

COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'ASTRAGALUS GOMBO COLLECTEE A PARTIR DE DEUX SITES DE LA TUNISIE

Hassen TEYEB^{a,b*}, Olfa HOUTA^b, Wahiba DOUKI^b, Mohamed NEFFATI^a

^(a) Laboratoire d'Écologie Pastorale, Institut des Régions Arides de Médenine, Tunisie.

^(b) Laboratoire de Biochimie-Toxicologie, CHU Fattouma Bourguiba de Monastir, Tunisie.

(Reçu le 10 Novembre 2010, accepté le 16 Janvier 2012)

RESUME: Les huiles essentielles d'*Astragalus gombo* collectée à partir de deux sites de la Tunisie ont été extraites par hydrodistillation et analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de la plante collectée à partir de Sidi Bouzid est plus diversifiée que celle de la plante récoltée à partir de Sbitla. Pour les deux provenances, le phytol représente le composé majeur avec une teneur dépassant 31%. L'évaluation de l'activité antioxydante des HE par le test de DPPH montre que les concentrations inhibitrices 50 % sont de $1,4 \pm 0,2$ et $2,8 \pm 0,4$ mg/ml respectivement pour Sidi Bouzid et Sbitla. La variation de la composition et de l'activité des huiles pourrait être due à la différence des conditions climatiques entre les deux sites de collecte de cette plante.

Mots clés : Composés volatils, CPG/SM, Phytol, Activité antioxydante

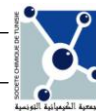
ABSTRACT: The essential oils of *Astragalus gombo* collected from two locations in Tunisia were extracted by hydrodistillation and analysed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS). Results showed that the essential oil composition of plant collected from Sidi Bouzid was more diversified than oil of plant collected from Sbitla. For the two locations, the major compound is the phytol with an amount exceeding 31%. The antioxidant activity of the isolated oils, evaluated by DPPH assay at 50%, showed that inhibitrice concentrations were 1.4 ± 0.2 mg/ml and 2.8 ± 0.4 mg/ml respectively for Sidi Bouzid and Sbitla locations. The variation in composition and antioxidant activity of oils can be related to the difference of climatic conditions between plant accessions.

Keywords: Volatile Compounds, GC/MS, Phytol, Antioxidant activity.

INTRODUCTION

Le genre *Astragalus* de la famille des Fabacées comprend plus de 1500 espèces dont la plupart se répartissent en Orient. Une cinquantaine d'espèces sont retrouvées en Afrique du Nord et quinze environ au Sahara [1]. La flore tunisienne comprend plusieurs astragales [2, 3] dont *Astragalus gombo*. Cette espèce, n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique, du moins au niveau de la Tunisie. Plusieurs espèces d'*Astragalus* trouvent des applications en médecine traditionnelle et moderne. Les feuilles d'*Astragalus caprinus* sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des hémorroïdes. *Astragalus mongholicus* Bunge et *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge sont utilisées comme remède pour plusieurs maladies [4, 5, 6]. Plusieurs constituants des astragales pharmacologiquement actifs, telles que les saponines et les polysaccharides, ont des effets hépatoprotecteurs, immunostimulants et antiviraux [7]. Dans le cadre du renforcement de l'effort national relatif à la valorisation des plantes de la flore tunisienne, ce travail vise à caractériser les constituants chimiques des huiles essentielles d'*Astragalus gombo* et leur pouvoir antioxydant en vue de la valorisation de cette espèce.

* Correspondant, e-mail : teyeb.hassen@gmail.com



MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Les parties aériennes de la plante ont été récoltées à partir de deux sites : Sidi Bouzid (34° 54' 38" N, 009° 44' 21" E, 251 m d'altitude) et Sbitla (35° 12' 00" N, 009° 13' 49" E, 432 m d'altitude) au cours de la phase de floraison.

2. Extraction des HE

L'HE a été extraite à partir de la partie aérienne fraîche par hydrodistillation pendant 4 h par un appareil de type Clevenger. Les échantillons ont été traités par le sulfate de sodium anhydre pour éliminer les traces d'eau. Les huiles ont été conservées à + 4°C et à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation.

3. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)

Les différents échantillons ont été analysés avec un chromatographe en phase gazeuse de type Agilent Technologies 6890 N couplé à un spectromètre de masse de type Agilent 5973 B. Une colonne de type HP-5MS (0,25 mm de diamètre interne, de 30 m de longueur et de 0,25 µm d'épaisseur de film) a été utilisée. La phase stationnaire est constituée de 5 % de phényl méthyl silicone et 95 % de diméthyl polysiloxane. La température du four est programmée de 50°C à 250°C à raison de 7 °C/min avec deux paliers, un à 50°C (1 min) et un autre à 250°C (5 min). Le débit du gaz vecteur (azote) est de 1,2 ml/min. L'énergie d'ionisation est 70 eV et le mode d'acquisition des données est le mode scan. Le volume injecté est de 1 µL pour chaque échantillon.

Les divers constituants d'HE, ont été identifiés par leurs indices de rétention (IR) calculés par rapport aux temps de rétention d'un mélange d'alcane linéaires C₆-C₃₀ et par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux stockés dans deux bibliothèques de spectres de masse (Wiley 275 et Nist 0.5). Les IR ont été aussi justifiés par comparaison avec ceux rapportés dans la littérature.

4. Etude de l'activité antioxydante

L'activité antiradicalaire de l'HE dissoute dans le méthanol a été évaluée par le test de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Une prise d'essai de 500 µl est mise en présence de 500 µl d'une solution de DPPH 0,4 % dans le méthanol. Après agitation, le mélange est placé à 37°C pendant 15 minutes à l'obscurité. Pour chaque concentration, l'essai est répété trois fois et la mesure de l'absorbance a été faite à 517 nm par un spectrophotomètre UV-visible [8]. Le témoin est composé de 500 µl de la solution méthanolique au DPPH et de 500 µl de méthanol. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (PI) selon la formule suivante : $PI (\%) = \frac{\text{absorbance du témoin} - \text{absorbance de l'extrait}}{\text{absorbance du témoin}} \times 100$. La concentration inhibitrice 50 % (CI₅₀) est déduite de la courbe PI en fonction des concentrations.

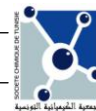
RESULTATS ET DISCUSSION

La composition chimique des HE d'*Astragalus gombo* est déterminée, à notre connaissance, pour la première fois. L'hydrodistillation a permis d'obtenir une huile jaune avec un rendement d'environ 0,01 % pour les deux échantillons. Les différents constituants des HE extraites à partir des parties aériennes sont récapitulés dans le tableau I. L'analyse d'HE de la partie aérienne de la plante récoltée à partir de Sbitla pendant la floraison met en évidence la présence de treize composés (86,32 %) dont le phytol est le composé majeur (31,99 %). Par contre, quarante quatre composés, représentant un total de 86,83 %, sont identifiés dans l'HE d'*Astragalus gombo* récoltée de Sidi Bouzid. Le phytol (31,14%) et l'acide hexadécanoïque (14,57 %) représentent les composés majeurs de cette huile.

Tableau I: Compositions chimiques des HE d'*Astragalus gombo* collectée à partir de Sbitla et Sidi Bouzid au cours de la floraison.

IR ^a	Composé	Sbitla	Sidi Bouzid
800	Octane	-	0,39
801	Héxanal	0,37	-

IR ^a	Composé	Sbitla	Sidi Bouzid
854	<i>trans</i> -2-hexéanal	-	0,30
935	α -pinène	-	0,18
951	Camphène	-	0,14
992	1-octèn-3-ol	-	0,29
993	2-pentyl-furan	-	0,61
1019	α -terpinène	-	0,47
1033	1,8-cinéole	-	0,77
1060	γ -terpinène	-	0,87
1071	<i>Cis</i> -sabinène hydrate	-	0,77
1090	Terpinolène	-	0,26
1101	<i>trans</i> -sabinène hydrate	-	0,55
1105	Nonanal	-	0,71
1126	1-méthyl-4-(1-méthylethyl)-2-cyclohexen-1-ol	-	0,28
1150	Camphor	-	0,80
1154	1-(1,4-diméthyl-3-cyclohexen-1-yl)-ethanone	-	0,34
1173	Bornéol	-	0,82
1177	Thujèn-2-one	-	0,39
1183	4-terpinéol	-	4,41
1230	Non identifié	-	0,34
1294	Dihydroedulan II	-	0,48
1298	Dihydroedulan I	-	0,34
1320	<i>trans, trans</i> -2,4-decadiéanal	1,54	1,17
1455	Geranyl acetone	-	0,78
1492	β -ionone	3,79	0,84
1514	Tridécanal	-	0,25
1599	Hexadecane	-	0,35
1614	Tétradécanal	-	0,77
1641	Dillapiole	1,45	0,68
1716	Pentadécanal	1,81	2,30
1780	Non identifié	-	0,36
1815	Hexadécanal	-	0,51
1844	6, 10,14-triméthyl-2-pentadécanone	4,84	3,24
1880	Hexadécanol	-	0,99
1893	Linoléolate d'ethyle	6,36	7,08
1920	Acide hexadécanoïque méthyl ester	5,65	0,49



IR ^a	Composé	Sbitla	Sidi Bouzid
1966	Acide hexadécanoïque	8,77	14,57
2075	Acide 9,12-octadécadiénoïque méthyl ester	-	0,32
2094	Phytol	31,99	31,14
2118	Acide 9,12-octadécadiénoïque	9,97	2,52
2138	Acide Octadécanoïque	1,74	0,60
2170	Non identifié	-	0,78
2217	Non identifié	-	0,32
2397	9-octadécénamide	-	1,10
2544	Acide 1,2-benzènedicarboxylique mono (2-éthylhexyl) ester	3,61	
Total		86,32	86,83

^a IR : indice de rétention relatif aux *n*-alcanes C₆-C₃₀

Il existe une large différence qualitative entre les compositions des deux huiles qui pourrait être attribuée à la variation des facteurs climatiques entre les deux provenances. En effet, il a été démontré que les conditions climatiques influencent la composition des HE [9]. La température, l'humidité relative, la durée d'insolation et le régime des vents exercent une influence directe, surtout sur les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielles. Il faut mentionner aussi que la composition d'une HE peut être influencée par le procédé de son obtention [10]. En effet, au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent modifier la composition des HE (isomérisations, hydrolyse des esters,...).

L'évaluation de l'activité antioxydante des HE a montré que les CI₅₀ sont respectivement de $1,4 \pm 0,2$ et $2,8 \pm 0,4$ mg/ml respectivement pour Sidi Bouzid et Sbitla. Cette activité est faible comparativement à celle de l'acide ascorbique qui a montré une CI₅₀ de $7,36 \pm 0,70$ µg/ml. L'HE la plus riche en composés a montré le pouvoir antioxydant le plus important. L'activité antioxydante détectée dans les HE d'*Astragalus gombo* pourrait être due au composé majeur, le phytol. En effet, ce diterpène est connu par ses activités biologiques diverses en tant qu'agent anti-cancéreux, anti-inflammatoire et antimicrobien. Il est aussi le précurseur de vitamines E et K. L'acide hexadécanoïque, présent à des teneurs considérables, possède aussi un pouvoir antioxydant [11].

Peu d'études concernant les composés volatils des espèces du genre *Astragalus* sont rapportées dans la littérature. Krasteva *et al.* ont étudié les HE d'*Astragalus corniculatus* et leur activité cytotoxique [12]. Dans une autre étude, Platikanov *et al.* ont élucidé la composition des HE de quatre espèces d'*Astragalus* pendant trois stades phénologiques [13]. Qualitativement, il existe des similarités entre la composition chimique des HE de ces espèces et celle des HE d'*Astragalus gombo*. Le phytol est présent dans les HE d'*Astragalus corniculatus* cultivée et spontanée durant tous les stades de développement de la plante [12]. Ce composé représente aussi 19,63 % d'HE des feuilles d'*Astragalus gombiformis* pendant la floraison [14]. Il représente 26 % des composés volatils de la partie aérienne d'*A. glycyphyllos* pendant la floraison [13].

Les HE d'*Astragalus gombo* renferment quelques composés actifs comme le γ -terpinène possédant une activité antioxydante et l' α -pinène, le camphène et le terpinène-4-ol possédant des activités antibactérienne et anti-inflammatoire [15, 16, 17].

Etant donné que la taxonomie des astragales connaît un changement permanent, l'élucidation de la composition des HE de ces espèces peut contribuer à la chimiotaxonomie dans le genre *Astragalus* de la famille des Fabacées.

REFERENCES

- [1] Ozenda P, *Flore et végétation du Sahara*, CNRS éditions, **1991**.
- [2] E. Le Folc'H. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne : 2^ère partie. Imprimerie officielle de la république tunisienne, 1983.
- [3] G. Pottier-Alapetite, Flore de la Tunisie. 1^ère partie. Tunisie : Imprimerie Officielle de la République tunisienne, **1979**.
- [4] H. Lei, B. Wang, W.P. Li, Y. Yang, A.W. Zhou, M.Z., *Acta Pharmacol. Sin.*, **2003**, 24, 230-234.
- [5] N. Semmar, B. Fenet, K. Gluchoff-Fiasson, G. Comte, M. Jay, *Chem. Pharm. Bull.*, **2002**, 50, 981-984.
- [6] X.Yin, Y.Zhang, J. Yu, P. Zhang, J. Shen, J. Qiu, H. Wu, X. Zhu, *J. Pharmacol. Sci.*, **2006**, 101, 166-173.
- [7] J. L. Ríos, P. G. Waterman, *Phytother. Res.*, **1997**, 11, 411-418.
- [8] A. Braca, C. Sortino, M. Politi, I. Morelli, J. Mendez. *J. Ethnopharmacol.*, 2002, 79, 379-381
- [9] M. S. Abu-Darwish, Z.H.M. Abu-Dieyeh, *Int. J. Agric. Biol.*, **2009**, 11, 59-63.
- [10] J. Bruneton, *Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales*, Editions Tech & Doc, France, **1999**.
- [11] P. P. Kumar, S. Kumaravel, C. Lalitha, *Afr. J. Biochem. Res.*, **2010**, 4, 191-195.
- [12] I. Krasteva, Platikanov S., G. Momekov, S. Konstantinov, S. Nikolov, *Nat. Prod. Res.*, **2008**, 22, 969-974.
- [13] S. Platikanov, S. Nikolov, D. Pavlova, L. Evstatieva, S. Popov, *Z. Naturforsch.*, **2005**, 60c, 591-599.
- [14] H. Teyeb, S. Zouari, W. Douki, M.F. Najjar, M. Neffati, *Acta Hort.*, (ISHS) **2010**, 853, 263-268.
- [15] D. R. Batish, H. P. Singh, R. K. Kohli, S. Kaur, *For. Ecol. Manage.*, **2008**, 256, 2166-2174.
- [16] F. Menichini, F. Conforti, D. Rigano, C. Formisano, F. Piozzi, F. Senatore, *Food Chem.*, **2009**, 115, 679-686.
- [17] R. Yan, Y. Yang, Y. Zeng, G. Zou, *J. Ethnopharmacol.*, **2009**, 121, 451-455.