

**République Algérienne Démocratique et populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**



**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**  
**Département de Biochimie –Microbiologie**

## **MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**

**En vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique en**  
**Biologie**

**Option : Biotechnologie Microbienne**

**Thème**

**Evaluation de Certaines Propriétés Biochimiques,**  
**Biologiques et Pharmacologiques des racines de *Dioscorea***  
***communis***



**Présenté par :**

**M<sup>lle</sup> AGOUAZI Wissame**

**M<sup>lle</sup> FERRAG Kahina**

**Devant le jury :**

**Président : M<sup>r</sup> AMIR .Y**

**Professeur à l'UMMTO**

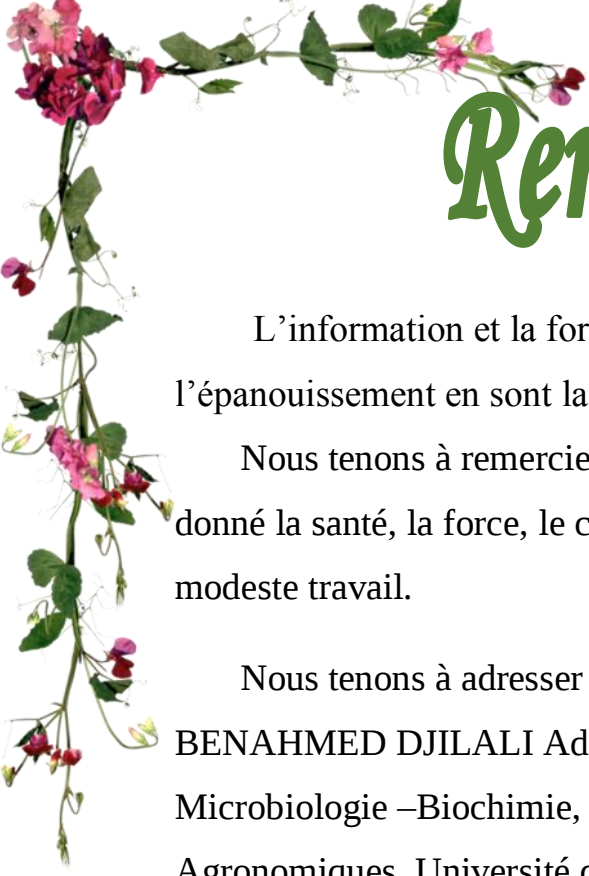
**Promotrice : M<sup>lle</sup> BENAHMED DJILALI ADIBA Maître de Conférences (A), (UMMTO)**

**Examinatrice : M<sup>me</sup> BENZAOUZ .K**

**Maitre Assistante (A), (UMMTO)**

**Soutenue publiquement le 13/09/2018**

**Année universitaire : 2017/2018**



# Remerciements

L'information et la formation ne sont que directives mais le fruit et l'épanouissement en sont la résultante.

Nous tenons à remercier le bon « DIEU » le tout puissant, de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

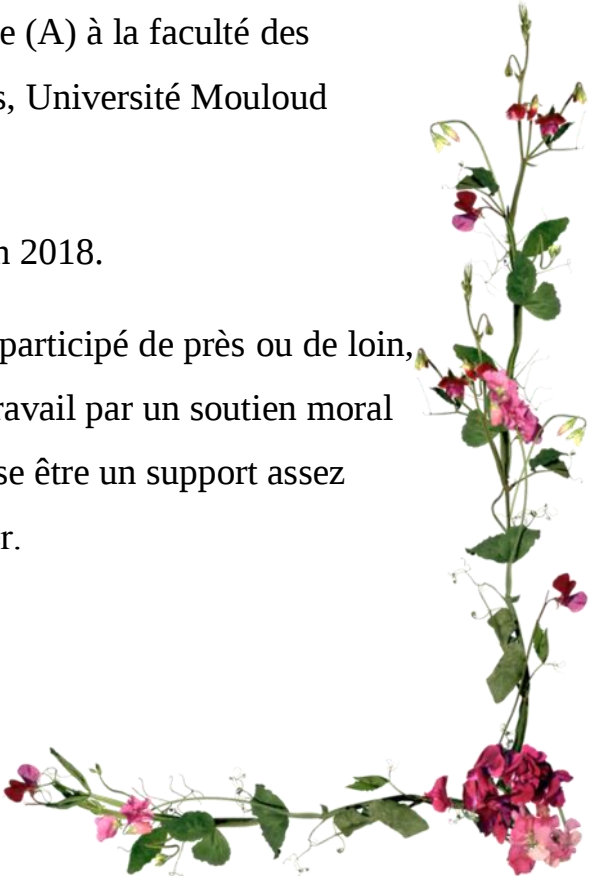
Nous tenons à adresser nos sincères remerciements à notre promotrice Mme BENAHMED DJILALI Adiba, Maître de Conférence (A) au Département de Microbiologie –Biochimie, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université de Mouloud Mammeri Tizi Ouzou pour avoir encadré ce travail, pour sa disponibilité, sa rigueur scientifique et ses conseils ainsi que pour ses qualités relationnelles.

Un grand merci pour M<sup>r</sup> AMIR Y. Professeur à la faculté des Sciences Agronomiques et des Sciences Biologiques à l'Université Mouloud Mammeri pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de ce jury.

Et à Madame BENAZZOUZ K. Maître assistante (A) à la faculté des Sciences Agronomiques et des Sciences Biologiques, Université Mouloud Mammeri d'avoir accepté d'examiner notre travail.

A tous les étudiants de Master 2 de la promotion 2018.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail par un soutien moral ou matériel et nous souhaitons que ce mémoire puisse être un support assez valorisant et profitable pour ceux qui auront l'utiliser.





# Dédicaces

*Je dédie ce travail*

*à Dieu notre tout puissant*

*à mon père et à ma mère Agouazi Mohamed et*

*Gouazi Malika*

*A mes frères : Ali et Abdarzak*

*A mes sœurs et leur enfants : Karima, Bahia,*

*Ounissa et Hassiba surtout Nazim (Agour)*

*A tous les membres de ma grande famille oncles,*

*tantes, cousins et cousines*

*A Mes amies et ma copine : Nouara*

*Mon binôme Kahina et toute sa famille*

*A tous les étudiants de ma promotion*

*Wissame*





# Dédicaces

*Je dédie ce travail à mes parents qu'ils  
trouvent ici toute  
ma gratitude*

*Pour leur soutien tout le long de mes études*

*À mes sœurs et mes frères*

*À mes amis à ceux qui m'ont donné sans rien  
en retour*

*Kahina*



## **Liste des abréviations**

**AFNOR : Association Française de Normalisation**

**ANSES : Agence nationale de Sécurité de l'Alimentation, de l'Environnement et du travail**

**CPG : Chromatographie Phase Gazeuse**

**DMSO : Diméthyle Sulphoxide**

**DO : Densité Optique**

**E N A : Ecole National de l'Agronomie**

**GN : Gélose Nutritive**

**IR : Infra Rouge**

**ISO : Organisation Internationale de la Santé**

**MH : Muller Hinton**

**N : Normalité**

**O M S : Organisation Mondiale de la Santé**

**PTT : Polyphénols Totaux**

**T : Transmittance**

# Liste des figures

## Chapitre I

**Figure 01** : les différentes parties de la plante *Tamus communis* L ..... 3

**Figure 02** : Aire de répartition de *Tamus communis* L..... 5

## Chapitre II

**Figure 03** : Structure de base de coumarine ..... 9

**Figure 04** : Les différents groupes des saponosides..... 12

**Figure 05** : Différentes formes de squelette d'un aglycone ..... 13

**Figure 06** : Les principaux aglycones triterpéniques ..... 14

## Chapitre III

**Figure07** : Transformation des racines de *Tamus communis* L en poudre..... 18

**Figure 08** : Résultats de filtration des extraits aqueux et éthanoliques ..... 30

**Figure 09** : Diagramme de dosage des polyphénols totaux ..... 31

**Figure 10** : Diagramme de dosage des flavonoïdes..... 32

## Chapitre IV

**Figure 11** : Spectre infrarouge de racine du *Tamus communis* L..... 41

**Figure 12** : Variation de la viscosité ( $\eta$ ) des pommades en fonction du taux de cisaillement( $\dot{\gamma}$ ) ..... 46

**Figure 13** : Rhéogramme représentant la contrainte de cisaillement( $\tau$ ) des pommades en fonction de leur taux de cisaillement ( $\dot{\gamma}$ ) ..... 46

**Figure 14** : Aspect de la première formulation (F1) de pommades élaborées ..... 48

**Figure 15** : Aspect de la deuxième formulation (F2) de pommades élaborées ..... 48

**Figure 16** : Résultats relatifs à la qualité de l'homogénéité des formulations de pommades 49

## Liste des tableaux

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau I :</b> Données taxonomiques de <i>Tamus communis</i> L .....                                                              | 4  |
| <b>Tableau II :</b> Intoxication accidentelle chez l'homme par des différentes parties de <i>Tamus Communis</i> L .....               | 8  |
| <b>Tableau III :</b> les souches microbiennes testées.....                                                                            | 17 |
| <b>Tableau IV :</b> Estimation de la sensibilité des souches .....                                                                    | 34 |
| <b>Tableau V :</b> composition des formulations de pommades élaborées .....                                                           | 35 |
| <b>Tableau VI :</b> Résultats des tests phytochimiques effectués sur la poudre de racine du tamier.....                               | 39 |
| <b>Tableau VII :</b> paramètres physicochimiques des racines du tamier. ....                                                          | 40 |
| <b>Tableau VIII :</b> Résultats de l'analyse IR des racines de <i>Tamus communis</i> L .....                                          | 42 |
| <b>Tableau IX :</b> Compositions en acides gras des racines du <i>Tamus communis</i> L .....                                          | 43 |
| <b>Tableau X :</b> Résultats du dosage des PPT et des flavonoïdes des extraits aqueux et éthanoliques de <i>Tamus communis</i> L..... | 44 |
| <b>Tableau XI :</b> Résultats des paramètres physicochimiques.....                                                                    | 45 |

# Plan de travail

|                    |   |
|--------------------|---|
| Introduction ..... | 1 |
|--------------------|---|

## ***Première partie : Recherche bibliographique***

### **Chapitre I : Généralités sur *Tamus communis L***

|                                             |   |
|---------------------------------------------|---|
| I. 1. Présentation .....                    | 3 |
| I. 2. Description botanique .....           | 3 |
| I. 3. Autres appellations.....              | 4 |
| I. 4. Classification systématique.....      | 4 |
| I. 5. Répartition Géographique .....        | 5 |
| I. 6. Action et utilisation médicales ..... | 6 |
| I. 7. Données phytochimiques.....           | 6 |
| I. 8. Données pharmacologiques .....        | 7 |
| I. 9. Données toxicologiques .....          | 8 |

### **Chapitre II : Généralités sur les métabolites secondaires**

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| II. 1. Introduction. ....                                     | 9  |
| II.2. coumarines .....                                        | 9  |
| II.2.1. Définition.....                                       | 9  |
| II.2.2. Classification des coumarines.....                    | 10 |
| II.2.3. Intérêt pharmacologiques des coumarines.....          | 10 |
| II.2.4. Propriétés physico-chimiques des coumarines .....     | 11 |
| II.2.5. Relation entre structure et activité biologique ..... | 11 |
| II.3. Saponosides .....                                       | 11 |
| II. 3.1 Définition.....                                       | 11 |

|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| II.3. 2. Classification des saponosides.....             | 12 |
| II.3. 3. Propriétés biologiques .....                    | 14 |
| II. 4. glucosides .....                                  | 15 |
| II.4.1. Définition .....                                 | 15 |
| II.4. 2 Propriétés physicochimiques des glucosides ..... | 15 |
| II.4.3 Caractéristiques des glucosides .....             | 15 |

## ***Deuxième partie : Partie expérimentale***

### **Chapitre III : Matériel et méthodes**

|                                          |    |
|------------------------------------------|----|
| III.1. Cadre de l'étude.....             | 16 |
| III.2. Matériel .....                    | 16 |
| III.2.1Matérie végétal.....              | 16 |
| III.2.2.Matériel biologique .....        | 16 |
| III.2.3. Appareillage .....              | 17 |
| III .3. Méthodes .....                   | 17 |
| III .3.1.Transformation et Séchage ..... | 17 |
| III .3.2 Analyse phytochimique.....      | 18 |
| Préparation de l'infusé.....             | 18 |
| Les anthocyanes .....                    | 18 |
| Les tanins .....                         | 19 |
| Les tanins galliques. ....               | 19 |
| Les flavonoïdes .....                    | 19 |
| Les saponosides .....                    | 19 |
| Les quinones libres.....                 | 19 |
| Les quinones combinées.....              | 20 |

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Les alcaloïdes .....                                                                         | 20 |
| Les glucosides .....                                                                         | 20 |
| Les coumarines.....                                                                          | 20 |
| Les sennosides.....                                                                          | 20 |
| III .3 .3. Analyses physico-chimiques .....                                                  | 21 |
| III .3 .3 .1. Teneur en eau .....                                                            | 21 |
| III .3 .3 .2. Mesure de pH .....                                                             | 22 |
| III .3 .3 .3. Teneur en cendres.....                                                         | 22 |
| III .3 .3 .4. Acidité titrable.....                                                          | 23 |
| III .3 .3 .5. Analyse des groupements fonctionnels par Spectroscopie Infra- Rouge (IR) ..... | 24 |
| III .3.3 .6.Extraction de la matière grasse par Soxhlet .....                                | 25 |
| III. 3 .3 .7. Estérification .....                                                           | 26 |
| III .3 .4. Analyse quantitative .....                                                        | 27 |
| Dosage des sucres .....                                                                      | 27 |
| Dosage des sucres totaux.....                                                                | 27 |
| Dosage des sucres réducteurs .....                                                           | 28 |
| La teneur en saccharose .....                                                                | 29 |
| Dosage de l'acide ascorbique.....                                                            | 29 |
| Dosage des polyphénols totaux .....                                                          | 30 |
| Dosage des flavonoïdes .....                                                                 | 32 |
| III. 3.5. Etude de l'activité antimicrobienne.....                                           | 33 |
| III .3 .5.1. Préparation des extraits .....                                                  | 33 |
| III .3 .5.2. Préparation des milieux de culture .....                                        | 33 |
| III .3 .5.3. Préparation des disques .....                                                   | 33 |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| III .3.5.4. Revivification des souches .....                                        | 33 |
| III .3 .5.5. Préparation de l'inoculum .....                                        | 33 |
| III .3 .5.6. Mode opératoire .....                                                  | 34 |
| III .3 .5.7. Lecture des résultats .....                                            | 34 |
| III .3.6. Elaboration d'une pommade à base de la poudre des racines du tamier ..... | 34 |
| III 3.6.1. Analyses physicochimiques des pommades.....                              | 35 |
| Mesure de pH. ....                                                                  | 36 |
| Acidité. ....                                                                       | 36 |
| Indice de peroxyde .....                                                            | 37 |
| Mesure de la viscosité .....                                                        | 37 |
| III .3.6. 2 Activité antimicrobienne des pommades .....                             | 37 |
| Analyse sensorielle des pommades .....                                              | 38 |

### ***Troisième partie : Résultats et discussion***

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| IV.1. Résultats d'analyse phytochimique.....                           | 39 |
| IV.2.Résultats d'analyses physicochimiques. ....                       | 40 |
| IV.3. Résultats d'analyse Infra –Rouge.....                            | 41 |
| IV.4. Résultats d'extraction de la matière grasse.....                 | 42 |
| IV.5. Résultats d'analyse quantitatives .....                          | 44 |
| IV.6. Résultats de l'activité antibactérienne.....                     | 45 |
| IV.7. Résultats des analyses des pommades élaborées .....              | 45 |
| IV.7.1. Résultats des analyses physicochimiques.....                   | 45 |
| IV.7.2. Résultats de la viscosité .....                                | 46 |
| IV.7.3. Résultats d'analyses de l'homogénéité et de l'irritation ..... | 48 |
| IV.7.4 .Résultats de l'activité antibactérienne .....                  | 49 |

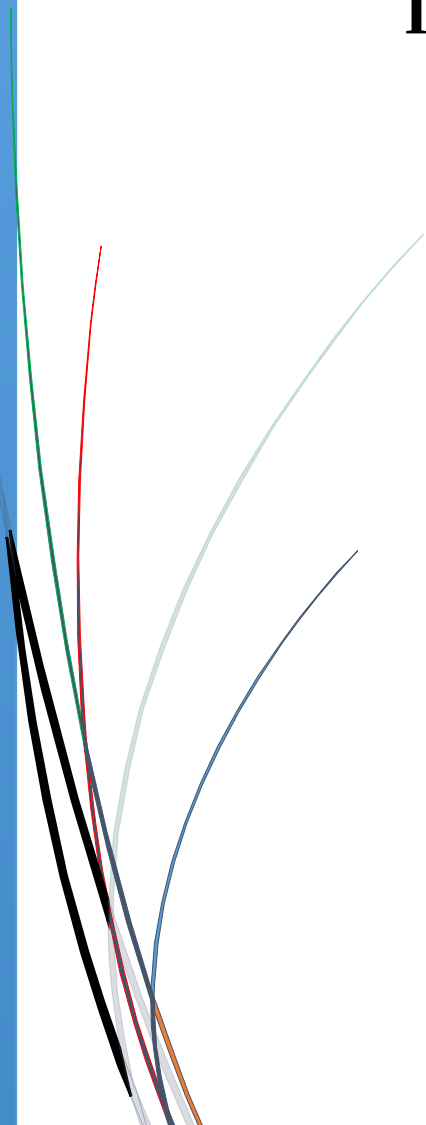
|                         |    |
|-------------------------|----|
| <b>Conclusion</b> ..... | 51 |
|-------------------------|----|

**Références bibliographiques**

**Annexes**

**Résumé**

# Introduction générale



## Introduction générale

Historiquement, l'homme a toujours puisé dans la nature de quoi se nourrir, se vêtir et se soigner. Sur terre, quatre personnes sur cinq se servent des plantes pour conjurer leurs maux ; quatre femmes sur cinq, en particulier dans les pays émergents, ne disposent d'aucun autre type de remède pour leurs enfants. En Afrique, en Asie et en Amérique latine, nombreux sont les pays qui font appel à la médecine traditionnelle pour répondre à leurs besoins au niveau des soins de santé primaire (Bahorun, 1997).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S) ; la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmise de génération en génération (oralement ou par écrit) (Goulle et al., 2004).

Sachant qu'une plante peut contenir plusieurs milliers de substances et différents principes actifs qui représentent 25% du médicament prescrit soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (Bruneton, 1999).

Les plantes médicinales sont très abondantes dans la nature, elles sont caractérisées par la diminution des effets indésirables par rapport au médicament, par une grande efficacité thérapeutique et par la présence de composition inoffensive telle que les coumarines.

Parmi les plantes médicinales du bassin méditerranéen, on cite le *Tamus communis* L.

*Tamus communis* L est un géophyte, c'est-à-dire subsistant, durant la mauvaise saison, grâce à son organe souterrain, un rhizome tubéreux.

Selon la pharmacopée traditionnelle *Tamus communis* L est classiquement utilisée par la population locale de Boudouaou (nord de l'Algérie). Ses racines ont diverses utilisations populaires traditionnelles comme agents purgatif et comme diurétique (en usage externe, notamment pour soulager les patients souffrant de lumbago ou de rhumatisme).

L'application des racines de ladite plante grattée en pâte sous la forme du cataplasme, soulage les douleurs des patients atteints de la goutte, les rhumatismes et la paralysie fonctionnelle (Boullard, 2001).

Peu de travaux scientifiques concernant la composition phytochimique ont été réalisés sur cette plante, et en aucun cas une étude n'a été signalée portant sur l'utilisation de cette plante

## ***Introduction générale***

C'est la raison pour laquelle nous avons axé nos travaux sur l'étude de cette plante, tant d'un point de vue phytochimique que sur l'activité antimicrobienne de ces racines.

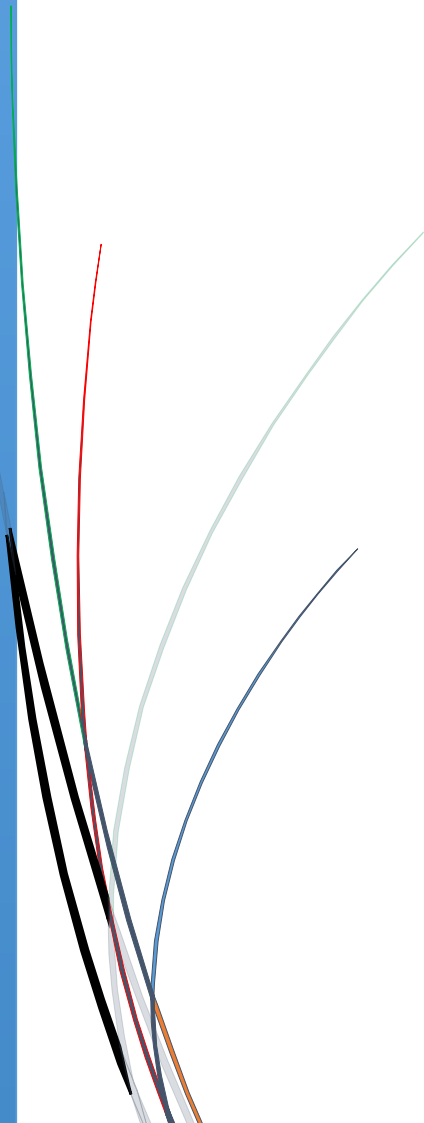
Afin d'atteindre nos objectif, nous suivrons une démarche scindée en trois parties :

La partie bibliographique qui présente des généralités sur la *Tamus communis* L. et les métabolites secondaires.

La deuxième partie est consacrée à la partie expérimentale qui comporte quatre expérimentations à savoir :

- Screening phytochimique de racines de *Tamus communis* L.
- Etude de l'activité antimicrobienne des racines de *Tamus communis* L. in vitro.
- Elaboration des pommades à base des racines et leurs analyses.
- Activité antimicrobiennes des pommades.

***Chapitre I***  
**Généralités sur *Tamus communis L***



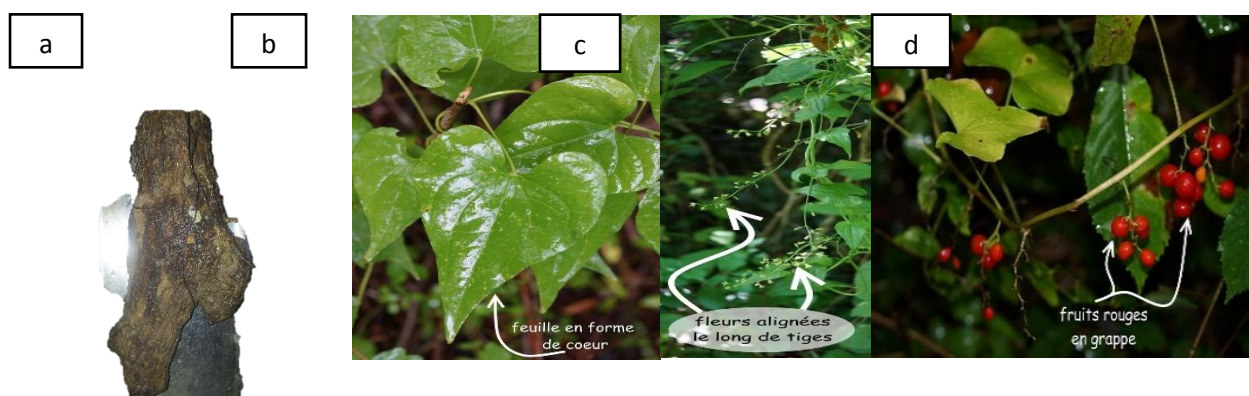
## I. 1. Présentation

Le tamier est une plante herbacée vivace dioïque sauvage, se situe principalement en Europe, en Asie et dans le nord d'Afrique. L'espèce *Tamus communis* L appartient à famille des Dioscoréacées, prend différents noms tel que El karma – saouda, herbes aux femmes battues, raisin du diable et black Bryony.

## I. 2. Description botanique

Le tamier est une plante herbacée vivace, rhizomateuse, grimpante, lianecente de 2 à 3m d'hauteur, dioïque, glabre, à tige grêle, cylindrique, striée, dépourvue de vrilles. Elle est constituée d'une racine (Fig 1.a) grosse, noirâtre tubérisée, ressemblant à un gros navet et pouvant peser plusieurs kilos. (Boulard, 2003). Ses feuilles (Fig 1.b), alternes, pétiolées, luisantes, sont en forme de cœur, pointu généralement lisse et brillant comme si elles avaient été vernies.

Les fleurs verdâtres du tamier sont petites réunies en grappes (Fig 1.c). Les sexes sont séparés (plante dioïque), on distinguera : (1) des pieds males aux fleurs en grappes lâches, chacune riche de ses 6 étamines ; (2) des pieds femelles, aux fleurs pourvues de 3 carpelles, à l'origine d'une baie subsphérique. Les fruits (Fig 1.d) sont de petites baies rouges brillantes à maturité, juteuse et de 12 mm de diamètre, à peine aussi gros qu'une cerise anglaise. (Boullard, 2003).



**Figure 1:** les différentes parties de la plante *Tamus communis* L (Site web 1)

**a :** Les racine ; **b :** Les feuilles ; **c :** Les fleurs ; **d :** Les fruits

### I. 3. Autres appellations

Il existe un grand nombre de ces dénominations à l'origine ne sont souvent que des adaptations ou des traductions d'une langue à l'autre, ou même des emprunts de mots utilisés pour d'autres plantes.

- ❖ **Nom latin :** *Tamus communis* L, synonyme, *Tamus baccifera*, *Tamus cordifolia*, *Tamus cretica* L. *Tamus racemosa*, *Dioscorea communis*. Son nom *Tamus* vient du latin 'Tamnus' qui désigne une plante similaire. Elle fait partie des espèces protégées (Caddick et al., 2002).
- ❖ **Nom commun :** Tamier commun, herbe aux femmes battues, vigne noire, haut liseron, racine de feu, raisin du diable, racine vierge, sceau de notre – dame, nommé par les anglophones Black Bryony, Karm Bari, Karma Sawda (El Beyrouthy et al., 2008)

### I. 4. Classification systématique

Le tableau I résume les données taxonomiques de l'espèce étudiée.

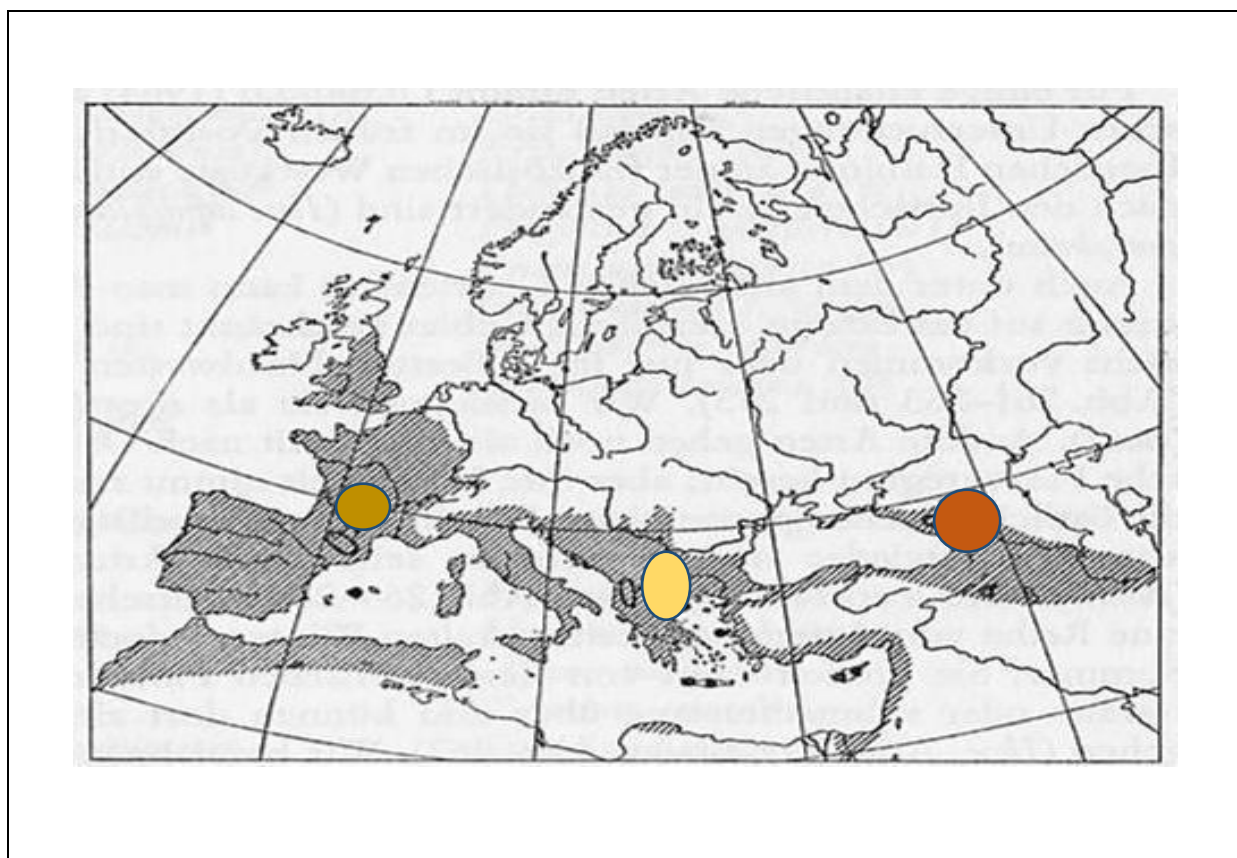
**Tableau I :** Données taxonomiques de *Tamus communis* L selon (Caddick et al., 2002)

|                     |                         |
|---------------------|-------------------------|
| Règne               | Plantae                 |
| Embranchement       | Spermaphytæ             |
| Sous _embranchement | Angiospermae            |
| Classe              | Monocotylédonae         |
| Ordre               | Liliales                |
| Famille             | Dioscoreaceae           |
| Genre               | <i>Tamus</i>            |
| Espèce              | <i>Tamus communis</i> L |

### I. 5. Répartition Géographique

Le tamier est une plante originaire d'Afrique du nord, Asie occidentale, Europe centrale, et méridionale et Proche –Orient. Il se développe sur les bois et sous – bois, les haies, les taillis broussailles, barrières, à basse altitude (Kova 'Cs et *al.*, 2007).

L'espèce *Tamus communis* L affiche une plus large distribution dans la Grande – Bretagne, l'Europe sud, central sud et ouest (Tutin et *al.*, 1972). Elle se situe aussi en Asie (Iran) et dans le sud-ouest d'Afrique (Tutin et *al.*, 1980), ). En outre, elle se localise aux niveaux du tell et hautes buttes au Maroc et en Algérie (Figure 2) (Maire, 1959).



**Figure 2 :** Aire de répartition de *Tamus communis* L D'après Walter et Straka (1970).

- *Tamus cretica* ;  *Dioscorea pyrenaica* ;  
 *D. balcanica* ;  *D. caucasica*

**I. 6. Action et utilisation médicales**

Le tamier dans son ensemble un gros rhizome noirâtre contient un lait astringent (oxalates de calcium) qui peut provoquer des dermites de contact (Schmidt et Moul, 1983).

La pulpe été autrefois prescrite comme purgatif et diurétique, est principalement utilisée pour ses propriétés antinévralgiques en usage externe sous forme de cataplasme (racine cuite) pour traiter les hématomes et l'ecchymose, d'où vient le non d'herbes aux femmes battues (Boulard, 2003)

Les racines sont douées d'une activité diurétique, hémolytique, émétique, cathartique et rubéfiante .Elles sont recommandées pour le traitement de la coqueluche, bronchite, et contusions. (Leporatti et Ivancheva, 2003). La racine fraîche broyée sous forme d'une pâte a été utilisée comme cataplasme pour traiter la goutte, les rhumatismes et les paralyses (Boulard, 2003).

Tant les rhizomes que les baies ont une réputation dans la médecine traditionnelle comme rubéfiant efficace. Ils sont utilisés dans plusieurs pays pour le traitement du rhumatisme, arthrose, lumbago, et dermatoses (Duke, 2002).

Les fruits de *Tamus communis* L sont doués d'activité anti- inflammatoire, par une simple application sur la peau les douleurs arthritiques et rhumatismales disparaissent (Guarrera et Leporatti, 2007).

Les applications de pulpe de rhizome râpé jouissaient la faculté de faire disparaître rapidement les hématomes (Boulard, 2001).

D'autres parts, les différentes parties de la plante sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement des tumeurs et polypes. (Kova' Cs et *al.*, 2007).

**I. 7. Données phytochimiques**

Les investigations phytochimiques réalisées sur *Tamus communis* L ont indiqué la présence de nombreux composants tels que : spirostanes, furostanes, glycosides, stérols (les plus importants identifiées sont :  $\beta$  –sitostérol, stigmastérol, campestérol), caroténoïdes et substitués hydroxy / alkoxyphénathrénes (Goodwin, 1952 ; Reish et *al.*, 1972).

Les racines de cette espèce renferment des cristaux d'oxalate de calcium et des histamines (Schmidt et Moul, 1983).Et des flavonoïdes telle que : la diosgénine (Capasso et *al.*, 1983).

D'autres métabolites ont été identifiés tels que les phénanthrènes et les saponosides dérivés de la diosgénine, qui sont responsables de plusieurs effets biologiques (Guarrera et Leporatti, 2007)

### I. 8. Données pharmacologiques

Des études ont démontré que les extraits de rhizomes et racines de *Tamus communis* L, contiennent des glucides stéroïdiens et phénanthrènes ayant un potentiel cytotoxique, anticancéreux, antiviraux, antimicrobiens et anti inflammatoire (Kova' Cs et *al.*, 2007 ; Al-khateeb et *al.*, 2012).

- **Effets anticancéreux :** des études in vitro ont démontré l'activité cytotoxique des phénanthrènes dérivés des rhizomes de *T. Communis* contre les cellules cancéreuses du col du l'utérus (Kova 'Cs et *al.*, 2007).
- **Effets anti-inflammatoire :** les études réalisées par Capasso et ses collaborateurs (1983) ont illustré des effets anti –inflammatoires et analgésiques de l'extrait éthanolique des racines de *T .Communis* chez les animaux présentant déjà une inflammation proliférative .Comme agent anti-inflammatoire, le tamier est capable de moduler la réponse inflammatoire à des degrés variables de sévérité tel que la formation d'œdème, la perméabilité vasculaire et la dégranulation .Les travaux accomplis sur les extraits de racines ont indiqués la présence des constituants de stérol pourraient être responsables de ces actions rapportées .
- **Effets antiviraux :** Les phénanthrènes dérivés de rhizomes de *T .Communis* ont une activité inhibitrice contre le virus de la stomatite vésiculeuse et humaine de type rhinovirus 1B (Aquino et *al.*, 1991).
- **Effets cytotoxiques :** beaucoup de dérivés hydroxy / alkoxyphénathrénes isolés des extraits de rhizome de *T .Communis* présentent des effets cytotoxiques observés in vitro, sur des lignés cellulaires d'adénocarcinome humain (*HeLa*), (Kova 'Cs et *al.*, 2007).

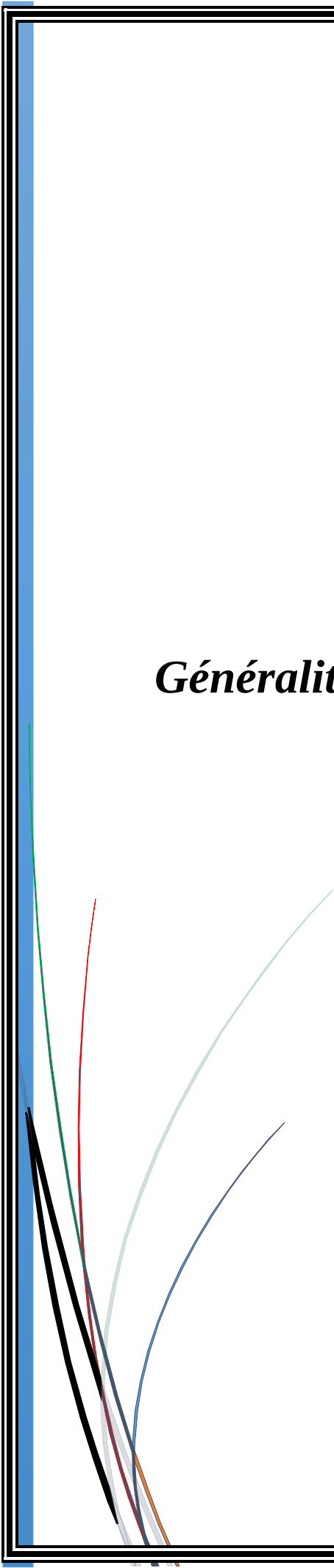
### I. 9. Données toxicologiques

Des analyses chimiques ont été faites sur *Tamus communis* L montrent que l'histamine dans le mucilage de rhizome provoque des réactions de dermatites de contact chez l'homme (Capasso et *al.*, 1983). En outre, les glycosides stéroïdes et les phénanthrènes isolés des rhizomes de *T. Communis* suggèrent que ces composés exercent une activité cytotoxique chez les animaux de laboratoire, mais leurs effets sur l'homme ne sont pas encore connus (Kovač et *al.*, 2007)..

La consommation des baies ou de tubercules peut provoquer des troubles digestifs graves. Le tableau II résume l'ensemble des intoxications engendrées par la consommation de *Tamus communis* L.

**Tableau II :** intoxication accidentelle chez l'homme par les différentes parties de *Tamus communis* L (Schmidt et Moul, 1983).

| Intoxication                                                                                                                                                                                                                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Nature de toxique :</i><br>Oxalates de calcium<br>Saponosides                                                                                                                                                                |
| <i>Organes incriminés :</i><br>Plantes entière<br>Tubercules<br>Baies<br>Rhizomes crus                                                                                                                                          |
| <i>Symptômes :</i><br>Dermatites par contact local inflammation, œdème, brûlures<br>Troubles respiratoires, hyperthermies<br>Troubles digestifs graves : nausées, vomissements, diarrhées, irritations des muqueuses digestives |

A decorative vertical bar on the left side of the page, composed of a thick blue line and a thinner green line. Below the text, there are several abstract, curved lines in black, red, green, and blue, extending from the left edge towards the center of the page.

## ***Chapitre II***

### ***Généralités sur les métabolites secondaires***

## II.1. Introduction

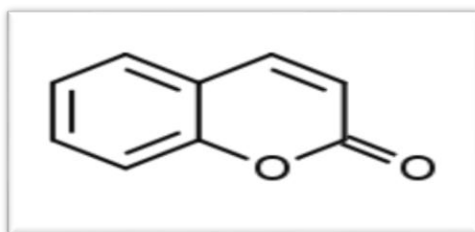
La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions même de vie de la plante. Toutefois, la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, Ets. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les métabolites les plus diverses pour se défendre : parmi ces principaux composés nous citons : coumarines, saponosides et glucosides.

## II.2. coumarines

### II.2.1. Définition

Historiquement, le nom de coumarine vient de « cumaru » qui est le nom dans la langue amazonienne de l'arbre de Tonka (*Dipteryx odorata* Willd Fabaceae) dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine, d'où fut isolées en 1982 (Bruneton, 1993).

Les coumarines sont caractérisées par une structure qui comporte le noyau benzo- $\alpha$  pyrone (coumarine), famille de molécules qui se composent d'un noyau benzénique relié à un noyau pyrone (Figure 3) (Jain et Joshi, 2012).



**Figure 3** : structure de base de coumarine (Jain et Joshi, 2012).

La coumarine (1,2-benzopyrone) est un composé d'origine naturelle, étant présent dans une grande variété de plante notamment dans les racines. Environ 1620 dérivés de Coumarines ont été isolés à partir de plusieurs espèces de plantes et de microorganismes (Sproll, 2008). Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée, cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules

.Les coumarines peuvent également se retrouver dans le règne animal (les grandes a sécrétion odoriférante du castor) et chez certains microorganisme (Hofmann, 2003).

### II.2.2. Classification des coumarines

On classe les coumarines en deux grands groupes : Coumarines simples et complexes. Le second groupe renferme un noyau furanne ou pyranne associé au noyau benzo  $\alpha$  pyrone (Floc'h et al., 2002) ; Smyth et al., 2009).

#### ➤ Les coumarines simples

Les coumarines simples sont les plus répandues dans le règne végétal et possèdent des substitutions (OH ou OCH<sub>3</sub>) en 6 et 7 (Harkati, 2011). Elles peuvent être des dérivés hydroxylés, méthoxylés, alkylés, alcoxylés et glycosylés de la molécule mère. (Lake, 1999).

#### ➤ Coumarines complexes

**On distingue deux grands groupes :**

- Les furocoumarines ou (furanocoumarines) qui constituent une classe de molécules diversifiées chimiquement. Il existe deux types de furanocoumarines en fonction de la position du noyau furane sur l'hétérocycle coumarine.  
*Les furanocoumarines linéaires* qui comprennent le psoralène et ses dérivés.  
*Les furanocoumarines angulaires*, comprennent l'angélicine et ses dérivés.
- Les pyranocoumarines sont des composés formés par la fusion d'un hétérocycle pyranne avec la coumarine, soit dans le prolongement (forme linéaire) comme le xanthylétine ou latéralement (forme angulaire) comme la séseline et la visnadine (Harkati, 2011).

### II.2.3. Intérêt pharmacologiques des coumarines

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives douées de diverses activités : anti- agrégation plaquettaire, anti –inflammatoire, anti- coagulante, anti – tumorale, diurétiques, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Ochocka et al., 1995 ; Taguchi, 2000 ; Ojala et al., 2000 ; Chen et al., 2004 ; Khan et al., 2005 ; Thati et al., 2007 ; Stefanova et al., 2007).

Les coumarines se révèlent être des composés thérapeutiques promoteurs dans l'amélioration du système immunitaire (action immunostimulante) : l'administration de la coumarine et de l'umbelliférone à des malades atteints de cancers ou de brucellose à raison de

100 mg par jour a provoqué une augmentation des lymphocytes T Helper dans la circulation sanguine (Bruneton, 1993 ; Stefanova et *al.*, 2007).

Ces composés ont un pouvoir cytotoxique pouvant s'avérer intéressant dans le cas de traitement anticancéreux (Kostova, 2005). En effet, il est apparu que la cytotoxicité des coumarines est dépendante de la cellule ciblée.

Concernant l'activité antibactérienne, les coumarines sont efficaces contre les bactéries à Gram positif (Cottiglia et *al.*, 2001 ; Laure, 2005 ; Khan et *al.*, 2005).

#### **II.2.4 .Propriétés physico-chimiques des coumarines**

Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et dans les solvants organiques tels que l'éther ou les solvants chlorés avec lesquels on peut les extraire. Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau. (Yezza et Bouchama ,2014).

#### **II.2.5. Relation entre structure et activité biologique**

Le mode d'action des coumarines est lié au type des substitutions localisées au niveau du noyau de coumarine.

Les études réalisées par Kaneko et ses collaborateurs (2003) et Zhang et Wang (2004) montrent l'influence de la structure des coumarines sur leur activité antiradicalaire. Ces auteurs ont démontré que la structure caractéristique des coumarines, en particulier la 1,2 pyrone, affecte peu l'activité antioxydante de ces molécules. Par contre, la présence d'une fonction catéchol offre des propriétés très intéressantes aux composés dérivés.

### **II.3. Saponosides**

#### **II. 3.1. Définition**

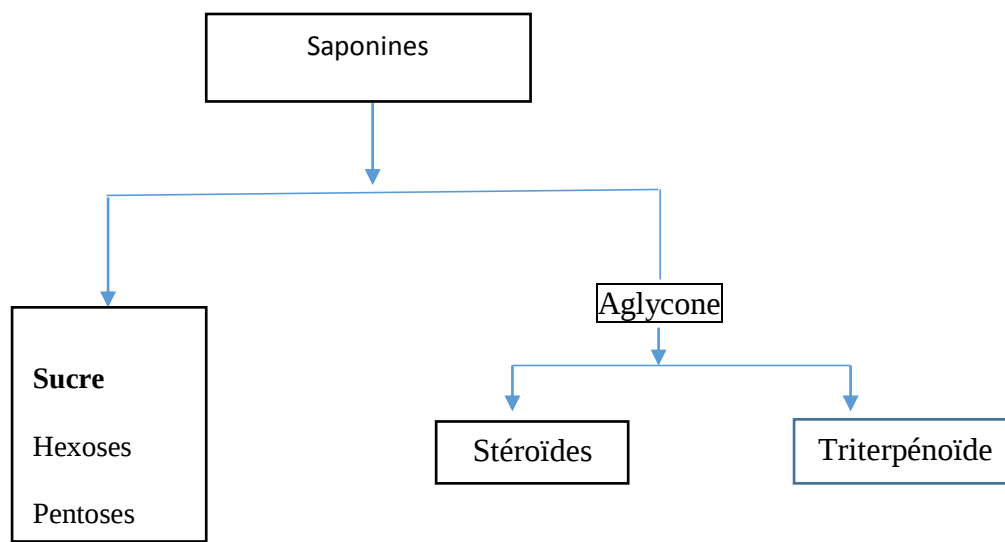
Le nom « Saponine » est dérivé du mot latin Sapo, qui signifie « Savon », parce que les molécules de saponosides forment des solutions moussantes une fois mélangées avec de l'eau. (Oleszek, 2002).

Un saponoside (ou saponine) est un hétéroside généralement d'origine végétale formé d'une génine de type triterpène ou stéroïde appelée sapogénine, possédant un ou des groupements osidiques.

Généralement, Les saponosides comportent un vaste groupe de glycosides, largement distribués chez les plantes supérieures, leurs propriétés tensio-actives les distinguent des autres glycosides.

### II.3.2. Classification des saponosides

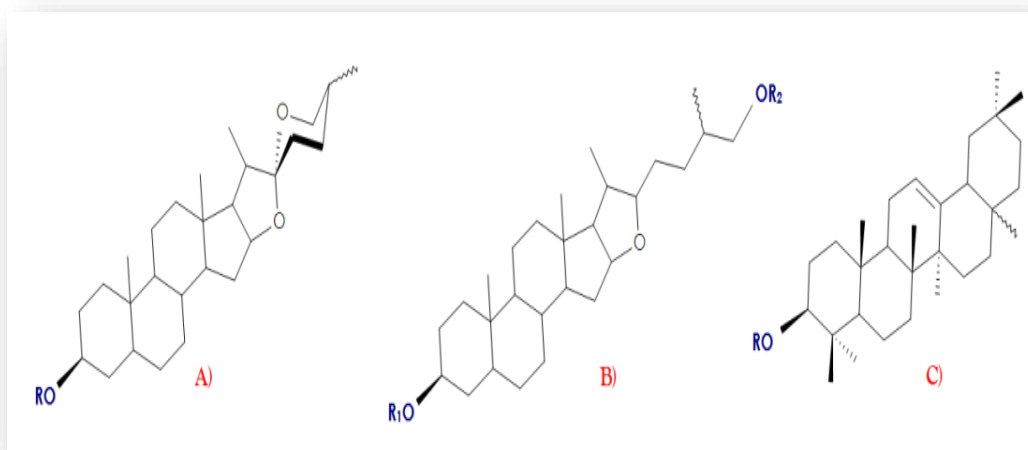
Les saponosides peuvent être classés en deux groupes (Figure 4) selon la nature de la génine: les saponines à génines triterpéniques, de loin les plus nombreux existant chez les angiospermes dicotylédones et chez certains animaux marins et celles à génines stéroïdiques presque exclusivement présentes chez les angiospermes monocotylédones (Bruneton, 2009).



**Figure 4 :** Les différents groupes des saponosides (Bruneton, 2009).

- **Saponosides stéroïdiques**

Ils sont constitués d'un aglycone stéroïdien, un squelette en C27 spirostane, comprenant généralement une structure de six anneaux. Dans certains cas, quand la matière végétale est fraîche, le groupement hydroxyle en position C26 est engagé dans une liaison glycosidique, et ainsi la structure d'aglycone devient pentacyclique. Ceci est considéré comme un squelette furostane (Figure 5) (Betina-Bencharif, 2014)



**Figure 5:** Différentes formes de squelette d'un aglycone.

A) spirostane, (B) furostane (C) triterpénoïde.

R = chaîne glycosidique

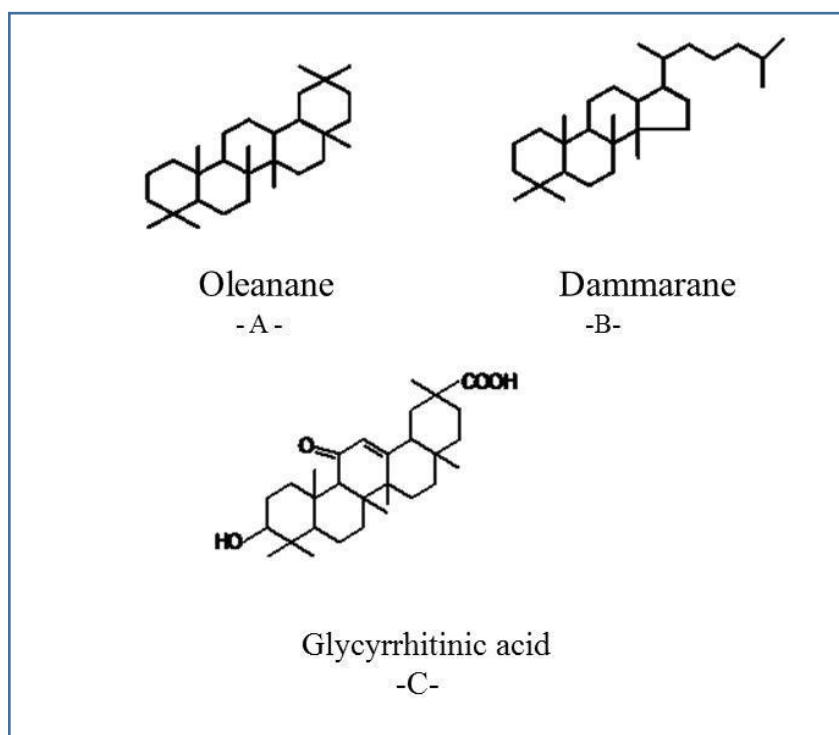
- **Saponosides triterpéniques**

Sont constitués d'un aglycone triterpénique, qui se compose d'un squelette C30, comprenant une structure pentacyclique. On les trouve principalement dans les Angiospermes dicotylédones, par exemple, *Rosaceae*, *Liliaceae*, *Caryophyllaceae*, *Cucurbitaceae*, *Fabaceae*, *Primulaceae*, *Ranunculaceae*, et *Sapindaceae*.

Les saponosides à aglycone triterpénique, présentent une cyclisation de (35) -2,3-époxy-2,3-dihydrosqualène. Cette cyclisation donne surtout naissance à trois types de saponosides (figure 6) à savoir :

1. les saponosides de type dammarane tétracyclique, que l'on trouve dans les genres *Panax*, *ginseng*, *Araliaceae*.

2. Les saponosides triterpéniques pentacycliques dans ce cas la sapogénine est attaché à une chaîne de sucre ou d'unités d'acide uronique, ou des deux, souvent dans la position 3.
3. Les acides triterpéniques des saponosides, qui sont l'acide glycyrrhétinique, l'acide oléanolique, hédéragénine et l'acide quillaïque.



**Figure 6:** Les principaux aglycones triterpéniques.

### II.3.3. Propriétés biologiques

Les saponosides ont un large éventail de propriétés, qui incluent leur goût doux et amer (Grenby, 1991; Kitagawa, 2002; Heng *et al.*, 2006), des propriétés émulsifiantes à travers leur capacité de former des mousses (Tyler *et al.*, 1981; Price *et al.*, 1987), des propriétés pharmacologiques telles que les effets analgésiques et antidépresseurs (Attia, 1999), des propriétés hémolytiques (Oda *et al.*, 2000; Sparg *et al.*, 2004), ainsi que des activités antimicrobiennes, insecticides, molluscicides (Sparg *et al.*, 2004).

Il ya lieu de signaler que les saponines à génines stéroïdiques et triterpéniques exercent des activités biologiques très variées telles que : activités expectorante, anti-inflammatoire, anti-tumorale, chimiopréventive, antidiabétique, analgésique ainsi que des effets hépatoprotecteurs,

l'aggrégation neuroprotecteurs, antituberculeux (Wachter et *al.*, 2001), ou encore inhibiteurs de plaquettaire (Zhang et *al.*, 1999).

## **II.4. glucosides**

### **II.4.1. Définition**

On désigne sous le nom des glucosides, des composés retirés, surtout du règne végétal. Un glucoside est une classe de composés organiques.

La plupart des glucosides ne renferment que du carbone, de l'oxygène et de l'hydrogène ; quelques-uns renferment en outre de l'azote (amygdaline), d'autre de soufre (sinalbine, acide myronique).

Les combinaisons qui se produisent à côté du sucre, dans le dédoublement des glucosides, peuvent appartenir à la série grasse, soit à la série aromatique ; leur constitution est encore peu connue (Site web2).

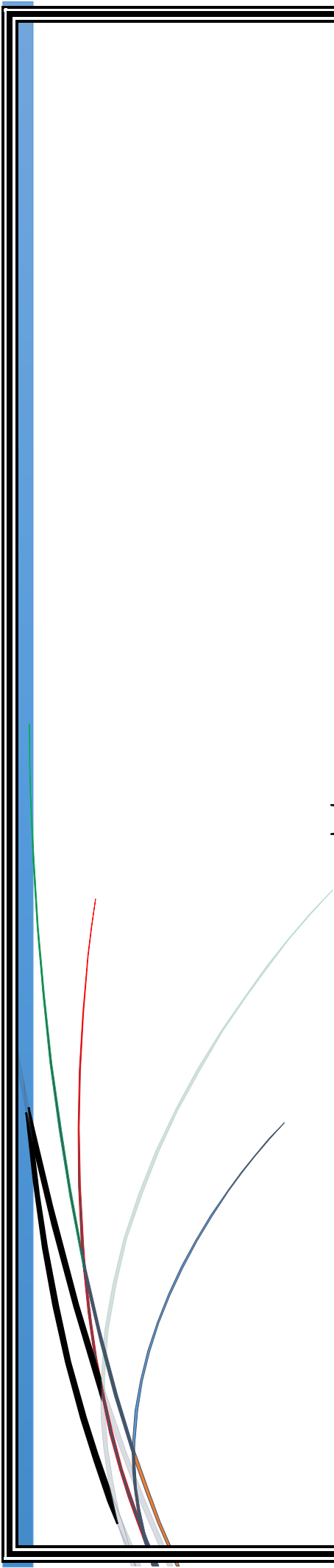
### **II.4.2. Propriétés physicochimiques des glucosides**

Les glucosides sont des combinaisons solides, non volatiles, généralement cristallisables. Ils sont solubles dans l'eau et dans l'alcool. Parfois, ils ne dédoublent qu'après un contact très prolongés avec les acides minéraux dilués et chauffés.

Les glucosides réduisent à chaud la liqueur de Fehling et la solution ammoniacale de nitrate d'argent. Une fois sont chauffés de 200°C, ils se dédoublent en donnant non pas le glucose, mais des produits de composition de celle-ci tel que la glucosane (Site web2).

### **II.4.3. Caractéristiques des glucosides**

- Substrats énergétiques préférés des cellules.
- On distingue les glucosides simples et complexes.
- Stockés dans l'organisme sous forme de glycogène.
- Se trouvent majoritairement dans les produits sucrés, les filicules et les fruits. (Site web 3).



# *Chapitre III*

## **Matériel et méthodes**

### **III.1. Cadre de l'étude**

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein de l'Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou (UMMTO) au niveau des laboratoires pédagogiques des analyses physicochimiques et microbiologiques.

L'objectif principale de cette étude est d'évaluer certaines propriétés biochimiques, biologiques (activité antibactérienne) et pharmacologiques des extraits éthanoliques et aqueux des racines d'une plante médicinale *Tamus communis* L visant une formulation sous forme de pommade à effet thérapeutique.

Le travail pratique est subdivisé en quatre parties :

- Screening phytochimique de racines de *Tamus communis* L.
- Etude de l'activité antimicrobienne des racines de *Tamus communis* L in vitro.
- Elaboration des pommades à base des racines et leurs analyses.
- Activité antimicrobiennes des pommades.

### **III.2. Matériel**

#### **III.2.1. Matériel végétal**

Les parties souterraines (rhizome) de la plante *Tamus communis* L ont été récoltées le mois de mai 2018 de la région de Boudouaou.

**Remarque :** toutes les parties de *Tamus communis* L sont toxiques sauf les racines

#### **III.2.2. Matériel biologique**

L'activité antimicrobienne des extraits de *Tamus communis* L a été évaluée en utilisant 4 souches microbiennes (tableau III et annexe 1) qui nous ont été fournies par laboratoire de microbiologie de l'Université de Tizi-Ouzou.

Tableau III : les souches microbiennes testées

| Souches microbiennes |                              | Gram    | référence |
|----------------------|------------------------------|---------|-----------|
| Bactéries            | <i>Escherichia coli</i>      | Négatif | ATCC25922 |
|                      | <i>Staphylococcus aureus</i> | Positif | ATCC43300 |
| Levures              | <i>Candida albicans</i>      | Positif | /         |
| Moisissure           | <i>Aspergillus niger</i>     |         | /         |

### III.2.3. Appareillage

Pour les différentes expériences, nous avons utilisé un ensemble de matériel formé de verreries, réactifs, produits chimiques et appareillages (Annexe 2).

## III.3. Méthodes

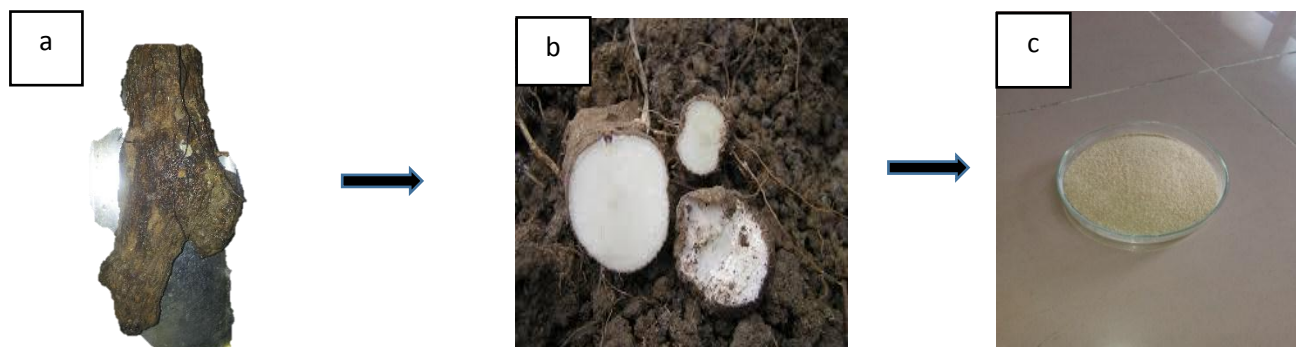
### III.3.1. Transformation et Séchage

Les racines de la plante de *Tamus communis* L possèdent une humidité de l'ordre de 37% ce qui nous à inciter de réaliser un séchage afin de les conserver pendant une longue durée.

Au préalable, les racines ont subi un lavage afin d'éliminer les impuretés et les particules du sol, puis elles sont coupées en petits morceaux et mis à sécher dans une étuve à 40°C pendant quatre jours dans le but d'atteindre une humidité finale de l'ordre de 4%.

En effet cette humidité empêche les réactions d'altération qui peuvent se produire et limite ainsi la prolifération des microorganismes.

Après séchage, les racines sont broyées à l'aide d'un mortier et tamisées avec un tamis de 100 $\mu$ m. La poudre résultante est conservée à l'abri de la lumière dans des flacons en verre bien fermés à 4°C Jusqu'à leur utilisation. (Figure 7)



**Figure 7:** Transformation des racines de *Tamus communis* L en poudre.

**a :** Racine de *Tamus communis* L ; **b :** Coupe transversales de la racine ; **c :** La poudre obtenue après broyage

### III.3.2. Analyse phytochimique

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant la poudre des racines du tamier a été faite selon les méthodes standards du screening phytochimique (Dohou et *al.*, 2003 ; Kumar et *al.*, 2010). Ces tests préliminaires sont en relation avec l'intensité du précipité et la turbidité ou la coloration qui est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

#### Préparation de l'infusé

- 20 g de la poudre sont macéré dans 100 ml d'eau distillée ;
- Porter le mélange à l'ébullition pendant 15 min puis on filtre ;
- Le filtrat est ajusté à 100 ml d'eau distillée.

L'infusé ainsi obtenu a été utilisé pour la recherche des différents composés chimiques :

#### ✓ Les anthocyanes

Introduire dans un erlenmeyer 5ml de l'infusé, puis on ajoute quelques gouttes d'HCl.

Une réaction positive donne une coloration rouge en présence des anthocyanes.

**✓ Les tanins**

Quelques gouttes de la solution de  $\text{FeCl}_3$  (5%) sont ajoutées à ml de l'infusé.

La présence des tanins est identifiée par une coloration bleue noire de la solution.

**✓ Les tanins galliques**

On sature le filtrat par l'acétate de sodium ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ), puis on lui ajoute quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$ .

La réaction est dite positive lorsque la coloration bleue foncée apparaît.

**✓ Les flavonoïdes**

5 ml d' $\text{HCl}$ , un copeau de Mg et 1 ml d'alcool iso butanol sont ajoutés à 5ml de l'infusé.

La réaction est dite positive lorsque la coloration est rouge oranger.

**✓ Les saponosides**

Dans deux tubes à essai fermés, on met dans l'un 5 ml d' $\text{HCl}$ , dans L'autre 5 ml de  $\text{NaOH}$  ;

On introduit dans chacun deux à trois gouttes de l'infusé, ensuite on l'agite verticalement pendant 30 secondes et laisser reposer 15 min.

Une réaction positive est déterminée par la présence ou non d'une mousse persistante.

Deux cas sont possibles :

1<sup>er</sup> cas : en présence des saponines stéroïdiennes, on obtient dans les deux tubes ; le même volume de la mousse.

2<sup>ème</sup> cas : si la plante contient des saponines tri terpéniques, en milieu basique il y'aura formation d'une mousse quelque fois plus grande par stabilité et par volume.

**✓ Les quinones libres**

2 ml d' $\text{HCl}$  (1N) et 20 ml de chloroforme sont ajoutés à 2 g de la poudre végétale, puis on laisse le mélange pendant 3 heures. Après filtration, on ajoute 5 ml d'ammoniac ( $\frac{1}{2}$ ).

La réaction est positive lorsque la coloration rouge violette apparaît.

**✓ Les quinones combinées**

5 ml d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  (2N) ont été ajoutés à 2 g de la poudre, on porte le mélange à reflux pendant 2heurs .Le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre ,20 ml de chloroforme sont ajoutés au filtrat, puis évaporer à sec, reprise par l'ammoniac.

La réaction est dite positive lorsqu'une coloration rouge se manifeste.

**✓ Les alcaloïdes**

20 ml d'ammoniac (1/2) et 50 ml de mélange éther-chloroforme (3/2) ont été ajoutés à 5g de la poudre. Le filtrat est épuisé par HCl (2N).

L'identification des alcaloïdes a été réalisée grâce au réactif de Dragendroff qui donne un précipité rouge.

**✓ Les glucosides**

La mise en évidence des glucosides est réalisée par l'ajout de quelques gouttes d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 2g de la poudre, ainsi qu'une coloration rouge brique ensuite violette se manifeste en présence de glucosides.

**✓ Les coumarines**

Pour mettre en évidence les coumarines, nous avons ajouté 20 ml (éthanol /eau distillée) à 2g de la poudre et on met le mélange à bouillir pendant 15 min à reflux puis filtrer et laisser refroidir.

Les coumarines sont identifiées par l'ajout de 10 gouttes de la solution KOH (1%) à 3 ou 5 ml de filtrat et quelques gouttes d'HCl à 10%, jusqu'à l'obtention d'un milieu fortement acide. L'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines.

**✓ Les sennosides**

On introduit 2,5 g de la poudre dans une fiole conique plus 50 ml d'eau distillée plus 2 ml d'HCl concentré. On procède à un chauffage au bain-marie pendant 15 min. Après refroidissement on lui ajoute 40 ml d'éther de pétrole.

On sépare la phase organique étherée de la phase aqueuse. On sèche la phase étherée sur sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Ensuite on évapore. Lorsque le résidu est refroidi, on lui ajoute 5 ml d'ammoniac (1/2).

La présence des sennosides est identifiée par une coloration jaune ou orange de la solution.

Le chauffage de cette solution au bain –marie pendant 2min donne une coloration violette rouge.

### III.3.3. Analyses physico-chimiques

#### III.3.3.1. Teneur en eau

##### ➤ Principe

Le séchage a été réalisé dans une étuve avec ventilation d'air de type Mammert à 105°C ±03°C.

##### ➤ Mode opératoire

La détermination de la teneur en eau se fait de la manière suivante :

- Peser les capsules en aluminium ;
- Tarer les capsules ;
- Peser dans chaque capsule 10g de l'échantillon, et les placer dans l'étuve pendant 1h ;
- Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans un dessiccateur, après refroidissement, on les pèse, l'opération est répétée chaque 15 minute jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

##### ➤ Expression des résultats

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{M1-M2}{P} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

**H(%)** : humidité

**M1** : masse de la capsule +la matière fraîche avant séchage en g ;

**M2** : masse de la capsule+ la matière après séchage en g ;

**P** : masse de la prise d'essai en g.

$$\text{Matière sèche\% :} 100-H\% \dots\dots\dots (2)$$

**III.3.3.2. Mesure de pH (NF V 05-108 ,1997)**

« Le pH d'une solution est le cologarithme de sa concentration en ions hydrogène  $H^+$ . »

$$PH = -\log [H^+] = \log (1/ [H^+])$$

$$\text{Ou encore } [H^+] = 10^{-pH}$$

➤ **Principe**

La détermination du pH par la méthode potentiométrique, est réalisée à l'aide d'un pH mètre.

➤ **Mode opératoire**

- 4 g de l'échantillon dans 100 ml d'eau distillée ;
- Broyer le mélange et laisser refroidir ;
- Etalonner le pH mètre en utilisant une solution tampon ;
- Prélever un volume V de l'échantillon suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode ;
- Noter ensuite la valeur du pH

**Remarque**

Il faut rincer l'électrode avec l'eau distillée avant chaque mesure puis sécher à l'aide du papier absorbant.

**III.3.3.3. Teneur en cendres**

➤ **Principe**

L'échantillon des racines du tamier est calciné à 550 °C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres de poids constant. (NF V05-113,1972).

➤ **Mode opératoire**

- Dans des creusets en porcelaine, peser 10g de l'échantillon ;
- Placer les creusets dans un four à moufle fermé ; la température est augmentée progressivement de manière à éviter une calcination violente de produit ce qui entrainerait des pertes maintenues à une température de  $550^{\circ}\text{C} \pm 15^{\circ}\text{C}$  jusqu'à obtention d'une couleur blanchâtre de poids constant ;
- Retirer les creusets du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en cendre est calculée par la formule suivante :

$$\text{MO}\% = \frac{M1 - M2}{P} \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

**MO** : matière organique en g ;

**M1** : masse de creuset + la prise d'essai en g ;

**M2** : masse de creuset après incinération en g ;

**P** : masse de la prise d'essai en g.

$$\text{Tc} = 100 - \text{MO}\% \quad \dots\dots\dots (4)$$

Soit :

Tc : Taux de cendres.

### III .3.3.4. Acidité titrable

➤ **Principe**

Il consiste en un titrage de l'extrait aqueux des racines du tamier avec une solution d'hydroxyde de sodium, NaOH (0,1) N en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré. (NF V 05-101, 1974).

➤ **Mode opératoire**

- Peser 10g de l'échantillon ;
- Placer l'échantillon dans une fiole conique, puis on ajoute 70 ml de l'eau distillée récrément bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène ;
- Chauffer le contenu au bain marie pendant 30 min ;
- Refroidir, transvasez quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée, bien mélanger puis filtrer ;
- Prélever 10ml du filtrat dans 10ml d'eau distillée ;

- Ajouter trois gouttes de phénophtaléine et tout en agitant, titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistant pendant 30 secondes.

➤ **Expression des résultats**

L'acidité titrable est calculée par la formule suivante :

$$A\% = \frac{175 \times V1}{V0 \times M} \dots\dots\dots(5)$$

**M** : masse prélevée en g ;

**V0** : volume en ml de la prise d'essai ;

**V1** : volume en ml de la solution NaOH à 0,1N .

### III.3.3.5. Analyse des groupements fonctionnels par Spectroscopie Infra- Rouge (IR)

La spectroscopie Infra-Rouge est une méthode utilisée pour identifier les différents métabolites secondaires des plantes. La méthode est basée sur l'excitation des molécules par des rayonnements Infra-Rouge.

En effet, quand on soumet une molécule à une radiation Infra-Rouge, la structure moléculaire se met à vibrer. Ceci a pour effet de modifier les distances intraatomiques, ainsi que les angles de valence (vibrations de déformation). Lorsque la longueur (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistre une diminution de l'intensité transmise. Afin de réaliser des mesures en transmission, une pastille a été réalisée à partir d'une petite quantité d'échantillon mélangé avec Kbr , (Flanigen et al ., 1971).

Cette analyse a été réalisée au niveau du laboratoire pharmaceutique SAIDAL à Alger.

### III.3.3.6. Extraction de la matière grasse par Soxhlet

La méthode de Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides déshydratés. C'est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début et la matière grasse à la fin de l'extraction.

➤ **Principe**

Le principe consiste à effectuer une extraction par un solvant organique à l'aide de dispositif Soxhlet d'une capacité de 250 ml. La poudre est épuisée en matière grasse par le passage des solvants. On estime qu'une extraction est totale au bout de 6 heures. Nous avons utilisé comme solvant l'Hexane. Ce dernier a été récupéré à la fin de l'extraction.

Cette extraction repose sur le principe suivant : les composés apolaires comme les corps gras sont insolubles dans les composés polaires comme l'eau, mais solubles dans les solvants apolaires tels que l'Hexane. Le point d'évaporation de l'Hexane étant inférieure à celui des matières grasses à extraire, il est donc très facile de les séparer par chauffage.

➤ **Mode opératoire**

- Peser 45g de la poudre des racines de *Tamus communis L.*
- Introduire l'échantillon dans une cartouche en cellulose qui est perméable au solvant et la couvrir avec du coton sec.
- Mettre la cartouche dans l'appareil extracteur de "Soxhlet". Ce dernier est muni d'un réfrigérant par le haut, d'un ballon et d'un chauffe ballon par le bas.
- Verser la quantité nécessaire de solvant (250 ml d'Hexane).
- Conduire le chauffage dans des conditions telles que le débit du reflux soit au moins de 3 gouttes à la seconde. Le solvant va s'évaporer puis réfrigéré, et le liquide tombe sur la substance à épuiser d'une façon à ce que la cartouche soit immergée. Lorsque la partie intermédiaire est suffisamment remplie de solvant, le siphon s'amorce et le solvant contenant la substance à extraire retourne dans le ballon chargé en lipides.
- Après la durée nécessaire, on récupère la cartouche, d'une part, et le solvant et l'extrait, d'une autre part.
- La solution obtenue est passée dans le Rota Vapeur pour chasser par distillation la majeure partie du solvant, ce qui permet de récupérer les lipides seuls (la température d'ébullition des lipides est plus élevée que celle de l'Hexane qui s'évapore le premier).
- Eliminer les dernières traces du solvant en chauffant le ballon pendant 20 mn à 103°C.
- Peser le ballon.

**Remarque :** Il est important de rajouter quelques grains de carborundum (cristal de carbure de silicium SiC) ou de pierre ponce dans le mélange pour éviter une élévation de la température sans ébullition.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en matière grasse totale exprimée en pourcentage de masse de produit, est donnée par la formule suivante :

$$MG = \frac{(M_2 - M_1)}{M_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots(6)$$

Soit :

MG : la matière grasse en pourcentage.

M<sub>0</sub> : la masse en gramme de la prise d'essai.

M<sub>1</sub> : la masse en gramme du ballon.

M<sub>2</sub> : la masse en gramme du ballon plus le résidu.

### III.3.3.7. Estérification

Le profil d'acides gras des racines de *Tamus communis* L a été déterminé par la chromatographie-phase gazeuse (C.P.G) au niveau de l'ENA El-Harrach (Alger).

➤ **Principe**

Les esters méthyliques se forment par transestérification dans une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium comme phase intermédiaire avant la saponification (point 5 de la méthode ISO 5509:2000, point 5 de la méthode IUPAC 2.301).

Cette méthode rapide est applicable aux huiles ayant une teneur en acides gras libres inférieure à 3,3%. Les acides gras libres ne sont pas estérifiés par l'hydroxyde de potassium. Les esters éthyliques d'acides gras se transestérifient plus lentement que les esters glycéridiques et il est possible qu'ils ne se méthylent que partiellement.

➤ **Mode opératoire**

Dans une éprouvette à bouchon vissant de 5 ml, peser environ 0,1 g de l'échantillon d'huile. Ajouter 2 ml d'heptane ou hexane et agiter. Ajouter 0,2 ml de la solution méthanolique 2 N d'hydroxyde de potassium, boucher à l'aide du bouchon muni d'un joint, bien fermer et agiter énergiquement pendant 30 secondes. Laisser reposer jusqu'à ce que la partie supérieure de la solution devienne claire. Décanner la couche supérieure, qui est celle qui contient les esters méthyliques. La solution d'heptane est prête pour l'injection dans le chromatographe.

**Remarque** : Il est conseillé de maintenir la solution au réfrigérateur jusqu'au moment de l'analyse chromatographique. Il n'est pas recommandé de stocker la solution pendant plus de 12 heures.

### **III.3.4. Analyse quantitative**

#### **➤ Dosage des sucres**

Trois catégories de sucres à savoir : les sucres totaux, les sucres réducteurs et le saccharose ont été analysés.

Avant les dosages, on prépare les solutions de Fehling A et B et les deux filtrats (1) et (2) de compositions suivantes :

#### **Filtrat (1)**

- Peser 10g de l'échantillon dans un bécher de 100 ml ;
- Ajouter 2,5 ml d'acétate de plomb ;
- Remplir jusqu'au  $\frac{2}{3}$  du volume de bécher avec l'eau distillée ;
- Agiter à plusieurs reprises et laisser reposer pendant 15 min.
- Ajuster avec l'eau distillée à 100 ml ;
- Homogénéiser et filtrer sur un papier filtre et récupérer le filtrat.

#### **Filtrat (2)**

- Prélever 50 ml du filtrat (1) et ajouter 5ml d'HCl concentré ;
- Chauffer le mélange au bain marine à 70°C pendant 5min ;
- Neutraliser avec NaOH (10N) en présence de phénolphthaléine à 1%.

#### **✓ Dosage des sucres totaux**

#### **Mode opératoire**

- Prélever 50 ml de la solution Fehling A et 5ml de la solution Fehling B ;
- Ajuster jusqu'à 100 ml avec l'eau de robinet ;
- Chauffer le contenu jusqu'à la disparition de la couleur bleue ;
- Ajouter 2 gouttes de bleue de méthylène jusqu'à ce que la coloration bleue soit remplacée par une coloration marron cuivrée ;
- Noter le volume de filtrat (2).V2 .

### ✚ Expression des résultats

La quantité des sucres totaux dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante :

$$S_T = \frac{500}{V \times (V_2 - 0,05)} \times 10 \dots\dots\dots(7)$$

Soit :

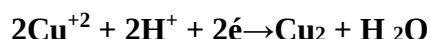
$S_T$  : quantité des sucres totaux (g / 100 ml) ;

$V$  : volume de la prise d'essai ;

$V_2$  : volume du filtrat (2) utilisé au titrage.

### ✓ Dosage des sucres réducteurs

Les sucres réducteurs ont la propriété de réduire à chaud et en milieu alcalin le sulfate de cuivre de couleur bleue en oxyde cuivreux qui donne un précipité rouge brique.



### ✚ Mode opératoire

- Introduire 5 ml de la solution Fehling A et 5 ml de la solution Fehling B dans un bécher de 500 ml ;
- Ajuster jusqu'à 100 ml avec l'eau de robinet ;
- Chauffer le contenu jusqu'à l'ébullition durant 2 min ;
- Titrer par le filtrat (1) jusqu'à ce que la teinte bleue disparaisse ;
- Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène et continuer le titrage jusqu'à ce que la coloration bleue devienne rouge brique ;
- Arrêter le titrage et noter le volume du filtrat (1) dépensé  $V_1$ .

### ✚ Expression des résultats

La quantité de sucres réducteurs dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante :

$$S_R = \frac{240}{V \times (V_1 - 0,05)} \dots\dots\dots(8)$$

Soit :

$S_R$  : quantité des sucres réducteurs (g /100 ml) ;

$V_1$  : volume de la prise d'essai (ml) ;

V<sub>2</sub> : volume du filtrat (1) utilisé au titrage.

➤ **La teneur en saccharose**

La quantité de saccharose est calculée selon la formule suivante :

$$S = (S_T - S_R) \times 0,95 \dots\dots\dots(9)$$

Soit :

S : quantité de saccharose en g/l ;

S<sub>T</sub>: quantité des sucres totaux en g/l ;

S<sub>R</sub> : quantité des sucres réducteurs en g/l.

✓ **Dosage de l'acide ascorbique**

Le dosage direct par méthode iodométrique a été adopté.

✚ **Principe**

Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique par l'iode en milieu acide.

✚ **Mode opératoire**

- Prendre 50 ml de filtrat (1) ;
- Ajouter 50 ml de l'acide sulfurique ( H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ) à 0 ,1N et quelques gouttes d'amidon à 0,5% comme indicateur coloré ;
- Titrer le mélange par une solution d'iode à 0,05% jusqu'à l'apparition de la couleur bleue.

✚ **Expression des résultats**

La quantité de l'acide ascorbique que contient 1l de filtrat est donnée par la formule suivante :

$$Y = N \times 20 \times 4,4 \text{ d'acide ascorbique par litre} \dots\dots\dots(10)$$

Soit :

N= nombre de ml d'iode versés ;

Y= la quantité de la vitamine C dans l'échantillon (mg/l).

## ✓ Dosage des polyphénols totaux

## ✚ Principe

La teneur en composés phénoliques de la plante *T. Communis* a été estimée selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton et *al.* , 1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMoO_{40}$ ).

Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur constituée d'oxyde de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ), l'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Biozote et Charpentier, 2006).

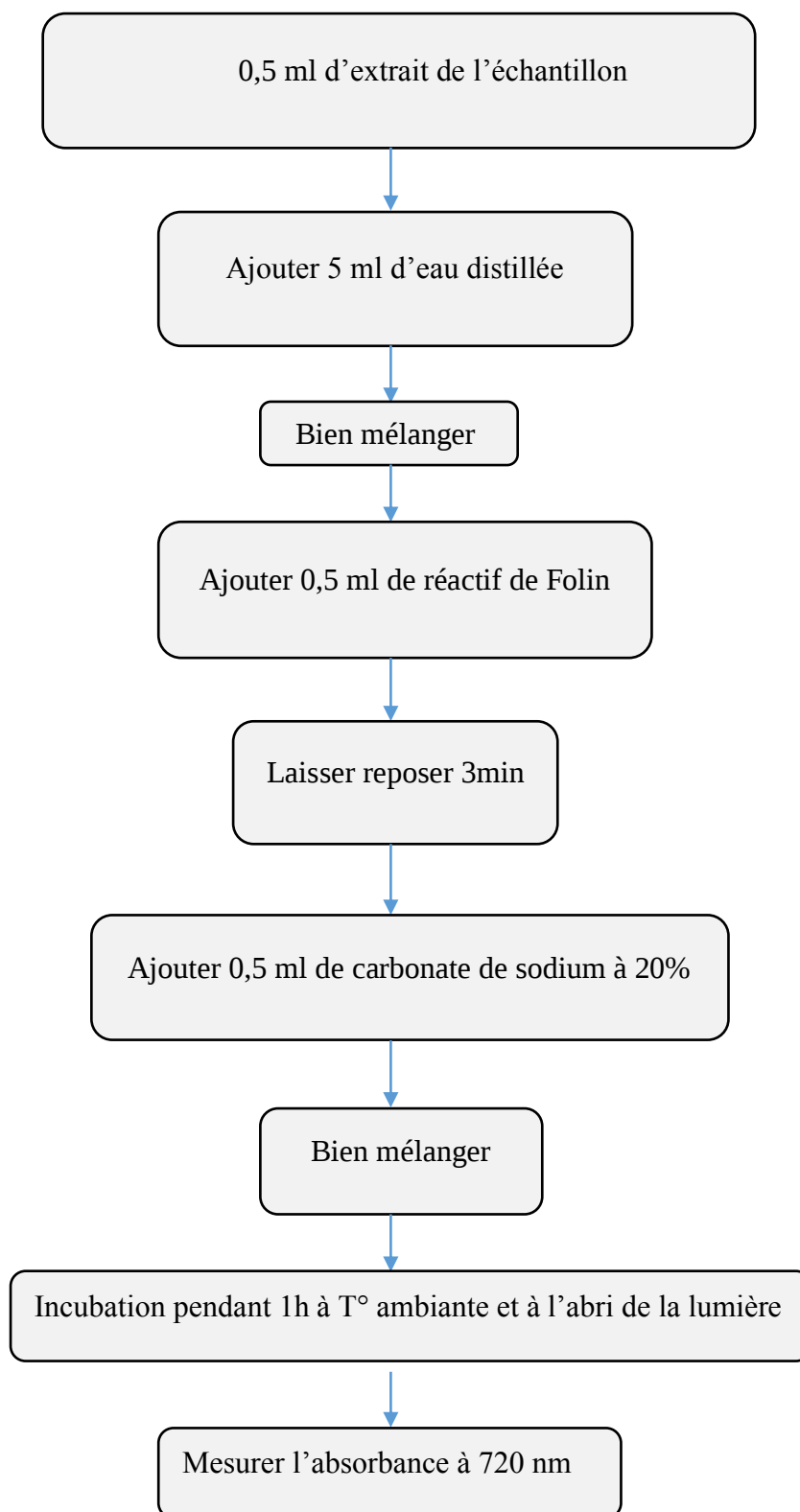
## ✚ Mode opératoire

Le matériel végétal broyé (10 g) est soumis à une extraction par macération dans deux solvants, l'eau distillée et l'éthanol (50 ml) pendant 72 h puis les extraits sont filtrés (Figure 8).



**Figure 8 :** Résultats de filtration des extraits aqueux et éthanoliques.

Le dosage des polyphénols dans chaque extrait est adopté selon le digramme suivant (Figure 9)



**Figure 9 :** Diagramme de dosage des polyphénols totaux (Singleton et *al.*, 1999).

➤ **Courbe d'étalonnage**

La concentration en composants phénoliques totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

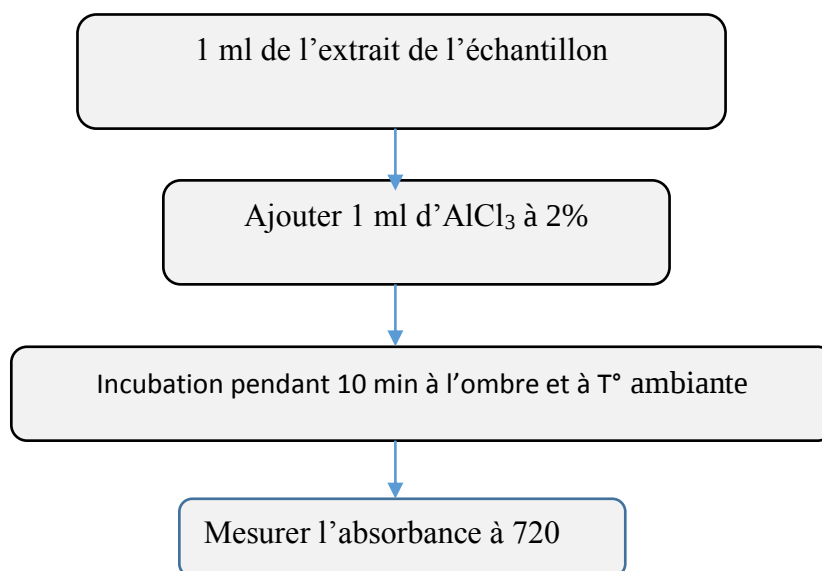
➤ **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche de plante (mg EAG /g MS).

✓ **Dosage des flavonoïdes**

La méthode du trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  (Kosalec et *al.*, 2004) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits obtenus.

❖ Le dosage des flavonoïdes dans chaque extrait est adopté selon le digramme suivant :



**Figure 10** : Diagramme de dosage des flavonoïdes (Kosalec et *al.*, 2004)

➤ **Courbe d'étalonnage**

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant la quercetine comme un flavonoïde standard.

➤ **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercetine par gramme de poids sec de l'extrait.

### **III. 3.5. Etude de l'activité antimicrobienne**

La méthode de diffusion sur un milieu gélosé a été utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits aqueux et éthanoliques des racines de *Tamus communis L* élaborée selon la méthode décrite par Benjillali et al (1986).

#### **III.3 .5.1. Préparation des extraits**

2g de la poudre ont été macérés dans 10 ml de l'eau distillée et 10ml d'éthanol respectivement pendant 72h sous agitation.

#### **III .3 .5.2. Préparation des milieux de culture**

Le milieu Muller Hinton (MH) gélosé a été utilisé pour la détermination des activités antimicrobiennes des extraits de notre plante.

Le milieu sabouraud a été utilisé pour la culture de *C. albicans* et *A.Niger*. Tous les milieux de culture ont été autoclavés à 121°C pendant 15min.

#### **III .3 .5.3. Préparation des disques**

Des disques de papier Wattman de 6mm de diamètre ont été préparés, ensuite sont mis dans un tube à essai, le tube est stérilisé dans un autoclave et conservé jusqu'à leur utilisation.

#### **III .3.5.4. Revivification des souches**

La revivification des souches bactériennes a pour objectif l'obtention d'une culture pure et jeune. Elle est réalisée par la méthode des stries (quatre cadres). Les souches sont alors revivifiées à partir des tubes de conservation sur milieu GN. Les cultures sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 h pour les bactéries, 48 heures à 27°C pour les levures et pendant cinq jours pour les moisissures.

#### **III.3.5.5. Préparation de l'inoculum**

Après incubation, 4 à 5 colonies bien isolées sont transférées avec une pipette Pasteur stérile, dans un tube contenant l'eau physiologique stérile à 0,9% de sel (NaCl) .

L'absorbance (densité optique) de chaque suspension est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620nm et doit être comprise entre 0,08 et 0,1.

### III .3.5.6. Mode opératoire

À l'aide d'une pince stérile, prélever et imbiber 2 ou 3 disques Wattman stériles avec (10 µl) d'extraits aqueux ou éthanolique de racine à tester, puis les déposer sur les géloses (Mueller-Hinton pour les bactéries, le sabouraud pour les levures et les moisissures) préensemencées par les souches à tester.

Les boîtes de pétris sont ensuite fermées et laissées à diffuser à température ambiante et mises à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries, 48 heures à 27°C pour les levures et pendant cinq jours pour les moisissures.

Après incubation, les zones d'inhibition sont mesurées en millimètres et comparées avec celle d'un antibiotique.

### III .3 .5.7. Lecture des résultats

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (Tableau IV) et peut être symbolisée par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait.

**Tableau IV** : Estimation de la sensibilité des souches (Ponce et *al.*, 2003).

| Diamètre de la zone d'inhibition (mm) | Sensibilité des souches      |
|---------------------------------------|------------------------------|
| Ø <8                                  | Non sensible / résistante(-) |
| Ø [9 - 14]                            | Sensible (+)                 |
| Ø [15-19]                             | Très sensible (++)           |
| Ø >20                                 | Extrêmement sensible (+++)   |

### III.3.6. Elaboration d'une pommade à base de la poudre des racines du tamier

La poudre de la racine du tamier a été utilisée pour la fabrication d'une pommade antibactérienne. Les excipients constituant cette pommade sont : la vaseline, la lanoline et la poudre de la racine du tamier utilisée comme principe actif.

Nous avons opté pour l'utilisation de la vaseline en grande proportion comme excipient des pommades. En effet la vaseline a comme rôle la fixation des principes actifs. De plus, la lanoline a été également utilisée car elle favorise l'absorption des principes actifs en les véhiculant jusqu'au sang.

Avant de préparer les différentes formulations, le contrôle de la pureté et la qualité des différents excipients sont indispensables. Ces contrôles ont été appliqués selon la British pharmacopée (Vol I, II, III, IV, 2009) dans un travail ultérieur par notre promotrice.

➤ **Formulation des pommades**

Deux formulations de pommade ont été préparées (Tableau V) en appliquant le plan de mélanges.

| <b>Tableau V</b> Composition des formulations de pommade élaborée |    |     |
|-------------------------------------------------------------------|----|-----|
|                                                                   | F1 | F2  |
| Vaseline (g)                                                      | 30 | 30  |
| Lanoline (g)                                                      | 5  | 5   |
| Poudre issue de la racine de tamier (g)                           | 5  | 2,5 |

➤ **Protocole de préparation**

Dans un mortier, faire liquéfier les quantités de vaseline et de lanoline dans un bain \_marie puis laisser refroidir.

On ajoute au mélange préparé la poudre issue de la racine. A l'aide d'un pilon, on triture le tout, on arrive à avoir un mélange homogène .Mettre les pommades dans des récipients hermétiques et les conserver dans un endroit frais.

### **III.3.6.1. Analyses physicochimique des pommades**

Les pommades préparées subissent des analyses physicochimiques en vue choisir une seule formulation.

❖ **Mesure de pH**

Le pH d'une solution de la pommade diluée au dixième (1g de pommade dans 10 ml d'eau distillée chaude) a été mesuré à l'aide d'un pH –mètre.

❖ **Acidité**

L'acidité est le pourcentage d'acides gras libres dans une matière grasse ; elle est exprimée en pourcentage d'acide oléique. Le principe consiste à la mise en solution d'une prise d'essai dans l'alcool (éthanol) en présence de phénolphthaléine, puis titrage de la solution avec la solution de KOH (AFNOR-NF T60-204). (Annexe 3).

L'acidité est exprimée par la formule suivante :

$$A\% = \frac{N \cdot V \cdot M}{10m} \dots\dots\dots (11)$$

Soit :

N : normalité de KOH à 0,1N ;

V : volume en ml de KOH utilisé pour le titrage ;

M : masse molaire d'acide oléique ;

m : masse de la prise d'essai.

**L'indice d'acidité** est donné par la formule suivante :

$$I_A \text{ (mg de KOH/g de CG)} = N \cdot V \cdot E_g / m \dots\dots\dots (12)$$

Soit :

N : normalité de KOH ;

V : volume en ml de KOH utilisé pour le titrage ;

E : équivalent gramme de KOH = 56,1g.

❖ **Indice de peroxyde**

L'indice de peroxyde est le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme de corps gras oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode.

Le principe de cette méthode consiste en un traitement d'une prise d'essai de la pommade en solution dans l'acide acétique et le chloroforme, par une solution d'iodure de potassium (KI). Le titrage d'iode libéré se fait par une solution de thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) à 0,01 N en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré. (Annexe 4).

❖ **Réactifs**

- Ethanol à 96%
- Solution d'hydroxyde de potassium dans l'éthanol (0,1N)
- Phénolphthaléine : solution 10g /l dans l'éthanol à 96%

❖ **Mode opératoire**

- Peser 2g de la pommade dans un erlenmeyer ;
- Ajouter 100 ml de chloroforme ; puis 15ml d'acide acétique ;
- Additionner 1ml d'iodure de potassium ;
- Boucher aussitôt l'erlenmeyer ;
- Agiter le mélange pendant 1mn, le laisser à l'abri de la lumière pendant 5mn ;
- Ajouter 75 ml d'eau distillée et quelques gouttes d'empois d'amidon à 1% .La coloration bleu noirâtre apparait ;
- Titrer l'iode libéré jusqu'à la décoloration complète avec la solution de thiosulfate de sodium 0,01N en agitant vigoureusement en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré ;
- Effectuer de la même façon un essai à blanc.

**Indice de peroxyde** est donné par la formule suivante

$$\text{IP} = \frac{(V-V_0).N}{P} \cdot 1000(\text{meq/kg}) \quad \dots\dots\dots (13)$$

❖ **Mesure de la viscosité**

La méthode utilisée dans notre étude est fondée sur la mesure des forces de cisaillement (British Pharmacopée ,2009). Elle permet de mesurer la viscosité dynamique exprimée en pascal –seconde.

L'appareil utilisé est viscosimètre de marque (VT 550). Cette analyse a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche de l'université de Boumerdès.

### **III .3.6.2. Activité antimicrobienne des pommades**

La méthode de diffusion sur milieu gélosé a été utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des pommades élaborées selon la méthode décrite par Benjilali et *al.*(1986).

La détermination de l'activité antimicrobienne des deux formulations de pommades (F1 et F2), a été réalisée. A cet effet, 0,5 g de chaque pommade (F1 et F2) a été prélevé et dissout dans deux tubes stériles contenant chacun 5 ml de DMSO.

#### **❖ Protocole expérimental**

Les disques préparés sont imbibés de 10 µl d'extraits des pommades (F1 et F2) à tester. Par ailleurs, la gélose de Mueller-Hinton stérile a été coulée dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm puis laissée refroidir.

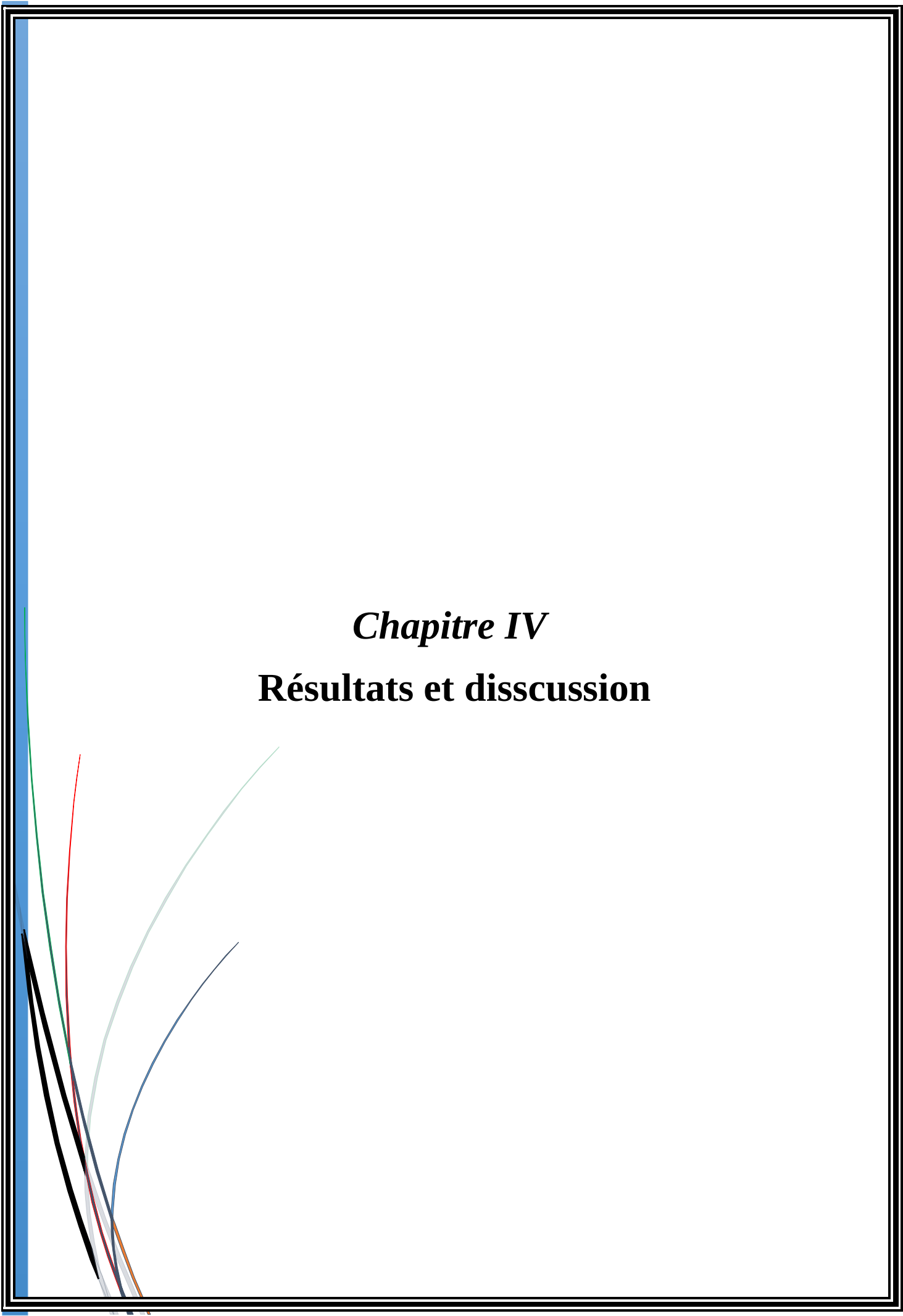
Des boîtes de Pétri stériles préalablement coulées, sontensemencées par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon stérile, en tournant chaque fois la boîte d'environ 60° de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques Wattman contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose.

L'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après la durée d'incubation à la température de germe testé. La lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition et peut être symbolisée par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait (Ponce et *al.*, 2003).

#### **❖ Analyse sensorielle des pommades**

L'analyse est fondée sur un certains nombres de remarques notées sur une fiche proposée à quelques individus. Les divers échantillons issus des différentes formulations sont présentés dans de petits flacons en verre numérotés. On demande à chaque sujet d'effectuer une appréciation organoleptique à condition qu'il ne doive pas avoir appliqué un autre produit cosmétique.



## *Chapitre IV*

# Résultats et discussion

#### IV.1. Résultats d'analyse phytochimique

L'analyse phytochimique de notre plante, est une étape préliminaire d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactifs responsables des vertus thérapeutiques.

Les tests phytochimiques ont été réalisés à partir des racines de *Tamus communis* L, en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence ou l'absence de métabolites dans notre plante.

La détection de ces composés est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité ou un changement de couleur spécifique.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur la poudre des racines du tamier sont mentionnés dans le tableau suivant :

**Tableau VI** : Résultats des tests phytochimiques effectués sur la poudre des racines du tamier

| Métabolites secondaires | Quantité dans les racines |
|-------------------------|---------------------------|
| Anthocyanes             | -                         |
| Tanins                  | -                         |
| Tanins gallique         | -                         |
| Flavonoïdes             | -                         |
| Saponosides             | +++                       |
| Quinones libres         | -                         |
| Quinones combinées      | -                         |
| Alcaloïdes              | -                         |
| Glucosides              | +++                       |
| Coumarines              | +++                       |
| Sennosides              | -                         |

(+++): Abondance ; (-): Absence

Le screening phytochimique réalisé sur la poudre de racine du tamier montre la présence de quelques familles de composés chimiques tels que les saponosides, les glucosides et les coumarines.

Les résultats montrent néanmoins l'absence des anthocyanes, des tanins, tanins galliques, les quinones (libres et combinées), les flavonoïdes, les alcaloïdes et les sennosides.

La richesse des racines du tamier en saponosides, glucosides et coumarines leur confère des propriétés pharmacologiques importantes d'où leur utilisation en médecine traditionnelle.

#### IV.2 Résultats d'analyses physicochimiques

Les résultats de certains paramètres physicochimiques de poudre de racine du tamier sont présentés dans le tableau ci-après. Ils sont présentés sous forme de la moyenne des deux essais  $\pm$  l'écart-type (ET).

| Tableau VII paramètres physicochimiques des racines du tamier |                         |           |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------|
| Paramètre                                                     | Teneur moyenne $\pm$ ET |           |
| PH à 20°C                                                     | 6,6 $\pm$ 0,141         |           |
| Humidité (%)                                                  | 37 $\pm$ 4,242          |           |
| Taux en cendres (%)                                           | 3,75 $\pm$ 0,353        |           |
| Matières organiques %                                         | 96,25 $\pm$ 0,357       |           |
| Acidité titrable g /100g                                      | négligeable             |           |
|                                                               | - Sucres totaux         |           |
| Sucres (g/100ml)                                              | - Sucres réducteurs     | en traces |
|                                                               | - Saccharose            |           |

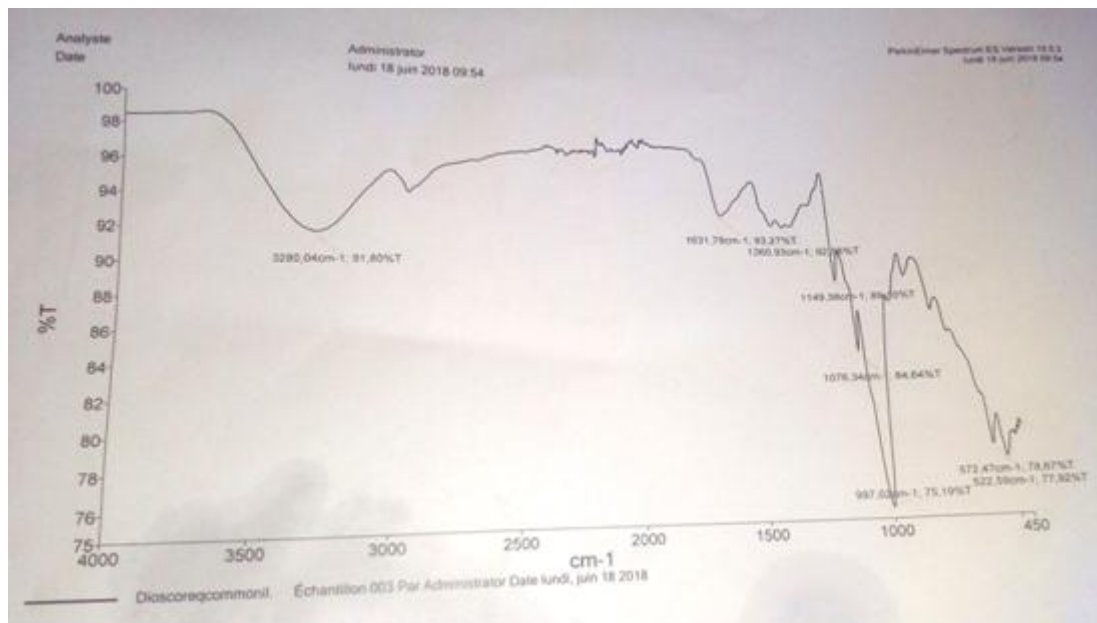
Les résultats de tableau VII dévoilent que les racines du tamier sont riches en eau. Elles sont caractérisées par un pH neutre à légèrement acide (acidité titrable faible) et elles sont riches en cendres ainsi en matières organiques avec une valeur de 96.25%.

Nous pouvons conclure que les racines du tamier sont facilement altérables, d'où la nécessité de prendre certaines précautions (séchage, réfrigération, congélation, lyophilisation etc.) avant utilisation pour une meilleure conservation. Selon Rosemont (2017), le séchage est l'une des méthodes privilégiées pour conserver des plantes pour une longue période, tout en préservant leurs propriétés. Toutefois, un an après le séchage des plantes, leurs propriétés ont tendance à s'estomper.

Une plante médicinale mal conservée perd en parties sa valeur thérapeutique, il faut donc éliminer aux cours du stockage l'action d'un certain nombre de facteurs parmi lesquels : l'humidité (propice la détérioration des principes actifs et au développement de moisissures) (Catier et Roux, 2007).

### IV.3. Résultats d'analyse Infra-Rouge

La caractérisation par infrarouge fournit des informations sur les groupements fonctionnels de *Tamus communis* L dont les résultats sont représentés dans la figure 11.



**Figure 11 :** spectre infrarouge de *Tamus communis* L

Le spectre IR représente l'intensité de l'absorption du rayonnement électromagnétique Infra-Rouge par une molécule en fonction du nombre de ce rayonnement noté  $\sigma$  et exprimé en  $\text{cm}^{-1}$ . Ce nombre d'onde est l'inverse de la longueur d'onde :  $\sigma = 1/\lambda$

Le spectre IR des racines de l'espèce *Tamus communis* L se divise en deux zones principales. La première zone correspond aux grandes valeurs de  $\sigma$  ( $4000\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ ) où apparaissent les bandes caractéristiques de certaines liaisons, par exemple C=O, C=C, C-H, O-H, N-H... qui permet l'identification de groupes caractéristiques. La région pour faibles valeurs de  $\sigma$  ( $<1300\text{ cm}^{-1}$ ), qui est caractéristique du composé et des fonctions présentes est appelée "empreinte digitale". Dans cette zone, il est en général difficile d'attribuer les pics observés à des groupes d'atomes (Site web 4).

Les valeurs des pics ( $\text{cm}^{-1}$ ) et les groupements fonctionnels correspondants aux racines du *Dioscorea communis* L sont résumés dans le Tableau VIII.

Tableau VIII : Résultats de l'analyse IR des racines de *Tamus communis* L

| Longueur d'onde $\text{cm}^{-1}$ | Type de liaison | Intensité    |
|----------------------------------|-----------------|--------------|
| 3280, 04                         | (O-H)           | Forte, large |
| 1631,79                          | N-H             | Moyenne      |
| 1360,93                          | C=O             | Moyenne      |
| 1149, 38                         | C-C             | Faible       |
| 1076, 34                         | C-O             | Faible       |
| 997,02                           | C-H             | Faible       |
| 572,47                           | C - Br          | Faible       |
| 522,59                           | C-I             | Faible       |

Les bandes d'absorption observées confirment bien la présence des liaisons caractérisant les racines de *Tamus communis* L. Parmi ces bandes on cite celles qui correspondent aux vibrations des fonctions hydroxyle (O-H), amine N-H et carboxylique C=O

#### IV.4. Résultats d'extraction de la matière grasse

Le rendement en matière grasse extraite de la poudre des racines du tamier est de l'ordre de 2,22%. Cette matière grasse se caractérise par une couleur jaune.

L'analyse Chromatographique en Phase Gazeuse révèle que la matière grasse est constituée de plusieurs acides gras qui sont représentés dans le tableau IX

**Tableau IX** : Compositions en acides gras des racines du *Tamus communis* L

| Acides gras      | Dénomination            | Concentration (%) |
|------------------|-------------------------|-------------------|
| C12 :0           | Acide laurique          | 1,95%             |
| C14 :0           | Acide myristique        | 1,16%             |
| <b>C16 :0</b>    | <b>Acide palmitique</b> | <b>23,37%</b>     |
| C16 :1 ω7        | Acide palmitoléique     | 2,18%             |
| C17 :0           | Acide Margarique        | 0,80%             |
| C18 :0           | Acide stéarique         | 2,34%             |
| <b>C18 :1 ω9</b> | <b>Acide oléique</b>    | <b>16,60%</b>     |
| <b>C18 :2 ω6</b> | <b>Acide lioléique</b>  | <b>37,36%</b>     |
| <b>C18 :3 ω3</b> | <b>Acide linoléique</b> | <b>13,33%</b>     |
| C20 :0           | Acide arachidique       | 0,50%             |
| C20 :1 ω9        | Acide gondoïque         | 0,31%             |
| C22 :0           | Acide béhénique         | 0,003%            |

Le profil d'acide gras de la poudre des racines *Tamus communis* L révèle que cette poudre est riche en acides gras insaturés. Nous constatons que, l'acide lioléique, l'acide palmitique, l'acide oléique et l'acide linoléique sont présents à des fortes teneurs (37,36%, 23,37%, 16,60%, 13,33%) respectivement en comparaison avec les autres acides gras insaturés.

Néanmoins, les acides margarique, arachidique, gondoïque et béhénique sont présents en faibles proportions.

Conséquemment, les racines de la plante étudiée possèdent une haute valeur biologique qui peut être due à présence de l'acide linoléique qui intervient dans de nombreuses fonctions physiologiques. Il est impliqué dans le fonctionnement du système immunitaire et dans la fabrication de la membrane cellulaire annoncé par l'ANSES (2016) Agence Nationale de Sécurité de l'Environnement et de la Santé.

## IV.5. Résultats d'analyses quantitatives

## ➤ Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes

Les résultats de la détermination des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes présents dans les extraits aqueux et éthanolique des racines de *T. Communis* sont présentés dans le tableau X. Les valeurs sont représentées sous forme moyennes de trois mesures  $\pm$  ET.

**Tableau X:** Résultats du dosage des PPT et des flavonoïdes des extraits aqueux et éthanoliques de *Tamus communis* L

| Extrait     | Teneur en polyphénols (mg EAG/g MS) | Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g MS) |
|-------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| Aqueux      | 10,14 $\pm$ 2,168                   | 3,50 $\pm$ 2,500                   |
| Ethanolique | 17,95 $\pm$ 4,617                   | 3,88 $\pm$ 2,168                   |

Les résultats de dosage des PTT signalent que l'extrait éthanolique des racines de *Tamus communis* L est plus riche en polyphénols en comparaison avec l'extrait aqueux. Cependant, les deux extraits enregistrent des teneurs similaires en flavonoïdes. En fait, la solubilité des polyphénols est gouvernée par le type de solvant utilisé, leur degré de polymérisation, de leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles. Pour une récupération importante de polyphénols, l'éthanol est le solvant le plus approprié (Falleh et *al.*, 2008).

En effet, la teneur en composés phénoliques peut se différer d'une espèce à une autre et d'un organe végétal à un autre, aussi influencée par plusieurs facteurs tel que, le lieu géographique de la cueillette, le stade de croissance et les conditions de culture de la plante.

La synthèse et l'accumulation des polyphénols sont généralement stimulées en réponse aux stress biotique /abiotique comme les conditions climatiques dures, des endroits où la plante pousse (température élevée, grande exposition au soleil, la sécheresse et la salinité qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires, notamment les polyphénols (Falleh et *al.*, 2008).

Les résultats du dosage montrent aussi que les proportions en polyphénols sont nettement supérieures à celles des flavonoïdes. Ceci suggère que les polyphénols présents ne sont pas tous des flavonoïdes, il peut y avoir présence d'autres polyphénols tels que les tanins catéchiques ainsi que les coumarines qui ont été mis en évidence dans nos travaux. D'autres classes de polyphénols peuvent être présents tels que les phénanthrènes isolés par Al-Khateeb et *al.*, (2012) traitant la même plante.

#### IV.6. Résultats de l'activité antibactérienne

Pour évaluer la sensibilité des bactéries de nos extraits et connaître l'effet antibactérien des polyphénols et des flavonoïdes de notre plante, nous avons fait appel à la méthode de diffusion sur disques. Les extraits éthanoliques et aqueux des racines de *Tamus communis* L sont testés contre une série de bactéries : Gram-positif (*Staphylococcus aureus* ATCC43300 et Gram- négatif (*Escherichia coli* ATCC25922), des levures et moisissures (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*) respectivement. L'activité antibactérienne des différents extraits préparés contre les souches testées dans cette étude et leur puissance, sont qualitativement et quantitativement réparties par l'absence d'une zone d'inhibition.

Nos extraits (éthanoliques et aqueux) ne sont pas actifs sur aucune des souches testées. Nous pouvons expliquer ces négatifs résultats d'une part par la dose testée qu'est faible d'autre par la résistance et la nature des solvants utilisés pour l'extraction (Hayouni et al 2007). Par ailleurs, la sensibilité des germes est liée au type des composés phénoliques présents dans les extraits.

#### IV.7. Résultats des analyses des pommades élaborées

##### IV.7.1. Résultats des analyses physicochimiques

Les résultats de quelques paramètres physico-chimiques (pH, acidité, indices d'acide et de peroxyde) des pommades élaborées sont présentés dans le Tableau XI

**Tableau XI :** Résultats des paramètres physicochimiques

| Indices<br>N° | pH à 20°C | Indice de Peroxyde<br>(meq O <sub>2</sub> /Kg CG) | Acidité<br>(%) | Indice d'acide<br>(mg de KOH/ g<br>CG) |
|---------------|-----------|---------------------------------------------------|----------------|----------------------------------------|
| F1            | 7,4±0,141 | 10,25±1,449                                       | 2,42±0,165     | 4,76±0,070                             |
| F2            | 6,7±0,070 | 21,25±0,070                                       | 0,90± 0 ,021   | 1,96±0,036                             |

Il ressort de ce tableau que les deux formulations possèdent un pH proche de neutralité.

La formulation F2 a un indice de peroxyde plus élevé en comparaison avec la formulation F1, et elle possède un indice d'acide plus faible que celui de la formulation F1.

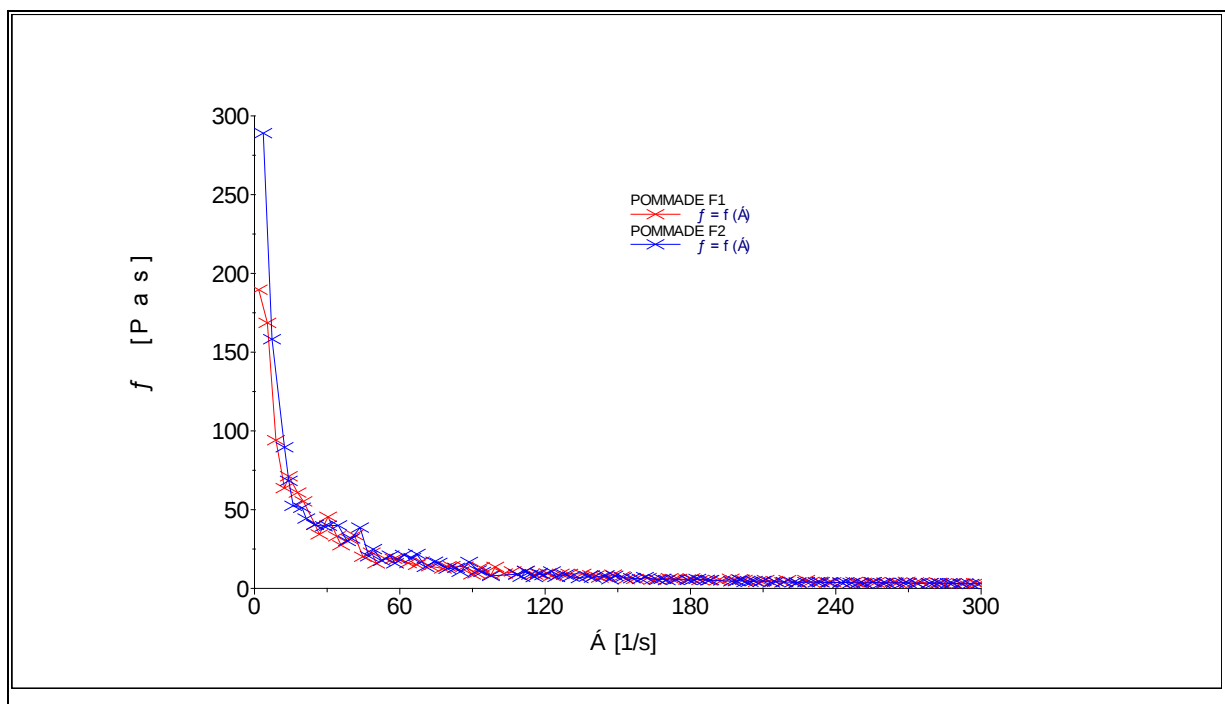
En effet, un indice d'acidité inférieur à 2, est une preuve de bonne conservation des pommades. Il y a lieu de signaler qu'une pommade fraîche ne contient que peu d'acides libres, c'est pendant la période de stockage que la pommade (le corps gras) peut subir des dégradations telles que l'hydrolyse des esters (ISO 2009).

En outre, l'indice de peroxyde nous renseigne sur l'état d'auto-oxydation d'un corps gras, Généralement, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs favorisant (température élevée, enzyme, trace de minéraux ....). Cette auto-oxydation conduit dans un premier temps à la formation de peroxydes qui se décomposent ultérieurement en dérivés carbonylés, aldéhydes et hydrocétone.

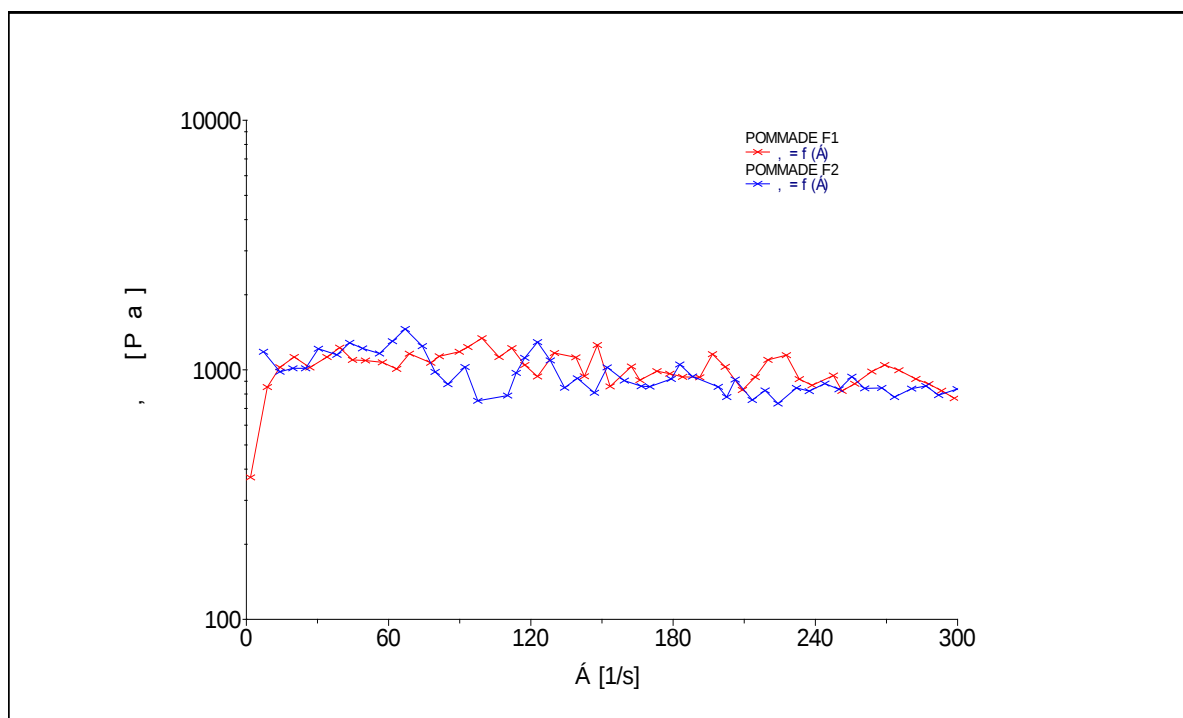
Selon ISO, l'indice de peroxyde d'un corps gras doit être compris entre 0 milliéquivalents et 30 milliéquivalents d'oxygène par kilogramme et plus cet indice est proche de 30, plus le produit est de bonne qualité.

#### IV.7.2. Résultats de la viscosité

Les résultats de la viscosité des deux formulations des pommades élaborées sont illustrés par les Figures 12 et 13.



**Figure 12:** Variation de la viscosité ( $\eta$ ) des pommades en fonction du taux de cisaillement ( $\dot{\gamma}$ )



**Figure 13:** Rhéogramme représentant la contrainte de cisaillement( $\tau$ ) des pommades en fonction de leur taux de cisaillement ( $\dot{\gamma}$ )

Les deux graphes indiquent que les pommades étudiées sont du type dit "rhéofluidifiant " car leur viscosité diminue lorsque le taux de cisaillement augmente (Fig .12), ce qui veut dire qu'elles possèdent les propriétés visqueuses d'un liquide et les propriétés élastiques d'un solide. C'est le cas des bonnes pommades qui sont fluides à l'étalement mais plus visqueuses au toucher.

Cependant, ces fluides sont dits à seuil, car il faut dépasser un seuil en contrainte ( $\tau_0$ ) avant qu'ils puissent s'écouler (Fig. 2). Par définition, un seuil d'écoulement décrit la contrainte requise pour produire l'écoulement d'une substance plastique. (Dridi, 2005).

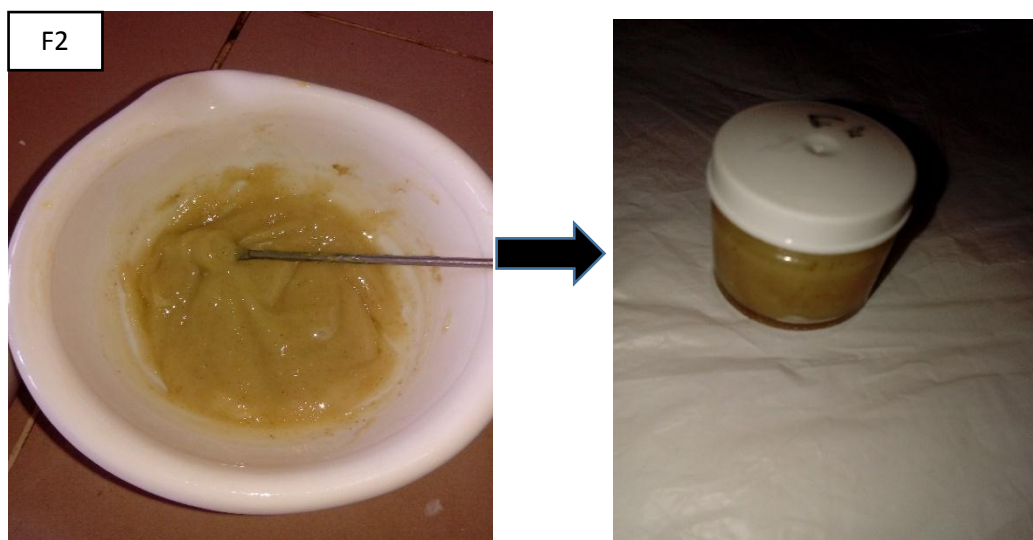
Nous pouvons conclure, que les pommades élaborées peuvent être considérées comme des fluides plastiques, ce qui signifie qu'elles s'écoulent à partir d'une certaine valeur de contrainte ( $\tau$ ). Les résultats obtenus sont conformes à certaines pommades cosmétiques, la nature des pommades est du type « fluide non newtonien pseudoplastique »

**IV.7.3. Résultats d'analyses de l'homogénéité et de l'irritation**

Les figures ci-dessous illustrent l'aspect des deux pommades élaborées.

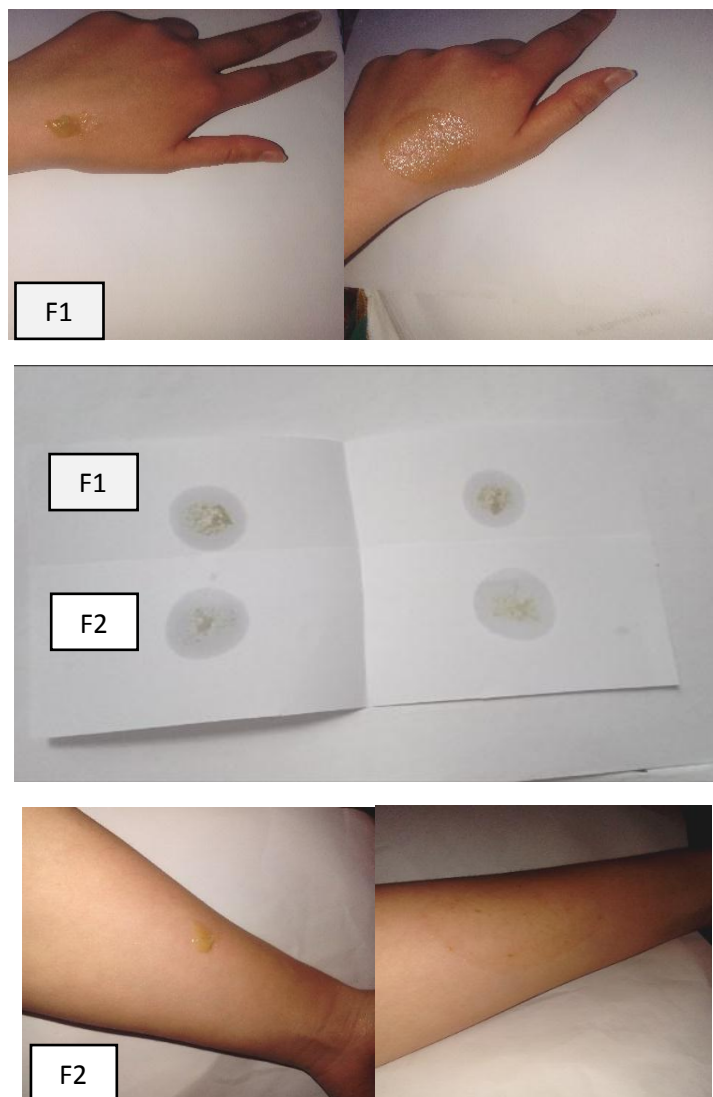


**Figure 14 :** Aspect de la première formulation (F1) de pommades élaborées



**Figure 15 :** Aspect de la deuxième formulation (F2) de pommades élaborées

Les résultats de la Figure 16 révèlent que les pommades testées sont très homogènes et non irritantes selon les résultats du test d'étalement des pommades sur les feuilles en papier et sur les mains.



**Figure 16** : Résultats relatifs à la qualité de l'homogénéité des formulations de pommades

#### IV.7.4. Résultats de l'activité antibactérienne

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les saponosides ets (Rojas et *al.*, 1992).

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antibactérien des deux formulations de pommades élaborées par la méthode de diffusion de puits sur gélose, et les résultats obtenus dans notre

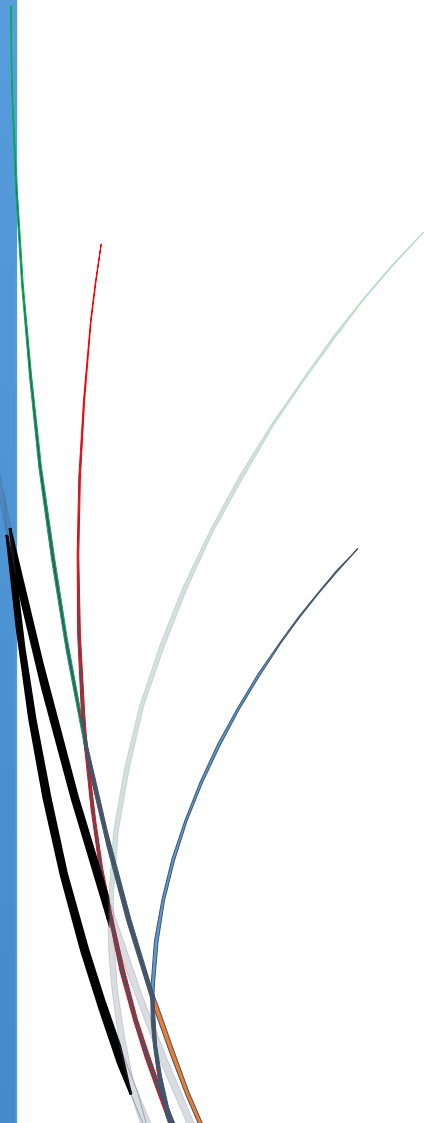
étude pour le test de l'efficacité antimicrobienne ont montré que les deux formulations n'ont exercé aucun effet antimicrobien vis-à-vis des différentes souches testées.

L'absence d'effet bactériostatique ou bactéricide sur les différentes souches testées pourrait être due à la résistance de celles-ci ou bien à l'insuffisance du volume et de la concentration utilisée.

### **Conclusion**

En se basant sur les résultats des tests de qualité (homogénéité, pH, indices physicochimiques, viscosité et activité antimicrobienne), une seule formulation a été retenue à savoir F2. Cette dernière présente de meilleures caractéristiques organoleptiques (couleur et odeur) et physicochimiques.

## Conclusion générale



## Conclusion générale et perspectives

Les plantes médicinales resteront toujours une source fiable de principes actifs d'intérêt thérapeutique. Face à la phobie des molécules de synthèse chimique, leur utilisation est en progression constante.

Le présent travail a abouti à la mise au point d'un médicament traditionnel. Il représente donc une avancée dans la valorisation dans la médecine traditionnelle, ou dans l'exploitation de *Tamus communis* L, une plante disponible dans la nature et largement utilisée en médecine traditionnelle, en particulier.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique des racines de *Tamus communis* L de la région de Boudouaou.

Les résultats des paramètres physicochimiques de matériel végétal broyé de *Tamus communis* L montrent que les racines de cette plante sont très riches en eau et en cendres avec des teneurs de  $37\% \pm 4,242$  et  $3,75 \pm 0,353$  respectivement.

Les tests phytochimiques réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence les saponosides, les coumarines et les glucosides dans les racines de *Tamus communis* L.

L'analyse chromatographique en phase gazeuse de la matière grasse de la poudre de *Tamus communis* L révèle que cette dernière est riche en acides gras insaturés ainsi que, l'acide linoléique, l'acide palmitique, l'acide oléique et l'acide linoléique sont présents à des fortes teneurs (37,36%, 23,37%, 16,60%, 13,33%) respectivement en comparaison avec les autres acides gras insaturés.

Globalement, les extraits éthanoliques des racines de *Tamus communis* L sont riches en PPT et pauvres en flavonoïdes avec des teneurs de  $(17,95 \pm 4,619 \text{ mg EAG/g})$ , et  $(3,88 \pm 2,168 \text{ mg EQ/g MS})$  respectivement en comparaison aux extraits aqueux. L'éthanol est choisi comme meilleur solvant d'extraction de ces composés analysés.

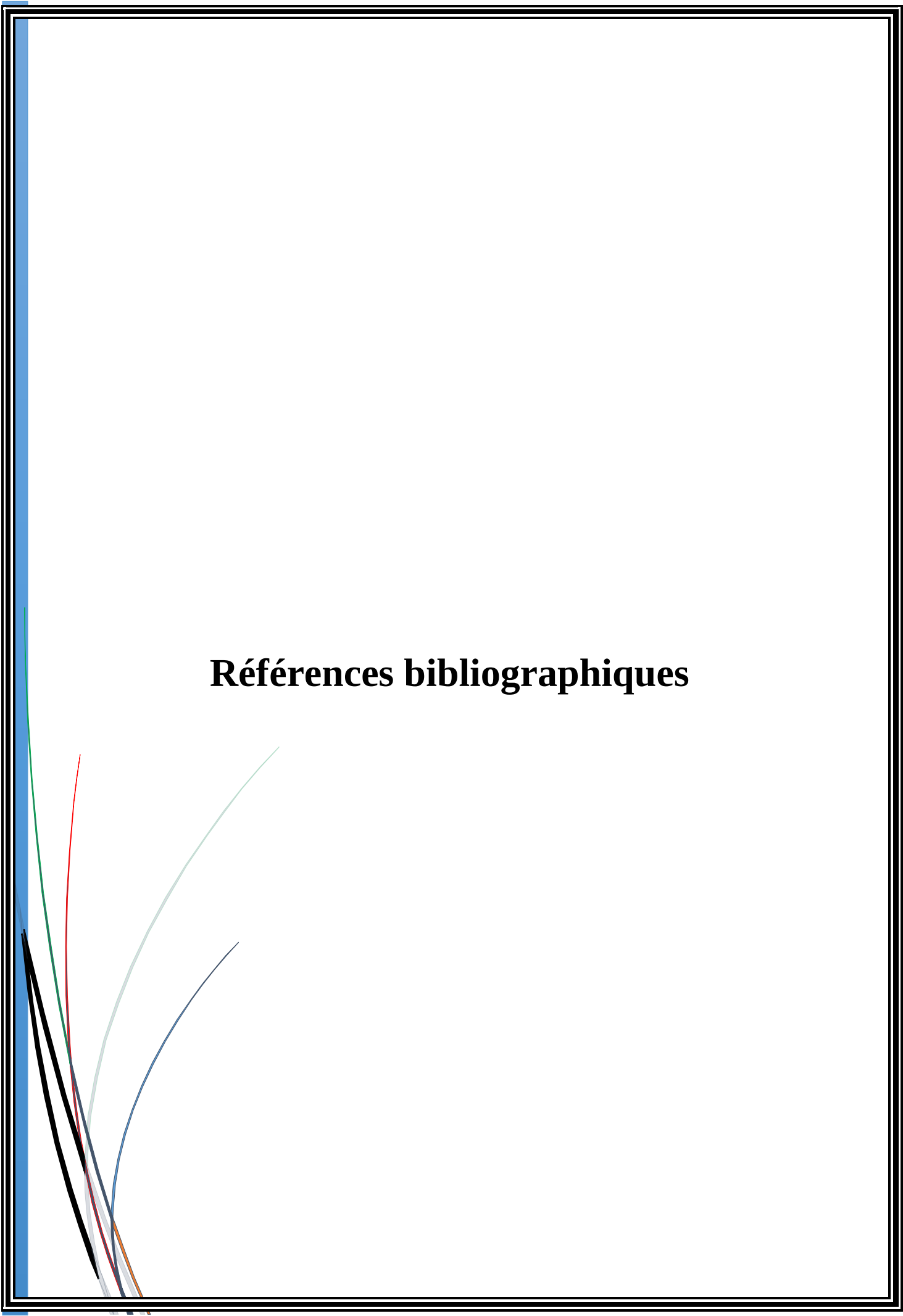
Les résultats de tests de qualité révèlent que la formulation F2 présente de meilleures caractéristiques organoleptiques et physicochimiques à savoir l'homogénéité, pH, indices physicochimiques et viscosité et activité.

## ***Conclusion générale et perspectives***

Parmi les perspectives immédiates de cette étude est d'ouvrir des horizons de recherches ciblés dans le domaine des plantes utilisées en médecine traditionnelles, notamment dans la mise en évidence des principes actifs et l'évaluation de leurs activités biologiques.

Il serait toutefois intéressant d'approfondir les investigations phytochimiques et biologiques de *Tamus communis* L afin d'isoler les molécules responsables des activités biologiques, ce qui permettra d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes.

En Algérie, le nombre d'espèces végétales diminue, et le savoir des médecines traditionnelles tend lui aussi à disparaître progressivement, Il en résulte une urgence à connaître, protéger et à développer ces espèces. Une sensibilisation est nécessaire sur l'usage de la médecine traditionnelle.



## Références bibliographiques

## Références bibliographiques

### A

**AFNOR (1986).** Association française de normalisation Recueil de norme françaises des fruits et produits dérivés AFNOR 3 Ed, Paris

**Al-Khateeb E., Ohan A.A. and Al-Ani H. (2012)** .Cytotoxicity studies of *Tamus communis* root and berries HEP-2 and AMN-3 carcinoma cell. *Hygei: Journal for drugs and medicines*, 4 (2), 1-5

**ANSES** (Agence nationale de sécurité de l'alimentation, de l'environnement et du travail), *Table CIQUAL composition nutritionnelle des aliments* – consulté le 24.04.2016.

**Aquino ., Conti,C .,de Simone ,F.,Orsi .N.,Pizza,C.,Stein.(1991).**Antiviral activity of constituents of *Tamus Communis* .*J.Chemother.* 3,305-309.

**Attia AA. (1999).** Triterpenoidal saponins from the aerial parts of *Zygophyllum coccineum* L.and *Zygophyllum fabago* L. *Pharmazie*, 54, 931–934. (2000). Antiproliferative triterpene saponins from *Trevesia palmata*. *J. Nat. Prod.*, 68, 1022-1023.

### B

**Bahorun,T ., 1997.**Substances naturelles actives : La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle . Food and agricultural Revercha council , réduit, mauritus , 83-94

**Betina-Bencharif, S. (2004).** Isolement et caractérisation des saponosides extrait de deux plantes médicinales *Cyclamen africanum*, *Zygophyllum cornutum* et évaluation de leur activité anti - inflammatoire. Thèse en cotutelle pour l'obtention du grade de: Docteur de l'université de Constantine 1/ Docteur de l'université de Bourgogne .p 18-19

**Benjelali B, Tantaoui EA, Esmaili-Alaoui M (1986).** Méthodes d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plant Med Phytother* 20:155–67

**Biozot N et Charpentier T.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composé phénolique des organes d'un arbre forestier. Le cahier des techniques de l'Inra .P 79.82. (cited in djemai zoueglache S, 2008).

**Boullard, B. 2001.** Plantes médicinales du monde (Réalité & croyance) ESTEM, ISBN 284371 1177 PP 515-516

**Boullard, B. (2003).** Plantes médicinales du monde : Réalité et croyance .Paris . PP 1092- 1107

**British Pharmacopée (2009) Vol I, II, III, IV.** 6e édition. Supplément 6.3. Publiée selon la Convention relative à l'élaboration d'une Pharmacopée Européenne (Série des traités européens, n° 50)

**Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales .3 eme édition. Paris. pp. 648-65

**Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie - Phytochimie, Plantes médicinales. Ed. Tec & Doc

## C

**Caddick L.R., Wilkin P., Rudall P.J., Hedderson T.A.J. and Chase M.W. (2002)**

Phylogenetics of Dioscoreales based on combined analyses of morphological and molecular data. *Botanical morphological and molecular data. Botanical Journal of the Linnean Society*, 138 (2), 123-144

**Capasso F., De Simone F. and Senatore F.S. (1983).** Sterol constituents of *Tamus communis* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 8(3), 327-329.

**Catier O. et Roux D . ( 2007).** Botanique pharmacognosie phytothérapie . Ed Wolters Kluwer, pays –Bas.

**Chen, C.N., Weng, M.S., Wu, C., Lin, J.k. (2004).** Comparison of radical scavenging activity, cytotoxic effects and apoptosis induction in human melanosoma cells. *Food Chemistry*, 1(2):175 185.

**Cottiglia, F., Loy, G.,Garan, D., Floris, C., Casu, M., Pompei, R., Bonsignore, L. (2001).** Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. *Phytomedecine*, 8(4): 302-305.

## D

**Dohou N, Yamni K , Tahrouch S , et al(2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine . Thymelaealythroïdes . Bull Soc Pharm Bordeaux 142 :61-78

**Dridi F (2005).** Extraction et analyse de l'huile essentielle de cumin. Formulation d'une pommade décongestionnante. Mémoire de fin d'étude. Université M'hamed Bougherra, Boumerdès.

**Duke, J.A., (2002).** Handbook of Medicinal Herbs . CRC Press, London.

## E

**El Beyrouthy, M., Nelly, A., Annick, D.D., Frederic, D. (2008).** Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *J Ethnopharmacol.* 120:315-33.

## F

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C. (2008)** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, **331**, 372-379

**Flamigen .E .M , H Khatami , et H .A Szymanski .** Infrared structural studies of zeolite framework. *J , Adv. Chem . Ser .*, 1971, vol 101, pp. 201.

**Floc'h F., Mauger F. and Desmurs J. R. (2002).** Coumarin in plants and fruits. *Perfumer and flavorist*, **27 (2)**, 32-36

**Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. S., Becker, K. (2002).** The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, **88**, 587-605.

## G

**Goodwin, T .W.(1955).** Studies in carotenogenesis a survey of the polyenes in a number of ripe berries .*Biochem.* **62** : 34 347-352

**Goulle, J.P., Gilbert. P., Christian, L. (2004).** Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes: belladone, datura, jusquiame, mandragore. *Annales de toxicologie analytique.* **16(1)**. pp.55-65.

**Grenby, T.H., (1991).** Intense sweeteners for the food industry: an overview. *Trends Food Sci. Technol.* **2**, 2–6.

**Guarrera P.M. and Leporatti M.L. (2007).** Ethnobotanical remarks on central and southern Italy. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **3**, 23

## H

**Harkati, B. (2011).** valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae : *Scorzonera Undulata* . thèse de doctorat Université Mentouri Constantine.

**Hayouni EA., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of

Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts . *Food Chemistry*, 10 :10-16

**Heng, L., Vincken, J.-P., van Koningsveld, G.A., Legger, L., Gruppen, H., van Boekel, M.A.J.S., Roozen, J.P., Voragen, A.G.J., 2006 b.** Bitterness of saponins and their content in dry peas. *J.Sci. Food Agric.* 86, 1225–1231.

**Hoffman, L. (2003).** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Strasbourg. 245p.

**Huang D., Ou B. and Prior R.L. (2005)** .The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.

## **J**

**Jain P.K. and Joshi H. (2012)** .Coumarin: Chemical and Pharmacological. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02 (06), 236-240.

## **K**

**Kaneko T., Baba N. and Matsuo M. (2003).** Protection of coumarins against linoleic acid hydroperoxidinduced cytotoxicity. *Chemico-biological interactions*, 142, 239-254.

**Khan, I., Kulkari, M.V., Gopal, M., Shahabuddin. (2005).** Synthesis and biological evaluation of novel angularly fused polycyclic coumarins. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. p15, 3584 3587

**Kitagawa, I., 2002.** Licorice root. A natural sweetener and an important ingredient in Chinese medicine. *Pure Appl. Chem.* 74, 1189–1198.

**Kosalec I., B Bakmaz M., PEPELJNAK S.et VLADIMIR-KNEG EICS.(2004).** Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia . *Acta Pharm* .54 :56-72.

**Kovačs A., Forgo P., Zupko I., Réthy B., Falkay G., Szabo P. and Hohmann J. ( 2007)** Phenanthrenes and a dihydrophenanthrene from *Tamus communis* and their cytotoxic activity. *Phytochemistry*, 68, 687-691

**Kumar U, Kumar B, Bhandari A, et al (2010).** Phytochemical investigation and comparison of antimicrobial screening of clove and cardamom. *Int J Pharm Sci Res* 1:138–47

## L

**Lake B.G. (1999)** .Coumarin metabolism, toxicity and carcinogenicity: relevance for human risk assessment. *Food And Chemical Toxicology*, 37(4), 423-53

**Laure, F. (2005)**. Etude de la composition chimique et de la biodiversité du *Calophyllum urophyllum* de Polynésie française. Thèse de doctorat, Nice.373p

**Lentini, F., Venza, F. (2007)**. Wild food plants of popular use in Sicily. *J. Ethnobiol.Ethnomedicine* . 3:15.

**Leporatti M.L. and Ivancheva S. (2003)**. Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medecine of Bulgaria and Italy.*Journal of Ethnnopharmacology*,87,123-142.

## M

**Maire R. (1959)** .FLORA de l’afrique du nord Vol VI publie par les soins de P. Quézel.Eds. Le chevalier, Paris, pp : 394.

**Moreina M .R., Ponce A.G., de valle C.E., Roura S.I., 2005**-Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen . *Lebensmittel- Wissenschaft und-technologie-LWT*, 38 : 565-570.

## N

**NF V 05-113 (1972)**. Détermination des cendres totaux 49, 4:289-98

**NF V 05-101 (1974)** .Produits dérivés des fruits et légumes. Détermination de l’acidité titrable

## O

**Ochocka, R.J., Rajzer, D., Kowalski ., Lamparczyk, H. (1995)**. Determination of coumarins from *Chrysanthemum segetum* L. By capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. p709, 197-202

**Oda, K., Matsuda, H., Murakami, T., Katayama, S., Ohgitani, T.,Yoshikawa, M., 2000**. Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. *Biological Chemistry*,381, 67–74.

**Ojala, T., Rames, S., Haansu, P., Vuorela, H., Hiltunen, R., Haahtela, K., Vuorela, P. (2000).** Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*. p73, 299-305.

**Oleszek, W., Stochmal, A., 2002.** Triterpene saponins and flavonoids in the seeds of *Trifolium* species. *Phytochemistry* 61, 165–170.

## **P**

**Ponce AG, Fritz R, Delvalle C, Roura SI (2003)** .Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-wissenschaft und technologische* 36:679–84

**Price, K.R., Johnson, I.T., Fenwick, G.R., 1987.** The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedstuffs. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 26, 27–135.

## **R**

**Reish, J., Bathory, M., Szendrei, K., Nouvak, M.E. (1972).** Further phenanthrene from the rhizome of *Tamus communis* L. *J. Phytochemistry* 12 :228-229

**Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., Mata R. (1992)** .Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacology*. 35 : 275-283.

**Rosmont P.P (2017).** Les plantes médicinales, guide pratique .Ed Sober, Montréal.

## **S**

**Schmidt R.J. and Moulton S.P. (1983)** .The dermatitic properties of black bryony (*Tamus communis* L.). *Contact Dermatitis*, 9, 390-396.

**Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R. M. (1999).** Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Method Enzymol.* , 299, 152-178.

**Smyth T., Ramachandran, V.N. and Smyth W.F. (2009)** .A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33 (5), 421-426.

**Sparg, S. G., M. E. Light and J. van Staden (2004).** "Biological activities and distribution of plant saponins." *Journal of Ethnopharmacology* 94(2–3): 219-243.

**Sproll C., Ruger W., Andlauer C., Godelmann R. and Lachenmaier D.W. (2008).** HPLC analysis and safety assessment of coumarin in foods. *Food Chemistry*, **109**, 462-469

**Stefanova, T., Nikolova, N., Michailova, A., Mitov, I., Iancovii.; Zlabinger, g.I., Neychev, H., (2007).** Enhanced resistance to *Salmonella enteric* sero var typhimurium infection in mice after coumarin treatment. *Microbes and infection*. p9, 7-14

## **T**

**Taguchi, G., Fujikawa, S., Yazawa, T., Kodaira, R., Hayashida, N., Shimosaka, M., Okazaki, M., (2000).** Scopoletin uptake from culture medium and accumulation in the vacuoles after conversion to scopolin in 2,4-D-treated tobacco cells. *Plant Science*. p151, 153-161

**Thati, B., Noble, A., Rowan, R., Creaven, S.B., Walsh, M., Egan, d., Kavanagh, K. (2007).** Mechanism of action of coumarin and silver coumarin complexes against the pathogenic yeast *Candida albicans*. *Toxicology in vitro*. p21, 801-808.

**Tutin ,T.G.,Heywood ,V.H ,Burges ,N.A.,Moor.D .M.,Valentine,D.H.,Walters .,S.M.,Webb,D.A (1972).** *Dioscorea*. *Flora Europae* . Cambridge University Press Vol. 5 :84-85

**Tutin,T.G.,Heywood,V.H,Burges,N .A.,Moor.D.,Valentine,D.H .,Walters.,S .M.,Webb,D. A (1980).** *Flora Europae* . Cambridge University Press Vol.5 .

**Tyler, N. J., L. V. Gusta and D. B. Fowler (1981).** "the influence of nitrogen phosphorus and potassium on the cold acclimation of winter wheat (*Triticum aestivum* L.)." *Canadian Journal of Plant Science* 61(4): 879-885.

## **W**

**In Walter. H. et H. Straka , 1970 -** *Arealkunde, floristisch-historische geobotanik*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 478p.

**Wachter, G. A., Valcic, S., Franzblau, S. G., Suarez, E. et Timmermann B. N. (2001).** Antitubercular activity of triterpenoids from *Lippia turbinata*. *Journal of Natural Products*, 64, 37.

## **Y**

**Yazza ,S ; Bouchama,S .(2014).** Index des métabolites secondaires végétaux, mémoire licence. Spécialité : Biochimie fondamentale et appliquée. P 22

## Z

**Zhang, J., Meng, Z., Zhang, M., Ma, D., Xu, S., Kodama, H. (1999).** Effect of six steroidal saponins isolated from *Anemarrhenae rhizoma* on platelet aggregation and hemolysis in human blood. *Clinica Chimica Acta*, 289

**Zhang Q., Li N., Zhou G., Lu X., Xu Z. and Li Z. (2003)** *In vivo* antioxidant activity of polysaccharide fraction from *Porphyra haitanesis* (Rhodophyta) in aging mice. *Pharmacological Research*, 48, 151-155.

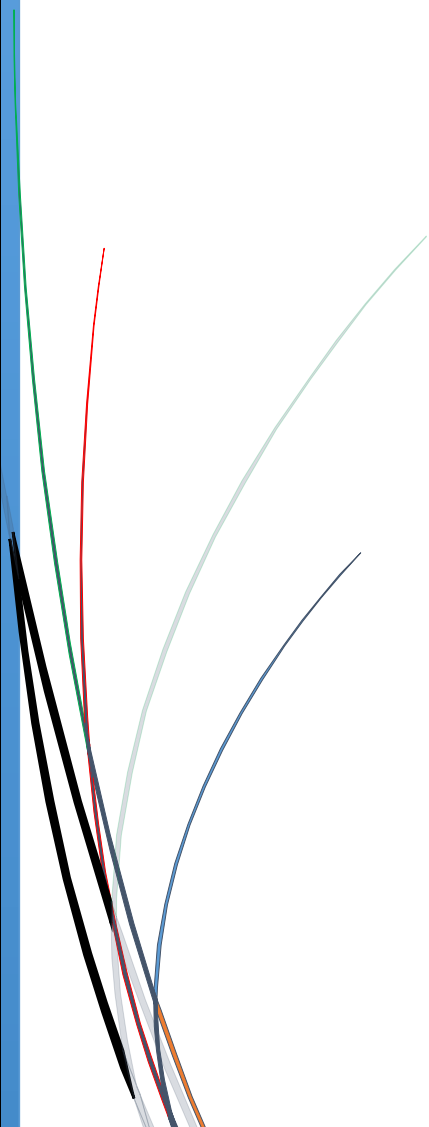
**Zhang H.Y. and Wang L.F. (2004).** Theoretical elucidation of structure-activity relationship for coumarins to scavenge peroxy radical. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 673 (1-3), 199-202.

**Site web 1 :** (<https://fr.wikipedia.org>)

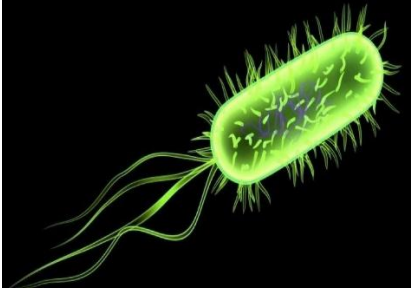
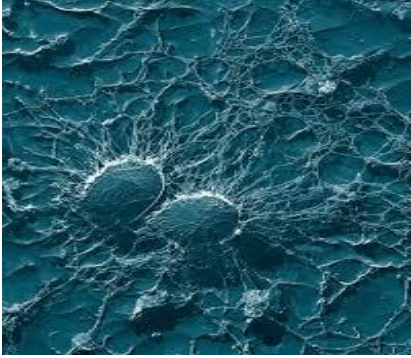
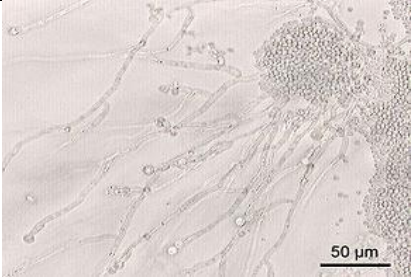
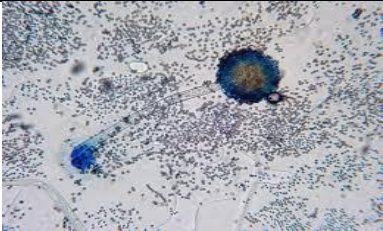
**Site web 2 :** (<http://www.digibib.tu-bs.>).

**Site web 3 :** ([http://www.diabetes.ca/files/GlycemicIndexFrench\\_08\\_FINAL.pdf](http://www.diabetes.ca/files/GlycemicIndexFrench_08_FINAL.pdf))

# Annexes



## Annexe 1 : les souches microbiennes testées

| Bactéries                                                                                                              | Taxonomies                                                                                                                                                             | Caractères généraux                                                                                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p><i>Escherichia coli</i></p>       | Règne : Bacteria<br>Embranchement : Proteobacteria<br>Classe : Gamma Proteobacteria<br>Ordre : Enterobacterales<br>Famille : Enterobacteriaceae<br>Genre : Escherichia | -Bacille<br>-Gram négatif<br>- Mobile<br>-Aérobie<br>-Oxydase positive<br>-Catalase positive<br>-Fermentaire        |
|  <p><i>Staphylococcus aureus</i></p> | Règne : Procaryotae<br>Embranchement : Firmicutes<br>Classe : Bacili<br>Ordre : Bacilliales<br>Famille : Staphylococcaceae<br>Genre : Staphylococcus                   | -Coque en amas<br>-Gram positif<br>-Immuable<br>-Non sporulé<br>-Aérobie<br>-Catalase positive<br>-Oxydase négative |
| Levures                                                                                                                | Taxonomies                                                                                                                                                             | Caractères généraux                                                                                                 |
|  <p><i>Candida albicans</i></p>     | Règne : Fungi<br>Classe : Saccharomycètes<br>Ordre : Saccharomycetales<br>Famille : Saccharomycetaceae<br>Genre : Candida                                              | -Levure diploïde<br>-Non encapsulée<br>-Saprophyte<br>-Flore commensale de muqueuse                                 |
| Moisissure                                                                                                             | Taxonomies                                                                                                                                                             | Caractères généraux                                                                                                 |
|  <p><i>Aspergillus Niger</i></p>    | Règne : Fungi<br>Classe : Aurotiomycetes<br>Ordre : Aurotiales<br>Famille : Trichocomaceae<br>Genre : Aspergillus                                                      | Xérophile<br>-Mésophyte<br>-Hétérotrophe                                                                            |

## **Annexe 02 : Matériel utilisé**

### **Verrerie**

- Béchers
- Boîtes de pétri
- Disques d'antibiogramme
- Entonnoirs
- Eprouvette graduée
- Erlenmeyers
- Fioles
- Mortiers
- Papier filtre
- Pipettes pasteur
- Spatules
- Tubes à essai
- Verre de montre

### **Appareillage**

- Autoclave ( WEBECO)
- Bain –marie (MEMMERT)
- Balance de précision 0, 001 g ( KERN 770)
- Bec bunsen
- Dessiccateur
- Etuve (MEMMERT)
- Four à moufle ( NABERTHERM)
- Haute
- PH- mètre ( INOLAB)

- Plaque chauffante (RYPA)
- Soxlet
- Spectrophotomètre ( EV 9200)
- Viscosimètre (VT (550))



a- pH- mètre



b- Dessiccateur



c- Balance de précision



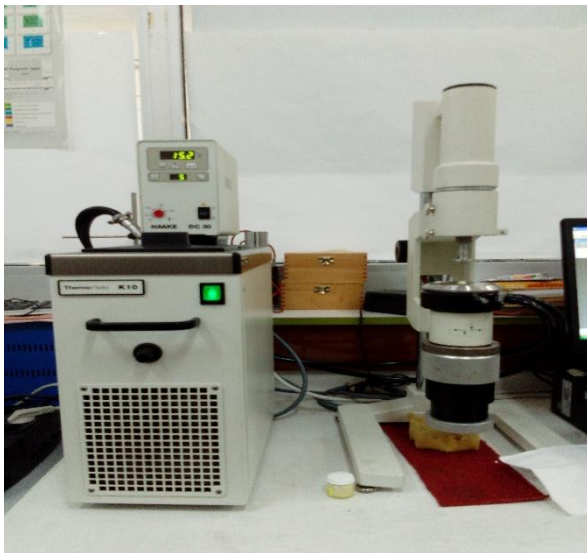
d- Four à moufle



e- Hotte



f- plaque chauffante



G- Viscosimètre

### **Annexe 03 : Détermination de l'acidité (AFNOR NF T60-204, 1988)**

#### **❖ Mode opératoire**

- Dissoudre une prise d'essai (10g) dans 50 ml d'éthanol ;
- Ajouter quelques gouttes de la solution de Phénolphthaléine ;
- Titrer en agitant avec la solution d'hydroxyde de potassium jusqu'à l'apparition de la couleur rose persistante pendant 10 secondes ;
- Déterminer le volume (V) de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisé.

### **Annexe 04 : Détermination de l'indice de peroxyde (Afnor NF T60-220, 1988)**

#### **❖ Mode opératoire**

- Peser 2g de la pommade dans un erlenmeyer ;
- Ajouter 100 ml de chloroforme ; puis 15ml d'acide acétique ;
- Additionner 1ml d'iodure de potassium (KI) ;
- Boucher aussitôt l'erlenmeyer ;
- Agiter le mélange pendant 1mn, le laisser à l'abri de la lumière pendant 5mn ;
- Ajouter 75 ml d'eau distillée et quelques gouttes d'empois d'amidon à 1% .La coloration bleu noirâtre apparait ;
- Titrer l'iode libéré jusqu'à la décoloration complète avec la solution de thiosulfate de sodium 0,01N en agitant vigoureusement en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré ;
- Effectuer de la même façon un essai à blanc.

### **Annexe 05 : détermination de la viscosité**

#### **❖ Mode opératoire**

- Mettre une quantité de la pommade dans la cuve de viscosimètre ;
- Vérifier l'absence des bulles d'air à l'intérieur de viscosimètre ;
- Chronométrer le temps nécessaire pour que la bille traverse les deux traits indiqués sur le viscosimètre.

## Résumé

*Tamus communis* L une plante médicinale communément utilisée en Algérie pour le traitement des maladies dermiques. La présente étude s'articule autour de la connaissance des activités biologiques et de la composition phytochimique des racines de tamier. L'étape de screening phytochimique a été complétée par le dosage des polyphénols et des flavonoïdes. Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique des racines de cette plante est plus riche en polyphénols en comparaison avec les flavonoïdes avec des teneurs  $17,95 \pm 4,617$  (mg EAG/g MS,  $3,88 \pm 2,168$  (mg EQ/g MS) respectivement. La matière grasse de racines de tamier est constituée de plusieurs acides gras insaturés à savoir l'acide linoléique, l'acide oléique et l'acide linoléique qui sont présents à des fortes teneurs (37,36%, 16,60%, 13,33%) respectivement. L'application de la poudre des racines du tamier dans des pommades antibactériennes a conduit à l'obtention d'une formulation jugée de bonnes qualités physicochimiques et rhéologiques. La pommade choisie peut être considérée comme un fluide plastique de type « fluide newtonien pseudoplastique ».

**Mots clés :** Formulation, racines, *Tamus communis* L, polyphénols, pommade.

## Abstract

*Tamus communis* L a medicinal herb commonly used in Algeria for the treatment of dermic diseases. The present study is articulated around the knowledge of the biological activities and the phytochemical composition of the roots of tamier. The phytochemical stage of screening is supplemented by the proportioning of polyphenols and flavonoids. The results showed that the extract was rich in polyphenols in comparison with the flavonoids with  $17.95 \pm 4.617$  (Mg EAG / g ms,  $3.88 \pm 2.168$  (Mg EQ / g ms) respectively. The fat of roots of tamir consists of several unsaturated fatty-acids to the acidic acid, which is present at strong contents (37.36%, 16.60%, 13.33%) respectively. The ingredient may be considered to be a fluid fluid of type "fluid Newtonian name pseudoplastic".

**Keywords:** Formulation, roots, *Tamus communis* L, polyphenols, puts cream on.