

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions Dieu de nous avoir aidé et d'avoir été avec nous
tout au long de notre travail

Nos profonds et sincères remerciement vont en premier lieu à notre promotrice
Madame AYATI Fadila, de nous avoir guidées tout au long de ce travail, pour sa
compétence, sa gentillesse, sa disponibilité malgré tous les inconvénients dues
au Covid-19 et ses conseils précieux qui ont permis d'accomplir à bon terme
cette étude. Merci Madame pour votre optimisme, votre confiance et encore
pour vos critiques judicieuses. Veuillez trouver ici l'expression de notre
respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités
scientifiques et humaines

A notre Co-promotrice Madame BAAZIZ Bahia, pour son encadrement qui
nous a été très bénéfique pour la réalisation de ce travail.

Nous exprimons également notre gratitude aux membres du jury qui ont bien
voulu et accepté de lire notre travail et d'y apporter leurs remarques et critiques
à l'occasion de la soutenance. Nous spécifions Monsieur MECHOUET Mourad
Maitre de Conférences A au département de Chimie, à l'UMMTO pour avoir
accepté de présider notre jury de soutenance. Merci à Monsieur GOUBI
Mouloud professeur au département de mathématique, à l'UMMTO d'avoir fait
l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Nous remercions particulièrement Monsieur MARZI, qui nous a procurer le
montage d'hydrodistillation, un grand merci pour votre aide et votre présence.
Et Madame AMROUNE Pharmacienne galénique pour ses conseils si précieux.

Une profonde reconnaissance à Madame IDRIS Imane Maitre de conférence
classe B au département de chimie, à l'UMMTO pour son soutien, sa présence
et ses conseils, merci infiniment.

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :
À mon support dans ma vie, qui m'a appris m'a supporté et ma dirigé
Vers la gloire Mohammed mon père.*

*À celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour
Incessible, à la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ces
Prières Saliha ma mère.*

*À mon cher et unique frère que j'aime tellement Farid que dieu te
protège et merci d'être, un frère exemplaire et aussi un confident.
A mon Mari Nacim qui m'a toujours soutenu par sa présence et son
Amour incessant.*

*A mes Grands Parents et toute ma famille et particulièrement mes
tantes Naima et Aldjia qui ont toujours cru en moi ainsi que ma belle-
famille.*

*A ma binôme ZIANI Lyliã, a vrai dire plus qu'un binôme mais plutôt
une amie et une sœur pour moi, merci d'avoir partagé ce modeste travail
avec moi, et d'avoir supporté mes humeurs, je te souhaite une grande
réussite dans ta vie que Dieu illumine ton chemin.*

*A mes Amis et aux personnes qui ont contribuer de près ou de loin :
OUBBICHE Nassima, BENDJAFER Hala, ZEGGANE Narimene,
CHERIFI Louisa, AIT SELLAMET Kahina, SACI Safia, AOUES
Yacine, LAFIA Nachida.*

Pour finir à Pounky .

Manel



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chères :

A mes chères parents honorables, aimables source de tendresse et d'amour Hocine et Zahia pour tous leurs sacrifices, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études que dieu les gardes et les entoure de sa bénédiction.

A mes chères sœurs pour leur soutien et leurs encouragements : Kahina, Djahida, Katia et sa petite famille (son mari Nabil et sa fille Maria) et Soumia.

A mon grand-père ainsi que mes chers oncles Brahim et Mohamed et leurs familles et ma chère tante Hassiba et sa famille.

A mon binôme et ma sœur Berkache Manel avec laquelle j'ai partagé des bons moments durant ce travail, je te souhaite tout le bonheur et la réussite dans ta vie.

A tous mes amis que j'aime, qui n'ont cessé, a aucun moment de me soutenir et m'encourager.

Lylia

Liste des figures

Figure 1.1 : Images de <i>Tuberaria lignosa</i> de la région d'Azazga (Agouni Guizem).....	03
Figure 1.2 : Carte géographique de la répartition continentale du genre <i>Tuberaria</i> (CJB)...	03
Figure 1.3 : Structure d'unité de base des polyphénols.....	05
Figure 1.4 : Structures chimiques de quelques phénols simples.....	05
Figure 1.5 : Structure de base des flavonoïdes.....	06
Figure 1.6 : Différentes classes de flavonoïdes.....	07
Figure 1.7 : Structure de base des coumarines.....	07
Figure 1.8 : Structure générale des lignanes.....	08
Figure 1.9 : Structure de base des Stilbènes.....	08
Figure 1.10 : Quelques exemples d'alcaloïdes.....	08
Figure 1.11 : Projection des individus dans le plan principal.....	16
Figure 1.12 : Cercle des corrélations dans le plan principal (PC1-PC2).....	17
Figure 2.1 : Photo de la partie aérienne du <i>Tuberaria Lignosa</i>	29
Figure 2.2 : Montage à extraction par hydrodistillation.....	20
Figure 2.3 : Milieux de cultures utilisés.....	24
Figure 2.4 : Méthode d'ensemencement.....	25
Figure 2.5 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant.....	26
Figure 3.1 : Teneur en eau et en matière sèche (MS) de plante utilisée.....	28
Figure 3.2 : Distillat obtenu par hydrodistillation	29
Figure 3.3 : Décocté obtenue	29
Figure 3.4 : Incubation en étuve	30
Figure 3.5 : Incubation avec bougie	30
Figure 3.6 : 1 ^{ère} lecture après 24h	30

Figure 3.7 : 2 ^{ème} lecture après 72h	31
Figure 3.8 : Compte rendu de l'analyse cyto bactériologique	32
Figure 3.9 : Projection des variables dans l'espace des axes F1-F2.....	37
Figure 3.10 : Projection des variables dans l'espace des axes F1-F2.....	41

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Classification botanique du <i>Tuberaria lignosa</i>	03
Tableau 1.2 : Localisation de l'espèce <i>Tuberaria</i> en Algérie.....	05
Tableau 2.1 : Produits chimiques utilisés.....	20
Tableau 2.2 : Matériel de laboratoire utilisé durant le travail.....	21
Tableau 3.1 : Facteurs influençant le rendement d'extraction.....	36
Tableau 3.2 : ACP Variables/individus (rendement).....	38
Tableau 3.3 : Corrélations entre variables et Facteurs F1/F2.....	39
Tableau 3.4 : Facteurs influençant le potentiel antioxydant.....	41
Tableau 3.5 : ACP Variables/Individus (potentiel antioxydant).....	43
Tableau 3.6 : Corrélations entre Variable et Facteurs F1-F2.....	44

Liste des abréviations et symboles

ACM : Analyse des Correspondances Multiples.

ACP : Analyse en composantes principales.

AFC : Analyse Factorielle des Correspondances.

Amb : Séchage à l'ombre.

BCP : BromoCrésol Pourpre.

Broy : Forme broyé.

CLED : Cystine Lactose Electrolyte.

CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

DPPH : 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl.

EtOH : Ethanol.

Flav : Flavonoïde.

Fraic : Fraiche.

H.Es : Huiles essentielles.

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance.

iC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane.

M_d : Méthode décoction.

M_i : Méthode infusion.

M_m : Méthode macération.

M_p : Méthode percolation.

MS : Matière Sèche.

PC1 : 1^{ère} composante principale portée par le 1^{er} axe principal appelé axe 1.

PC2 : 2^{ème} composante principale portée par le 2^{ème} axe principal appelé axe 2.

P_f : Partie feuille de la plante.

P_n : Partie fleurs de la plante.

Poly : Polyphénol.

Sommaire

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1. Etude botanique	3
1.1. Tuberaria Lignosa	3
1.2. Classification	3
1.3. Description botanique de l'espèce Tuberaria lignosa	4
1.4. Localisation géographique	4
1.5. Utilisation	5
2. Composition chimique	5
2.1. Composition phénolique	6
2.1.1. Généralité sur les polyphénols	6
2.1.2. Principales substances actives	6
2.1.3. Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	10
2.2. Huile essentielle	10
2.2.1. Définition	10
2.2.2. Composition chimique des H. Es	11
2.2.3. Méthodes d'extraction des H. Es	11
2.2.3.1. Méthodes conventionnelles	11
2.2.3.2. Méthodes innovantes d'extraction	11
2.3. Méthodes d'analyse des H. Es	12
2.3.1. Indices physiques	12
2.3.2. Indices chimiques	12
2.3.3. Analyses chromatographiques	12
2.4. Conservation et condition de stockage	12
2.5. Toxicité d'une huile essentielle	13
3. Activité biologique	13
3.1. Activité antibactérienne	13
3.2. Activité antioxydante	13

4. Méthodologie des Plans d'expériences	14
4.1. Définition	14
4.2. Objectif	14
4.3. Théorie sur l'analyse de données	14
4.4. Statistique descriptive multidimensionnelle	14
4.5. Analyse en composante principale A.C.P	15
4.5.1. Présentation générale sur l'ACP	15
4.5.2. Objectif de l'ACP	16
4.5.3. Principe de l'ACP	16
4.5.4. Démarche d'une analyse factorielle	16

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Matériel.....	20
1.1. Matériel chimique (Réactifs et solvants)	20
1.2. Matériel de laboratoire	20
1.3. Matériel végétale	21
2. Méthodes	22
2.1. Evaluation du taux d'humidité	22
2.2. Etude phytochimique	22
2.2.1. Préparation de la solution à analyser	22
2.3. Isolation des polyphénols	24
2.3.1. Isolation des tanins.....	24
2.3.2. Isolation des flavonoïdes	24
2.3.3. Evaluation du rendement des métabolites secondaires.....	25
2.4. Méthodes d'extraction de substances naturelles	25
2.4.1. Evaluation du rendement d'extraction	26
2.5. Etude biologique	26
2.5.1. Activité bactériologique	26
2.5.1.1. Méthodes de dénombrement des germes	26
2.5.1.2. Ensemencement	27
2.5.2. Evaluation du pouvoir antioxydant	28
2.6. Formulation	29
2.6.1. Composition et préparation de la formulation.....	29

2.6.2. Contrôle qualité de la formulation pharmaceutique.....	30
---	----

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Taux d'humidité	31
2. Rendement d'extraction de l'huile essentielle	31
3. Rendement des métabolites secondaires	32
4. Résultats de l'examen cytobactériologique.....	33
5. Aperçu statistique des études antérieures	36
5.1. Evaluation des facteurs influençant le rendement d'extraction	36
5.2. Evaluation des facteurs influençant le potentiel antioxydant	41
5.3. Discussion des résultats	45
Conclusion	47
Références bibliographiques	48
Annexes	55

Introduction

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes permettent à l'homme non seulement de se nourrir, se vêtir, se loger, se chauffer, se parfumer ... mais aussi de maintenir son équilibre, soulager ses souffrances, préserver et soigner les maladies qui nuisent à sa santé, sans avoir la moindre connaissance scientifique, ni sommaire expliquant leurs vertus.

Selon l'OMS, 80% de la population mondiale utilise les plantes médicinales pour se soigner. La valeur médicinale des plantes est de plus en plus démontrée scientifiquement, ce qui constitue un argument de taille pour leur utilisation en médecine (**Segnou et al., 1992 ; Aighewi et al., 1998**). De nombreux agents pharmaceutiques ont été découverts en criblant des produits naturels à partir de plantes (**Saslis-Lagoudakis et al., 2012**).

Les Cistaceae sont une famille de plantes médicinales qui se répartit sur les zones tempérées de l'hémisphère nord et spécialement le Tell et le littorale, les plantes de cette famille s'acclimatent facilement et constituent une ressource végétale qui n'a cessé, depuis des siècles d'être utilisées par les populations autochtones.

Tuberaria lignosa, plante médicinale objet de notre étude, espèce méditerranéenne appartenant à la famille des Cistaceae est récoltée dans la région kabyle d'Azazga (Tizi-Ouzou). Elle est utilisée traditionnellement pour traiter les troubles gastro-intestinaux, plaies, infections pouvant être d'origine virale.

A l'origine, notre travail visait à faire un examen phytochimique de la plante permettant de déterminer sa composition qualitative, procéder à l'extraction, l'identification, l'étude de la bio activité (pouvoir antioxydant et effet antibactérien) des extraits de la plante et enfin, finir avec la réalisation d'une formulation pharmaceutique adéquate à base des extraits.

Au vue de la situation sanitaires que nous vivons, l'étude expérimentale prévue ne pouvait pas être effectuée dans sa globalité, une partie de cette étude a donc était remplacée par une approche mathématique. La démarche consiste, dans un premier lieu, à faire un screening de l'essentiel des résultats expérimentaux des travaux antérieurs effectués sur la plante ou à défaut sur les plantes appartenant à la même famille puis à appliquer à ces résultats une méthode d'analyse de données multidimensionnelles ou plus particulièrement une analyse factorielle. Il s'agit d'une approche géométrique et statistique par Analyse des Composantes Principales l'ACP. Elle permet de résumer, sous forme de représentations graphiques utilisant des projections, de grands tableaux de données. Les données d'intérêt

dans ce mémoire, sont le rendement d'extraction et l'effet antioxydant de la plante. L'outil informatique utilisé dans ce travail, pour rendre accessibles la méthodologie de l'ACP est le logiciel STATISTICA 2010.

Ce mémoire est réparti en 3 chapitres :

Le premier est consacré à la synthèse bibliographique sur la plante *Tuberaria lignosa*, ses vertus, ses métabolites secondaires, ainsi que les méthodes d'extractions et d'analyse de ces derniers.

Dans le deuxième chapitre, nous présentons le matériel et les méthodes utilisés et à utiliser pour réaliser les manipulations dans leur globalité.

Le troisième chapitre traite l'analyse statistique avec l'utilisation de l'ACP appliquée sur les résultats des études antérieures.

Le mémoire se conclut en présentant les principales perspectives envisagées pour la réalisation et la poursuite de cette thématique.

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

1. Etude botanique de la plante étudiée

1.1. *Tuberaria lignosa*

Tuberaria lignosa est une plante médicinale, descendant du genre *Tuberaria* qui porte 12 espèces de plantes annuelles ou vivaces en Algérie (Quezel et al., 1963), et qui appartient à la famille des cistaceae (Bedoya et al., 2009).

Les Cistaceae sont une famille de plantes dicotylédones, indigènes méditerranéennes, contient plus de 200 espèces d'arbustes (Andrade et al., 2009), regroupées en 8 genres : *Cistus*, *Crocanthemum*, *Fumana*, *Halimium*, *Helianthemum*, *Hudsonia*, *Lechea* et *Tuberaria* (Maarten et al., 2016 ; Bedoya et al., 2009 ; Guzmán et al., 2009 ; Arrington et al., 2003 ; Dansereau., 1939 ; Janchen., 1925). Les plantes de cette famille s'acclimatent facilement aux feux sauvages qui détruisent les forêts grâce à la résistance de ses graines qui se reproduisent lors de nouvelle saison (Ferrandis et al., 1999).

1.2. Classification

Selon les règles de classification de l'Angiosperm Phylogeny Group (James et al., 2011 ; Birgitta et al., 2009) la *Tuberaria lignosa* est classée comme suit (tableau 1.1) :

Tableau 1.1 : Classification botanique du *Tuberaria lignosa*.

Règne	Plantae
Sous-Règne	Viridiaeplantae
Embranchement	Angiosperme, Trachéophytes, Spermatophytes
Classe	Eudicots/ Eudicotylédones
Sous-Classe	Magnoliidae (Novák ex Takht., 1967)
Ordre	Malvales (Juss. Ex Bercht. & J. Presl, 1820)
Famille	Cistaceae (Juss., 1789)
Genre	<i>Tuberaria</i>
Espèce	<i>T. lignosa</i>

1.3. Description botanique de l'espèce *Tuberaria lignosa*

La *Tuberaria lignosa* est une plante herbacée vivace, elle atteint une hauteur de 20 à 30 cm (**Florealpes**), caractérisée par un calice à cinq sépales persistants dont les deux extérieurs (épicalice) sont souvent plus petits que les intérieurs et sans nervures proéminentes. Les feuilles sont en rosette, à la base de la plante, basiliaires, non stipulées et généralement trinerviées ou quintupli-nerviées et l'anatomie montre des poils tecteurs de types variés. Les fleurs jaunes sont de nombre de 5, organisées en florences détendues et déterminées (Fig. 1.1). L'ovaire possède 3 loges incomplètes redressées, court ou presque nul (**Castroviejo et al., 2010 ; Arrington et al., 2003 ; Quezel et al., 1963**). La période de floraison est de mars à juin (**Florealpes**).



Figure 1.1: Images de *Tuberaria lignosa* de la région d'Azazga (Agouni Guizem)

1.4. Localisation géographique

La *Tuberaria lignosa* est une espèce vivace se trouvant principalement dans les sites secs et caillouteux de la Méditerranée occidentale (**Castroviejo, 2010**), (Fig. 1.2).

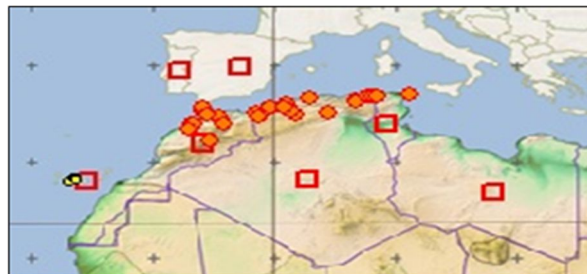


Figure 1.2 : Carte géographique de la répartition continentale du genre *Tuberaria* (**CJB**)

Les différentes régions où est localisée l'espèce *Tuberaria* en Algérie sont résumés dans le (tableau 1.2) :

Tableau 1.2 : Localisation de l'espèce *Tuberaria* en Algérie

Régions	Références
Oran, Tlemcen	(Benmezroua. H, 2015)
Constantine (Djebel Ouahch)	(Benoudina. F, Harieche. M, 2018)
Bejaia (Djebel Guerrouch)	(Mm. J. A. Battandier & L. Trabut, 2014)
Tizi-Ouzou (Azazga, Tigzight « Mizghana »)	Zone de récolte de la présente étude

1.5. Utilisation

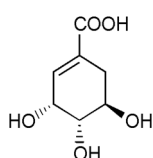
Différentes parties des plantes *T. lignosa* sont utilisées traditionnellement pour traiter diverses maladies et affections, telles que troubles gastro-intestinaux, plaies, infections de la peau et verrues pouvant être liées à l'origine virale (**Bedoya et al., 2009**). De plus, *Tuberaria lignosa* est utilisée dans le but de soigner les animaux dans le traitement des blessures et entorses chez les chevaux et autres bétails. Dans le domaine écologique, Dafri et Beddiar ont prouvé que les truffes du désert forment des associations ectomycorhizienne avec le genre *Tuberaria*.

2. Composition chimique

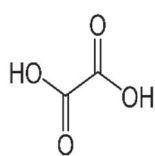
Le *Tuberaria Lignosa* est une plante riche en métabolites secondaires qui offrent leurs vertus médicinales, parmi ces métabolites on trouve des constituants volatiles comme, l'huile essentielle et des constituants non volatiles, tel que les flavonoïdes et autres composés phénoliques.

Les études phytochimiques de la plante *T. lignosa* (**Pinela et al., 2015 ; 2012**) ont conduit à l'isolement et à la caractérisation de 18 composés phénoliques : Punicalin, Punicalagine (isomère 1 et 2), Monogalloylglucose, Acide 5- O-p Coumaroylquinique, Apigénine-6- C-glucoside (Isovitexine), Apigénine-8- C-glucoside (Vitexine) etc.

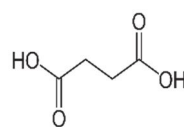
Des résultats plus récents de **Pinela et al (2017)** issus d'une étude effectuée sur la même espèce et qui avait pour objectif de quantifier les acides organiques et les composés phénoliques ont noté la présence des acides organiques suivants :



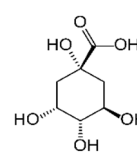
Acide shikimique



Acide oxalique



Acide succinique



Acide quinique

2.1. Composés phénoliques

2.1.1. Généralité sur les polyphénols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux pour se défendre contre les agressions environnementales. Il s'agit des dérivés non azotés connus par une grande variété structurale dont environ 8000 composés ont été identifiés (GHINIM, W., 2015). Ils sont caractérisés par la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lié au moins à un groupement hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneton, 2015 ; Šaponjac et al., 2016). Ils interviennent dans la qualité alimentaire des fruits en déterminant l'odeur, la couleur et le goût (Dubois et al., 1977). La structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux sont les caractères dominants de la classification des polyphénols dont les principaux groupes sont (Ross., 2014) :

- Phénols simples.
- Acides phénoliques.
- Flavonoïdes.
- Coumarine.
- Tanins.
- Lignanes.
- Stilbènes.

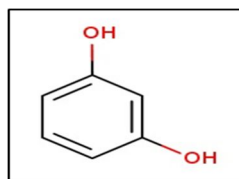


Figure 1.3 : Structure d'unité de base des polyphénols.

2.1.2. Principales substances actives

❖ Phénols simples

Les phénols simples comme le catéchol, le guaïacol et autre phloroglucinol, présentés sur la (Fig. 1.4) forment une série de composés possédant un ou plusieurs groupements hydroxyles liés à un noyau aromatique (J. Bruneton (1993)).

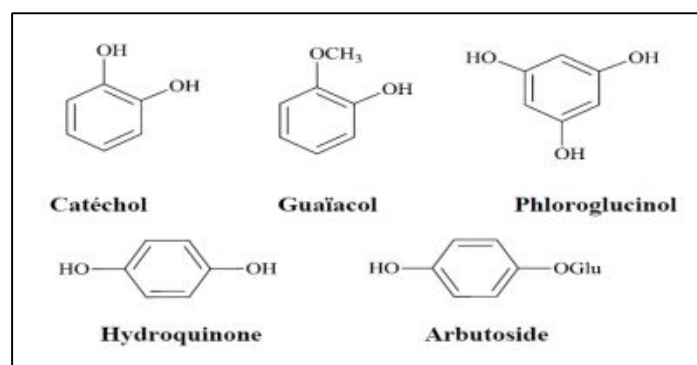


Figure 1.4 : Structures chimiques de quelques phénols simples

❖ Acides phénoliques

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïques et cinnamiques.

✓ *Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque*

Les acides phénoliques en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside (**Laraoui, H., 2016**). Ces composés sont issus de la dégradation de la chaîne latérale des composés cinnamiques.

✓ *Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique*

Les acides hydroxycinnamiques sont principalement composés des acides *p*-coumarique, caféique, férulique et sinapique. On les trouve à l'état libre ou combiné (esters, amide, glucosides). Ils acylent fréquemment les divers métabolites (**Laraoui, H., 2016**).

❖ Flavonoïdes

Les flavonoïdes (Fig. 1.5) sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Il existe près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes (**Stöckigt et al., 2002**) qui présentent environ 50% des polyphénols. Définis comme étant des pigments rencontrés dans la plupart des végétaux. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils interviennent aussi dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes (**Bruneton, 2015**). Ces composés ont une structure de base formé de 2 noyaux benzéniques A et B reliés par un noyau qui est un hétérocycle pyranique (**Lobstein, 2010**).

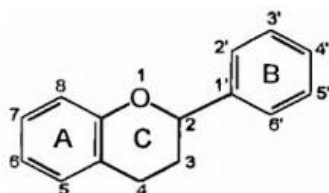


Figure 1.5 : Structure de base des flavonoïdes.

Plusieurs classes de flavonoïdes (Fig. 1.6) apparaissent en fonction du degré d'oxydation du noyau pyranique central lors de la biosynthèse des flavonoïdes (**Lobstein, 2010**).

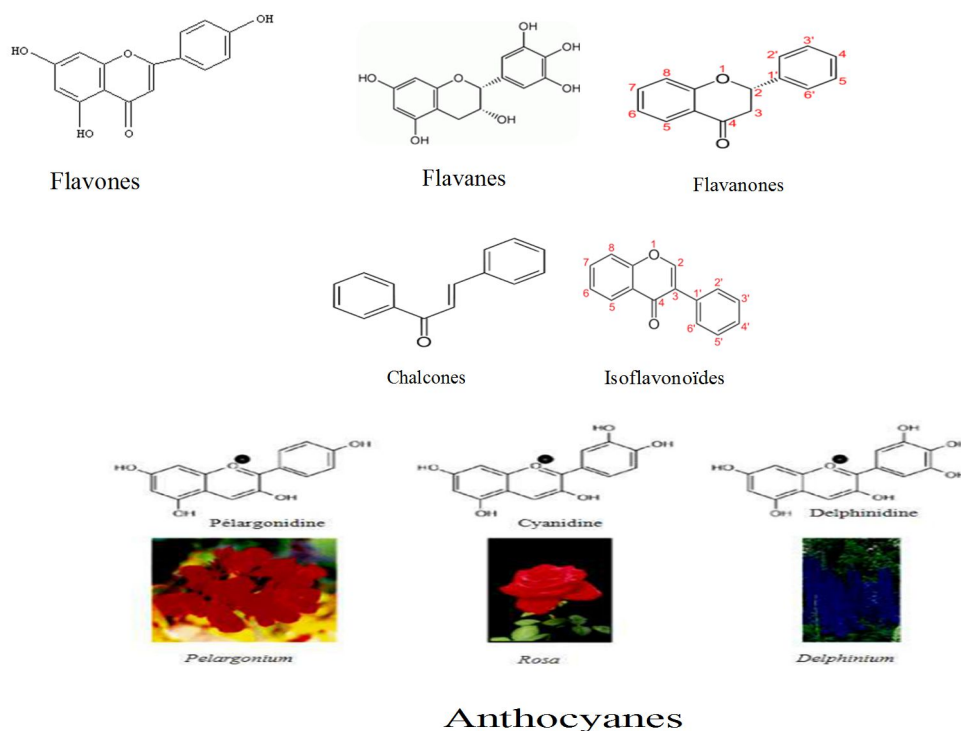


Figure 1.6 : Différentes classes de flavonoïdes

❖ Coumarines

A présent plus de 1000 composés coumariques sont isolés, dont plus de 800 sont isolés à partir des plantes et des micro-organismes (Sakagami et al.,2005).

Les coumarines sont des composées dérivées de C6-C3, appartiennent au groupe des composés 2H-1-benzopyran-2-ones qui sont initialement considérés comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-Z-cinnamiques-pyrone, sont généralement substituer en C7 par un hydroxyde (Lobstein, 2010). Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combinées avec des sucres, et ils sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (Cowan., 1999).

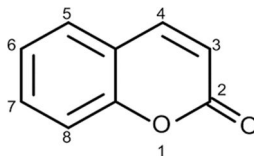


Figure 1.7 : structure de base des coumarines

❖ Tanins

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols, localisés dans les vacuoles (Aguilera-Carbo et al., 2007), utilisés pour tanner les peaux.

Ils possèdent la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Fogliani, 2002**), ainsi qu'une grande capacité de piégeage des radicaux libres et aussi dans l'inactivation des ions pro-oxydants (**Bruneton, 1999**).

Selon leurs structures biochimiques, il existe deux classes de tannins :

- ✓ Tannins hydrolysables : Ce sont des esters de l'acide gallique ou de ses dérivés, associés à un polyol (habituellement le glucose) (**Clifford.,1999**).
- ✓ Tanins condensés : ils ne renferment pas de sucres dans leurs molécules, et sont de masse molaire élevée, constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (**Bruneton., 1999**).

❖ Lignanes

Ce sont des composés de large distribution botanique, dont environ 70 familles ont été isolés. Ils sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool *p*-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique (**Axelsson et al., 1982**).

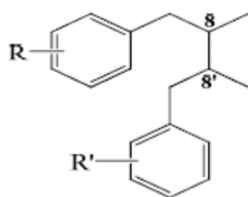


Figure 1.8 : Structure générale des lignanes.

❖ Stilbènes

Les Stilbènes sont des composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux (**Crozier et al., 2006**).

Elles possèdent la structure de deux noyaux aromatiques liés par un groupe éthylénique (C6-C2-C6), avec deux configurations Cis et Trans (**Lobstein, 2010**).

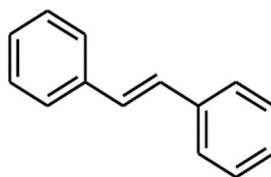


Figure 1.9 : Structure de base des Stilbènes.

❖ Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés, basiques qui se précipitent avec des réactifs iodométriques tels que les réactifs de Mayer et Wagner. Ils peuvent être présents dans tous les organes de la plante (Sahraoui ; 2011). Les alcaloïdes jouent un rôle écologique de défense contre les herbivores, et possèdent une puissante action pharmacologique.

Ils constituent un des groupes de métabolites secondaires contenant plus de 10000 à 12000 structures (Stöckigt, J., et al., 2002).

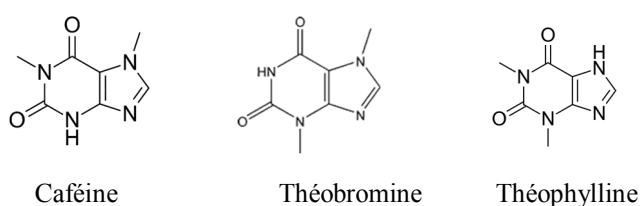


Figure 1.10 : Quelques exemples d'alcaloïdes

2.1.3. Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance utilise une phase stationnaire très fine. Les particules solides ont un diamètre pouvant atteindre jusqu'à 5 μm . Le garnissage est tassé dans une colonne fermée. La phase mobile liquide circule sous l'effet d'une haute pression. L'injection de l'échantillon à analyser est pratiquée en introduisant un faible volume de produit (quelques microlitres) dans l'éluant sous pression. Après leur séparation, les différents constituants de l'échantillon sont détectés en sortie de colonne. Un ordinateur assure l'acquisition et le traitement des données (Audigie et al., 1995 ; Bencheikh, 2005). Cette technique est peu intéressante pour les fractions volatiles, toutefois elle est efficace pour étudier les constituants non volatils ou pour opérer des préfractionnements, on peut la coupler également à un analyseur de masse (Bruneton, 1999).

2.2 Huile essentielle

2.2.1. Définition

Selon la pharmacopée européenne (01-2008 : 2008) l'huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière végétale botaniquement, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche ou par un procédé mécanique sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparé par la

phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.

2.2.2. Composition chimique des H. Es.

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phenylpropane (Dorosso Sonate J. 2002).

2.2.3. Méthodes d'extraction des H. Es

La méthode d'extraction dépend exclusivement de l'utilisation ultérieure de l'huile essentielle, la pharmacopée européenne préconise les procédés suivants :

2.2.3.1. Méthodes conventionnelles d'extraction

➤ Hydrodistillation

C'est une technique simple et plus courante (la méthode de Moritz) basée sur la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau puis l'ensemble est porté à ébullition à pression atmosphérique. La vapeur d'eau détruit la structure des cellules végétales et libère les molécules volatiles, les vapeurs formées chargées de l'essence végétale se condensent au niveau d'un serpent à l'aide d'un système de réfrigération par courant d'eau avant d'être récupérées dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Une décantation est effectuée par la suite pour récupérer l'huile essentielle surnageant (BENCHEIKH, S.E., 2017).

➤ Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Sous l'action de la vapeur d'eau formée dans l'extracteur ; l'essence se libère du tissu végétal et est entraînée par la vapeur d'eau pour former un mélange « eau + huile essentielle », le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation (Bruneton.,1993).

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

2.2.3.2. Méthodes innovantes d'extraction

➤ Hydrodistillation assistée par chauffage micro-onde

Ce procédé basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique consiste à placer une partie du montage d'hydrodistillation dans le four à micro-ondes. Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un ballon disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. Le transfert de chaleur sous chauffage micro-ondes est complètement inversé par rapport au chauffage conventionnel puisque le volume traité devient lui-même source de chaleur. Les avantages sont la rapidité de l'extraction et la similitude de la composition de l'huile par rapport à une hydrodistillation classique (**R. Deschepper 2017**).

2.3 Méthodes d'analyse des huiles essentielles

Plusieurs techniques et méthodes permettent d'analyser quantitativement et qualitativement une huile essentielle afin d'identifier et de contrôler sa qualité (**Fernandez, X., 2017**).

2.3.1. Indices physiques : tels que la densité relative, indice de réfraction, angle de rotation optique...

2.3.2. Indices chimiques : comme l'indice d'acide, indice d'esters, indice de peroxyde ...

2.3.3. Analyses chromatographiques : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/MS :

C'est une méthode d'analyse qui combine la séparation et l'identification afin d'identifier et de quantifier précisément de nombreuses substances, elle est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par la spectrométrie de masse. Les spectres de masse obtenus sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles, commerciales (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library), Wiley Registry of Mass Spectral Data (**Lafferty, M.C. et al., 1994**) ... contenant plusieurs milliers de spectres ; ou identifiés au laboratoire.

2.4 Conservation et condition de stockage

Afin de profiter durablement et au mieux des huiles essentielles, il est primordial de bien les conserver à l'abri de la chaleur et de la lumière, dans un endroit plus frais et de préférence dans des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté. Ces conditions de stockage permettent d'éviter les risques de dégradation tels que les coupures

oxydatives de propénylphénols, peroxydation des carbures et décomposition en cétones (Bruneton,1999).

2.5 Toxicité de l'huile essentielle

Bien que les huiles essentielles sont des substances naturelles, cela ne signifie pas qu'elles sont sans danger pour la santé humaine. Il est ainsi important de connaître le produit, de respecter avec précision les doses et de choisir le mode d'administration adéquat pour éviter la survenue d'effets indésirables. L'huiles essentielle peut s'avérer allergisante, photo sensibilisante, cytotoxiques, irritante, néphrotoxiques, hépatotoxiques, neurotoxiques principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques ...) (Degryse, A.C et al, .2008).

L'accumulation des essences dans l'organisme par des prises répétées peut conduire à des nausées, des céphalées, ... L'ingestion de plus de 10 mL d'huile essentielle provoque des effets neurotoxique et épéiptogène par inhibition de l'apport d'oxygène au niveau des tissus encéphaliques (Baudoux, D, .1997).

3. Activité biologique

L'activité biologique est liée à la composition chimique des extraits de la plante ainsi que les groupements fonctionnels des composés majoritaires (Lahlou, M.,2004).

3.1 Activité antibactérienne

Les constituants chimiques de l'huile essentielle ont une propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne (Keita, 2002). L'action des huiles essentielles s'exerce sur un large spectre de bactéries. Dans l'ensemble, le mécanisme d'action antibactérien est favorisé par une série de réactions biochimiques dans la cellule bactérienne, qui dépendent du type et des caractéristiques des constituants chimiques présents dans l'huile essentielle (Nazzaro et al., 2013).

3.2 Activité antioxydante

L'activité antioxydante est capable de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène (Madhavi et al., 1996). Elle est capable aussi de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, empêchant ainsi la destruction des structures biologiques (Kohen et al.,2002). Les antioxydants sont des substances capables de protéger l'organisme contre les effets de stress oxydatif (Beirão et al., 2006). Il existe trois types d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques, les enzymes de réparation, et les

antioxydants non enzymatiques. L'effet antioxydant des huiles essentielles revient à la présence des groupements d'hydroxyle dans leur structure chimique (**Hussain, A.,2009**).

4. Méthodologie des Plans d'expériences

4.1. Définition

Les plans d'expériences constituent essentiellement une stratégie de planification d'expériences afin d'obtenir des conclusions solides et adéquates de manière efficace et économique, elles permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles et d'obtenir le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences (**Jacques GOUPY., 2006**).

La méthodologie des plans d'expériences se base sur le fait qu'une expérience convenablement organisé, conduira fréquemment à analyse et à une interprétation statistique relativement simple des résultats. (**Norme ISO 3534-3**).

4.2 Objectif

- Déterminer des valeurs optimales de réglage de différents paramètres pour obtenir une valeur souhaitée sur un produit.
- Réduire le nombre d'essais à ce qui est strictement nécessaire pour minimiser les dépenses.
- Identifier les facteurs les plus influents, les interactions éventuelles entre les facteurs, et le nombre de points de mesures minimum pour obtenir le maximum d'informations.

4.3. Théorie sur l'analyse de données

Aujourd'hui, l'analyse de données est couramment utilisée dans bon nombre d'activités ou de professions : économistes, médecins, politiciens, chefs d'entreprises, ingénieurs et bien des bases de disciplines comme : la physique, la chimie, la géologie, l'économie, la sociologie, la psychologie (**KARAM, S., 2004**), la biométrie, les sciences médicales. Toutes utilisent des « fais numériques » qu'on appelle **données**. Mais ces techniques ne sont pas encore très répandues dans le domaine de l'électronique et notamment dans toutes les disciplines relevant de la technologie comme les techniques d'élaboration des dépôts où pourtant elles semblent être un outil pertinent. Dans le chapitre 2 de ce mémoire, l'analyse des données a été d'une grande utilité, dans l'interprétation de résultats et dans la prédiction d'expériences.

4.4. Statistique descriptive multidimensionnelle

On désigne par statistique descriptive multidimensionnelle l'ensemble des méthodes de la statistique descriptive (ou exploratoire) permettant de traiter simultanément un nombre quelconque de variables de même nature : toutes quantitatives (Analyse en Composantes Principales) ou toutes qualitatives (Analyse des Correspondances). Ces méthodes sont purement descriptives c'est-à-dire qu'elles ne supposent, a priori, aucun modèle sous-jacent, de type probabiliste. Les méthodes les plus classiques de la statistique descriptive multidimensionnelle sont les méthodes factorielles. Elles consistent à rechercher des facteurs en nombre restreint et résumant le mieux possible les données considérées. Elles aboutissent à des représentations graphiques des données (comme des variables) par rapport à ces facteurs, représentés comme des axes. Ces représentations graphiques sont du type nuage de points ou diagramme de dispersion, et doivent se faire en dimension réduite : le nuage initial, situé dans un espace de dimension p , sera réduit ou projeté en dimension q . Le nombre q de facteurs retenus sera compris entre 1 et p ; le plus souvent, 2 ou 3 (BAAZIZ, B., 2017).

Plusieurs méthodes sont développées à savoir : Analyse en Composantes Principale (ACP), Analyse Factorielle des Correspondances (AFC), Analyse des Correspondances Multiples (ACM), Analyse Factorielle Discriminante et Analyse Canonique (méthodes factorielles plus particulières), ainsi que les méthodes non factorielles (principalement la classification) (BACCINI A. 2010).

4.5. Analyse en composante principale A.C.P

4.5.1. Présentation générale sur l'ACP

L'Analyse en Composante Principale (ACP) est une méthode d'analyse de données multidimensionnelles et plus particulièrement une analyse factorielle. Elle est née d'un besoin qui s'impose comme une évidence dans le domaine scientifique où, aujourd'hui on est appelé à manipuler de grands ensembles de données. Le propre de l'ACP est de raisonner sur un nombre quelconque de variables : dans toute problématique ayant des résultats où interviennent de très nombreuses variables, il est intéressant de pouvoir les traiter ensemble et non plus seulement deux à deux, (J. DE LAGARDE., 1995). Ce type d'analyse représente, la meilleure introduction aux méthodes offertes par la statistique exploratoire des données multidimensionnelles. Il a fallu attendre la démocratisation des outils informatiques (à partir des années 60) et la diffusion de logiciels spécialisés pour rendre accessibles, à un large

public, différentes méthodologies comme l'ACP permettant de résumer, souvent sous forme de représentations graphiques utilisant des projections, de grands tableaux de données.

4.5.2. Objectif de l'ACP

L'analyse en composantes principales (ACP) est la méthode de classification la plus courante, elle fait partie du groupe des méthodes descriptives multidimensionnelles appelée méthodes factorielles. L'ACP propose à partir d'un tableau rectangulaire de données comportant les valeurs de p variables quantitatives pour n unités (appelées aussi individus), des représentations géométriques de ces unités et de ces variables permet ainsi d'établir des liaisons entre ces variables.

4.5.3. Principe de l'ACP

- Le principe général de l'ACP est de réduire la dimension des données initiales (qui est p si l'on considère p variables quantitatives), en remplaçant les p variables initiales par q facteurs appropriés ($q < p$).
- Une rotation des axes dans l'espace des facteurs est effectuée afin que le premier axe soit dans le sens du plus grand allongement du nuage de point, le deuxième axe soit dans le sens du second plus grand allongement du nuage de point etc. Cette rotation revient à chercher de nouveaux axes appelés composantes principales qui sont des combinaisons linéaires des variables de départ.
- Les composantes principales qui apportent peu d'informations sur la forme sont éliminées
- La quantité d'information conservée (perdue) est quantifiée et est appelée **l'inertie**.

L'ACP est une technique qui permet de calculer les coefficients de corrélation linéaire entre chaque variable initiale et chaque facteur retenu (calcul des corrélations variables-facteurs) (BAAZIZ, B., 2017).

4.5.4. Démarche d'une analyse factorielle

➤ Construction des axes principaux

Les droites et les plans issus d'une ACP ne sont pas réalisées avec les variables initiales mais avec des « indices synthétiques » obtenus à partir de « combinaison linéaires » des variables initiales. Parmi tous les indices possibles l'ACP recherche d'abord celui qui permet de voir au mieux les individus c'est-à-dire celui pour lequel la variance des individus est maximale : cet indice est appelé 1^{ère} composante principale portée par le 1^{er} axe principal appelé axe 1 ou PC1. Une certaine proportion de la variation totale des individus est expliquée par cette

composante principale. Ensuite une deuxième composante principale est recherchée, et ceci sous trois conditions :

- **$R(\text{PC1}, \text{PC2}) = 0$** (R est le coefficient de corrélation) ; En effet, le but de l'ACP étant de former un nouveau repère orthonormé, la condition nécessaire est donc la perpendicularité des axes 1 et 2.
- **La variance (PC2) doit être, à son tour, la plus grande possible.** Ainsi, cette deuxième composante principale fournit la plus grande information possible complémentaire à la première. Le processus se déroule jusqu'à l'obtention de la $p^{\text{ième}}$ et dernière composante principale, les parts d'informations expliquées par chacune d'elles devenant de plus en plus faibles (avec p variables, on obtient p composantes principales).
- L'intersection de tous les axes principaux se situe au centre de gravité du nuage de points.

La **figure (1.11)** illustre la projection des individus dans le plan principal formé par les deux premières composantes principales PC1 et PC2. La projection en trois dimensions (repère X_1, X_2, X_3) au lieu de p dimensions, impossible à représenter.

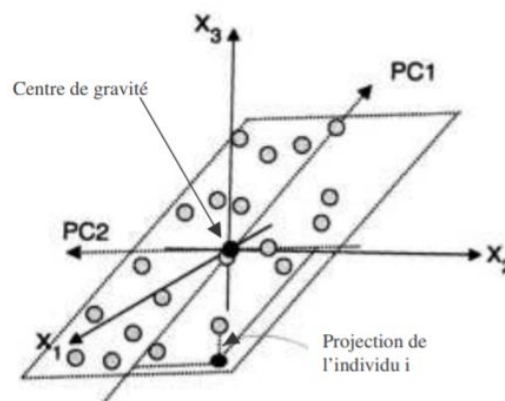


Figure 1.11 : projection des individus dans le plan principal

En conclusion, la phase essentielle de l'ACP consiste à transformer ces p variables quantitatives initiales, toutes plus ou moins corrélées entre elles, en p nouvelles variables quantitatives, non corrélées, appelées composantes principales.

➤ **Analyse de données**

On considère p variables quantitatives, notées $X^1, \dots, X^j, \dots, X^p$, observées sur n individus, notés $1, \dots, i, \dots, n$. L'observation de la variable X^j sur l'individu i , $X^j(i)$, sera plus simplement notée X^{ij} ($X^{ij} = 1$ ou -1) (BACCINI A., 2010). Les données se présentent ainsi sous le schéma d'un tableau et d'un cercle comme suit :

	X^1	...	X^j	...	X^p
1	X^{1_1}	...	X^{j_1}	...	X^{p_1}
...
i	X^{1_i}	...	X^{j_i}	...	X^{p_i}
...
N	X^{1_n}	...	X^{j_n}	...	X^{p_n}

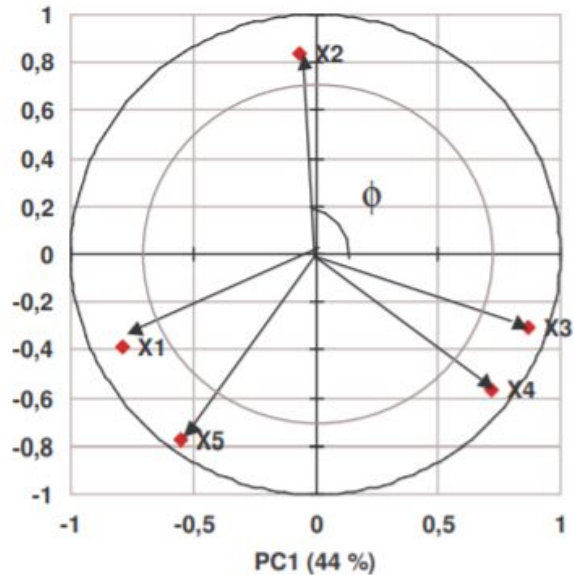


Figure 1.12 : Cercle des corrélations dans le plan principal (PC1-PC2)

- ✓ X1 et X5 sont positivement corrélées.
- ✓ X1 et X3 sont inversement corrélées.
- ✓ X2 est inversement corrélée à X5 et X4.
- ✓ X5 et X4 sont indépendantes.
- ✓ X3 et X4 sont positivement corrélées.

➤ **Interprétation**

$0^\circ < \text{valeur absolue de } \phi < 90^\circ$: les variables sont **corrélées dans le même sens**. Par exemple, quand la valeur de X1 augmente, la valeur de X5 augmente aussi.

$90^\circ < \text{valeur absolue de } \phi < 180^\circ$: les variables sont **inversement** corrélées. Quand X1 augmente, X3 diminue. De la même manière quand X2 augmente X5 diminue.

Φ proche de 90° : les variables sont **indépendantes**, c'est-à-dire non corrélées par exemple, X5 et X4 varient de manière indépendante, il n'existe aucune relation entre ces deux variables.

Chapitre 2

Matériels et méthodes

La partie « matériel et méthodes » présente les réactifs à utiliser, les méthodes et les manipulations à réaliser et les tests d'analyse ou d'identification des extraits obtenus.

Dans les circonstances ordinaires, il était prévu d'exécuter les tâches suivantes :

- ✓ Effectuer les tests phytochimiques permettant d'identifier qualitativement la composition de la plante ;
- ✓ Procéder à l'extraction et à la caractérisation des métabolites secondaires de la plante *Tuberaria lignosa*,
- ✓ Suivit de l'évaluation de l'activité biologique, effet antibactérien et antioxydant des métabolites secondaires.
- ✓ Enfin, préparation et contrôle qualité d'une crème formulée à base des extraits de la plante.

Au vue des conditions sanitaires vécues et des conséquences engendrées, l'accès aux laboratoires pédagogiques de la faculté n'était pas autorisé, les seuls travaux pratiques que nous avons pu réaliser sont :

- ✓ La récolte et le séchage de la plante,
- ✓ L'extraction de substances naturelles de la plante *Tuberaria lignosa*,
- ✓ L'examen de l'effet antibactérien.

Nous avons comme même tenu à présenter l'intégralité de cette partie dans le but de constituer un travail préliminaire pour les futurs étudiants inscrits dans la même spécialité.

1. Matériel

1.1. **Matériel chimique (réactifs et solvants) :** les produits utilisés/à utiliser ainsi que leur formule chimique sont regroupés dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Produits chimiques utilisés ou à utiliser.

Réactifs et solvants	Formule chimique	Réactifs et solvants	Formule chimique
Ether diéthylique	$(C_2H_5)_2O$	Acide acétique	CH_3COOH
Chlorure de sodium	NaCl	Iodure de potassium	KI
Sulfate de sodium anhydre	Na_2SO_4	Thiosulfate de sodium 0.01M	$Na_2S_2O_3$
Ethanol, 96%	C_2H_5OH	Acide chlorhydrique	HCl
Hydroxyde de potassium 0,1 M et 0,5N	KOH	Réactif de Mayer	
		Acide ascorbique	
Chloroforme	$CHCl_3$	Réactif de Wagner	
Copeaux de Mg		Chlorure de fer (III) à 1%	$FeCl_3$
Anhydride acétique	$C_4H_6O_3$	Acide sulfurique	H_2SO_4
Ammoniaque	NH_4OH	Ether de pétrole	$CH_3-(CH_2)_n-CH_3$
Ampoi d'amidon + phénophtaléine		Méthanol	CH_3OH
Butanol	$CH_3-(CH_2)_3OH$	DPPH	$C_{18}H_{12}N_5O_6$

1.2. Matériel de laboratoire :

L'ensemble de matériel utilisé/à utiliser est regroupé dans le tableau 2.2.

Tableau 2.2 : Matériel de laboratoire utilisé/à utiliser durant le travail.

Equipement et dispositifs	Balance analytique, chauffe ballon, hotte, étuve, thermomètre, bain marie, micro-onde, papier pH, rota vapeur, papier wattman N 3.
Verrerie	Béchers, cristallisoirs, verre de montre, fiole jaugée, seringue, éprouvette, ballon, ballon tri-col, pipette, micropipette, tubes en verre, boîtes de pétri, écouvillons, pipettes pasteur, pycnomètre, flacons, burette, Erlenmeyers, entonnoir, spatules, mortier.
Matériel Végétal	<i>Tuberaria Lignosa</i>
Matériel de mesure et analyse	UV-visible, Viscosimètre, Turbidimètre, microscope, pH-mètre.
Matériel microbiologique	Boîtes de pétries, milieux de cultures , anse calibrée

1.3. Matériel végétal

➤ Récolte et séchage de la plante

Les parties aériennes du « *Tuberaria lignosa* » ont été récoltés pendant la période de floraison au mois de Mai 2020, dans la forêt du village d'AGOUNI GUIZEM dans la commune d'AZAZGA à 750 mètres d'altitude, à 38 Km de l'est de la ville de Tizi Ouzou.

L'identification et la reconnaissance de la plante a été effectuée par les professeurs SMAIL Noria et Abdelkader Nabil BENGHANEM, enseignants au niveau du Département de Biologie de La Faculté Des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

Le matériel végétal (environ 3kg) recueilli a été nettoyé des débris puis séché à une température ambiante à l'ombre à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure 2.1 : Photo de la partie aérienne du *Tuberaria Lignosa*

2. Méthodes

2.1. Evaluation du taux d'humidité

Les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau. L'évaluation du taux d'humidité des plantes, consiste à sécher une masse des feuilles de la plante à l'étuve à une température de 105 ± 5 °C pendant environ 2 heures (Fadil, M., et al., 2015). Le calcul est effectué à l'aide de l'équation suivante :

$$(\%)H = \frac{m_1 - m_2}{m_1} * 100$$

Avec :

H : Taux d'humidité (en %).

m_1 : Masse de l'échantillon avant séchage (en g).

m_2 : Masse de l'échantillon après séchage (en g).

2.2. Etude phytochimique

Les tests phytochimiques sont des tests qualitatifs effectués sur un décocté afin de caractériser les différents groupements chimiques contenus dans un organe végétal, ils sont basés sur les réactions colorimétriques et de précipitation par ajout de réactifs spécifiques (Harbone et al, 1998).

2.2.1. Préparation du décocté

1375 g des parties aériennes de la plante *Tuberaria Lignosa*, préalablement séchés ont été introduits dans la cucurbite rempli d'eau distillée, couvert afin d'éviter l'évaporation des principaux composants et laissés décocter 3h. Le décocté est filtré et gardé au frais.

a. Protocole d'identification des alcaloïdes

Introduire 1 mL du décocté dans deux tubes à essai,

- Dans le premier tube, acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl, et ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer.
- Dans le second tube rajouter quelques gouttes de réactif de Wagner.

La présence d'alcaloïdes est caractérisée par la formation d'un précipité de couleur blanc-jaunâtre pour la première réaction et brun pour la deuxième (Stöckigt J., et al., 2002).

b. Protocole d'identification des flavonoïdes

Introduire 5mL du décocté dans un tube à essai auquel il faut ajouter 4mL d'alcool d'éthanol, 1mL d'acides chlorhydrique (HCL) et après agitation quelques copeaux de magnésium, l'apparition d'une coloration rose ou rouge indique la présence des flavonoïdes (Békro et al, 2007).

c. Protocole d'identification des Saponosides

Introduire dans un tube à essai 10mL de la solution à analyser. Agiter le tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde (soit 30 agitations). Après un temps de repos de 15min, la hauteur de la mousse dans le tube est mesurée.

La formation d'une mousse stable de hauteur supérieur à 1cm, persistant plus de 15min indique la présence des Saponosides (Alain dit philippe Bide et al., 2011).

d. Protocole d'identification des Tanins

Introduire 5mL du décocté dans un tube à essai auquel il faut ajouter 1mL d'une solution aqueuse diluée de chlorure de fer (III) (FeCl_3) à 1%. La présence de tanins est caractérisée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre (Békro et al. 2007).

e. Protocole d'identification des stérols et triterpènes (Réaction de Liebermann Buchard)

Introduire 10mL du décocté dans un bécher, auxquelles il faut ajouter 5mL d'anhydride acétique et 5mL de chloroforme. A l'aide d'une pipette, ajouter 1mL de H_2SO_4 concentré sur la paroi du bécher sans agiter. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et triterpènes (A. Sofowora., 1993).

f. Protocole d'identification des anthocyanes

Introduire 1 mL du décocté dans un tube à essai et rajouter 3 mL de H₂SO₄ concentré et 1 mL de NH₄OH. Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu en milieu basique, cela indique la présence des anthocyanes (Békro et al, 2007).

2.3. Isolation des polyphénols

2.3.1. Isolation des tannins

➤ Préparation de l'extrait aqueux

Dégraissier par macération 30 g de poudre végétale dans 100 mL d'éther de pétrole pendant 24 h. Effectuer une filtration afin de récupérer le marc et éliminer la chlorophylle et les lipides (S. Feknous et al, .2014).

➤ Isolation

Reprendre le marc récupéré avec 50 mL d'éther diéthylique pendant 30 min, ensuite filtrer pour éliminer les phénols, les catéchines et l'acide oxybutyrique. Reprendre une autre fois le marc avec 100 ml de méthanol pendant 30 min, puis filtrer dans un ballon préalablement taré. Soumettre le filtrat méthanolique à une évaporation sous vide pour obtenir un résidu sec. C'est l'extrait pur de tanins qu'il faut ensuite peser.

2.3.2. Isolation des flavonoïdes

➤ Préparation de l'extrait aqueux

Macérer une masse de 30 g de poudre végétale dans 100 mL de méthanol pendant 72 h. Après filtration sous vide le méthanol est éliminé alors que le résidu sec doit être traité avec 50 mL d'eau tiède pour l'obtention d'un extrait aqueux (S. Feknous et al, .2014).

➤ Isolation

- Dans une ampoule à décanter, procéder à une série d'opérations d'extraction liquide-liquide par ajout de plusieurs fractions de solvants non miscibles à l'extrait aqueux obtenu. L'addition de trois fractions de 30 mL de chloroforme chacune permet l'élimination de la chlorophylle et des lipides.
- L'ajout de trois fractions de 30 mL d'éther diéthylique chacune permet d'extraire les génines et les flavonoïdes libres.

- L'ajout de trois fractions de 30mL chacune d'acétate d'éthyle permet l'élimination des monosides et entraîne la majorité des hétérosides flavoniques.
- L'ajout pour la dernière phase aqueuse trois fractions de 30mL chacune de butanol pour récupérer la phase alcoolique. Récupérer et soumettre cette dernière phase contenant les flavonoïdes à une évaporation sous vide pour l'obtention du résidu sec, c'est l'extrait pur des flavonoïdes qu'il faut ensuite peser.

2.3.3. Evaluation du rendement des métabolites secondaires

Le rendement en extrait sec (de flavonoïdes ou tanins) est évalué à la base de la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M_{sec}}{M_m} * 100$$

M_{sec} : masse de l'extrait sec en g.

M_m : masse de la matière végétale en g

2.4. Méthode d'extraction de substances naturelles

L'extraction des substances naturelles est réalisée par hydro distillation (figure 2.2). Il s'agit d'un équipement en acier inoxydable chauffé par une chaudière à gaz et muni d'un serpentin conçu pour la réfrigération des vapeurs de solvant. Cet appareil est utilisé pour les extractions à échelle pilote, fabriqué par une entreprise algérienne.



Figure 2.2 : Photo du montage à extraction par hydrodistillation.

L'extraction consiste à immerger directement le matériel végétal (1375g) séchée dans le cucurbité rempli d'une quantité d'eau distillée suffisante, pour recouvrir la matière végétale, ensuite le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une chaudière à gaz pendant 3h. Sous l'effet de la chaleur, les cellules renfermant les substances odorantes éclatent et l'H.Es est entraînée avec la vapeur d'eau. Le mélange monte alors dans le col de cygne et passe ensuite dans le réfrigérant, il est en permanence refroidi par une circulation d'eau et se condense. Le distillat est recueilli dans un essencier servant à la décantation de l'huile et de l'hydrolat (vase Florentin).

2.4.1. Evaluation du rendement de l'extraction

Le rendement de l'extraction est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue par extraction et la masse totale du matériel végétal traité. Il est exprimé en pourcentage.

$$RHE (\%) = \frac{M_H}{M_v} * 100$$

RHE : Rendement en Huile essentielle en %.

M_H : Masse d'huile essentielle récupérée en gramme.

M_v : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

2.5. Etude biologique

2.5.1. Activité bactériologique

Afin d'étudier la stérilité de notre extrait et la présence des germes pathogènes nous avons effectué un test cyto-bactériologique sur différents milieux de cultures.

2.5.1.1. Méthodes de dénombrement des germes

La technique choisie est la MÉTHODE DE L'ANSE CALBRÉE, Cette méthode est la méthode manuelle actuellement la plus utilisée, elle nécessite un milieu non sélectif coulé en boîte de Petri et une anse calibrée de 10 µL. Plusieurs milieux peuvent être utilisés allant de milieux classiques type BCP ou CLED à des milieux chromogènes plus performants (CPS3, URISELECT4...). Ces derniers ont comme avantage de permettre une orientation rapide voire une **identification directe** des bactéries, c'est un gain de temps. Les milieux de culture utilisés sont :

- ✓ **Gélose Chromagar** : Milieu d'isolement, d'identification directe et de différenciation des bactéries (**E-coli** (rose), **Klebs-cilla** (violet), **Pseudomonas** (verdâtre), **Staphylococcus aureus** (blanc)...).
- ✓ **Sabouraud** : Milieu acide d'isolement des levures et moisissures.
- ✓ **Hektoen** : Milieu d'isolement des Salmonelles, shigelles et de nombreuses GRAM- qui peuvent se développer sur ce milieu.
- ✓ **Chapman** : Milieu sélectif, permettant la croissance des germes halophiles, on peut suivre la fermentation du mannitol, par virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge phénol.
- ✓ **Gélose au sang cuit** : Milieu d'isolement enrichi, préconisé pour l'étude des Neisseria notamment le méningocoque et aussi pour la culasse de Haemophilus influenza.

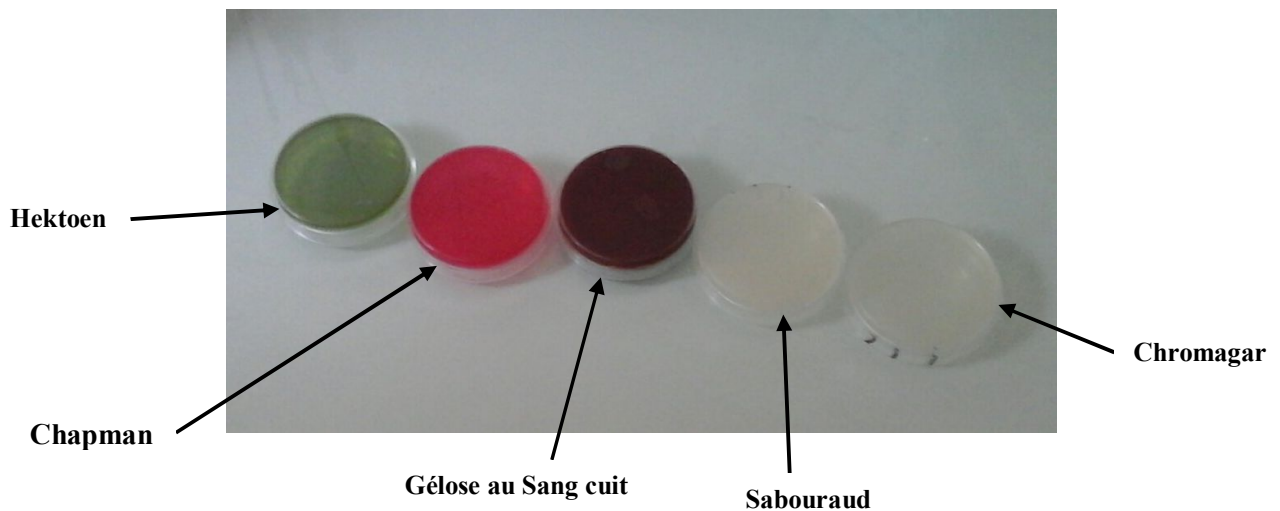


Figure 2.3 : Milieux de cultures utilisés

2.5.1.2. Ensemencement

L'ensemencement se fait selon les étapes suivantes :

- ✓ Déposer 10 μL de l'extrait bien homogénéisée sur un rayon de la boîte à l'aide d'une anse calibrée stérile (**Fig.2.4.(a)**).
- ✓ Étaler le dépôt en stries perpendiculaires au rayon sur toute la surface de la gélose (**Fig.2.4.(b)**).
- ✓ Incuber 24 à 72 heures à 37°C.

- ✓ L'ensemencement se fait près d'un bec bunsen d'un diamètre de 15 à 20cm afin d'éviter la contamination.

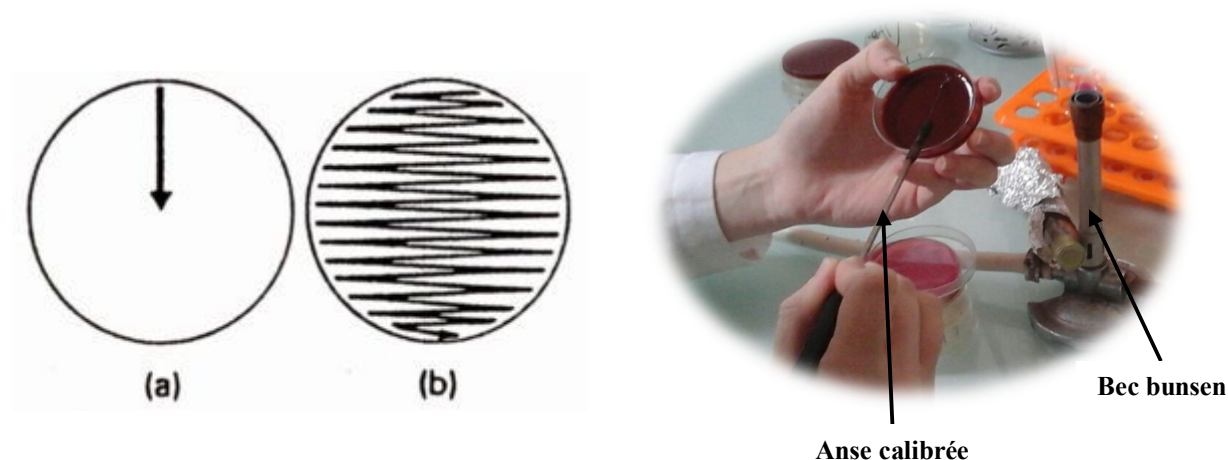


Figure 2.4 : Méthode d'ensemencement

2.5.2. Evaluation du pouvoir antioxydant

Le pouvoir antioxydant de l'extrait de *Tuberaria Lignosa* est évalué par le Test de DPPH°.

✓ Principe du test au radical DPPH°

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH°) est un radical organique stable de couleur violette, qui absorbe à 517nm. Sa stabilité est due au fait qu'il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. En présence d'agents antioxydants qui sont des donateurs d'hydrogène (AH), le composé est réduit en une forme non radicalaire DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) et vire au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (D. Bruyne T, 1999).

La réaction peut être représentée par l'équation suivante (figure 2.5) :

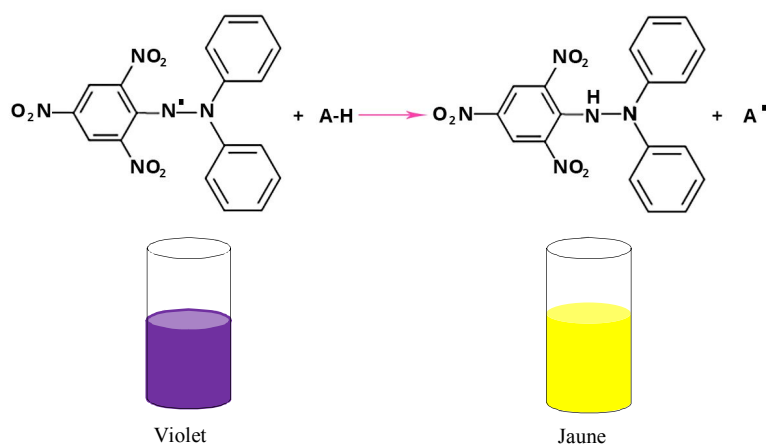


Figure 2.5 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant

✓ Mode opératoire

La solution de DPPH est préparée par dissolution de 4mg de DPPH dans 100mL de méthanol, ensuite diluée jusqu'à obtention d'une absorbance allant de 0,7 à 0,9.

Avec les métabolites secondaires, préparation des solutions mères de concentration 50mg/mL et 100mg/mL ; pour les extraits, les solutions mères préparées sont de concentration de 5mg/mL.

Après la préparation des solutions mères, réaliser une dilution de ces dernières afin d'avoir des concentrations de 75 %, 50%, 25%, 12,5% (solutions filles).

Additionner 50µL de chacune des solutions mères et solutions filles à 2mL de DPPH, après 30min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, lire les absorbances. Utiliser l'acide ascorbique comme témoins positif (référence).

L'activité antioxydante est calculée par l'équation suivante :

$$I\% = 100 * (A_0 - A_e) / A_0$$

Avec :

I% : le pourcentage d'inhibition.

A₀ : l'absorbance du blanc sans métabolites secondaire.

A_e : l'absorbance de l'échantillon.

2.6. Formulation pharmaceutique

2.6.1. Composition et préparation de la formulation

La formulation choisie est la préparation d'une crème ayant pour composition :

Sulfate de Zinc	0.35g
Sulfate de cuivre	0.10g
Oxyde de Zinc	10g
Eau purifiée	10g
Lanoline	20g
Extrait de <i>Tuberaria Lignosa</i>	1g
Vaseline blanche	59.55g

Dissoudre les sels de zinc et cuivre dans l'eau purifiée en y ajoutant l'extrait de la plante ;

Tamiser l'oxyde de zinc ;

Faire fondre le mélange lanovaseline à une température avoisinant les 60° c, y incorporer l'oxyde de Zn. Laisser refroidir ;

Incorporer la solution obtenue dans le mélange lanovaseline, mélanger jusqu'à homogénéité.

2.6.2. Contrôle qualité de la formulation pharmaceutique

- **Examen macroscopique** : apprécier les caractères organoleptiques tels que la couleur, l'odeur et l'homogénéité en étalant la pommade sur une surface colorée et regarder s'il y a des agrégats blancs visibles à l'œil nu.
- **Examen microscopique** : à l'aide d'un microscope qui permet d'apprécier la taille des particules.
- **Mesure du pH** : Le pH de la crème est déterminé par un pH mètre. Ce premier doit être neutre pour éviter toute irritation de la peau.

La crème doit être conservée à l'abri de la lumière et la chaleur dans des pots en plastiques ou en verre brun, tubes avec une fermeture vissée et étanche afin d'éviter l'oxydation de la substance.

Chapitre 3

Résultats et discussions

1. Taux d'humidité

La masse de la plante avant séchage : $m_i = 3000$ g

La masse de la plante après séchage : $m_f = 1375$ g

La plante a été séchée à l'air libre, le taux d'humidité évalués pour les feuilles de *Tuberaria Lignosa* est de 54%. Ceci signifie que plus de la moitié du poids de la plante utilisée, est constituée d'eau. Ce résultat est présenté sur **la figure (3.1)**.

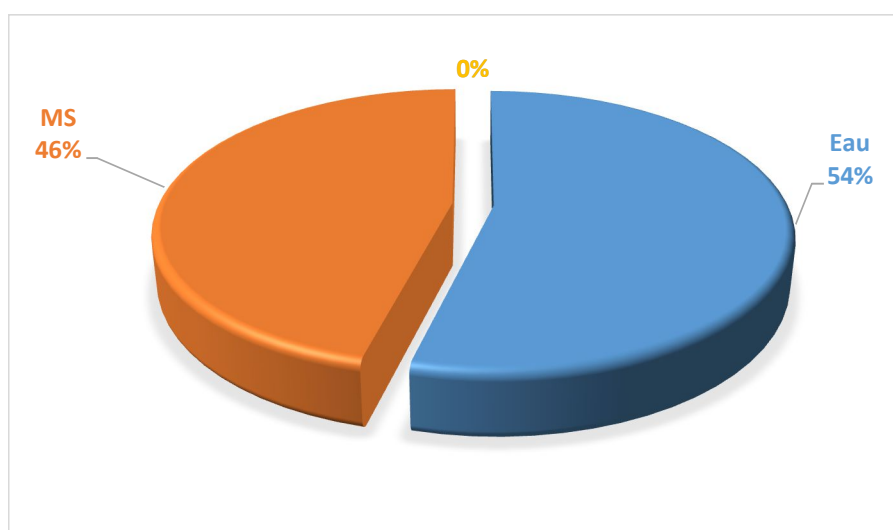


Figure 3.1 : Teneur en eau et en matière sèche (MS) de plante utilisée

2. Rendement d'extraction de l'huile essentielle de *Tuberaria Lignosa*

Le distillat illustré sur la photo de la figure 3.2 montre l'absence totale de séparation de phase indiquant un rendement en huile essentielle très faible, ceci est étroitement lié à l'altitude de la région de la zone de récolte, à la période de cueillette de la plante et aussi au procédé d'extraction, appuyant ainsi le manque d'étude antérieure réalisée sur les H.Es. de la plante étudiée.

En raison du très faible rendement de l'H.Es. de *Tuberaria Lignosa* nous n'avons pas pu effectuer les tests d'identifications prévus (CPG/SM) sur cette huile.



Figure 3.2 : Photo du distillat obtenu par hydrodistillation

3. Rendement des métabolites secondaires

Les tests phytochimiques sur l'extrait de décoction (figure 3.3) prévus, et l'extraction des métabolites secondaires qui fait appel à des lavages successifs de l'extrait par plusieurs solvants de polarités différentes suivit par un séchage au rota vapeur, n'ont malheureusement pas été réalisés en raison de la fermeture des laboratoires en rapport avec la situation sanitaire due au Covid-19.



Figure 3.3 : Photo du décocté obtenu après hydrodistillation

4. Examen cytot bacté riologique

L'activité antibactérienne de l'extrait de *Tuberaria Lignosa* a été testée dans 05 différents milieux de culture : Gélose Chromagar, Sabouraud, Hektoen, Chapman et gélose au sang cuit.

L'incubation des boîtes de pétri est réalisée dans une étuve à 37° c pour les milieux Gélose Chromagar, Sabouraud, Hektoen, Chapman (figure 3.4), et dans une boîte avec bougie (figure 3.5) pour le milieu gélose au sang cuit.



Figure 3.4 : Photo de l'incubation en étuve

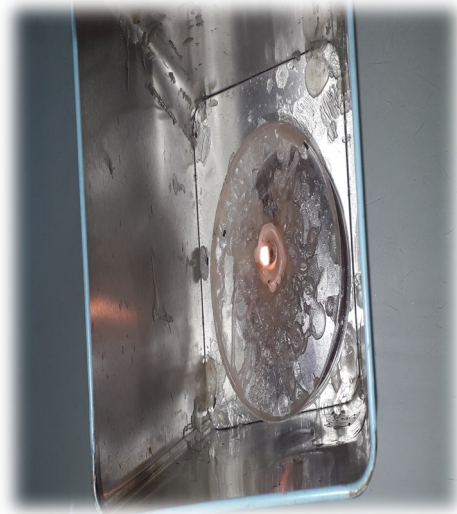


Figure 3.5 : Photo de l'incubation avec bougie

Après 24 heures d'incubation, nous avons effectué une 1^{ère} lecture sur les 05 milieux de culture testés, aucun développement de la flore bactérienne ni formation de colonie n'est constaté.

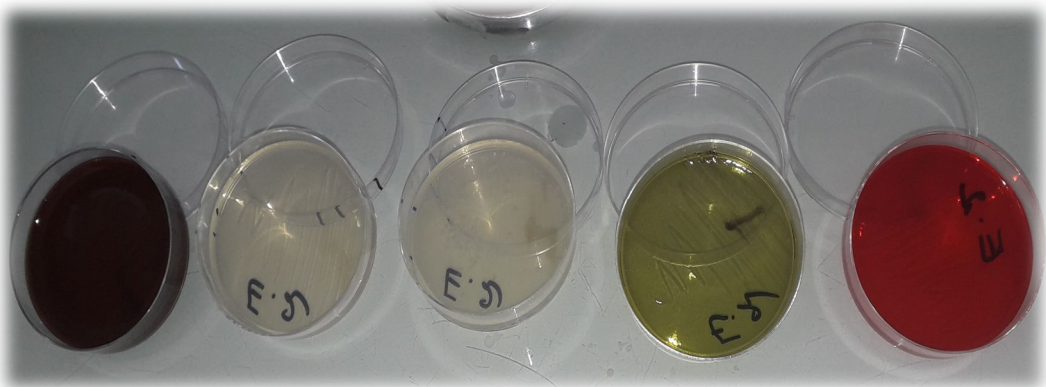


Figure 3.6 : Photo de la 1^{ère} lecture après 24h

Le même constat est fait après 72 heures d'incubation (figure 3.7)

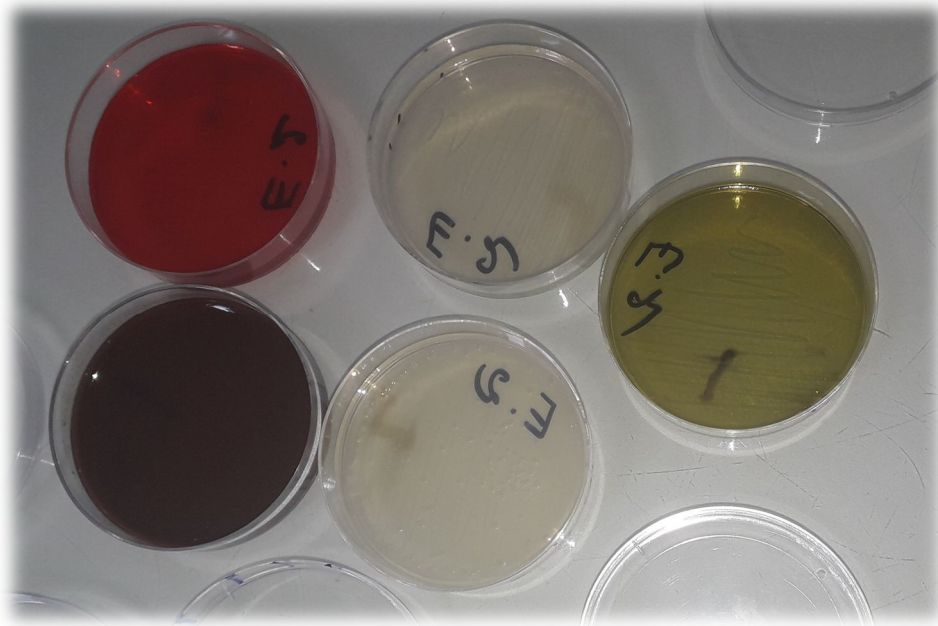



Figure 3.7 : Photo de la 2^{ème} lecture après 72h

D'après les résultats obtenus, le compte rendu procuré par le laboratoire d'analyses, photo de la figure 3.8 et la confirmation du diagnostic du Dr BERCHICHE médecin biologiste, nous pouvons dire que l'extrait des substances naturelles de *Tuberaria Lignosa* ne développe aucun germe par conséquent notre échantillon est stérile et peut être utilisé lors de la formulation pharmaceutique.

LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES
 Dr. ATTAB Ep. BERCHICHE - Médecin Biologiste
 Adresse : Touares I Densification lot 124 - 15100 DBK Tizi-Ouzou
 Tél/Fax : 026 43 98 88 Mobile :

LABO SANTE+  PXXH7-4X


*** 00009478 ***

Nom et Prénom : ECHANTILLON 2 Tubercaria Lignosa
Dossier N° 200901102
Date de naissance : 01/01/2000, Age : 20 Ans
Adressé par Dr. :

Dossier édité le 19.09.2020 à 11:44, imprimé le 19.09.2020

EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE D'UN PRELEVEMENT

Site de prélèvement	Tberraria Lignosa
Type de prélèvement	Plante
EXAMEN CYTOLOGIQUE	
Flore coloration usuelle :	Aucune
Cellules épithéliales :	//
Leucocytes :	//
Hématies :	//
EXAMEN BACTERIOLOGIQUE	
Examen direct :	Négatif
Culture sur milieu Anaérobie-Aérobie :	Négative
EXAMEN MYCOLOGIQUE	
Examen direct :	Négatif
Culture sur milieu SABOURAUD :	Négative
CONCLUSION	
<i>Echantillon Stérile</i>	



Page 1 Sur 1

Figure 3.8 : Photo du compte rendu de l'analyse cyto bactériologique

5. Aperçu statistique des études antérieures

Cette partie du travail concerne l'analyse par la méthode ACP des résultats des études antérieures en rapport avec la plante *Tuberaria Lignosa* et le genre de la famille des Cistaceae, pour cela, nous avons sélectionné sept (07) articles traitant :

- L'évaluation du rendement d'extraction des substances naturelles par différentes méthodes en rapport avec la méthode de séchage, la forme (broyée ou non broyée) et la partie (feuilles ou fleurs) de la plante, le solvant et la durée d'extraction.
- Du pouvoir antioxydant, ce dernier est examiné en tenant compte de la méthode de séchage, la teneur en composés phénoliques et le solvant d'extraction.

5.1. Evaluation des facteurs influençant le rendement d'extraction

Les facteurs influençant le rendement d'extraction sont représentés dans le Tab (3.1), selon les différentes références consultées.

Tableau 3.1 : Facteurs influençant le rendement d'extraction

Réf	Exp	R (%)	Facteurs influençant le rendement											
			Méthodes d'Extraction				Temps D'Ext (min)	Solvant		Partie		Forme broyée	T °C	Séchage
			Macé	Infus	Déco	Perc		H ₂ O	EtOH	Feuilles	Fleurs			
		C1	C6	C7	C8	C9	C13	C10	C11	C3	C4	C5	C12	C2
		R (%)	M _{mac.}	M _{inf.}	M _{déc.}	M _{perc.}	t _{ext.}	H ₂ O	EtOH	P _{Feu.}	P _{fle.}	F _{broy.}	T °C	Séch
[1]	1	13.56	M _m	-	-	-	2880	-	-	P _f	-	Broy.	25	Amb.
[3]	2	10.51	M _m	-	-	-	1440	H ₂ O	-	P _f	-	Broy.	25	Amb.
	3	07.51	M _m	-	-	-	1440	H ₂ O	-	-	P _{fl}	Broy.	25	Amb.
	4	10.51	M _m	-	-	-	1440	-	EtOH	P _f	-	Broy.	25	Amb.
	5	07.51	M _m	-	-	-	1440	-	EtOH	-	P _{fl}	Broy.	25	Amb.
[4]	6	11.8	-	M _i	-	-	5	H ₂ O	-	P _f	-	-	25	Amb.
	7	21.2	-	-	M _d	-	10	H ₂ O	-	P _f	-	-	25	Amb.
	8	16.0	-	M _i	-	-	5	H ₂ O	-	P _f	-	-	25	Amb.
	9	19.7	-	-	M _d	-	10	H ₂ O	-	P _f	-	-	25	Amb.
	10	17.1	-	M _i	-	-	5	H ₂ O	-	P _f	-	-	25	Amb.
	11	20.8	-	-	M _d	-	10	H ₂ O	-	P _f	-	-	25	Amb.
[5]	12	7	-	M _i	-	-	60	H ₂ O	-	P _f	-	Broy.	65	Fraic.
	13	10	-	M _i	-	-	60	H ₂ O	-	P _f	-	Broy.	65	Fraic.
[6]	14	10.6	-	-	-	M _p	7200	-	EtOH	P _f	-	Broy.	25	Amb.
	15	15.4	-	M _i	-	-	30	H ₂ O	-	P _f	-	Broy.	25	Amb.
	16	32.2	-	-	-	M _p	7200	-	EtOH	P _f	-	Broy.	25	Amb.
	17	3	-	M _i	-	-	30	H ₂ O	-	P _f	-	Broy.	25	Amb.
[7]	18	11.9	-	-	-	M _p	1440	-	EtOH	P _f	-	Broy.	25	Amb.
	19	10.5	-	-	-	M _p	1440	-	EtOH	P _f	-	Broy.	25	Amb.

- **Rendement R (%)**: Rendement des métabolites secondaires
- **Méthodes d'Extraction** : les différentes méthodes d'extraction utilisées par les différents auteurs ; Macération (Macé), Infusion (Infus), Décoction (Déco) et Percolation (Perc).
- **Temps d'extraction (Temps d'Ext)** : la durée de l'extraction en minute et qui diffère d'une méthode à une autre.
- **Solvant** : c'est le solvant utilisé lors des extractions soit H₂O ou EtOH.
- **Partie** : indique la partie utilisée de la plante lors de l'expérience, les feuilles dans la majorité des cas et les fleurs dans d'autres.
- **Forme** : concerne la forme de la plante au moment de l'extraction soit broyée ou bien non broyée.
- **Température T °c** : température d'extraction.
- **Séchage** : indique si la plante est utilisée sèche ou fraîche.

Nous avons utilisé la méthode statistique nommée Analyse en Composante Principale (A.C.P) adaptée à l'outil informatique : le logiciel STATISTICA 2010. L'ACP a pour objectif de présenter, sous une forme graphique le maximum de l'information contenue dans une table de données, basées sur le principe de double projection sur les axes factoriels (**Lagarde, 1995**).

Le traitement des données par l'analyse en composante principale, considère comme variables le Rendement (R%), Séchage, Partie (Feuilles/Fleurs), Forme broyée ou non, Méthodes d'extraction (Macération, Infusion, Décoction et Percolation), Solvant d'extraction (H₂O, EtOH), Température, Temps d'extraction, et comme individus les 19 résultats tirés de expériences réalisées par les différents auteurs.

Tableau 3.2 : ACP Variables/individus (rendement)

	R (%)	Séch	P _{Feu.}	P _{Fle.}	F _{broy.}	M _{mac.}	M _{inf.}	M _{déc.}	M _{per.}	H ₂ O	EtOH	T ^o C	t _{ext.}
1	13,56	Amb.	Pf	0	Broy.	Mm	0	0	0	0	0	25	2880
2	10,51	Amb.	Pf	0	Broy.	Mm	0	0	0	H2O	0	25	1440
3	7,51	Amb.	0	Pfl	Broy.	Mm	0	0	0	H2O	0	25	1440
4	10,51	Amb.	Pf	0	Broy.	Mm	0	0	0	0	EtOH	25	1440
5	7,51	Amb.	0	Pfl	Broy.	Mm	0	0	0	0	EtOH	25	1440
6	11,8	Amb.	Pf	0	0	0	Mi	0	0	H2O	0	25	5
7	21,2	Amb.	Pf	0	0	0	0	Md	0	H2O	0	25	10
8	16	Amb.	Pf	0	0	0	Mi	0	0	H2O	0	25	5
9	19,7	Amb.	Pf	0	0	0	0	Md	0	H2O	0	25	10
10	17,1	Amb.	Pf	0	0	0	Mi	0	0	H2O	0	25	5
11	20,8	Amb.	Pf	0	0	0	0	Md	0	H2O	0	25	10
12	7	Fraic.	Pf	0	Broy.	0	Mi	0	0	H2O	0	65	60
13	10	Fraic.	Pf	0	Broy.	0	Mi	0	0	H2O	0	65	60
14	10,6	Amb.	Pf	0	Broy.	0	0	0	Mp	0	EtOH	25	7200
15	15,4	Amb.	Pf	0	Broy.	0	Mi	0	0	H2O	0	25	30
16	32,2	Amb.	Pf	0	Broy.	0	0	0	Mp	0	EtOH	25	7200
17	3	Amb.	Pf	0	Broy.	0	Mi	0	0	H2O	0	25	30
18	11,9	Amb.	Pf	0	Broy.	0	0	0	Mp	0	EtOH	25	1440
19	10,5	Amb.	Pf	0	Broy.	0	0	0	Mp	0	EtOH	25	1440

L'inertie des axes factoriels indique la présence de corrélation entre les variables et suggère d'autre part le nombre de composantes principales à interpréter. Les deux premiers axes F1 et F2 expriment 56.31% de l'inertie totale, c'est-à-dire 56.31% de la variabilité totale du nuage des individus. L'inertie totale est représentée par le Tab (3.3) qui exprime la variance contenue dans l'ensemble du jeu de données actif. Les 8 axes qui restent n'apportent pas beaucoup d'informations. On ne retient donc que les deux premières dimensions afin d'interpréter l'analyse.

Tableau 3.3 : Corrélations entre variables et Facteurs F1/F2/F3

Factor coordinates of the variables, based on correlations (ACP-R-zéro)			
	Factor 1	Factor 2	Factor 3
R (%)	0,025100	-0,761728	0,183300
Séch	-0,441350	0,376409	-0,662265
P_{Feu.}	-0,342322	-0,693409	-0,471786
P_{Fle.}	0,342322	0,693409	0,471786
F_{broy.}	0,567033	0,494591	-0,493559
M_{mac.}	0,427060	0,604464	0,397900
M_{inf.}	-0,712513	0,186226	-0,385097
M_{déc.}	-0,331890	-0,487589	0,516734
M_{per.}	0,678631	-0,437128	-0,436309
H₂O	-0,894943	0,098622	0,219828
EtOH	0,860084	-0,128157	-0,248513
T_o^C	-0,441350	0,376409	-0,662265
t_{ext.}	0,762538	-0,256980	-0,260408

L'axe F1 est exprimé sur son pôle positif par, **F_{broy.}** (forme broyée), **M_{per.}** (Méthode de percolation), **EtOH**, **t_{ext.}** (temps d'extraction). Tant dit que sur son pôle négatif par **M_{inf.}** (Méthode d'infusion), **H₂O**.

L'axe F2 est quant à lui exprimé sur son pôle positif par ; **P_{Fle.}** (Partie fleurs), **M_{mac.}** (Méthode de macération). Alors que sur son pôle négatif, il est exprimé par ; **R (%)**, **P_{Feu.}** (Partie feuilles).

Les analyses statistiques des résultats ont donné une distribution de variables dans l'ACP qui est sous forme de projection dans l'espace des axes F1 et F2 (figure. 3.9). Chaque variable porte en elle une partie de l'information originale (part d'inertie) et une partie d'information

redondante qui vient de la corrélation entre les variables. Les coordonnées factorielles de ces variables sont obtenues par une projection orthogonale sur les deux axes F1-F2.

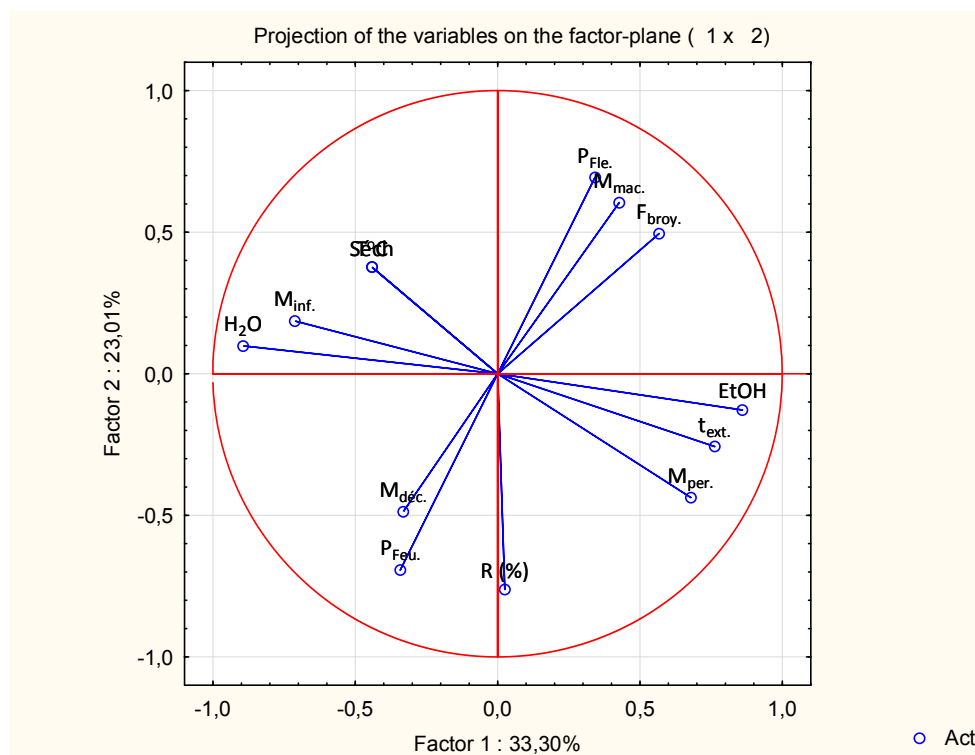


Figure 3.9 : projection des variables dans l'espace des axes F1-F2

La projection des variables dans l'espace selon l'axe F1 montre que la méthode d'extraction de percolation est corrélée positivement avec la forme broyée de la plante ainsi que le solvant EtOH et le temps d'extraction, alors qu'elle est corrélée inversement avec le solvant H₂O. Contrairement à la méthode d'extraction par infusion qui est corrélée positivement avec le solvant H₂O et inversement avec la forme broyée, le solvant EtOH et le temps d'extraction.

Selon l'axe F2 le rendement d'extraction est corrélée positivement avec la partie feuille de la plante et inversement avec la partie fleur et la méthode d'extraction par macération.

5.2. Evaluation des facteurs influençant le potentiel antioxydant

Les facteurs influençant le potentiel antioxydant sont représentés dans le Tab (3.4), selon les différentes références obtenues.

Tableau 3.4 : Facteurs influençant le potentiel antioxydant

Réf	Exp	Séch age	P. Anti Oxy	Facteurs influençant le potentiel antioxydant							
				Solvant		DPPH IC ₅₀	ABTS IC ₅₀	Pouvoir réducteur A _{0.5}	TBAR S IC ₅₀	Polyphénols	Flavonoïdes
				H ₂ O	EtOH	DPPH _{IC50}	ABTS _{IC50}	PR _{A0.5}	TBAR S _{IC50}	Poly	Flav
		Séch	P _{Antioxy.}	H ₂ O	EtOH	C5	C6	C7	C8	C3	C4
		C2	C1	C9	C10	C5	C6	C7	C8	C3	C4
[1]	1	Amb	P _{Antioxy.}	-	-	3.56	1.69	12.01	-	Poly	Flav
[3]	2	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	1.19	10.40	55.63	-	55.98	20.11
	3	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	1.548	16.70	59.02	-	53.75	18.52
	4	Amb	P _{Antioxy.}	-	EtOH	11.78	1.73	45.30	-	46.78	17.32
	5	Amb	P _{Antioxy.}	-	EtOH	35.87	37.26	19.07	-	12.32	06.54
	6	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	>52	>52	16.33	-	11.11	04.23
	7	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	15.09	13.99	30.82	-	40.55	15.50
	8	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	08.00	07.30	37.16	-	42.91	14.01
	9	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	14.17	11.69	45.86	-	42.05	14.00
	10	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	61.30	47.82	15.50	-	10.80	03.20
	11	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	>52.38	>52	15.71	-	9.45	03.00
[4]	12	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	56.4	-	30.4	12.6	Poly	Flav
	13	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	57.3	-	27.1	3.99	Poly	Flav
	14	Amb	P _{Antioxy.}	-	EtOH	52.1	-	21.3	10	Poly	Flav
	15	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	58.7	-	32.8	10.1	Poly	Flav
	16	Amb	P _{Antioxy.}	-	EtOH	65.9	-	32.1	18.2	Poly	Flav
	17	Amb	P _{Antioxy.}	H ₂ O	-	61.1	-	48.5	19.2	Poly	Flav
[5]	18	Fraic	P _{Antioxy.}	-	EtOH	-	-	117.72	72.13	5.88	3.04
	19	Fraic	P _{Antioxy.}	-	EtOH	-	-	179.10	84.61	32.67	5.95

Il existe une grande diversité de méthode physico-chimiques pour évaluer la capacité antioxydante des extraits naturels.

- **Test de DPPH (2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl) :**

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus généralement utilisés pour l'évaluation rapide et directe de la capacité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse. La méthode est décrite dans le chapitre 2.

- **ABTS (2,2'-azino-bis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)**

La méthode est basée sur la capacité des composés à réduire le radical cation ABTS^{•+}. Le radical est formé par l'oxydation de l'ABTS incolore avec différents composés, comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou le persulfate de potassium (**Re et al.,1999**).

- **Pouvoir réducteur**

Les composés qui sont doués d'une capacité réductrice indiquent qu'ils sont des donneurs d'électron et peuvent réduire les intermédiaires oxydées des processus de peroxydation de lipide, de sorte qu'ils puissent agir en tant qu'antioxydant (**Chanda et Dave, 2009**). Les réducteurs présents induisent la réduction du complexe Fe³⁺ /ferricyanide en Fe²⁺.

- **TBARS (Thiobarbiturics acid-reactive substances)**

Un des biomarqueurs le plus souvent utilisé pour étudier les dommages oxydatifs sur les lipides est le TBARS (**Lefevre et al., 1998**). C'est un produit majeur de la peroxydation lipidique.

La même méthode statistique citée précédemment a été utilisée pour le traitement des données reliées au potentiel antioxydant ; 09 variables : le Séchage, Solvant (H₂O/EtOH), DPPH, ABTS, Pouvoir réducteur, TBARS. Et comme individus les 19 résultats obtenus par les expériences réalisées par les différents auteurs.

Tableau 3.5 : ACP Variables/Individus (potentiel antioxydant)

	PAntioxy.	Séch	Poly	Flav	DPPH _{IC50}	ABTS _{IC50}	PR _{A0.5}	TBARS _{IC50}	H ₂ O	EtOH
1	PAntioxy.	Amb	Poly	Flav	3,56	1,69	12,01	-	-	-
2	PAntioxy.	Amb	55,98	20,11	1,19	10,4	55,63	-	H2O	-
3	PAntioxy.	Amb	53,75	18,52	1,548	16,7	59,02	-	H2O	-
4	PAntioxy.	Amb	46,78	17,32	11,78	1,73	45,3	-	-	EtOH
5	PAntioxy.	Amb	12,32	6,54	35,87	37,26	19,07	-	-	EtOH
6	PAntioxy.	Amb	11,11	4,23	>52	>52	16,33	-	H2O	-
7	PAntioxy.	Amb	40,55	15,5	15,09	13,99	30,82	-	H2O	-
8	PAntioxy.	Amb	42,91	14,01	8	7,3	37,16	-	H2O	-
9	PAntioxy.	Amb	42,05	14	14,17	11,69	45,86	-	H2O	-
10	PAntioxy.	Amb	10,8	3,2	61,3	47,82	15,5	-	H2O	-
11	PAntioxy.	Amb	9,45	3	>52.38	>52	15,71	-	H2O	-
12	PAntioxy.	Amb	Poly	Flav	56,4	-	30,4	12,6	H2O	-
13	PAntioxy.	Amb	Poly	Flav	57,3	-	27,1	3,99	H2O	-
14	PAntioxy.	Amb	Poly	Flav	52,1	-	21,3	10	-	EtOH
15	PAntioxy.	Amb	Poly	Flav	58,7	-	32,8	10,1	H2O	-
16	PAntioxy.	Amb	Poly	Flav	65,9	-	32,1	18,2	-	EtOH
17	PAntioxy.	Amb	Poly	Flav	61,1	-	48,5	19,2	H2O	-
18	PAntioxy.	Fraic	5,88	3,04	-	-	117,72	72,13	-	EtOH
19	PAntioxy.	Fraic	32,67	5,95	-	-	179,1	84,61	-	EtOH

Le Tab (3.6) de corrélation entre variables et facteurs montre que les deux axes F1 et F2 expriment 70.77% de l'inertie totale ce qui permet une bonne analyse dans ce plan, par rapport aux 07 autres facteurs qui n'apportent pas beaucoup d'information.

Tableau 3.6 : Corrélation entre Variable et Facteurs F1/F2/F3

Factor coordinates of the variables, based on correlations (ACP antioxy H2O et EtOH tiret)

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Séch	-0,895961	0,191494	-0,049734
Poly	0,608530	0,665361	0,314488
Flav	0,556459	0,782199	0,212361
DPPH _{IC50}	-0,545995	0,505459	-0,591656
ABTS _{IC50}	-0,230738	0,813616	-0,497748
PR _{A0}	-0,790572	0,120415	0,017688
TBARS _{IC50}	-0,287785	-0,925060	0,047770
H ₂ O	-0,554212	0,287186	0,713710
EtOH	0,675188	-0,320995	-0,546096

L'axe F1 est exprimé sur son pôle positif par, **EtOH**. Tant dit que sur son pôle négatif par ; **séchage**, **DPPH**, **PR** (Pouvoir réducteur), **H₂O**.

L'axe F2 est quant à lui exprimé sur son pôle positif par ; **Poly** (Polyphénols), **Flav** (Flavonoïdes), **ABTS**. Alors que sur son pôle négatif il est exprimé par ; **TBARS**.

La figure (3.10), révèle la projection des variables étudiées (09 variables) dans l'espace des axes F1 et F2. Les coordonnées factorielles de ces variables sont obtenues par une projection orthogonale de chaque variable sur les deux axes (F1 et F2).

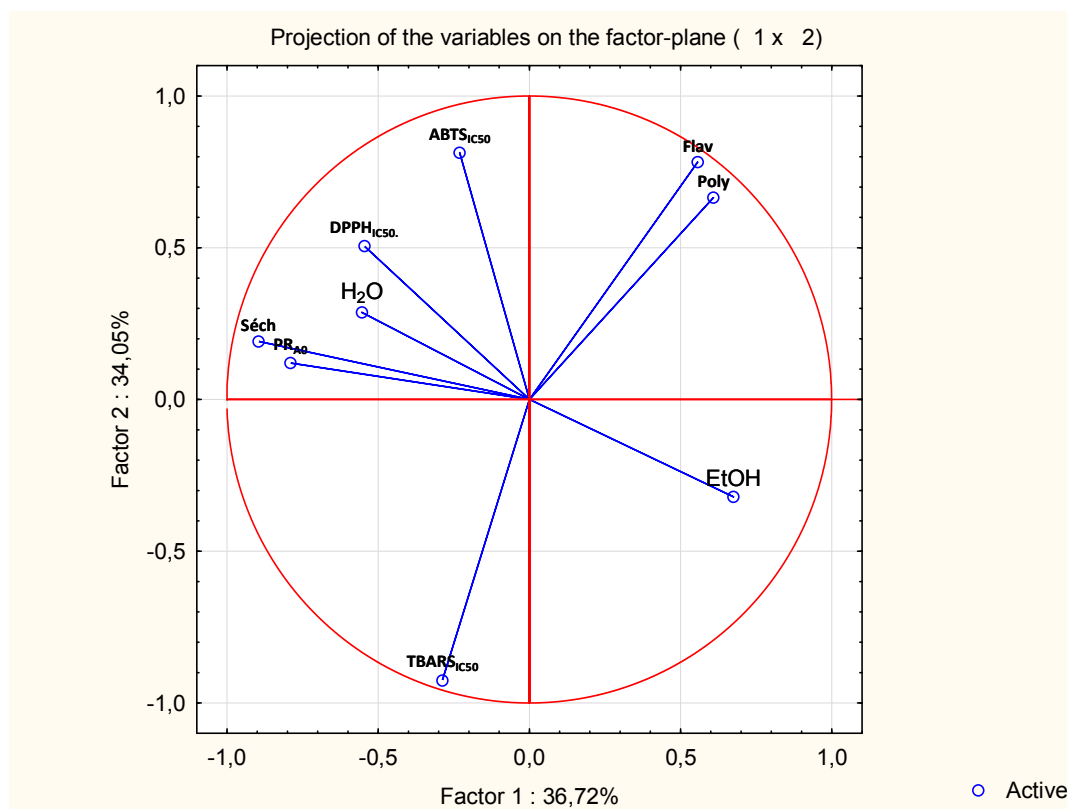


Figure 3.10 : projection des variables dans l'espace des axes F1-F2

La projection des variables dans l'espace selon l'axe F1 montre que le test de DPPH est corrélé positivement avec le séchage, le solvant d'extraction H₂O, le pouvoir réducteur, alors qu'il est corrélé inversement avec le solvant EtOH.

Selon l'axe F2 le test ABTS est corrélé positivement avec le rendement des flavonoïdes et négativement avec le test de TBARS.

5.3. Discussion des résultats

L'application de l'analyse en composante principale considérant comme variables le Rendement (R%), Séchage, Partie (Feuilles/Fleurs), Forme broyée ou non, Méthodes d'extraction (Macération, Infusion, Décoction et Percolation), Solvant d'extraction (H₂O, EtOH), Température, Temps d'extraction, et comme individus les 19 résultats tirés des expériences réalisées par les différents auteurs, nous renseigne que pour obtenir un rendement

appréciable, il est préférable de réaliser l'extraction en utilisant la partie feuille de la plante au lieu de la partie fleurs.

Par ailleurs, pour un temps d'extraction réduit le choix de la méthode d'extraction par infusion en utilisant H₂O comme solvant est préconisé. Contrairement à la méthode d'extraction par percolation utilisant l'EtOH comme solvant. Pour la méthode d'extraction par macération il est avantageux d'utiliser la forme broyée de la partie fleur.

Le traitement des données reliées au potentiel antioxydant ; 09 variables : le Séchage, Solvant (H₂O/EtOH), polyphénols, flavonoïdes, DPPH, ABTS, Pouvoir réducteur et TBARS et comme individus les 19 résultats obtenus par les expériences réalisées par les différents auteurs, indique que la teneur en flavonoïdes est étroitement liée à la capacité antioxydante de l'extrait, cette teneur obtenue par extraction avec H₂O comme solvant est meilleure pour les plantes séchées.

Le résultat obtenu est confirmé prioritairement par le test DPPH, le test ABTS et le test du pouvoir réducteur.

Conclusion Générale

Ce travail a porté principalement sur l'investigation et l'application de l'ACP sur les résultats expérimentaux réalisés antérieurement sur l'espèce *Tuberaria Lignosa*.

Les résultats des tests expérimentaux réalisés permettent de conclure que :

- Le rendement en huile essentielle de la plante est très faible. Ce résultat est en accord avec les études antérieures.
- La stérilité du décocté est prouvée par l'absence totale des germes examinée lors de l'analyse bactériologique sur les différents milieux de culture, implique une présence concrète d'une activité antibactérienne.

L'analyse statistique par la méthodologie de l'ACP appliquée à :

- L'évaluation du rendement, a montré qu'il est préférable d'utiliser les parties feuilles de la plante contrairement au fleurs, et la méthode d'extraction la plus favorable est l'infusion en utilisant H₂O comme solvant.
- L'étude de l'évaluation du pouvoir antioxydant par Analyse des Composantes Principales, a montré que cette espèce avait un très fort effet scavenging vis-à-vis des radicaux DPPH, ABTS ainsi qu'un très bon pouvoir réducteur, ces effets augmentent par la présence des flavonoïdes.

L'ensemble des résultats obtenus constitue une phase importante dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives. Afin de mettre en valeur l'exploitation des extraits de cette plante dans le domaine thérapeutique, les perspectives suivantes peuvent être envisagées :

- 1- L'identification des composés chimiques responsables de l'effet antioxydant et de l'effet antibactérien ;
- 2- L'étude de la toxicité des extraits de la plante et identifier le/les composés responsable(s),
- 3- S'intéresser à d'autres effets pharmacologiques tels que l'effet anti inflammatoire, anti-cancéreux, ...

Références

A

- AGUILERA-CARBO A. 2007. Ellagic acid production by solid state culture using a *Punica granatum* husk aqueous extract as culture broth. In: Proceedings of the 5th International Congress on Food Technology, Thessaloniki, Greece.
- ANDRADE D., and al. 2009. Bioactive extracts from *Cistus ladanifer* and *Arbutus unedo*. *Industrial Crops and Products*, 30,1,165-167. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.1001.1009>
- ARRINGTON JM., KUBITZKI K. 2003. *Cistaceae: The families and genera of vascular plants. Malvales, Capparales and non-betalain Caryophyllales*, Springer, 5, 68p, Berlin. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-07255-4>
- AUDIGIE C.L., and al. 1995. *Principes des méthodes d'analyses biochimiques*. 2^{ème} Ed. T1. Paris : Doin.

B

- BAAZIZ B. 2017. *Traitement de la pollution organique sur des absorbants magnétiques*. Thèse de doc : Département de Génie de l'Environnement : Ecole Nationale Polytechnique d'Alger.
- BACCINI A. 2010. *Statistique Descriptive Multidimensionnelle*. Publication de l'Institut de Mathématiques de Toulouse : UMR CNRS 5219.
- BAUDOUX D. 1997. *Lettre d'information de N.A.R.D. Natural Aromatherapy Research Development*. Aroma News, Belgique.
- BEDOYA L.M., and al. 2010. Ellagitannins from *Tuberaria lignosa* as entry inhibitors of HIV. *Phytomedicine*, 17,1, 69–74.
- BEDOYA L.M., and al. 2009. Anti-Infectious Activity in the Cistaceae Family in the Iberian Peninsula. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 9,5, 519-525.
- BEIRÃO A., BERNARDO-GIL M. 2006. *Antioxidants from Lavandula luisieri*. 2nd Ed. Portugal : Mercosur Congress on Chemical Engineering.
- BEKRO Y A., and al. 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Revue Sciences et Nature*, 4, 2, 217-225.

- BENCHEIKH H. 2005. Contribution à l'étude de la composition, de l'activité antimicrobienne et de la cytotoxicité des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* et de *Foeniculum vulgare*. Mémoire de Mag : Département de biologie : Faculté des sciences, Université Ferhat Abbas de Sétif.
- BENCHEIKH S.E. 2017. Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* ssp *Aurasianum* Labiatae. Thèse de doc : Département de Génie des Procèdes : Université Kasdi Merbah de Ouargla
- BENMEZROUA H. 2015. Contribution à l'étude de la biodiversité dans les Monts de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude : Département d'Ecologie et Environnement : Université ABOUBEKR BELKAID de Tlemcen.
- BENOUDINA F., HARIECHE M. 2018. Investigation phytochimique et potentiel antioxydant d'une plante algérienne du genre *Tuberaria* (Cistaceae). Mémoire de fin d'étude : Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire : Université des Frères Mentouri de Constantine 1.
- BIRGITTA B., and al. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants : APG III., *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161,2,105–121. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x>
- BRUNETON J. 2015. Pharmacognosie ; Phytochimie - Plantes médicinales. 5^{ème} Ed. Paris, France : Lavoisier.
- BRUNETON J. 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Ed. Paris, France : Lavoisier.
- BRUNETON J. 1999. Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. 3^{ème} Ed. Paris, France : Lavoisier.
- BRUYNE D.T. 1999. Condensed vegetables tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical System Ecology*, 27,4, 445-459.

C

- CASTROVIEJO S., and al. 2010. Cistaceae aqueous extracts containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity and cytotoxic activity against human cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 48,(8-9), 2273-2282
- CHIBANI S. 2013. Etude phytochimique et biologique de six plantes médicinales de l'est Algérien. Thèse Doc : Département de Biologie-Ecologie : faculté des Science de la nature université de Constantine 1.

D

- DAFRI A., BEDDIAR A. 2017. Desert truffles from northeastern Algerian coastal dunes: Ecology, Identification and Symbiosis. Journal of Fundamental and Applied Sciences, 9, 1, 153-169 <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v9i1.11> .
- DANSEREAU P. 1939. Monographie du genre Cistus. Boissiera., 4, 1-90.
- DE LAGARDE J. 1995. Initiation l'analyse des données. Dunod.
- DEGRYSE A.C., and al. 2008. Atelier Santé Environnement, Risques et bénéfices des huiles essentielles. Ingénieur de Génie Sanitaire : Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique.87p
- DESCHEPPER R.2017. Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype aromathérapie. Thèse de Doc : faculté de pharmacie : Marseille.
- DOROSSO SONATE J. 2002. Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Thèse de Doc : Université Ouagadougou.
- DUBOIS G.E., and al. 1977. Nonnutritive Sweeteners: Taste structure relationships with for some new simple dihydrochalcones. Science, 195, 4276, 397-399. <https://www.jstor.org/stable/1743299>

F

- FADIL M., and al. 2015. Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of Rosmarinus officinalis L. by response surface methodology. Journal of Materials and Environmental Science, 6, 8, 2346-2357.
- FEKNOUS S., and al. 2014. Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (Melissa officinalis L.). Revue Nature et Technologie,6,2,07-13.
- FERNANDEZ X. 2017. La chimie des huiles essentielles : Tradition et innovation : Vuibert
- FERRANDIS P., and al. 1999. Effect of fire on hard-coated Cistaceae seed banks and its influence on techniques for quantifying seed banks. Plant Ecology, 144,1, 103-114.
- FERRAZZANO G F., and al. 2011. Plant Polyphenols and Their Anti-Cariogenic Properties. A Review Molecules, 16,2, 1486-1507.

- FLOREALPES. Tuberaria Lignosa. Consulté le 26/08/2020. https://www.florealpes.com/fiche_tuberarialignosa.php

G

- GHINIM, W. 2015. Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées : Ricinus communis et Jatropha curcas. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Thèse de Doc en cotutelle : Département de Chimie/Biologie : Université de Lorraine (France) et Université de Carthage (Tunisie).
- GOUPY J., CREIGHTON L. 2006. Introduction aux plans d'expériences. 3^{ème} Ed : Dunod. (Livre+ CD-Rom)
- GUEDOUARI A. 2003. Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger.
- GUZMÁN B., VARGAS P. 2009. Long-distance colonization of the Western Mediterranean by Cistus ladanifer (Cistaceae) despite the absence of special dispersal mechanisms. Journal of Biogeography, 36,5, 954-968.

H

- HARBONE J.B. 1998. Phytochemical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis. 3^{ème} Ed. CHAPMAN and HILL.
- HUSSAIN A. 2009. Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae. Thèse de Doc: Department of Chemistry and Biochemistry: University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan.

J

- JAMES L.R., MARK W.C. 2011. APG III : Bibliographical Information and Synonymy of Magnoliidae. Phytotaxa., 19, 71-134 <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.19.1.4>
- JANCHEN E. 1925. Cistaceae. In: Engler A, Prantl K (eds) Die Naturlichen Pflanzenfamilien. 2nd Ed. Leipzig, Allemagne : W Engelmann,

K

- KARAM S. 2004. Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt. Thèse de Doct.: Électronique des hautes fréquences et optoélectroniques : Université de Limoges en France.
- KEITA R.M. 2002. Etude de l'activité antifongique et antibactérienne de 14 plantes utilisées dans le traitement des Infections Sexuellement Transmissibles. Thèse de Doct : Département de pharmacie : Bamako.
- KOHEN R., NYSKA A. 2002. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30,6, 620-650.

L

- LAFFERTY M.C., STAUFFER D.B. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th Ed. Newfield : Palisade Co.
- LAHLOU M. 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18,6, 435-448.
- LARAOUI H. 2016. Métabolites secondaires de *Fumana montana* et *Fumana thymifolia* (Cistaceae). Thèse de Doc. : Département Chimie : Université Hadj Lakhdar, Batna-1.
- LOBSTEIN A. 2010. Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, 3-25.

M

- MAARTEN J.M., and al. 2016. The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, 261,3,201–217. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.261.3.1>.
- MADHAVI D., and al. 1996. Food Antioxidants. *Technological, Toxicological, and Health Perspectives*.65.
- Mm. BATTANDIER J.A., TRABUT L. 2014. Extraits D'un Rapport Sur Quelques Voyages Botaniques En Algérie, Entrepris Sous Les Auspices Du Ministre De L'instruction Publique, Pendant Les Années 1890–1891. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 38 ,7, 295-324. <https://doi.org/10.1080/00378941.1891.10828581>

N

- National Institute of Standards and Technology, PC Version 1.7 of The NIST/EPA/NIH.
- NAZZARO F., and al. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, vol. 6, 12, 1451–1474.

P

- Pharmacopée Européenne (01-2008 : 2098)
- PINELA J., and al. 2015. Combined effects of gamma irradiation and preparation method on antioxidant activity and phenolic composition of *Tuberaria lignosa*. *Royal society of chemistry Advances*, 5, 19, 14756–14767. <https://doi.org/10.1039/C4RA14944K>
- PINELA J., and al. 2012. Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial *Tuberaria lignosa* samples : Effects of drying and oral preparation methods. *Food Chemistry*, 135, 3, 1028–1035. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.038>
- PINELA J., and al. 2017. Ellagitannin-rich bioactive extracts of *Tuberaria lignosa*: Insights into the radiation-induced effects in the recovery of high added-value Compound. *Food and Function*, Royal society of chemistry, 8, 7, 2485-2499. <https://doi.org/10.1039/C7FO00500H>

Q

- QUEZEL P., SANTA S. 1963. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. 2^{ème} Ed. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique.

R

- ROSS R. 2014. *Polyphenols in plants: Isolation, purification and extract preparation*. 2nd Ed. Ronald Watson.

S

- SAHRAOUI. 2011. UN1901 laboratoire de pharmacognosie univ. encyeducation.com/uploads/1/3/1/0/13102001/pharm3an_pharmacognosie19_alcaloides.pdf

- ŠAPONJAC V T., and al.2016. Chapter 6: Detection of Bioactive Compounds in Plants and Food Products. In: Nedovic, Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food. Food Engineering Series.Springer International Publishing. Switzerland.
- SCHWARZ H., and al. 2007. Potential growth and biomass productivity of *Miscanthus_giganteus* as affected by plant density and Nfertilization in central Greece. *Biomass & Bioenergy*, 31, 2-3, 145 -152.
- SOFOWORA A. 1993. Mzdicinal plants and traditional medicine in Africa. Spectrum Books, Ibadan, 150.
- SPINOLA M.2016. Prise en charge de l'arthrose par les thérapeutiques alternatives et/ou complémentaires à l'allopathie (homéopathie – phytothérapie – aromathérapie compléments alimentaires). Thèse de Doc.: département Pharmacie : Université de Bourgogne, Unité de formation et de recherche des Sciences de Santé Circonscription Pharmacie.
- STÖCKIGT J., and al. 2002. Highperformance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoreticelectrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A*, 967,1, 85-113.

W

- WU L., and al.2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry*, 95, 2,319-327.

Résumé

Dans le cadre de la valorisation du potentiel médicinale des plantes algériennes nous nous sommes intéressés à l'étude d'une plante appartenant au genre *Tuberaria Lignosa* de la famille Cistaceae. Cette plante a été récoltée à Azazga (Tizi-Ouzou). Le rendement d'extraction de l'huile essentielle effectuée par hydrodistillation est très faible justifiant l'absence d'étude sur cet extrait. L'effet bactériologique de l'extrait de décoction, examiné par la méthode de l'anse calibrée révèle l'absence totale de germe. L'approche statistique par l'application de l'ACP sur les résultats expérimentaux des travaux antérieurs indique les conditions expérimentales pour l'obtention d'un bon rendement d'extraction des métabolites secondaires et a montré que cette espèce possède un effet scavenging vis-à-vis des radicaux DPPH, ABTS ainsi qu'un pouvoir réducteur, ces effets sont liés à la présence des flavonoïdes.

Mots clés : *Tuberaria Lignosa*, métabolite secondaire, extraction, analyse multidimensionnelle ACP, activité biologique.

Abstract

As part of the enhancement of the medicinal potential of Algerian plants, we were interested in the study of a plant belonging to the genus *Tuberaria Lignosa* from the Cistaceae family. This plant was collected in Azazga (Tizi-Ouzou). The extraction yield of the essential oil carried out by hydrodistillation is very low, justifying the absence by the study on this extract. The bacteriological effect of the decoction extract, examined by the calibrated loop method, reveals the total absence to germ. The statistical approach by the application of ACP on the experimental results to previous work indicates that the experimental conditions required to obtain a good extraction yield of secondary metabolites and has shown that this species has a scavenging effect with respect to the DPPH and ABTS radicals as well as a reducing power, these effects are linked to the presence of flavonoids.

Keywords: *Tuberaria Lignosa*, secondary metabolite, extraction, multidimensional analysis, ACP, biological activity.