

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB DE BLIDA



Faculté des Sciences

Département de Chimie

Mémoire Présenté par

**DERIOUCH Soumia**

**En vue d'obtenir le diplôme de Master**

Domaine      Science de la matière  
Filière        Chimie  
Option        **Chimie des substances naturelles**

Titre

**Etude chimique de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata syn.algériensis*.  
Détermination de l'activité biologique**

Soutenu en octobre 2012

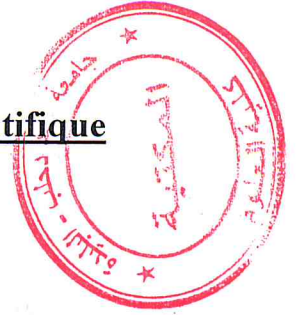
**Promoteur**

Pr M.ELHATTAB

**Co-promotrice**

Mme N.AYACHI

**PROMOTION 2011/2012**





## *Dédicace*

*Grace a ma foi en l'islam, et la bénédiction de notre prophète Mohamed, et l'amour de mon beau pays l'Algérie ma mère patrie, j'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à :*

*A mes très chers parents qui m'ont soutenus et encouragés durant toute la période de mes études et à qui je leur souhaite une longue et heureuse vie, que dieu les protège et me donne la force pour que je puisse leur rendre un petit peu de leur bienfait et leur bonté.*

*A mon marie Hasni Sid Ali pour son aide morale et pratique, c'est lui qui a consacré beaucoup de temps pour ma réussite.*

*A mes très chères sœurs Leila, Amina, Nawel, Sarah et Khaoula.*

*A mon chère frère : Dhia Eddine et mes beaux frères Rezak et Mohamed et leurs familles.*

*Une spéciale dédicace a ma deuxième famille Hasni qui mon donné de l'aide, l'encouragement et l'amour.*

*A ma très chère amie Nour pour m'aider, m'encourager et à sa famille Mohamed Mahmoud.*

*A mes très chères amies : H.Selma, B.Merieme, C.Hamida, B.Dalila, K.Naima, E.Naima, D.Djamila, B,Selma, A.Naima, B.Kadidja, E.Karima.*

*Et enfin, à tous ceux qui m'aiment.*

*S*



## Résumé

Le présent travail porte sur l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Euphorbia paniculata syn.algériensis* ainsi qu'à la détermination des activités biologiques de l'huile essentielle et de deux extraits lipidiques des espèces : *Euphorbia paniculata syn.algériensis*, *Euphorbia phymatosperma*.

L'analyse de l'huile essentielle d'*Euphorbiapaniculatasyn.algériensis* a été effectuée par CG/SM. La composition chimique renferme exclusivement des alcanes linéaires allant de tétradécane à l'héxatriacontane, le tetracosane est le produit majoritaire (12.11%).

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et les deux extraits a été évaluée sur dix souches bactériennes et un champignon à l'aide de la méthode de diffusion de disque. Les tests d'activité effectués ont montré que l'huile essentielle et les deux extraits sont dotés de propriétés antibactériennes. L'activité antioxydante des extraits lipidiques de d'*Euphorbia paniculata syn.algériensis* et d'*Euphorbia phymathosperma* a été déterminée par la méthode au DPPH. Les résultats obtenus ont montré que les deux extraits (*E.A* et *E.P*) présentent un fort pouvoir antioxydant. Nous avons noté la présence d'une activité anti-inflammatoire de les deux extraits lipidiques d'*Euphorbia paniculata syn.algériensis* et d'*Euphorbia phymathosperma*.

### **Mots clés :**

Huile essentielle, extrait lipidique, *Euphorbia paniculata syn.algériensis*, *Euphorbiaphymathosperma*, alcanes, activité antimicrobienne, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

## Summary

The present work focuses on the study of the chemical composition of the essential oil of *Euphorbia paniculata syn.algériensis* and determining the biological activities of the essential oil and lipid extracts of two species: *Euphorbia paniculata syn.algériensis* and *Euphorbia phymatosperma*.

The analysis of the essential oil of *Euphorbia paniculata syn.algériensis* was performed by GC / MS. The chemical composition is dominated by alkanes. There is the presence of a series of alkanes from tetradecane to hexatriacontane and the tetracosane is the major product (12.11%).

The antimicrobial activity of the essential oil and the two extracts was evaluated on ten strains of bacteria and fungi using the disc diffusion method. Activity tests carried out showed that the essential oil and extracts are both equipped with antibacterial properties. The antioxidant activity of lipid extracts of *Euphorbia paniculata syn.algériensis* and *Euphorbia phymathosperma* was determined by the DPPH method. The results showed that both extracts (E.AandE.P) have a strong antioxidant. We noted the presence of anti-inflammatory activity of two lipid extracts of *Euphorbia paniculata syn.algériensis* and *Euphorbia phymathosperma*.

**Keywords:** essential oil, extracted lipid, *Euphorbia paniculata syn.algériensis*, *Euphorbia phymathosperma*, alkanes, tetratetracontane, antimicrobial activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.



## ملخص

يرتكز العمل الحالي على دراسة التركيب الكيميائي للزيت الأساسي للاوفوربيا بانيكولاتا مرادف الجيريانيسيس و تحديد الأنشطة البيولوجية للزيت الأساسي وللمقتطفين الليبيين للنوعين :اوفوربيا بانيكولاتا مرادف الجيريانيسيس و اوفوربيا فيماتوسبيرما.

تم إجراء تحليل الزيت الأساسي لاوفوربيا بانيكولاتا مرادف الجيريانيسيس بواسطة تقنية GC/MS ونلاحظ انه يغلب على التركيب الكيميائي وجود سلسلة من الألكانات تتراوح بين تيتراديكان الى الهيكساتراكونتان مع تيتراكوزان بنسبة (12.11%) كمنتج رئيسي.

تم تقييم نشاط مضادات الميكروبات للزيت الاساسي و المقتطفين الليبيين في 10 سلالات من البكتيريا والفطريات باستخدام طريقة انتشار القرص. وأظهرت الاختبارات التي أجريت بان الزيت الاساسي و المقتطفين الليبيين لها خصائص مضادة للجراثيم. تم تحديد نشاط مضاد الأكسدة للمقتطفات الليبية اوفوربيا بانيكولاتا مرادف الجيريانيسيس و اوفوربيا فيماتوسبيرما بواسطة اسلوب DPPH. و أظهرت النتائج أن كلا من هاته المقتطفات الليبية لديها خصائص قوية مضادات الأكسدة. ولقد سجلنا ايضا وجود نشاط مضاد للالتهاب للمقتطفين الليبيين اوفوربيا بانيكولاتا مرادف الجيريانيسيس و اوفوربيا فيماتوسبيرما.

## كلمات البحث

الزيت الأساسي, المقتطف الليبيدي, اوفوربيا بانيكولاتا مرادف الجيريانيسيس, اوفوربيا فيماتوسبيرما, الالكانات, نشاط مضاد للميكروبات, نشاط مضاد للأكسدة, نشاط مضاد للالتهاب.

	Page
Table des matières	08
Liste des tableaux et planches	09
Liste des figures	10
Introduction générale	12
<b>Chapitre 1 : Synthèse bibliographique sur les espèces du genre <i>Euphorbia</i></b>	
1.1 Introduction	15
1.2 Systématique et Taxonomie du genre <i>Euphorbia</i>	15
1.2.1 Répartition du genre <i>Euphorbia</i>	15
1.2.2 Classification du genre <i>Euphorbia</i>	16
1.2.3 Description du genre <i>Euphorbia</i>	17
1.3 Etude chimique du genre <i>Euphorbia</i>	18
1.3.1 Métabolites secondaires isolés du genre <i>Euphorbia</i>	19
1.3.1.1 Etudes chimiques des extraits lipidiques du genre <i>Euphorbia</i>	19
1.3.1.1.1 Diterpénoïdes isolés du genre <i>Euphorbia</i>	19
1.3.1.1.2 Triterpénoïdes isolés du genre <i>Euphorbia</i>	21
1.3.1.1.3 Alcaloïdes et flavonoïdes isolés du genre <i>Euphorbia</i>	24
1.3.1.1.4 Autres produits isolés du genre <i>Euphorbia</i>	25
1.3.1.2 Etudes chimiques de l'huile essentielle du genre <i>Euphorbia</i>	25
1.4 Activité biologique	27
1.4.1 Utilisation en médecine traditionnelle	27
1.4.2 Utilisation actuelle	28
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
<b>Chapitre 2 : Etude chimique de l'huile essentielle d'<i>Euphorbia paniculata</i></b>	
2.1 Introduction	33
2.2 2.2 Systématique et taxonomie	33
2.2.1 Systématique et taxonomie d' <i>Euphorbia phymatosperma</i>	33
2.2.2 Systématique et taxonomie d' <i>Euphorbia paniculata syn. algeriensis</i>	34



2.2.3 Récolte et séchage d' <i>Euphorbia phymatosperma</i> d' <i>Euphorbia paniculata syn. algeriensis</i>	35
2.3 Méthodes d'extraction de l'huile essentielles et des extraits lipidiques	35
2.3.1 Préparation de l'huile essentielle d' <i>Euphorbia Algeriensis</i> par l'entraînement a la vapeur d'eau	35
2.3.1.1 Dispositif expérimental	35
2.3.1.2 Extraction liquide-liquide de l'huile essentielle	36
2.3.2 Préparation des extraits lipidiques	37
2.3.2.1 Mode opératoire	37
2.3.2.2 Extraction liquide-liquide des extraits	38
2.4 Analyse de l'huile essentielle d' <i>Euphorbia paniculata</i> par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	38
2.5 Résultat et discussion	39
2.5.1 Rendement	39
2.5.2 Propriétés organoliptiques	40
2.5.3 Analyse de l'huile essentielle d' <i>Euphorbia paniculata syn. algeriensis</i> par CG/SM	41
Chapitre 3 : Tests d'activités biologiques	
3.1 Test d'activités microbiologiques	46
3.1.1 Effet bactériostatique	46
3.1.2 Effet antifongique	46
3.1.3 But et principe	46
3.1.4 Materiels	46
3.1.4.1 Appareillage et verreries	47
3.1.4.2 Solutions et milieux de culture	47
3.1.4.3 Microorganisme étudiés	47
3.1.4.4 Préparation des solutions	48

3.1.5 Protocole expérimental	48
3.1.5.1 Préparation de l'inoculum	48
3.1.5.2 Ensemencement des souches	49
3.1.6 Résultats et discussion du pouvoir antimicrobien	50
3.2 test d'activité anti-inflammatoire	54
3.2.1 activité anti-inflammatoire (test de Levy) : (CULOT, 1972)	54
3.2.1.1 But	54
3.2.1.2 Principe	54
3.2.2 Matériel animal	54
3.2.3 Protocole expérimentale	55
3.2.3.1 Préparation du produit injecté	55
3.2.3.2 .Préparation du la solution carragénine	55
3.2.3.3 Préparation du la solution du produit de référence (Antalfen 200mg)	56
3.2.4 Mode opératoire	56
3.2.5 Résultat et discussion	58
3.3 Test d'activité antioxydante	60
3.3.1 Introduction	60
3.3.2 Dosage de l'activité antioxydante	61
3.3.3 Principe	61
3.3.4 Mode opératoire	61
3.3.5 Expression des résultats	61
3.3.5.1 Estimation du pouvoir antioxydant par la méthode au DPPH	61
3.3.5.2 Préparation des solutions	62
3.6 Résultat et discussion	63
Conclusion générale	68
Références	71



## Liste des tableaux

N <sup>o</sup> de tableau	Titre	page
Tableau 1.1	Flavonoïdes et coumarine et triterpènes et stéroïdes et autre constitue isole de quelque espèces du genre <i>Euphorbia</i>	25
Tableau 1.2	Diterpénoïdes, Abiétane, Ingenane, tigliane isolées à partir d'espèces d' <i>Euphorbia</i>	30
Tableau 2.1	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>E.paniculata</i>	40
Tableau 2.2	Propriétés organoleptiques d'extrait d' <i>E.paniculata</i>	40
Tableau 2.3	Propriétés organoleptiques d'extrait d' <i>E.phymatosperma</i>	41
Tableau 2.4	Composés identifiés, temps de rétention, formule brute et pourcentage	42
Tableau 3.1	Microorganisme étudiés	47
Tableau 3.2	Evaluation de la zone d'inhibition en fonction de la nature de la souche	51
Tableau 3.3	Moyennes arithmétiques des poids de patte arrière gauche et droite	59
Tableau 3.4	Le pourcentage d'œdème et de réduction de l'œdème de chaque lot	59
Tableau 3.5	Bilan des différents extraits et leurs résultats	63

## Liste des planches

Planche A	Structure de quelques diterpènes isolées	20
Planche B	Squelette Cycloartane, Lanostane, Euphane	22
Planche C	Structure de quelques triterpènes isolés	22
Planche D	Les composées phénoliques isolée de <i>E. decipiens</i> et <i>E. aucherii</i>	24
Planche E	Squellette Abiétane, Ingenane, tigliane Tigliane	29

## Liste des figures

N <sup>o</sup> de figure	Titre	page
Figure 01	<i>Euphorbia calyptрата involucrata</i>	18
Figure 02	<i>Euphorbia flamandi</i>	18
Figure 03	Inflorescence des différentes espèces du genre <i>Euphorbia</i> :- A, B, C, D, E, F cyathes. G, H grains. I, J, K fleur	18
Figure 04	<i>Euphorbia phymatosperma</i>	34
Figure 05	<i>Euphorbia paniculata</i>	34
Figure 06	Dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau	36
Figure 07	Extraction liquide-liquide de l'huile essentielle	37
Figure 08	Extraction liquide-liquide de l'extrait lipidique	38
Figure 09	Dissolution de l'huile essentiel et des extraits dans la Myristate d'isopropyle	48
Figure 10	Les souches avec leurs écouvillons	49
Figure 11	Disque imbibé dans l'extrait	50
Figure 12	dépôt des disques dans la boîte pétrie	50
Figure 13	Ensemencement dans le milieu de culture	50
Figure 14	Incubateur	51
Figure 15	Résultat du test d'activité antimicrobienne (a) absence du zone d'inhibition, (b), (c) présence de zone d'inhibition	53
Figure 16	Tween	55
Figure 17	Carragénine	55
Figure 18	Antalfen <sup>R</sup>	55
Figure 19	Des souris mises à jeun	56
Figure 20	le gavage des souris	57
Figure 21	Injection de carragénine	58
Figure 22	Coupure des pattes	58
Figure 23	Préparations des solutions	62
Figure 24	Vérification de l'absorbance max de la DPPH	63
Figure 25	Pouvoir anti-oxydant en fonction de concentration d' <i>E.paniculata</i>	64
Figure 26	Pouvoir anti-oxydant en fonction de concentration d' <i>E.phymatosperma</i>	65
Figure 27	Densité optique en fonction de concentration d' <i>E.paniculata</i>	65
Figure 28	Densité optique en fonction de concentration d' <i>E.phymatosperma</i>	66



# INTRODUCTION

L'histoire de la médecine par les plantes est très ancienne. Elle remonte à l'époque où l'homme est devenu conscient de son environnement, et s'est dit avoir été sur la terre pour quelques millions d'années et durant lesquelles il doit lutter pour son existence en tant que chasseurs ou cueilleurs.

Durant toutes ces milliers d'années d'expérience, l'homme a appris à distinguer les plantes utiles et nuisibles, ainsi que leurs propriétés dans la guérison des maladies.

Cette utilisation ancienne des plantes à des fins de guérison thérapeutique, a constitué l'origine d'une grande partie de la médecine moderne.

De nombreux médicaments classiques proviennent de sources végétales. Il y a un siècle, la plupart des médicaments efficaces étaient à base de plantes. Les exemples incluent l'aspirine (à partir de l'écorce de saule), la digoxine (à partir de la digitale), la quinine (à partir de l'écorce de quinquina), et de la morphine (à partir du pavot à opium). Le développement de médicaments à base de plantes s'est poursuivi avec les compagnies pharmaceutiques engagées dans le dépistage à grande échelle des produits pharmaceutiques d'origine végétale [1].

Ces plantes médicinales devenues par la suite une source principale de découverte de nouveaux principes actifs, occupent désormais une position primordiale dans le domaine de la recherche de nouveaux médicaments. Actuellement, plus de 50% de ces derniers sont d'origines naturelles. Paradoxalement, le règne végétal qui englobe environ 500 000 espèces n'a été que partiellement étudié sur les plans chimique et pharmacologique. C'est ainsi que l'industrie pharmaceutique, depuis la découverte de l'aspirine jusqu'à la découverte du taxol, s'est largement développée grâce à la diversité des métabolites secondaires présents dans les différentes parties des plantes, ce qui a permis dans une certaine mesure d'accéder à de nouvelles molécules aux propriétés biologiques dignes d'intérêt [1].

L'Algérie, pays connue pour sa biodiversité, dispose d'une flore particulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques [2]. Ce potentiel floristique constitué de plantes médicinales, toxiques et non toxiques, est peu exploré du



point de vue chimique et pharmacologique. A cet effet, il constitue une source non négligeable de recherche de substances naturelles à visée thérapeutique [1].

Parmi ces plantes à vertus thérapeutiques, on note la famille des Euphorbiacées qui est considérée comme l'une des familles les plus vastes et les plus cosmopolites que compte le sous-embanchement des angiospermes[1].

En Algérie, on a pu identifier un seul genre, c'est celui de l'*Euphorbia* dans le quel on distingue au moins une vingtaine d'espèces qui se répartissent dans les régions d'Algérie [2].

Parmi ces plantes, quelques unes sont endémiques comme celles retrouvées dans le Tell saharien on citera à titre d'exemple *Euphorbia guyoniana* Boissier et Reuter [1].

La plupart de ces plantes ont été utilisées pour leurs effets anti-inflammatoire, antalgique, antibactérien, antivénéneux et dans le traitement des maladies respiratoires.

On a constaté que le genre *Euphorbia* a largement été étudié de part le monde, pour sa richesse en métabolites secondaires (terpènes, alcaloïdes, flavonoïdes, glycosides et d'autres...) qui ont été isolés à partir des espèces de ce genre potentiellement intéressantes dans la médecine moderne.

Ce travail porte sur l'étude de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata*. Il porte également sur l'étude de l'activité biologique des extraits lipidiques de deux espèces : *Euphorbia paniculata* et d'*Euphorbia phymatosperma*.

Le présent mémoire est subdivisé en trois chapitres :

**Chapitre1** : synthèse bibliographique sur le genre *Euphorbia*.

**Chapitre2** : Etude chimique de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata*.

**Chapitre3** : Etude de l'activité biologique de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata* et des extraits lipidiques de deux espèces : *Euphorbia paniculata* et d'*Euphorbia phymatosperma*.

# **CHAPITRE 1 :**

## **SYNTHÈSE**

### **BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES**

### **ESPÈCES**

### **DU GENRE *EUPHORBIA***



## 1.1 Introduction

Dans le cadre de la valorisation des espèces de la famille Euphorbiaceae, en particulier le genre *Euphorbia*, nous nous sommes intéressés à la réalisation d'une synthèse bibliographique sur ce genre. Cette dernière porte sur l'étude systématique et taxonomique du genre *Euphorbia* ainsi qu'à l'étude chimique et les activités biologique des huiles essentielles et des extraits des espèces du genre *Euphorbia*.

## 1.2 Systématique et Taxonomie du genre *Euphorbia*

La famille Euphorbiacée ou Euphorbiaceae est une grande famille de plantes à fleurs, avec 300 genres et environ 10000 espèces [10,25]. La plupart sont des herbes, mais certaines particularités peuvent exister sous les tropiques notamment les arbres ou les arbustes. Certains sont succulents et ressemblent à des cactus [2,4].

L'Euphorbiacée est considérée comme l'une des familles les plus vastes et les plus cosmopolites que compte le sous l'embranchement des angiospermes [2].

*Euphorbia* est un genre de plantes appartenant à la famille Euphorbiaceae . Constitué de 1000 espèces, ce genre est le plus représentatif de cette famille. Les plantes du genre *Euphorbia* sont bien représentées au Sahara septentrional et en Europe [2].

### 1.2.1 Répartition du genre *Euphorbia*

Le genre *Euphorbia* se retrouve principalement dans les régions tropicales et subtropicales de l'Afrique et d'Amérique , mais aussi dans les zones tempérées à travers le monde.

Les espèces succulentes proviennent principalement d'Afrique, d'Amérique et de Madagascar. Il existe un large éventail d'espèces insulaires sur les îles hawaïennes , où les euphorbes qui sont collectivement connues sous le nom "Akoko", et sur les îles Canaries par "Tabaibas"[1,4].

En Algérie, on peut distinguer au moins une vingtaine d'espèces qui se répartissent dans le Tell littoral et le Tell Blidien (zones montagneuses, pâturages,

Forêts humides) ainsi que le Tell saharien (Rocailles et pâturages désertiques, lits d'oueds, zones arides et désertiques, Pâturages désertiques Oasis sahariennes) et parfois dans toute l'Algérie [2].

Parmi ces plantes, quelques unes sont endémiques comme celle retrouvées dans le Tell saharien comme *Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut [22].

#### 1.2.1.1 Noms communs

Les espèces du genre *Euphorbia* peuvent exister sous les noms suivant :

Euphorbe, Euphorbe en faux, Euphorbe arborescente, Euphorbe à feuilles d'amandier, Euphorbe réveille-matin, Euphorbe de Nice, Euphorbe des dunes, euphorbe maritime, Euphorbe des jardins...etc. [2].

#### 1.2.1.2 Nom botanique

Le nom botanique provient de *Euphorbia Euphorbe* , le nom d'un médecin grec du roi Juba II de Numidie (52-50 avant JC - 23 après JC)., qui a épousé la fille d'Antoine et de Cléopâtre. Il a écrit qu'une plante rassemblant à un cactus, ...attribuée plutard au genre *Euphorbia*, était un puissant laxatif . En 12 cent avant JC, Juba a nommé cette plante Euphorbe d'après son médecin *Euphorbia Euphorbe* [23]. De même le botaniste et taxonomiste Carl Von Linné attribua le nom du genre *Euphorbia* tout entier en l'honneur de ce médecin grec [24].

#### 1.2.1.3 Noms vernaculaires

Les noms les plus utilisée en Algérie sont :

Lezara, tanakat, Garraba, Khunaiz, sabia, Halib el diba, tanahout, Tellak, Bassaq el mouloud. [2,4].

#### 1.2.2 Classification du genre *Euphorbia*

La famille n'est pas très connue sur le plan systématique. En effet Euphorbiaceae a des tendances à la division, et de nouveaux genres, se manifestent souvent, par exemple plus de cinquante genres ont été introduits puis considérés comme



synonymes [3,26]. Ce constat peut s'expliquer par sa distribution car elle est localisée principalement dans les régions tropicales, et l'existence éphémère des fleurs chez certains genres, rendent leur identification difficile et entravant ainsi toute étude botanique [26].

Plusieurs systématiciens s'intéressent à cette grande famille, pour faire une classification plus précise, on peut citer parmi eux, Lindley, Engler, Cronquist, Dahlgren, Thorne, Webster [1,3].

Mais la classification de Webster est la plus utilisée [26] :

Taxon : *Rhizophytes*

Embranchement : *Spermaphytes*

Sous-embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Dicotylédones*

Sous-classe : *Dialypétales*

Série : *Thalamiflores*

Sous-série : *Méristémones*

Ordre : *Tricoques*

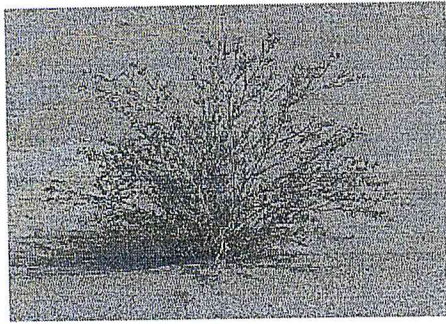
Famille : *Euphorbiaceae*

Sous-famille : *Euphorbiadeae*

Genre : *Euphorbia*

### **1.2.3 Description du genre *Euphorbia***

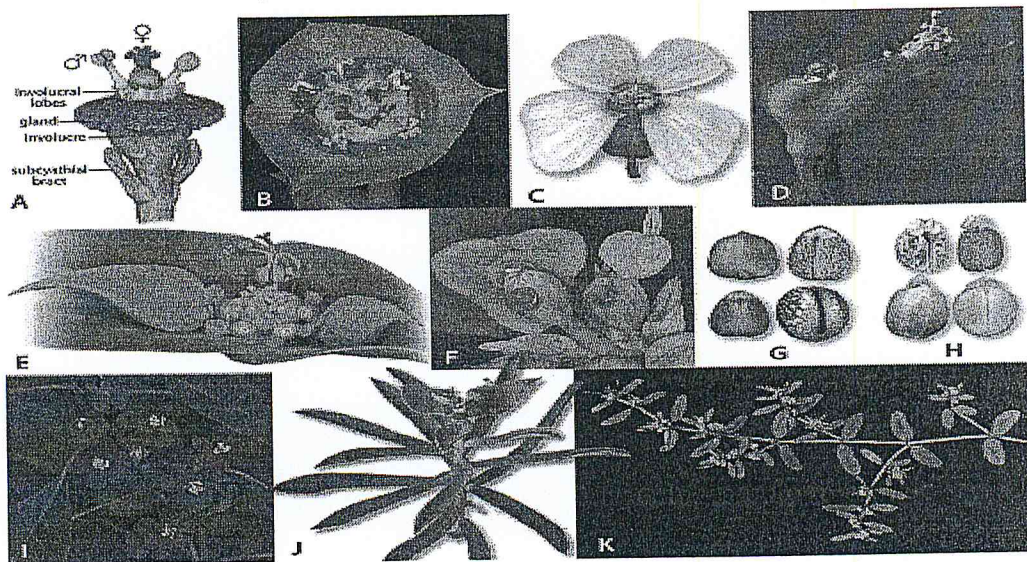
Se sont des Plantes herbacées ou arbustes (Figure 1), pourvus de latex (Figure 2) blanc. Les feuilles sont simples, rarement stipulées. Les fleurs sont unisexuées, groupées en inflorescence complexe (cyathes), disposées en ombelles feuillées. Le cyathe est constitué par une fleur femelle centrale à 5 cymes exigües de fleurs mâles, réduites en général à une étamine, le tout enveloppé dans un involucre cupuliforme à 4-5 lobes présentant dans les sinus une glande charnue de forme variable [2].



**Figure 1:** *Euphorbia calytratinvolucrata*    **Figure 2 :** *Euphorbia flamandi*

Les Carpelles sont soudées a l'ovaire supérieure à trois loges uniovulées, de style bifide, quant à la Capsule tricoqué et généralement déhiscente [2]. Enfin la graine est albuminée et caroncule [2].

La figure 3 illustre les informations relatées précédemment.



**Figure 3 :** inflorescence des différentes espèces du genre *Euphorbia*:- A, B, C, D, E, F cyathes. G, H grains. - I, J, K fleur. [6]

### 1.3 Etude chimique du genre *Euphorbia*

Les plantes du genre *Euphorbia* ont fait l'objet de plusieurs recherche phytochimique et pharmacologique. Ces études se sont intéressés à leur latex [2,11], fruits [2,12], feuilles [2,12], racines [2], et parfois à la plante entière [2,12], ont permis l'isolement et la caractérisation d'un nombre important de métabolites



secondaires appartenant à différentes classes chimiques. Ces métabolites ont été isolés à partir de l'extrait lipidique préparé par solvant comme: l'éthanol [7], méthanol [11], chloroforme, dichlorométhane [1], éther de pétrole et alcool [9], mélange de méthanol, hexane et dichlorométhane [10], acétone [20]. L'étude chimique a porté également sur les huiles essentielles qui ont été préparés par entraînement à la vapeur d'eau [20].

### **1.3.1 Métabolites secondaires isolés du genre *Euphorbia***

#### **1.3.1.1 Etudes chimiques des extraits lipidiques du genre *Euphorbia***

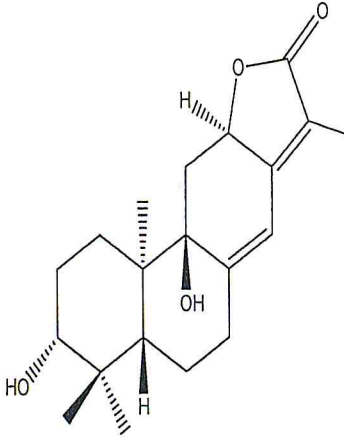
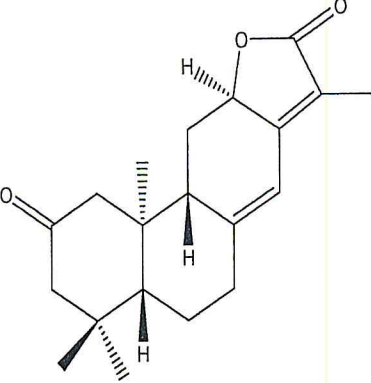
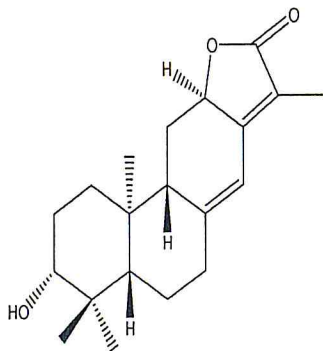
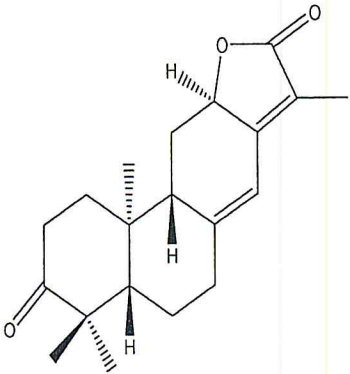
L'étude chimique des extraits lipidiques des espèces du genre *Euphorbia* ont permis l'isolement de plusieurs métabolites secondaires tel que les alcaloïdes [1, 20,17], les flavonoïdes [1, 20, 17], les acides gras [1,20]; les triterpènes tétracyclique [1,20] et pentacyclique [1,20], les diterpènes [1,20], ainsi que des polysaccharides.

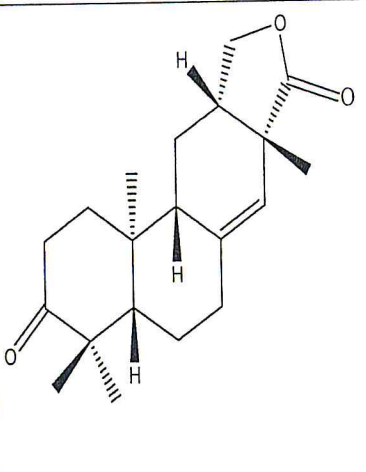
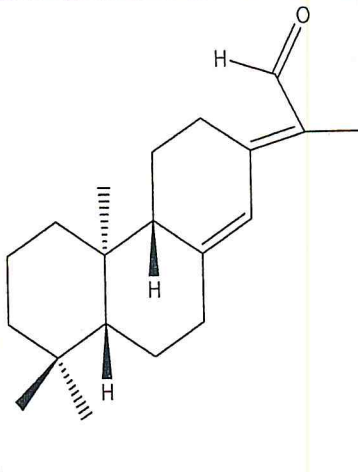
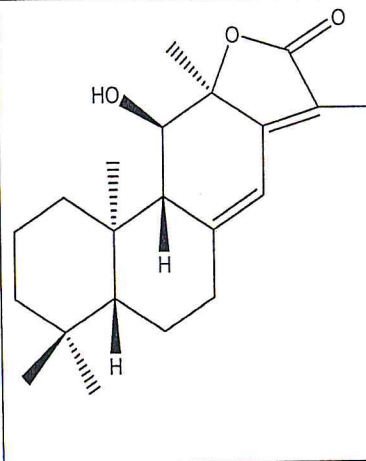
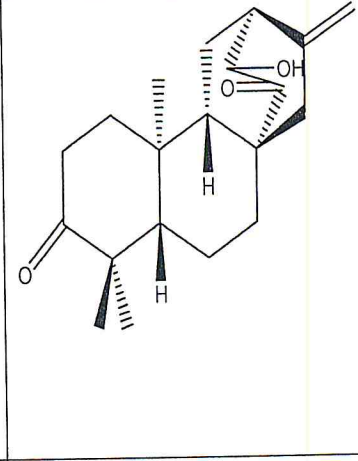
##### **1.3.1.1.1 Diterpénoïdes isolés du genre *Euphorbia***

Les espèces du genre *Euphorbia* ont des squelettes différents de diterpènes. Les diterpènes composent une vaste famille de molécules en C-20 présentant une très grande variété structurale.

La planche A regroupe quelques structures de diterpènes isolés et les espèces dont ils sont issus.

Planche A : Structure de quelques diterpènes isolées du genre *Euphorbia*

Plante	Structure de diterpène isolée		Ref
<p><i>Euphorbia calytrata</i></p>			<p>[27,2 8]</p>
	<p>helioscopinolide H</p>	<p>helioscopinolide F</p>	
			<p>[27,2 8]</p>
	<p>helioscopinolide A</p>	<p>helioscopinolide E</p>	

<i>Euphorbia</i> <i>Fidjiana</i>			[29,3 0]
	12β-hydroxyméthyl-3-oxo-16-ent-norpimar-8(14)-ène-15,21-carbolactone	11α-hydroxy-ent-abiéta-8(14),13(15)-dièn-16,12-olide	
			[29,3 0]
	17-hydroxy-ent-abiéta-8(14),13(15)-dièn-16-al	(13S)-13-hydroxy-ent-atis-16-ène-3,14-dione	

### 1.3.1.1.2 Triterpénoïdes isolés du genre *Euphorbia*

Les espèces du genre *Euphorbia* renferment des triterpénoïdes en particulier à squelette tétracyclique du type cycloartane, lanostane, euphane, tirucallane.

Des triterpènes à squelette pentacyclique y sont également présent mais en nombre moindre [20].

La planche B illustre les squelettes Cycloartane, Lanostane, Euphane, et la planche C regroupe quelques structures de diterpènes isolés et les espèces dont ils sont issus.



**Planche B:** Squelette Cycloartane, Lanostane et Euphane

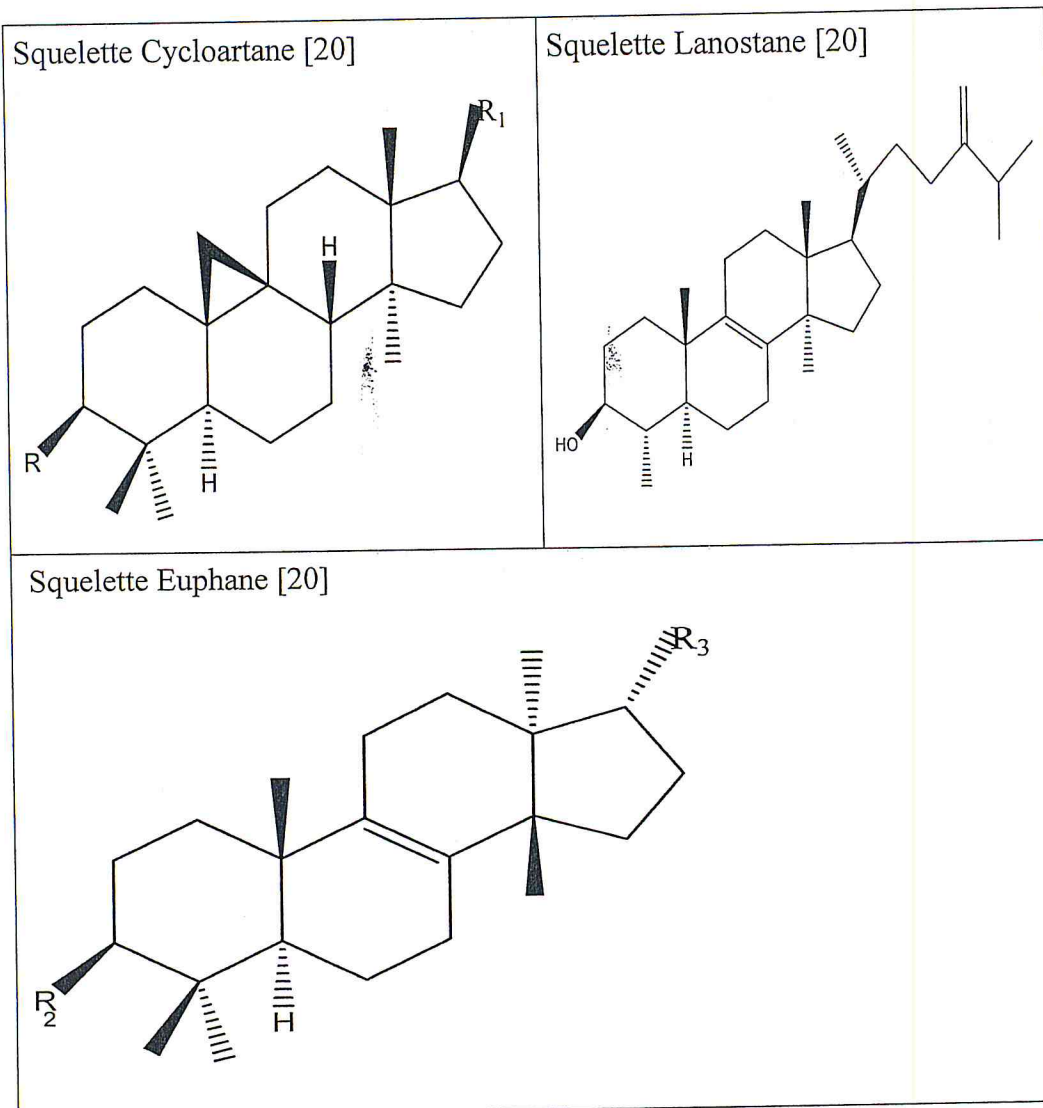
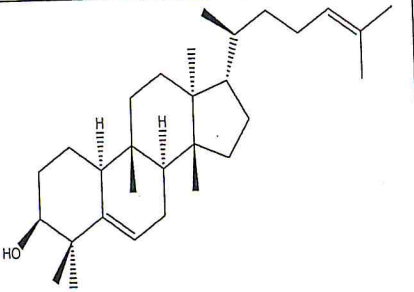
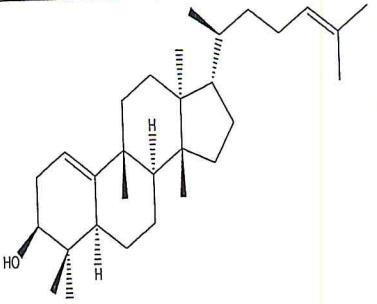
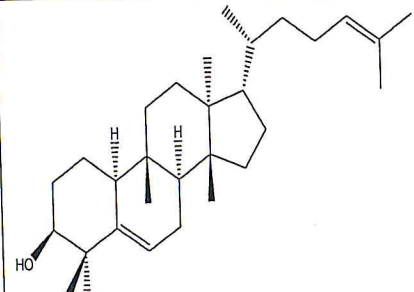
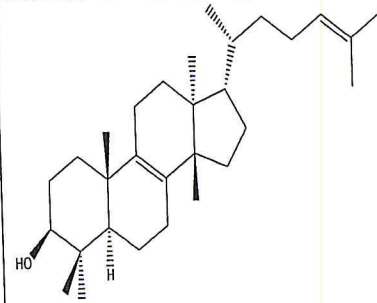
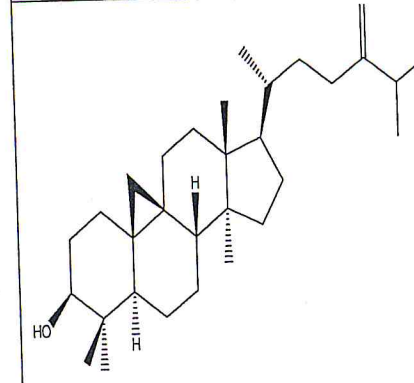
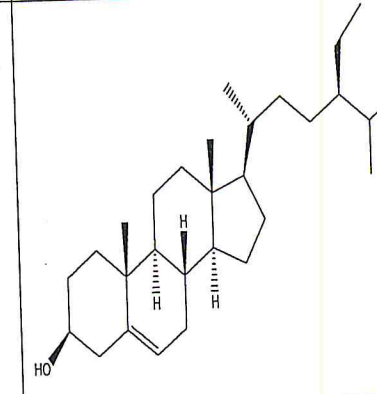


Planche C: Structure de quelques triterpènes isolées du genre *Euphorbia*

Plante	Triterpènes tétracycliques et pentacycliques identifiés dans certaines espèces <i>Euphorbia</i>		Ref
<i>Euphorbia mellifera</i>			[31]
	Euférol	Milliférol	
<i>Euphorbia Antiquorum</i>			[32,33]
	19(10,9)abeo-8 $\alpha$ ,9 $\beta$ ,10 $\alpha$ -eupha-5,24-diène-3 $\beta$ -ol	24-méthyltirucalla-8,24(241)-diène-3 $\beta$ -oleuphorbol	
			
	Cycloeucaoléol	$\beta$ -sitostérol	

### 1.3.1.1.3 Alcaloïdes et flavonoïdes du genre *Euphorbia*

Les alcaloïdes ont été signalés en particulier dans *Euphorbia guyoniana* Boissier et Reuter avec l'isolement du 1,5-diphényl-3-styryl-2-pyrazoline1.

Dans cette même espèce, six flavonoïdes connus ont été isolés, il s'agit de kaempférol, kaempférol-3-O-glucoside, kaempférol-3-rutinoside, la quercétine, quercétine 3-O-glucoside, et de la rutine les mêmes composés phénoliques ont été isolés dans *E. guyoniana* et *E. retusa*forsk [1].

Deux composés phénoliques ont été aussi séparés à partir d'*E. decipiens*. Il s'agit du méthyle (2,4-dihydroxy-3-formyl-6-methoxy) phenylketone **(a)** et 1,1 - bis (2,6-dihydroxy-3-acetyl-4-methoxyphenyl) méthane **(b)** [20].

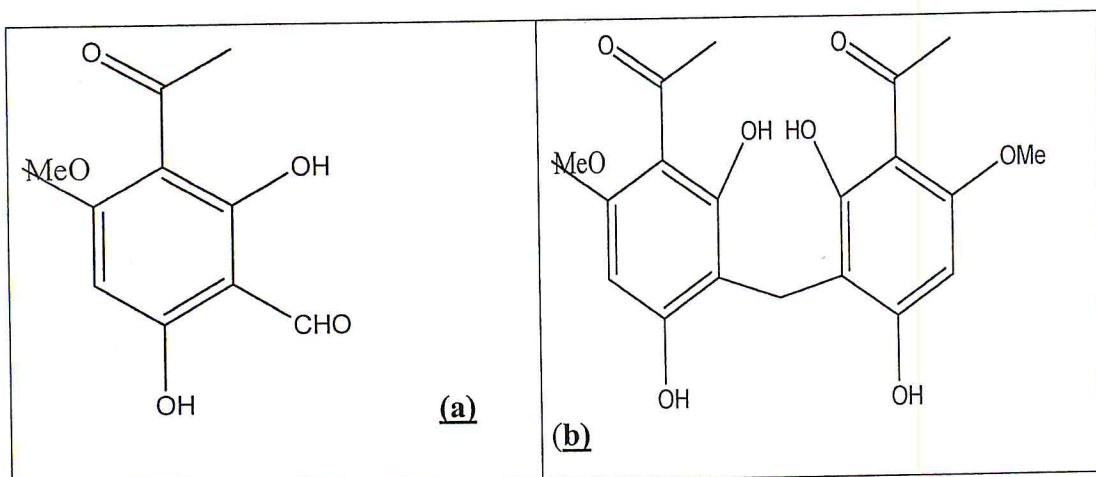
Le gallate de méthyle a été isolée d'*E. teheranica* comme le seul composé phénolique [20,34, 35].

Deux flavonoïdes glycosidiques, myricetin-3-rhamnoside **(c)** et deux tanins hydrolysables, **(d)** et **(e)** ont été identifiés dans *E. aucherii* récoltée en Iran.

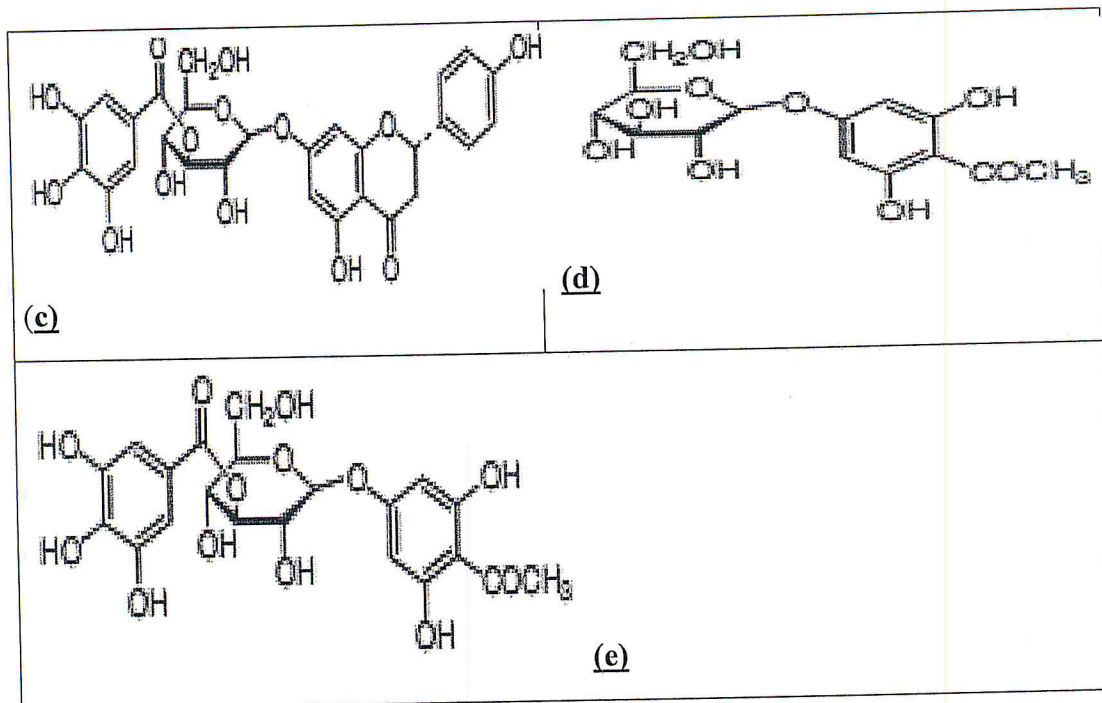
Les susdits composés phénoliques étaient purifiés des fractions polaires de l'extrait de plantes après acétylation de leurs groupes hydroxyle [20,36].

D'autres flavonoïdes et des composés phénoliques qui ont été isolés d'*E. larica*, *E. virgata*, *E. chamaesyce*, *E. magalanta*, *E. Lanata* et *E. tinctoria* [20,36] (tableau 2).

**Planche D :** Composés phénoliques isolé d'*E. decipiens* et *E. aucherii* [20]







#### 1.3.1.1.4 Autres produits isolés du genre *Euphorbia*

D'autres produits ont été isolés des espèces du genre *Euphorbia*, ce sont les phospholipides [1,20, 36], acides gras, les hydrocarbures saturés oxygénés et les esters qui ont été isolés d'*E. larica*, *E. falcata* L. *E. Lanata*, *E. Tinctoria* et *E. myrsi-nuit* ont été mentionnés dans le tableau (tableau 2) [20,36].

#### 1.3.1.2 Etude chimique de l'huile essentielle du genre *Euphorbia*

Les constituants chimiques de l'huile essentielle d'*E. teheranica* ont été analysés par GC et GC/MS, révélant 22 composés. Les constituants majeurs étaient : elemol (57.5 %),  $\beta$ -caryophyllène (8.1 %) et caryophyllène (7.8 %),  $\gamma$ -eudesmol,  $\beta$ -eudesmol,  $\alpha$ -eude-smol,  $\alpha$ -humulène, humulène époxyde II, 10-pi- $\gamma$ -eudesmol et comme un sesquiterpènes l'hinesol. Concernant les composés mineurs on note la présence des monoterpènes tel que l'hydrate de *cis*-sabinène, l'hydrate de *trans*-sabinène, citronellol, terpinen-4-ol et  $\alpha$ -terpineol, des *n*-alkanes tel que dodécane, tridecane, tétradécane, nonadécane et hénicosane, Le benzoate de benzyl et le hexadécanoate de méthyle qui ont été identifiés à des quantités infimes [20,36] (tableau 2).

**Tableau 1.1 :** Flavonoïdes, coumarine, triterpènes, stéroïdes et autres constituants isolés d'espèces du genre *Euphorbia*

Espèces de genre <i>Euphorbia</i>	Flavonoïdes et coumarine	Triterpènes et stéroïdes	Autre constituante
<i>E. larica</i>	- Kaempferol-3-O-glucoside (f) - quercetin-3-O-glucoside (g) - kaempferol-3-rutinoside (h) - rutin(i) - 6-methoxyapigenin(j) [38]	b-Amyrinacetate, lupeol, lupeol acetate, ginnone, ambrein, lupeone. [38]	Nonacosane (j), octacosylbehenate (k) <sup>[38]</sup>
<i>E. virgata</i>	(f),(g),(h),(i),kaempferol(l) [38]		
<i>E. chamaesyce</i>	(f),(g). [38]		
<i>E. magalanta</i>	(f),(g),(h),(i),(l). <sup>[38]</sup>		
<i>E. petiolata</i>		Cycloartenol, 24-methylenecycloartenol [39,17]	
<i>E. falcata</i> L.		Obtusifoldienol,c-euphorbol (m),b-amyrin (n). <sup>[37]</sup>	(j),octadecan-2-one, eicosan-2-one.

			[37]
<i>E. lanata</i>	Kaempferol-7-O-rhamnoside, kaempferol-3-O-galactoside, quercetin-7-O-digalactoside, esculetin. [37]	Sitosteryl-3-b-D-glucoside (o). [37]	Octacosanol (p),(k). [37]
<i>E. tinctoria</i>	(i),quercetin,quercetin-7-glucoside kaempferolrhamnoside. [37]	(m),(o), euphorbol. [37]	(j),(k),(p). [37]
<i>E. myrsinites</i>		(n),taraxerol. [37]	(j),(p). [37]

## 2 Activité biologique du genre *Euphorbia*

### 2.2 Utilisation en médecine traditionnelle

Les espèces de genre *Euphorbia* sont largement et universellement utilisées en médecine populaire pour guérir bon nombre de maladies [40]. Cette utilisation à grande échelle par les sociétés primitives, en a fait un argument prépondérant qui justifie les travaux intensifs de recherches réalisés tant du point de vue phytochimique que pharmacologique. A ce jour, plusieurs espèces sont utilisées en médecine traditionnelle. On citera parmi elles :

*Euphorbia resinifera* Berg : La résine de cette espèce endémique marocaine appelée communément Euphorbe résinifère, est utilisée en application locales comme révulsives. Petrie avec de la farine ou de la semoule et du blanc d'œuf, elle est utilisée contre les rhumatismes et les paralysies. Elle est également employée pour soigner les piqures, les morsures venimeuses et les algies dentaires. Les femmes emploient aussi un mélange à base de la résine d'euphorbe



comme abortifs malgré ses dangers. Le latex frais de cette plante est recommandé par les berbères de Beni-Mellal, contre les verrues [1].

*Euphorbia obtusifolia* Poiret : Le latex de cette espèce est préconisé au Sahara occidental, en applications externes, en tant que remède contre les morsures de serpents et la gale animale [1].

*Euphorbia antiquorum* L : Cette plante originaire de l'Inde et de Sri Lanka, est utilisée entièrement pour traiter les infections cutanées. Le latex est employé contre la grippe et pour soigner les problèmes des voies respiratoires, principalement la bronchite [1].

*Euphorbia kansui* L : Les racines séchées de cette plante, connues sous le nom de « Kan Sui » dans la médecine traditionnelle chinoise, sont préconisées comme remède contre le cancer [1].

*Euphorbia cyparissias* L : Les graines de cette espèce renfermant des saponosides, sont utilisées pour leurs propriétés purgatives et anti-inflammatoires [1].

### **2.3 Utilisation actuelle**

Les composés qui ont été fréquemment retrouvés dans les espèces du genre *Euphorbia* comprennent les diterpènes, les triterpènes, les stéroïdes, les cécrobiosides, les glycérols, les composés phénoliques et les flavonoïdes [13]. Dans ce cadre, plusieurs activités biologiques ont été mises en évidence pour ces composés, on peut citer les activités suivantes :

#### **2.3.1 L'activité anti-tumorale[a]**

Les composés les plus pertinents à la toxicité et les activités biologiques considérables dans *Euphorbia* sont des diterpènes, en particulier ceux des abiétane, tigliane, et des squelettes ingenane [13].

##### **a) Les Abiétanes isolés à partir d'espèces du genre *Euphorbia***

Les Abiétanes qui sont des dérivés isolés à partir d'espèces du genre *Euphorbia* sont des diterpénoïdes abiétane, qui présentent une activité inhibitrice sur les

différents types de cellules tumorales, tels que ANA-1,B16, les cellules Jurkat [18], les cellules K562 [41] et LNCaP cellules [19] (planche E).

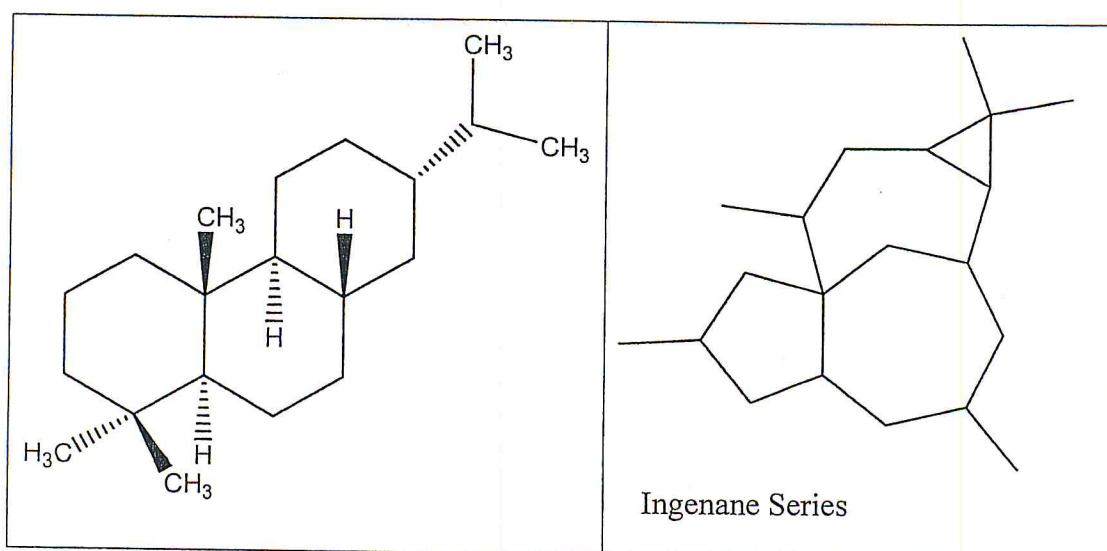
**b) Les Ingenanes isolés à partir d'espèces du genre *Euphorbia***

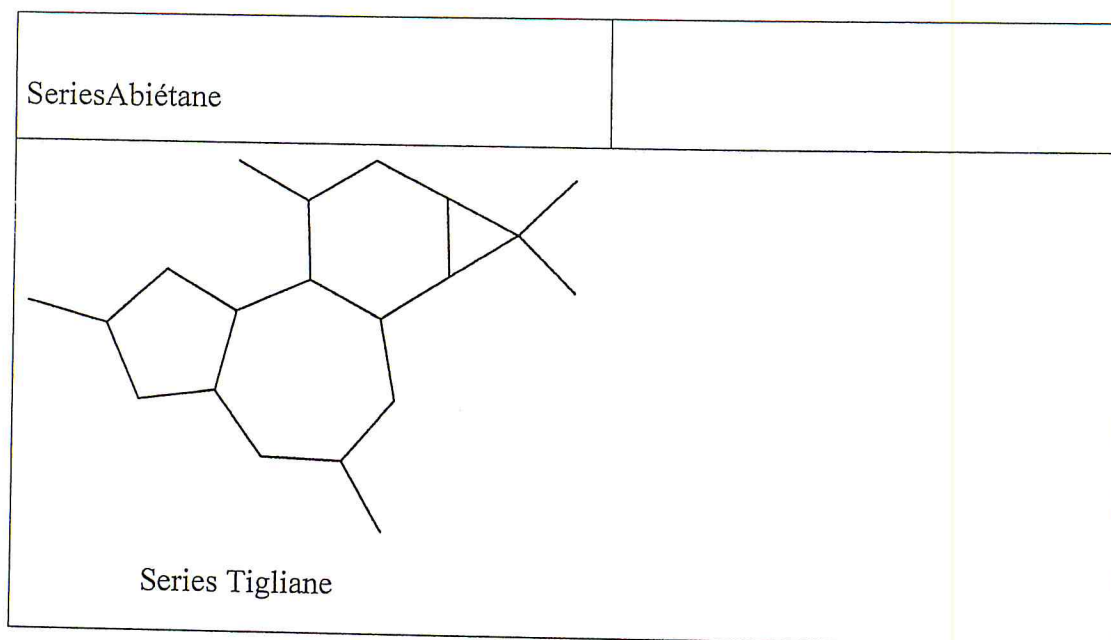
Les ingenanes sont des diterpénoïdes qui ont une structure caractéristique unique à ce genre. Ce type de diterpénoïdes a été largement rapporté dans de nombreuses espèces d'*Euphorbia*. Certains chercheurs ont montré que ces diterpénoïdes ont une activité antinematodal et termiticidal [42,43]. Il y avait également des rapports toxiques tels que l'activité pro-inflammatoire des tumeurs [44,45, 46] (planche E).

**c) Dérivés Tigliane isolés à partir d'espèces du genre *Euphorbia***

Ce type de diterpène macrocyclique, qui se trouve dans les graines, les racines, les souches et dans le latex du genre *Euphorbia*, est le constituant principal qui provoque des irritations toxique au niveau de la peau, ainsi que des pro-inflammatoire. Alors l'activité antitumorale est active dans ces espèces [47, 48,49] (planche E). La planche E illustre le squelette Abiétane, Ingenane et Tigliane.

**Planche E : Squelette Abiétane, Ingenane et Tigliane**





**Tableau 1.2 :** Diterpénoïdes, Abiétane, Ingenane, tigliane isolées à partir d'espèces d'*Euphorbia*

Espaces	di terpène	Structure	ref
<i>E. calyptrata</i>	Abiétane	Helioscopinolides H	54
<i>E. terracina</i>	Abiétane	7 $\beta$ -hydroxy-8 $\alpha$ E jolkinolide ,14-dihydro	52
<i>E. fischeriana</i>	Abiétane	17-B Hydroxyjolkinolide	53
<i>E. esula</i>	Ingenane	17-benzoyloxy-3-O-(2,3dimethylbutanoyl) -13 - (2,3-dimethylbutanoyloxy) ingénol	55
<i>E. cauducifolia</i>	Ingenane	20-O-acétyl-3-O-angeloyl-17-hydroxyingenol	51
<i>E. fischeriana</i>	Tigliane	13-acétoxy-12-désoxyphorbol [prostratine]	56
<i>E. poisonii</i>	Tigliane	20-hydroxy-12-désoxyphorbol angélate	50



### 2.3.2 Activité anti-inflammatoire <sup>[c]</sup>

Les triterpènes sont responsables de l'effet anti-inflammatoire de ces plantes <sup>[1]</sup>.

On peut citer à titre d'exemple :

- Dans *Euphorbia Antiquorum* : il y'a le composé 19(10,9) abeo-8 $\alpha$ , 9 $\beta$ , 10 $\alpha$ -eupha-5,24-dièn-3 $\beta$ -ol et 24-méthyltirucalla-8,24(241)-dièn-3 $\beta$  oleuphorbol<sup>[32,33]</sup>.
- Dans *Euphorbia mellifera* : le composé Euferol et Milliferol<sup>[31]</sup>.
- *Euphorbia heterophylla* Linn présente un effet anti-inflammatoire a partir de l'extrait méthanolique et aqueuse de la plante et dans le traitement des maladies respiratoire. <sup>[57]</sup>.

Ces composés sont tous responsables à l'activité anti-inflammatoire de leurs espèces.

### 2.3.3 L'effet sur la tension artérielle<sup>[g]</sup>

L'effet de (2,4-dihydroxy-3-formyl-6-methoxy) phenylketoneà été étudié sur la tension artérielles chez les rats Wister normotensives<sup>[20]</sup>.

Comme nous avons susdit précédemment le genre *Euphorbia* présente beaucoup d'activité biologique, on peut citer

- *E.hirta* (L.), *E.esula* et *E.granulata* Forsk présentent une activité anti bactérienne<sup>[d]</sup>, antimicrobienne<sup>[f]</sup> ainsi que antifongique <sup>[7,14, 16]</sup>.

**PARTIE**  
**EXPÉRIMENTALE**

# CHAPITRE 2 :

ETUDE CHIMIQUE DE

L'HUILE

ESSENTIELLE

D'EUPHORBIA

PANICULATA



## 2.1 Introduction

Dans le cadre de notre mémoire et vu l'importance de l'utilisation des espèces du genre *Euphorbia* en médecine alternative, nous avons consacré cette étude expérimentale à deux espèces de ce genre.

Les critères de choix de ces espèces, reposent essentiellement sur le fait que :

- ✓ Ces espèces appartiennent au genre *Euphorbia* de la famille Euphorbiaceae dont plusieurs activités biologiques ont été mises en évidences.
- ✓ Absence de travaux antérieurs sur ces espèces.

Notre travail expérimental est effectué sur deux espèces du genre *Euphorbia*, il s'agit de *Euphorbia phymatosperma* et *Euphorbia paniculata*. Il comporte deux chapitres :

- Etude chimique de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata*.
- Etude de l'activité biologique de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata* et des extraits lipidiques d'*Euphorbia phymatosperma* et *Euphorbia paniculata*.

Le travail expérimental a été effectué au niveau de complexe Antibiotical de MEDEA du GROUPE SAIDAL ainsi qu'au niveau de laboratoire de chimie des substances naturelles de Université de Saad Dahleb –Blida- .

## 2.2 Systématique et taxonomie

### 2.2.1 Systématique et taxonomie d'*Euphorbia phymatosperma*

Les systématiciens de la botanique s'accordent à classer cette espèce comme suit :

Famille : Euphorbiaceae

Sous famille : Euphorbioideae

Tribu : Euphorbieae

Sous tribu : Euphorbiinae

Genre : *Euphorbia*

Espèce : *E. phymatosperma*



**Figure 4 :** *Euphorbia phymatosperma*

### **Description de l'espèce *Euphorbia phymatosperma***

C'est une petite plante annuelle non succulente à des tiges dressée et simple de 10 à 15 cm. Leurs feuilles sont entières et leurs Cyathes sont petit.

En Algérie, cette plante se trouve dans les forêts et les zones arbustives , les steppes arbustives de la végétation montagnarde de Chréa. La période de floraison s'étale du mois de Mars à Mai.

### **2.2.2 Systématique et taxonomie d'*Euphorbia paniculata syn.algeriensis***

Les systématiciens de la botanique s'accordent à classer cette espèce comme suit :

Famille : Euphorbiaceae

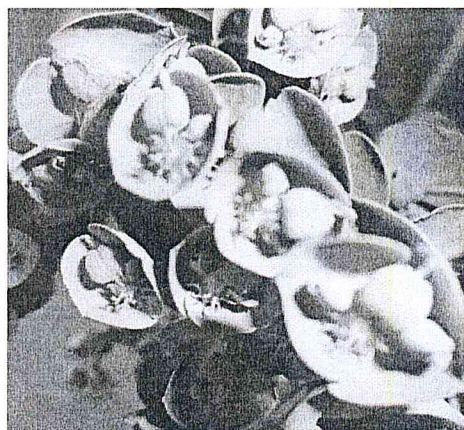
Sous famille : Euphorbioideae

Tribu : Euphorbieae

Sous tribu : Euphorbiinae

Genre : *Euphorbia*

Espèce : *E. paniculata*



**Figure 5 :** *Euphorbia paniculata syn.algeriensis*

### **2.2.3 Récolte et séchage d'*Euphorbia phymatosperma* d'*Euphorbia paniculata* syn. *algeriensis***

L'espèce *Euphorbia phymatosperma* a été récoltée dans la région de Blida (sud ouest d'Algérie) au mois d'avril 2012 exactement dans la station Tafrant de Hamam melouane.

La récolte d'*Euphorbia paniculata* syn *algeriensis* a été faite dans la station de Hamdania au bord la rivière de Chiffa dans la région de Blida au mois de Mai 2012.

Après le séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les deux plantes ont été coupées en petits morceaux et conservées dans des flacons.

Les deux espèces ont été identifiées au niveau de laboratoire de botanique de jardin d'essais « Hama » et au niveau de parc national de Chréa comme étant *Euphorbia phymatosperma* et *Euphorbia paniculata* syn.*Euphorbia Algeriensis*.

## **2.3 Méthodes d'extraction de l'huile essentielles et des extraits lipidiques**

Nous avons préparés l'huile essentielle pour une analyse chimique et l'étude de l'activité biologique, et les extraits lipidique pour les tests d'activités biologiques.

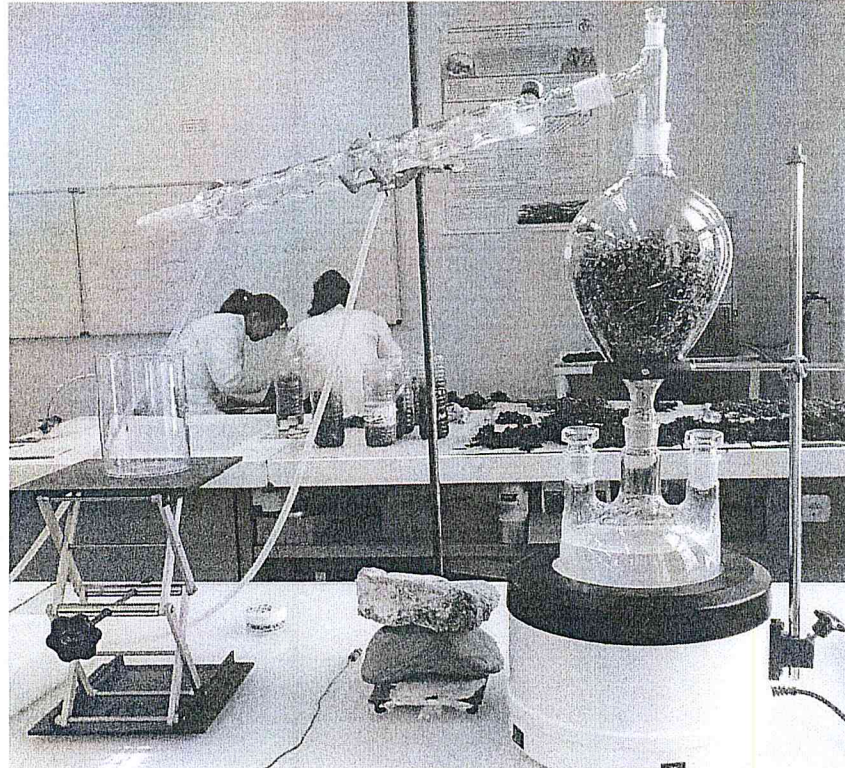
### **2.3.1 Préparation de l'huile essentielle d'*Euphorbia Algeriensis* par l'entraînement à la vapeur d'eau**

#### **2.3.1.1 Dispositif expérimental**

Le dispositif expérimental comprend :

Un ballon rempli au 2/3 d'eau et chauffé à ébullition surmonté d'une ampoule à décanter, contenant les feuilles, les cyathes, les grains et les tiges de notre matière végétale (*Euphorbia paniculata*).



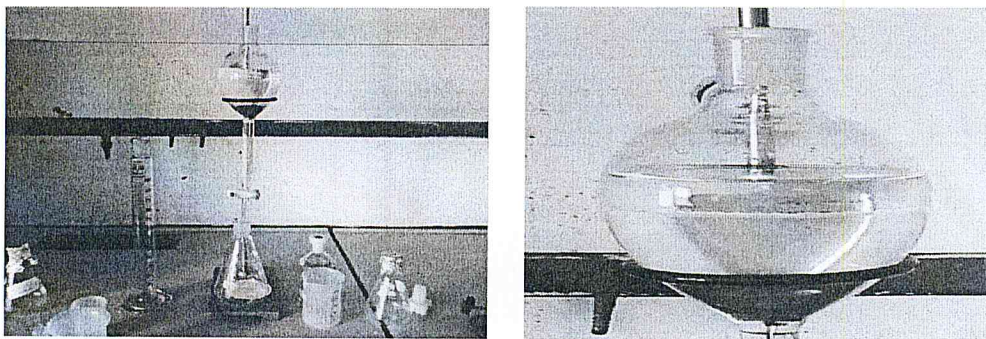


**Figure 6 :** Dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau

Les vapeurs produites traversent la matière végétale en entraînant l'huile essentielle. Le mélange hétéroazéotrope est condensé au niveau du réfrigérant, connecté à l'ampoule à décanter, le mélange hydrolat-huile essentielle est récupéré dans un bécher, il est constitué d'eau aromatique (contenant quelques constituants de l'huile essentielle soluble dans l'eau) et de l'huile essentielle insoluble dans l'eau.

### **2.3.1.2 Extraction liquide-liquide de l'huile essentielle**

Le mélange hydrolat-huile essentielle récupéré subit une extraction liquide-liquide à l'éther pour isoler l'huile essentielle.



**Figure 7 :** extraction liquide-liquide de l'huile essentielle

L'hydrolat est mélangé dans une ampoule à décanter avec environ 20 ml d'éther diéthylique (immiscible avec l'eau), après agitation et décantation, on obtient alors deux phases. Une phase organique ou étherée qui contient l'huile essentielle et une phase aqueuse qui est la plus dense.

La phase étherée est ensuite séparée et filtrée sous la hotte sur le sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) pour éliminer toute trace d'eau.

On procède à l'évaporation de l'éther jusqu'à l'obtention des gouttelettes visqueuses d'huile, qui sont récupérés à l'aide d'une pipette pasteur et un peu d'éther et stockée dans un petit flacon hermétique à froid et à l'abri de la lumière.

## 2.3.2 Préparation des extraits lipidiques

### 2.3.2.1 Mode opératoire

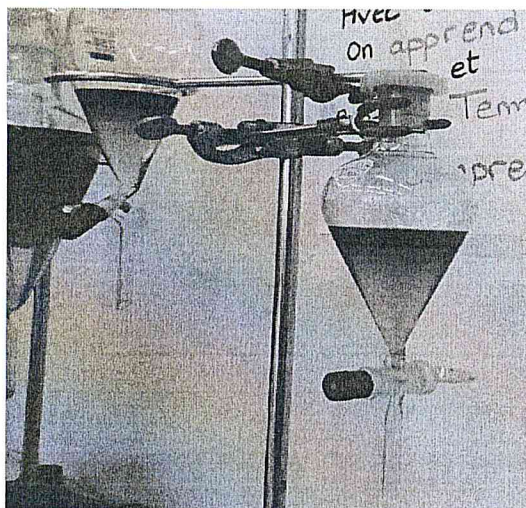
On mélange une quantité précise de matière végétale (feuilles, tiges, grains d'*Euphorbe*) avec le mélange solvant Dichlorométhane/ Méthanol (V/V : 1/1) on le laisse séjourner pendant 7 jours avec agitation de temps à autre.

Enfin d'extraction, on récupère une miscella (solvant + extrait) par filtration.



### 2.3.2.2 Extraction liquide-liquide de l'extrait

Le miscella est mélangé dans une ampoule à décanter à 20 ml d'eau distillé et 20 ml d'éther. Après agitation et décantation, on obtient deux phases; Une phase organique ou étheré qui contient l'extrait et une phase aqueuse.



**Figure 8 :** Extraction liquide-liquide de l'extrait lipidique

La phase étheré est ensuite séparée et filtrée sous la hotte sur le sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) pour éliminer toute trace d'eau.

Ensuite on procède à l'évaporation de l'éther jusqu'à l'obtention d'un extrait pâteux. On récupère à l'aide d'une pipette pasteur et un peu d'Ether dans un petit flacon hermétique et on conserve à froid et à l'abri de la lumière.

## 2.4 Analyse de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata* par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

L'analyse de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata* a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/SM.

Grace à cette technique, il devient possible d'obtenir un spectre de masse interprétable pour des quantités de substance qui va du microgramme au nanogramme.



### ❖ Condition d'analyse

L'analyse est effectuée sur un chromatographe en phase gazeuse HEWLETT-PACKARD-HP-6890 couplé à un spectromètre de masse HP 5972, dans les conditions suivantes :

- Une colonne capillaire de type VF-ms (eq DAB-1 et/ou HP-1), de longueur 30m d'un diamètre interne de 0,25mm et une épaisseur du film de 0,25 µm.
- Un gaz vecteur (hélium) d'un débit de 0,3ml/mn.
- Un potentiel d'ionisation du spectromètre de masse égale à 70 eV.
- La programmation du four est : 80(5') -3°/mn-280(10).
- Injection d'une quantité de 2 µl en mode Split : 1/90.
- Les échantillons de l'huile essentielle sont dilués dans l'acétate d'éthyle à 1%.

## 2.5 Résultat et discussion

### 2.5.1 Rendement de l'huile essentielle et de l'extrait lipidique

#### a. Rendement de l'huile essentielle

Le rendement en huile essentielle ou en extrait est le rapport entre la masse de produit extrait et la masse de la plante sèche. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R \% = (\text{masse d'huile essentiel récupéré} / \text{la masse de matière végétale}) * 100$$

[59].

Une masse de 235.7g de plante sèche a permis d'obtenir 5 L d'hydrolat et 0.0585 g de l'huile essentielle soit un rendement faible de 0.024 %.

#### b. Rendement de l'extrait lipidique

En utilisant des masses de 70.2 g d'*E.paniculata* et 15.5 g d'*E.phymatosperma*, nous avons obtenus des masses d'extrait respectifs de 3.07 mg et 0.19 mg soit des rendements de 4.38 % et 5.13%.

Nous constatons que les rendements obtenus sont assez important par rapport à ceux habituellement obtenus chez d'autres espèces [60].

### 2.5.2 Propriétés organoleptiques

Nous avons estimé les propriétés organoleptiques à savoir l'aspect, la couleur et l'odeur de l'huile essentielle *d'E.paniculata* et des extraits lipidiques *d'E.paniculata* et *d'E.phymatosperma*.

Les tableaux 2.1, 2.2 et 2.3 regroupent les propriétés organoleptiques et les rendements respectifs obtenus.

**Tableau 2.1 :** Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle *d'E.paniculata*

Propriétés organoleptiques	
Aspect	Liquide mobile
Couleur	Jaune foncé
Odeur	Caractéristique
Masse obtenus	0.0585 g
Rendement d'huile essentielle	0.024 %
Masse utilisé de plante sèche	235.72 g
Hydrolat récupéré	5 L

**Tableau 2.2 :** Propriétés organoleptiques d'extrait *d'E.paniculata*

Propriétés organoleptiques <i>d'Euphorbia paniculata</i>	
Aspect	Patte
Couleur	Vert foncé
Odeur	Caractéristique
Masse obtenus d'extrait lipidique	3.07 mg
Rendement d'extrait lipidique	4.38 %
Masse utilisé <i>d'Euphorbia paniculata</i>	70.2g

**Tableau 2.3 :** Propriétés organoleptiques d'extrait d'*E.phymatosperma*

Propriétés organoleptiques d' <i>Euphorbia phymathosperma</i>	
Aspect	Patte
Couleur	vert foncé
Odeur	Caractéristique
Masse obtenus d'extrait lipidique	0.19 g
Rendement d'extrait lipidique	5.13 %
Masse utilisé d' <i>Euphorbia phymathosperma</i>	15.5g

### 2.5.3 Analyse de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata syn.algeriensis* par CG/SM

Après une analyse CG/SM sur l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata syn.algeriensis*, nous avons obtenu le chromatogramme présent dans la figure 10.

Le tableau 2.4 regroupe les produits identifiés, avec le temps de rétention, la formule brute et le pourcentage correspondant à chaque produit.

**Tableau 2.4 :** Composés identifiés, temps de rétention, formule brute et pourcentage

N° de composé	T <sub>R</sub> (min)	Nom du composé	Pourcentage %
01	18.01	Tridécano	Trace $\tau < 0.01\%$
02	22.171	n-Tétradécano	2.427
03	26.163	Pentadécano	1.888
04	29.172	NI1	7.241
05	29.955	Hexadécano	2.623
06	33.545	n-Heptadécano	2.154
07	33.702	NI2	1.306
08	36.565	NI3	2.646



09	36.889	NI4	2.352
10	36.956	NI5	1.891
11	37.00	Octadécane	Trace
12	39	Nonadécane	Trace
13	40.211	NI6	1.354
14	43.030	1-Docosene	4.770
15	43.4	Eicoséne	trace
16	49.148	Docosane	9.925
17	50.456	NI7	2.906
18	51.832	NI8	1.843
19	52.07	Tricosane	Trace
20	53.778	NI9	2.119
21	54.460	Tétracosane	12.114
22	56.205	NI10	1.652
23	56.955	NI11	3.447
24	57.312	NI12	2.635
25	59.370	NI13	3.401
26	59.4	pentacosane	Trace
27	61.730	NI14	3.478
28	63.978	Hexatriacontane	5.598

L'examen du tableau 2.4, montre que la composition chimique de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata syn.algeriensis* est dominée par les alcanes. On constate la présence d'un mélange contenant des composés appartenant à une série homologue d'alcane linéaires allant du tétradécane à l'hexatriacontane, l'hydrocarbure majoritaire étant le tétracosane avec 12.11 %.

Nous n'avons pas pu identifier une fraction de produits représentant 40.90 %, les données du spectre de masse ainsi que les banques de données spectrales nous ont pas permis de faire l'identification avec exactitude.

Nous avons noté l'absence de produits terpéniques couramment rencontrés dans les huiles essentielles.

L'espèce *Euphorbia paniculata* est connue pour être une espèce à alcaloïdes, ces derniers ne sont pas présents dans la composition de l'huile essentielle.

Le procédé d'entraînement à la vapeur n'a pas permis leur extraction. Il faut noter que certaines huiles essentielles sont riches en alcaloïdes comme c'est le cas de l'huile essentielle *d'E.larica* et *d'E.vergata* [38].

Les données des spectres de masse des produits inconnus sont présent sous forme de m/z (abondance %) des principaux fragments :

**NI1:** 41(68%), 43(100%), 55(42%), 71(66%).

**NI2:** 41(36%), 44(61%), 57(70%), 97(100%).

**NI3:** 41(81%), 44(100%), 57(74%), 97(45%).

**NI4:** 43(83%), 57(100%), 71(62%), 85(36%).

**NI5:** 43(91%), 57(100%), 71(61%), 85(42%).

**NI6:** 43(94%), 44(75%), 57(100%), 71(61%).

**NI7:** 43(91%), 57(100%), 71(62%), 85(38%).

**NI8:** 43(76%), 57(100%), 71(64%), 85(37%).

**NI9:** 44(66%), 57(76%), 70(44%), 129(100%).

**NI10:** 44(46%), 55(31%), 149(100%).

**NI11:** 43(77%), 57(100%), 71(59%), 85(38%).

**NI12:** 43(76%), 57(100%), 71(59%), 85(39%).

**NI13:** 43(79%), 57(100%), 71(62%), 85(41%).

**NI14:** 41(32%), 43(80%), 57(100%), 71(62.5%).

# CHAPITRE 3 :

**TESTS**

**D'ACTIVITÉS**

**BIOLOGIQUES**



### **3.1 Test d'activités microbiologiques**

#### **3.1.1 Effet bactériostatique**

L'effet bactériostatique d'une substance se manifeste par une inhibition de la croissance bactérienne sans aucune destruction des microorganismes, d'ailleurs la croissance microbienne reprend dès que la substance disparaît.

#### **3.1.2 Effet antifongique**

Les antifongiques sont des substances qui manifestent un effet fongicide ou fongistatique. Ils sont efficaces sur les levures, les champignons. Ces composés sont efficaces contre les dermatophytes et les moisissures. Les antifongiques sont éventuellement bactéricides.

#### **3.1.3 But et principe**

Le but de cette étude microbiologique repose sur l'évaluation de l'activité anti-microbienne de l'huile essentielle *d'E.paniculata*, de l'extrait *d'E.paniculata* et de l'extrait *d'E. phymatosperma* [28].

Le principe consiste à estimer l'inhibition de la croissance de microorganismes (bactéries et levures) soumis au contact de l'extrait de la plante et de l'huile, par la méthode de diffusion sur plaque de gélose en utilisant des disques absorbants.

#### **3.1.4 Matériels**

Les analyses antimicrobiennes ont été réalisées sur l'huile essentielle *d'E.paniculata*, extrait *d'E.paniculata* et extrait *d'E. phymatosperma* au niveau du laboratoire physico-chimique de complexe SAIDAL antibiotical,

### 3.1.4.1 Appareillage et verrerie

- Bain marie.
- Agitateur.
- Étuve réglée à 37 °C.
- Bec benzène.
- Disques absorbants stérilisé  
diamètre
- Béchers stériles.
- Boîte de pétri de 90 mm stérile.
- Tubes en verre stérile.
- Micro pipettes.
- Pincés stériles.
- Vortex
- Ecouvillon stériles

### 3.1.4.2 Solutions et milieux de culture

- Eau physiologique stérile.
- Milieu gélose au sang frais.
- Milieu gélose Sabouraud.
- Milieu soja agar.
- Myristate d'isopropyle.

### 3.1.4.3 Microorganisme étudiés

**Tableau 3.1** : Microorganisme étudiés

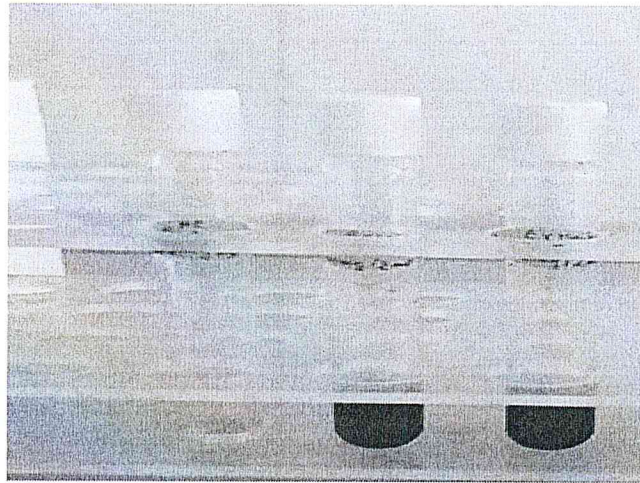
Bactéries	Levures
<i>Escherichia coli</i> ATCC10536.	<i>Candida albicans</i> (levure) ATCC10231.
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29737.	
<i>Staphylococcus épidermidis</i> ATCC12228.	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853.	
<i>Enterobacter</i> (Hôpital Boufarik).	
<i>Enterococcus</i> (Hôpital Boufarik).	
<i>Sarcina lutea</i> (Institut Pasteur IPA).	
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC49619.	

<i>Proteus mirabilis</i> (Hôpital Boufarik).	

#### 3.1.4.4 Préparation des solutions

Pour l'ensemble des tests antibactériens, la substance à étudier (extraits ou huile essentielle) est solubilisée dans le Myristate d'isopropyle.

Nous avons préparé des solutions de 1% (10 mg/ml) et de 2% (20 mg/ml) dans le Myristate d'isopropyle (figure 10).



**Figure 09** : Dissolution de l'huile essentiel et des extraits dans le Myristate d'isopropyle

#### 3.1.5 Protocole expérimental

##### 3.1.5.1 Préparation de l'inoculum

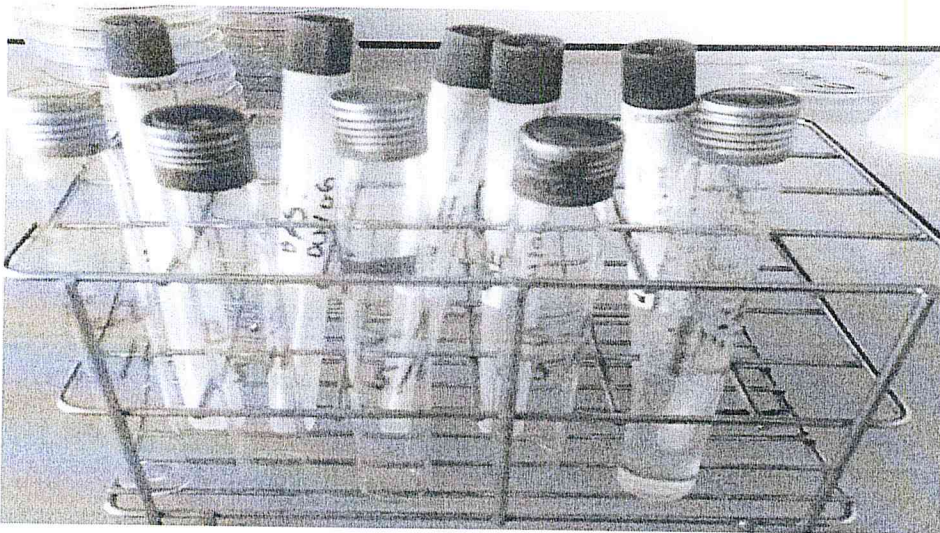
- **Pour les bactéries**

A partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, puis décharger l'anse dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% et bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à une DO de 0,08-0,1 lue à 625 nm. L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum (figure 11).



- **Pour les levures**

A partir d'une culture jeune de 48 h, on réalise des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques, qu'on mettra ensuite dans 5 ml d'eau physiologique stérile. On procède à l'agitation au vortex pendant quelques secondes. Puis on réalise une lecture de la transmittance avec le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm et qui doit être entre (2 % - 3 %) ce qui correspond à une concentration de  $10^7$  -  $10^8$  germes/ml

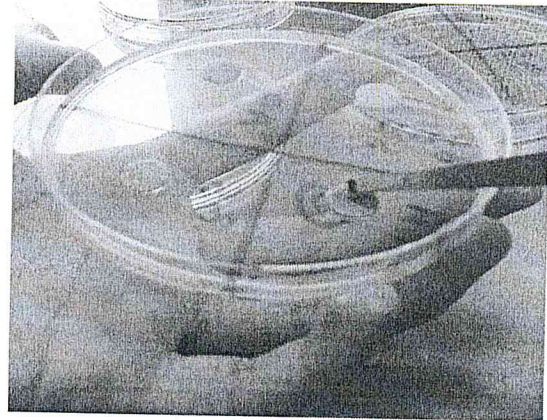


**Figure 10** : les souches avec leurs écouvillons

### 3.1.5.2 Ensemencement des souches

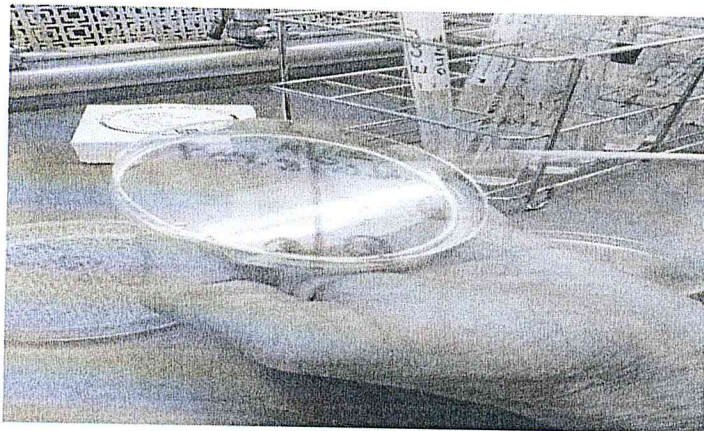
On trempe un écouvillon stérile dans cette suspension, puis on étale sur le milieu soja agar pour les bactéries et le milieu sabouraud pour les levures dans des boîtes Pétri déjà préparées. Il faut noter que toute l'opération s'est faite dans la zone stérile du bec bunsen.

On dispose à la pince flambée sur les milieux de cultureensemencée de la boîte Pétri des disques de papier buvard imbibés de notre substance à tester, puis on appuie légèrement afin de faciliter l'adhérence (figures 12 et 13).



**Figure11** : disque imbibé dans l'extrait **figure 12** : dépôt des disques dans la  
boite pétrie

On retourne les boites Pétri (pour éviter que l'eau de condensation dans la boite Pétri perturbe la surface du milieu gélosé) et on les place dans cette position dans l'étuve à la température de  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h pour les bactéries et  $25^{\circ}\text{C}$  pour la levure pendant 48H (figure 14).

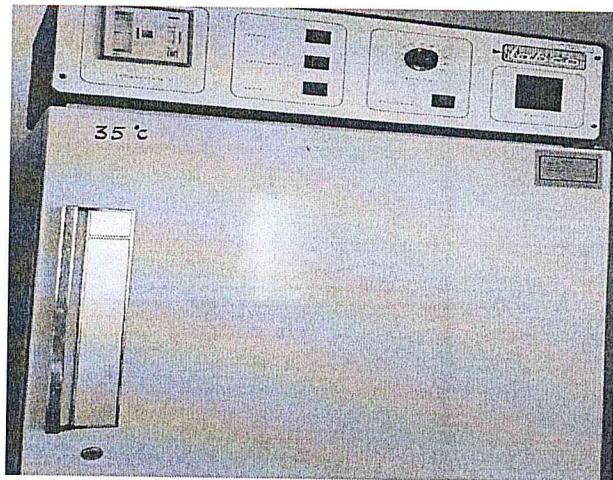


**Figure13** : Ensemencement dans le milieu de culture

### 3.1.6 Résultats et discussion du pouvoir antimicrobien

L'évaluation in vitro de l'activité antibactérienne a été réalisée par la technique de diffusion en puits en utilisant le milieu soja agar pour les bactéries et le milieu sabouraud pour les levures. L'activité antimicrobienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des puits après 24h ou 48h d'incubation à la température adéquat pour le développement du germe. Les résultats du test de l'effet antimicrobien sont résumés dans le tableau 3.1





**Figure 14 :** Incubateur

**Tableau 3.2 :** Evaluation de la zone d'inhibition en fonction de la nature de la souche

Souches Bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition		
	Huile essentielle d' <i>E.</i> <i>algeriensis</i>	Extrait d' <i>E.</i> <i>algeriensis</i>	Extrait d' <i>E.phymathosper</i> <i>ma</i>
<i>Escherichia coli</i> (1)	-----	-----	-----
<i>Bacillus subtilis</i> (2)	-----	<u>11</u>	<u>4</u>
<i>Staphylococcus aureus</i> (3)	<u>13</u>	<u>23</u>	<u>22</u>
<i>Staphylococcus épidermidis</i> (4)	-----	-----	-----
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (5)	-----	-----	-----

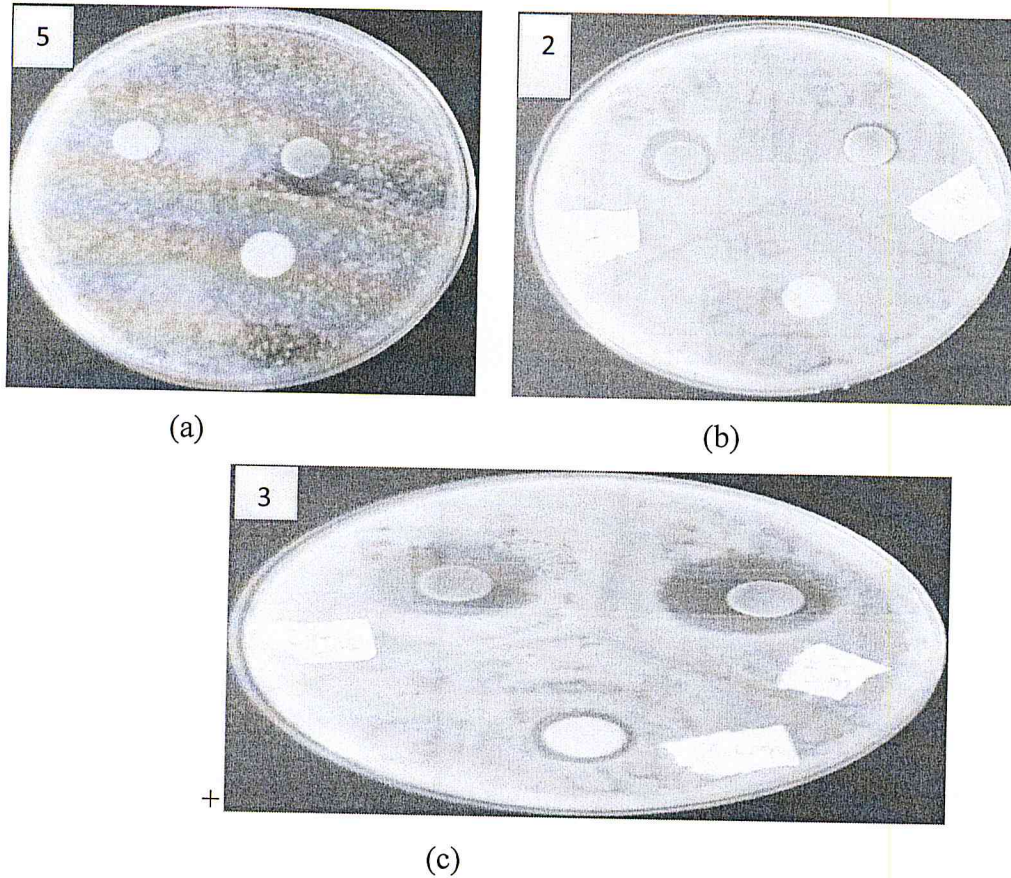


<i>Enterobacter</i> (6)	-----	-----	-----
<i>Enterococcus</i> (7)	<u>22</u>	<u>17</u>	<u>19</u>
<i>Sarcina lutea</i> (8)	-----	-----	-----
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (9)	-----	-----	-----
<i>Proteus mirabilis</i> (10)	-----	-----	-----
<i>Candida albicans</i> (11)	-----	-----	-----

Au vue des résultats obtenus, nous avons constaté un effet antimicrobien des extraits lipidiques d'*E. algeriensis* et d'*E.phymathosperma* et pour les germes *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Enterococcus* avec des zones d'inhibition de croissance allant de 11 à 23 mm de diamètre (figures16 : b, c).

En revanche, une absence totale d'activité antimicrobienne a été enregistré pour les germes *Candida albicans*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Sarcina lutea*, *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus épidermidis* et *Escherichia coli* a été constaté par l'huile essentielle et les deux extraits (figure16 : a).

Ceci nous amené à conclue que l'effet antimicrobienne des extraits d'*E. algeriensis* et d'*E.phymathosperma* présente une spécifité d'action pour les germes *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Enterococcus*.



**Figure 15 :** Résultat du test d'activité antimicrobienne (a) absence du zone d'inhibition, (b), (c) présence de zone d'inhibition

Nous avons aussi constaté que l'huile essentielle *d'E.algériensis* présente une activité antimicrobienne notable envers les germes *Enterococcus* et *Staphylococcus aureus*, mais dans l'ensemble, les extraits des plantes *d'E. algeriensis* et *d'E.phymathosperma* qui on fait attribuer l'activité antimicrobienne en raison de la présence de molécule active de haut poids moléculaire. Cette activité a été déjà notée pour le genre *Euphorbia* [38].

### **3.1 Test d'activité anti-inflammatoire [61]**

#### **3.2.1 Activité anti-inflammatoire (test de Levy) : (CULOT, 1972)**

##### **3.2.1.1 But**

Ce test a pour objectif de déterminer les étapes à suivre pour contrôler l'activité anti-inflammatoire par voie orale du produit à tester à savoir l'huile essentielle d'*E.paniculata*, l'extrait d'*E.paniculata* et l'extrait d'*E. phymatosperma* afin de garantir la fiabilité des résultats.

Il permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester l'huile essentiel d'*E.paniculata*, l'extrait d'*E.paniculata* et el'xtrait d'*E.phymatosperma* et du produit de référence correspondant IBUPROFENE compimé 200mg.

##### **3.2.1.2 Principe**

Le principe de la méthode consiste à injecter la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris qui provoque une réaction inflammatoire donc un œdème qui peut être réduit par un produit anti-inflammatoire.

#### **3.2.2 Matériel animal**

##### **❖ Pour l'activité anti-inflamatoire**

Nous avons utilisé pour l'étude de l'activité anti-inflamatoire des animaux du laboratoire de pharmacotoxicologie, des souris issues de l'élevage de l'animalerie SAIDAL antibiotical, ayant les caractères suivants :

- Espèce : souris albinos
- Sexe : mal, femelle
- Nombre : 30
- Poids : 19 à 21g /20g+-2g.
- Alimentation : Granulés » O.N.A.B»
- Boisson : Eau de robinet ad libitum



### ❖ Condition d'hébergement

Les animaux sont placés dans un local contrôlé. la température est comprise entre 20 à 24°C, la photopériode est assurée 10 heures par jour, et le taux d'humidité est de l'ordre de 50%.

### 3.2.3 Protocole expérimental

#### 3.2.3.1 Préparation du produit à injecter

On prend une masse de 10mg de notre substance (huile essentielle d'*E.paniculata* ou extrait d'*E.paniculata* ou extrait d'*E.phymatosperma*) on le fait dissoudre dans 5 ml de mélange (4.5 ml d'eau distillé + 0.5 ml de Tween) (figures 17)

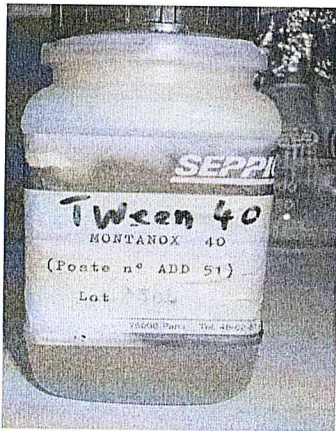


Figure 16 : Tween

Figure 17 : Carragénine

Figure 18: Antalfen<sup>R</sup>

#### 3.2.3.2 Préparation du la solution carragénine

On met 25 ml d'eau distillé dans un petit bécher, on lui ajoute progressivement de la carragénine (0.5g), puis on ajuste le volume à 50 ml avec de l'eau distillé (figure 18).

### 3.2.3.3 Préparation de la solution du produit de référence (Antalfen<sup>R</sup> Ibuproène 200mg)

- ✓ Pour la préparation de cette solution, on utilise Antalfen comprimé 200mg (figure 19).

La dose active : 1200mg /60kg (VIDAL, 2008)

Le poids moyen des souris est de 20g, et chacune d'elles reçoit 0.5 ml de médicament, soit 0.4 mg/souris.

Un comprimé d'Ibuprofène de 200 mg est dissout dans 250 ml d'eau distillé, soit un volume injecté pour la souris de 0.5 ml.

### 3.2.4 Mode opératoire

Pour réaliser ce test, il faut suivre les étapes suivantes :

- ❖ La veille du test les souris sont mises à jeun (figure 20).

On constitue 5 lots de 6 souris chacun

- ❖ Lot témoin négatif T<sup>-</sup> : qui reçoit l'eau distillé.
- ❖ Lot témoin positif T<sup>+</sup> : qui reçoit la solution d'Antalfen.
- ❖ Lot essai E<sub>1</sub> : qui reçoit le produit d'huile essentiel d'*E.paniculata*.
- ❖ Lot essai E<sub>2</sub> : qui reçoit le produit extrait d'*E.paniculata*.
- ❖ Lot essai E<sub>3</sub> : qui reçoit le produit d'extrait d'*E.phymathosperma*.

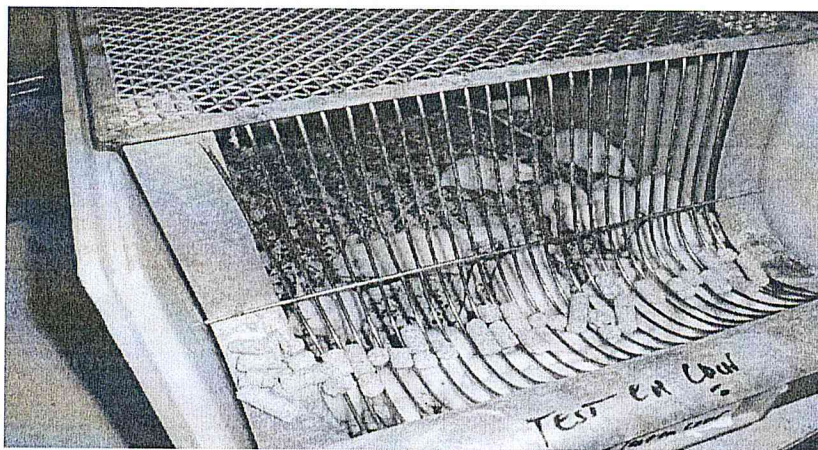


Figure 19 : Des souris mises à jeun

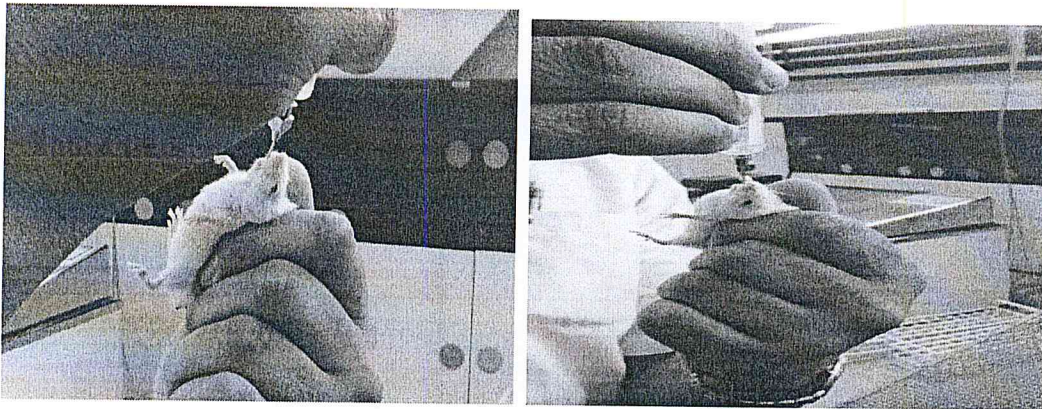


## Le jour du test

### **Au temps $T_0$**

On administre aux 6 lots les suspensions suivant par voie orale (figure 21):

- ❖ Lot témoin négatif  $T^-$  : chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau distillé.
- ❖ Lot témoin positif  $T^+$  : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit d'Antalfen 200 mg à la dose active.
- ❖ Lot essai  $E_1$ ,  $E_2$  et  $E_3$ : chaque souris reçoit 0.5 ml de produit d'huile essentiel *d'E.paniculata*, d'extrait *d'E.paniculata* et d'extrait *d'E.phymathosperma* a la dose active.

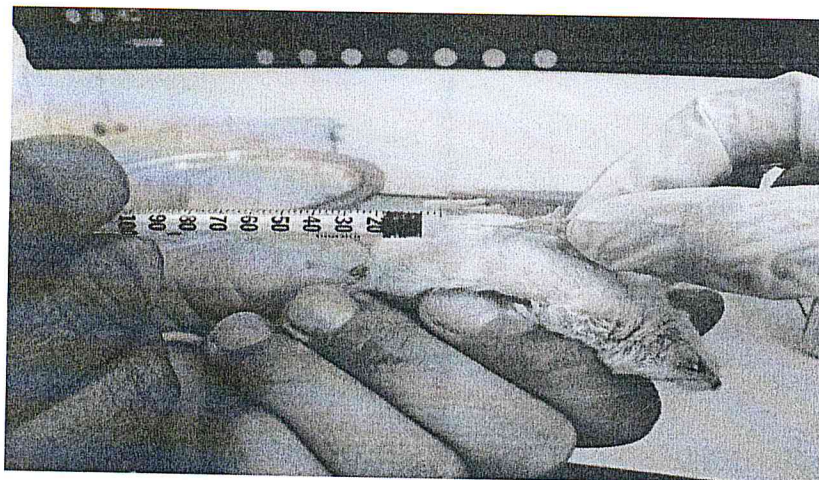


**Figure 20** : le gavage des souris

### **Au temps $T_0+30$ min :**

On injecte la solution de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous volume de 0.025 ml à tous les animaux mis en expérience (figure 22).



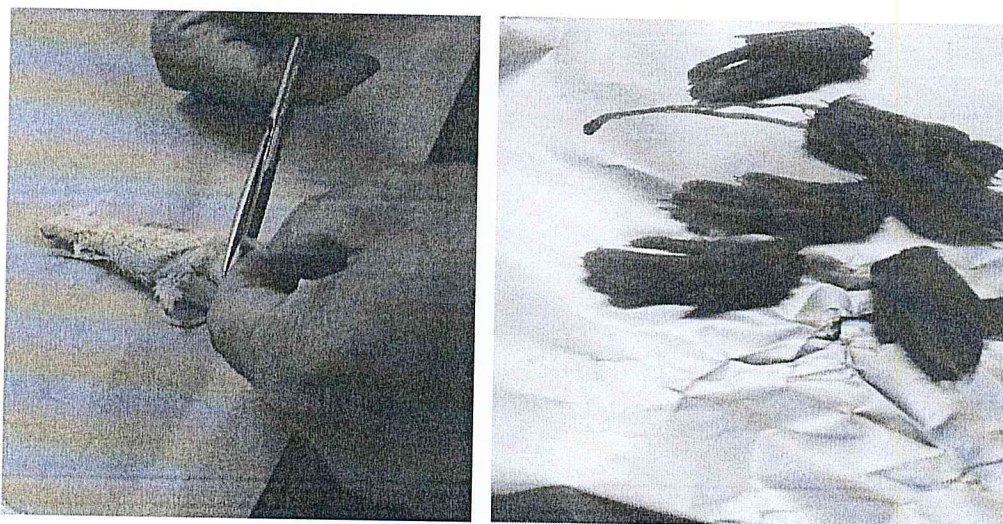


**Figure 21:** Injection de carragénine

### 3.2.5 Résultat et discussion

**Au temps  $T_0+4h$  :**

- ❖ On sacrifie les animaux par rupture de la nuque ou par l'éther.
- ❖ On coupe les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et on les pèse sur une balance analytique (figure 23).



**Figure 22 :** coupure des pattes

### Résultats et discussion

Le tableau suivant représente les moyennes arithmétiques des poids de pattes arrière gauches et droites de chaque lot des souris :

**Tableau 3.3 :** Moyennes arithmétiques des poids de patte arrière gauche et droite

Lot	Moyennes de patte arrière gauche (mg)	Moyennes de patte arrière droite (mg)
T <sup>-</sup>	130.2	111.6
T <sup>+</sup>	151.2	135
E <sub>1</sub>	138	104.6
E <sub>2</sub>	125.6	111.4
E <sub>3</sub>	118.6	114.4

- ❖ Le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% œdème) est calculé par la formule suivante :

Moyenne des poids de la patte gauche – moyenne des poids de la patte droite

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{Moyenne des poids de la patte gauche} - \text{Moyenne des poids de la patte droite}}{\text{Moyenne des poids de la patte droite}} * 100$$

- ❖ Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin négatif} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin négatif}} * 100$$

**Tableau 3.4 :** Le pourcentage d'œdème et de réduction de l'œdème de chaque lot

Lot	% d'œdème	% de réduction de l'œdème
T <sup>-</sup>	16.66	
T <sup>+</sup>	12	27.97
E <sub>1</sub>	31.93	-91.65



E <sub>2</sub>	12.74	23.52
E <sub>3</sub>	3.67	77.97

A l'issue de ce test, on remarque une réduction considérée du % d'œdème pour l'extrait d'*E. algeriensis* qui est de l'ordre de 23% ce qui est comparable à celui du produit de référence (27%), et (77%) pour l'extrait d'*E.phymathosperma* ce qui représente une activité antiinflammatoire très intense donc d'une grande efficacité.

Cette activité anti-inflammatoire s'explique par l'inhibition de synthèse des prostaglandines qui font réduire le pourcentage d'œdème.

Cette étude mérite d'être poursuivie et démontré par une étude histologique afin de mettre en évidence le mécanisme d'action mis en jeu.

Nous avons aussi constaté un effet aggravant de l'œdème par l'huile essentielle (-91%) qui peut être attribué probablement à une toxicité de l'huile essentielle elle-même, qu'il faudra donc mettre en évidence par une étude toxicologique . Cette activité a été citée dans la partie bibliographique pour le genre *Euphorbia* [38].

### **3.3 Test d'activité antioxydant**

#### **3.3.1 Introduction**

Les propriétés antioxydants des huiles essentielles sont depuis peu massivement étudiées. Le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibres entre la production de radicaux libres et d'enzymes anti-oxydantes, est en relation avec l'apparition de maladies telles que l'Alzheimer, l'artériosclérose et le cancer. Une façon de prévenir ce stress oxydatif qui endommage et détruit les cellules est de rechercher, dans l'alimentation, un apport supplémentaire de composés antioxydants (vitamine C,  $\alpha$ -tocophérol, ect...) [62].



### 3.3.2 Dosage de l'activité antioxydante

Pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (diphénylpicryl-hydrayl) comme un radical libre relativement stable [62].

#### 3.3.3 Principe

Dans ce test les antioxydants réduisent le diphénylpicryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphénylpicryl-hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu.

#### 3.3.4 Mode opératoire

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 25 µL des solutions d'extraits ou standards (Vitamine E) sont ajoutés à 975 µL DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm.

#### 3.3.5 Expression des résultats

L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\%PI = \frac{(Abs\ controle - Abs\ echantillon)}{Abs\ controle} \times 100$$

##### 3.3.5.1 Estimation du pouvoir antioxydant par la méthode au DPPH

Le test de piégeage des radicaux libres par la méthode du DPPH a été réalisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits.

Le DPPH (2,2- diphénylpicryl-hydrazyl) est une molécule contenant un radical libre stable.

La présence d'un antioxydant (qui peut donner un électron au DPPH et donc le piégé) provoque une diminution de l'absorbance du DPPH à 515-517 nm.

Cette variation de l'absorbance est suivie par spectrophotométrie ultraviolette.

Comparé à d'autres méthodes, d'analyse de DPPH a beaucoup d'avantage, tels que la bonne stabilité, une sensibilité crédible, la simplicité et la faisabilité.

Les résultats d'analyse par DPPH ont été présentés de plusieurs manières. La majorité d'études expriment les résultats par la valeur de l'IC50, définie comme étant la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration initiale de DPPH de 50%. Cette valeur est déduite graphiquement.

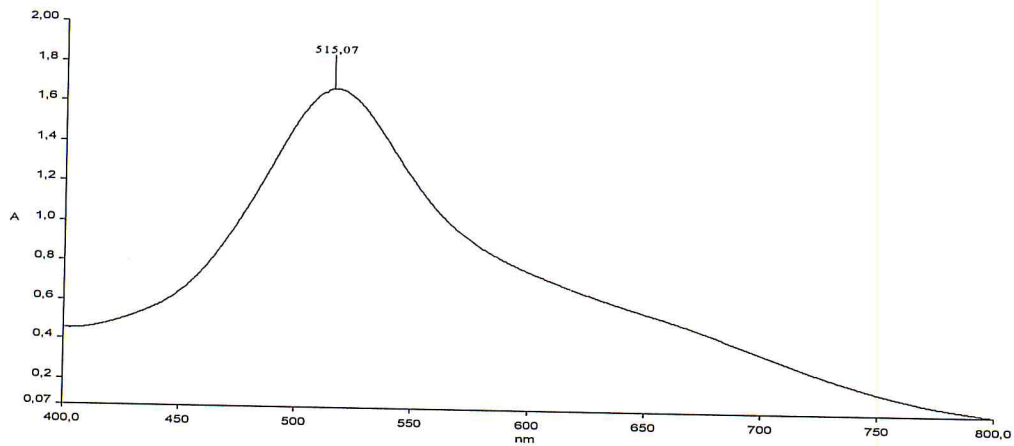
### 3.3.5.2 Préparation des solutions (figure 24)

- **Témoin négatif T<sup>-</sup>**: 2.4 mg de DPPH ont été pesé exactement et déposé dans une fiole jaugée de 100 ml. Le méthanol a été ajouté jusqu'au trait de jauge. Après une bonne agitation, la solution de DPPH est stockée dans l'obscurité et dans un environnement sec. La solution de DPPH doit être préparé le jour des analyses car ce radical se dégrade à la lumière.
- Les deux extraits d'*E.paniculata* et d'*E. phymathosperma*, a été pesé avec précision 75 mg et dissoute dans du méthanol 25 ml pour produire une solution mère de concentration connue 3 mg/ml. Dans des tubes à essai, on met 1 ml de méthanol dans chaque tube, on rajoute des volumes allant successivement (solution mère, 1/30, 1/15, 1/10, 1/5, 1/3, 2.5/5, 5/7.5, 6/8, 5/6) de la solution de DPPH préparer ultérieurement, bien agité à l'aide du Vortex, et mettre à l'abri de la lumière. On laisse réagir pendant 30 mn à température ambiante, puis on note leurs absorbances à 515 nm.



Figure 23 : préparation des solutions

- Un blanc a été préparé avec 1 ml de méthanol et 1 ml de DPPH.
- **Témoin positif T<sup>+</sup>** : c'est le témoin négatif plus acide ascorbique.
- On lire les Do (densité optique de solution mère et des 10 tube a 515 nm.



**Figure 24** : Vérification de l'absorbance max de la DPPH.

### 3.6 Résultat et discussion

Le tableau présente les résultats

**Tableau 3.5**: Bilan des différents extraits et leurs résultats.

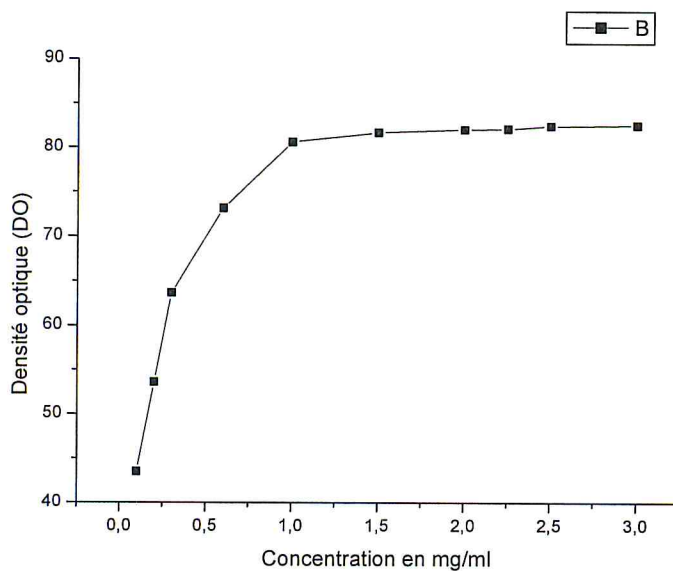
Concentration	EXT <i>E.phymathosperma</i>		EXT <i>E.algeriensis</i>	
	Do	AA %	Do	AA%
0.1	0.552	42.01	0.575	39.60
0.2	0.429	54.93	0.409	57.03
0.3	0.336	64.70	0.348	63.44
0.6	0.248	73.94	0.263	72.37
1	0.179	81.19	0.204	78.57
1.5	0.169	82.24	0.180	81.09
2	0.166	82.56	0.173	81.82
2.25	0.165	82.66	0.171	82.03
2.5	0.162	82.98	0.169	82.24
3	0.161	83.08	0.168	82.35

On note: pour T  $\lambda=515$  nm Do=0.952

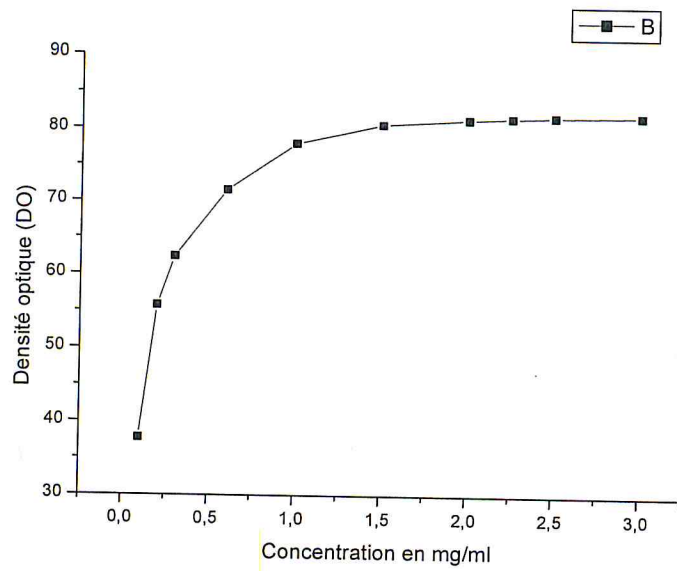


Les figures représentent les absorbances du DPPH résiduel en fonction de la concentration de la source de l'antioxydant. Elles montrent une diminution importante de l'absorbance du DPPH à des doses très fortes des extraits, les courbes des figures représentant l'activité antioxydante en fonction de la concentration, montrent une augmentation importante du pourcentage de l'activité anti oxydante à des doses élevées des extraits.

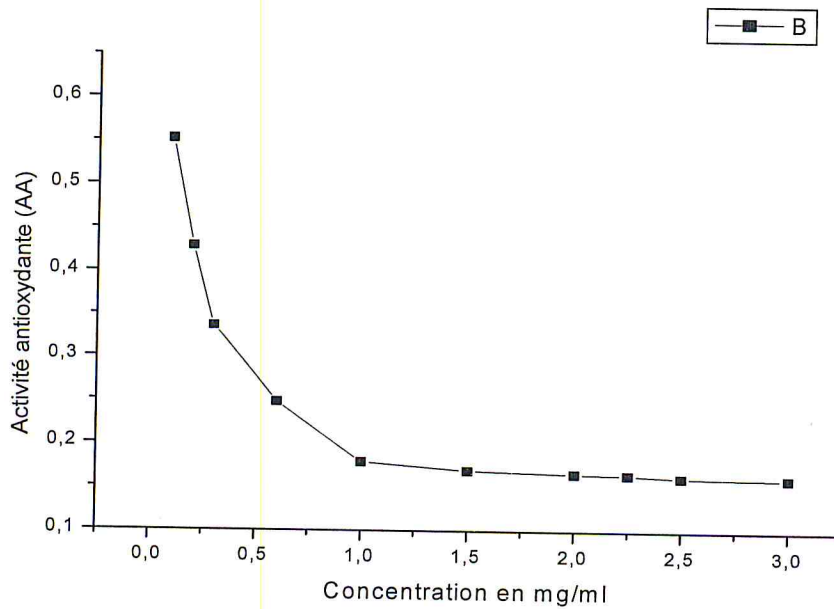
Les figures (28, 30) représentent les absorbances du DPPH résiduel en fonction de la concentration de la source de l'antioxydant. Elles montrent une diminution importante de l'absorbance à des doses très élevés, les figures (27, 29) représentant l'activité antioxydante en fonction de la concentration, montrent une augmentation importante à des doses très élevés.



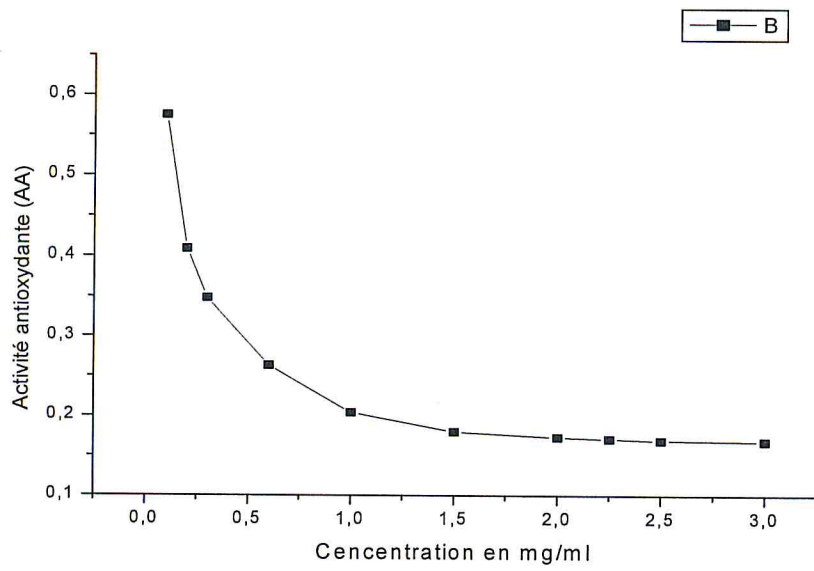
**Figure 25 :** Pouvoir anti-oxydant en fonction de concentration d'*E.paniculata*



**Figure 26** : Pouvoir anti-oxydant en fonction de concentration *d'E.phymatosperma*



**Figure 27** : Densité optique en fonction de concentration *d'E.paniculata*



**Figure 28** : Densité optique en fonction de concentration d'*E.phymatosperma*



# CONCLUSION

Le présent travail consiste en une étude chimique et étude d'activité biologique de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata syn.algeriensis*, ainsi qu'une étude d'activité biologique des extraits lipidiques de deux espèces : *Euphorbia paniculata syn.algeriensis* et *Euphorbia phymatosperma*.

L'analyse de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata syn.algériensis* a été effectuée par CG/SM. La composition chimique renferme exclusivement des alcanes linéaires allant de tétradécane à l'héxatracontane, le tetracosane est le produit majoritaire (12.11%).

L'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata syn.algeriensis* et les deux extraits d'*Euphorbia paniculata syn.algeriensis* et *Euphorbia phymatosperma* ont manifesté une activité antimicrobienne modérée vis-à-vis des souches *Enterococcus* et *Staphylococcus aureus*, mais pour la souche *Bacillus subtilis* uniquement les deux extraits en sont actifs.

Et ce qui concerne l'activité antioxydante, nous avons démontré que les extraits ont un effet puissant sur les radicaux libres, démontré par une réduction croissante du DPPH.

Enfin, L'activité anti-inflammatoire des deux extraits réalisée sur les souris blanches de souche albinos était positive et démontrée par un pourcentage de réduction d'œdème assez intéressant notamment pour l'extrait d'*Euphorbia phymatosperma* (77%).

La composition chimique et l'activité biologique des huiles essentielles et des extraits lipidiques du genre *Euphorbia* n'ont encore jamais été étudiés ce qui ouvre d'intéressantes perspectives de recherche pour les années à venir: l'identification des composés inconnus de l'huile essentielle, séparation des composés, afin d'attribuer les activités aux familles chimiques responsables.

## **RÉFÉRENCES**



## Référence

- [1] **H.Haba** « Etude phytochimique de deux Euphorbiaceae sahariennes : *Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut. et *Euphorbia retusa* Forsk », Thèse de doctorat, université El hadj Lakhdar, Batna-Alger, 2008.
- [2] **P.Quezel, S.Santa**, «Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales », CNRS (Ed.), Vol.1-2, 600-606, 1963.
- [3] **G.L.Webster**, «The saga of the spurge: a review of classification and relationships in the Euphorbiales. », Botanical Journal of Linnean Society, 94, 3-44, 1987.
- [4] **H.M.Burkill**, «The useful plants of West Tropical Africa. »,2eme Ed. V2, Families E–I. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom. 636, 1994.
- [5] **M.Atiqur Rahman, J.S.Mossa, M.S.Al-Said & M.A.Al-Yahya**, «Medicinal plant diversity in the flora of Saudi Arabia 1», a report on seven plant families. Fitoterapia. 75: 149–161, 2004.
- [6] **W James, A Horn, W Benjamin, Ee b van, J.Jeffery, C.Morawetz, D.Ricarda, E.Riina, W.Victor, F.Steinmann, E. Paul, D.Berry, Kenneth, J.Wurdack**, «Phylogenetics and the evolution of major structural characters in the giant genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) », American Journal of Botany, 63(2): 305-326, 2000.
- [7] **K Haniyeh, Seyyed nejad, Seyyed Mansour, Motamedi Hossein**. « A preliminary study on the antibacterial activity of *Euphorbia Granulata* Forssk against some pathogens», Journal of American Science, 7(8), 511-520, 2011
- [8] **T.Boudiar, L.Hichem, A.Khalfallah, A.Kabouche, Z.Kabouche, I.Brouard, J.Bermejo, C.Bruneau** , «A new alcaloid and flavonoids from arial parts of *E. guyoniana*», (L.O.S.T), Nat Prod Commun, 5 (1):35-7, 2010.

- [9] **G.H. Schmelzer**, «*Euphorbia granulata* Forssk», PROTA Network Office Europe, Wageningen University, P.O. Box 341, 6700 AH Wageningen, Netherlands, 2008.
- [10] **Jelena Zilic, Gioacchino Falsone, Giuditta Scialino, Elena Banfi**, « Diterpenes from *Euphorbia Peplus* »*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Volume 13(24), 4345–4350, 2003.
- [11] **A.R.Jassbi**, « Phytochemical investigations on some medicinal plants from families Euphorbiaceae and lamiaceae. Ph.D», thèse de doctorat, Université de Karachi, Pakistan., 2000.
- [12] **M.Hmamouchi**, « Plantes alimentaires, aromatiques, condimentaites, medicinales et toxiques au Maroc », Programme d'Aménagement Côtier du Rif central (PAC-Maroc), Chania [Grèce] : CIHEAM-IAMC, 89-108, Maroc, 1997.
- [13] **Shi, QW; Su, XH; Kiyota, H** «Chemical and pharmacological studies of the plants from genus *Euphorbia*. », *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2), 61-146, 2009.
- [14] **Suthagar Pillai 1, Lee Wei Cai 1, Roziahaman Mahmud 1, Surash Ramanathan** « Determination of Minimum Inhibitory Concentration of *Euphorbia hirta* (L.) Extracts by Tetrazolium Microplate Assay Shanmugapriya Perumal 1», *Journal of Natural Products*, 5, 68-76, 2012.
- [15] **A.Falodun, L.O.Okunrobo, N.Uzoamaka**, « Phytochemical screening and anti-inflammatory evaluation of methanolic and aqueous extracts of *Euphorbia heterophylla* Linn (Euphorbiaceae) », University of Benin, Benin City, Nigeria, 2006.
- [16] **N. R. Farnsworth, H. Wagner, L. Hörhammer, H. P. Hörhammer, H. H. S.Fong**, «Preliminary phytochemical and biological evaluation of *Euphorbia esula* L. (*Euphorbiaceae* I) »
- [17] **Y.Aynehchi, M.Mojtabaii, K.Yazdizadeh**, «Chemical examination of *Euphorbia tinctoria* », Rustaiyan, *Acta pharma*, 53, 143–144,1972.

- [18] **Shi, HM; Williams, ID; Sung, HHY; Zhu, HX; Ip, NY; Min, ZD** « Cytotoxic diterpenoids from the roots of *Euphorbia ebracteolata* », *Planta Med*, 2005.
- [19] **Liu, WK; Ho, JCK; Qin, GW; Che, CT jolkinolide B induit**, « La différenciation neuroendocrine des ressources humaines de la prostate LNCaP lignée de cellules cancéreuses », *Journal of Natural Products*, 75 (4), 586–590, 2012.
- [20] **Amir Reza Jassbi** « Chemistry and biological activity of secondary metabolites in *Euphorbia* from Iran », Thèse de doctorat, Université de Karachi, Pakistan, 2002.
- [21] **D.Kritli**, « Etude chimique et microbiologique de l'huile essentielle de *calendula algeriensis* », Mémoire de master, université Saad Dahleb de Blida-Algerie, 2011.
- [22] **P.Ozenda**, « Flore et végétation du Sahara », In: (Ed.) CNRS, Paris, 329-331, 1991.
- [23] **R.E.Spichiger, V.V.Savolainene, M.Figeat**, « Botanique et systématique des plantes à fleurs ». Ed. Presse polytechniques et universitaires Romandes, Lausanne, 2000.
- [24] **Carl von Linné**, « *Euphorbia*. Espèces Plantarum », Laurent Salvi. 2 vol. 1ère éd, 1753.
- [25] **R.E.Spichiger, V.V.Savolainene, M.Figeat**, « Botanique systématique des plantes à fleurs », Ed. Presse polytechniques et universitaires Romandes, Lausanne 2000.
- [26] **G.L.Webster**, « The saga of the spurge: a review of classification and relationships in the Euphorbiales. », *Botanical Journal of Linnean Society*, V(94) issue 1-2, 3-46, 1987.



[27] **N.Crespi-Perellino, L.Garofano, E.Arlandini, V.Pincioli**, «Identification of new diterpenoids from *Euphorbia calyptata* cell cultures», *Journal of Natural Products*, 59(8), 773-776, 1996.

[28] **D.Borghi, L.Baumer, M.Ballabio, E.Arlandini**, « Structure elucidation of helioscopinolides D and E from *Euphorbia calyptata* cell culmtures», *J. Nat. Prod.*, 54, 1503-1508, 1991.

[29] **A.R.Lal, R.C.Cambie, P.S.Rutledge, P.D.Woodgate**, « Ent-pimarane and ent-abietane diterpens from *Euphorbia fidjiana*», *Phytochemistry* 29, 2239-2246, 1990.

[30] **A.R.Lal, R.C.Cambie, P.S.Rutledge, P.D.Woodgate**, « Ent-atisane diterpenes from *Euphorbia fidjiana*. ». *Phytochemistry* 29, 1925-1935, 1990.

[31] **M. José, U. Ferreira , Ana M. Lobo , Caroline A. O'Mahoney , David J. Williams and Hugo Wyler**, « Euferol and melliferol: two novel triterpenoids from *Euphorbia mellifera* », *Journal of the Chemical Society*, 1, 185-187, 1990.

[32] **M.B.Gewali, M.Hattor, Y.Tezuka, T.Kikuchi, T.Namba**, « Constituents of the latex of *Euphorbia antiquorum*», *Phytochemistry* 29, 1625-1628, 1990.

[33] **T.Akihisa, E.M.K.Wijeratne, H.Tokuda, F.Enjo, M.Toriumi, Y.Kimura, K.Koike, T.Nikaido, Y.Tezuka, H.Nishino**, « Eupha-7,9(11),24-trien-3 $\beta$ -ol (Antiquol C) and other triterpenes from *Euphorbia antiquorum* latex and their inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation», *J. Nat. Prod.* 65, 158-162, 2002.

[34] **M.Zahid, S.R.Husani, M.Abbas, Y.Pan, A.R.Jassbi, M.Parvez Asim, M. W.Voelter, V.U.Ahmad**, , « Eight new diterpenoids from *Euphorbia decipiens*», *Helv. Chim. Acta* 84, 980-1988, 2001.

[35] **V.U.Ahmad, A.R.Jassbi, M.Parvez**, « Three new diterpene ester from *Euphorbia decipiens*», *Tetrahedron* 54, 1573-1584,1998.

[36] **R.Murillo, J.Jakupovic**, « Glycosides from *Euphorbia aucherii*», *Ing.Cienc. Quim.* 18, 57-60, 1998.

- [37] **Y.Aynehchi, N.Kiumehr**, « Chemical examination of *Euphorbia myrsinites*», *J. Pharm.Sci.* 61, 292–293, 1974.
- [38] **A.Ulubelen, Y.Aynehchi, B.Halfon**, « a study of hydrocarbon and hydroxyl-fatty acid components of wax in *Euphorbia larica Boiss* », *Iranian Journal of Biology*, 12(1-2), 29-37, 2002
- [39] **A.Niknejad, Z.Sharif, M Izaddoost**, « Triterpenes from *Euphorbia petiolata*. » *Fitoterapia*, 53, 143–144, 1982.
- [40] **J.Bellakhdar**, « *La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle.* » Ibis Press, 290–291, 1997.
- [41] **H.Luo , A. Wang** , «Induction of apoptosis in K562 cells by jolkinolide B.», *Can. J. Physiol*, 84(10), 65-959, 2006.
- [42] **Shi, JS; Li, ZX; Nitoda, T.; Minoru, I.; Hiroshi, K.; Naomichi, B.; Kazuyoshi, K.; Shuhei, N**, « Antinematodal activities of ingenane diterpenes from *Euphorbia kansui* and their derivatives against the pine wood nematode», *Z. Naturforsch., C: Biosci.* , 63 , 59–65, 2008.
- [43] **Shi, JX; Li, ZX; Izumi, M.; Baba, N.; Nakajima, S**, « Termiticidal activity of diterpenes from the roots of *Euphorbia kansui*», *Z. Naturforsch., C: Biosci*, 63 , 51–58, 2008.
- [44] **T.Matsumoto, J.C.Cyong, H.Yamada**, « Stimulatory effects of ingenols from *Euphorbia kansui* on the expression of macrophage », *Planta Med* , 58 , 255–258, 1992.
- [45] **M.D.Sayed, A.Riszk, F.M.Hammouda, M.M.Elmissiry, E.M.Williamson, F.J.Evans**, « Constituents of Egyptian Euphorbiaceae. 9. Irritant and cyto-toxic ingenane esters from *Euphorbia paralias*», *Experientia* , 36 , 1206–1207, 1980.
- [46] **G.Vogg, E.Mattes, J.Rothenburger, N.Hertkorn, A.Stefan, J.H.Sandermann**, « La promotion de diterpènes de *Euphorbia leuconeura*», *Phytochimie L.*, 51, 289-295, 1999.

- [47] **L.Betancur-Galvis, E.Palomares, Marco le juge, E.Estornell**, « Diterpènes tigliane du latex *obtusifolia* de *Euphorbia* avec une activité inhibitrice sur la respiratoire mammalienne mitochondriale chaîne». *J. Ethnopharmacol.*, 85, 279-282, 2003.
- [48] **H.H.Ott; E.Hecker**, « Highly irritant ingenane type diterpene esters from *Euphorbia cyparissias* »L. *Experientia*, 37 , 88–91, 1981.
- [49] **DG.Wu, B.Sorg, E.Hecker**, « Oligocyclic and macrocyclic diterpenes in thymelaeaceae and Euphorbiaceae occurring and utilized in Yunnan (Southwest China). 6. Tigliane type diterpene esters from latex of *Euphorbia prolifera*», *Phytother. Res*, 8, 95–99, 1994.
- [50] **MO.Fatope, L.Zeng, JE.Ohayaga, G.Shi, McLaughlin**, « Diterpènes JL sélective cytotoxiques à partir de *Euphorbia poisonii*», *J. Med. Chem.*, 39, 1005-1008, 1996.
- [51] **IB.Baloch, MK.Baloch, Saqib**, « QN Tumor-Promoting Diterpene Esters from Latex of *Euphorbia cauducifolia* »L. *Helv. Chim. Acta*, 88, 3145–3150,2005.
- [52] **JA, JF.Sanz-Cervera, A.Yuste, J.Jakupovic**, «Isoterracinolides A and B, novel bishomoditerpene lactones from *Euphorbia terracina* », *J. Nat. Prod.*, 62, 110–113, 1999.
- [53] **YB.Wang, R.Huang, HB.Wang, HZ.Jin, LG.Lou, Qin** « GW Diterpenoids from the roots of *Euphorbia fischeriana*». *J. Nat. Prod.* , 69 , 967–970, 2006.
- [54] **N.Crespi-Perellino, L.Garofano, E.Arlandini, V.Pincioli, A.Minghetti, FF.Vincieri, B.Danieli**, « Identification of new diterpenoids from *Euphorbia calyptata* cell cultures», *J. Nat. Prod.*, 59 , 773–776, 1996.



[55] **Lu, ZQ; Yang, M.; Zhang, JQ; Chen, GT; Huang, HL; Guan, SH; Ma, C.; Liu, X.; Guo,** « DA Ingenane diterpenoids from *Euphorbia esula*. »Phytochemistry, 69 , 812–819,2008.

[56] **Liu, WZ; Wu, XY; Yang, GJ; Ma, QG; Zhou, TX; Tang, XC; Qin, GW,**«12-deoxyphorbol esters from *Euphorbia fischeriana* . *Chin. Chem. Lett* »,7 ,917–918, 1996

[57] **A.Falodun, L.O.Okunrobo and N.Uzoamaka,** « Phytochemical screening and anti-inflammatory evaluation of methanolic and aqueous extracts of *Euphorbia heterophylla* Linn (Euphorbiaceae) », these of doctored, University of Benin, Nigeria, 40-60, 2006.

[58] **Eve E Bralley, Phillip Greenspan, James L Hargrove, Louise Wicker and Diane K Hartle,** «Topical anti-inflammatory activity of *Polygonum cuspidatum* extract in the TPA model of mouse ear inflammation», *Journal of Inflammation*, 5:1, 2008.

[59] **P.Caree,** « précis de technologie et de chimie industrielle », Ballière JB.ET fils, 1953.

[60] **Y.R.Naves, S.Sabetay, L.Palrfay,** « L'analyse des parfums naturel (essences concrètes, produits d'enfleurage, essences absolues) », Ed Annales de chimie analytique, 1974.

[61] **Andrew M. Edwards,** «Using likelihood to test for Lévy flight search patterns and for general power-law distributions in nature.», *Journal of Animal Ecology*, 77, 1212–1222, 2008.

[62] **Sanchez-Moreno,** «methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. », *Food Science and Technology International*, 8 (3), 121-137, 2002.

# Glossaire

## **a. Anti tumorale**

Le traitement du cancer utilisant des agents chimiques ou de médicaments spécifiques qui sont sélectivement destructeurs pour les cellules malignes et les tissus.

Le traitement de la maladie en utilisant des agents chimiques ou des médicaments qui sont sélectivement toxique pour l'agent causal de la maladie, comme un virus, une bactérie ou autre micro-organisme [58].

## **b. Anti-inflammatoire**

Une inflammation est un processus physiologique en réponse à des lésions tissulaires résultant d'une infection pathogène microbien. Une inflammation se manifeste par quatre signes principaux : rougeur, chaleur, gonflement, douleur[58].

## **c. Antalgique**

Du grec anti (contre) et algos (douleur). Les antalgiques sont soit périphériques, agissant à l'endroit de la douleur, soit centraux, agissant sur le système nerveux central (moelle épinière, cerveau). Les antalgiques périphériques, dont certains sont également efficaces contre la fièvre, sont représentés essentiellement par le paracétamol et l'aspirine. Les antalgiques centraux sont en général dérivés de la morphine : la codéine, le dextropropoxyphène et le tramadol sont des morphiniques mineurs ; la morphine, la buprénorphine, la pentazocine et la péthidine sont des morphiniques majeurs. [58]

## **d. Antibactériennes**

L'adjectif « antibactérien » a conservé son sens premier et propre. Il qualifie tout ce qui sert à lutter contre les bactéries, agents de très nombreuses maladies infectieuses telles que le choléra, la lèpre, la syphilis, le tétanos, la tuberculose ou le typhus [58].

## **e. Antivenéneux**

C'est une substance qui combat l'effet toxique des venins de morsure de serpent de scorpion. C'est un produit biologique utilisé dans le traitement de venimeux morsures ou piqûres [58].

## **f. Antimicrobienne**

L'adjectif « antibactérien » a conservé son sens premier et propre. Il qualifie tout ce qui sert à lutter contre les bactéries, agents de très nombreuses maladies infectieuses [58].

## **g. La tension artérielle**

Hypertension artérielle consécutive à une diminution du débit sanguin artériel dans un rein. L'hypertension rénovasculaire est due à une sténose (rétrécissement) de l'artère rénale, causée en général par la formation d'une plaque d'athérome (dépôt lipidique) sur la paroi interne de l'artère ; dans ce cas, elle atteint le plus souvent des hommes âgés de plus de 50 ans. Plus rarement, cette sténose est due à une dysplasie fibromusculaire (anomalie de la paroi artérielle) ; l'hypertension rénovasculaire affecte alors plutôt la femme jeune [58].