le genre *Scilla* [4].

### Discussion des résultats :

Le tableau suivant rassemble les résultats précédents de screening phytochimique réalisées .

**Tableau III.1 :** : résultats des réactions de caractérisation de différents classes de métabolites secondaires

	SLm	SLs
Tanins galliques	+++	-
Tanins catéchiques	-	-
Alcaloïdes	+	++
Saponines	-	-
Flavonoïdes	+++	-

(-) : test négatif ; (+) : test légèrement positif ; (++) : test positif (+++): test fortement positif

les résultats expérimentaux de screening réalisée sur, montre que :

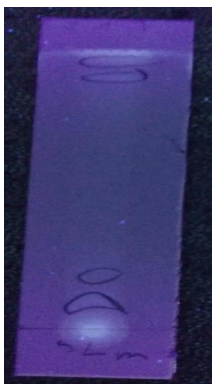







- ✓ L'extrait **SLm** contient fortemet les tanins galliques et les flavonoïdes, légèrement les alcaloïdes.
- ✓ L'extrait **SLs** contient seulement les alcaloïdes.
- ✓ Une bsence totales a été remarqué pour les tanins catéchiques et les saponines dans les deux extraits investigués.

Ces résultats nous offre une réponse net et claire sur la question déjà posé dans la partie **III.1** concernant le role de la technique d'extraction sur la composition chimique. Nos résultats montrent que y'a pas une similarité dans la composition chimique (seulement pour les alcaloïdes) pour les extraits obtenus par macération (SLm) et soxhlet (SLs) ce qui indique l'importance de la technique d'extraction pour le rendement et le solvant pour la composition chimique.

### III.3. Les plaques CCM

Le suivi des extraits par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant différents systèmes a montré plusieurs tâches de nombres, de couleurs et de distances d'migrations différents pour chaque extrait. Après plusieurs essais, les meilleurs systèmes qui nous a montrent la meilleure séparation des tâches sont présenter dans le tableau suivant :

Tableau III.2 : résultats des tests CCM

Plant	Système	UV (360nm)	Après révélation	
<i>S. linguata</i>	SLm	Isopropanol/CH <sub>3</sub> Cl/MeOH (2/7/1)		
		CH <sub>3</sub> Cl/MeOH (8/2)		
	SLs	Isopropanol/CH <sub>3</sub> Cl/MeOH (2/7/1)		
		CH <sub>3</sub> Cl/MeOH (9/1)		

**Discussion :**

L'interprétation probable des couleurs sous UV des composés naturels [5] :

- **Rouge** : Anthocyanidine-3-glucoside
- **Rose** : Anthocyanidine-3,5-diglucoside
- **Orange** : Anthocyanidine-3-glucoside
- **Orange pale** : Anthocyanidine-3-glucoside
- **Jaune** : Flavonols
- **Jaune pale** : Flavonols
- **Vert** : Rutine
- **Bleu sombre** : Flavonols, flavonones, aurones
- **Bleu vif** : Hydroquinones
- **Bleu pale** : Acide phénolique
- **Bleu blanc fluo** : Acide phénolique
- **Mauve** : Flavonols, flavonones, isoflavonones, flavones
- **Violet** : Flavonols, flavonones, isoflavonones, flavone
- **Pourpre sombre** : chalcones

Après comparaison avec la littérature, nous avons révélé la probabilité de présence de plusieurs métabolites secondaires qui sont résumés dans le tableau suivants :

**Tableau III.3 :** les produits probables selon les fluorescences des plaques CCM

Plante		Couleur	L'interprétation
<i>S. lingulata</i>	SLm	Violet	Flavonols, flavonones, isoflavonones, flavones
		Jaune	Flavonols
		Vert	Rutine
		Rose	Anthocyanidine-3,5-diglucoside
	SLs	Rouge	Anthocyanidine-3-glucoside
		Pourpre sombre	chalcones
		Bleu vif	Hydroquinones
		Violet	Flavonols, flavonones, isoflavonones, flavones
		Jaune	Flavonols

Ces résultats confirment ce qu'on a trouvé comme résultats de screening avec la présence de flavonoïdes polyglycosylé dans l'extrait SLm (rutine et anthocyanidine-3,5-diglucoside). La présence de différents types des flavonoïdes dans l'extrait SLs prouve que cet extrait contient une grande variété de flavonoïdes moyennement ou assez polaire par rapport à la composition de SLm.

Comme la majorité des composants révélés sont des dérivés polyphénoliques, nous investiguer le dosage des polyphénols pour confirmer nos résultats.

### III.4. Dosage des polyphénols

Nous avons tracé la courbe d'étalonnage en utilisant les valeurs des absorbances enregistrées pour les différentes concentrations de l'acide gallique.

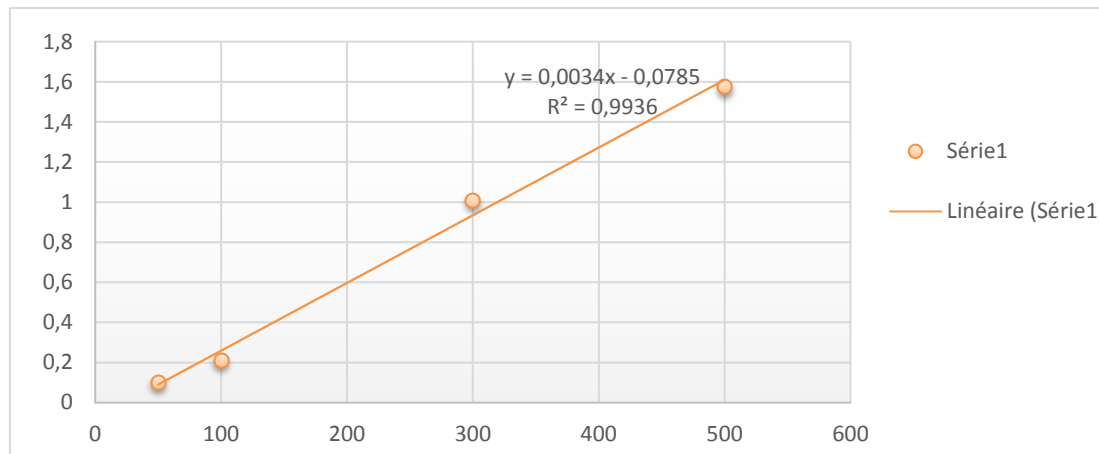


Figure III.5 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

#### ✚ Résultats de l'étude :

La teneur en polyphénol totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait.

Les résultats sont représentés dans le **tableau III.4** et l'histogramme dans la 6<sup>ème</sup> figure

Tableau III.4 : quantité de polyphénol totaux dans les extraits étudiés

Extrait	SL	
	SLm	SLs
Résultat	49.2666667	56.7777778

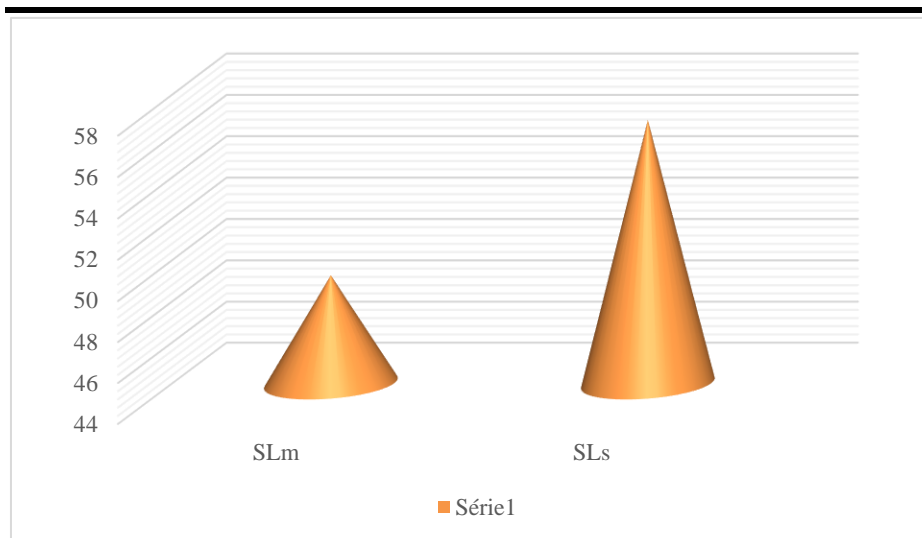


Figure III.6: histogramme représentatif de teneur des polyphénols d'extrait de plante étudiée

### Discussion des résultats :

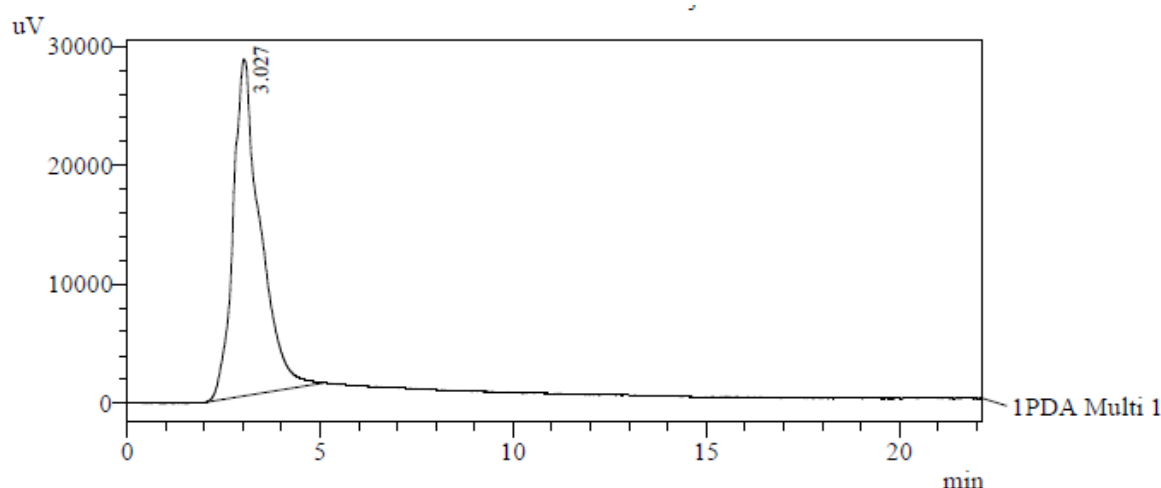
D'après les résultats obtenus on note que :

Nos résultats de screening montrent l'absence des flavonoïdes et des tanins ce qui suggère la présence d'autre type des polyphénols non investigués dans la partie de screening tel que les acides phénoliques, les chacones, les anthocyanes ainsi que les homoisoflavonoïdes qui sont les marqueurs chimiotaxonomique du genre *Scilla*.

Pour les extraits de *S. lingulata*, on a observé que celle obtenu par Soxhlet (SLs) et plus riche on polyphénols que celle obtenu par macération (SLm). Ce résultat est complètement le contraire de celle trouvé dans la phase de screening ce qui suggère la présence d'autres classes des polyphénols dans la plante.

### III.5. Profile HPLC et Spectre RMN <sup>1</sup>H du précipité

Le profile HPLC (**figure III.7**) montre la présence d'un pic large ce qui suggère l'impureté de ce précipité.



**Figure III.7 :** Profile HPLC du produit séparé de l'extrait SLm

La polarité de ce composé (soluble uniquement dans l'eau) a mis des obstacles pour le purifier à cause de manque de matériels. Cette information a été confirmé par le spectre RMN <sup>1</sup>H (**figure III.8**) enregistré dans le D<sub>2</sub>O.

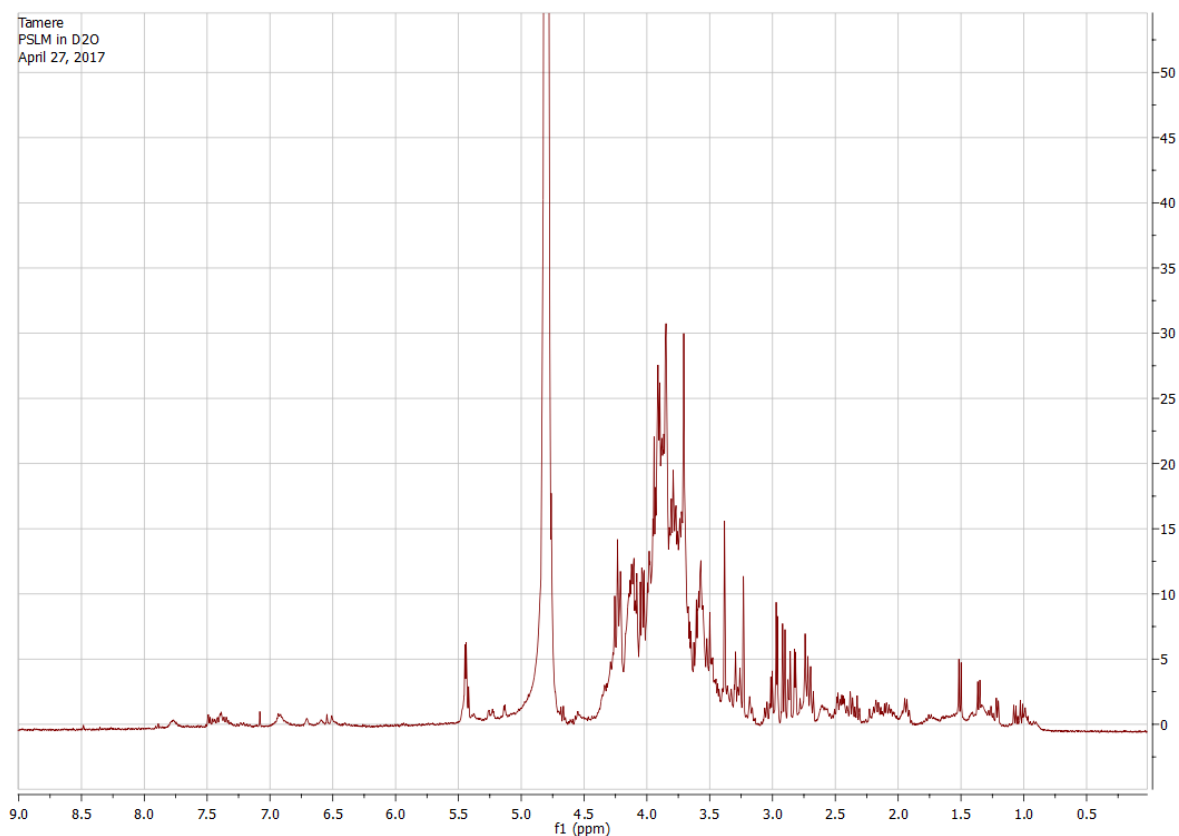


Figure III.8 : spectre RMN <sup>1</sup>H du précipité (D<sub>2</sub>O, 400 MHz)

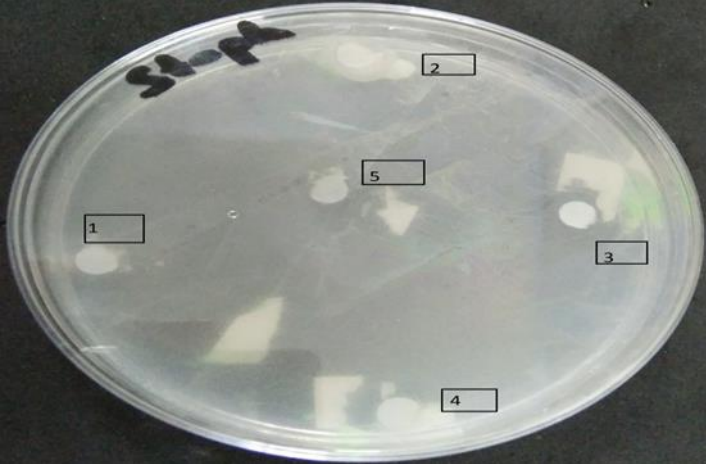
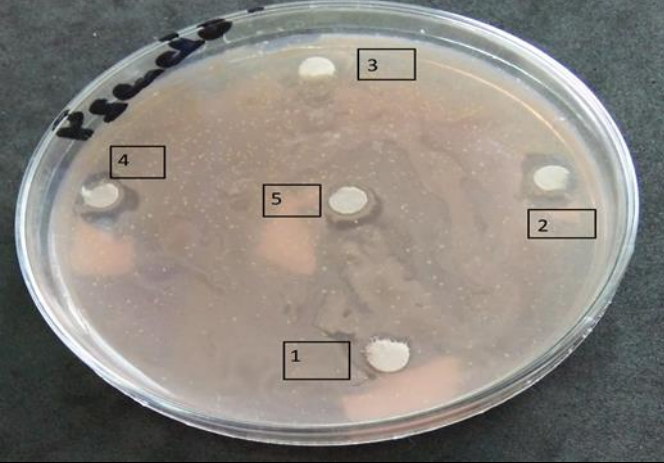
### III.6. Activité biologique

#### III.6.1. Activité antibactérienne

Après incubation de 24 h puis 48 h à 37C°, on a récupéré les boîtes de pétries et on a remarqué les résultats qui sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau III.5 : résultat de l'activité antibactérienne

Souche	<i>Escherichia coli</i>	
	<b>SLm</b>	<b>SLs</b>
Diamètre	07.00 mm	11.0 mm

Souche	<i>Staphylocoque</i>	
		
	<b>SLm</b>	<b>SLs</b>
Diamètre	13.00 mm	varié
Souche	<i>Pseudomonas</i>	
		
	<b>SLm</b>	<b>SLs</b>
Diamètre	00.00 mm	11.5 mm

1 et 2 sont les zones d'inhibition correspondant aux extraits étudiés

### Discussion des résultats :

**-E. coli :** la bonne réponse des deux extraits est attribuable à la présence des composants connus en tant que des agents antibactériens tel que les alcaloïdes [6] et les flavonoïdes [7], ainsi que quelques espèces du genre *Scilla* sont connu pour inhibé l'*E. coli* [8, 9].

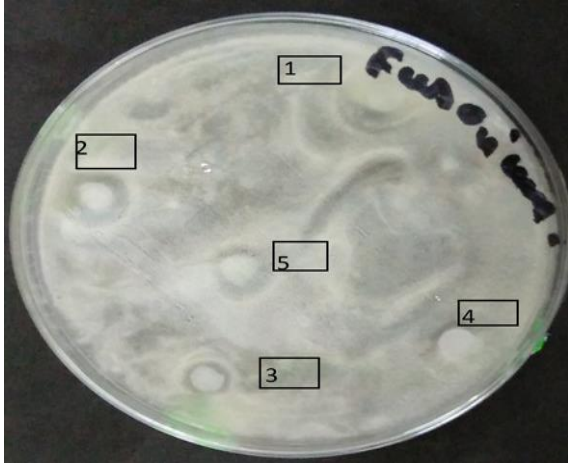
**-Staphylocoque :** l'extrait SLM a montré une moyenne réponse [8]

**-Pseudomonas :** une bonne réponse a été observé pour l'extrait SLs contrairement au SLM [10, 11].

### III.6.2 activité antifongique

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau III.6 :** résultat d'activité antifongique

Souche	<i>Fusarium oxysporum</i>	
		
	<b>SLm</b>	<b>SLs</b>
Diamètre	00.0 mm	14.5 mm

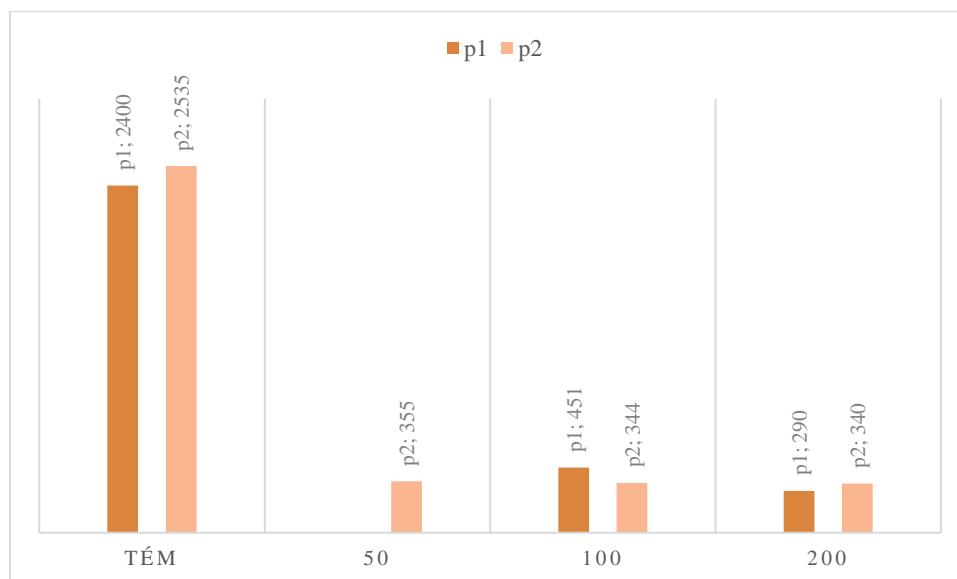
L'extrait SLs a montré une bonne réponse contre *F. oxysporum* avec une zone d'inhibition de 14 mm, par contre l'extrait SLm n'a aucun effet contre cette moisissure. Le screening phytochimique révèle que l'extrait SLs contient beaucoup plus des alcaloïdes qui sont connus entant que des antifongiques [12].

### III.6.3. Activité hémostatique

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau et la figure suivants :

**Tableau III.7:** résultat d'activité hémostatique

	Macération (SLm)				Soxhlet (SLs)			
Concentration	50	100	200	témoin	50	100	200	témoin
Temps de coagulation	-	7 :31 (451 s)	4 :50 (290 s)	43 :13 (2400 s)	5 :55 (355 s)	5 :44 (344 s)	5 :40 (340 s)	42 :15 (2535 s)



**Figure III.9:** La diminution du temps de recalcification avec la croissance de dose des extraits des plantes étudiées. P1 : SLm, P2 : SLs

**Tableau III.8 :** le calcul de R<sup>2</sup>

	Macération (SLm)	Soxhlet (SLs)
R <sup>2</sup>	0.913	0.605

**Discussion des résultats :**

Aux doses de 100 à 200 µl successivement, les extraits SLm et SLs provoquent une diminution du temps de coagulation de plasma en tube. C’est une diminution dose dépendante des deux extraits, donc ils sont caractérisés par une activité hémostatique et astringente. Aucun effet a été observé pour la dose de 10µl des deux extraits. La dose 50 µl a montré une réponse de l’extrait SLs avec un temps de coagulation de 355 s par contre aucune réponse a été observée pour SLm. Les résultats obtenus montrent que l’extrait SLs a un effet stable à partir de la dose 50 µl, par contre la meilleure réponse a été enregistrée pour l’extrait SLm pour la dose 200 µl avec un temps de 4 :50 min (290 s). Il semble que ces résultats sont en parallèle avec la littérature du genre *Scilla* [13]. Il est important de savoir que l’activité astringente favorise la vasoconstriction qui est un paramètre important dans l’hémostase et qu’il est due à la présence de tanins dans la plante étudiée. Ces résultats ont été confirmés par Dandjesso et al. [14]. Des études a prouvés que les tanins ont un effet hémostatique et vasoconstricteur sur les petits vaisseaux sanguins, ainsi que leurs utilisations contre les varices et les hémorroïdes [15].

## Références

1. Nishida Y, Eto M, Miyashita H, Ikeda T, Yamaguchi K, Yoshimitsu H, Nohara T, Ono, M. 2008. A New Homostilbene and Two New Homoisoflavones from the Bulbs of *Scilla Scilloides*. Chem. Pharm. Bull. 56:1022–1025
2. Kato A, Kato N, Adachi I, Hollinshead J, Fleet GWJ, Kuriyama C, Ikeda K, Asano N, Nash RJ. 2007. Isolation of Glycosidase-Inhibiting Hyacinthacines and Related Alkaloids from *Scilla socialis*. J. Nat. Prod. 70:993–997
3. Sparg SG, van Staden J, Jäger AK. 2002. Pharmacological and phytochemical screening of two Hyacinthaceae species: *Scilla natalensis* and *Ledebouria ovatifolia*. J Ethnopharmacol. 80:95-101
4. Ghurde MU, Malode SN. 2014. Phytochemical screening and assesment biomolecules compounds in *Scilla hyacinthina* (Roth) Macbre. Bulb. J. Glob. Biosci. 3:866–871
5. Markham KR. 1982. Techniques of Flavonoid Identification. Academic Press, pp. 113
6. Dusane DH, Hosseinidoust Z, Asadishad B, Tufenkji N. 2014. Alkaloids Modulate Motility, Biofilm Formation and Antibiotic Susceptibility of Uropathogenic *Escherichia coli*. PLoS One. 9:e112093
7. Dubreuil DJ. 2013. Antibacterial and Antidiarrheal Activities of Plant Products against Enterotoxinogenic *Escherichia coli*. Toxins (Basel)., 5:2009–2041
8. Ghoran SH, Ebrahimi P, Mighani H. 2012. Study of the effect of ethyl acetate and chloroform extracts of *Scilla persica* HAUSSKN against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Res. Pharm. Sci. 7:S854
9. Yeo E-J, Kim K-T, Han YS, Nah S-Y, Paik H-D. 2006. Antimicrobial, antiinflammatory, and anti-oxidative activities of *Scilla scilloides* (Lindley.) druce root extract. Food Sci. Biotechnol. 15:639–642
10. Lee HB, Lee SM. 2013. Antimicrobial Activity of Eucosterol Oligosaccharides Isolated from Bulb of Squill (*Scilla scilloides*). Pharmacology & Pharmacy 4:110–114
11. Ganesan S, Manimegalai K, Latha R. 2014. Antimicrobial Activity of Some Flowers of Eastern Ghats, Tamil Nadu, India. Glob. J. Botan. Sci. 2:26–31
12. Tims MC, Batista C. 2007. Effects of root isoquinoline alkaloids from *Hydrastis canadensis* on *Fusarium oxysporum* isolated from *Hydrastis* root tissue. J. Chem. Ecol. 33:1449–1455
13. Alluri, N Ravi BV, Kumari H, Latha P, Majumdar M. 2015. Evaluation of *in vitro* antioxidant, anti-inflammatory and thrombolytic activities of *Scilla hyacinthina*, an endangered medicinal plant. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 7:84–88
14. Dandjesso C, Klotoé JR, Dougnon TV, Sègbo LJ, Atègbo JM, Gbaguidi F, Fahl L, Fanoul B, Lokol F, Dramane K. 2012. Phytochemistry and hemostatic properties of some medicinal plants sold as anti-hemorrhagic in Cotonou markets (Benin), Indian Journal of Science and Technology, 5:6854–6846
15. Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, Paris, 2009, 1288

## **Conclusion**

## Conclusion

L'extraction de *Scilla lingulata* en utilisant la macération (SLm) et le soxhlet (SLs) a permis l'obtention de différents rendements en fonction de méthodes d'extraction utilisées (6.413 % pour SLm et 28.20 % pour SLs). On remarque que le rendement de SLs est supérieur 4 fois à celui de SLm malgré que l'on ait utilisé une quantité de la matière végétale pour SLm supérieure 4 fois par rapport aux SLs ce qui suggère que la quantité de la plante ne joue pas un rôle important par rapport à la technique d'extraction utilisée.

Le screening phytochimique a montré la présence des alcaloïdes en faible quantité, des flavonoïdes, et des tanins galliques en très bonne quantité dans l'extrait SLm, par contre, on a trouvé que les alcaloïdes dans l'extrait SLs, l'explication de cette remarque est que les flavonoïdes et les tanins détectés dans l'extrait SLm sont très polaire, c'est pour cela qu'on a trouvé le précipité uniquement dans l'extrait SLm. Ces remarques suggèrent l'importance du solvant utilisé pour extraire une classe des composés bien ciblés.

Le dosage des polyphénols montre que l'extrait SLs contient une dose élevée que celle de SLm malgré qu'on ait remarqué la présence des flavonoïdes et des tanins dans l'extrait SLm et leurs absences dans SLs. Ces remarques sont supportées par les résultats de test CCM.

Le but des activités biologiques testées est de comprendre l'impact de la méthode d'extraction et le solvant utilisé sur les effets biologiques observés et dans ce cas nous avons testés les activités suivantes : l'antibactérienne (*Escherichia coli*, *Staphylococcus sp.* et *Pseudomonas sp.*), l'activité antifongique (*Fusarium oxysporum*) et l'activité hémostatique. Les résultats montrent que l'extrait SLs bénéficie des effets antibactérien et antifongique contre les souches testés, par contre l'extrait SLm est actif seulement contre *E. coli* et *Staphylococcus sp.* Le test de l'activité hémostatique a montré que l'extrait SLs a un temps de coagulation stable (dans les environs de 5min45s) dans les différentes concentrations, par contre l'extrait SLm a montré le meilleur temps de coagulation (4min50s). Ces observations ont été causées par le rendement et la composition chimique obtenus pour chaque technique d'extraction.

Si on veut investiguer une plante connue pour des effets biologiques, il faut choisir la bonne méthode et le solvant d'extraction qui nous offre l'avantage d'obtenir un extrait avec une quantité importante, une activité biologique très élevée et une composition chimique riche.

## Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de préparer une étude comparative concernant l'impact de la technique d'extraction (macération et soxhlet) sur le rendement, la composition chimique (dosage et screening phytochimique) et les effets biologiques (antibactérienne, antifongique et hémostatique) d'une plante nommée *Scilla lingulata*. Le Screening phytochimique a montré la présence des tanins galliques, alcaloïdes et flavonoïdes. Ces résultats sont confirmés par le dosage de polyphénols et l'étude chromatographique sur CCM.

Les extraits obtenus ont été testé pour les activités antibactérienne, antifongique et hémostatique. Des bons résultats ont été observés surtout pour l'extrait obtenu par soxhlet (SLs) qui montre une présence des polyphénols élevée et des activités fortes que celle de l'extrait obtenu par macération (SLm). En basant sur ces résultats on peut dire que la technique d'extraction jeu un rôle important dans le rendement, la composition et les effets biologiques même si on utilise différentes quantités de la matière végétale.

## المخلص

هذا العمل هو جزء من إعداد دراسة مقارنة عن تأثير تقنية الاستخلاص (النقع وسوكسليت) على المرودية, التركيب الكيميائي (الجرعة والفحص الفيتوكيميائي) والتأثيرات البيولوجية (مضاد للجراثيم, مضاد للفطريات و تجلط الدم) لنبته اسمها *Scilla.lingulata* وأظهر الفحص الفيتوكيميائي وجود tanins, قلويدات وفلافونيدات. وتأكدت هذه النتائج من خلال دراسة كمية البوليفينولات وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.

تم اختبار المستخلصات ضد النشاط مضاد للجراثيم, مضاد للفطريات والمضاد لتجلط الدم. وقد لوحظت نتائج جيدة خاصة (SLs) (سفيما يخص وجود نسبة عالية من البوليفينولات والنشاط القوي من بالنسبة للاستخراج التي حصلت عليها سوكسليت مقارنة بمستخلص النقع (SLm)). واستنادا إلى هذه النتائج يمكننا القول أن تقنية استخراج تلعب دورا هاما في المرودية, التركيبية الكيميائية والآثار البيولوجية حتى وإن استخدمنا كميات مختلفة من المواد النباتية.

## Abstract

This work is part of the preparation of a comparative study on the impact of the extraction technique (maceration and soxhlet) on the yield, the chemical composition (phytochemical dosage and screening) and biological effects (antibacterial, antifungal and Hemostatic) of a plant named *Scilla.lingulata*. The phytochemical screening showed the presence of gallic tannins, alkaloids and flavonoids. These results are confirmed by the dyeing of polyphenols and the chromatographic study on TLC.

The obtained extracts were tested for the antibacterial, antifungal and haemostatic activities. Good results have been observed especially for the extract obtained by soxhlet (SLs) which shows a high polyphenol presence and strong activities than the extract obtained by maceration (SLm). Basing on these results it can be said that the extraction technique plays an important role in the yield, the composition and biological effects even if different amounts of plant material were used.