

Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L.

par Hanen Najjaa^(1,2), Sami Zouari⁽¹⁾, Ingrid Arnault⁽³⁾, Jacques Auger⁽⁴⁾, Emna Ammar⁽²⁾ et Mohamed Neffati⁽¹⁾

(1) Laboratoire d'écologie pastorale, Institut des régions arides, 4119 Médenine, Tunisie; hanen.najjaa@yahoo.fr

(2) UR Gestion des environnements côtiers et urbains, École nationale d'ingénieurs de Sfax, B.P. W, 3038 Sfax, Tunisie

(3) CETU Innophyt, Université François Rabelais, avenue Monge, F-37200 Tours

(4) IRBI, UMR CNRS 6035, Université François Rabelais, avenue Monge, F-37200 Tours

arrivé le 20 mai 2009, accepté le 22 mars 2010

Résumé. - Ce travail a porté sur deux *Allium* spontanés prisés en raison de leur valeur alimentaire et leurs vertus thérapeutiques, *A. roseum* var. *odoratissimum* et *A. ampeloprasum*. Nous avons engagé un screening phytochimique de métabolites secondaires ainsi qu'une analyse qualitative de composés soufrés pré-curseurs des arômes d'*Allium*, les S-alk(en)yl cystéine sulfoxides. Les résultats montrent que ces espèces sont caractérisées par la présence de méthiine, alliine et isoalliine chez *A. roseum*, isoalliine et méthiine chez *A. ampeloprasum*. Ainsi *A. roseum* présente les caractéristiques aromatiques d'un ail spontané et *A. ampeloprasum* est plus proche d'un oignon. Les tests de caractérisation réalisés sur ces différents produits ont permis de mettre en évidence leur richesse en stéroïdes, saponines, quinones libres, saponosides, acides aminés, iridoïdes, hétérosides cardiaques, dérivés phénoliques, coumarines, flavonoïdes et tanins.

Mots clés : *Allium roseum* - *Allium ampeloprasum* - métabolites secondaires - composés organosoufrés.

Abstract. - This study deals with the valorisation of medicinal and aromatic *Allium* to find new bioactive natural products. The phytochemical analyses of *A. roseum* and *A. ampeloprasum* powders and their aqueous and organic extracts are achieved. The results show that these species are characterized by the presence, among their components, of three precursors of organosulphurous volatile compounds. They are methiin, isoalliine and alliine in *A. roseum* and isoalliin and methiin in *A. ampeloprasum*. These differences in their flavours can correlated with the vicinity of *A. roseum* with garlic and *A. ampeloprasum* with onion. Phytochemical screening of *Allium roseum* shows the presence of active agents such as saponins, tannins, flavonoids, coumarins, steroids, cardiac glycosides, free quinone and iridoids.

Key words : *Allium roseum* - *Allium ampeloprasum* - secondary metabolites - organo sulphur compounds.

I. INTRODUCTION

Les médecines « douces », particulièrement la phytothérapie, connaissent un succès considérable dans nombreuses régions d'Afrique, d'Asie et d'Europe. Des enquêtes récentes révèlent que 3 à 5% des patients des pays occidentaux (OMS, 2002), 80% des populations rurales des pays en développement et 85% des populations au sud du Sahara (<http://www.fmcgastro.org/htdocs/postu98/larrey.html>) utilisent les plantes médicinales comme principal traitement.

Les composés secondaires des plantes sont réputés depuis l'Antiquité pour leurs propriétés pharmacologiques et depuis quelques décennies l'homme s'intéresse également à leurs autres activités biologiques. Ces composés sont très nombreux et variés, et certains sont largement répandus, comme les alcaloïdes, les terpènes et les tanins, tandis que d'autres ont une répartition plus restreinte comme les composés soufrés.

Depuis des temps reculés, les *Allium* sont utilisés pour leurs propriétés médicinales empiriques (Bolton *et al.*, 1982) et pour leurs propriétés culinaires. Ce double intérêt est à l'origine de la réalisation de nombreux travaux de recherche visant à étudier la composition chimique des espèces de ce genre caractérisées par une odeur forte, un goût prononcé et aux effets physiologiques remarquables. On sait depuis très longtemps que l'éminçage d'un tissu d'*Allium* provoque la libération de nombreux composés volatils, de faible masse moléculaire et renfermant des atomes de soufre (Block, 1992). Il y a lieu aussi de noter que la plupart des effets conservateurs, alimentaires, phytosanitaires et thérapeutiques de ces espèces sont attribués aux composés organosoufrés comme l'alliine et l'allicine (Auger & Thibout, 2002 ; Arnault *et al.*, 2005 ; Elss *et al.*, 2005 ; Haciseferoğullari *et al.*, 2005).

Ces espèces ont, à cet effet, attiré toute l'attention des aromaticiens et des technologues de l'agro-alimentaire qui n'ont cessé, jusqu'à nos jours, de développer des produits à base de ces plantes : soupes, purées, sauces, tissus déshydratés, lyophilisés, huiles essentielles. En parallèle, les chimistes soucieux de préserver les caractéristiques essentielles du matériel de départ (arôme) se servent d'outils analytiques de plus en plus perfectionnés pour valoriser les produits à chacune de ces étapes de transformation. Bien que plusieurs travaux dans ce domaine aient été réalisés sur plusieurs espèces du genre *Allium*, surtout les cultivés, rares sont les travaux qui ont porté sur les espèces spontanées du genre *Allium* en Tunisie et en particulier *A. roseum* et *A. ampeloprasum*.

A. roseum est très proche de *A. sativum*, puisqu'il produit une majorité de substances soufrées volatiles à groupement allylique (Najjaa *et al.*, 2007) et en général les *Allium* du complexe *ampeloprasum* sont plus proches des poireaux et oignons, donc à groupement principal 1-propényl. On peut se poser la question de savoir si cet *A. ampeloprasum* est conforme à ce cas général ou bien si, comme dans le cas de *A. ampeloprasum* var. *bulbiferum* Lloyd, il est proche de d'ail (Boscher & Auger, 1991) et donc d'*A. roseum*.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'identification des composés organosoufrés précurseurs des arômes chez ces deux espèces ainsi qu'à la recherche qualitative du type de métabolites secondaires tels que les anthraquinones, les stéroïdes, les saponines, les quinones libres, les anthracénosides, les saponosides, les acides aminés, les irridoïdes, les hétérosides cardiaques, les dérivés phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes et les tanins. Le screening phytochimique de ces deux espèces d'*Allium* nous permet de connaître leurs principaux constituants, ce qui va nous orienter vers l'étude de certaines activités biologiques et la connaissance des substances mises en jeu.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Matériel végétal

Les échantillons d'*Allium* au stade végétatif ont été collectés au sud-est de la Tunisie à partir de peuplements spontanés au mois de janvier 2008. Des spécimens d'herbier sont déposés au laboratoire d'écologie pastorale de l'Institut des régions arides (Médenine). Les feuilles séchées à l'ombre et à l'abri de l'humidité ont été broyées afin d'avoir une poudre fine qui a servi à réaliser les diverses analyses de screening phytochimique.

B. Analyse des organosoufrés

Les substances analysées sont les précurseurs d'arômes des *Allium* : l'alliine (S-allyl-L-cystéine sulfoxyde, AICSO), l'isoalliine (S-trans-1-propenyl-L-cystéine sulfoxyde, PeCSO), la méthiine (S-méthyl-L-cystéine sulfoxyde, MCSO) la propiine (S-propyl-L-cystéine sulfoxyde, PCSO), AICSO) (Arnault *et al.*, 2005).

L'analyse des composés organosoufrés est effectuée par HPLC-UV. Les échantillons sont pesés puis homogénéisés dans 80 ml de méthanol/eau (9:1, v/v) + 0.05% acide formique. Après centrifugation, le surnageant est dilué dix fois puis filtré par une membrane de polydifluorovinylidène (PVDF) ayant des pores de 0.2 µm de diamètre. L'analyse des extraits est réalisée avec une pompe Waters 616, un détecteur U.V (Waters) 996 à barrette de diodes à 208 nm et un injecteur automatique Waters 717. Les composés sont séparés par une colonne Hypurity Elite C18 à 38 °C. La phase mobile est un mélange de deux éluants : l'éluant A est composé de dihydrogénophosphate de sodium (20 mM) et d'heptane-sulfonate (10 mM), un agent d'appariement d'ion. Le pH de cette solution est ajusté à 2,1 avec l'acide orthophosphorique (85%). L'éluant B est composé d'acétonitrile et d'une solution d'heptano-sulfonate (10 mM) et de dihydrogénophosphate de sodium (20 mM) à pH 2.1 (50:50, v/v). L'élution est en mode gradient (Arnault *et al.*, 2005). Le logiciel utilisé pour l'acquisition des données est le Millennium de Waters.

C. Étude phytochimique

Afin de mettre en évidence les principales classes chimiques de métabolites secondaires dans ces deux espèces, plusieurs réactions de caractérisation ont été effectuées.

Préparation des extraits

Cette étude phytochimique a été réalisée sur divers extraits qui ont été préparés à partir de la partie aérienne des deux plantes étudiées.

. Décoction : une décoction aqueuse à 5% a été effectuée en plaçant 10 g de poudre de feuilles dans 200 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 1 h. Le décocté refroidi a été filtré, puis lyophilisé (Diallo *et al.*, 2004).

. Macération : une macération aqueuse a été effectuée sur 10 g de poudre avec 100 ml d'eau distillée et placés sous agitation pendant 24 h. Le résidu est extrait dans les mêmes conditions deux autres fois. Après filtration, l'extrait a été lyophilisé (Diallo *et al.*, 2004).

. Digestion à 50 °C : dix g de poudre de matière végétale d'*Allium* ont été placés dans 100 ml d'eau distillée et portés à 50 °C pendant 3 h. La filtration a été réalisée sur papier filtre (n° 4). Le filtrat a été lyophilisé (Diallo *et al.*, 2004).

. Extraction avec des solvants à polarité croissante : vingt g de poudre ont été extraits avec 3×100 ml d'éther de pétrole et placés sous agitation pendant 24 h en répétant l'extraction deux autres fois successives. Après filtration sur papier filtre, l'extrait d'éther de pétrole a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu est ensuite mis en agitation dans

300 ml de dichlorométhane pendant 3×24 h, puis dans 300 ml de méthanol dans les mêmes conditions. Le résidu de l'extraction précédente a été repris par 3×100 ml d'éthanol à 80% et laissé sous agitation pendant 3×24 h. Enfin, le résidu a été séché pendant 24 h à la température ambiante, puis on ajoute 300 ml d'eau distillée et on chauffe à 50 °C, puis à 100 °C, pendant trois heures à chaque fois. Les solutions ont été filtrées sur papier filtre pour obtenir l'extrait digéré à 50 °C et l'extrait digéré après épuisement, respectivement (Diallo *et al.*, 2004).

Caractérisation des principaux constituants chimiques

Les principales familles chimiques qui peuvent être présentes dans les extraits préparés à partir des deux espèces étudiées ont été caractérisées par des réactions colorées et par l'établissement de leurs profils chromatographiques par CCM.

. Flavonoïdes : de nombreuses réactions colorées permettent de caractériser les flavonoïdes mais la plus connue et retenue est celle de la cyanidine qui peut être réalisée soit sur la poudre des feuilles soit sur ses extraits aqueux et organiques. En présence de 1 ml d'acide

Tableau I.- Conditions de révélation et valeurs des Rf des extraits aqueux et organiques d'*A. roseum* (Ar) et d'*A. ampeloprasum* (Aa).

Table I.- Revelation conditions and Rf values of aqueous and organic extracts of *A. roseum* (Ar) and *A. ampeloprasum* (Aa).

Extraits	Éluants	Révélateurs	Valeurs des Rf	
Décocté (80 : 10 : 10) AlCl ₃	n-butanol/acide acétique/eau n-butanol/acide acétique/eau (80:10:10)	UV	Ar : 0.38, 0.64	Aa : 0.40
		UV	Ar : 0.38, 0.64	Aa : 0.40
Macéré		Réactif de Neu	Ar : 0.38, 0.64	Aa : 0.60, 0.90
		UV	Ar : 0.38, 0.89	Aa : 0.48, 0.89
Extrait digéré	n-butanol/acide acétique/eau (80:10:10)	Réactif de Neu	Ar : 0.38, 0.89	Aa : 0.48, 0.89
		UV	Ar : 0.3, 0.48	Aa : 0.27
Infusé	chloroforme/méthanol (9.5:0.5)	Réactif de Neu	Ar : 0.3, 0.48	Aa : 0.90
		UV	Ar : 0.3, 0.48	Aa : 0.27, 0.43, 0.90
		AlCl ₃	Ar : 0.5	Aa : pas de taches
Éther de pétrole		Réactif de Neu	Ar : 0.37, 0.65	Aa : 0.25, 0.44, 63
		UV	Ar : 0.47	Aa : 0.47, 0.73
Méthanolique	n-butanol/acide acétique/eau (80:10:10)	Réactif de Neu	Ar : 0.64, 0.80	Aa : 0.57, 0.80
		UV	Ar : 0.64, 0.80	Aa : 0.57, 0.80
Éthanolique	chloroforme/méthanol (9.5:0.5)	Réactif de Neu	Ar : 0.64, 0.80	Aa : 0.47, 0.73
		UV	Ar : 0.33, 0.53, 0.66, 0.80	Aa : 0.15, 0.33, 0.50
Décocté après épuisement	n-butanol/acide acétique/eau (80:10:10)	Réactif de Neu	Ar : 0.33, 0.53	Aa : 0.15, 0.33
		UV	Ar : 0.53, 0.80	Aa : 0.80
Décocté après épuisement	chloroforme/méthanol (9.5:0.5)	AlCl ₃	Ar : 0.53, 0.80, 0.26	Aa : 0.14, 0.70, 0.80
		Réactif de Neu	Ar : 0.33, 0.80, 0.26	Aa : 0.06, 0.48
Décocté après épuisement	n-butanol/acide acétique/eau (80:10:10)	Réactif de Neu	Ar : 0.28, 0.46	Aa : 0.12, 0.38
		UV	pas de taches	
Décocté après épuisement	chloroforme/méthanol (9.5:0.5)	AlCl ₃	Ar : 0.42	Aa : 0.18
		Réactif de Neu	Ar : 0.37, 0.42	Aa : 0.13, 0.26, 0.51

chlorhydrique concentré et de quelques copeaux de magnésium, les flavonoïdes sont responsables d'un dégagement d'hydrogène et d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre (Paris & Moyses, 1965). Les extraits aqueux et organiques sont aussi soumis à une CCM avec différents types d'éluant et sous diverses conditions de révélation (Tableau I ; Dohou *et al.*, 2003).

. Coumarines : elles ont été détectées dans la poudre des feuilles et dans les extraits dichlorométhaniques selon la méthode décrite par Dohou *et al.* (2003). Ces extraits sont aussi soumis à une CCM. Le solvant est un mélange de toluène/acétate d'éthyle (93:10). La visualisation du chromatogramme par ultra-violet, après migration, se fait à 366 nm.

. Anthraquinones : à l'extrait de dichlorométhane de chaque espèce, on ajoute du KOH aqueux 10%. Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge (Dohou *et al.*, 2003).

. Quinones libres : on ajoute quelques gouttes de NaOH 1/10 à l'extrait d'éther de pétrole des deux espèces. La présence de quinones libres est confirmée par un virage de la couleur des phases aqueuses au jaune, rouge ou violet.

. Anthracénosides

*Les formes aglycones oxydées : 0.2 g de poudre végétale est mis à macérer pendant 15 min en présence de 5 ml de chloroforme. Après filtration, 2 ml de NH₄OH diluée au 1/2 sont ajoutés au filtrat. On laisse décanter le mélange et on observe la coloration de la phase aqueuse qui se colore en rouge pourpre indiquant la présence des formes aglycones oxydées (Paris & Moyses, 1965).

*Les formes combinées : 0.025 g de chaque poudre à tester est mis à infuser au bain marie pendant 15 min en présence de 10 ml d'eau distillée et 1 ml de HCl concentré. Après filtration, on ajoute 5 ml de chloroforme et on agite. On laisse décanter et on prélève la phase chloroforme que l'on évapore à sec. On ajoute au résidu 2 ml d'ammoniaque diluée au demi. Une coloration jaune qui se développe et vire au rouge par chauffage au bain marie indique la présence des formes combinées des anthracénosides (Paris & Moyses, 1965).

. Saponosides : un gramme de drogue et 100 ml d'eau distillée sont placés dans un erlenmeyer, porté au bain marie bouillant et maintenus en ébullition pendant 30 min tout en agitant régulièrement. Après refroidissement, le mélange est filtré et le filtrat est agité manuellement pendant 15 secondes. La persistance de la mousse indique la présence des saponosides (Paris & Moyses, 1965). La détermination quantitative des saponosides est effectuée par le calcul de l'indice de mousse décrit par Diallo *et al.* (2004).

. Tanins : 1.5 g de matériel végétal sec de chaque espèce est placé dans un tube à essai contenant 10 ml de méthanol pur. Après 15 mn d'agitation, les extraits sont filtrés et mis dans des tubes. L'ajout de FeCl₃ 1% développe une coloration bleue noire en présence des tanins galliques (hydrolysables) et une coloration brune verdâtre en présence des tanins catéchiques (condensés) (Rizk, 1982). Une deuxième méthode (réaction de Bate-Smith) est utilisée pour confirmer les tanins catéchiques par développement d'une coloration rouge brique lorsqu'on ajoute à 2 ml de l'infusé, 1 ml de HCl concentré et qu'on met le tout dans un bain marie pendant 5 min (Dohou *et al.*, 2003).

. Acides aminés : un gramme de matériel végétal de chaque espèce est introduit dans un tube à essai contenant de l'eau distillée chaude. Le mélange est agité, puis filtré. Une quantité de la solution de ninhydrine est ajoutée au filtrat. Une coloration rouge indique la présence des acides aminés (Paris & Moyses, 1965).

. Stéroïdes : les stéroïdes ont été détectés par la réaction de Libermann. La présence de stéroïdes dans 1 ml d'extrait dichlorométhane et d'éther de pétrole de chaque espèce est mise

en évidence en présence de quelques gouttes d'acide sulfurique et d'anhydride acétique concentré par l'appariation d'une coloration violette, puis bleue et enfin verte (Paris & Moyses, 1965).

. Iridoïdes : on ajoute 1 ml d'acide chlorhydrique concentré à l'extrait décocté. La formation de précipité noir après chauffage de cet extrait caractérise la présence des iridoïdes (Paris & Moyses, 1965).

. Hétérosides cardiotoniques : à 1 ml d'extrait (décocté ou organique) on ajoute 1 ml de solution de sulfate ferrique (5%) et 100 ml d'acide sulfurique concentré, on obtient une coloration réaction de Keller-Kiliani en fonction de la structure des hétérosides cardiotoniques mise en jeu à savoir (Parekh *et al.*, 2006) :

- digitoxine : brun rouge sale
- digitoxigénine : rouge fluorescent
- gitoxine : jaune puis rouge bleu
- gitoxigénine : jaune puis rouge violet

. Dérivées phénoliques : on ajoute une goutte de la solution $FeCl_3$ à 5% à l'extrait décocté. L'apparition d'une coloration verte ou bleue indique la présence des dérivés phénoliques (Paris & Moyses, 1965).

III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

A. Identification des précurseurs des substances soufrées volatiles et détermination de leurs teneurs

Les résultats d'analyse par HPLC des concentrations des quatre précurseurs AICSO, PeCSO et MCSO chez les deux espèces étudiées en provenance de Tunisie sont représentés dans la figure 1, qui montre la proportion des précurseurs présents. L'alliine, la méthii-

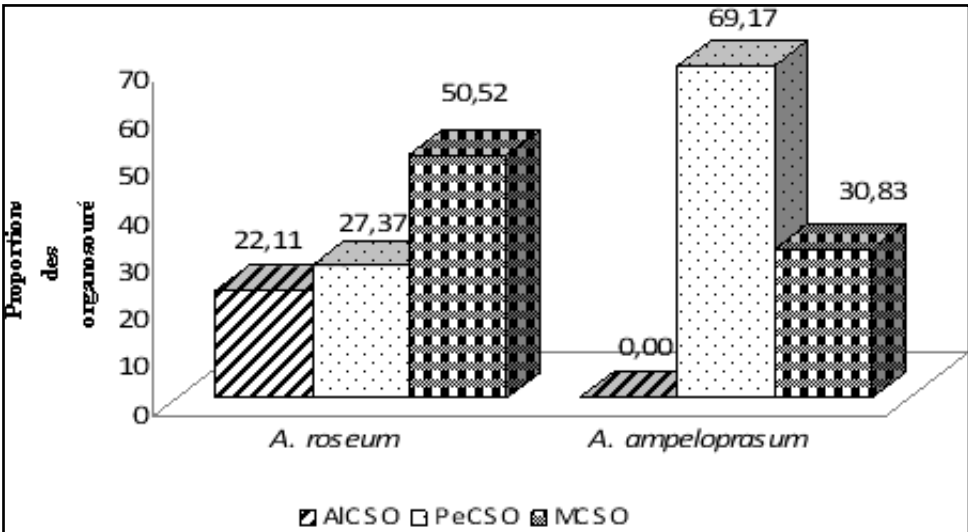


Fig. 1.- Proportion moyenne des précurseurs des organosoufrés dans *A. roseum* et *A. ampeloprasum*.

Fig. 1.- Precursors proportions in *A. roseum* and *A. ampeloprasum*.

ne et l'isoalliine sont les précurseurs détectés dans *A. roseum*. La propiine est complètement absente dans les extraits des deux espèces étudiées. Chez *A. ampeloprasum*, les précurseurs sont l'isoalliine et la méthiine. Ces derniers sont les précurseurs stables des dérivés volatils et odorants qui se trouvent à des concentrations variables suivant les parties de la plante (Mackenzie & Ferns, 1977). Leur proportion peut atteindre 5% du poids sec (Virtanen, 1965). Ces résultats montrent que, à la différence de *A. ampeloprasum* var. *bulbuliferum*, cet *A. ampeloprasum* est très éloigné de *A. roseum* qui appartient bien aux ails spontanés.

Cette étude biochimique sur les précurseurs des arômes d'*Allium* a ainsi permis de déterminer la relation éventuelle entre ces composés et l'odeur et la saveur de la plante. *A. ampeloprasum* s'approche beaucoup plus des oignons et des poireaux spontanés que de l'ail. Les résultats relatifs à cette espèce mettent en évidence la prédominance relative de l'isoalliine par rapport à la méthiine, contrairement à *A. sicutum*, espèce ornementale, qui est caractérisée surtout par la présence majoritaire de méthiine, avec une faible concentration en isoalliine (Lancaster & Shaw, 1989). La méthiine est un composé qui se retrouve dans les variétés d'*Allium* spontanées telles que *A. paniculatum*, *A. ursinum*, *A. vineale* (Boscher *et al.*, 1995).

L'ail est caractérisé, par rapport aux autres *Allium*, par sa richesse en alliine [(+)-S-allyl-L-cystéine sulfoxide], en plus de la présence de la méthiine [(+)-S-méthyle-L-cystéine sulfoxide] et de l'isoalliine [trans(+)-S-1-propényl-L-cystéine sulfoxide] (Block, 1992). Il s'avère ainsi qu'*A. roseum* fait partie des rares espèces spontanées qui présentent le groupement 2-propényl et 1-propényl dans des proportions comparables.

Malgré les différences de leurs caractéristiques morphologiques et de leurs exigences écologiques qui ont fait éloigner leur position systématique, ces deux espèces d'*Allium* synthétisent, comme la plupart des espèces du genre, des précurseurs des produits soufrés volatils (thiosulfonates et sulfures d'alkyle). La détermination de la proportion relative des composés alkylés a souvent été utilisée dans la systématique des *Allium* sauvages de l'Ancien et du Nouveau Monde (Auger *et al.*, 1992).

Les différences de concentration en isoalliine expliquent bien la différence de goût de ces espèces puisque, d'après Boscher *et al.* (1995), c'est cet acide aminé qui en est responsable. L'isoalliine est absente dans les bulbes et les feuilles des trois espèces spontanées d'*Allium* étudiées par Boscher *et al.* (1995), pourtant elle est présente dans les espèces cultivées.

Selon Boscher *et al.* (1995), les proportions des quatre précurseurs varient non seulement d'une espèce à l'autre mais aussi au sein de la même espèce selon l'organe, la variété, le stade de développement et les conditions environnementales. La différence qualitative entre l'arôme des différentes espèces du genre *Allium* est liée à la différence entre les proportions des précurseurs de ces substances dans chacune d'elle (Freeman, 1975).

Les précurseurs des substances aromatiques jouent un rôle important dans la protection des *Allium* aussi bien contre les animaux phytophages que les bactéries et virus qui envahissent les plantes. Des tests *in vitro* ont montré que des extraits d'ail et d'oignon inhibent la croissance de plus de 80 champignons pathogènes. Ils ont montré aussi une activité insecticide et une toxicité pour un certain nombre de nématodes qui parasitent les plantes (Brewster, 1994).

La plupart des activités biologiques liées aux *Allium* sont cependant dues à des substances volatiles dérivées de ces acides aminés. Celles-ci sont émises lors de la destruction des cellules. Les acides aminés précurseurs sont alors mis en présence d'une enzyme, l'al-

liinase ou alliinylsulfinate lyase (EC 4.4.1.4), qui provoque, après la coupure de la liaison C-S, la synthèse de toute une série de composés soufrés volatils et non volatils et des composés non soufrés (Messiaen *et al.*, 1993 ; Moreau *et al.*, 1996 ; Jaillais *et al.*, 1999 ; Bakrii & Douglas, 2005). Les espèces du genre *Allium* ne libèrent leur odeur caractéristique que lorsque les tissus sont coupés ou écrasés. Plus de 80 composés volatils contenant du soufre ont été identifiés dans les extraits d'*Allium* (Brewster, 1994).

En 1949, Von Heuler et Linderman ont montré que l'alliine était responsable de l'inhibition de la croissance des tumeurs chez les souris. Wesberger et Pensky (1957) ont trouvé que plusieurs métabolites de l'alliine, incluant l'alicine, possédaient un effet inhibiteur des lymphosarcomes et sarcom-80 Murphy-Sturmcelles chez les souris et les rats. L'administration simultanée d'alliine pure et de sulfoxyde de méthyle cystéine avec du cholestérol à des rats a réduit de 20-45% le cholestérol plasmatique (Agarwal, 1996).

L'alicine, qui constitue l'une des molécules clés de l'ail, présente plusieurs propriétés biologiques, médicinales et organoleptiques (Arnault *et al.*, 2005) à tel point que la qualité de tous les extraits de l'ail et la majorité des aliments commerciaux à base d'ail (comprimés, capsules contenant la poudre d'ail) est évaluée selon leurs contenus en alicine ou de leurs capacités de produire de l'alicine. À la lumière de toutes ces données bibliographiques, il s'avère que la bioactivité des espèces du genre *Allium* est en rapport avec leurs teneurs en composés organosoufrés et principalement l'alliine (Keusgen *et al.*, 2003).

B. Rendements des extraits préparés

Les extraits d'*A. roseum* et d'*A. ampeloprasum* ont été caractérisés par leur couleur, leur aspect et leur rendement par rapport à la drogue séchée à la température ambiante. Ces résultats sont représentés dans le tableau II. À la lecture de ce tableau, on constate que les rendements les plus élevés sont enregistrés dans les extraits obtenus par les solvants les

Tableau II.- Aspects, couleurs et rendements des extraits de feuilles d'*A. roseum* et *A. ampeloprasum* avec différents solvants.

Table II.- Aspects, colours and yields of the extracts of the leaves of *A. roseum* and *A. ampeloprasum* with various solvents.

Espèce	Extraits	Couleur/aspects	Rendement (%)
<i>A. roseum</i>	Décocté	Marron (cristaux)	30.55
	Infusé	Marron (cristaux)	25.03
	Ethanolique	Vert	23.86
	Méthanolique	Marron (pâteux)	23.16
	Digéré à 50 °C	Marron (cristaux)	18.00
	Digéré après épuisement	Marron (poudre)	14.50
	Macéré	Brun (pâteux)	13.50
	Décocté après épuisement	Marron (poudre)	3.73
	Dichlorométhane	Vert foncé (pâteux)	2.03
Ether de pétrole	Marron (cristaux)	1.83	
<i>A. ampeloprasum</i>	Méthanolique	Marron (visqueux)	43.56
	Décocté	Marron (pâteux)	32.55
	Infusé	Marron (pâteux)	22.35
	Digéré à 50 °C	Marron (cristaux)	16.00
	Macéré	Vert foncé (poudre)	14.50
	Digéré après épuisement	Marron (poudre)	14.50
	Ethanolique	Vert	12.00
	Dichlorométhane	Vert foncé	7.01
	Ether de pétrole	Vert (poudre)	6.13
Décocté après épuisement	Jaune (poudre)	4.96	

Tableau III.- Groupes chimiques présents dans les feuilles de *A. roseum* et *A. ampeloprasmum*.Table III.- Chemical groups present in leaves of *A. roseum* and *A. ampeloprasmum*.

Espèces	Familles chimiques	Réaction de caractérisation
<i>A. roseum</i>	Acides aminés	Couleur rouge : présence d'acides aminés
	Saponosides	Persistance de mousse : présences de saponosides Indice de mousse : 125
	Anthracénosides	Pas de couleur rouge : absence de formes oxydés et formes combinés.
	Tanins	Coloration brun verdâtre : présence des tanins catéchiques
	Flavonoïdes	Coloration orangée : présence de flavonoïdes
	Coumarines	Présence d'une tache rouge sur une CCM visualisée avec UV à 366 nm : présence de coumarines
<i>A. ampeloprasmum</i>	Acides aminés	Couleur rouge montrant la présence des acides aminés
	Saponosides	Persistance de mousse : présence de saponosides Indice de mousse : 200
	Anthracénosides	Pas de couleur rouge : absence des formes oxydées et des formes combinées
	Tanins	Coloration bleu noir : présence de tanins galliques
	Flavonoïdes	Coloration jaune verdâtre : présence de flavonoïdes
	Coumarines	Présence d'une tache rouge sur une CCM visualisé avec UV à 366 nm : présence de coumarines

plus polaires chez les deux espèces étudiées (les extraits aqueux, méthanoliques et éthanologiques). À titre d'exemple, les rendements de l'extrait méthanolique et l'extrait décocté d'*A. ampeloprasmum* sont respectivement de 43,5% et de 32,5%. Par contre, les extraits d'éther de pétrole et de dichlorométhane présentent les rendements les plus faibles (1,8% et 2,0% respectivement) chez *A. roseum*.

C. Principaux constituants chimiques des feuilles d'*A. roseum* et d'*A. ampeloprasmum*

Les résultats de l'étude phytochimique, effectuée sur les feuilles d'*A. roseum* et d'*A. ampeloprasmum* sont consignés dans le tableau III. Ils montrent que le criblage phytochimique effectué a révélé la présence de coumarines, de flavonoïdes, de saponosides, de tanins catéchiques, de dérivés phénoliques, d'iridoïdes, de quinones libres, de stéroïdes et d'hétérosides. Il y a lieu cependant de signaler que le test de recherche d'anthracénosides a été négatif sur les échantillons des feuilles des deux espèces étudiées. La détermination de l'indice de mousse montre que les saponosides sont plus abondants chez *A. ampeloprasmum*. Il est à signaler aussi qu'il existe des tanins catéchiques chez *A. roseum* et des tanins galliques chez *A. ampeloprasmum*.

Les composés soufrés sont les plus abondants et les mieux connus des composés secondaires des *Allium*, qui synthétisent également d'autres composés secondaires comme des saponines (Kawashima *et al.*, 1978). Cependant, les espèces de ce genre sont aussi très riches en d'autres composés bioactifs comme les acides aminés, les flavonoïdes, les coumarines, les tanins, les saponosides, les stéroïdes, etc. (Lachman *et al.*, 2003 ; Dini *et al.*, 2005 ; Lanzotti, 2006).

Pour mieux caractériser les groupes chimiques présents dans les feuilles de nos espèces, nous avons effectué d'autres essais phytochimiques sur des extraits qui ont été préparés à partir de ces feuilles. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau IV. Les essais de caractérisation des groupes chimiques dans les extraits des feuilles d'*A. roseum* et d'*A. ampeloprasmum* sont en accord avec les résultats obtenus avec celles de la poudre directement.

Tableau IV.- Caractérisation des groupes chimiques présents dans les extraits des feuilles d'*A. roseum* (Ar) et d'*A. ampeloprasum* (Aa) ; ++++ : très abondant, +++ : abondant, ++ : moyen, + : faible, - : non détecté.

Table IV.- Characterization of the chemical groups present in the extracts of *A. roseum* (Ar) and *A. ampeloprasum* (Aa).

Groupes chimiques	Extraits	Résultats des réactions	
		<i>A. roseum</i>	<i>A. ampeloprasum</i>
Coumarines	Dichlorométhane	+++	+++
Flavonoïdes	Méthanolique, décocté, macéré, digéré, infusé, d'éther de pétrole, éthanolique, décocté après épuisement et digéré après épuisement	++++ (flavonol)	++++ (flavone)
Tanins	Infusé	+++ : tanins catéchiques	+++ : tanins galliques
Anthraquinones	Dichlorométhane	-	-
Quinones libres	Ether de pétrole	+++	++
Dérivés phénoliques	Décocté	++	++
Iridoïdes	Décocté	++++	++++
	Décocté	-	-
Hétérosides cardiotoniques	Méthanolique	+++ (digitoxine)	++ (gitoxine)
	Éthanolique	++ (digitoxine)	++ (digitoxine)
	Dichlorométhane	-	-
	Ether de pétrole	++ (gitoxine)	++ (gitoxine)
Stéroïdes	Dichlorométhane	++	++
	Ether de pétrole	+++	+

Le chromatogramme de l'extrait chloroforme et dichlorométhane, suite à une extinction par UV à 366 nm, montre la présence de taches rouges, ce qui confirme la présence de coumarines dont les rapports frontaux (Rf) sont de 0.57 et 0.58 chez *A. roseum*, 0.63 et 0.55 chez *A. ampeloprasum*, respectivement.

Les iridoïdes sont très abondants dans le décocté des deux espèces, par contre les anthraquinones ne sont pas détectables dans l'extrait de dichlorométhane de ces mêmes espèces. Les extraits organiques (éther de pétrole, méthanolique et éthanolique) des deux espèces montrent la présence de deux types d'hétérosides cardiotoniques (digitoxine et gitoxine). Cette dernière famille semble être constituée par des composés de type digoxigénine chez *A. roseum* et de digitoxine et gitoxine chez *A. ampeloprasum*. Ce tableau montre également que les stéroïdes sont présents dans les extraits de dichlorométhane et d'éther de pétrole chez les deux espèces d'*Allium*.

Les composés les plus abondants dans les feuilles des deux espèces sont surtout les flavonoïdes, les tanins catéchiques et les saponosides. De leur côté, Mazza et Oomah (2000) affirment la présence des stérols et des glycosides stéroïdaux dans diverses espèces d'*Allium*, surtout dans les bulbes et les feuilles d'oignon. Ces auteurs ont signalé que la concentration des saponines est de 0,1% dans le poireau, 0,021% dans l'ail et 0,095% dans l'oignon. La richesse d'*A. ampeloprasum* en saponine a été mentionné par Mortia *et al.* (1998). Plusieurs travaux ont montré des activités biologiques importantes des saponines et des flavonoïdes isolées à partir de plusieurs espèces d'*Allium* (Dini *et al.*, 2005 ; Lanzotti, 2006). Les composés phénoliques, les tanins, les coumarines, les flavonoïdes détectés dans nos espèces ont des intérêts considérables dans le domaine pharmacologique (Rajaram, 2003 ; Russo *et al.*, 2005 ; Cai *et al.*, 2006).

Pour caractériser les flavonoïdes dans les extraits de nos deux espèces, nous avons effectué un screening sur des plaques CCM pour l'extrait aqueux et les extraits organiques en utilisant comme révélateurs le chlorure d'aluminium ou le réactif de Neu. Les valeurs

des rapports frontaux (Rf) des taches visualisées sur les chromatogrammes des extraits étudiés sont consignées dans le tableau IV. D'après les données de ce tableau, on constate que les propriétés physiques (aspect, couleur des taches et Rf) de ces extraits dépendent non seulement de l'espèce mais aussi de la nature de l'extrait (décocté, macéré, digéré, infusé, méthanolique, éther de pétrole). Par exemple, l'extrait décocté, révélé par $AlCl_3$, montre deux taches : l'une jaunée (Rf 0.38) et l'autre violette claire (Rf 0.64) chez *A. roseum*, alors que le poireau ne montre qu'une seule tache violette claire (Rf 0.40). La révélation du même extrait par le réactif de Neu montre les mêmes couleurs chez *A. roseum*. Par contre, chez *A. ampeloprasum*, on observe l'apparition de deux nouvelles taches, l'une jaune (Rf 0.60) et l'autre verte (Rf 0.90), alors que la tache de Rf 0.40 devient bleue

(Fig. 2). L'apparition de ces taches sur les plaques CCM indique bien la présence de flavonoïdes dans ces extraits (Lagnika, 2005). Les analyses effectuées sous UV avaient montré différentes fluorescences correspondantes à des flavones chez *A. ampeloprasum* et les flavonols chez *A. roseum*. Parmi tous les extraits étudiés, il s'est avéré que l'extrait le plus riche en flavonoïdes est l'extrait méthanolique.

Ces métabolites ont aussi des rôles très importants dans la pigmentation des fleurs et des fruits, la protection des plantes contre les herbivores, contre les radiations UV, etc. De plus, ce sont des antioxydants, antihépatotoxiques, anti-inflammatoires, antiviraux, antitumoraux, anticancéreux et antispasmodiques (Bate-Smith, 1954 ; Asad *et al.*, 1998 ; Di Carlo *et al.*, 1999 ; Ghedira, 2005). Carotenuto *et al.* (1996) détectent des flavonoïdes dans un autre *Allium* spontané, *A. ursinum*, ainsi que leur effet inhibiteur de l'agrégation de plaquettes humaines. L'oignon est très riche en flavonoïdes dont les principaux constituants sont des dérivés mono et diglucoside de la quercétine : la quercétine 4'-monoglucoside et la quercétine 3-4'-diglucoside (Teyssier *et al.*, 2001). Les extraits préparés à partir des feuilles d'*A. roseum* et d'*A. ampeloprasum* seront d'une grande utilité pour essayer d'établir une corrélation entre les différentes familles chimiques d'un côté et les différentes activités biologiques (antioxydante, anticancéreuse, antibactérienne, etc.) déjà décrites pour les espèces d'*Allium* d'un autre. On peut ainsi dire que ce screening phytochimique a montré la présence de métabolites secondaires quasi identiques qualitativement chez ces deux

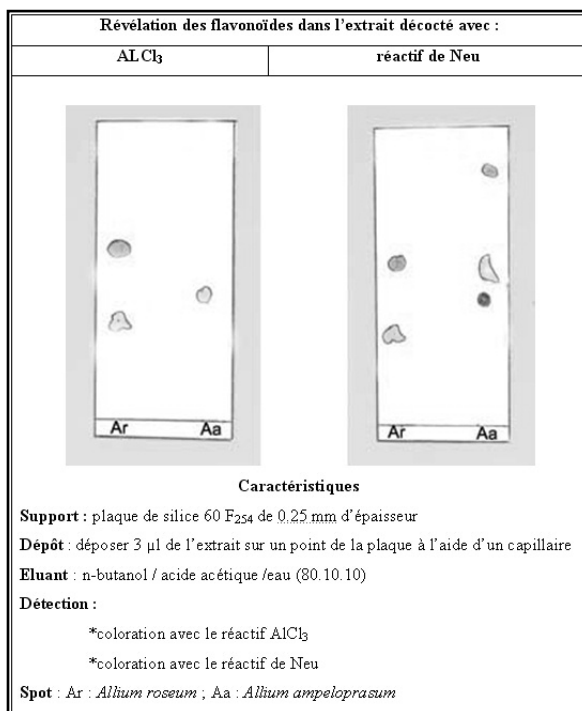


Fig. 2.- Caractérisation des flavonoïdes dans l'extrait décocté chez *A. roseum* et *A. ampeloprasum*.

Fig. 2.- Characterization of flavonoïdes in the decocted extract in *A. roseum* and *A. ampeloprasum*.

Allium spontanés pourtant morphologiquement, écologiquement et systématiquement très éloignés.

IV. CONCLUSION

En plus de leur l'importance biologique et médicinale, *A. roseum* et *A. ampeloprasum*, qui n'avaient été étudiés que de point de vue botanique et écologique, s'avèrent très riches en métabolites secondaires, d'où leur intérêt considérable dans le domaine pharmacologique. Ce travail a donc mis en évidence des similitudes et quelques différences qui permettent de mieux comprendre les propriétés pharmacologiques de leurs extraits. Il serait alors très intéressant d'exploiter ces résultats et de rechercher des principes actifs responsables de ces propriétés pharmacologiques. En ce qui concerne les substances soufrées, la différence entre ces deux espèces est maintenant bien établie.

BIBLIOGRAPHIE

- Agarwal K.C., 1996.- Therapeutic actions of garlic constituents. *Med. Res. Rev.*, **16**, 111-124.
- Arnault I., T. Haffner, M.H. Siess, A. Vollmard, R. Kahane & J. Auger, 2005.- Analytical method for appreciation of garlic therapeutic potential and for validation of a new formulation. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **37**, 963-970.
- Asad S.F., S. Singh, A. Ahmad & S.M. Hadi, 1998.- Flavonoids: antioxydants in diet and potential anticancer agents. *Med. Sci. Res.*, **26**, 273-278.
- Auger J., J. Boscher, B. Lages, E. Postaire & C. Viel, 1992.- Différence et similitudes des composées secondaires chez deux espèces d'*Allium* : *Allium vineale* L. et *Allium ursinum* L. *Bull. Soc. Bot. France*, **139**, 61-66.
- Auger J. & E. Thibout, 2002.- Substances soufrées des *Allium* et des Crucifères et leurs potentialités phytosanitaires. In : *Biopesticides d'origines végétale*. C. Regnault-Roger, B.J.R. Philogène & C. Vincent (eds.) Londres- Paris-New York, 77-95.
- Bakrii L.M. & C.W.I. Douglas, 2005.- Inhibitory effect of garlic extraction oral bacteria. *Arch. Oral Biol.*, **50**, 645-651.
- Bate-Smith E.C., 1954.- The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. *J. Linn. Soc. London*, **58** (371), 95-173.
- Block E., 1992.- The organosulfur chemistry of the genus *Allium*: implications for the organic chemistry of sulphur. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **31**, 1135-1178.
- Block E., 2005.- Biological activity of *Allium* compounds: recent results. *Acta Hort.*, **688**, ISHS, 40-57.
- Bolton S., G. Null, & W.M. Troedel, 1982.- The medicinal uses of garlic. Fact and fiction. *Am. Pharm.*, **22** (8), 40-43.
- Boscher J. & J. Auger, 1991.- *Allium ampeloprasum* (var. *bulbilliferum* Lloyd) from the île d'Yeu (Vendée) is chemically a garlic and not a leek. *Bull. Soc. Bot. France*, **138**, Lettres Bot., 315-320.
- Boscher J., J. Auger, N. Mandon & S. Ferary, 1995.- Qualitative and quantitative comparison of volatile sulphides and flavour precursors in different organs of some wild and cultivated garlics. *Biochem. Syst. Ecol.*, **23** (7-8), 787-791.
- Brewster J.L., 1994.- *Onion and other vegetable Alliums*. Grop Production Science in Horticulture, 236 p.
- Cai Y.Z., M. Sun, J. Xing, Q. Luo, & H. Corke, 2006.- Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sci.*, **78**, 2872-2888.
- Carotenuto A., V. Defeo, E. Fattorusso, V. Lanzotti, S. Magno & C. Cicala, 1996.- The flavonoids of *Allium ursinum*. *Phytochem.*, **41** (2), 531-536.
- Di Carlo G., N. Mascolo, A. Izzo & F. Capasso, 1999.- Flavonoids: old and new aspects of class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.*, **65**, 337-353.
- Diallo D., R. Sanogo, H. Yasambou, A. Traore, K. Coulibaly & A. Maiga, 2004.- Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C.R. Chimie*, **7**, 1073-1080.
- Dini I., G.C. Tenore, E. Trimarco & A. Dini, 2005.- Furostanol saponins in *Allium cepa* L. var. *tropeana* seeds. *Food Chem.*, **93**, 205-214.
- Dohou N., K. Yamin, S. Tahrou, H.L.M. Idrissi, A. Badoc & N. Gmira, 2003.- Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **142**, 61-78.
- Elss S.C., M. Preston, H. Appel, & C. Schreier, 2005.- Influence of technological processing on apple aroma analysed by high resolution gas chromatography-mass spectrometry and on-line gas chromatography-combustion/pyrolysis-isotope ratio mass spectrometry. *Food Chem.*, **98**, 269-276.
- Freeman G.G., 1975.- Distribution of flavour components in onion (*Allium cepa* L.), leek (*Allium porrum*) and garlic (*Allium sativum*). *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 471-481.

- Ghedira K., 2005.- Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, **4**, 162-169.
- Haciseferoğullari H., M. Özcan, F. Demir & S. Çalişir, 2005.- Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). *J. Food Eng.*, **68**, 463-469.
- Jaillais B., F. Cadoux & J. Auger, 1999.- SPME-HPLC analysis of *Allium* lacrymatory factor and thiosulfonates. *Talanta*, **50**, 423-431.
- Kawashima K., Y. Mimaki & Y. Sashida, 1978.- Steroidal saponins from the bulbs of *Allium schubertii*. *Phytochem.*, **32**, 1267-1272.
- Keusgen M., M. Jinger, I. Krest & M. Schoning, 2003.- Biosensoric detection of the cysteine sulphoxide alliin. *Sens. Actuators B. Chem.*, **95**, 297-302.
- Lachman J., D. Pronek, A. Hejtmankov, J. Dudjak, K. Pivec & K. Faitov, 2003.- Total polyphenol and main flavonoid antioxidants in different onion (*Allium cepa* L.) varieties. *Hort. Sci.*, **30** (4), 142-147.
- Lagnika L., 2005.- *Étude phytochimique et activités biologiques de substances naturelles isolées de plantes béninoises*. Thèse de doctorat, Strasbourg et Abomey-Calavi.
- Lancaster J.E. & M. Shaw, 1989.- γ -glutamyl peptides in the biosynthesis of S-alk(en)yl-L-cysteine sulphoxides (flavour precursors) in *Allium*. *Phytochem.*, **28**, 455-460.
- Lanzotti, V., 2006.- The analysis of onion and garlic. *J. Chromatogr. A.*, **112**, 3-22.
- Mackenzie I.A. & D.A. Ferns, 1977.- The composition of volatiles from different parts of *Allium tuberosum* plants. *Phytochem.*, **16**, 763-764.
- Mazza G. & B.D. Oomah, 2000.- Chemistry and pharmacology of fenugrec. In : *Herbs, botanicals and teas*. Functional Food and Nutraceuticals Series, Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, 3-5.
- Messiaen C.M., J. Cohat, M. Pichon, J.P. Leroux & A. Beyries, 1993.- *Les Allium alimentaires reproduits par voie végétative*. INRA, Paris. 225 p.
- Moreau B., J. Le Bohec & B. Guerber-Cahuzac, 1996.- *L'oignon de garde*. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 300 p.
- Mortia T., T. Ushiroguchi, N. Hayashi, H. Matsuura, Y. Itakura & T. Fuwa, 1998.- Steroidal saponins from elephant garlic, bulbs of *Allium ampeloprasum* L. *Chem. Pharm. Bull.*, **36** (9), 3480-3486.
- Najjaa H., M. Neffati, S. Zouari & E. Emmar, 2007.- Essential oil composition and antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum* L., a North African endemic species. *C.R. Chimie*, **10**, 820-826.
- OMS, 2002.- *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle*. Genève, 65 p.
- Parekh J., N. Karathia & S. Chanda, 2006.- Evaluation of antibacterial activity and phytochemical analysis of *Bauhinia variegata* L. bark African. *J. Biomed. Res.*, **9** (1), 53-56.
- Paris M. & H. Moyse, 1965.- *Matière médicinale*, I, 2^e édition. Masson, Paris.
- Rajaram S., 2003.- The effect of vegetarian diet, plant foods, and phytochemicals on hemostasis and thrombosis. *Am. J. Clin. Nutr.*, **78**, 552S-8S.
- Rizk A.M., 1982.- Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterapia*, **52** (2), 35-42.
- Russo A., V. Cardile, L. Lombardo, L. Vanella, A. Vanella & J.A. Garbaino, 2005.- Antioxidant activity and anti-proliferative action of methanolic extract of *Geum quellyon* Sweet roots in human tumor cell lines. *J. Ethnopharmacol.*, **100**, 323-332.
- Teyssier C., M.N. Amiot, N. Mondy, J. Auger, R. Kahane, & M.H. Siess, 2001.- Effect of onion consumption by rats on hepatic drug-metabolizing enzymes. *Food Chem. Toxicol.*, **39**, 981-987.
- Virtanen A., 1965.- A review: studies on organic sulphur compounds and other labile substances in plants. *Phytochem.*, **4**, 207-228.
- Von Heuler H. & G. Lindeman, 1949.- Biochemistry of tumor development and tumor retardation. *Archiv. Kemi.*, **1**, 87, 971-949.
- Weisberger A.S. & J. Pinsky, 1957.- Tumor-inhibiting effects derived from an active principal of garlic (*Allium sativum*). *Science*, **126**, 1112-1115.
- <http://www.fmcastro.org/htdocs/postu98/larrey.html>

