

COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DE L'EXTRAIT ÉTHANOLIQUE D'OMBELLES D'AMMI *VISNAGA* (L.) LAM.

LATRECHE - DOUAR Sabrina^{1*}, MOHAMMEDI Sarah¹, YESLI Abdenour¹ et HAZZIT Mohamed²

1. Laboratoire Alimentation, Transformation, Contrôle et Valorisation des Agro-ressources, École Supérieure des Sciences de l'Aliment et des Industries Agroalimentaires (ESSAIA). Avenue Ahmed Hamidouche, Beaulieu, Oued Smar 16200, Alger, Algérie.

2. École Nationale Supérieure Agronomique (ENSA). Département de Technologie des Industries Agro-alimentaires. Avenue Hassan Badi, El Harrach 16200, Alger, Algérie.

Reçu le 05/09/2022, Révisé le 30/11/2022, Accepté le 03/12/2022

Résumé

Description du sujet : *Ammi visnaga* L. (*Daucus visnaga* L., *Visnaga daucooides* Gaertn.), membre de la famille des Apiacées (ombellifères), communément appelée Khella dans certaines régions des pays d'Afrique du Nord, n'a été examinée que récemment pour ses nombreuses propriétés curatives, dont les propriétés antioxydantes qui n'ont été abordées que par très peu d'études. C'est une plante herbacée bisannuelle ou annuelle largement répandue dans l'hémisphère nord.

Objectifs : Ce travail porte sur l'étude de la composition chimique et de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'extrait éthanolique d'*Ammi visnaga*. En Algérie, il existe très peu de travaux de caractérisation de cette plante des points de vues chimique et biologique.

Méthodes : La composition chimique de l'huile essentielle a été étudiée par CG et CG-SM et celle de l'extrait éthanolique a été caractérisée par sa teneur totale en phénols et en flavonoïdes. De plus, l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'extrait éthanolique a été évaluée par trois tests d'activité antioxydante.

Résultats : Les résultats obtenus ont montré une composition chimique jamais rapportée auparavant pour cette plante et qui a été caractérisée par le diterpène cembrene C (50,7%) comme composé principal. De plus, l'extrait éthanolique a manifesté une bonne activité antioxydante.

Conclusion : La composition chimique de cette huile est très différente de celles retrouvées dans la littérature et a permis par sa nette différence d'enrichir les données bibliographiques sur la composition chimique de l'huile essentielle de cette plante. La bonne activité antioxydante de l'extrait éthanolique suggère que cette plante pourrait être une source intéressante de composés à activité biologique élevée qui pourraient être utilisés comme conservateurs dans les aliments.

Mots clés : *Ammi visnaga* ; huile essentielle ; extrait éthanolique ; composition chimique ; activité antioxydante.

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL AND ETHANOLIC EXTRACT FROM UMBELS OF AMMI *VISNAGA* (L.) LAM.

Abstract

Description of the subject : *Ammi visnaga* L. (*Daucus visnaga* L., *Visnaga daucooides* Gaertn.), a member of the Apiaceae (Umbelliferae) family, commonly known as Khella in parts of North African countries, has only recently been examined for its many healing properties, including antioxidants have been addressed by very few studies. It is a biennial or annual herbaceous plant widely distributed in the northern hemisphere.

Objective : This work focuses on the study of the chemical composition and the antioxidant activity of the essential oil and the ethanolic extract of *A. visnaga*. In Algeria, there are very few characterization works of this plant from the chemical and biological points of view.

Methods : The chemical composition of the essential oil was studied by CG and CG-SM and that of the ethanolic extract characterized by its total phenolic and flavonoids content. Furthermore, the antioxidant activity of the essential oil and the ethanolic extract was assessed by three antioxidant activity tests.

Results : The results obtained showed a chemical composition never reported before for this plant and characterized by the diterpene cembrene C (50.7%) as the main compound. In addition, the ethanolic extract showed good antioxidant activity.

Conclusion : The chemical composition of this oil is very different from those found in the literature and allowed by its clear difference to enrich the bibliographic data on the chemical composition of the essential oil of this plant. The good antioxidant activity of the ethanolic extract suggests that this plant could be a source of compounds with high biological activity that could be used as preservatives in food.

Keywords : *Ammi visnaga* ; essential oil ; ethanolic extract ; chemical composition ; antioxidant activity.

*Auteur correspondant: LATRECHE - DOUAR Sabrina, E-mail: latreche@essaia.dz

INTRODUCTION

Ammi visnaga (bisnaga, cure-dent ou khella) appartenant à la famille des ombellifères (Apiaceae) est une plante médicinale herbacée. C'est une espèce annuelle ou bisannuelle indigène de la région méditerranéenne de l'Afrique du Nord, de l'Asie et de l'Europe. La plante est également distribuée abondamment dans le monde en tant qu'espèce introduite [1]. L'extrait des fruits d'*A. visnaga* (Lam.) Lamarck est constitué principalement par la khelline, la visnagine et la visnadine qui sont les principes actifs de ces fruits. Cet extrait entre dans la fabrication de médicament à base de plantes connu et utilisé dans le traitement des maladies coronariennes et de l'asthme bronchique, il est ainsi une matière première importante pour l'industrie pharmaceutique [2, 3]. Depuis l'Antiquité, les préparations d'*A. visnaga* étaient utilisées au Moyen-Orient comme diurétique et pour traiter les douleurs des voies urinaires dues aux calculs urétraux [4]. *A. visnaga* présente une tige dressée, cylindrique et très ramifiée atteignant parfois plus de 150 cm de hauteur, recouverte d'un feuillage vert grisâtre. Ses fleurs blanches sont groupées en ombelles de 6 à 10 cm de diamètre et les fruits sont minuscules, ovoïdes et lisses formés de deux méricarpes partiels, chacun de 2 mm de long de couleur brun grisâtre lorsque la plante est mûre et sèche [5]. La composition chimique de l'huile essentielle (HE) d'*A. visnaga* de différentes origines a été rapportée par plusieurs auteurs [5, 18]. Ces recherches montrent une très grande variabilité. Cette étude, se propose ainsi de caractériser l'huile essentielle de cette plante. De plus, la capacité antioxydante des huiles essentielles d'*Ammi visnaga* est plutôt très rare et n'a été rapportée que par très peu d'études [5, 6]. Nous proposons donc de rapporter dans ce travail l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*A. visnaga* de la région d'El Affroun (Blida, Algérie) dans le but d'enrichir le peu de données bibliographiques. Par ailleurs, ce travail porte sur la première étude des propriétés antioxydantes de la fraction non volatile des ombelles de cette plante.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel végétal

Les ombelles d'*Ammi visnaga* ont été récoltées en pleine floraison en août 2021 dans la région d'El Affroun (Blida) située au centre nord de l'Algérie (36° 28' 2,93 N, 2° 37' 22.26 E).

La plante a été identifiée au laboratoire de botanique de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), El-Harrach (Alger, Algérie). La plante a été séchée à l'ombre à température ambiante.

2. Extraction de l'huile essentielle

L'HE a été isolée des ombelles séchées de la plante par hydrodistillation pendant 3 heures à l'aide d'un appareil de type Clevenger selon la méthode de la Pharmacopée Européenne [19]. Les traces d'eau dans l'huile collectée ont été éliminées à l'aide de sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄). Ensuite, l'HE a été conservée dans un flacon sombre hermétiquement fermé à 4 °C jusqu'à ce qu'elle soit utilisée pour l'analyse chimique et les tests d'activité antioxydante.

3. Préparation de l'extrait non volatil

L'extrait éthanolique a été préparé à partir de 30 g de plante séchée et réduite en poudre avec 300 ml d'absolu éthanol à 97% dans un appareil Soxhlet pendant 6 heures. Ensuite, le solvant a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif puis lyophilisé. Enfin, la poudre obtenue a été pesée et conservée à l'obscurité à + 4 °C jusqu'à son utilisation.

4. Analyse des huiles essentielles

4.1. Chromatographie en phase gazeuse (CG)

Un système Hewlett-Packard 6890 GC-FID a été utilisé pour l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. Il est équipé d'une colonne capillaire en silice fondue à phase stationnaire apolaire HP 5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm d'épaisseur de film). Le programme de température de la colonne était de 60 °C pendant 8 min augmentant à 2 °C/min vers 280 °C et maintenu à 280 °C pendant 15 min. L'HE (0,2 µl) a été injectée par fractionnement et le rapport de fractionnement était de 1:20. L'injection a été réalisée à 250 °C. Un débit de 0,5 ml/min de gaz vecteur (N₂) a été utilisé. La détection par ionisation de flamme (FID) a été réalisée à 320 °C.

4.2. Chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse (CG-SM)

L'HE a aussi été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) (système informatisé Hewlett-Packard comprenant un chromatographe en phase gazeuse 6890 couplé à un spectromètre de masse 5973A) à l'aide d'une colonne capillaire en silice fondue HP 5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm d'épaisseur de film).

Les conditions pour la CG-SM étaient : He comme gaz vecteur à un débit de 0.5 ml/min ; mode fractionné (1:20) ; 0.2 µl sans dilution comme volume injecté ; 250 °C comme température d'injection. Le programme de température du four est décrit dans la section Chromatographie en phase gazeuse. Nous avons utilisé un mode d'ionisation avec impact électronique à 70 eV sur une plage de balayage de 30 à 550 unités de masse atomique.

4.3. Identification des constituants de l'huile essentielle

Les constituants de l'huile ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (I.R.), déterminés par référence à une série homologue de n-alcane C₇-C₂₂ et à ceux des étalons authentiques disponibles. La confirmation d'une telle identification a été faite en comparant leurs schémas de fragmentation spectrale de masse avec ceux stockés dans les bases de données MS (bibliothèques NIST 2005 et Wiley 7N) et avec les données de la littérature sur les spectres de masse [20]. Les concentrations relatives des composants ont été obtenues directement à partir des surfaces des pics obtenues avec CG-FID.

5. Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes totaux

Les composés phénoliques totaux de l'extrait non volatil ont été déterminés par la méthode Folin-Ciocalteu [21]. 0,25 ml de l'extrait dissous dans l'éthanol a été mélangé avec 1,25 ml de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau. Après 3 min de réaction, 1 ml de solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à une concentration de 75 g/l a été ajouté. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 765 nm. L'acide gallique a été utilisé comme standard pour la courbe d'étalonnage. La teneur totale en composés phénoliques a été exprimée en milligrammes d'équivalent acide gallique (EAG) par gramme d'extrait. L'expérience a été réalisée en triple et la valeur moyenne enregistrée. La teneur totale en flavonoïdes de l'extrait a été déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl₃) [22] avec la quercétine comme standard. Ainsi, 1 ml d'extrait dissous dans l'éthanol a été ajouté à 1 ml de solution de trichlorure d'aluminium (2% p/v). Après 1 h d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 420 nm. Les teneurs en flavonoïdes ont été exprimées en milligrammes d'équivalent de quercétine (EQ)

par gramme d'extrait. L'expérience a été réalisée en triple.

6. Activité antioxydante

6.1. Piégeage du radical DPPH•

Le test de piégeage des radicaux libres DPPH• (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl) a été réalisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante [23]. L'huile essentielle a été dissoute dans de l'éthanol pour obtenir différentes concentrations (100, 200, 400, 600, 800 et 1000 mg/l). Le BHT (Hydroxytoluène butylé) a servi de témoin positif aux mêmes concentrations de l'huile. En revanche, l'extrait non volatil et le BHT ont été testés pour les concentrations de 5, 10, 20, 50, 100 et 200 mg/l. 25 µl de différentes concentrations des échantillons dans l'éthanol ont été ajoutés à des aliquotes (975 µl) d'une solution éthanolique 60 µM de DPPH. Les mesures d'absorbance ont été lues à 517 nm, après 30 min du temps d'incubation dans l'obscurité à température ambiante. L'absorption d'un échantillon à blanc contenant la même quantité de solution DPPH a servi de témoin négatif. Toutes les déterminations ont été effectuées en triple. Le pourcentage d'inhibition (I) du radical DPPH• par les échantillons a été calculé selon la formule : $I (\%) = (1 - A_t/A_0) \times 100$. Où A_0 est l'absorption de l'échantillon à blanc (t = 0 min), et A_t est l'absorption de la solution d'huile ou de substance testée (t = 30 min). La concentration d'extrait ou de BHT fournissant 50% d'inhibition (IC₅₀) a été calculée à l'aide du graphique en traçant le pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration d'extrait et d'huile.

6.2. Substances réactives à l'acide thiobarbiturique (SRATB)

La capacité des échantillons à inhiber la formation de malondialdéhyde, et donc la peroxydation des lipides, a été déterminée en utilisant un test de substances réactives à l'acide thiobarbiturique (SRATB) [24]. Des homogénats de jaune d'œuf ont été utilisés comme milieu riche en lipides obtenus comme décrit précédemment ailleurs [31]. En résumé, le mélange réactionnel contenait 0,5 ml d'homogénat de jaune d'œuf à 10% (p/v) dans du KCl à 1,15% (p/v), 0,1 ml de diverses concentrations d'échantillons (huile ou extrait) ou de contrôle positif (dans l'éthanol) est complété à 1 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, 1,5 ml d'acide acétique à 20% (pH 3.5) et 1.5 ml d'acide thiobarbiturique (ATB) à 0,8% (p/v) dans du dodécylsulfate de sodium (SDS) à 1,1% (p/v) ont été ajoutés.

Le mélange résultant a été agité au vortex et chauffé à 95 °C pendant 60 min. Après refroidissement, à température ambiante, 5 ml de 1-butanol ont été ajoutés à chaque tube, agités et centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min. L'absorbance de la couche supérieure organique a été mesurée à 532 nm. Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique a été déterminé en comparant les résultats des composés à tester avec ceux des témoins non traités avec les huiles ou le contrôle positif. L'inhibition (I) de la peroxydation lipidique en pourcentage a été calculé de la manière suivante : $I (\%) = (1 - A_1/A_0) \times 100$. Où A_0 est l'absorbance de la réaction témoin (contenant tous les réactifs sauf le composé à tester), et A_1 est l'absorbance du composé à tester. Les mesures de capacité antioxydante ont été réalisées en triple. La concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition (IC_{50}) a été calculée à partir du graphique représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'huile. Le BHT a été utilisé comme témoin positif.

6.3. Détermination du pouvoir réducteur

La capacité réductrice a été étudiée par la transformation de Fe^{+3} en Fe^{+2} en présence de l'huile essentielle, de l'extrait non volatil et du standard (BHT), en utilisant la méthode d'Oyaizu [25]. Les différentes concentrations des échantillons testés ont été mélangées avec du tampon phosphate (2,5 ml, 0,2 M, pH 6,6) et du ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$; 2,5 ml, 1%]. Le mélange a ensuite été incubé à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 2,5 ml d'acide trichloroacétique (10%) ont été ajoutés au mélange, qui a ensuite été centrifugé pendant 10

min à 3000 tr/min. Enfin, la couche supérieure de solution (2,5 ml) a été mélangée avec de l'eau distillée (2,5 ml) et du $FeCl_3$ (0,5 ml, 0,1% p/v), et l'absorbance a été mesurée à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique un pouvoir réducteur accru. Le dosage a été réalisé en triple exemplaire.

RÉSULTATS

1. Composition chimique de l'huile essentielle (HE) et de l'extrait éthanolique (EE)

1.1. Rendement d'extraction et composition de l'huile essentielle

Le rendement moyen en huile essentielle extraite à partir des ombelles mûres d'*A. visnaga* est de $0,47 \pm 0,02$ % (g/100 g). Cette valeur est sensiblement égale à celle rapportée par Brahmi et Kebbouche [9], (0,48%) pour un échantillon de Boumerdes. Le tableau 1 montre les classes chimiques et les données GC des composants identifiés et leur mode d'identification. L'analyse chromatographique représentée par le profil chromatographique de la figure 1 a permis d'identifier un total de 45 composants dans l'HE, constitués principalement des classes d'hydrocarbures diterpénoïdes (50,7%) et de monoterpènes oxygénés (15,4%). Le diterpène cembrene C dont le spectre de masse et la structure chimique sont donnés sur la figure 2 constitue le composé le plus abondant dans cette HE. Le tableau 2 résume les principaux composés et leurs teneurs rapportés dans la littérature pour des échantillons d'*Ammi visnaga* de différentes origines (Algérie, Maroc, Tunisie, Egypte et Turquie).

Tableau 1 : Composition (%) de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* d'El Affroun (Blida, Algérie)

N°	¹ Composés	² IR	³ IRL	%	⁴ Identification
1	Isobutyl isobutyrate	909	908	T	IR-SM
2	α -Thujene	925	924	0.2	IR-SM
3	α -Pinene	935	932	0.1	IR-SM-Etalon
4	Camphene	948	946	T	IR-SM-Etalon
5	Sabinene	972	969	0.4	IR-SM-Etalon
6	β -Pinene	976	974	T	IR-SM-Etalon
7	β -Myrcene	990	988	0.1	IR-SM-Etalon
8	Isobutyl 2-methylbutyrate	1012	1012	0.7	IR-SM
9	Isobutylvalerate	1018	-	0.2	SM
10	Isoamyl isobutyrate	1009	1007	0.2	IR-SM
11	2-Methylbutyl isobutyrate	1018	1017	1.7	IR-SM
12	p-Cymene	1022	1020	0.2	IR-SM-Etalon
13	Limonene	1024	1024	0.3	IR-SM-Etalon
14	1,8-Cineole	1026	1026	0.1	IR-SM-Etalon
15	cis- β -Ocimene	1030	1032	0.1	IR-SM
16	trans- β -Ocimene	1044	1044	0.1	IR-SM

17	cis-Linalool oxide	1070	1067	0.2	IR-SM
18	trans-Linalool oxide	1080	1084	0.1	IR-SM
19	Linalool	1093	1095	14.5	IR-SM-Etalon
20	Isopentyl isovalerate	1100	1103	3.0	IR-SM
21	Chrysanthenone	1125	1124	0.2	IR-SM
22	Camphor	1140	1141	0.2	IR-SM-Etalon
23	α -Terpineol	1187	1186	0.1	IR-SM-Etalon
24	Bornyl acetate	1285	1287	0.1	IR-SM-Etalon
25	Lavandulyl acetate	1288	1288	0.1	IR-SM
26	2-Undecanone	1295	1293	0.1	IR-SM
27	α -Copaene	1372	1374	0.2	IR-SM
28	β -Bourbonene	1386	1387	0.6	IR-SM
29	β -Cubebene	1387	1387	0.1	IR-SM
30	trans- α -Damascone	1391	1392	0.1	IR-SM
31	β -Caryophyllene	1415	1417	0.1	IR-SM
32	β -Gurjunene	1429	1431	0.1	IR-SM
33	Geranyl acetate	1379	1379	1.3	IR-SM-Etalon
34	trans- β -Farnesene	1456	1454	0.1	IR-SM
35	Germacrene D	1482	1484	0.2	IR-SM
36	Phenylethyl3-methylbutanoate	1490	1480	1.1	IR-SM
37	β -Bisabolene	1505	1505	0.2	IR-SM
38	Geranyl isobutanoate	1513	1514	1.2	IR-SM
39	Farnesol	1722	1720	0.4	IR-SM
40	Butyric acid, tridecyl ester	1725	-	2.6	SM
41	Farnesyl acetate	1883	-	0.7	SM
42	Valeric acid tetradecyl ester	1890	-	1.2	SM
43	Butyric acid, hexadecyl ester	1925	-	0.2	SM
44	Palmitic acid	1982	1982	0.1	IR-SM
45	Cembrene C	2012		50.7	IR-SM
	Total (%)			84.2	
	Monoterpènes			1.5	
	Diterpènes			50.7	
	Monoterpènes oxygénés			15.4	
	Sesquiterpènes			1.6	
	Sesquiterpènes oxygénés			2.3	
	Autres			12.7	

¹Composés classés dans l'ordre d'éluion sur la colonne non polaire HP5MS, ²Indices de rétention relatifs aux *n*-alcane C₇-C₂₄, ³IRL : Indice de rétention de la littérature, ⁴Identification : IR : par comparaison de l'indice de rétention par rapport à ceux de la bibliographie (littérature), SM : par comparaison du spectre de masse du composé par rapport à ceux des bases de données Wiley 7N et NIST 2005 ainsi qu'à ceux de la bibliographie, t = trace (<0.1%).

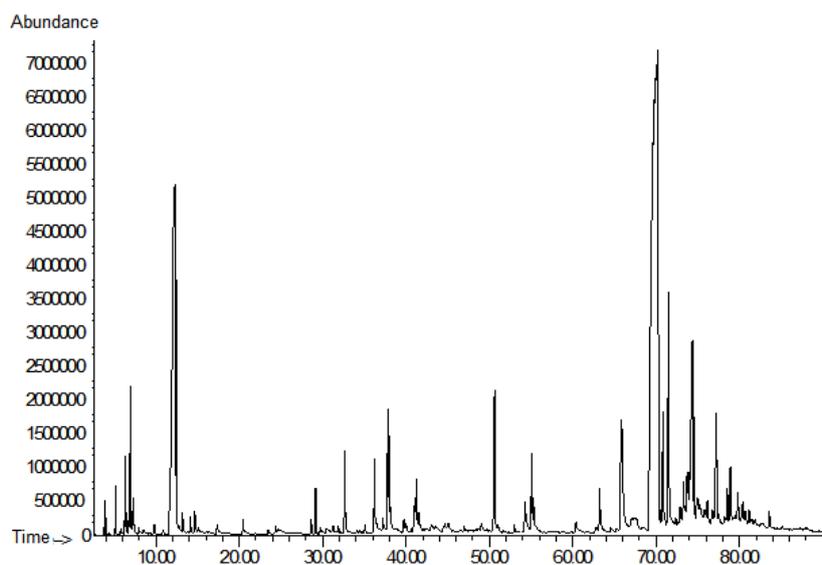


Figure 1 : Chromatogramme (CG-SM) de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* d'El Affroun (Blida, Algérie)

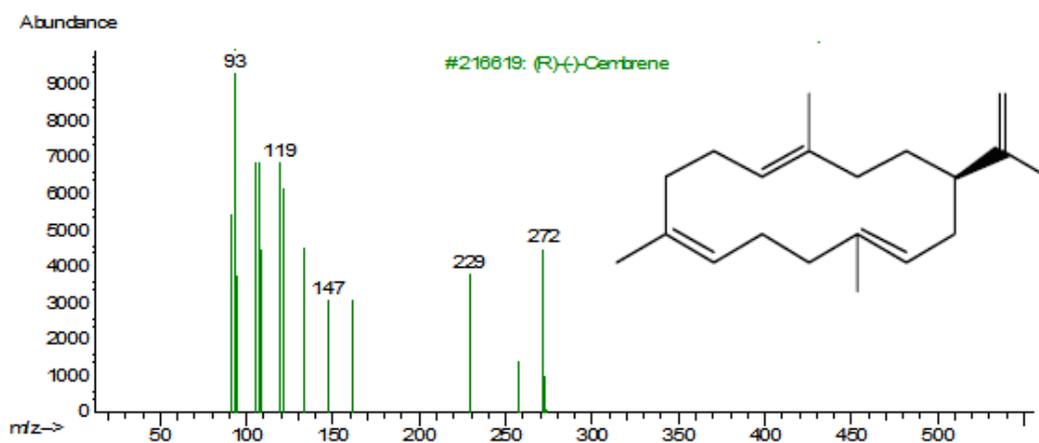


Figure 2 : Spectre de masse et structure chimique du cembrene

Tableau 2. Principaux composants (%) de l’huile essentielle d’*Ammi visnaga* d’Algérie et de différents autres pays

Origine	*Principaux composés (%)																								Ref.	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
Algérie	6.8-	7.4	24-	16.-																						[6]
	9.9		41.2	24.4																						[7]
	27.8				19.9	9.9	14.2	18.7																		[8]
			12.1				6.0		14.0	30.1	7.3	12.2														[9]
			9.2-	10.-										7.2-												[10]
Maroc			13.6	28.6									9.9												[11]	
			23.5	10										41.8											[12]	
			22.9												16.1	12.3									[13]	
		7.7	25.8									31.1													[14]	
		22.7						16.0									27.7								[15]	
Tunisie		19.3																53.4						[16]		
		22.0																	23.4	13.2				[17]		
		23.6	24.2																	10-				[18]		
Egypte		-32	-36																					[16]		
				22.9			13.2			28.9	9.6											57		[17]		
Turquie																						20.9	30.	[18]		

*Principaux composés (≥ 6%): 1: Limonene, 2: Isoamyl isovalerate, 3: Linalool, 4: 2-Methylbutyl-2-methylbutyrate, 5: p-Cymene, 6 : γ-Terpinene, 7: Thymol, 8: Carvacrol, 9: Isoamyl isobutyrate, 10: 2,2-Dimethylbutanoic acid, 11: Bornyl acetate, 12: Croweacin, 13: Verticiol, 14: 2-Methylbutylbutyrate, 15: 2-Methyl pentylbutyrate, 16: Butane, 1-(ethenyloxy)-3-methyl-, 17 : Isoamyl methyl-2-butyrate, 18: Abietadiene, 19: Isoamyl 2-methylbutanoate, 20 : Isopentyl 3-methylbutanoate, 21 :Carvone, 22, : Bisabolol, 23 : Nerol, 24 : α-Isophorone. Ref. : References.

1.2. Composition chimique de l'extrait éthanolique

L'extrait éthanolique a été obtenu avec un rendement de 25,1%. Ce résultat est comparable à celui rapporté par Aourabi et al. [26] pour

l'extrait éthanolique d'Ammi visnaga du Maroc (23,35%). Les résultats de la teneur totale en phénols et en flavonoïdes sont résumés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait éthanolique d'Ammi visnaga d'El Affroun (Blida, Algérie)

Phénols totaux (mg EAG/g d'extrait)	Flavonoïdes (mg EQ/ g d'extrait)
91±2,3	33,75±1,7

2. Activité antioxydante

Les résultats de l'analyse de l'activité antioxydante de l'HE et de l'extrait éthanolique d'A. visnaga d'El Affroun (Blida, Algérie) exprimée en pourcentage pour les tests d'inhibition du radical DPPH• et des SRTAB,

en absorbance à 700 nm pour le test du pouvoir réducteur, et en µg/ml pour les IC50 sont résumés dans les tableaux 4 et 5 respectivement. Les résultats sont comparés par rapport à ceux de l'antioxydant de synthèse (BHT).

Tableau 4 : Activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* et du BHT évaluée par les tests DPPH, SRATB et du pouvoir réducteur

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Activité antioxydante					
	DPPH (%)		SRATB (%)		P.R. (Abs. 700 nm)	
	HE	BHT	BHT	BHT	HE	BHT
100	4,23 \pm 0,55	73,15 \pm 0,85	29,73 \pm 1,62	73,1 \pm 0,8	0,14 \pm 0,01	0,77 \pm 0,05
200	4,46 \pm 0,23	80,63 \pm 0,32	12,01 \pm 3,21	80,6 \pm 0,3	0,29 \pm 0,02	0,82 \pm 0,08
400	7,61 \pm 0,74	84,7 \pm 0,52	20,25 \pm 0,57	84,7 \pm 0,5	0,62 \pm 0,05	1,03 \pm 0,05
600	7,79 \pm 0,08	86,35 \pm 0,59	28,29 \pm 3,77	86,3 \pm 0,6	0,66 \pm 0,01	1,05 \pm 0,02
800	7,80 \pm 0,07	88,81 \pm 0,27	29,58 \pm 2,22	88,8 \pm 0,3	0,70 \pm 0,04	1,16 \pm 0,08
1000	8,43 \pm 0,21	91,07 \pm 0,13	32,75 \pm 0,42	91,1 \pm 0,1	0,95 \pm 0,08	1,28 \pm 0,11
IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	-	23,73 \pm 0,27	-	17,13 \pm 0,11	322,6 \pm 1,20	43,1 \pm 0,92

HE : Huile essentielle, P.R. : Pouvoir réducteur, Abs. : Absorbance.

Tableau 5 : Activité antioxydante de l'extrait éthanolique d'*Ammi visnaga* évaluée par les tests DPPH, SRATB et du pouvoir réducteur

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Activité antioxydante					
	DPPH (%)		SRATB (%)		P.R. (Abs. 700 nm)	
	EE	BHT	EE	BHT	EE	BHT
5	4,33 \pm 0,44	-	13,57 \pm 1,22	-	0,93 \pm 0,01	-
10	5,49 \pm 0,97	31,40 \pm 0,65	19,31 \pm 2,44	37,29 \pm 1,03	0,11 \pm 0,02	0,28 \pm 0,02
20	6,71 \pm 0,75	42,14 \pm 0,58	23,36 \pm 0,82	58,37 \pm 2,11	0,16 \pm 0,01	0,31 \pm 0,06
50	35,04 \pm 0,31	62,49 \pm 0,69	28,31 \pm 1,74	61,04 \pm 3,11	0,33 \pm 0,11	0,58 \pm 0,00
100	52,45 \pm 1,63	73,15 \pm 0,85	42,66 \pm 1,20	63,87 \pm 3,72	0,58 \pm 0,08	0,77 \pm 0,05
200	70,76 \pm 0,12	80,63 \pm 0,32	62,78 \pm 0,89	84,71 \pm 0,53	0,62 \pm 0,12	0,82 \pm 0,02
IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	95,33 \pm 1,71	23,73 \pm 0,27	117,21 \pm 2,3	17,13 \pm 0,11	86,21 \pm 0,77	43,1 \pm 0,92

EE : Extrait éthanolique, P.R. : Pouvoir réducteur, Abs. : Absorbance.

DISCUSSION

Le rendement en huile essentielle obtenu à partir des ombelles d'*Ammi visnaga* de la région d'El Affroun (Blida, Algérie) est de 0,47 \pm 0,02 % (g/100 g). Ce rendement est similaire à celui obtenu par Brahmi et Kebbouche (0,48%) pour un échantillon de la région de Boumerdes (Algérie) [9]. Par ailleurs, ce rendement se trouve dans l'intervalle des rendements rapportés pour des huiles essentielles de cette plante de différentes origines et qui s'échelonnent entre un minimum de 0,08% pour un échantillon d'Egypte [16] et un maximum de 1,4% pour un échantillon du Maroc [5]. Les rendements rapportés pour les huiles essentielles d'échantillons d'Algérie varient entre 0,1 et 1,3% [6, 9]. Il apparaît donc, une grande variabilité du rendement en huile essentielle de cette plante. Le rendement peut être influencé par plusieurs facteurs intrinsèques (étapes de croissance et âge du matériel végétal) et extrinsèques de la plante comme la période et le milieu de récolte, les pratiques culturales, les conditions pédoclimatiques, le séchage et les méthodes d'extraction [27].

L'analyse chromatographique a montré que le composé principal de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* de la région d'El Affroun (Blida, Algérie) obtenue était le diterpène cembrene C avec une teneur de 50,7% suivi du linalool (14,5%), dont chacun d'eux représente la totalité de sa classe (Diterpènes et monoterpènes oxygénés, respectivement). En comparant les résultats précédemment rapportés dans la littérature pour les HE d'*A. visnaga* de différentes origines (Tableau 2), il apparaît des différences qualitatives et quantitatives considérables entre tous les échantillons rapportés dans toutes les études, même entre ceux d'un même pays et d'une même région. Après l'étude de ce tableau, il en ressort que les composés principaux de ces différents travaux se répartissent entre 24 composés différents parmi lesquels 9 composés seulement sont communs entre certains échantillons, parfois communs entre deux échantillons seulement sans pour autant être les composés à la plus grande proportion. Le linalool est le seul composé commun qu'on retrouve dans la majorité des échantillons (13 échantillons sur 17) tout en n'étant majoritaire que dans un seul échantillon [6].

Selon El-Seedi et al. [16] et Günaydin & Beyazit [18], certains échantillons ont des compositions particulières (aucun des principaux composés n'est commun avec ceux des autres échantillons). Concernant l'huile essentielle de cette étude, le diterpène cembrene C est rapporté pour la première fois non seulement comme composé d'une huile essentielle d'*Ammi visnaga* mais aussi comme le composé le plus prédominant constituant en effet un peu plus de la moitié de l'HE. Un certain nombre de pics plus ou moins importants représentant un peu plus de 15% de la totalité de l'huile n'ont pu être identifiés ce qui suggère qu'une étude plus approfondie associant la RMN à la GC-MS est nécessaire pour identifier les autres pics. Les variations très importantes relevées dans la composition chimique des huiles essentielles d'*A. visnaga* peuvent être liées non seulement à des facteurs édapho-climatiques mais aussi génétiques qui peuvent conduire à la modulation de certains groupes enzymatiques, responsables de la régulation des voies de biosynthèse [28, 30].

Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes (Tableau 3) sont différentes de celles obtenues pour l'extrait éthanolique d'*A. visnaga* du Maroc (75,75 mg EAG/g Extrait et 11,75 mg EQ/g Extrait) [26].

Plusieurs études ont montré qu'il n'existe pas de méthode unique pour évaluer l'activité antioxydante de manière quantitative et précise [26, 31, 32]. Ainsi, plusieurs chercheurs ont recommandé, au moins, deux méthodes d'analyse de l'activité antioxydante, chacune se distinguant par son mécanisme d'action [32, 33]. Ainsi, dans ce travail, trois méthodes ont été menées pour évaluer l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'extrait éthanolique d'*Ammi visnaga* : l'inhibition du radical libre DPPH•, l'inhibition de la peroxydation lipidique (test SRATB) et le pouvoir réducteur du fer ferrique en fer ferreux en utilisant pour tous ces tests le BHT comme référence. Les résultats de l'activité antioxydante (Tableau 4 et tableau 5) montrent que pour tous les tests, l'extrait non volatil est plus actif que l'huile essentielle pour des concentrations plus faibles que celles de l'huile. Ce résultat était prévisible sachant les extraits non volatils sont connus pour leur richesse en composés phénoliques auxquels est attribuée l'activité antioxydante. En effet, du point de vue structure chimique, les phénols comprennent un cycle aromatique portant un ou plusieurs substituants hydroxyle [34].

L'activité antioxydante de ce type de molécules est due à sa capacité à piéger les radicaux libres, à donner des atomes d'hydrogène ou des électrons ou à chélater des cations métalliques [35]. A l'exception du pouvoir réducteur pour lequel l'HE a montré une relative bonne activité et a pu atteindre une IC₅₀ de 322,6±1,20 µg/ml, cette huile a démontré une faible activité d'inhiber les radicaux DPPH• et les peroxydes. Par contre, l'EE a atteint les IC₅₀ pour tous les tests. Cependant les valeurs enregistrées sont toutes supérieures à celles de l'antioxydant de synthèse (BHT), sachant que plus l'IC₅₀ est plus élevée et plus l'antioxydant est moins actif.

CONCLUSION

L'huile essentielle extraite des ombelles mûres d'*Ammi visnaga* de la région d'El Affroun (Blida, Algérie) est composée essentiellement de deux composés majeurs : le diterpène cembrene C (50,7%) et le monoterpène oxygéné linalool (14,5%). La composition chimique de cette HE est très différente de celles retrouvées dans la littérature. Elle a ainsi permis par sa nette différence d'enrichir les données bibliographiques sur la composition chimique de l'huile essentielle de cette plante qui se caractérise par une grande variabilité d'un pays à un autre ainsi qu'au sein d'un même pays. L'activité antioxydante de l'huile essentielle ainsi que celle de l'extrait éthanolique non volatile réalisée avec trois différents tests a mis en évidence la forte activité de l'extrait par rapport à l'huile du fait de sa richesse en polyphénols. Ces résultats indiquent par ailleurs que cette plante peut fournir des composés à activité biologique élevée qui pourraient être utilisées comme conservateurs dans les aliments. Cependant, d'autres études sont nécessaires pour explorer les groupes polyphénoliques individuels ou majeurs bioactifs dans les extraits d'*A. visnaga* (L.) et leur contribution majeure.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Khalil, N., Bishr, M., Desouky, S. & Salama, O. (2020). *Ammi visnaga* L., a potential medicinal plant: A review. *Molecules*, 25 (2): 301.
- [2]. Sittig, M. (1988). *Pharmaceutical Manufacturing Encyclopedia*. Noyes Publications, USA. pp. 1756.
- [3]. Kleeman, A., Engel, J., Kutsher, B. & Reichert, D. (1999). *Pharmaceutical substances synthesis*. Patents, Applications, 3rd Edition, Thieme, Stuttgart. pp. 2286.
- [4]. Gunaydin, K. & Beyazit, N. (2004). The chemical investigations on the ripe fruits of *Ammi visnaga* (Lam.) Lamarck growing in turkey. *Natural Product Research*, 18(2): 169-175.

- [5]. Kamal, F. Z., Dumitrita Stanciu, G., Lefter, R., Cotea, V., Niculaua, M., Carmen Ababei, D., Ciobica, A., & Ech-Chahad, A. (2022). Chemical Composition and antioxidant activity of *Ammi visnaga* L. essential oil. *Antioxidants*, 11: 347. 1-18.
- [6]. Keddad, A., Baaliouamer, A., & Hazzit, M. (2016). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from umbels of Algerian *Ammi visnaga* (L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19 (5): 1243-1250.
- [7]. Amraoui, A., Bahri, F. & Wanner, J. (2022). Chemical composition, anti-inflammatory and antimicrobial activity of Algerian *Ammi visnaga* essential oil. *Plant Archives*, 22 (1), 249-254.
- [8]. Khalfallah, A., Labeled, A., Semra, Z., Ai Kki, B., Kabouche, A., Touzani, R. & Kabouche, Z. (2011). Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Ammi visnaga* L. (Apiaceae) from Constantine, Algeria. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 1(3): 302-3051.
- [9]. Brahmi F. & Kebbouche-Gana S. (2014). Antibacterial activity and chemical composition of *Ammi visnaga* L. essential oil collected from Boumerdes (Algeria) during three periods of the plant growth. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17 (6): 1317-1328.
- [10]. Zrira, S., Elamrani, A., Pellerin, P., Bessière, J.M. Menut, C. & Benjilali, B. (2008). Isolation of Moroccan *Ammi visnaga* oil: Comparison between hydrodistillation, steam Distillation and supercritical fluid extraction. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(1): 30-35.
- [11]. Chraka, A., Raissouni, I., Benseddik, N, Khayar, S., Ibn Mansour, A., Belcadi, H., Chaouket, F. & D. Bouchta, D. (2020). Aging time effect of *Ammi visnaga* (L.) lam essential oil on the chemical composition and corrosion inhibition of brass in 3% NaCl medium. Experimental and theoretical studies. *Materials Today: Proceedings*. 22 (1): 83-88.
- [12]. Satrani, B., Farah, A., Fecthal, M., Talbi, M. & Bouamrani, M.L. (2004). Composition chimique et activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* (L.) Lam. du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 151:1, 65-71.
- [13]. Soro, K. N., Sabri, L., Amalich, S., Khabbal, Y. & Zair, T. (2015). Composition chimique d'*Ammi visnaga* L. (Lam.) marocaine et activité antibactérienne de son huile essentielle vis-à-vis de bactéries productrices et non productrices de beta-lactamases à spectre élargi. *Phytothérapie*, 13 (3): 1-8.
- [14]. Kallel Sellami, H., Flamini, G., Cioni, P.L. & Smiti S. (2011). Composition of the essential oils in various Organs at different developmental stages of *Ammi visnaga* (L.) Lam. from Tunisia. *Chemistry & Biodiversity*, 8: 1990-2004.
- [15]. Khadhri, A., El Mokni, R., Mguis, K., Ouerfelli, I. & Araújo, M. E. (2011). Variability of two essential oils of *Ammi visnaga* (L.) Lam. a traditional Tunisian medicinal plant. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(20): 5079-5082.
- [16]. El-Seedi, H. R., Azeem, M., Khalil, N., S., Sakr, H. H., Khalifa, S., Awang, K., Saeed, A., Farag, M. A., AlAjmi, M. F., Palsson, K., Borg-Karlson, A.-K. (2017). Essential oils of aromatic Egyptian plants repel nymphs of the tick *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, 73: 139–157.
- [17]. Talaat I.M., Khattab, H.I., Ahmed, A.M. (2014). Changes in growth, hormones levels and essential oil content of *Ammi visnaga* L. plants treated with some bioregulators. *Saudi Journal of Biological Sciences*, (2014) 21: 355–365.
- [18]. Günaydin, K. & Beyazit, N. (2004). The chemical investigations on the ripe fruits of *Ammi visnaga* (Lam.) lamarck growing in turkey, *Natural Product Research*, 18:2, 169-175.
- [19]. Council of Europe: *European directorate for quality of medicines*. In: European Pharmacopeia, 6th edn. Council of Europe, Strasbourg (2007).
- [20]. Adams, R.P. (2007). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th ed. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL, pp. 804.
- [21]. Singleton, V.L., Ortofer, R. & Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178.
- [22]. Lamaison, J.L.C. and Carnet, A. (1990). Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poir) D. C.) en fonction de la végétation. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, 65: 315-320.
- [23]. Hazzit, M., Baaliouamer, A., Verissimo, A.R., Faleiro, M.L. & Miguel, M.G. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry*, 116(3): 714-721.
- [24]. Benchabane, O., Hazzit, M., Baaliouamer, A., Mouhouche, F. (2012). Analysis and antioxidant activity of essential oils of *Ferula vesceritensis* Coss. et Dur. and *Thymus munbyanus* Desf. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15: 774-781.
- [25]. Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307-315.
- [26]. Aourabi, S., Driouch, M., Ammor, K., Sfaira, M., Ebn Touhami, M., & Mahjoubi, F. (2018). Evaluation of anticorrosion and antioxidant activities of ethanolic extract of *Ammi Visnaga*. *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry*, 10 (7): 912-929.
- [27]. Boulaghmen, F., Chaouia C., Hazzit, M., Nouas, M. & Saidi, F. (2018). Composition chimique et activité antimicrobienne d'huile essentielle extraite de *Thymus guyonii* de Noe d'Aflou-Algérie. *Revue Agrobiologia*, 8(1): 853-862
- [28]. Hashim, S., Jan, A., Marwat, K.B. & Khan, M.A. (2014). Phytochemistry and medicinal properties of *Ammi visnaga* (Apiaceae). *Pakistan Journal of Botany*, 46: 861-867.
- [29]. Samuel, A.D., Bungau, S., Tit, D.M., Melinte, C.E., Purza, L. & Badea, G.E. (2018). Effects of long-term application of organic and mineral fertilizers on soil enzymes. *Revista de Chimie*, 69: 2608–2612.
- [30]. Samuel, A.D., Tit, D.M., Melinte, C.E., Iovan, C., Purza, L., Gitea, M. & Bungau, S. (2017). Enzymological and physico-chemical evaluation of the effects of soil management practices. *Revista de Chimie*, 68: 2243-2247.
- [31]. Prior, R.L., Wu, X. & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 4290- 4302.

- [32]. Berset, C. & Cuvelier, M-E. (1996). Revue : méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et mesure du pouvoir antioxydant. *Sciences des Aliments*, 16: 219-245.
- [33]. Schlesier, K., Harwat, M., Bohm, V. & Bitsch, R. (2002). Assessment of antioxidant activity by using different *in vitro* methods. *Free Radical Research*, 36 (2): 177-187.
- [34]. Medini, F., Fella, H., Ksouri, R., & Abdely, C. (2014). Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. *Journal of Taibah University for Science*, 8(3): 216-224.
- [35]. Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. & Weil, J.A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84: 551-562.