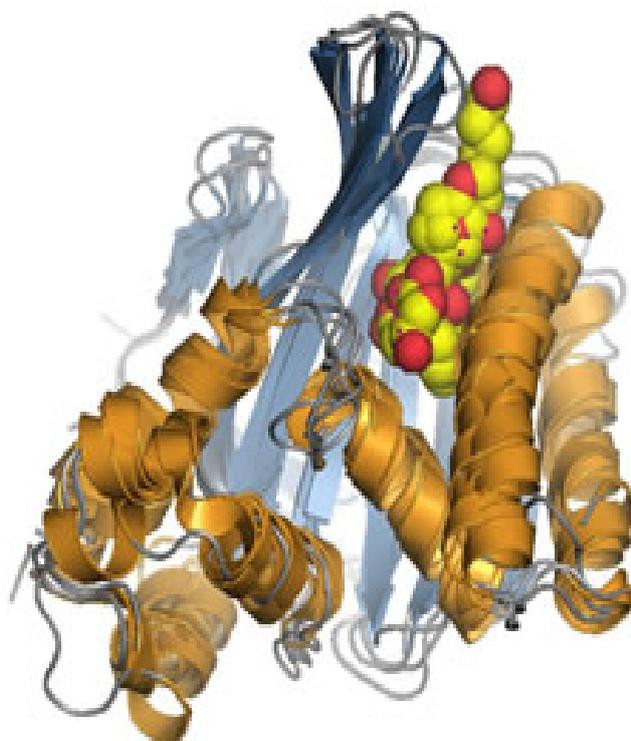


# PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



## PCBS Journal

Volume 8 N° 4

2014

Special: 4<sup>th</sup> *Phytochem & BioSub Conference (4<sup>th</sup> PCBS)*  
& 1<sup>st</sup> *Algerian Days on Natural Products (1<sup>st</sup> ADNp)*

## Evaluation de l'effet antifongique des esters issus de l'huile d'une plante médicinale : *Citrullus colocynthis* sur une souche fongique toxigène (*Aspergillus ochraceus*)

TAMALI Halima Saadia<sup>1\*</sup>; BOUTLILA Meriem<sup>1</sup>; MALAININE Hesna<sup>1</sup>; AMROUCHE Abdellilah<sup>1</sup> & BENMEHDI Houssine<sup>2</sup>

1. Laboratoire de valorisation des ressources végétales et sécurité alimentaire des régions semi-arides

2. Laboratoire de chimie, Université de Béchar, Béchar, 08000, Algérie.

Received: Special 4<sup>o</sup> PCBS & 1<sup>st</sup>ADNp - December 1, 2, 2013

4<sup>o</sup> Phytochem & BioSub Conference (4<sup>o</sup> PCBS) & 1<sup>st</sup> Algerian Days on Natural Products (1<sup>st</sup> ADNp)

Corresponding author Email [hlmtml@gmail.com](mailto:hlmtml@gmail.com)

Copyright © 2014-POSL

DOI:10.163.pcbsj/2014.8.4.242

**Résumé.** Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une contribution à l'étude du pouvoir antifongique des esters bruts et leur ester majoritaire issus de l'huile, extraite par la méthode de soxhlet, des graines de *Citrullus colocynthis* sur une souche fongique toxigène (*Aspergillus ochraceus*).

La purification en ester majoritaire par chromatographie sur colonne a donné un rendement moyen de 56.8 % de son brut obtenu par estérification de l'huile. L'évaluation de l'activité antifongique a été faite par la méthode de croissance radiale sur milieu solide (PDA ; Potatoes Dextrose Agar) où il a été révélé l'existence d'une efficacité variable entre les esters bruts et leur ester majoritaire sur la souche testée. Ainsi, l'ester majoritaire a exercé un effet antifongique plus efficace que celui des esters bruts. Le pouvoir antifongique des esters de l'huile de cette plante pourra être une solution alternative à prendre en considération par les autorités qui s'intéressent, à raison de la santé publique, à la réduction de l'énorme péril fongique.

**Mots clés :** *Citrullus colocynthis*, esters, activité antifongique, *Aspergillus ochraceus*

### Introduction

*Citrullus colocynthis* L. Schreder communément nommée coloquinte, ou aussi pomme amère ou gourde sauvage, est une espèce de la famille des cucurbitacées (sous famille des *cucurbitoïdeae*, tribu des *benincaseae*, sous tribu des *benincasinae*).

La coloquinte est une herbe annuelle ou vivace à tige procombante ou grimpante ; le fruit est sphérique, de 5 à 10 cm de diamètre, et lisse, d'abord d'un vert tacheté, puis jaunâtre à maturité. Il contient une pulpe tendre et spongieuse de couleur jaune orangé, très amère et toxique ([1]; [2]), dont son ingestion provoque presque toujours des vomissements et de fortes diarrhées [3]. Le fruit contient aussi des graines ovoïdes et aplaties, de couleur variant de l'orange au brun noirâtre.

La coloquinte est originaire des parties les plus chaudes de l'Asie et de l'Afrique. En Algérie, elle se présente dans différents endroits allant du Nord jusqu'au désert et est connue comme « hdej » , « tjjeltl », « tabarka » ou « tifersite » [4].

Cette plante a été, et même actuellement, sujets de plusieurs recherches qui sont mises en évidence sur les différentes propriétés et utilisations de la coloquinte en médecine traditionnelle en vue de la

confirmation scientifique de leur efficacité dans le traitement de maladies pour lesquelles elle a été traditionnellement prescrite.

Des travaux antérieurs [5], ont révélé l'existence d'une activité inhibitrice, des huiles fixes des graines de quelques plantes médicinales, y compris la coloquinte, de la croissance d'une souche fongique productrice d'aflatoxines ; *Aspergillus flavus*. Les résultats de ces derniers travaux ont inspiré les réflexions des mêmes auteurs à investiguer l'effet antifongique synergique des huiles, pas seulement contre la souche *Aspergillus flavus*, mais aussi vis-à-vis de la souche toxigène *A. ochraceus*. Ce pouvoir antifongique de ces huiles fixes était probablement dû, selon ces mêmes auteurs, à leur richesse en esters d'acide gras et/ou en acides gras libres.

C'est dans ce contexte, et suite aux travaux précédemment cités, ce présent travail s'inscrit dans le cadre d'une contribution à l'étude de l'effet antifongique des esters méthyliques bruts et leur ester majoritaire de l'huile fixe extraite des graines de *Citrullus colocynthis* sur la souche fongique toxigène (*Aspergillus ochraceus*).

## Matériels et méthodes

### 1. Matériel végétal

Des fruits matures de *Citrullus colocynthis* (coloquinte), récoltés de façon aléatoire aux alentours de la région d'Abadla (Bechar), ont été débarrassés des graines, ces dernières ont été séchées à l'ombre et à l'abri de l'humidité.

- Extraction de l'huile

L'extraction de l'huile a été effectuée à l'aide du montage soxhlet, à partir des graines moulues de la plante à étudier où l'éther de pétrole a été utilisé comme solvant d'extraction. Une fois cette dernière est achevée, l'huile est obtenue après élimination du solvant par évaporation rotative.

- Estérification de l'huile

-Une saponification dans un premier temps est nécessaire afin d'obtenir un maximum d'acides gras à partir de l'huile de la plante étudiée. Celle-ci a été faite à l'aide d'un montage à reflux pendant une quarantaine de minutes en introduisant dans le ballon l'ensemble de l'huile, l'éthanol et l'hydroxyde de sodium. Après une cascade de réactions, un résidu d'acides gras a été obtenu.

-L'estérification de ces acides en question a été effectuée ainsi, en utilisant un montage à reflux, en présence du méthanol et de l'acide sulfurique. Après deux heures de réaction, une décantation, extraction avec du chloroforme, séchage de la phase organique et évaporation à sec ont été nécessaires pour obtenir en finalité des esters méthyliques.

- Séparation chromatographique

Une chromatographie sur couche mince a été nécessaire pour savoir le système d'élution approprié pour la séparation ultérieure des esters majoritaires par une chromatographie sur colonne.

### 2. Matériel fongique

- Confirmation de la souche fongique testée

-La souche a été fournie par le laboratoire de recherche de biologie sur la valorisation des ressources végétales et sécurité alimentaire des régions semi-arides de l'université de Béchar. Elle a été isolée à partir du café.

-L'espèce a été reprise sur un tube de PDA incliné et incubé à 25 °C pendant une semaine ou plus et conservé à 4°C.

-L'identification du genre a été faite par la technique de micro-culture décrite par (Haris en 1989 : [6]) dont la détermination est basée sur les caractères cultureux et microscopiques en se référant au manuel de (Barnett (1972) : [7]). Alors que l'identification de l'espèce a été effectuée par la méthode de single spore en utilisant un schéma taxonomique basé sur les caractères morphologiques.

- Essai de l'activité antifongique

L'activité antifongique des esters bruts et leur ester majoritaire, à différentes concentrations allant de 0.7 à 6.7 µl/ml, a été testée par la technique de l'évaluation de la croissance radiale sur milieu solide (PDAa: *acidified Potatoes Dextrose Agar*).

## Résultats et discussions

### 1. Rendement en huile de la coloquinte

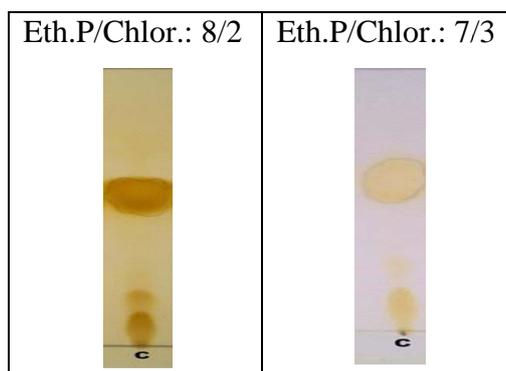
L'extraction de l'huile de coloquinte à partir du broyat des graines a donné un rendement moyen de **19.83 %**. Ce résultat est proche de celui trouvé par plusieurs d'autres travaux comme ceux de (Schafferman et al., 1998 : [8]), (Yaniv et al., 1999 : [9]) et (Khan et Gul en 1975 : [10]). Alors que par rapport à d'autres travaux comme par exemple ceux de (Sebbagh et al., 2009 : [11]) et (Boublenza, 2011 : [12]), leurs résultats sont plus au moins différents du notre. Cette différence de résultats peut s'expliquer par l'intervention de plusieurs facteurs allant des périodes de prélèvement aux conditions environnementales et géographiques.

### 2. Rendement en esters de l'huile de la coloquinte

Une estérification préalable de notre huile nous a permis d'obtenir un rendement moyen de **29.02 %**. Ceci reflète comme même la richesse de notre huile en esters et en acides gras.

### 3. Séparation chromatographique des esters

- La chromatographie sur couche mince nous a permis de sélectionner le système éluant aboutissant à une bonne séparation de nos esters, c'était : (**éther de pétrole/chloroforme : 8/2 et 7/3**).



**Planche 1:** plaques CCM montrant la séparation des différents esters de l'huile de coloquinte sous l'action des systèmes d'éluion éther de pétrole/ chloroforme à 8/2 (gauche) et à 7/3 (droite).

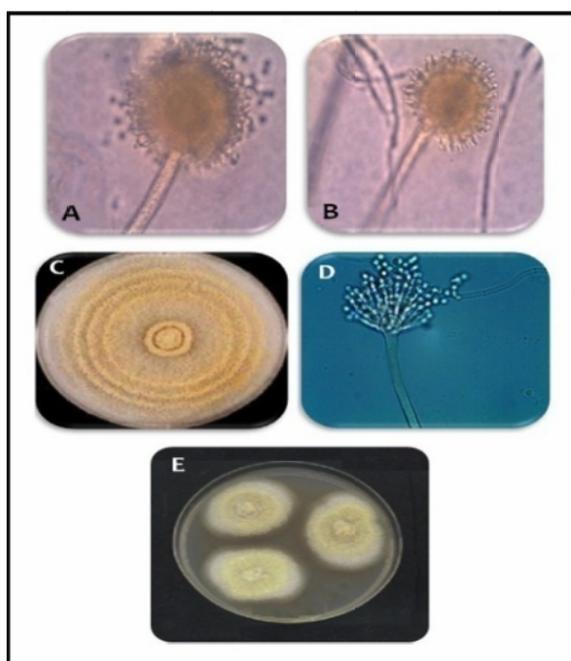


**Photo :** plaque CCM montrant la présence d'une tache correspondant à l'ester majoritaire de l'huile de coloquinte en utilisant un système éluant d'éther de pétrole/ chloroforme à 6/4 respectivement.

- A la base des résultats obtenus par la séparation par chromatographie sur couche mince et afin de séparer l'ester majoritaire des esters bruts de l'huile de la coloquinte, on a procédé à une chromatographie sur colonne de gel de silice. On a pu d'obtenir, avec succès, l'ester majoritaire où le rendement moyen a été de **56.8 %**. Une autre séparation par chromatographie sur couche mince a été nécessaire pour confirmer la présence d'un seul composé (voir photo suivante).

#### 4. Confirmation de la souche testée

La ré-identification de la souche d'étude (par les techniques de micro-culture et de single spore) nous a confirmé son appartenance au genre espèce *Aspergillus ochraceus* (voir planche 2 ci-dessous).



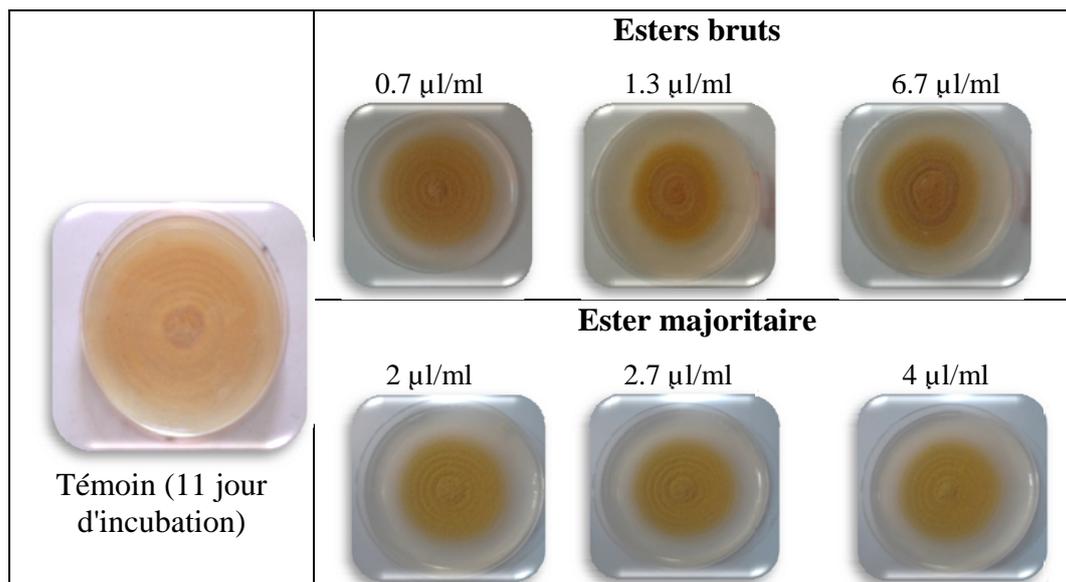
**Planche 2:** l'observation microscopique (A, B et D) et les résultats de la méthode de single spore de la souche *Aspergillus ochraceus* (D : sur milieu MEA à 25°C, E : sur milieu CYA à 37°C).

#### 5. Essai de l'activité antifongique

-Les résultats obtenus par la méthode de l'évaluation de la croissance radiale sur milieu solide révèlent que l'ensemble des esters bruts et l'ester majoritaire ont exercé un effet plus ou moins efficace sur la croissance de la souche considérée. En effet, les différents esters présentent une action inhibitrice sur la croissance mycélienne avec un degré variable en fonction de la nature et de la concentration des esters des huiles investigués.

l'effet des esters de l'huile de notre plante peut être comparable par plusieurs travaux, étudiant ainsi le pouvoir antimicrobien des esters méthyliques extraits de plantes médicinales, on peut citer à titre d'exemple ceux de (Canales et al., 2011 : [13]) et (Lima et al., 2011 : [14]).

-L'analyse de nos résultats nous a permis d'escompter, globalement, que l'ester majoritaire de l'huile a un effet antifongique plus efficace sur la souche testée que les esters bruts. Ceci corrobore les travaux de (Habulin et al., 2008 : [15]) qui montrent que les monoesters inhibent la croissance de *Bacillus cereus* en plus grande mesure que les diesters.



**Planche 3 :** Effet des esters bruts et de l'ester majoritaire de l'huile de la coloquinte à quelques concentrations testées sur la souche *Aspergillus ochraceus*.

### Références bibliographiques

- [1] Mahesh Chand M. et Vidya P., Asian J. Exp. Sci., Vol. 22, N°. 1, pp: 137-142, (2008).
- [2] Savitha R., Shasthree T., Sudhakar, Mallaiah B., International journal of pharma and bio sciences, V1(2), (2010).
- [3] Hans W. Kothe : *1000 plantes aromatiques et médicinales*, terres éditions. p : 336, (2007).
- [4] Chabane Sari D., Amamou F., Bouafia M., Meziane R., K., Nani A., J. Nat. Prod. Resour., 1 (3), 1-7, (2011).
- [5] Amrouche A., Benmehdi H., Moussaoui A., Mebarki K., Chaoufi A., Saneba A., Lazouni A., Chabane Sari H et D., Journal of Applied Pharmaceutical Science, 01 (08), P. 48-53, (2011).
- [6] Haris C., Introduction to modern microbiology black wall scientific publication, p. 179, (1989).
- [7] Barnett H.L., Illustred general of imperfection fungi. Burgess publishing company. Minnesota (USA), 3<sup>eme</sup> edition, (1972).
- [8] Schafferman D., Beharav A., Shabelsky E., et Yaniv Z., *Journal of Arid Environments*, Vol. 40, P.431-439, (1998).
- [9] Yaniv Z.E, Shabelsky E. and Schafferman D., In: Janik J. (ed), *Perspectives on New Crops and new Uses*, ASHS Press, Alexandria, Virginia, pp. 257-261, (1999).
- [10] Khan F. W., Gul P., *Puk. J. For.*, Vol. 25 (279), (1975)
- [11] Sebbagh N., Cruciani-Guglielmacci C., Ouali F., et al., *Diabetes & Metabolism* 35 (2009), Elsevier Masson SAS, 178–184, (2009).
- [12] Boublenza I., Contribution à l'étude de l'analyse de l'huile de *Citrullus colocynthis* (coloquinte) et de son pouvoir antimicrobien, mémoire de magister soutenu à l'université de Tlemcen, (2011).
- [13] Canales M., Hernández T., Rodriguez-Monroy M. A., *Evaluation of the antimicrobial activity of Acalypha monostachya Cav. (Euphorbiales: Euphorbiaceae)*, (2011).
- [14] Lima Luciana Alves Rodrigues dos Santos, Johann Susana, Cisalpino Patrícia Silva et al., *In vitro antifungal activity of fatty acid methyl esters of the seeds of Annona cornifolia A.St.-Hil. (Annonaceae) against pathogenic fungus Paracoccidioides brasiliensis*, (2011).
- [15] Habulin M., SašaŠabeder, ŽeljkoKnez, University of Maribor, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Laboratory for Separation Processes and Product Design, Smetanova 17, SI-2000 Maribor, Slovenia. (2008).

# PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



*PCBS  
Journal*



Edition LPSO

Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory  
<http://www.pcbsj.webs.com> , Email: phytochem07@yahoo.fr