



Université Mohamed Khider de Biskra
Sciences Exactes, Sciences de la Nature et de La Vie
Département des Science de la matière

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Réf. : /

Présenté et soutenu par :

Amira Arifi

Le : 02/06/2025

Etude des coumarines de la plante *Tilia cordata*

Jury :

Mme	Chérifa Boubékri	Professeur	Université de Med Khider Biskra	Présidente
Mr	Benakcha Rachid	MCB	Université de Med Khider Biskra	Rapporteur
Mr	Boukraa Aissam	MCA	Université de Med Khider Biskra	Examineur

Année universitaire : 2024/2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ
الرَّحِيمِ

Remerciements

« Et dis : Seigneur, accrois mes connaissances. »

Louange à Allah qui a enseigné à l'homme ce qu'il ne savait pas, et qui nous a comblés de Ses bienfaits apparents et cachés. Louange à Celui qui m'a inspiré la patience, m'a donné la force, et m'a permis de franchir cette étape sur le chemin du savoir et de la connaissance.

C'est avec des sentiments emplis de gratitude et de reconnaissance que j'adresse mes plus sincères remerciements à celui qui, après Dieu, a joué un rôle fondamental dans mon encadrement et mon orientation : Dr. Benakcha Rachid, mon honorable encadrant, pour le temps précieux qu'il m'a consacré, ses efforts inlassables, sa patience et sa confiance qui ont été pour moi un véritable moteur de persévérance.

Je tiens également à exprimer ma profonde reconnaissance à madame Boubékri Chérifa la présidente du jury, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de juger ce travail, ainsi qu'à l'examinateur Dr Boukraa Aissam pour leurs remarques scientifiques pertinentes qui ont enrichi le contenu de cette recherche.

Mes remerciements vont aussi à Dr. Attaf Abdallah, doyen de la Faculté de Biologie, ainsi qu'à Dr. Samir Zeroual, pour les moyens mis à ma disposition dans le laboratoire, leur soutien en période difficile, et leur accompagnement constant en faveur des étudiants et des chercheurs.

Je tiens à adresser ma profonde gratitude à Madame Zineb Koulaibi, responsable du laboratoire d'analyses microbiologiques à l'hôpital Hakim Saâdan, pour son accueil chaleureux, sa générosité et les conditions favorables qu'elle a offertes à la réalisation de la partie expérimentale de ce travail.

Un grand merci également à la responsable des laboratoires de chimie à l'Université Mohamed Khider – Biskra, pour sa collaboration, son encadrement scientifique bienveillant et son soutien continu.

Ma reconnaissance s'étend à l'Université de Batna 1 – Hadj Lakhdar ainsi qu'à l'Université Mohamed Khider – Biskra, pour m'avoir offert un espace propice à l'apprentissage et à la recherche tout au long de mon parcours académique.

À ma chère mère et à mon père bien-aimé, les premiers à m'avoir appris à tenir un stylo et à aimer le savoir... Merci pour votre amour, vos prières et vos sacrifices sans limite. Vous êtes la source de tout ce que j'ai accompli.

Je remercie également mes amies chères, pour leur présence constante à mes côtés, que ce soit dans le laboratoire ou sur les bancs de l'université.

Mes remerciements vont aussi à ma famille, mes sœurs et mon frère, pour leur amour, leur encouragement et leur soutien indéfectible.

Enfin, je remercie de tout cœur toutes les personnes qui m'ont soutenu de près ou de loin, par une prière, un mot, un geste ou un encouragement. Merci à tous mes enseignants, à tous les membres du personnel académique et administratif de l'Université Mohamed Khider – Biskra, pour leur contribution à mon parcours.

Que chacun trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de ma profonde gratitude.

Dédicace

À ceux qui ont donné un sens au commencement, et qui ont enveloppé chaque pas d'une certitude inébranlable, à ceux de qui j'ai appris que l'on comme un retour, mais comme l'aveu sincère de l'impuissance des mots à dire merci

À celles qui n'étaient jamais de simples compagnes de route, mais souvent, la route elle-même, mes amies, vous avez donné à ce parcours sa saveur, et aux épreuves leur légèreté. Vous étiez cette lumière invisible, mais suffisante pour que je continue d'avancer.

Et à la source de ma mémoire, au dernier bastion de mon calme, à ceux qui ont partagé mon toit, mon souffle, et mes traits... mon frère, mes sœurs, c'est dans votre présence que chaque instant a trouvé un sens.

Je vous dédie ce mémoire, non comme une fin, mais comme le prolongement de tout ce que vous avez semé en moi, et qui s'écrit aujourd'hui sous le nom de moi».

AMIRA

الملخص:

تتناول هذه الدراسة دراسة الكومارينات تيليا كورداتا التي تنتمي إلى عائلة مالفا سي وتقييم نشاطها المضاد للبكتيريا. تم استخدام فحص كيميائي لأجزاء مختلفة من النبات وكشفت النتائج عن ثراء النبات بالمركبات النشطة بيولوجيا. تم استخدام خليط مائي كحولي لاستخراج الكومارين من الأوراق ، يليه استخلاص سائل سائل باستخدام مذيبات مختلفة. أظهرت تقنية TLC وجود أنواع مختلفة من كومارين ، في حين أظهر التقييم المضاد للبكتيريا فعالية واضحة ضد المكورات العنقودية الذهبية والزائفة الزنجارية ، مع نشاط ضعيف ضد الإشريكية القولونية. تؤكد النتائج الفعالية المحتملة لهذا النبات كمضاد حيوي طبيعي مضاد للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: تيليا كورداتا ، الكومارين ، مستخلص نباتي ، كروماتوغرافيا طبقة رقيقة ، نشاط مضاد للجراثيم ، مستقلبات ثانوية.

Résumé :

Cette étude porte sur étude des coumarines de *Tilia cordata* appartenant à la famille des Malvacées et l'évaluation de son activité antibactérienne. Un examen chimique de diverses parties de la plante a été utilisé et les résultats ont révélé la richesse de la plante en composés biologiquement actifs. Un mélange hydroalcoolique a été utilisé pour extraire la coumarine des feuilles, suivi d'une extraction liquide-liquide à l'aide de divers solvants. La technique de ceux-ci a montré la présence de différents types de coumarine, tandis que l'évaluation antibactérienne a montré une efficacité claire contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec une faible activité contre *Escherichia coli*. Les résultats confirment l'efficacité possible de cette plante en tant qu'antibiotique antibactérien naturel.

Mots clés: *Tilia cordata*, coumarine, extrait de plante, chromatographie sur couche mince, activité antibactérienne, métabolites secondaires.

Abstract:

This study deals with the study of coumarin of *Tilia cordata* belonging to the Malvaceae family and the evaluation of its antibacterial activity. A chemical examination of various parts of the plant was used and the results revealed the richness of the plant with biologically active compounds. An aqueous-alcoholic mixture was used to extract coumarin from the leaves, followed by liquid-liquid extraction using various solvents. The technique of those showed the presence of different types of coumarin, while the antibacterial evaluation showed clear efficacy against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, with weak activity against *Escherichia coli*. The results confirm the possible effectiveness of this plant as a natural antibacterial antibiotic.

Key words: *Tilia cordata* , coumarin, plant extract, thin-layer chromatography, antibacterial activity, secondary metabolites.

Table des matières

REMERCIEMENT

DEDICACE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

ABREVIATIONS ET SYMBOLES

INTRODUCTION GENERALE	1
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	3
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA PLANTE <i>TILIA CORDATA</i>	4
I.1.INTRODUCTION :	5
I.2.HISTOIRE DES TILLEULS :	6
I.3. <i>TILIA CORDATA</i> :	8
I.4.CLASSIFICATION SCIENTIFIQUE DE LA PLANTE <i>TILIA CORDATA</i> :	9
I.5.ESPECES SIMILAIRES A <i>TILIA CORDATA</i> :	10
I.6.DESCRPTION BOTANIQUE :	11
I.7. REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET ZONES DE PROPAGATION:.....	13
I.8.L'IMPORTANCE ECOLOGIQUE DE <i>TILIA CORDATA</i> :	14
I.9.UTILISATION TRADITIONNELLE ET ECONOMIQUE :	15
I.9.1.EN MEDECINE POPULAIRE ALTERNATIVE:	15
I.9.2.L'UTILISATION DU BOIS DANS DIVERSES INDUSTRIES:	15
I.9.3.ARBRE D'ORNEMENT:	16
I.9.4.UTILISATION NUTRITIONNELLE DES FLEURS DE TILLEUL :	16
I.9.5.LE TILLEUL COMME PRINCIPALE SOURCE DE MIEL SPECIAL:	16
I.10. PROPRIETES CHIMIQUES ET PHARMACOLOGIQUES:	17
I.10.1. PROPRIETES CHIMIQUES :	17
I.10.1.1. les feuilles :	17
I.10.1.2.les fleurs :	18
I.10.1.3.l'écorce et le bois :	19
I.10.2. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES:	19
I.10.2.1.fleurs et feuilles de <i>Tilia cordata</i> :	19
I.10.2.2. Bois et des brindilles de <i>Tilia cordata</i> :	21
I.11.COMMENT SE PREPARER, DOSES DE CRISE ET DUREE D'UTILISATION (UTILISATION TRADITIONNELLE DE <i>TILIA CORDATA</i>):	21
I.11.1.COMMENT SE PREPARER:	21
I.11.2. DOSES DE CRISE ET DUREE D'UTILISATION :	21
I.11.2.1.doses de crise :	21
I.11.2.2.Durée d'utilisation :	22

I.12. RISQUES D'UTILISATION:	22
I.12. 1. SENSIBILISATION (ALLERGIE):	22
I.12. 2. TOXICITE CARDIAQUE (CARDIOTOXICITE):	22
I.13.LES COUMARINES DANS <i>TILIA CORDATA</i> :	22
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	24
CHAPITRE II : LES METABOLITES SECONDAIRES - LES COUMARINES	30
II.1. INTRODUCTION AUX METABOLITES SECONDAIRES :	31
II.1.1. DEFINITION DES METABOLITES SECONDAIRES :	31
II.1.2. DIFFERENCE ENTRE LES METABOLITES PRIMAIRES ET METABOLITES SECONDAIRES :	31
II.1.3. LE ROLE DES METABOLITES SECONDAIRES ECOLOGIQUES ET BIOLOGIQUES :	32
II.2. CLASSIFICATION DES METABOLITES SECONDAIRES :	32
II.2.1 ALCALOÏDES :	33
II - 2.2. TERPENES	35
II.2.3. POLYPHENOLS :	36
II.3 INTRODUCTION AUX COUMARINES	38
II.3.1 DEFINITION DES COUMARINES :	38
II.3.2 :HISTOIRE ET DECOUVERTE DES COUMARINES :	39
II.4.STRUCTURE CHIMIQUE ET CLASSIFICATION DES COUMARINES :	40
II.4.1.STRUCTURE DE BASE DES COUMARINES :	40
II.4.2. CLASSIFICATION DES COUMARINES :	40
II.5.BIOSYNTHESE DES COUMARINES :	43
II.5.1. VOIE DE SHIKIMATE ET FORMATION DES COUMARINES :	43
II.5.2. FACTURES INFLUENÇANT LA PRODUCTION DES COUMARINES DANS LES PLANTES :	45
II.6. SOURCE NATURELLE DES COUMARINES :	46
II.6.1.PLANTES RICHES EN COUMARINE ET SA DISTRIBUTION DANS LES TISSUS VEGETAUX :	46
II.6.2.AUTRE SOURCES BIOLOGIQUES DES COUMARINES :	47
II.7.METHODES D'EXTRACTION ET D'ANALYSE DES COUMARINES :	47
II.7.1.METHODES D'EXTRACTION :	47
II.7.2.METHODES D'ANALYSE :	49
II.8.ACTIVITES BIOLOGIQUES ET PHARMACOLOGIQUES DES COUMARINES :	50
II-9-APPLICATION DES COUMARINES :	52
II-10- LA TOXICITE DES COUMARINES :	53
CONCLUSION :	54
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	55
CHAPITRE III : METHODES ET MATERIELS	62
III.1.INTRODUCTION :	63
III.2.L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE :	63
III.2.1. RECOLTE DU MATERIEL VEGETAL :	63

III.2.2. PREPARATION DES ECHANTILLONS :	63
III.2.3. LE CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE DE L'ESPECE <i>TILIA CORDATA</i> (ANALYSE QUALITATIF) [03][04]:	65
III.2.3.1. Test de Flavonoïdes :	65
III.2.3.2. Test de Quinones:	65
III.2.3.3. Test de Coumarine:	65
III.2.3.4. Test de Tanins :	66
III.2.3.5. Test de Saponosides :	66
III.2.3.6. Test de Anthocyanes :	66
III.2.3.7. Test de Leucoanthocyanes :	66
III.2.3.8. Test de Stérols insaturés et terpènes :	66
III.2.3.9. Test de Caroténoïdes :	67
III.2.3.10. Test des alcaloïdes :	67
III.2.3.11. Test de l'amidon :	67
III.2.3.12. Test de Sucres réducteurs :	67
III.2.4. EXTRACTION DES COUMARINES :	67
III.2.4.1. Extraction solide-liquide :	67
III.2.4.2. Extraction liquide -liquide :	68
III.2.4.3. Évaporation des extraits :	72
III.2.5. ANALYSE ET CONTROLE PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM) :	73
III.2.5.1. Définition :	73
III.2.5.2. Principe :	73
III.2.5.3. Protocole expérimental :	73
III.2.6. L'ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS (HEXANE, DICHLOROMETHANE, ACETATE D'ETHYLE):	74
III.2.6.1. Les bactéries :	75
III.2.6.2. <i>Escherichia coli</i> :	76
III.2.6.3. <i>P. aeruginosa</i> :	76
III.2.6.4. <i>Staphylococcus aureus</i> :	77
III.2.6.5. Préparation des milieux de culture et d'inoculum:	79
III.2.6.8. Préparation des disques :	79
III.2.6.9. Préparation du milieu de culture pour le test :	79
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	81
CHAPITRE IV :RESULTATS ET DISCUSSION.....	83
IV.1. LE CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE DE L'ESPECE <i>TILIA CORDATA</i> (FEUILLES , GRAINES ET TIGES) :	84
IV.1.1. LES FLAVONOÏDES :	84
IV.1.1.1. les feuilles :	84
IV.1.1.2. les tiges :	85
IV.1.1.3. les graines :	85
IV.1.2. LES QUINONES:	86
IV.1.2.1. les feuilles :	86
IV.1.2.2. les tiges :	86
IV.1.2.3. les graines :	86
IV.1.3. LES COUMARINES :	87
IV.1.4. LES TANNINS :	89
IV.1.5. LES SAPONOSIDES :	90
IV.1.6. LES ANTHOCYANES:	91
IV.1.7. LEUCOANTHOCYANES :	92

IV.1.8.TEST DE STEROLS ET TERPENES :	93
IV.1.9.TEST DE CAROTENOÏDES :	95
IV.1.10.TEST DES ALCALOÏDES :	96
IV.1.11.TEST DE L'AMIDON :	97
IV.1.12. TEST DE SUCRES REDUCTEURS :	98
IV.2.DETERMINATION DU RENDEMENT D'EXTRACTION(R) :	101
IV.3.ANALYSE DES EXTRAITS PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM) :.....	103
IV.3.1. LES PLACES CCM (RESULTATS) :	103
IV.3.2. CALCULE DE FACTEUR DE RETENTION:	104
IV.4. L'ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS (HEXANE, DICHLOROMETHANE, ACETATE D'ETHYLE):.....	106
IV.4.1.BACTERIES PSEUDOMONAS (RESULTATS DES ANTIBIOGRAMMES) :	106
IV.4.2.ESCHERICHIA COLI (RESULTATS DES ANTIBIOGRAMMES) :	107
IV.4.2. STAPHYLOCOCCUS AUREUS(RESULTATS DES ANTIBIOGRAMMES) :	108
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	111
CONCLUSION :	112

Liste des figures :

Figure I -1 : Plante Tilia Cordata.....	9
Figure I -2: Branches et tronc de tilia cordata.	11
Figure I -3: feuilles de tilia cordata.....	12
Figure I -4: fleurs de tilia cordata.	12
Figure I -5 : fruits de tilia cordata.....	13
Figure I -6: Carte de répartition de Tilia cordata en Europe (JENSEN, 2003).	14
figure I -7 : formule chimique de scopolétine.	23
Figure II -1 : Classification des Métabolites Secondaires.	33
Figure II -2 : Structure de quelques alcaloïdes vrais.....	34
Figure II -3: Exemple des proto-alcaloïdes.	34
Figure II -4: Structures de quelques pseudo-alcaloïdes.	35
Figure II -5 : Structure de la molécule d'isoprène.....	35
Figure II -6: diagramme de la formule basale des espèces de terpènes avec le nom de chaque type.	36
Figure II -7 : principales familles de composés phénoliques.	37
Figure II -8 : formules de certains composés phénoliques.	38
Figure II -9: la plante Tonka (dipteryx ordo rata willd, fabaceae).	39
Figure II -10: Structure de base des coumarines.....	40
Figure II -11 : Structures de quelques furocoumarines linéaires et angulaires.	42
Figure II -12: Quelques exemples de pyranocoumarines.....	42
Figure II -13: Exemple de dicoumarines.	43
Figure II -14: Triumbéllatine.....	43
Figure II -15 : Biosynthèse des coumarines, formation du 3-déhydroshikimate.....	44
Figure II -16: Biosynthèse des coumarines, formation du chorismate.	44
Figure II -17 : Biosynthèse des coumarines, formation du phénylpyruvate.....	44
Figure II -18 : Biosynthèse des coumarines, formation de l'acide cinnamique et de l'acide p-coumarique.....	45
Figure II -19 : Biosynthèse des coumarines : étape finale, formation de la coumarine.	45
Figure II -20: Structures chimiques des principales classes de coumarines naturelles dans les aliments.....	47
Figure II -21 : Macération.	48
Figure II -22 : Représentation schématique d'un appareil d'extraction Soxhlet classique.	48
Figure II -23: Extraction de la coumarine par la technologie du dioxyde de carbone supercritique.....	49
Figure III -1 : Les graines de Tilia cordata avant et après broyage.....	64
Figure III -2 : les feuilles de Tilia cordata avant et après broyage.....	64
Figure III -3 : les tiges de Tilia cordata avant et après broyage.....	64
Figure III -5: le résidu d'extraction de tilia cordata.	68

Figure III- 4 : l'extrait obtenu.....	68
Figure III-5 : l'extraction liquide liquide par ampoule à décanter	69
Figure III-6: l'extraction liquide liquide de la phase aqueuse par hexane.....	70
Figure III-7 : l'extraction liquide liquide de la phase aqueuse par dichlorométhane.....	71
Figure III-8 : l'extraction liquide liquide de la phase aqueuse par l'acétate d'éthyle.	72
Figure III-9 : L'évaporateur rotatif pour éliminer les solvants organiques.	73
Figure III-10: Analyse par CCM.....	74
Figure III-11 : <i>Escherichia coli</i>	76
Figure III-12 : <i>P. aeruginosa</i>	77
Figure III-13: <i>Staphylococcus aureus</i>	78
Figure IV-1 : résultats des tests de flavonoïdes des feuilles de <i>tilia cordata</i> avant et après.	85
Figure IV-2 : résultats des tests de flavonoïdes des tiges de <i>tilia cordata</i> avant et après.	85
Figure IV-3 : résultats des tests de flavonoïdes des graines de <i>tilia cordata</i> avant et après.	86
Figure IV-4 : résultats des tests de quinones des graines et tiges et feuilles de <i>tilia cordata</i> avant et après.....	87
Figure IV-5: résultats des tests de coumarines des graines et tiges et feuilles de <i>tilia cordata</i> avant et après.....	90
Figure IV-6 : résultats des tests des tanins des graines et tiges et feuilles de <i>tilia cordata</i> avant et après.	91
Figure IV-7 : résultats des tests des saponosides des tiges et feuilles de <i>tilia cordata</i> avant et après.....	91
Figure IV-8 : résultats des tests des anthocyanes des tiges et feuilles de <i>tilia cordata</i> avant et après.....	92
Figure IV-9: résultats des tests Leucoanthocyanes des tiges et feuilles de <i>tilia cordata</i> avant et après.....	93
Figure IV-10 : résultats des tests Stérols et terpènes des tiges et feuilles et graines de <i>tilia cordata</i> avant et après.	95
Figure IV-11 : résultats des tests Caroténoïdes des tiges et feuilles et graines de <i>tilia cordata</i> avant et après.....	96
Figure IV-12: résultats des tests alcaloïdes des tiges et feuilles et graines de <i>tilia cordata</i> avant et après.	98
Figure IV-13 : résultats des tests amidons des tiges et feuilles de <i>tilia cordata</i> avant et après.	99
Figure IV-14 : résultats des tests Sucres réducteurs des tiges et feuilles et graines de <i>tilia cordata</i> avant et après.	100
Figure IV-15: les résultats de l'analyse CCM des extraits de <i>Tilia Cordata</i> par (hexane , dichlorométhane et acétate d'éthyle sous lumière UV (366 nm).	104
Figure IV-16 : résultats de antibiogramme de bactérie <i>pseudomonas</i>	106
Figure IV-17 : résultats de antibiogramme de bactérie <i>Escherichia coli</i>	107
Figure IV-18 : résultats de antibiogramme de bactérie <i>Staphylococcus aureus</i>	108

Liste des tableaux :

Tableau I-1: Espèces similaires à <i>Tilia cordata</i> .	10
Tableau I-2 : les composés chimiques des feuilles de <i>Tilia Cordata</i> .	17
Tableau I -3 : les composés chimiques de fleurs de <i>tilia cordata</i> .	18
Tableau I-4: Quelques composés des écorces et bois.	19
Tableau II-1: Structures de quelques coumarines.	41
Tableau III-1: les systèmes élution utilisés dans la séparation des coumarines sur CCM pour les extraits (hexane , dichlorométhane ,acétate éthyle).	74
Tableau III-2: protocole de dilution	80
Tableau IV-1 : résultats des tests préliminaire de mise en évidence de quelques métabolites secondaires des organes (tiges ,feuilles et graines)de <i>tilia cordata</i> .	101
Tableau IV-2: rendement d'extraction des extraits (hexane,dichlorométhane , acétate d'éthyle).	101
Tableau IV-3 : Facteur du retention R_f des composés des places CCM des extraits .	105
Tableau IV-4 : résultats des antibiogrammes des extraits sur bactérie <i>pseudomonas</i> (diamètre d'inhibition).	106
Tableau IV-5 : résultats des antibiogrammes des extraits sur bactérie <i>Escherichia coli</i> (diamètre des zones d'inhibition).	107
Tableau IV-6 : résultats des antibiogrammes des extraits sur bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> (diamètre des zones d'inhibition).	108
Tableau IV-7 : la sensibilité des bactéries pour les extrait	109

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
Glu	Glucose
UV	Ultraviolet
IR	Infrarouge
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
UHPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography
LC-MS	Liquid Chromatography–Mass Spectrometry
GC	Gas Chromatography
scCO ₂	Supercritical Carbon Dioxide
CMI	Concentration Minimal Inhibitrice
PT	Prothrombin Time
ABT	Temps de thromboplastine partielle activée
FDA	Food and Drug Administration
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health
CCM	Chromatographie sur couche mince
R _f	Facteur de rétention
E.coli	Escherichia coli
p.aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
s.aureus	Staphylococcus aureus
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique

Liste des symboles

Symbole	Signification
OH	Hydroxide
OCH ₃	Méthoxy
OH	Hydroxide
CHCl ₃	Le chloroforme –un solvant organique
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
FeCl ₃	Chlorure ferrique
NaOH	L'hydroxyde de sodium
NH ₄ OH	Hydroxyde d'ammonium
C ₂ H ₅ OH	Ethanol
HCl	Acide chlorhydrique
I ₂	iode



Introduction générale

Introduction générale

La santé est l'une des choses fondamentales qui intéressent l'homme depuis l'Antiquité. Il vit dans un environnement avec ses divers éléments qu'il influence et dont il est influencé négativement ou positivement. Parmi ces effets négatifs, il y a l'émergence de nombreux problèmes de santé et maladies, qui ont incité l'homme à rechercher des sources de traitement. Comme il comptait sur la nature pour sa nourriture et ses besoins, il s'est tourné vers elle pour trouver une solution à ce dilemme. C'est ainsi qu'est née la médecine dite traditionnelle.

La médecine traditionnelle fait référence aux pratiques, approches, connaissances et croyances en matière de santé qui incluent des médicaments à base de plantes, d'animaux et de minéraux, des techniques et des exercices manuels, appliqués individuellement ou en combinaison pour traiter, diagnostiquer, prévenir les maladies ou maintenir la santé [1] .

La majorité des composés actifs utilisés dans l'industrie pharmaceutique proviennent de plantes appelées plantes médicinales qui sont divers types de plantes utilisées en phytothérapie. Ces plantes contiennent un complexe de produits chimiques biologiquement actifs, qui sont souvent divisés en métabolites primaires et secondaires, qui ont un effet physiologique sur le corps humain. On les retrouve dans différentes parties de la plante (feuilles, fleurs, racines, tiges, graines) en quantités variables selon la nature de la plante. Ces plantes peuvent être plantées ou cultivées spontanément [2].

Les substances actives sont des composés chimiques naturellement présents dans les organismes vivants et les espèces végétales. Les substances inégales et qui n'ont pas les mêmes propriétés sont essentiellement des métabolites. Ils forment les éléments de base des médicaments en leur attribuant un effet thérapeutique. Ces substances sont présentes dans toutes les parties de la plante, où les récepteurs diffèrent d'une partie à l'autre quantitativement et qualitativement [3].

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques synthétisées par les plantes, les champignons, les bactéries et les animaux. Ils sont classés selon leur origine biologique (terpènes, composés phénoliques, alcaloïdes, coumarines, etc.). Différentes classes de ces composés sont souvent associées à un ensemble limité d'espèces au sein d'un groupe évolutif et forment le composé biologiquement actif dans de nombreuses plantes médicinales, aromatiques, colorées, épicées et aliments fonctionnels. Ils sont utilisés comme bases pour les médicaments [4].

Dans ce travail, nous avons étudié la plante médicinale (*Tilia cordata*) et l'extrait de coumarine de cette plante. Cette recherche se compose de quatre chapitres :

Le premier chapitre est consacré à l'étude de la plante *Tilia cordata*, son histoire, l'habitat de cette plante, sa répartition dans le monde, les composants et éléments constitutifs de l'arbre *Tilia cordata*, sa croissance, sa hauteur et ses utilisations.

Le deuxième chapitre est consacré à l'étude des métabolites secondaires et en particulier des coumarines appartenant à leurs types par leurs formules chimiques

Le troisième chapitre est consacré à l'étude de la méthode de criblage phytochimique de la plante *Tilia cordata* , analyse par chromatographie sur couche mince et techniques d'évaluation de l'activité *in vitro* antibactérienne et le dernier chapitre est consacré aux résultats et discussion.

Références bibliographiques :

- [01] Fokunang, C. N., Ndikum, V., Tabi, O. Y., Jiofack, R. B., Ngameni, B., Guedje, N. M., Tembe-Fokunang, E. A., Tomkins, P., Barkwan, S., Kechia, F., Asongalem, E., Ngoupayou, J., Torimiro, N. J., Gonsu, K. H., Sielinou, V., Ngadjui, B. T., Angwafor, F. III, Nkongmeneck, A., Abena, O. M., ... Kamsu-Kom. (2011). Traditional medicine: Past, present and future research and development prospects and integration in the national health system of Cameroon. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(3), 284–295. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v8i3.65276>
- [02] Al Shehri, S. H., Alhadlaq, R. A., BinMuhanna, K. I., Aldosri, N. S., & Alghamdi, M. A. (2022). A review of medicinal plants, their definition, uses, active ingredients and prevalence in the Kingdom of Saudi Arabia. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 11(12), 1–7. <https://www.ijsr.net/archive/v11i12/SR221213113547.pdf>
- [03] Benmansour, N. (2020). Étude physico-chimiques et applications de quelques extraits de plantes [Doctoral dissertation, Université Abou-Bekr Belkaid – Tlemcen]. Université Abou-Bekr Belkaid – Tlemcen, Laboratoire de Spectrochimie et Pharmacologie Structurale (LSPS).
- [04] Agostini-Costa, T. S., Vieira, R. F., Bizzo, H. R., Silveira, D., & Gimenes, M. A. (2012). Secondary metabolites. In L. de A. Meireles (Ed.), *Chromatography and its applications* (pp. 131–160). InTech. <https://doi.org/10.5772/35487>

Chapitre I : Généralités sur la plante *Tilia cordata*

I.1.Introduction :

Les tilleuls connus sont également connus sous le nom de *tilia* ou bois de tilleul [01] dérivé du mot grec "*Tilos*" qui signifie fibre végétale, en référence à l'écorce. Quant au nom de l'arbre en grec, c'est "*Philyra*". Une autre dérivation a été proposée par Henriksson (1911), qui a vu *Tilia* comme dérivée du mot grec "ptilon", qui signifie "Aile", en référence à la longue coquille inerte des graines de chanvre associées. En vieux norrois, le mot utilisé est "*Lind*", qui est dérivé du mot germanique "*Lindi*", qui signifie flexible et fait référence à l'écorce interne flexible du tilleul utilisée dans la fabrication de l'écorce de bois [02].

Le tilleul est une plante médicinale [03] appartenant à la famille des malvaceae [04] sous la famille des tiliceae [05,06] comprenant une trentaine d'espèces d'arbres, cinq sous-espèces, 25 sous-espèces et quatre hybrides (Slovakova et autres, 2012) [07]. Est un genre de feuilles tombantes [01] est naturellement répandue dans la plupart des régions de l'hémisphère nord tempéré d'Asie, d'Europe et d'Amérique du Nord [08]. Il se caractérise par des fleurs à l'arôme aromatique caractéristique et au léger goût muqueux-sucré [09], et son écorce unique. Ce sont des arbres d'ornement utilisés pour fournir de l'ombre avec leur forme d'ombre dense et attrayante [10].

Le tilleul pousse dans des sols frais à modérément humides, ou relativement légers, avec une teneur moyenne en humus, avec un pH modéré ou alcalin [05], le tilleul préfère les sites riches en calcium [04]. Le tilleul se régénère naturellement à l'ombre des arbres lorsqu'il est coupé dans des sols librement riches sous forme de grappes dans les forêts grâce à la reproduction végétative, ce qui est très important pour les grappes poussant en marge de leur habitat naturel. Cette capacité fait partie de sa stratégie de survie, ce qui lui permet de vaincre d'autres espèces. La production de nouvelles pousses prolonge la durée de vie du tilleul même lorsque les arbres plus âgés sont endommagés [05].

Le tilleul est très actif, adaptable aux changements environnementaux, capable de résister à la pollution [10], améliore l'écologie [04] et peut devenir l'espèce dominante dans les forêts mixtes d'Europe de l'Est (comme les forêts de tilleuls en Russie), et même des forêts de tilleuls claires peuvent être trouvées en fonction des conditions environnementales et de la situation géographique. Le tilleul peut être planté en mélange avec d'autres espèces d'arbres à feuilles larges telles que le hêtre, le chêne, l'érable, et se retrouve aussi parfois avec des conifères tels que le SAPIN royal, le pin sylvestre, le SAPIN royal et l'if. Dans les zones

humides, le tilleul est parfois planté mélangé à de l'orme, du frêne, du charme [05]. L'âge du tilleul peut atteindre plus de 1000 ans [04].

Les tilleuls sont généralement de grande ou moyenne taille. En Europe, les arbres *Tilia cordata* peuvent atteindre et *T. platyphyllum* à une hauteur de 40 mètres à l'état sauvage. Quant aux plus hauts tilleuls communs que l'auteur a trouvés en Suède, ils atteignaient 35 mètres (dans le parc de Lyckås dans la province de Smaland). La forme du tronc en coupe transversale varie considérablement ; chez certaines espèces communes de tilleul, il est rond même chez les arbres vivaces, tandis que chez d'autres, il est de forme irrégulière avec de larges saillies[06] , la plante de tilleul est associée à de nombreux symboles, fertilité en Europe, justice en Allemagne, amitié en Grèce [11] grâce à ses nombreuses utilisations dans diverses traditions et anciennes croyances des pays [12] . Ces arbres ont été utilisés en pharmacologie et en médecine traditionnelle en raison de leurs effets thérapeutiques dans de nombreuses maladies [04].

I.2.Histoire des tilleuls :

Krylov (1891, 1902) et d'autres auteurs russes (par exemple polozhye et krapivkina 1985; krapivkina 2009) considèrent que le tilleul fait partie des plantes des époques tertiaires restantes, sur la base de considérations phytogéographiques. Cela suggère que la lignée ancestrale de la classification actuelle des tilleuls dans la région pourrait remonter à plusieurs millions d'années. Les archives de *Tilia* sont beaucoup mentionnées dans les études granulologiques (palynologiques) sibériennes des époques du Trias, ainsi qu'à diverses périodes de l'ère glaciaire (Polikhovskaya et shchukov, 2014; Khlonov, 1965)[13] .

Le genre est également bien représenté dans les enregistrements polliniques sibériens de la période allant de la dernière période interglaciaire (il y a 125 mille ans) à avant la fin du dernier grand pic glaciaire (qui s'est terminé il y a environ 18-19 mille ans) (Polikhovskaya et Shukov, 2014; Markova et al., 2009; Tarasov et coll., 2005), bien que certains de ces enregistrements soient soupçonnés d'être le résultat de sédiments redéposés à partir de dépôts séculaires de la trilogie (amelin et blyakharchuk, 2016) [13] .

Alors que la plupart des grains de pollen de *Tilia* se trouvent entre les latitudes de 60° et 65° nord, un grain de pollen appartenant à *Tilia* a été trouvé aussi loin au nord que la mer de Laptev (à la latitude 74 ° nord), dans des dépôts datés d'il y a 7,2 mille ans (Naidina et Bauch, 2001), une période correspondant au pic climatique de l'Holocène [13] .

Des tilleuls communs (*Tilia × europaea* L) ont été plantés dans les jardins suédois à des fins architecturales depuis au moins le début du XVIIe siècle. Et à la fin de ce siècle, elle a souvent été choisie pour planter des rues dans des jardins de style baroque (Couch, 1992). De nombreux tilleuls plantés aux XVIIe et XVIIIe siècles subsistent encore aujourd'hui, mais ils ont souvent besoin d'être restaurés ou remplacés. Des instructions à ce sujet ont été données dans la Charte de Florence [06].

Depuis que l'homme a commencé à pratiquer une agriculture sédentaire, le tilleul est devenu un arbre important dans les prairies forestières. Ses feuilles étaient récoltées par élagage (surcoupe) en été, séchées et utilisées comme " foin à papier " comme aliment supplémentaire pour les vaches et autres animaux domestiques pendant l'hiver (Slotte, 2000). Dans certaines régions de Suède, ces traditions se sont poursuivies jusqu'à la Seconde Guerre mondiale (Emanuelson et Bergendorff, 1996). Les traditions d'élagage des arbres à des fins agricoles peuvent avoir influencé les techniques et les outils utilisés dans la taille des tilleuls dans les jardins Renaissance et baroques [06].

Dans le nord de la Belgique, aux Pays-Bas, dans certaines parties des régions germanophones à l'époque préhistorique et plus tard, le tilleul était largement utilisé comme arbre de village. Ces arbres étaient généralement plantés sur les places de marché des villages et faisaient partie de la mythologie préchrétienne. Il est probable que la grande majorité de ces arbres aient été abattus lorsque ces zones ont été christianisées, mais ils sont restés relativement communs jusqu'au XIXe siècle. Aujourd'hui, il n'en reste qu'un nombre très limité, et de tels arbres ne sont généralement pas formés de la manière originale [06].

Les tilleuls ont joué un rôle majeur en tant qu'élément architectural dans les parcs et les paysages urbains en Suède et dans d'autres pays européens, au moins au cours des quatre derniers siècles. Pendant la majeure partie du XVIIe siècle, les tilleuls ont été plantés seuls ou en petit nombre, cependant, vers la fin du XVIIe siècle et pendant la première moitié du XVIIIe siècle, le tilleul a été planté en grand nombre dans des jardins de style baroque. Plus tard, le tilleul est également devenu un arbre important dans les jardins du style naturaliste anglais. L'utilisation des tilleuls comme élément architectural au cours des XVIIe et XVIIIe siècles [06].

Un dessin réalisé en 1763 d'une rue de tilleuls nouvellement plantée au palais d'Ulriksdal près de Stockholm montre de nombreux aspects intéressants. Le rôle de la promenade en tant

que forme sociale est clairement visible, et la façon dont les jeunes arbres ont été élagués et attachés était parfaitement visible [06].

De nombreuses plantations de tilleuls qui ont maintenant environ 250 à 300 ans ont encore un grand nombre d'arbres indigènes. La mode de la culture du tilleul dans les jardins a été importée en Suède d'Europe continentale, mais dans de nombreux autres pays, les anciennes plantations de tilleul ont disparu. En temps de guerre, des arbres ont été abattus pour être utilisés comme combustible ou ont été affectés par d'autres activités de guerre. Et dans des pays comme les Pays-Bas, de nombreux anciens palais ont été modifiés ou détruits en raison de l'expansion urbaine. D'autres jardins ont également été modifiés par les propriétaires qui souhaitaient suivre les styles de jardins contemporains [06].

1.3. *Tilia cordata* :

Le tilleul à petites feuilles est un arbre à feuilles caduques à feuilles larges et de grande taille commun en Europe [14,15]. Scientifiquement connu sous le nom de *Tilia cordata*, c'est l'une des plus anciennes espèces d'arbres indigènes de Grande-Bretagne [16], et est également connu sous le nom de tilleul d'hiver [04]. Il est considéré comme l'un des arbres traditionnels plantés au centre des villages. *Tilia cordata* est l'espèce la plus répandue du genre *Tilia* dans les forêts européennes [17].

Cet arbre se distingue par sa grande taille, sa large couronne semi-ovale, ses feuilles souvent en forme de cœur avec un bord dentelé et une couleur vert foncé [16,18]. Le tilleul à petites feuilles est connu principalement par ses feuilles [19], il peut vivre des centaines d'années. Elle appartient à la famille des malvaceae [04,19]. Il est considéré comme très tolérant à l'ombre (Pigott, 1991) [20,21]. Il a aussi des fleurs odorantes [22].

L'arbre *Tilia cordata* est utilisé à des fins médicinales et traite de nombreuses maladies [23], c'est l'une des espèces les plus utilisées pour déterminer la stabilité de l'environnement et sol [24]. Il a fait l'objet de nombreuses recherches et de nombreuses publications ont couvert son histoire et son importance, en particulier dans la forêt de biovieja, soulignant la grande importance de cette espèce. Cet arbre est un favori dans l'aménagement paysager urbain en raison de sa grande esthétique [25], et c'est une espèce clé dans les forêts en raison de son importance dans l'adaptation au changement climatique [26] .



Figure I-1 :Plante *Tilia cordata*.

I.4.Classification scientifique de la plante *Tilia cordata* :

- Royaume: plantes
- Division: graines (Spermatophytes)
- Section: angiospermes (Magnoliophyta)
- Ordre: dicotylédones (Magnoliopsida)
- Rang: boulangers (Malvales)

- Famille: guimauves (Malvacées)
- Sous le genre: Tilioideae (tiliates)
- Genre : *Tilia*
- Type: *Tilia cordata*
- Nom scientifique complet: *Tilia cordata* Miller
- Synonymes scientifiques:
- *Tilia parvifolia* Ehrh.
- *Tilia cordifolia* Scop.
- Nom commun : tilleul à petites feuilles , tilleul des bois , tilleul d'hiver , ...[27, 28,29].

I.5.Espèces similaires à *Tilia Cordata* :

Tilia cordata présente des similitudes avec plusieurs autres espèces du genre *Tilia* qui comprend un certain nombre d'espèces de forme et de caractéristiques écologiques similaires, telles que *Tilia platyphyllos* et *Tilia tomentosa*. Le tableau (01) ci-dessous montre une comparaison des principales espèces similaires mettant en évidence leurs caractéristiques communes avec *Tilia cordata* [30].

Tableau I-1: Espèces similaires à *Tilia cordata*.

Espèce	Caractéristiques communes avec <i>Tilia cordata</i>	Caractéristiques déférents
<i>Tilia platyphyllos</i> [31]	Feuilles en forme de cœur, fleurs jaunes parfumées, arbre tempéré.	Feuilles plus grandes et rugueuses, floraison plus précoce.
<i>Tilia</i> × <i>europaea</i> [03, 05]	Feuilles cordiformes, arbre ornemental, croissance rapide.	Hybride stérile, combinaison des traits de <i>T. cordata</i> et <i>T. platyphyllos</i> .
<i>Tilia americana</i> [32,33,34]	Fleurs médicinales, bois tendre et léger.	Feuilles plus grandes, originaire d'Amérique du Nord.
<i>Tilia tomentosa</i>[12]	Feuilles en cœur, fleurs odorantes.	Feuilles argentées et duveteuses dessous, plus résistante à la sécheresse

<i>Tilia japonica</i> [08,15]	Feuilles cordiformes, fleurs médicinales.	Plus petit, originaire d'Asie de l'Est, plus résistant aux insectes.
---	---	--

I.6.Description botanique :

- **Caractéristiques générales de la plante:** un arbre à feuilles caduques à larges feuilles et de grande taille atteignant 30-40 m de haut, a un tronc droit d'un diamètre de 1 m. Branches latérales libres jusqu'à une hauteur de 10-15 mètres [14].
- **Couronne:** arbre pyramidal à elliptique [35,36].
- **Branches et tronc:** un tronc solide constitué de deux couches principales d'écorce interne (phloème) et d'écorce externe (liège) [25], des queues grises lisses et brillantes [21] devient gris-brun avec le temps [37] et avec des branches arquées et tombantes [36] répandues [22] de 35 à 50 pieds [38].



Figure I-2: Branches et tronc de *Tilia cordata*.

- **Caractéristiques foliaires:** feuilles à base en forme de cœur et à bout pointu[14,37], à bord finement dentelé[22] avec un nombre de 3 à 7 dents par centimètre dans la partie la plus large de la feuille [39], leur longueur est comprise entre 4,5 et 9 cm [40], leur surface supérieure est vert foncé brillant et la surface inférieure est de couleur plus claire[22,36] , Il y a des poils à l'aisselle des nervures sur la surface inférieure des

feuilles[14] brun rougeâtre [38,41] , représentant un trait caractéristique de *Tilia cordata*, les feuilles sont vertes au printemps et jaunes en automne [37] .



Figure I-3:feuilles de *Tilia cordata*.

- **Fleurs:** *Tilia cordata* fleurit pendant les mois de juin et juillet [40] avec des fleurs parfumées jaunes à blanches [37] , trouvées en grappes de 4 à 5 fleurs[14] , considérées comme des fleurs hermaphrodites [41].



Figure I-4: fleurs de *Tilia cordata*.

- **Fruits:** l'arbre commence à produire des fruits entre 30 et 40 ans [14] de petite taille, de forme sphérique [21] , à parois minces [42] faciles à écraser[43], de couleur brune à maturité[38] , utilisé dans la fabrication de tisane [37].



Figure I-5 :fruits de *Tilia cordata*.

I.7. Répartition géographique et zones de propagation:

Tilia cordata (tilleul d'hiver) pousse naturellement dans la majeure partie de l'Europe, où il est l'espèce de tilleul la plus abondante, concentrée principalement en Europe centrale et orientale[14], s'étendant jusqu'au centre de la Suède, au sud de la Norvège et en Finlande, à une latitude d'environ 63° nord, la limite déterminée par les températures estivales. Au sud, sa répartition atteint le nord de la péninsule ibérique et le nord de la Grèce, mais sa répartition y est limitée par les sécheresses estivales. D'Ouest en Est, il s'étend de l'Irlande du Nord jusqu'au fleuve Irtych en Russie centrale, en suivant les frontières de la steppe russe jusqu'à la mer Noire, avec une présence dans des régions aussi reculées que le Caucase et la Crimée [17].

Le tilleul d'hiver est une espèce continentale tempérée, pénétrant au nord et à l'est dans des régions à caractère climatique plus continental [04] , l'abondance de l'espèce apparaît sporadiquement en Europe occidentale (comme la France, la Belgique, le Royaume-Uni), augmentant progressivement en Europe centrale, culminant en Europe de l'Est (Pologne, Hongrie, Russie, etc.) où le climat est plus favorable. Dans la région méditerranéenne, sa présence est limitée aux sites montagneux humides, souvent à des altitudes supérieures à 300 mètres et sur les versants nord. Il continue également d'exister dans les forêts mixtes grâce à sa capacité à produire des pousses de tige[17,44].

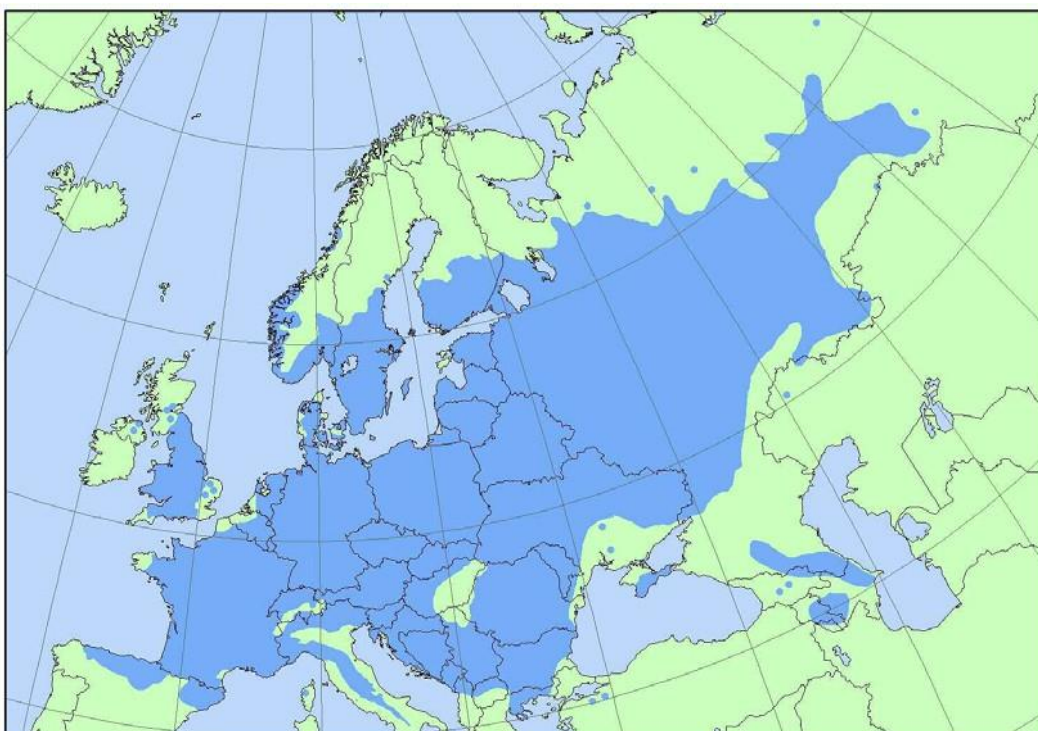


Figure I-6: Carte de répartition de *Tilia cordata* en Europe (JENSEN, 2003).

I.8.L'importance écologique de *Tilia cordata* :

Le tilleul à petites feuilles n'est pas seulement une espèce cultivable dans des conditions climatiques changeantes, mais il est un élément essentiel de la stabilité des écosystèmes forestiers et de la valorisation de leur biodiversité, comme en témoignent les éléments suivants :

- **Indicateur de forêts anciennes:** sa présence est un signe de forêts anciennes datant d'avant 1600 après jc, soulignant son rôle d'indicateur écologique d'écosystèmes historiques stables[14].
- **Grande flexibilité climatique:** il peut supporter des températures élevées jusqu'à 44°C et des températures extrêmement froides jusqu'à -45°C, ce qui le rend capable de s'adapter au réchauffement climatique attendu en Europe, ce qui en fait un candidat solide pour une expansion en Belgique. De plus, il n'est pas sensible aux gelées tardives grâce à son bourgeonnement tardif [45,46].
- **La capacité de pousser dans des conditions de sol difficiles:** il pousse sur plusieurs types de sols, est relativement tolérant à la sécheresse, ce qui le rend écologiquement résilient [14]. *Tilia cordata* pousse sur des sols pierreux ou forestiers remplis de gravel. Il résiste aux descentes abruptes grâce à son système racinaire profond, qui contribue à la stabilité du sol [45].

- **La capacité de régénération naturelle:** *Tilia cordata* caractérisée par sa grande capacité de régénération, en particulier lorsqu'elle est cultivée comme une plante qui peut être coupée et repousser, où elle peut vivre des centaines voire des milliers d'années, ce qui contribue à la durabilité de la végétation forestière [14].
- **Améliorer la biodiversité:** il fleurit avec des fleurs parfumées et remplies de nectar qui attirent de nombreux insectes pollinisateurs et fournissent également de riches habitats aux organismes vivants lorsqu'ils atteignent la maturité[45].
- **Améliorer la fertilité du sol:** les tilleuls produisent de la rosée de miel, qui nourrit le sol même avec 1 kg de sucres par mètre carré, stimulant l'activité des bactéries fixatrices d'azote, enrichissant le sol en azote et en phosphore[14,16].

I.9.Utilisation traditionnelle et économique :

I.9.1.En médecine populaire alternative:

les fleurs de tilleul, les feuilles, le bois, le charbon de bois sont utilisés à des fins médicinales, [14] largement dans la préparation du thé au tilleul, qui est l'un des remèdes traditionnels en médecine naturelle. Caractérisé par ses propriétés apaisantes, diaphorétiques et anti-inflammatoires, ce thé est particulièrement utilisé en cas de rhume accompagné de fièvre, car il aide à stimuler la transpiration et à réduire la chaleur. Le thé est également utilisé comme boisson préventive pendant l'hiver pour réduire l'incidence des infections respiratoires, et est également recommandé pour soulager les symptômes de maux de gorge, toux, pharyngite. Le thé peut être préparé en ajoutant des fleurs de tilleul séchées à de l'eau bouillante, en la buvant chaude[04,20], depuis le Moyen Âge, les fleurs de tilleul sont traditionnellement utilisées pour traiter les maux de tête, l'indigestion et la diarrhée. De nombreuses sources mentionnent que les fleurs étaient considérées comme efficaces dans le traitement de l'épilepsie, de sorte que l'on pouvait être guéri simplement en s'asseyant sous l'arbre. Utilisation dans les remèdes populaires européens[09].

I.9.2.L'utilisation du bois dans diverses industries:

Le bois de tilleul d'hiver est d'un blanc pur et doux, [15] Il a été utilisé jusqu'au milieu du XXe siècle, où il était en demande en raison du fait qu'il est léger, facile à utiliser, facile à colorer et à polir. Il a été utilisé dans la conception des intérieurs d'églises (tels que les autels et les statues), des cadres photo, des moules pour le moulage, des cercueils, des chaussures en bois, des prothèses, des planches à découper, des crayons. Les placages de bois étaient

également utilisés pour fabriquer le placage central en contreplaqué et en meubles [04], il était également utilisé pour fabriquer des tasses, des bols, des arts de la gravure, des bâtons de danse Morris[16]. Utilisé dans la fabrication de décorations, jouets, manches de pinceaux, cadres, stylos, allumettes, rouleaux. Il est également utilisé dans la fabrication d'instruments de musique et de sculpture[47]. Ruches[07].

I.9.3.Arbre d'ornement:

Les espèces de tilleul, y compris le tilleul à petites feuilles (*Tilia cordata*), sont utilisées dans le boisement urbain en raison de leur adaptabilité aux climats semi-arides, tels que les régions du Centre et du sud-est de l'Anatolie, de la mer Noire et de la Méditerranée. Il convient à l'embellissement et à l'ombrage des routes, places, parcs, zones résidentielles, cimetières, forêts urbaines, en raison de sa relative résistance à la sécheresse, à la pollution de l'air, au gel, ainsi que de son aspect esthétique et de sa capacité à fournir un environnement urbain sain et stable [23].

I.9.4.Utilisation nutritionnelle des fleurs de tilleul :

Les fleurs de tilleul sont répertoriées par le Conseil de l'Europe comme une source naturelle d'arôme alimentaire, car il est permis de les ajouter aux aliments en petites quantités, avec d'éventuelles restrictions sur les ingrédients actifs du produit fini. Les fleurs de tilleul étaient auparavant classées dans la liste des substances généralement reconnues comme sûres (GRAS), ce qui leur permet d'être utilisées dans la préparation sûre des aliments[09].

I.9.5.Le tilleul comme principale source de miel spécial:

Le miel de tilleul d'hiver est l'un des meilleurs types de miel au monde [33], où le tilleul, y compris le tilleul d'hiver, est une source importante pour la récolte de miel spécial (miel de tilleul) lorsque de grandes quantités d'arbres sont disponibles. Aujourd'hui, il n'y a pas de vastes forêts naturelles de tilleuls en Allemagne, mais en raison de la popularité de ces arbres dans les villes et au bord des routes, le miel de tilleul peut être récolté dans les zones urbaines. Pour cette raison, les apiculteurs professionnels placent leurs ruches dans des villes à forte densité de tilleuls, comme Berlin (rue Unter den Linden) ou Hambourg. Le miel de tilleul est une appellation légalement protégée du miel d'une certaine origine végétale.

Les conditions de production du "miel de race" sont précisées dans le règlement sur le miel et dans les "instructions pour le miel", qui font partie du livre alimentaire allemand. L'origine

végétale du miel est prouvée par l'analyse du pollen [04]. Le miel contient des traces de pollen de fleurs à partir desquelles le nectar a été collecté, car les abeilles les transportent lorsqu'elles sucent le nectar. Cependant, le pourcentage de pollen de tilleul dans le miel est faible, en raison de l'anatomie de la fleur: les fleurs pendent vers le bas, ce qui empêche beaucoup de pollen d'atteindre le nectar à la base de la fleur [01].

I.10. Propriétés chimiques et pharmacologiques:

I.10.1. Propriétés chimiques :

Tilia cordata (tilleul à petites feuilles) se caractérise par sa richesse en substances biologiquement actives [48], dans l'étude de la composition chimique de divers chercheurs de la plante de tilleul d'hiver, un ensemble de composés chimiques clés a été identifié dans divers organes végétaux tels que les feuilles, les fleurs et les tiges[25], comme indiqué ci-dessous:

I.10.1.1. les feuilles :

Les feuilles de *Tilia cordata* sont constituées de nombreux métabolites primaires et secondaires, il y a des composés qui ont été identifiés par les chercheurs et des composés qui n'ont pas encore été identifiés, dans le tableau(02) suivant les résultats les plus marquants.

Tableau I-2 :les composés chimiques des feuilles de *Tilia Cordata* [49,50].

Type de composé	composés chimiques
Flavonoïdes	Quercétine, kaempférol, téléroside, rutine, apigénine, coercétérine
Acides phénoliques	acide chlorogénique, acide caféique, acide férulique, acide p-coumarique, acide gallique
Huiles essentielles	linalol, alpha-pinène, bêta-caryophyllène, limonène
Coumarines	scobiolitine, bitelluroside (Quercétine-3-O-β-D-glucoside-7-O-α-L-rhamnoside)
Tanins	Tanins Condensés
Saponines	non spécifiques

Stéroïdes végétaux	non spécifiques
Alcaloïdes	non spécifiques
Autres composés	acide ascorbique (vitamine C), scopolétine, copiuloside.

I.10.1.2.les fleurs :

Les fleurs de *Tilia cordata* sont les plus anciennes utilisées dans la préparation du thé au tilleul, les chercheurs se sont donc concentrés sur l'étude de sa composition chimique et les composés chimiques identifiés ont été résumés dans le tableau (03) suivant:

Tableau I-3 :les composés chimiques de fleurs de *Tilia cordata*[05, 39,49].

Type de composé	composés chimiques
Flavonoïdes	kaempférol, quercétine, myricétine, téléroside, hyperoside, rutine, quercitrine, astragaline, téléracine, hespéridine
Acides phénoliques	acide caféique, acide chlorogénique, acide p-coumarique
Les tanins	sont des tanins condensés avec un rapport $\geq 2\%$.
Mucilage polysaccharides muqueux	de 3 à 10% contenant: arabinose, galactose, rhamnose, glucose, mannose, xylose, acide galacturonique, acide glucuronique.
Huiles volatiles	farnésol, linalol, géraniol, cinéole, stral, citronellal, citronello, eugénol, limonène, nérol, alpha-pinène, terpénol, alcanes, esters phénoliques.
Sucres et glucides	saccharose, glucose, rhamnose, arabinose, xylose, mannose, pentose, acide galacturonique, acide glucuronique.
Acides aminés	alanine, cystéine, isoleucine, leucine, phénylalanine, sérine
Saponines	saponines triterpéniques (non spécifiques au type).

Caroténoïdes	Carotène.
Graisses et acides gras lipides	acide linoléique.
Composés de cire supplémentaires,	substances visqueuses, substances amères, phytoncides, tocophérols (phytostérols), substances associées à la rutine et au rétinol, diverses enzymes

I.10.1.3. l'écorce et le bois :

Un groupe des principaux composés chimiques a été identifié dans l'écorce et le bois. Ces véhicules comprenaient ce qui est mentionné dans le tableau (04) suivant:

Tableau I-4: Quelques composés des écorces et bois[09,11,25].

Type de composé	composés chimiques
Acides phénoliques	acide caféique et ses dérivés
Composés phénoliques	tanins, phénol simple (fluoroglucinol)
Dérivés des sucres	acide ascorbique (vitamine C)
Glucides	holocellulose, cellulose, pentosanes
Autres composés	Lignine

I.10.2. Propriétés pharmacologiques:

I.10.2.1. fleurs et feuilles de *Tilia cordata* :

- **Propriétés antioxydantes:** Les fleurs contiennent des flavonoïdes, des composés connus pour leur capacité à résister aux radicaux libres, ce qui leur confère des propriétés antioxydantes [49,51].
- **Protection du foie (hépatoprotecteur):** Les flavonoïdes contenus dans les fleurs contribuent à la protection du foie contre les dommages[11,51].
- **Activité anti-inflammatoire locale (Anti-inflammatoire-Usage topique):**

Utilisé à l'extérieur pour le traitement des furoncles, des ulcères, des infections cutanées[09,51].

- **Activité antidiabétique:** Il a été déclaré que *Tilia cordata* était utilisé par 1% des patients diabétiques participant à l'étude comme préparation à base de plantes pour aider à contrôler la maladie, c'est-à-dire qu'il est utilisé comme traitement adjuvant du diabète sucré. Mais leur effet n'a pas été mentionné séparément, ils ont été inclus dans la liste des herbes utilisées par les patients[09].
- **Activité diaphorétique :** L'effet des fleurs et des feuilles de tilleul d'hiver sur les patients souffrant de rhume a été étudié. L'étude a montré que l'inhalation de la vapeur de l'extrait de fleur entraînait un soulagement des symptômes et une amélioration du bien-être par rapport au groupe témoin. Cela indique que la plante possède une activité stimulant la transpiration et est utile dans le traitement des affections respiratoires bénignes.[09].
- **Effets sur la croissance des lymphocytes (normaux et cancéreux):** Des extraits aqueux, éthanol, dichlorométhane de *Tilia cordata* ont montré des effets antiprolifératifs sur les cellules cancéreuses (lymphome BW5147), en stimulant l'apoptose. Sur les lymphocytes normaux, ces extraits ont inhibé la prolifération cellulaire stimulée par des stimuli (induits par les mitogènes), sans effet toxique, démontrant un effet inhibiteur non toxique. La scopolétine, un composé comarinique que l'on trouve principalement dans l'extrait avec du dichlorométhane, peut être partiellement responsable de cet effet (Barreiro et coll., 2006)[09].
- **Activité sédative et anti-anxiété:** L'extrait aqueux de *Tilia cordata* a montré une stimulation de la prolifération lymphocytaire à une concentration de 20 µg / ml. Cet effet est similaire à l'effet de Ro 5-4864 et PK 11195, qui indique l'interaction de l'extrait avec les récepteurs périphériques des benzodiazépines. (Anesini et coll., 1999). L'inhalation d'huile de tilleul a montré un effet sédatif prononcé chez la souris [09,48].
- **Activité antispasmodique et contractile-stimulante :** L'extrait à l'éthanol de *Tilia cordata* a induit des contractions des cellules musculaires lisses intestinales préparées, et l'effet a été inhibé par l'atropine, démontrant une réaction cholinergique (muscarinique) [09].
- **Antibactérien:** les fleurs ont des propriétés antibactériennes, en particulier contre certains types de bactéries pouvant provoquer des infections de la cavité buccale (Suciu et al., 1988)[52].
- **Antifongique:** il a été mentionné que les extraits alcooliques de fleurs possèdent des propriétés antifongiques[52].

- **Antiviral:** les fleurs peuvent contenir des propriétés antivirales, ce qui indique leur efficacité dans le traitement de certaines maladies virales[52].
- **Diurétique:** les fleurs aident à augmenter la production d'urine [49,52].
- **Réducteur de stress:** son utilisation dans la réduction du stress a été mentionnée[52].

I.10.2.2. Bois et des brindilles de *Tilia cordata* :

Le bois des brindilles est connu pour ses multiples bienfaits pour la santé, car il est utilisé comme antispasmodique pour les muscles lisses des vaisseaux digestifs, urinaires et sanguins, ainsi que comme activateur de la sécrétion biliaire (cholérétique), efficace pour nettoyer le corps des toxines (détoxifiant), en plus d'être un diurétique et un protecteur du foie. Il est également utilisé comme antirhumatismal, antihypertenseur, a un effet protecteur sur les vaisseaux sanguins [11].

I.11.Comment se préparer, doses de crise et durée d'utilisation (utilisation traditionnelle de *Tilia cordata*):

I.11.1.Comment se préparer:

- a) **substance végétale friable :** Dose unique: 1,5 g, dose quotidienne 3-6 g (iskisk L pour L KUB Kubis 2009, sup. 2010).1,5 g dans 150 ml d'eau bouillante 2 à 4 fois par jour (Blumenthal et al. 1998).
- b) **extrait liquide :** (1:1 dans 25% d'alcool) 2-4 ml par jour (HP 1976).
- c) **teinture :**(1:5 dans de l'alcool à 45%) 1 à 2 ml par jour (HP 1976).

I.11.2. doses de crise et durée d'utilisation :

I.11.2.1.doses de crise :

- **Adolescents, adultes et personnes âgées:**
 - a) **substance végétale friable (Tisane):** 1,5 g de friable. Substance à base de plantes dans 150 ml d'eau bouillante sous forme d'herbe .Infusion 2 à 4 fois par jour.Dose quotidienne: 3-6 g.
 - b) **extraction liquide. :**Dose unique: 2 ml, 1 à 2 fois par jour ; Dose quotidienne: 2-4 ml.
 - c) **teinture :** Dose unique: 1 ml, 1 à 2 fois par jour.
- **Enfants entre 4 et 12 ans:**

- a) **substance végétale friable(Tisane):** 1 g de substance végétale moulue dans 150 ml d'eau bouillante en infusion ,2 à 4 fois par jour. Dose quotidienne: 2-4 g.

I.11.2.2.Durée d'utilisation :

- a) **Référence 1 :**Le traitement doit commencer dès les premiers signes d'un rhume. Si les symptômes persistent pendant plus d'une semaine .Lors de l'utilisation du médicament, un médecin ou un professionnel de santé qualifié doit être Consultation.
- b) **Référence 2 :**Si les symptômes persistent pendant l'utilisation du médicament, un médecin ou des soins de santé qualifiés, un praticien doit être consulté [09].

I.12. Risques d'utilisation:

I.12. 1. Sensibilisation (allergie):

Une allergie au pollen en suspension dans l'air de *Tilia cordata* a été observée chez environ 11,4% des enfants ayant subi un test d'allergie cutanée (Loureiro et al. 2005), certaines réactions allergiques ont été rapportées, mais leur fréquence est inconnue[09].

I.12. 2. Toxicité cardiaque (cardiotoxicité):

On a mis en garde contre l'utilisation de fleurs de tilleul d'hiver chez les personnes atteintes d'une maladie cardiaque (Duke 1985), car une utilisation excessive peut entraîner des effets toxiques sur le cœur. Il n'y a pas suffisamment de données scientifiques pour étayer ces avertissements avec certitude (Barnes et al. 2007)[09].

I.13.les coumarines dans *Tilia cordata* :

Tilia cordata, ou tilleul à petites feuilles, est une plante médicinale traditionnelle de haute valeur thérapeutique, car elle est connue depuis l'Antiquité pour son utilisation en médecine populaire pour le traitement de nombreuses maladies. Il contient de nombreux composés actifs tels que des composés phénoliques, des flavonoïdes, des huiles essentielles, en plus des composés coumariniques, parmi lesquels se distingue la scopolétine, avec une activité biologique importante[49].

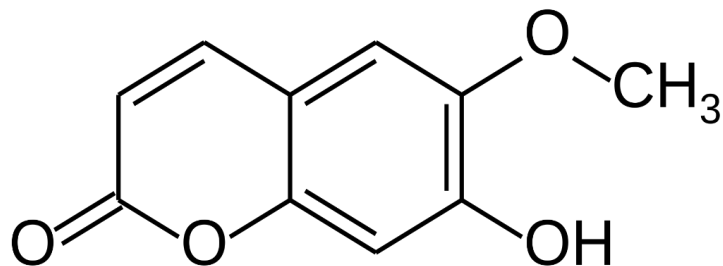


Figure I-7 : formule chimique de scopolétine.

L'importance de cette plante se distingue par le fait qu'elle est une source naturelle prometteuse de coumarines, caractérisées par de multiples propriétés pharmacologiques, notamment une activité antioxydante, anti-inflammatoire, antitumorale et antibactérienne **49,53**]. Par conséquent, l'étude de la composition chimique de *Tilia cordata*, la détermination de sa teneur en coumarines, représente une étape essentielle vers son évaluation dans les domaines pharmaceutique et de la recherche, ce qui justifie son choix comme modèle biologique dans ce travail de laboratoire.

Références bibliographiques :

- [01]: Weryszko-Chmielewska, E., & Sadowska, D. A. (2010). The phenology of flowering and pollen release in four species of linden (*Tilia* L.). *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 54(2). Department of Botany, University of Life Sciences in Lublin.
- [02]: Kentucky Cooperative Extension Service. (n.d.). *Tilia americana* (American Linden): Linden family (Tiliaceae). Funded by Kentucky Division of Forestry.
- [03]: Cotrim, M. D., Figueiredo, I. V., Cavadas, C., Proença da Cunha, A., Caramona, M. M., & Macedo, T. R. A. (1999). Pharmacological properties of *Tilia europaea* aqueous extract: Screening anxiolytic/sedative activity in mice. *ARQ. PAroL*, 31, 23–29.
- [04]: Bayerische Landesanstalt für Wald und Forstwirtschaft. (2016). *Berichte der Bayerischen Landesanstalt für Wald und Forstwirtschaft*. Herausgeber Olaf Schmidt. Freising: Bayerische Landesanstalt für Wald und Forstwirtschaft. <https://www.lwf.bayern.de> .
- [05]: Radoglou, K., Dobrowolska, D., Spyroglou, G., & Nicolescu, V. N. (2008). A review on the ecology and silviculture of limes (*Tilia cordata* Mill., *Tilia platyphyllos* Scop. and *Tilia tomentosa* Moench.) in Europe (29 pp.). COST Office. <http://www.valbro.uni-freiburg.de> .
- [06]: Bengtsson, R. (2005). Variation in common lime (*Tilia* × *europaea* L.) in Swedish gardens of the 17th and 18th centuries [Doctoral dissertation, Swedish University of Agricultural Sciences]. SLU Repository.
- [07]: Rumiantsev, M., Luk'yanets, V., Kobets, O., Obolonyk, I., Tarnopilska, O., Pozniakova, S., Musienko, S., & Tupchii, O. (2021). Distribution and natural regeneration of *Tilia cordata* Mill. in Ukrainian plain forests in a changing climate. *Folia Forestalia Polonica, Series A – Forestry*, 63(2), 125–137. <https://doi.org/10.2478/ffp-2021-0014> .
- [08]: Delnavazi, M. R., Shahabi, M., & Yassa, N. (2015). Flavonoids from the leaves of Iranian Linden; *Tilia rubra* subsp. *caucasica*. *Research Journal of Pharmacognosy (RJP)*, 2(3), 17–22.

- [09]: European Medicines Agency. (2012, May 22). Assessment report on *Tilia cordata* Miller, *Tilia platyphyllos* Scop., *Tilia x vulgaris* Heyne or their mixtures, flos (EMA/HMPC/337067/2011). Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Based on Article 16d(1), Article 16f, and Article 16h of Directive 2001/83/EC as amended (traditional use).
- [10]: Khavaninzadeh, A. R., Veroustraete, F., Buytaert, J. A. N., & Samson, R. (n.d.). Leaf injury symptoms of *Tilia* sp. as an indicator of urban habitat quality. *Ecological Indicators*. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.109482>
- [11]: Myrtéa Formations. (2020). Monographie: *Tilia cordata* – *Tilia platyphyllos* (Version 200515, pp. 1–6). Myrtéa Formations. <https://www.myrtea-formations.com>.
- [12]: Țenche-Constantinescu, A. M., Madoșa, E., Chira, D., Hernea, C., Țenche-Constantinescu, R. V., Lalescu, D., & Borlea, G. F. (n.d.). *Tilia* spp. – Urban trees for future. Banat’s University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine “King Michael I of Romania” from Timișoara.
- [13]: Logan, S. A., Chytrý, M., & Wolff, K. (2018). Genetic diversity and demographic history of the Siberian lime (*Tilia sibirica*). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2018.04.005> .
- [14]: Eaton, E., Caudullo, G., & de Rigo, D. (2016). *Tilia cordata*, *Tilia platyphyllos* and other limes in Europe: Distribution, habitat, usage and threats. In G. San-Miguel-Ayanz, D. de Rigo, J. Oliveira Sousa-Silva, & K. M. Houston Durrant (Eds.), *European Atlas of Forest Tree Species* . Publications Office of the European Union.
- [15]: Gilman, E. F., & Watson, D. G. (n.d.). *Tilia cordata* ‘Greenspire’: ‘Greenspire’ Littleleaf Linden. UF/IFAS Extension, University of Florida. Retrieved from <https://edis.ifas.ufl.edu> .
- [16]: Deepdale Trees Ltd. (s.d.). *Tilia cordata*: Small leaved lime / Small leaved linden. Deepdale Trees Ltd. <https://www.deepdale-trees.co.uk> .
- [17]: De Jaegere, T., Hein, S., & Claessens, H. (2016). A review of the characteristics of small-leaved lime (*Tilia cordata* Mill.) and their implications for silviculture in a changing climate. *Forests*, 7(3), 56. <https://doi.org/10.3390/f7030056> .

- [18]: City of Portland, Oregon. (n.d.). Lindens. Portland.gov. <https://www.portland.gov>.
- [19]: Egyptian Drug Authority. (2023). Egyptian herbal monograph: Medicinal plants used in Egypt, Volume 3. Egyptian Drug Authority.
- [20]: Radoglou, K., Dobrowolska, D., Spyroglou, G., & Nicolescu, V.-N. (2009). A review on the ecology and silviculture of limes (*Tilia cordata* Mill., *Tilia platyphyllos* Scop., and *Tilia tomentosa* Moench.) in Europe. *Die Bodenkultur*, 60(3), 9.
- [21]: Parc naturel régional du Golfe du Morbihan. (2024). Reconnaître les arbres du littoral du golfe du Morbihan. Une autre vie s'invente ici, 71p
- [22]: North Dakota State University. (n.d.). Littleleaf Linden | NDSU Agriculture. <https://www.ndsu.edu/agriculture/extension/publications/littleleaf-linden>.
- [23]: Ağırman Han, Ö., & Üçler, A. Ö. (2023). The importance of Linden (*Tilia* sp.) in terms of carbon sequestration: Perspective in the world and in Türkiye [Poster presentation]. International Conference on Environmental, Life and Material Sciences (ICELIS). <https://doi.org/10.61326/icelis.2023.52> .
- [24]: Baranov, S. G. (2014). Use of morphogeometric method for study fluctuating asymmetry in leaves *Tilia cordata* under industrial pollution. *Advances in Environmental Biology*, 8(7), 2391–2398. <http://www.aensiweb.com/aeb.html> .
- [25]: Kusiak, W., Majka, J., Zborowska, M., & Ratajczak, I. (2022). Chemical composition and related properties of lime (*Tilia cordata* Mill.) bark and wood as affected by tree growth conditions. *Materials*, 15(11), 4033. <https://doi.org/10.3390/ma15114033> .
- [26]: Waldwissen.net. (n.d.). Winterlinde [PDF]. <https://www.waldwissen.net> .
- [27]: AWAF. (s.d.). Tilleul à petites feuilles – Fichier écologique des essences. Association pour l'Agriculture Wallonne et Forestière. https://www.awaf.be/haies/fiches_esp%C3%A8ces/FEE-TC.pdf .
- [28]: Boomkwekerij Gebr. Van den Berk B.V. (2025). *Tilia cordata* 'Boehlje'. <https://www.vdberk.com/trees/tilia-cordata-boehlje/>.
- [29]: Plandanjou SA. (2025, April 29). *Tilia cordata*. Plandanjou. <https://www.plandanjou.com>

- [30]: Eriksson, G., & Clapham, D. (2024). *Tilia* species: Recent genetic research. Uppsala: Author.
- [31]: Natural Health Product. (2023). Linden – *Tilia*. Monograph for the preparation of product licence applications (PLAs) and labels for natural health product market authorization. March 31, 2023.
- [32]: Gilman, E. F., & Watson, D. G. (1994, October). *Tilia americana*: American Linden (Fact Sheet ST-634). University of Florida, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences.
- [33]: North Dakota State University. (n.d.). American Linden or Basswood [PDF]. NDSU Agriculture. https://www.ag.ndsu.edu/treehandbook/pdf/American_Linden.pdf .
- [34]: City of Ann Arbor. (n.d.). 10,000 Trees Initiative: American Linden (*Tilia americana*). Retrieved May 11, 2025, from <https://www.a2gov.org/10ktrees> .
- [35]: Ellison, D. (Content development), & Cameron, M. (Tree form illustrations). (n.d.). Smart tree selections for communities and landowners: Little-leaf Linden, *Tilia cordata*.
- [36]: Cerema. (2020). Tilleul à petites feuilles – *Tilia cordata*. In Fiches espèces SESAME : Services EcoSystémiques rendus par les Arbres, Modulés selon l'Essence. Cerema, Ville de Metz, & Metz Métropole. <https://www.cerema.fr/fr/actualites/sesame-projet-innovant-arbres-arbustes-urbains-adaptation>.
- [37]: Pépinières Baudat S.A. (n.d.). *Tilia cordata* – Tilleul à petites feuilles [Brochure produit]. Romanel-sur-Lausanne, Suisse: Pépinières Baudat S.A.
- [38]: Gilman, E. F., & Watson, D. G. (1994, October). *Tilia cordata*: Littleleaf Linden (Fact Sheet ST-637). University of Florida, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences.
- [39]: Phuekvilai, P. (2014). Relicts, refugia and reticulation: A study of population history, hybrids and phylogeny in the long-lived flowering tree genus *Tilia* (Doctoral dissertation, Newcastle University).
- [40]: Forest Ecology and Forest Management Group. (n.d.). *Tilia cordata* Mill.: Tree factsheet (Images on pp. 3–5).

[41]: OmniBota. (n.d.). *Tilia cordata* Mill. – Fiche : 51964. Retrieved from <https://omnibota.com>.

[42]: Barengo, N. (2001). Tilleul à grandes feuilles (*Tilia platyphyllos* Scop.) – Tilleul à petites feuilles (*Tilia cordata* Mill.). Projet Favoriser les essences rares. Chaire de sylviculture, EPFZ; Direction fédérale des forêts, OFEFP.

[43]: Barengo, N., Rudow, A., & Schwab, P. (2001). Projet Favoriser les essences rares: Tilleul à petites feuilles – *Tilia cordata* Mill. Fiche signalétique. EPFZ/OFEFP.

[44]: Pigott, C. D., & Huntley, J. P. (1981). Factors controlling the distribution of *Tilia cordata* at the northern limits of its geographical range: Nature and causes of seed sterility. *New Phytologist*, 87, 817–839.

[45]: Tasseroul, M.-P., Latte, N., & Claessens, H. (n.d.). Le tilleul à petites feuilles: Un atout indéniable pour faire face aux changements globaux présents et à venir. Gembloux Agro-Bio Tech - Université de Liège.

[46]: Barker, C., Davis, M. L., & Ashton, P. (2022). Reproductive strategy of a temperate canopy tree *Tilia cordata* Mill. (Malvaceae) is related to temperature during flowering and density of recent recruits. *Tree Genetics & Genomes*, 18(22). <https://doi.org/10.1007/s11295-022-01553-y>.

[47]: Centre Régional de la Propriété Forestière de Bretagne. (s.d.). Le Tilleul à petites feuilles (*Tilia cordata*) judiciables. CRPF Bretagne. <https://www.crpf.fr/bretagne>.

[48]: Veselova, D. V., & Stepanova, E. F. (n.d.). The use of *Tilia cordata* flowers in contemporary medicine [Использование в современной медицине цветков липы сердцевидной]. Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – Branch of Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia.

[49]: Wissam, Z., Nour, A. A., Bushra, J., Zein, N., & Saleh, D. (2017). Extracting and studying the antioxidant capacity of polyphenols in dry linden leaves (*Tilia cordata*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(3), 258-262. E-ISSN: 2278-4136, P-ISSN: 2349-8234.

[50]: Mitic, M., Jankovic, S., Mitic, S., Kocic, G., Maskovic, P., & Dukic, D. (2020). Optimization and kinetic modelling of total phenols and flavonoids extraction from *Tilia*

cordata M. flowers. Department of Chemistry, Faculty of Sciences and Mathematics, University of Nis, Serbia. (Manuscript received May 8, 2020; revised September 30, 2020; accepted October 16, 2020).

[51]: Carlin, G. (n.d.). Linden tree (*Tilia* species): The bee tree.

[52]: Bayrak Özbucak, T., Ergen Akçin, Ö., & Ertürk, Ö. (2013). The change in ecological, anatomical and antimicrobial properties of the medicinal plant *Tilia rubra* DC. subsp. *caucasica* (Rupr.) V. Engler along an elevational gradient. *Pakistan Journal of Botany*, 45(5), 1735-1742.

[53]: Szűcs, Z., Cziáky, Z., Volánszki, L., Máthé, C., Vasas, G., & Gonda, S. (2024). Production of polyphenolic natural products by bract-derived tissue cultures of three medicinal *Tilia* spp.: A comparative untargeted metabolomics study. *Plants*, 13(10), 1288. <https://doi.org/10.3390/plants13101288> .

Chapitre II : Les métabolites secondaires - les coumarines

II.1. Introduction aux métabolites secondaires :

L'utilisation médicale des ressources naturelles telles que les champignons, les plantes et les animaux remonte à la préhistoire [01], où ils ont joué un rôle central dans diverses cultures[02]. Ces sources ont été utilisées comme moyen de traiter les maladies et les blessures car elles contiennent des composés naturels aux propriétés pharmacologiques qui ont joué un rôle important dans la découverte et le développement de médicaments, ces composés sont appelés métabolites secondaires [01,03]. Les plantes produisent une grande variété de ces composés [04]. L'utilisation de métabolites secondaires végétaux remonte à 2600 av. Les scientifiques modernes se sont intéressés à l'étude de ces derniers dans la soi-disant chimie des plantes pour découvrir et comprendre ces composés.[05,06].

II.1.1. Définition des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des composés que l'on trouve principalement dans les plantes, où ils sont connus comme l'interface entre la plante et son environnement [04]. C'est-à-dire qu'il s'agit d'un moyen d'adaptation à diverses conditions de stress[07], car il contribue à la protection de la plante contre les microbes, les herbivores et d'autres organismes vivants. Il est aussi la base de fonctions végétales aussi importantes que la croissance et le développement [03]. Il est utilisé par l'homme comme source de médicaments et d'arômes, de parfums et de nombreux autres usages [04]. Les métabolites secondaires sont de petites molécules organiques créées à partir de métabolites primaires au cours du métabolisme chez les plantes et ont généralement des masses moléculaires inférieures à 3000 Daltons[06].

II.1.2. Différence entre les métabolites primaires et métabolites secondaires :

Les métabolites primaires et secondaires jouent un rôle vital dans la croissance et la survie des espèces végétales. Cependant, ils sont différents dans leurs propriétés et leur rôle, ainsi que dans la façon dont ils sont produits par la plante, la différence entre eux est la suivante : métabolites primaires : protéines, lipides, glucides, acides aminés, vitamines. Ces composés contribuent directement aux processus cellulaires de base tels que la division cellulaire, la respiration et la photosynthèse.

En revanche, divers métabolites secondaires ont des rôles multifonctionnels, où ils sont principalement impliqués dans la défense et les interactions avec l'environnement, ils contribuent également à la couleur de la plante, son odeur, sa saveur, ainsi qu'à la croissance de la plante en termes de nombre de feuilles, de surface foliaire, Hauteur et productivité de la plante[05].

II.1.3. Le rôle des métabolites secondaires écologiques et biologiques :

Les métabolites secondaires sont devenus l'un des composés indispensables pour leur grande importance. Ils sont considérés comme des substances défensives utilisées par la plante pour se protéger des organismes vivants tels que les microbes, les parasites, les insectes et autres, ce qui améliore sa capacité à survivre dans divers environnements tels que les phytoalexines et les flavonoïdes. D'autre part, il existe des métabolites secondaires qui attirent les insectes à des fins de pollinisation et d'autres fonctions vitales, ils constituent un mécanisme de communication des plantes avec l'environnement [05] .

Les métabolites secondaires ont un rôle majeur dans le développement des espèces végétales, car ils régulent les processus physiologiques de la plante, tels que leur effet sur la croissance des racines après les plaies et les stomates, contrôlant le niveau d'oxygène réactif (par les flavonoïdes), Plus loin sur les stades de développement du pollen ,c'est aussi un moyen de résister aux conditions climatiques, les esters de cinabre protègent la plante des rayons ultraviolets[05].

les métabolites secondaires ont une grande valeur économique à notre époque en raison de leur polyvalence dans divers domaines de la vie, en particulier dans le domaine de la santé[08].Les métabolites secondaires ont été utilisés à des fins médicinales, des poisons et en nutrition comme arômes, ainsi que du côté cosmétique , et donc l'intérêt pour ces composés augmente et la recherche sur eux augmente, ils représentent le principal pilier de la recherche pharmacologique encore aujourd'hui car ce sont des composés complexes qui ne peuvent pas être facilement synthétisés industriellement [06].

II.2. Classification des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont présents à l'état de traces dans les parties de la plante [09].Plus de 50 000 métabolites secondaires ont été découverts dans le règne végétal et de nombreuses herbes médicinales et médicaments s'appuient sur ces composés dans leurs travaux, les recherches se poursuivent dans l'espoir de découvrir de nouveaux composés secondaires pour de nouveaux produits ou des approches innovantes pour le traitement des maladies [10].Les métabolites secondaires des plantes peuvent être classés en trois groupes principaux en fonction de la voie métabolique par laquelle ils sont produits : les composés phénoliques , les terpènes et les stéroïdes , les alcaloïdes[06] (figure II-1).

<p>Terpénoïdes</p> <p>Origine: Voie de l'acide mévalonique</p> <p>Exemples: Huiles essentielles, caroténoïdes, saponines</p> <p>Fonctions: Défense, attractifs pour pollinisateurs</p>
<p>Composés Phénoliques</p> <p>Origine: Voie du shikimate ou du malonate</p> <p>Exemples: Flavonoïdes, tannins, anthocyanines</p> <p>Fonctions: Défense contre UV, attractifs pour pollinisateurs</p>
<p>Composés Azotés (Alcaloïdes)</p> <p>Origine: Biosynthèse à partir d'acides aminés</p> <p>Exemples: Morphine, nicotine, quinine</p> <p>Fonctions: Défense, applications médicales</p>

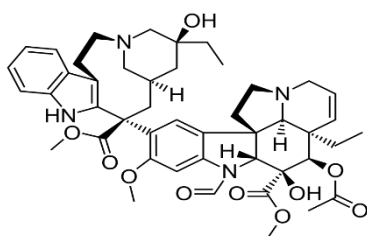
Figure II-1 : Classification des Métabolites Secondaires.

II.2.1 Alcaloïdes :

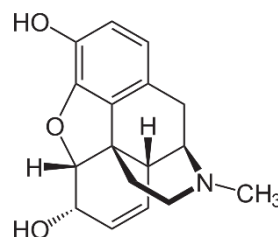
Ils constituent un groupe de métabolites secondaires qui contiennent un atome d'azote dans leur formule chimique ,proviennent de plantes et d'autres organismes vivants , comprennent la plupart des composés azotés à l'exception des acides aminés simples, des protéines et des substances azotées qui appartiennent à des composés polycétidiques tels que les antibiotiques aminoglycosides selon la définition de Buckingham, 2000 [11] , ces récepteurs sont connus pour leur large activité biologique ,où ils sont utilisés pour traiter le cancer et l'inflammation , les antagonistes et tranquillisants opiacés et les maladies virales telles que le VIH et les insecticides. Le nombre d'alcaloïdes détectés atteint 27783 alcaloïdes enregistrés dans le système DNP, Ce système de classification est basé sur l'origine biogénétique[12].

De nombreux scientifiques ont proposé divers systèmes de classification des alcaloïdes, et parmi ces systèmes, il existe une classification commune qui classe les alcaloïdes en trois classes principales :

- **Alcaloïdes vrais** : composés dérivés d'acides aminés contenant un cycle hétérocyclique contenant un atome d'azote [11]. Ils sont considérés comme des agents anticancéreux, ils ont également un effet antiviral (antipaludéen à la quinine) et agissent comme analgésiques (morphine, codéine)[13].



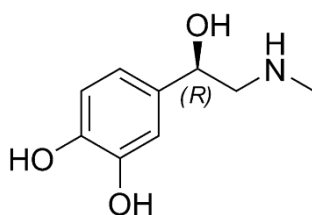
▪ Vincristine



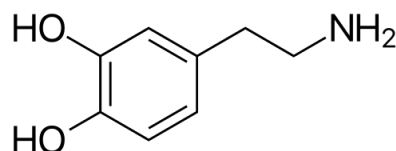
Morphine

Figure II-2 : Structure de quelques alcaloïdes vrais.

Les proto-alcaloïdes : Les proto-alcaloïdes sont des composés dérivés d'acides aminés qui contiennent un cycle hétérocyclique, de sorte que l'atome d'azote à l'extérieur du cycle a une activité antibactérienne et antifongique. Il a un effet sur le système nerveux.[11,13].



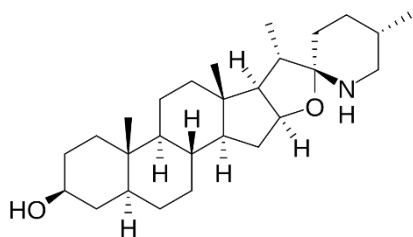
▪ Adrénaline



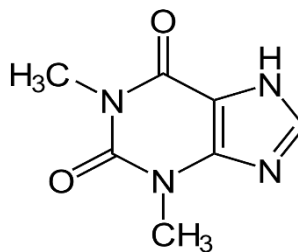
Dopamine

Figure II-3: Exemple des proto-alcaloïdes.

- **Les pseudo-alcaloïdes** : Les faux alcaloïdes sont des composés qui ne sont pas dérivés d'acides aminés, contenant un atome d'azote dans leur formule chimique [11] ont une activité antimicrobienne et des propriétés antidiabétiques et anticancéreuses[13].



Tomatidine



Theophylline

Figure II-4: Structures de quelques pseudo-alcaloïdes.

II • 2.2. Terpènes

Les terpènes sont une vaste classe de composés secondaires dérivés d'unités isoprène. Classés en fonction du nombre d'unités isoprène qu'ils contiennent, les terpènes sont produits par une variété d'organismes, notamment des bactéries, des champignons et surtout des plantes, ils ont un rôle très important pour ces dernières car ils sont considérés comme un moyen de défense et de contact de la plante avec l'environnement, et pour certains d'entre eux la fonction des phytohormones telles que les gibbérellines les terpènes sont utilisés dans de nombreuses applications telles que les produits pharmaceutiques, les parfums, les aliments et les cosmétiques, et le composé d'artémisinine pour le traitement du paludisme [14,15].

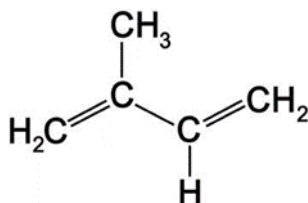


Figure II-5 : Structure de la molécule d'isoprène.

Les substrats terpéniques sont produits à partir de l'isomérisation séquentielle d'unités isoprène. Étant donné que les terpènes sont produits à partir de cinq carbones dans une unité isoprène, ils sont classés en fonction du nombre d'unités constitutives de chaque composé. Lorsque l'hémi terpène est constitué d'une unité isoprène et que deux unités isoprène sont mono terpènes, trois unités isoprène sont sesquiterpènes et quatre unités isoprène sont di terpènes. Chacun des cinq et sept motifs isoprène, cis terpène et sesquiterpène respectivement, et chacun des six et huit motifs isoprène, tri terpènes et tetraterpènes respectivement. Des terpènes plus gros sont produits dans la nature, par exemple le caoutchouc naturel est composé d'unités poly isoprène[16].

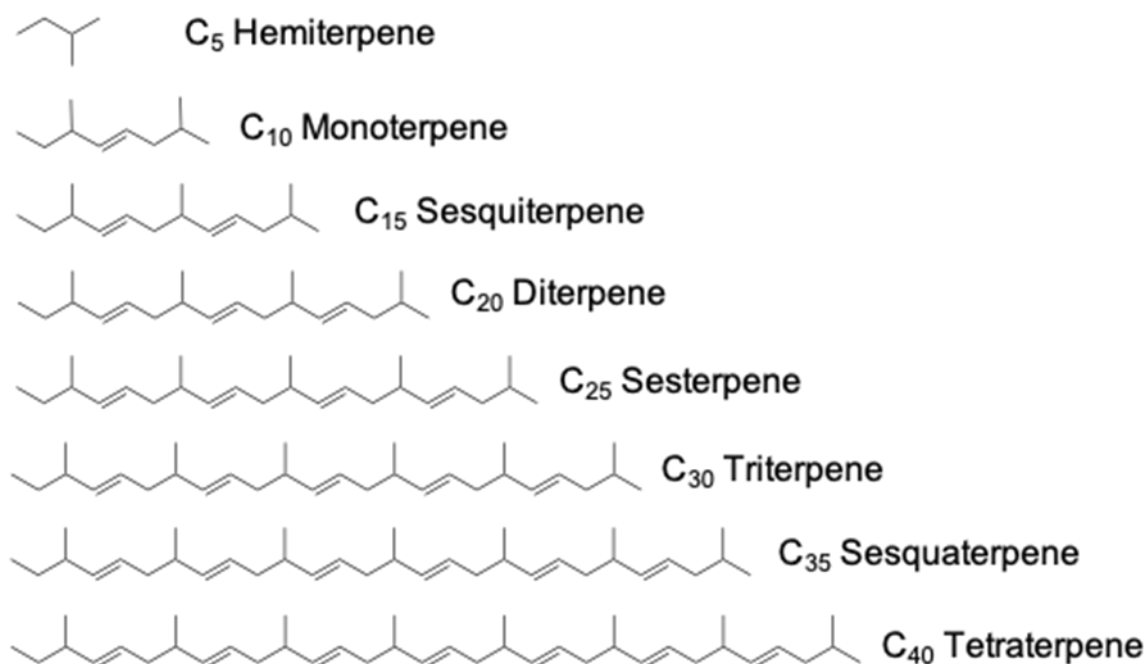


Figure II-6: diagramme de la formule basale des espèces de terpènes avec le nom de chaque type.

II.2.3. Polyphénols :

Les polyphénols sont le groupe le plus diversifié de métabolites secondaires provenant des plantes, ils sont considérés comme des substances qui ont dans leur formule Un ou plusieurs cycles aromatiques dans lesquels ils portent un ou plusieurs groupes hydroxyle, y compris leurs dérivés fonctionnels tels que les esters et les éthers [17]. ils sont Considérés comme des composés de grande abondance dans l'écosystème, plus de 8000 types de structures phénoliques ont été identifiés [18,19]. Les polyphénols se trouvent dans presque tous les types de plantes dans l'environnement, leur type et leur quantité variant en fonction de la nature de la plante. Ils peuvent être associés à des molécules de sucre (glycosides), ou combinés avec des acides organiques et des protéines [19]. Répartis différemment à l'intérieur de la plante, les phénols solubles sont présents dans les parois cellulaires et les phénols solubles sont présents dans les vacuoles cellulaires[17].

Les composés phénoliques présentent également de multiples formes [17], ils peuvent être des composés avec des molécules simples telles que les acides phénoliques, mais ils peuvent former des composés complexes et polymérisés [19] comme le montre dans la figure II-7 :

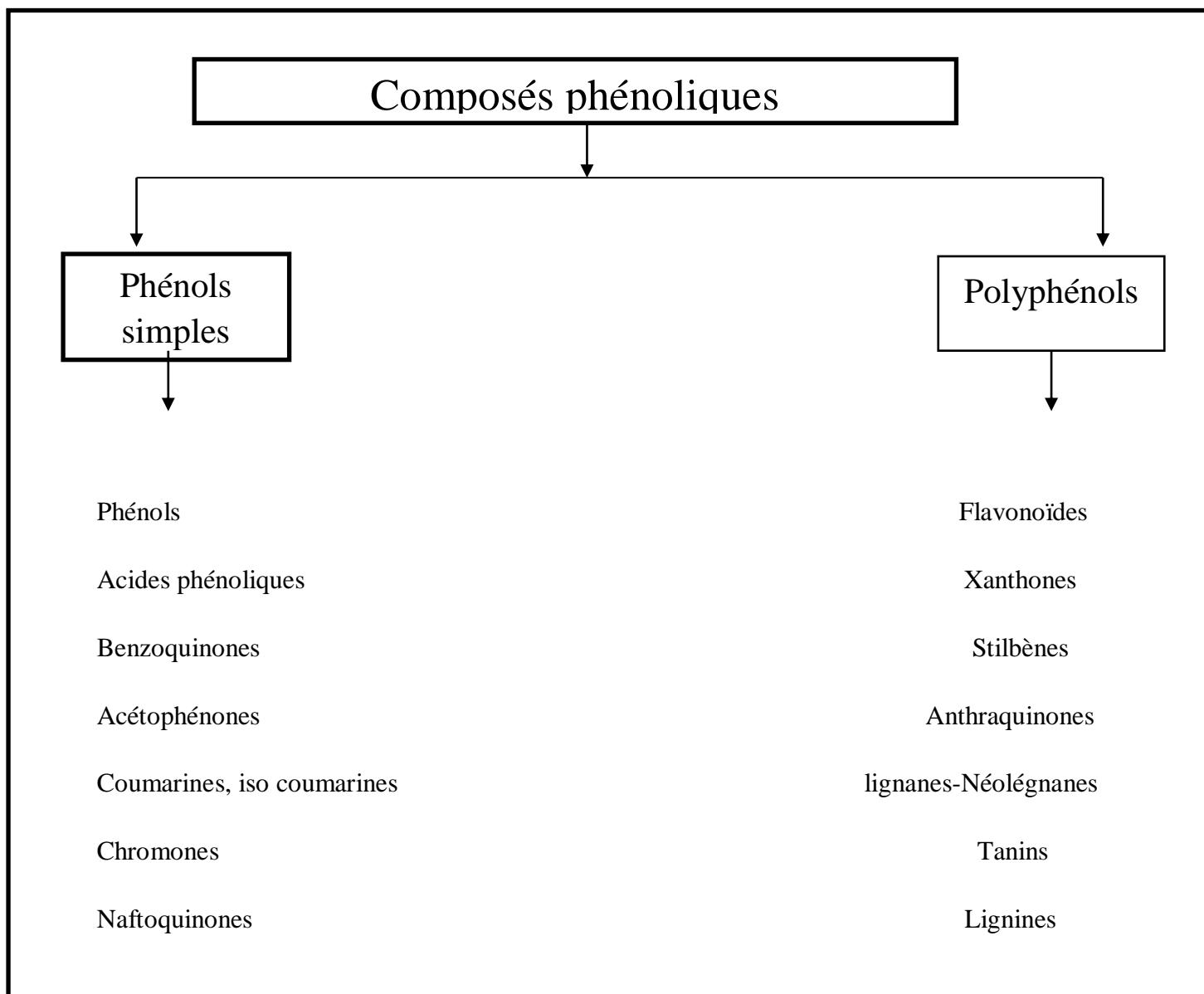
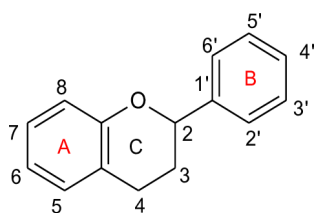


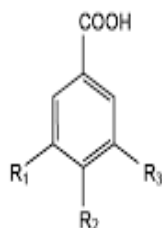
Figure II-7 : principales familles de composés phénoliques.

Les formules des composés phénoliques diffèrent d'un composé à l'autre, c'est ce qui a créé la diversité des familles appartenant aux composés phénoliques comme le montre dans la figure II-8 :

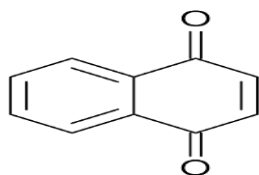
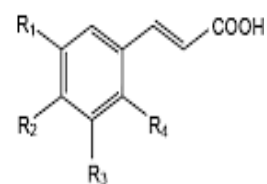
Structure de base des flavonoïdes



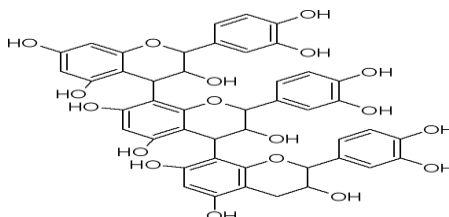
Acides hydroxybenzoïques



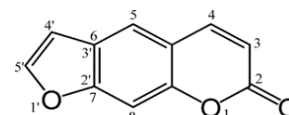
Acides hydroxycinnamiques



**Structure de base
des quinones**



Tanins condensés



Furano-coumarine

Figure II-8 : formules de certains composés phénoliques[09].

Dans ce chapitre, nous étudierons les coumarines de la famille des composés phénoliques simple en particulier.

II.3 Introduction aux coumarines

Les coumarines représentent l'une des structures chimiques distinctives les plus importantes, car on les trouve fréquemment dans de nombreux produits de masse, ces composés cycliques ont suscité un grand intérêt chez les chimistes spécialisés en chimie médicinale au fil des ans [20].

II.3.1 Définition des coumarines :

Les coumarines sont des composés polyphénoliques appartenant au groupe des composés incolores et cristallins contenant des composés oxygénés et hydroxylés [21,22]. Les coumarines appartiennent à la famille des benzo-pyrones, en particulier les benzo -alpha-pyrones, le nom de cette classe dérive de "coumarou" le nom scientifique utilisé pour la plante *Tonka* (dipteryx ordo rata willd, fabaceae), à partir de laquelle la coumarine a été isolée pour la première fois[23,24] .

Les coumarines sont des composés dérivés de plantes qui se trouvent sous leur forme liée sous forme de glucosides ou d'esters, ou sous leur forme libre [25], et certains types de coumarines ont été découverts dans certaines micro-espèces ; comme la novobiocine et la

coumermycine, qui ont été isolées à partir de sources microbiennes (bactéries *Streptomyces*). [26]. Plus de 1300 coumarines ont été identifiées comme récepteurs secondaires dans les plantes, les bactéries et les champignons, et leur présence a été signalée chez environ 150 espèces différentes réparties dans environ 30 familles de plantes différentes. Les familles les plus riches en coumarines sont considérées comme: les légumineuses, les Rutacées, les Apiécées et les thymélacées [24] [21]. Malgré son odeur parfumée, les animaux ont tendance à éviter les plantes riches en coumarine en raison de son goût amer[27].

Ces composés forment une classe importante de composés naturels en raison de leur grande polyvalence en parfumerie, cosmétique, agrochimie et, en particulier, dans l'industrie pharmaceutique pour posséder une activité biologique active [24].



Figure II-9: la plante *Tonka* (*dipteryx ordo rata willd*, *fabaceae*).

II.3.2 : Histoire et découverte des coumarines :

L'histoire des coumarines remonte à 1820, lorsque Vogel a isolé le membre le plus simple de cette classe de composés hétérocycliques oxygénés, la coumarine, de *comarona odorata*. Depuis lors, des dérivés de la coumarine ont été trouvés dans tout le règne végétal, ainsi que chez certains animaux et microorganismes. In 1963, Dean a rapporté qu'environ quatre-vingt-dix coumarines naturelles étaient connues [28] .

En 1868, Pietro a isolé ce matériel végétal de mélilots *corulia Mel*[29]. En 1970, plus de deux fois plus de personnes étaient isolées, et le nombre actuel est estimé à plus de cinq cents. Cette augmentation significative représente une avancée dans les techniques d'isolement et de séparation, ainsi que dans les méthodes physiques de détermination de la structure [28]. En

1886, Fr. P. Kriemberg a déterminé la structure de la coumarine et, la même année, a décrit A. Becht et F. Meyer la composition et les propriétés de la coumarine "synthétique" ou "artificielle". D'autre part, Idris davulko a été le premier à isoler la coumarine du thym (*Thymus vulgaris*). Et puis, en utilisant des technologies modernes avancées, un large éventail d'activités prometteuses et potentiellement utiles a été attribué à ce composé chimique hétérogène[29].

II.4. Structure chimique et classification des coumarines :

II.4.1. Structure de base des coumarines :

La coumarine (2H-1-benzopyran-2-one) (2H-Chrome-2-one) est le composé parent d'une série de composés appelés coumarines [30]. Ce sont des composés naturels appartenant au groupe des benzopyrones, tous constitués d'une formule de base fixe constituée d'un cycle benzélique lié au cycle pyrone, qui est un cycle hexagonal hétérocyclique contenant un atome d'oxygène et cinq atomes de carbone hybridés sp^2 . [31,32].

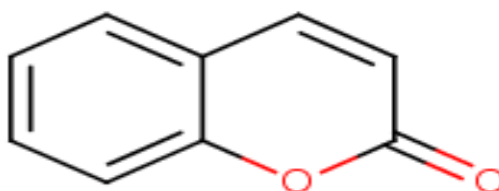
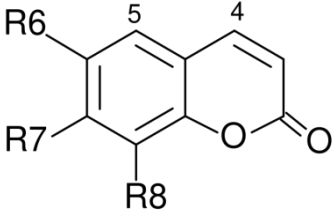


Figure II-10: Structure de base des coumarines.

II.4.2. Classification des coumarines :

a. Coumarines simples : les coumarines les plus répandues dans le règne végétal ont des substituants (OH ou OCH_3) en C6 et C7[24 ,33] ; ils sont constitués de dérivés hydroxylés, alcoxylés et alkylés de la coumarine et de leurs glycosides (par exemple, umbelliféron, écrémé, limétine, herniarine, esculetine, esculine, daphnitine et daphnine) [21 ,34]. Quelques exemples de ce type de molécules sont rapportés dans le tableauII-1 :

Tableau II-1: Structures de quelques coumarines[33].

	R6	R7	R8	
Umbelliférone	H	OH	H	
Esculétol	OH	OH	H	
Scopolétol	OCH ₃	OH	H	
Herniarine	H	OCH ₃	H	
Scopanone	OCH ₃	OCH ₃	H	
Fraxétol	OCH ₃	OH	OH	
Esculine	O-Glu	OH	H	
Cichorine	OH	O-Glu	H	
Scopoline	OCH ₃	O-Glu	H	
Skimmine	H	O-Glu	H	
Fraxoside	OCH ₃	O-Glu	OH	

b.Les furocoumarines : parfois appelées furanocoumarines, sont une classe de composés organiques produits par diverses plantes [24]. La structure chimique des furanocoumarines consiste en un cycle furanique combiné à la coumarine [21,24] . Ils sont divisés en deux groupes de type C6 / C7 (linéaire), de type C7 / C8 (angulaire) en fonction du lieu de fixation de l'anneau furanique. (Par exemple, les composés psoralène, xanthotoxine, bergaptine, impérorine, isobimbiniline, angélicine, isobergaptine, peminiline formés par la fusion du cycle hétérocyclique du furane avec la coumarine et ses dérivés [21,33].

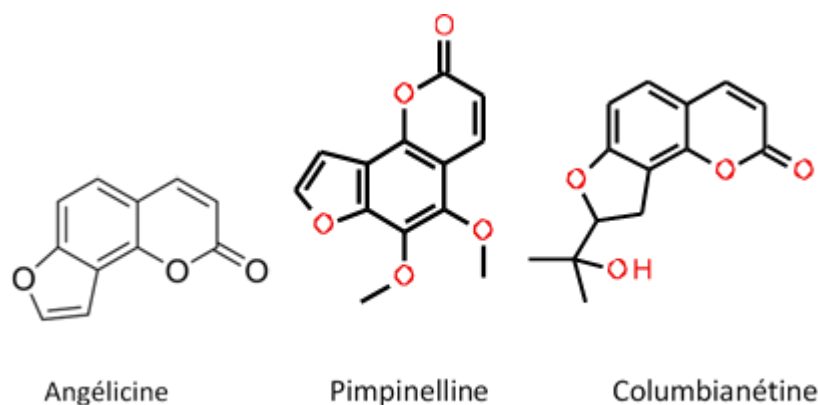


Figure II-11 : Structures de quelques furocoumarines linéaires et angulaires [24].

c. Les Pyranocoumarines : sont de type linéaire ou angulaire avec des substituants sur le cycle comme dans la xanthylétine , la séséline , la mesuangine et le calophyllolide [24] .

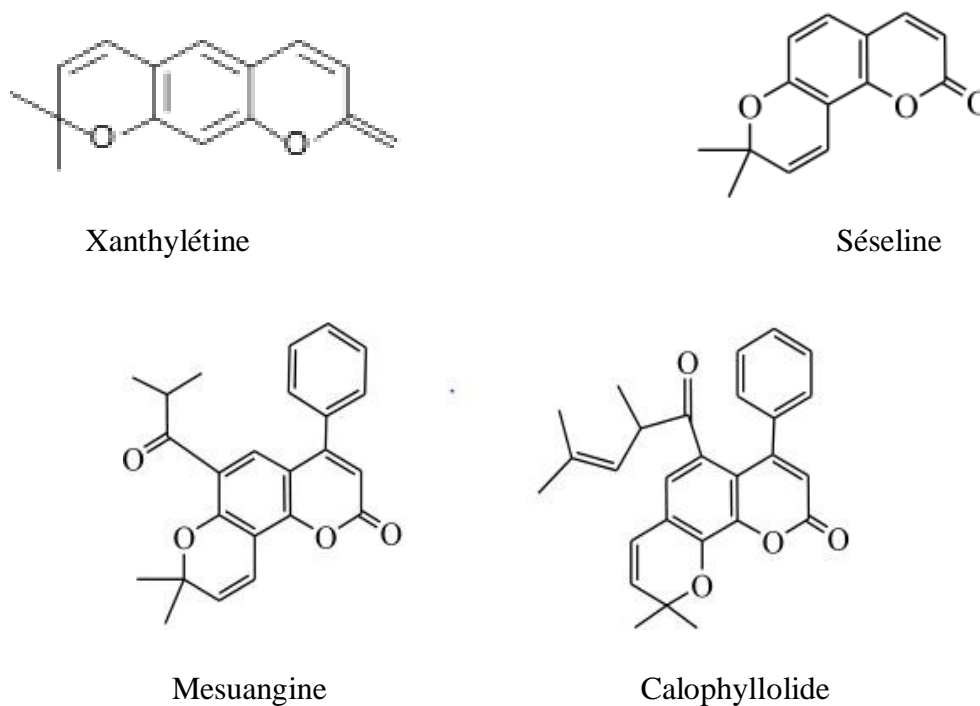


Figure II-12: Quelques exemples de pyranocoumarines[24].

e. Dicoumarines (coumarines dimériques) : Ce sont des composés formés par la liaison de deux unités coumariniques simples comme la daphnorétine et l'edgeworthine Daphnorétine Edgeworthine [24,33].

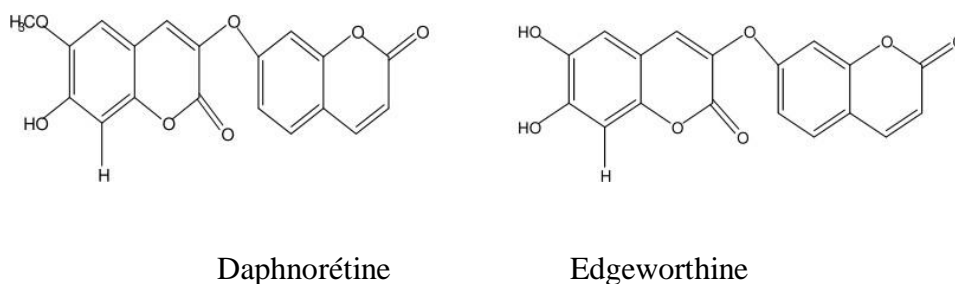


Figure II-13: Exemple de dicoumarines [24].

f. Tricoumarines (coumarines trimériques) : Ce sont des composés issus de l'union de trois entités coumariques comme la triumbéllatine [24,33].

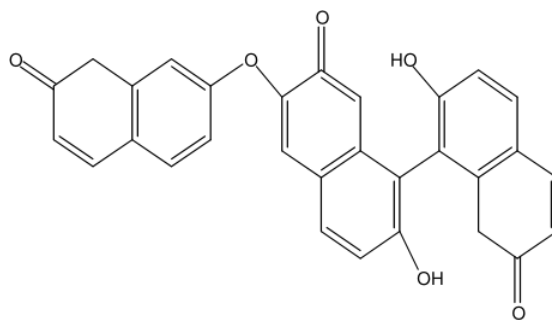


Figure II-14: Triumbéllatine[33].

II.5. Biosynthèse des coumarines :

II.5.1. Voie de shikimate et formation des coumarines :

la voie de l'acide Shikimique est utilisée dans la biosynthèse de la coumarine pour produire toutes les sous-classes de coumarine. La biosynthèse de la coumarine n'est possible qu'en produisant l'ombelliférone chimique via l'acide cinnamique via la voie métabolique de la phénylamine. Dans cette procédure, une enzyme appelée phénylalanine ammonium lyase désamine la L-phénylalanine en produisant de l'acide trans-synamique. Au cours de l'hydroxylation de l'acide transsynamique, deux catalyseurs basiques appelés cinnamate 2-hydroxylase et cinnamate 4- hydroxylase ; 2,4-hydroxycinnamique sont produits. En utilisant d'importants processus d'isomérisation en chaîne et de lactonisation subséquente, de nouvelles

coumarines (ombelliférone, esclétine et scopolétine) ont été créées. (Brusti et Kumar, 2020) [32,35].

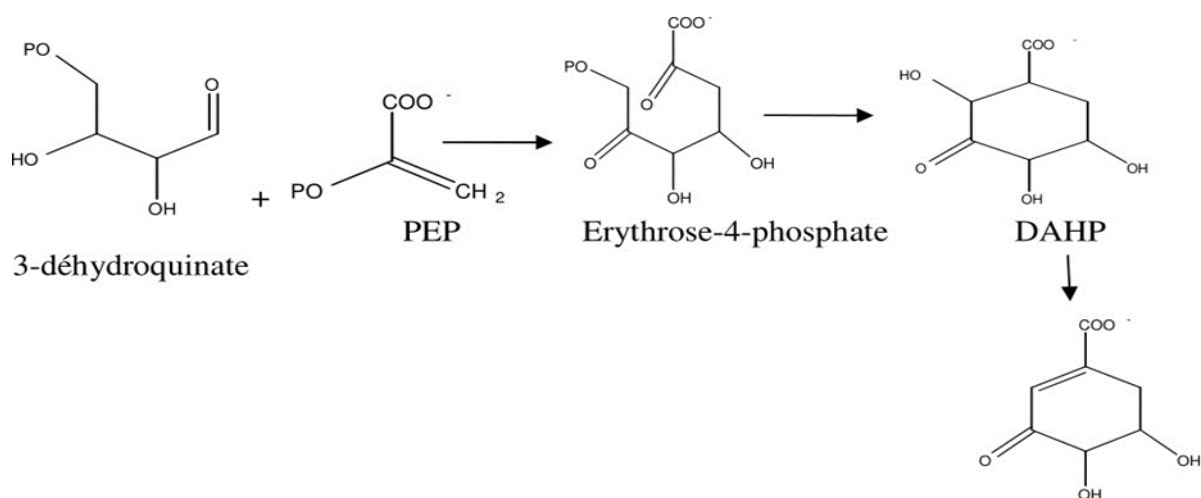


Figure II-15 : Biosynthèse des coumarines, formation du 3-déhydroshikimate [24].

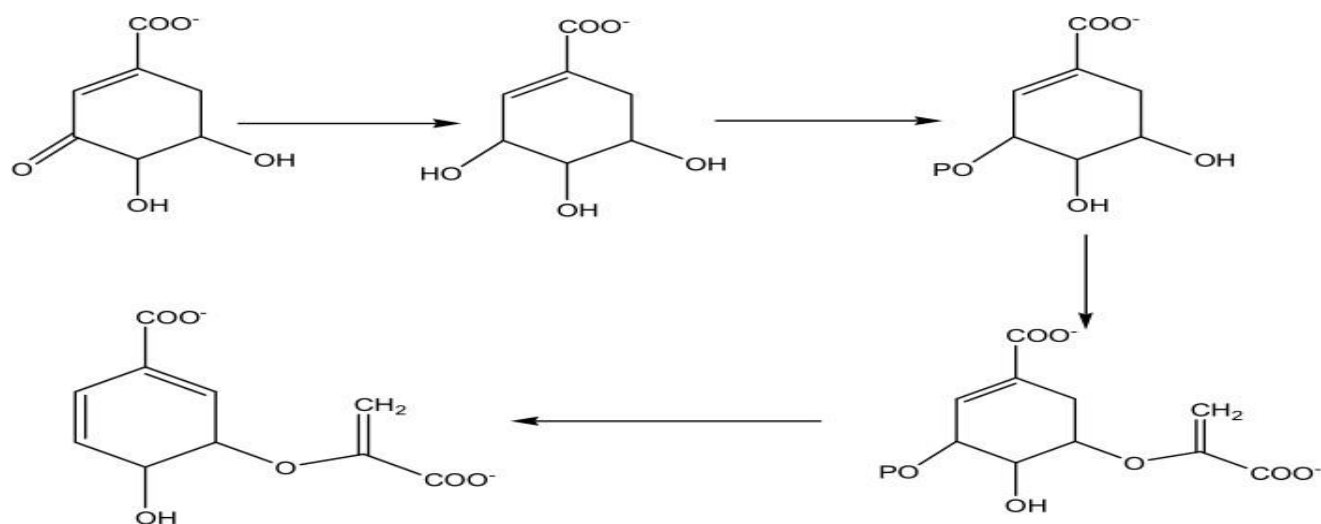


Figure II-16: Biosynthèse des coumarines, formation du chorismate [24].

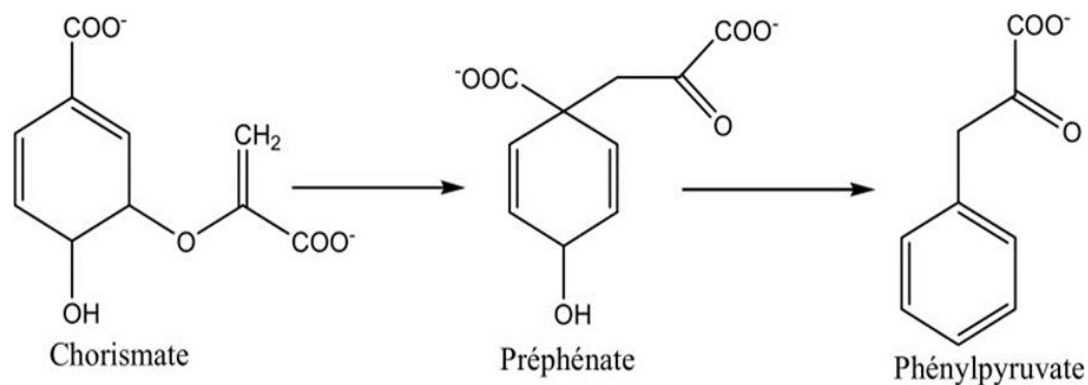


Figure II-17 : Biosynthèse des coumarines, formation du phénylpyruvate [24].

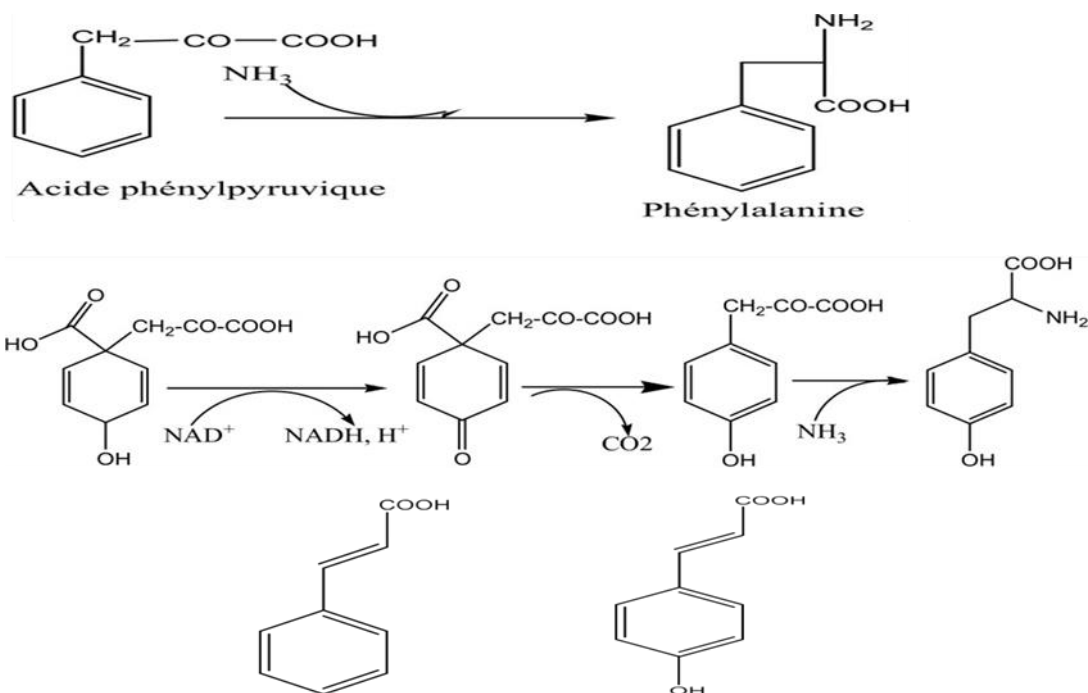


Figure II-18 : Biosynthèse des coumarines, formation de l'acide cinnamique et de l'acide p-coumarique [24].

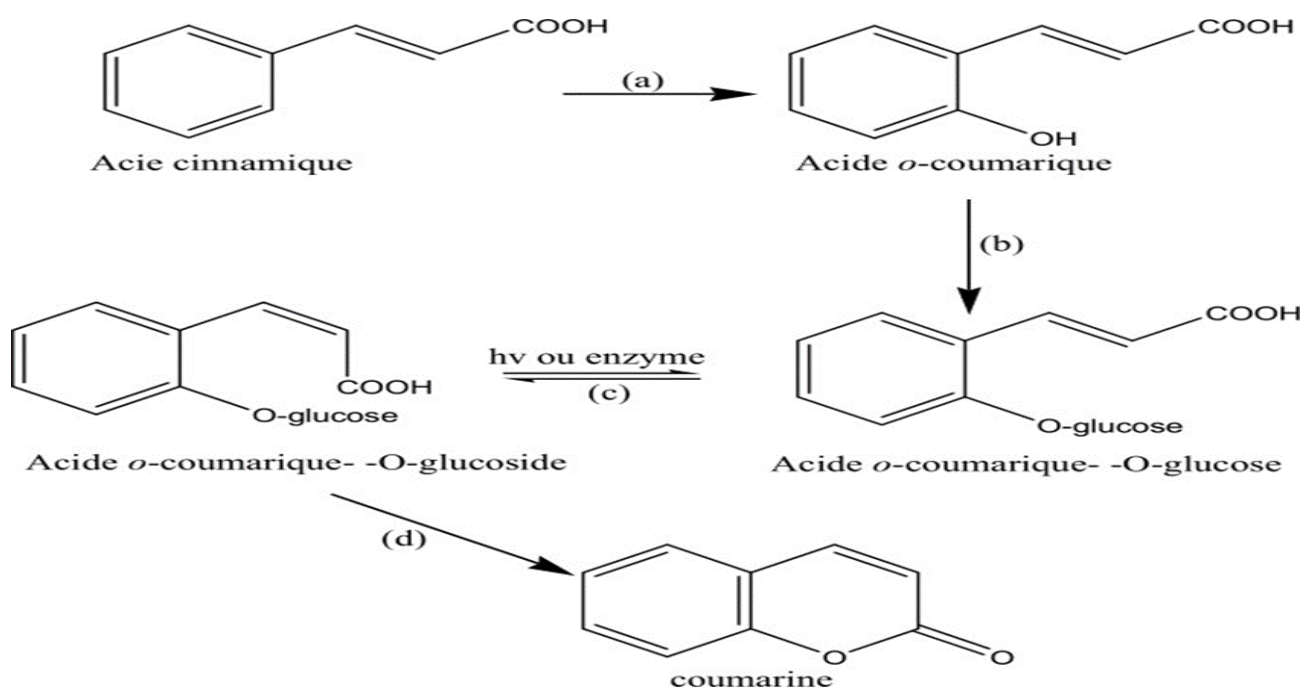


Figure II-19 : Biosynthèse des coumarines : étape finale, formation de la coumarine [24].

II.5.2. Factures influençant la production des coumarines dans les plantes :

- Le manque de fer dans la plante augmente la productivité des coumarines car c'est un catalyseur pour l'absorption du fer du sol [36].

- La carence en phosphore stimule la production de divers types de coumarines [37].
- Le pH du sol contrôle la production de coumarines. C'est-à-dire que le pH affecte le système de production de coumarines [38].
- D'autres facteurs environnementaux affectent la stabilité de la production de coumarines, tels que la lumière et la température, car ces composés peuvent être modifiés par l'influence de ces facteurs [36].

II.6. Source naturelle des coumarines :

II.6.1.Plantes riches en coumarine et sa distribution dans les tissus végétaux :

Le règne végétal est la principale source de production de coumarines naturelles, car on les trouve chez les espèces végétales monocotylédones et dicotylédones, réparties dans plusieurs familles de plantes mentionnées précédemment, à savoir: *Apiaceae*, *Rutceae*, *Asteraceae*, *Fabaceae*, *oleaceae*, *Moraceae* et *Thymelaeaceae*.(Ribeiro et kaplan., 2002).(Harborne, 1999.Bourgaud et coll., 2006.Matos et autres, 2015) [37,39] . Les coumarines sont distribuées dans divers organes végétaux, y compris les pelures, les feuilles, les fruits, les racines, les fleurs,avec l'indication que leur concentration la plus élevée se trouve généralement dans les fleurs et les fruits(Venugopaka et al, 2013) [39,40].

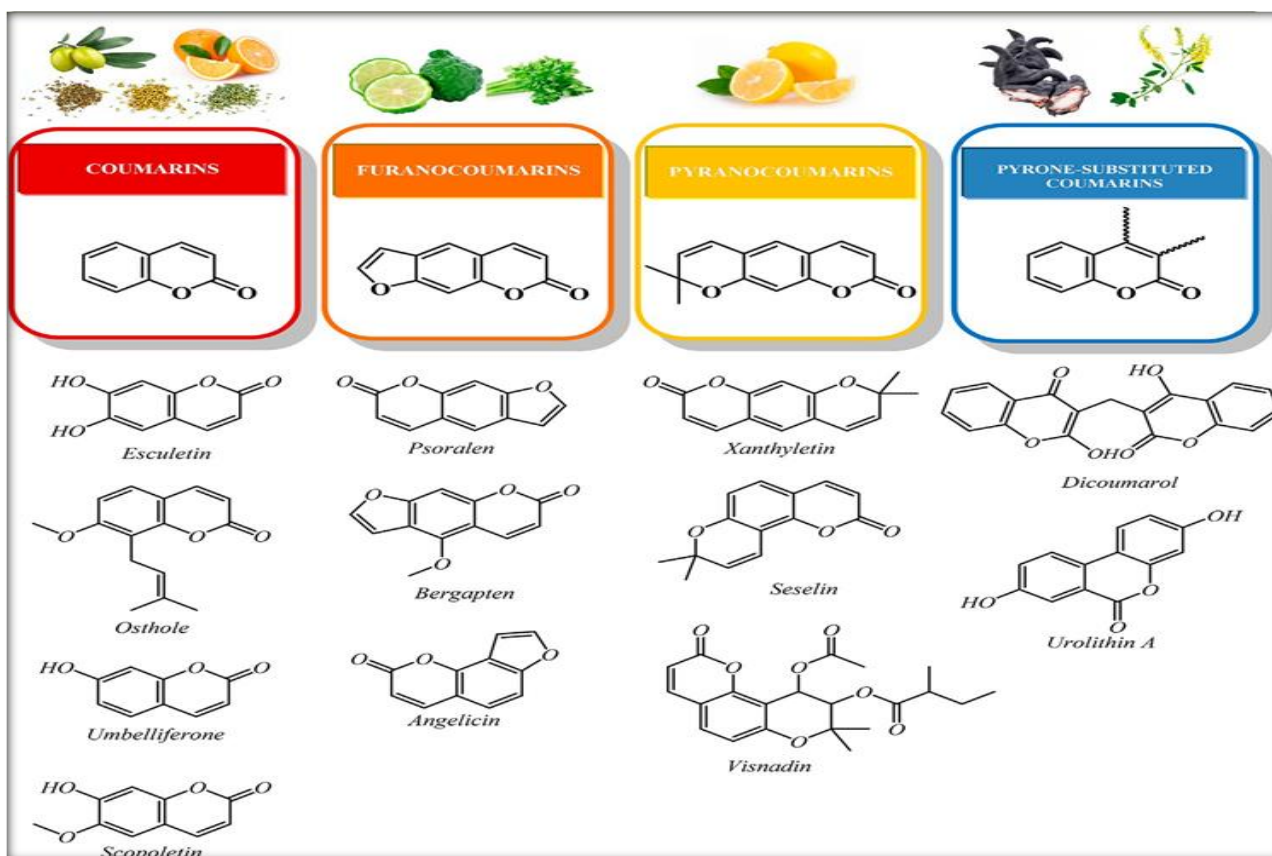


Figure II-20: Structures chimiques des principales classes de coumarines naturelles dans les aliments[41].

II.6.2. autre sources biologiques des coumarines :

Récemment, d'autres sources de production de coumarines ont été découvertes chez certaines espèces animales et microorganismes (squammates marins, algues, champignons, ascidies, bactéries), ces nouvelles molécules actives marines et microorganismes peuvent contribuer à la découverte des nouveaux médicaments [37, 39].

II.7. Méthodes d'extraction et d'analyse des coumarines :

II.7.1. Méthodes d'extraction :

De nombreuses techniques d'extraction de la coumarine à partir de plantes et d'autres organismes vivants ont été décrites [42] , notamment:

a. Macération dans des solvants (méthanol): il s'agit d'une ancienne méthode traditionnelle utilisée pour extraire la coumarine de la plante *dipleryx odorata* [42,43].



Figure II-21 : Macération.

b.Extraction par soxhlet : il s'agit d'une technique basée sur la distillation à l'aide de solvants organiques, considérée comme une technique plutôt bonne par rapport à la macération [43 ,44].

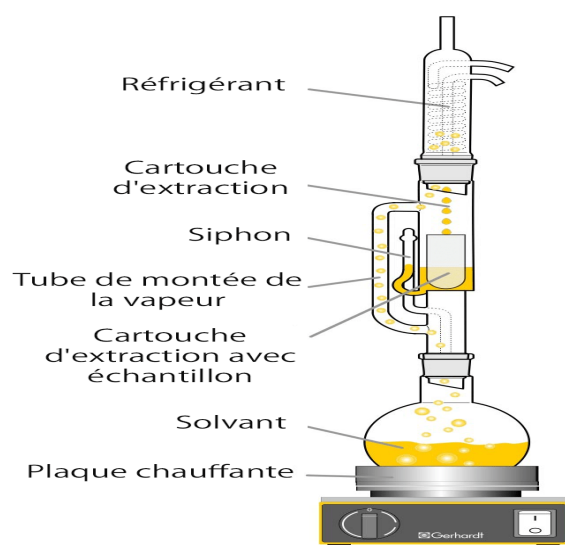


Figure II-22 :Représentation schématique d'un appareil d'extraction Soxhlet classique[45].

c.Extraction de la coumarine par la technologie du dioxyde de carbone supercritique : (scCo₂) à partir d'Eryngium campestre il s'agit d'une technique efficace pour extraire des composés biologiquement actifs dont les coumarines tout en préservant l'environnement [44] et est une technique mixte combinant les propriétés du scCo₂ et des solvants organiques [43] .

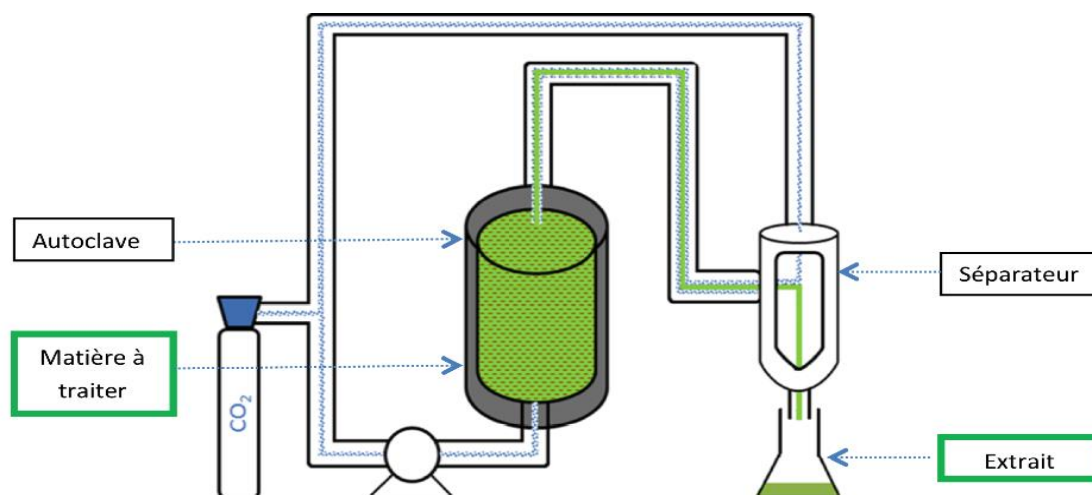


Figure II-23: Extraction de la coumarine par la technologie du dioxyde de carbone supercritique .

II.7.2.Méthodes d'analyse :

Méthodes chromatographiques :

Plusieurs méthodes chromatographiques sont utilisées pour analyser les composés dans les aliments et les plantes, y compris les composés de coumarine, notamment les suivantes:

- **Chromatographie liquide haute performance HPLC avec détection ultraviolette :** cette technique a été utilisée pour détecter les coumarines dans des produits alimentaires tels que la vanille, permettant une analyse plus rapide et plus précise. Chromatographie liquide à ultra-haute performance UHPLC: UHPLC-MS / MS a été développé et utilisé dans la détermination de la coumarine à partir d'échantillons de cinnamomum verum [42].
- **Chromatographie liquide avec spectrométrie de masse LC-MS:** cette technique est utilisée pour identifier les composés dans les extraits et arômes de vanille, ces techniques fournissent des résultats plus précis dans l'identification de la coumarine en présence d'un détecteur ultraviolet. LC-MS/ MS: cette technique a été utilisée pour augmenter la sélectivité et identifier la coumarine à des niveaux très bas [42].
- **Chromatographie en phase gazeuse GC:** cette technique a été utilisée pour examiner des composés tels que la coumarine et l'acide o-coumarique dans des extraits de cannelle. Cette technique est très précise et a une grande sensibilité dans l'identification des composés [42].

Méthodes spectroscopiques :

Diverses techniques analytiques ont été utilisées pour identifier la coumarine:

- **Fluorescence sous lumière ultraviolette** : Les coumarines sont caractérisées par fluorescence sous lumière ultraviolette à 366 nm. Habituellement, ceux-ci sont fluorescents: bleu pour l'hydroxycoumarine en position 7 (ombelféron). Violet pour la coumarine cuite. Jaune pour les furanocoumarines [42,46].
- **Spectroscopie infrarouge (IR)** : Cette technique a été utilisée pour identifier la coumarine via le spectre d'absorption caractéristique de la vibration étendue de la liaison co. Pour les lactones conjuguées, le spectre d'absorption apparaît généralement dans la région ($1740-1770\text{ cm}^{-1}$) [42,46].
- **Spectroscopie ultraviolette (UV)** : Les coumarines ont un spectre UV caractéristique, qui est fortement influencé par le type et l'emplacement des groupes substituants, les absorptions maximales apparaissent dans deux spectres à 276 nm et 311 nm. Les groupes substituants alkyle provoquent des changements dans les valeurs spectrales à 311 nm vers 325 nm. Selon l'emplacement de l'OH, la transmission du spectre varie plus ou moins [42,46].
- **Spectroscopie de masse de la coumarine** : Les composés cycliques saturés tels que la coumarine ont la capacité de perdre un groupe co (28 unités de masse atomique). S'il y a plusieurs groupes CO dans la molécule, ils peuvent être éliminés un par un [42,46].

II.8. Activités biologiques et pharmacologiques des coumarines :

- **Activité antibactérienne** : les coumarines isolées de plantes telles que *Hortia oreadica*, *Ruta graveolens* et *Citrus aurantifolia* ont montré une activité antibactérienne, possédant la capacité de réduire la croissance de microorganismes pathogènes. Cette activité biologique a été étudiée dans le cadre des effets de diverses coumarines qui pourraient avoir un bénéfice dans le développement de thérapies antibactériennes et antifongiques [37,47].
- **Activité antioxydante** : La coumarine peut contribuer à la neutralisation des radicaux libres et ainsi réduire les dommages causés par les réactions oxydatives dans les cellules. Cela montre le potentiel de la coumarine dans la prévention des maladies liées au stress oxydatif telles que le cancer et les maladies cardiaques. L'activité se retrouve dans des composés isolés de ces plantes: les plantes ornementales *auridica*,

Ruta graveolens et Citrus aurantifolia sont des plantes ornementales de la famille des agrumes aurantifolia [32,48].

- **Anti-inflammatoires et analgésiques:** Il a été initié pour découvrir que de nombreuses coumarines extraites de plantes ou de composés synthétiques possèdent de puissantes activités anti-inflammatoires et analgésiques. Les coumarines sont considérées comme de puissants anti-inflammatoires et agissent contre les molécules d'adhésion cellulaire, ce qui les rend particulièrement efficaces dans les réponses inflammatoires [32].
- **Activité antituberculeuse:** Les composés coumariniques tels que l'hydroxycoumarine avec NO₂ à R5 ont montré la plus forte activité antituberculeuse. Des composés tels que l'ampleurone, le feludinol A, la soraline, la scopolétine, la bergaptine, la marmizine et la rotratine ont été extraits de la plante *Fatoua pilosa*, et il a été prouvé que les composés scopolétine et ampleurone étaient actifs contre *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv à des concentrations de CMI de 42 et 58,3 µg/mL, respectivement [32].
- **Activité antispasmodique:** L'impératorine complexe a montré une activité antispasmodique chez le rat, où les valeurs de DE₅₀ variaient de 167 à 290 mg/kg [32].
- **Activité neuroprotectrice des coumarines:** L'esculétine a montré des effets neuroprotecteurs dans un modèle d'occlusion de l'artère cérébrale / représentation cérébrale chez le rat à une concentration de 20 mcg / ml et a été administrée par voie intraventriculaire au cerveau 30 minutes avant l'ischémie [32].
- **Activité inhibitrice de l'enzyme P450:** La méthoxaline (8-méthoxysuraline) a été trouvée dans les graines de la plante *Ammi majus* (de la famille des alchimies), qui est un inhibiteur mitochondrial P450 in vitro [32].
- **La coumarine comme traitement anticancéreux:** Les médicaments anticancéreux sont généralement utilisés pour empêcher la croissance de cellules anormales en perturbant les processus de division cellulaire. L'intérêt pour la coumarine et la 7-hydroxycoumarine en tant qu'agents anticancéreux indique que ces substances ont obtenu de bonnes réponses chez certains patients atteints de cancers avancés [32].
- **Activité anticoagulante :** Il n'y a qu'une seule mention de la coumarine des Rutacées dans ce contexte. Par Awad et coll. Isoler l'esculétine, l'impératorine, l'ombelliféron et le xanthotoxol des feuilles de *Casimiro edulis* pour tester leur capacité anticoagulante en mesurant le temps de prothrombine (PT) et le temps de thromboplastine partielle

activée (ABT) dans le plasma de rat. Une dose de 60 mg / kg a montré une diminution significative de la PT et de l'ABT. L'impératorine était le composé le plus actif, marquant respectivement 25,00 et 38,73 secondes [48].

II-9-Application des coumarines :

Applications et utilisations industrielles:

la simplicité et la flexibilité de la structure de base de la coumarine constituent un excellent point de départ pour un large éventail d'applications [49] , telles que l'industrie cosmétique, où les coumarines sont incluses dans environ 90% des formulations cosmétiques et se retrouvent à des concentrations supérieures à 1% dans 60% de ces formulations [50] , et de grandes quantités de coumarine, souvent associées à la vanille, ont été utilisées dans l'industrie alimentaire pour aromatiser les boissons, le chocolat et les produits de boulangerie (Gievel, 2003) [47] . En raison de son arôme et de sa stabilité uniques, les coumarines sont un matériau de départ important dans l'industrie du parfum, elles aident à obtenir un effet durable [51]. Les coumarines ont également été utilisées dans les arômes de tabac et certaines boissons alcoolisées pour améliorer les odeurs [49] . Il a également été utilisé dans divers détergents tels que les dentifrices, les savons pour les mains, les crèmes déodorantes, les laques pour cheveux, les shampooings et de nombreux autres produits ménagers (perone, 2016). Ils sont également utilisés dans les matériaux en caoutchouc et en plastique, les peintures et les sprays pour neutraliser les odeurs désagréables(Kirsch et al, 2016) [51].

Utilisations médicales:

les coumarines ont plusieurs propriétés pharmacologiques et sont utilisées dans le domaine médical (skalicka-wozniak et al, 2016) [50]. ainsi qu'en raison de leur forte efficacité pharmacologique, de leur faible toxicité et de leurs effets secondaires, de leur faible probabilité de résistance aux médicaments et de leur biodisponibilité élevée [49] . Parmi eux, son utilisation en tant que médicament ciblant le système cardiovasculaire(Najmanova et al, 2016) [51] , en 1868, la coumarine a été synthétisée avec succès pour la première fois dans l'industrie pharmaceutique, où elle est utilisée comme premier composé dans la fabrication de médicaments anticoagulants, et certains de ces médicaments dérivés de la coumarine ont été largement utilisés dans les cliniques.l'un des plus célèbres de ces médicaments est la Warfarine®, qui est un dérivé de la coumarine remplacé par l'anneau de Byron et est utilisé comme anticoagulant [49]. Également utilisées comme molécule pour la détection et le traitement du cancer (Lacy et O'kenedy, 2004), certaines coumarines comme osthole ont fait

l'objet d'essais cliniques pour le traitement du lymphœdème après traitement du cancer du sein, du poumon, du rein et de la peau [51] .

De plus, de nombreux composés dérivés du noyau de la coumarine, tels que l'ombelliférone, la Scopolétine, la Marina présentent de fortes activités anti-inflammatoires [49,50] , tandis que les carbochromes ont été utilisés dans le traitement de la maladie coronarienne [49].

II-10- La toxicité des coumarines :

La toxicité générale des coumarines naturelles a été évaluée dans des tests précliniques qui comprenaient toutes les études de toxicité [41] , la coumarine a été classée comme substance nocive par la Food and drug administration (FDA) des États-Unis en 1954, car elle provoquait des tumeurs du foie chez la souris, de sorte que son utilisation dans les aliments a été interdite, et l'Institut national pour la sécurité et la santé au travail La coumarine du NIOSH a été classée comme substance chimiquement cancérigène sur la base de tests effectués sur des rongeurs [32], et d'autres types de mammifères, ces effets comprennent les adénomes carcinomes des tumeurs cancéreuses du foie, des poumons et des voies biliaires n'ont été observées qu'à des doses supérieures à 100 mg /kg de poids corporel par jour (Lake, 1999, EFSA, 2004) [50] . chez l'homme, les coumarines sont cliniquement approuvées depuis les années soixante-dix pour le traitement de diverses affections telles que l'œdème veineux et lymphatique et des tumeurs telles que le cancer du rein (Marshall et al, 1994), mais plus tard, leur utilisation a été interrompue et retirée du marché après des cas de toxicité primaire sévère chez des patients après traitement (Cox et al, 1989, oms, 1995) [32] .

Certaines coumarines sont toxiques pour l'homme; les dérivés de la méthoxypsoraline sont de puissants photosensibilisants car ils deviennent mutagènes, phototoxiques et cancérigènes par exposition aux rayons ultraviolets (Ojala et al., 1999. Ceska et coll., 1997) [32] . Osthole est une autre coumarine naturelle testée pour la toxicité chronique et chronique, la dose létale était de 710 mg / kg de poids corporel, les signes cliniques de toxicité étaient l'hyperventilation, les tremblements et la photophobie [41].

Auraptene est un extrait d'agrumes coumarine testé pour la toxicité aiguë orale chez le rat à des doses comprises entre 125 et 2000 mg/ Kg n'a provoqué aucun décès ni signe clinique de toxicité [41] . Les études sont compliquées par la différence de métabolisme de la coumarine entre les espèces animales et par le dosage, même les doses toxiques les plus faibles dépassent encore 100 fois les quantités utilisées dans l'industrie du parfum, car la coumarine est considérée comme sûre, cependant, son utilisation est interdite dans le rouge à

lèvres [50] , donc l'exposition à de faibles niveaux de coumarine que ce soit dans les aliments, les parfums ou les cosmétiques ne devrait provoquer aucune hépatotoxicité [32].

Conclusion :

Les coumarines sont une source d'attraction et d'intérêt à long terme pour les chercheurs et les scientifiques, en raison de leur large présence dans la nature, de leurs diverses propriétés pharmacologiques [47,48], car elles ont été utilisées dans de nombreuses applications thérapeutiques(antivirales,antibactériennes,antiparasitaires,hypoglycémiques,neuroprotectrices et autres) [47] , cependant, il est important de reconnaître les risques potentiels pour la santé associés à la consommation d'une surdose de coumarines, y compris l'hépatotoxicité et d'autres effets, de sorte que l'utilisation sûre des coumarines doit être soigneusement envisagée, en prenant des mesures strictes de contrôle malgré les risques et les avertissements, l'étude des coumarines attire toujours les scientifiques vers de nouvelles découvertes et innovations en médecine, en science alimentaire et dans d'autres domaines [48].

Références bibliographiques :

- [01] :Flores-Morales, V., Villasana-Ruíz, A. P., Garza-Veloz, I., González-Delgado, S., & Martinez-Fierro, M. L. (2023). Therapeutic effects of coumarins with different substitution patterns. *Molecules*, 28(5), 2413, pp. 1–3. <https://doi.org/10.3390/molecules28052413>
- [02]: Al-Nemi, R., Akkawi, M., Sawalha, K., Kusumastuti, S. A., Nuralih, Kusumaningrum, S., Okselni, T., Situmorang, V. C., Septama, A. W., Jaremko, M., & Emwas, A.-H. (2025). Comprehensive Metabolomics Profiling and Bioactivity Study of *Lycium shawii* (Awsaj) Extracts with Particular Emphasis on Potential Anti-Malarial Properties. *Metabolites*, 15(2), 84, pp. 1–2. <https://doi.org/10.3390/metabo15020084>
- [03]: Pott, D. M., Osorio, S., & Vallarino, J. G. (2019). From Central to Specialized Metabolism: An Overview of Some Secondary Compounds Derived From the Primary Metabolism for Their Role in Conferring Nutritional and Organoleptic Characteristics to Fruit. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 835, pp. 2–4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00835>
- [04]: Sharifi-Rad, J., Cruz-Martins, N., López-Jornet, P., Lopez, E. P.-F., Harun, N., Yeskaliyeva, B., Beyatli, A., Sytar, O., Shaheen, S., Sharopov, F., Taheri, Y., Docea, A. O., Calina, D., & Cho, W. C. (2021). Natural Coumarins: Exploring the Pharmacological Complexity and Underlying Molecular Mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, Article ID 6492346, pp. 1–3. <https://doi.org/10.1155/2021/6492346>
- [05]: Dixon, R. A., & Dickinson, A. J. (2024). A century of studying plant secondary metabolism—From “what?” to “where, how, and why?”. *Plant Physiology*, 195, 48–66. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad596>
- [06]: Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive secondary metabolites from plant sources: Types, synthesis, and their therapeutic uses. *International Journal of Plant Biology*, 13, 4–14. <https://doi.org/10.3390/ijpb1301000>
- [07]: Reshi, Z. A., Ahmad, W., Lukatkin, A. S., & Javed, S. B. (2023). From Nature to Lab: A Review of Secondary Metabolite Biosynthetic Pathways, Environmental Influences, and In Vitro Approaches. *Metabolites*, 13(8), 895, pp. 1–4. <https://doi.org/10.3390/metabo13080895>

- [08]: Reshi, Z. A., Ahmad, W., Lukatkin, A. S., & Javed, S. B. (2023). From nature to lab: A review of secondary metabolite biosynthetic pathways, environmental influences, and in vitro approaches. *Metabolites*, 13, 895. <https://doi.org/10.3390/metabo13080895>
- [09]: Fettah, A. (2019). Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra (Thèse de doctorat, Université Mohamed Khider Biskra, Algérie), pp. 7–29.
- [10]: Teoh, E. S. (2016). Secondary metabolites of plants. In *Medicinal Orchids of Asia* (pp. 1-8). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24274-3_5
- [11]: Amirkia, V. (2016). Plant extracts and natural products - Predictive structural and biodiversity-based analyses of uses, bioactivity, and 'research and development' potential (Doctoral dissertation, UCL School of Pharmacy, University College London). pp. 75–83. Retrieved from <https://discovery.ucl.ac.uk/id/eprint/1544443/>
- [12]: Escribano Cuesta, A. (2012). New Gold-Catalyzed Reactions and Applications for the Synthesis of Alkaloids (Doctoral dissertation, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain), pp. 175–177. Supervised by Prof. Antonio M. Echavarren. Institut Català d'Investigació Química (ICIQ).
- [13]: Thawabteh, A., Juma, S., Bader, M., Karaman, D., Scrano, L., Bufo, S. A., & Karaman, R. (2019). The biological activity of natural alkaloids against herbivores, cancerous cells and pathogens. *Toxins*, 11(11), 656, pp. 2–7. <https://doi.org/10.3390/toxins11110656>
- [14]: Bech, P. K. (2022). The potential of microbial secondary metabolites in marine systems and their influence on microbial diversity (Doctoral dissertation). DTU Bioengineering, Technical University of Denmark, pp. 2
- [15]: Teoh, E. S. (2016). Secondary Metabolites of Plants. In *Medicinal Orchids of Asia* (pp. 59–69). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24274-3_5
- [16]: Maltby, K. A. (2020). Valorisation of terpenes for sustainable materials (Doctoral dissertation). University of Bath, Department of Chemical Engineering, pp. 6–10.

[17]: Boumerfeg, S. (2010). Antioxidative properties of *Tamus communis* L., *Carthamus caeruleus* L. and *Ajuga iva* L. extracts. Doctoral Thesis in Biology, University Ferhat Abbas Setif. Discussed on: June 29th, 2010. Supervisors: Daoud Harzallah, Abderrahmane Baghiani.

[18]: Pascoal, A. S. do C. (2013). Quantification and characterization of the phenolic compounds of kenaf leaves. Dissertation for the Master Degree in Technology and Food Security, University of Lisbon. Supervisors: António Segura Carretero & Ana Luísa Fernando.

[19]: Citarella, A., Vittorio, S., Dank, C., & Ielo, L. (2024). Syntheses, reactivity, and biological applications of coumarins. *Frontiers in Chemistry*, 12, 1362992. doi: 10.3389/fchem.2024.1362992, pp. 1-8.

[20]: Ounnissi, A. (2022). Calcul par modélisation moléculaire des propriétés physico-chimiques de certaines molécules d'intérêt thérapeutique. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif-1, Faculté de Technologie, Département de Génie des Procédés. Défendue le 09 janvier 2022.

[21]: Akkol, E. K., Genç, Y., Karpuz, B., Sobarzo-Sánchez, E., & Capasso, R. (2020). Coumarins and coumarin-related compounds in pharmacotherapy of cancer. *Cancers*, 12(7), 1959. <https://doi.org/10.3390/cancers12071959>

[22]: Koleva, A. I., Petkova-Yankova, N. I., & Nikolova, R. D. (2019). Synthesis and Chemical Properties of 3-Phosphono-coumarins and 1,2-Benzoxaphosphorins as Precursors for Bioactive Compounds. *Molecules*, 24(11), 2030. <https://doi.org/10.3390/molecules24112030>

[23]: Olatunde, A., Tijjani, H., Aremu, A. O., Rauf, A., Suleria, H. A. R., & Mubarak, M. S. (2024). Editorial: Chemistry, toxicity, synthesis, biological and pharmacological activities of coumarins and their derivatives: recent advances and future perspectives. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1430985. doi: 10.3389/fphar.2024.1430985

[24]: Sharifi-Rad, J., Cruz-Martins, N., López-Jornet, P., Pons-Fuster Lopez, E., Harun, N., Yeskaliyeva, B., Beyatli, A., Sytar, O., Shaheen, S., Sharopov, F., Taheri, Y., Docea, A. O., Calina, D., & Cho, W. C. (2021). Natural coumarins: Exploring the pharmacological complexity and underlying molecular mechanisms. *Evidence-Based Complementary and*

Alternative Medicine, 2021, Article ID 9982854, pp. 1–3.
<https://doi.org/10.1155/2021/9982854>

[25]:Mekhelfi, T. (2016). Séparation et Détermination Structurale de Métabolites Secondaires de deux Plantes Algériennes - Activités Biologiques (Doctoral dissertation, Université des Frères Mentouri, Constantine). pp. 57–64

[26]: Dighe, N. S., Pattan, S. R., Dengale, S. S., Musmade, D. S., Shelar, M., Tambe, V., & Hole, M. B. (2010). Synthetic and pharmacological profiles of coumarins: A review. Archives of Applied Science Research, 2(2), 65–71. Retrieved from <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>

[27]: Jain, P. K., & Joshi, H. (2012). Coumarin: Chemical and pharmacological profile. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2(6), 236–240

[28]:Alshaher, M. M., & Mustafa, Y. F. (2025). From laboratory to computer models: Enhancing coumarin discovery through interdisciplinary research. Applied Chemical Engineering, 8(1). <https://doi.org/10.59429/ace.v8i1.5613>

[29]:Akman, B. (2021). Synthesis of novel coumarin-1,2,3-triazole hybrids as potential anticancer agents (Master's thesis, Izmir Institute of Technology, pp. 2–30). Izmir, Turkey.

[30]:Ferrari, J. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : Gnidia involucrata Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences, Université de Lausanne, pp27

[31]:Wagh, C. R., Shamkuwar, P. B., & Malode, P. (2021). Study on coumarin and their derivatives used in pharmacy for the treatment of cancer and their other therapeutic applications. International Journal of Creative Research Thoughts (IJCRT), 9(4), g147. doi: 10.31256/IJCRT2107661

[32]:Tsivileva, O. M., Koftin, O. V., & Evseeva, N. V. (2022). Coumarins as fungal metabolites with potential medicinal properties. Antibiotics, 11(9), 1156. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091156>

[33]:Boudouda, A., Trad, I., & Achour, N.E.H. (2023). Ruta chalepensis : huiles essentielles, coumarines et activités biologiques. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master, Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, Faculté des Sciences Exactes et des

Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Science de la Nature et de la Vie, Filière : Science Biologique, pp. 18-28.

[34]:Bouakkaz, S. (2013). Métabolites secondaires du figuier *Ficus Carica* L., Isolement, identification structurale, dosage par HPLC couplée à la spectrométrie de masse et activités biologiques. Thèse de Doctorat, Université 8 mai 1945 de Guelma, Faculté des Mathématiques, de l'Informatique et des Sciences de la Matière, Département des Sciences de la Matière, pp. 15-21.

[35]:Robe, K., Izquierdo, E., Vignols, F., Rouached, H., & Dubos, C. (2020). The coumarins: Secondary metabolites playing a primary role in plant nutrition and health. *Current Opinion in Plant Biology*, 55, 100686. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.100686>

[36]:Stringlis, I. A., de Jonge, R., & Pieterse, C. M. J. (2019). The age of coumarins in plant–microbe interactions. *Plant Cell Physiology*, 60(7), 1405–1419. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz076> . Published by Oxford University Press on behalf of the Japanese Society of Plant Physiologists

[37]:Paffrath, V., Tandron Moya, Y. A., Weber, G., von Wirén, N., & Giehl, R. F. H. (2020). A major role of coumarin-dependent ferric iron reduction in strategy I-type iron acquisition in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 32(9), 2973–2987. <https://doi.org/10.1105/tpc.20.00347>

[38]:Fernández-Peña, L., Matos, M. J., & López, E. (2023). Recent advances in biologically active coumarins from marine sources: Synthesis and evaluation. *Marine Drugs*, 21(1), 37. <https://doi.org/10.3390/md21010037>

[39]:Aichaoui, S. (2022). Extraction, séparation et identification des métabolites secondaires d'une plante médicinale. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master académique, spécialité : Chimie des produits naturels. Université Kasdi Merbah de Ouargla, Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière, Département de Chimie, pp. 18–20.

[40]:Hussain, M. I., Abbas, S. Q., & Reigosa, M. J. (2018). Activities and novel applications of secondary metabolite coumarins. *Planta Daninha*, 36, e01. Approved: March 23, 2017

[41]:Djemoui, B. (2015). Synthèse de dérivés d'acryloyl-2 H-chromen-2-one à partir de 3-acetyl-2 H-chromen-2-one (Mémoire de Master, Université Zain Achour, Djelfa, Algérie), pp. 2–7. Faculté des Sciences et de la Technologie et Sciences de la Matière.

- [42]:Li, Z., & Li, Q. (2022). Ultrasonic-assisted efficient extraction of coumarins from *Peucedanum decursivum* (Miq.) Maxim using deep eutectic solvents combined with an enzyme pretreatment. *Molecules*, 27(16), 5715. <https://doi.org/10.3390/molecules27165715>
- [43]:Molnar, M., Jerković, I., Suknović, D., Bilić Rajs, B., Aladić, K., Šubarić, D., & Jokić, S. (2017). Screening of six medicinal plant extracts obtained by two conventional methods and supercritical CO₂ extraction targeted on coumarin content, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity and total phenols content. *Molecules*, 22(3), 1-15. <https://doi.org/10.3390/molecules22030464>
- [44]:Elmusa, F., & Elmusa, M. (2024). Mini-review on coumarins: Sources, biosynthesis, bioactivity, extraction and toxicology. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 11(3), 933-944. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.1419322>
- [45] : <https://www.pierrefranchommelab.com/blog/p-extraits-co2-des-huiles-essentielles-plus-riches> Consulté le 13/05/2025.
- [46]:Lončar, M., Jakovljević, M., Šubarić, D., Pavlić, M., Buzjak Služek, V., Cindrić, I., & Molnar, M. (2020). Coumarins in food and methods of their determination. *Molecules*, 25(10), 2284. <https://doi.org/10.3390/molecules25102284>
- [47]:Anywar, G., & Muhumuza, E. (2024). Bioactivity and toxicity of coumarins from African medicinal plants. *Frontiers in Pharmacology*, 7, Article 923. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.00923>
- [48]:Santos Junior, C. M., Silva, S. M. C., Sales, E. M., Velozo, E. S., Porto dos Santos, E. K., Canuto, G. A. B., Azeredo, F. J., Barros, T. F., & Biegelmeyer, R. (2024). Coumarins from Rutaceae: Chemical diversity and biological activities. *Fitoterapia*. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2024.105432>
- [49]:C. Gerhardt GmbH & Co. KG. (n.d.). Méthodes d'extraction dans l'analyse des graisses. Retrieved April 10, 2025.
- [50]:Xu, Y. (2020). Engineering *Saccharomyces cerevisiae* as a platform for diverse coumarin biosynthesis (Master's thesis, Cornell University), pp. 9–11.

[51]:Ayache, H., & Saidi, L. (2014). Conception, Synthèse et Évaluation par UV-VISIBLE et Fluorescence de Dérivés Coumariniques en tant que Sondes (Mémoire de Master 2, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie), pp. 14–23.

CHAPITRE III : méthodes et matériels

III.1.introduction :

Ce chapitre consacré à l'étude photochimique de l'espèce *Tilia Cordata* qui concerne : le criblage phytochimique des composés chimiques de cette plante puis l'extraction des coumarines par les différents solvants organiques et contrôle et analyse par la chromatographie sur couche mince et l'étude de l'activité antibactérienne des extraits .

III.2.L'étude phytochimique :

III.2.1. Récolte du matériel végétal :

La récolte des parties de la plante *Tilia cordata* (petit Tilleul ou tilleul à feuilles de cœur) dépend du type de médicament végétale, où le moment de la récolte varie pour chacune des feuilles, graines et racines, la récolte se fait pendant les concentrations les plus élevées de composés à étudier, nous l'expliquons ci-dessous:

1. Récolte des feuilles: le moment idéal pour récolter les feuilles est de la fin du printemps au début de l'été, car pendant cette période, elles contiennent de fortes concentrations de composés antioxydants tels que les coumarines et les flavonoïdes, où les feuilles propres sont collectées et séchées à l'ombre dans un endroit aéré pour préserver leur couleur verte et leurs composés efficaces.

2. Récolte des graines : Les graines de *Tilia cordata* mûrissent de la fin de l'été au début de l'automne, lorsqu'elles se transforment en petits fruits secs (noyaux) qui brunissent ou gris clair et deviennent raides. Collecté et séché dans un endroit sec et bien ventilé.

3. Récolte des racines: Le moment idéal pour récolter les racines est la fin de l'automne ou le début du printemps, Les racines sont moins souvent utilisées en médecine traditionnelle, où les racines sont soigneusement lavées, puis hachées et séchées à feu doux après avoir été retirées de la plante [01,02] .

III.2.2. Préparation des échantillons :

La matière végétale obtenue a été triée puis une partie a été broyée par un broyeur et un tamis pour obtenir une poudre très fine, pour augmenter l'échange superficiel entre le solide et le solvant et faciliter l'extraction. Après cela, la poudre a été obtenue prête à l'emploi.



Figure III-1 : Les graines de *Tilia cordata* avant et après broyage.



Figure III-2 : les feuilles de *Tilia cordata* avant et après broyage.



Figure III-3 : les tiges de *Tilia cordata* avant et après broyage.

III.2.3.le criblage phytochimique de l'espèce *Tilia Cordata* (analyse qualitatif) [03][04]:

L'examen phytochimique vise à détecter des composés chimiques biologiquement actifs (métabolites secondaires et primaires) et à les étudier à des fins médicales ou autres. Dans cette partie, nous étudierons les composants de la plante *Tilia cordata* en utilisant un ensemble de méthodes d'extraction et les réactifs chimiques nécessaires.

Méthodes et matériels :

III.2.3.1. Test de Flavonoïdes :

Test 01 :

Testé dans un flacon Erlenmeyer de 100ml, et introduit 3 g de poudre à corroder dans 50 ml d'acide chlorhydrique (HCl) à 1% pendant une nuit, puis filtré.

10 ml sont prélevés sur le filtre et sont réalisés principalement en ajoutant une solution d'hydroxyde d'ammonium (NaOH), l'apparition d'une couleur jaune clair sur les noyaux indique la présence de flavonoïdes.

Test 02:

Dans 50 ml d'eau distillée, Laisser infuser 3 g de poudre sèche pendant 30 minutes, filtrer puis mélangez l'extrait avec l'alcool chlorhydrique (butanol, acide chlorhydrique: 80: 20 (T/T)) et la moitié de l'alcool ésoamylique est ajoutée, puis quelques deux verres de magnésium. Observez l'application de la coloration.

- La couleur rouge-orange indique la présence de flavones;
- Le rose-violet indique la présence de flavanones
- le rouge indique la présence de flavonols et de flavanonols.

III.2.3.2. Test de Quinones:

2 g de poudre végétale ont été humidifiés avec une solution d'acide chlorhydrique à 10%. On fait ensuite tremper dans 3 mL d'un mélange d'éther de pétrole pendant 3 minutes.

Après filtration, le millet de cette solution a été traité avec 1 ml d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 1% (hydroxyde de sodium). Une couleur forte se transforme en collecteur, et une couleur rouge ou violette apparaît indiquant la présence de quinones.

III.2.3.3. Test de Coumarine:

Introduire 3 g de poudre sèche dans 30 ml d'éthanol pendant 24 heures puis filtrer, Prélever 2 ml du filtre et ajouter 0,5 ml d'hydroxyde de sodium à 10% (hydroxyde de sodium), porter à ébullition.

Après refroidissement, ajouter 4 ml d'eau distillée et quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré. Observer sous rayonnement ultraviolet l'apparition d'une fluorescence témoignant de la présence de coumarine.

- La réaction est positive si l'acidification de la solution transparente avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré lui fait perdre sa couleur jaune pour la rendre trouble ou s'il se forme un précipité.

III.2.3.4. Test de Tanins :

Les tannoïdes (tanins hydrolysables) et les tanins vrais (condensés) sont des polyphénols ou polyphénol responsables de colorations noires brunes des extraits végétaux. Ils sont détectés en ajoutant quelques gouttes de solution de FeCl_3 diluée à 1% ou 2% au décocté. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence de tanins catéchiques ou noirs pour les tanins galliques.

Prendre 3g de la poudre végétale, réaliser une extraction avec 20 ml d'alcool éthylique ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), après 15 mn d'agitation, filtrer, puis tester le filtrat avec quelques gouttes de FeCl_3 .

III.2.3.5. Test de Saponosides :

2g de matériel végétal sec broyé sont utilisés pour préparer une décoction avec 50 ml d'eau distillée. On chauffe au bain marie bouillant pendant 15 mn. Après refroidissement et filtration, si une mousse est obtenue, l'apparition d'une mousse persistante (constante) indique la présence des saponosides.

III-2.3.6. Test de Anthocyanes :

Mettre 1g de poudre dans 10 ml d'eau distillée, porter au bain marie bouillant pendant 15 mn. Filtrer, puis tester le filtrat avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique HCl puis l'ajout d'hydroxyde d'ammonium NH_4OH concentrée va entraîner un changement de couleur de l'extrait initial indiquant la présence des anthocyanes.

III.2.3.7. Test de Leucoanthocyanes :

Mettre 1g de poudre dans 5 ml de propanol, ajouter des gouttes de HCl concentré puis chauffer le mélange de 3 à 5 mn au bain marie ; après le chauffage, l'apparition d'une couleur rouge indique la présence des leucoanthocyanes.

III.2.3.8. Test de Stérols insaturés et terpènes :

Prendre 5g de matériel végétal, on fait extraction avec 20 ml de CHCl_3 puis filtrer et ajouter au filtrat 1ml de H_2SO_4 , avec précaution sur les parois du tube à essais. La zone de rencontre

entre les deux phases donne une couleur verte qui indique la présence des stérols insaturés et terpènes.

III.2.3.9. Test de Caroténoïdes :

5 g de poudre des plantes ont été infusés séparément dans 50 ml d'eau distillée. Chaque mélange a ensuite filtré. Les filtrats ont été répartis dans des tubes à essai à raison de 3 ml. Quelques millilitres (3 ml) d'HCl ont été ajoutés dans chaque tube à essai puis 3 ml de H₂SO₄. Il en résulte dans les deux cas une coloration violette des phases lipidiques qui indique la présence des caroténoïdes.

III.2.3.10. Test des alcaloïdes :

Mettre 6 g de la poudre sèche dans 30 ml de solution d'acide sulfurique H₂SO₄ 10% pendant 60 mn, puis filtrer. Le filtrat est reparti en 4 tubes à essai et on procède aux tests suivants :

- 1^{er} tube : ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer qui donne une coloration jaune en présence des alcaloïdes.
- 2^{ème} tube : ajouter quelques gouttes de réactif de Dragendorff qui donne un précipité rouge-orangé.
- 3^{ème} tube : ajouter quelques gouttes de réactif de Bouchardat qui donne un précipité rouge-brun.
- 4^{ème} tube : soumis sous lumière UV pour détecter la présence des alcaloïdes de quinquina qui donne une fluorescence bleue intense à $\lambda = 365$ nm.

III.2.3.11. Test de l'amidon :

2 g de poudre végétale, ajoutée à quelques gouttes d'iode I₂, la formation d'une coloration bleue violacée en présence d'amidon.

III.2.3.12. Test de Sucres réducteurs :

On ajoute 1 ml de liqueur Fehling à 5 ml d'extrait, puis on chauffe les tubes contenant les mélanges au bain marie à 40°C.

- Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur rouge brique.

III.2.4.Extraction des coumarines :

III.2.4.1.Extraction solide-liquide :

La méthode d'extraction par solvant par macération est une méthode basée sur la solubilité des coumarines dans les substances organiques et les alcools (éthanol) à partir des cellules de matière végétale. On fait tremper un poids de 150 g de matière végétale dans un mélange hydroalcoolique (éthanol / eau) dans des proportions (70/30; volume / volume) pendant 24

heures à température ambiante.

Après filtration sur entonnoir Buchner et évaporation (45 c°), l'extrait aqueux est laissé à l'air libre pour évaporer le résidu résultant en éthanol et le résidu obtenu est à nouveau trempé pendant 24 heures dans la quantité d'éthanol récupérée par le processus d'évaporation. On procède à nouveau à la filtration et à l'évaporation et on mélange l'extrait obtenu.



Figure III-4 : l'extrait obtenu.



Figure III-5: le résidu d'extraction de *Tilia cordata*.

III.2.4.2.Extraction liquide -liquide :

C'est une méthode de séparation utilisée pour séparer les composés en fonction de la différence de solubilité dans les phases aqueuse et organique non miscibles (partage des composés entre les deux phases) [05].

Principe:

Cette extraction dépend de la différence de solubilité du solvant dans les phases aqueuse et organique, de sorte qu'il faut une différence de densité entre elles pour pouvoir se séparer en utilisant la décantation de sorte que la phase la plus dense soit les couches inférieures et les phases les moins denses sont au sommet, donc la phase souhaitée est isolée [05] (figure III-6).

Dans cette étape l'extrait obtenu est soumis à une extraction liquide-liquide successivement avec l'hexane, dichlorométhane et l'acétate d'éthyle.

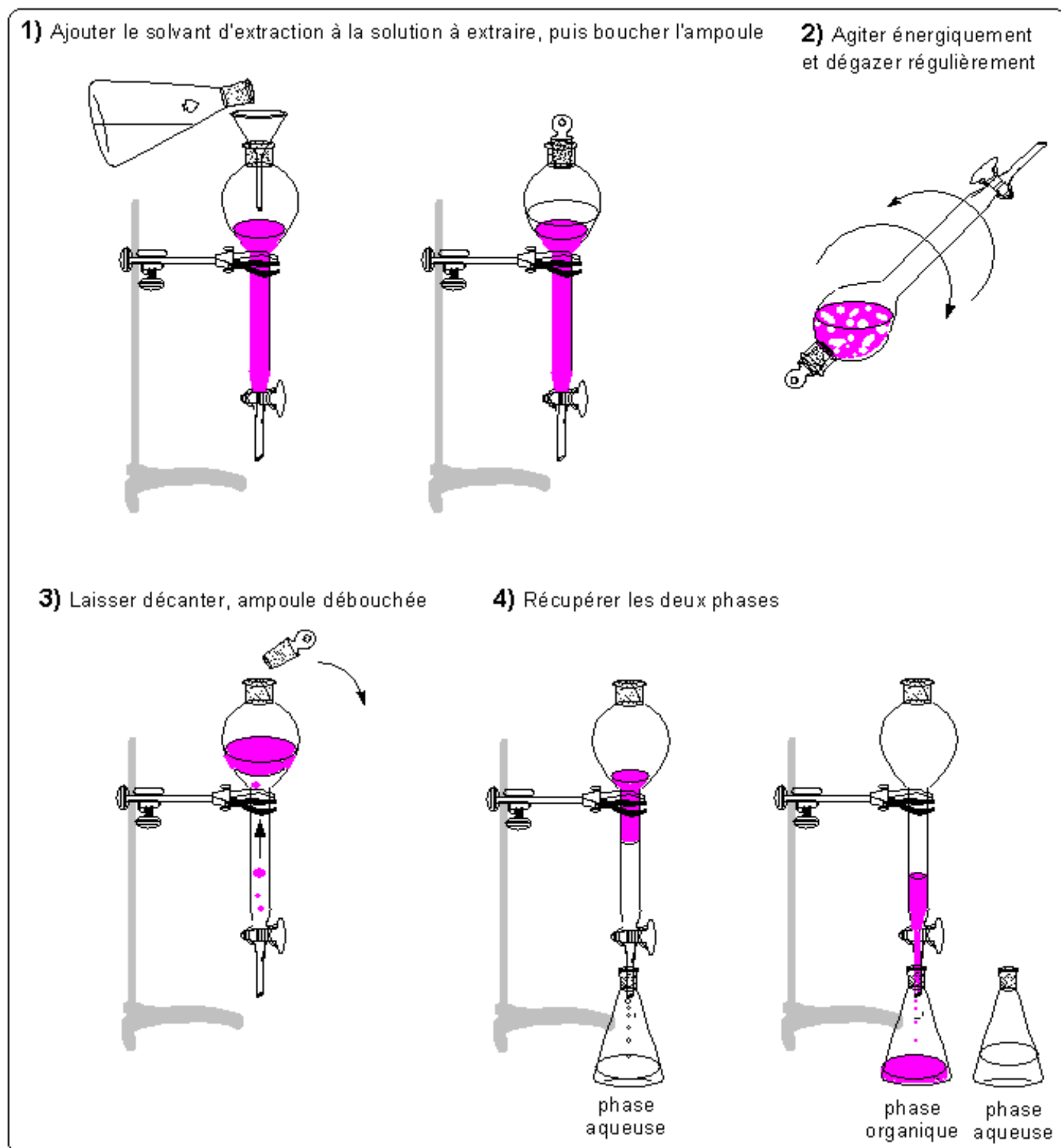


Figure III-6 : l'extraction liquide liquide par ampoule à décanter. [06]

III.2.4.2.1.Extraction par hexane :

200 ml de l'hexane sont introduits dans l'ampoule à décanté contenant la phase aqueuse, après agitation et précipitation des deux phases, la phase aqueuse (située en bas) du Vert est récupérée dans un ballon. Cette étape est répétée deux fois pour éliminer la chlorophylle, les graisses, les cires et les hydrocarbures (figure III-7).

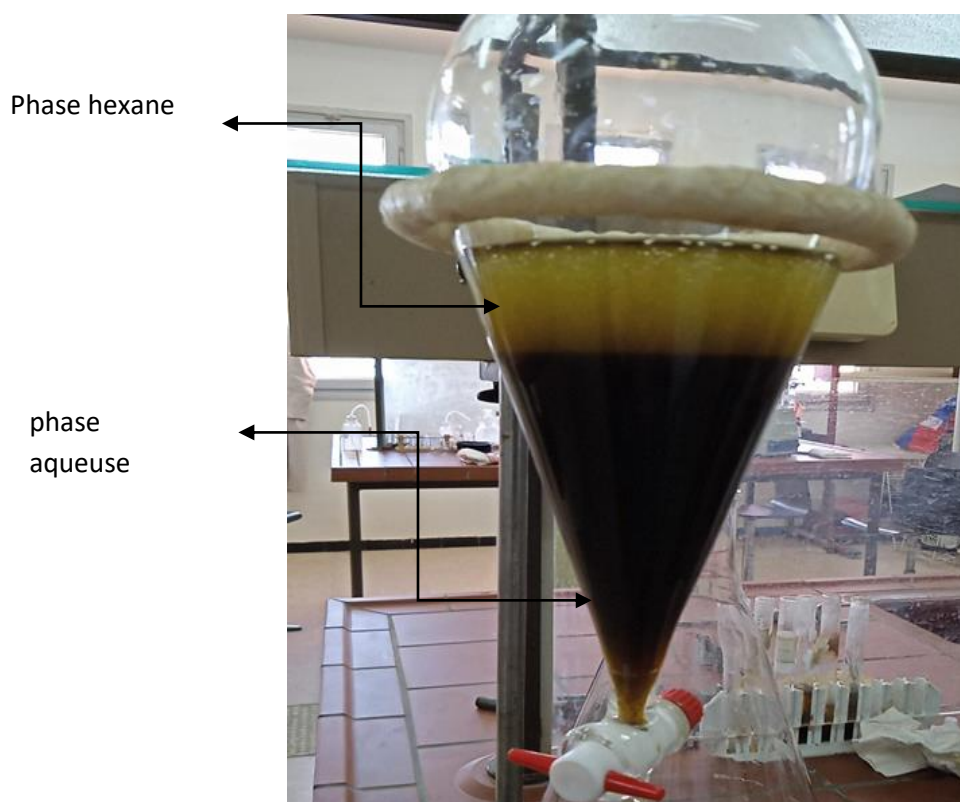


Figure III-7: l'extraction liquide liquide de la phase aqueuse par hexane.

III.2.4.2.2.Extraction par dichlorométhane :

Le dichlorométhane est un solvant de polarité moyenne, censé entraîner des composés semi-polaires.

200 ml de dichlorométhane sont ajoutés à la phase aqueuse traitée à hexane contenue dans l'ampoule à décanter, après agitation et précipitation des deux phases, la phase organique inférieure (dichlorométhane) de couleur vert clair est récupérée dans un ballon. Cette étape est répétée deux fois pour extraire les composés moyennement polaires, les coumarines (figure III-8).

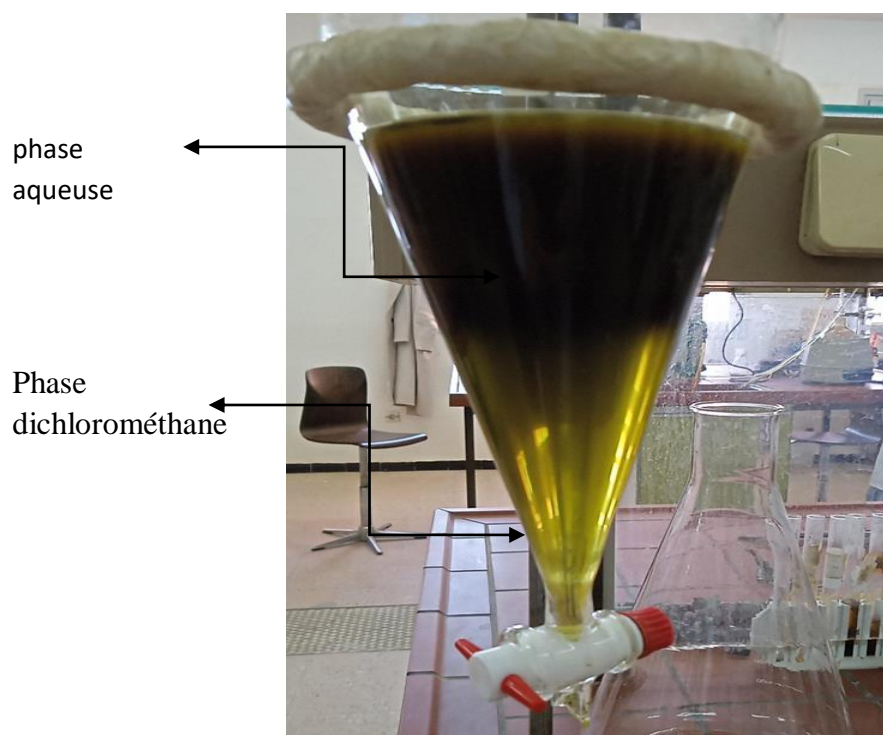


Figure III-8 : l'extraction liquide liquide de la phase aqueuse par dichlorométhane.

III.2.4.2.3.Extraction par l'acétate d'éthyle :

200 ml d'acétate d'éthyle sont ajoutés à la phase aqueuse traitée au dichlorométhane contenue dans l'ampoule à décanter , après agitation et coulée des deux phases, la phase organique supérieure (d'acétate d'éthyle) de couleur jaune est récupérée dans un ballon. Cette étape est répétée deux fois, dont l'extrait peut contenir excessivement des coumarines (figure III-9).

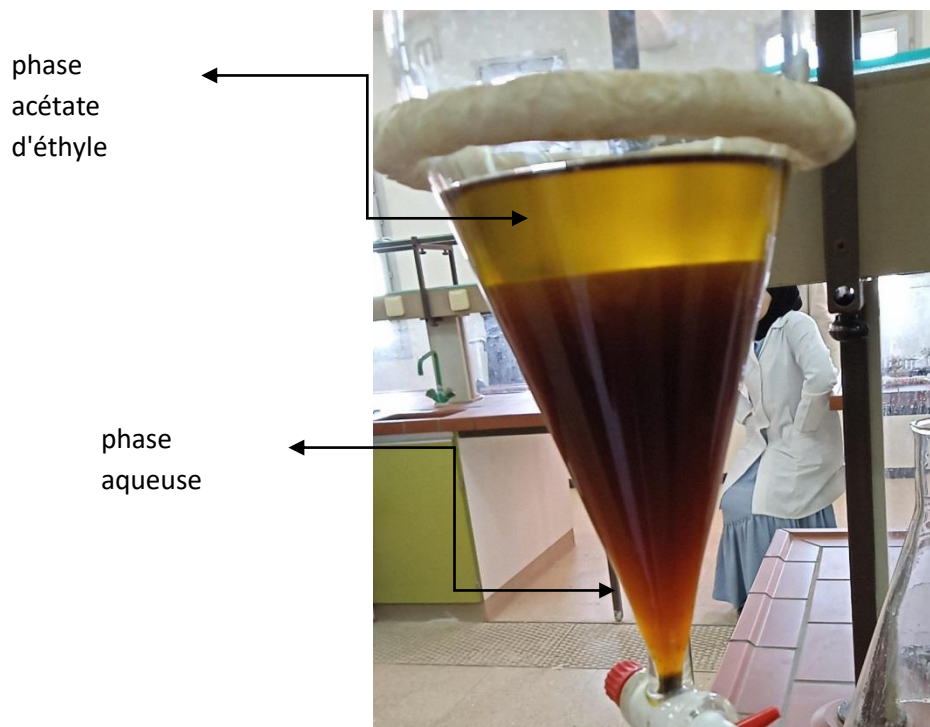


Figure III-9 : l'extraction liquide liquide de la phase aqueuse par l'acétate d'éthyle.

III.2.4.3.Évaporation des extraits :

Les extraits 1, 2 et 3 sont ensuite évaporés pour éliminer les solvants organiques :

- Hexane pour l'extrait 1.
- Dichlorométhane pour l'extrait 2.
- Acétate d'éthyle pour l'extrait 3.

Un évaporateur rotatif est un appareil utilisé pour concentrer rapidement le milieu. Il s'agit en fait de se débarrasser d'un solvant dans lequel un solide ou un liquide peu volatil est dissous. Ce dispositif est basé sur l'élimination de la rotation et du chauffage, sous pression modérée et distillation simple du solvant. La force de séparation de ce dispositif est suffisante pour séparer correctement les composés par la différence entre les points d'ébullition est significative. [07] (figure III-10).



Figure III-10 : L'évaporateur rotatif pour éliminer les solvants organiques.

III.2.5. Analyse et contrôle par chromatographie sur couche mince (CCM) :

III.2.5.1. Définition :

La chromatographie est une méthode biochimique très utilisée en biologie notamment dans la séparation et la mise en évidence des constituants d'un mélange [08].

III.2.5.2. Principe :

Le principe de cette méthode est basé sur la répartition sélective des constituants à séparer entre deux phases, la phase mobile et la phase stationnaire. La chromatographie sur couche mince repose sur des phénomènes d'adsorption et la répartition des constituants dans ce cas est en fonction :

- De la nature de la phase mobile (mélange des solvants).
- De la nature de la phase stationnaire (gel de silice).
- Des propriétés physico-chimiques des constituants à séparer [08].

III.2.5.3. Protocole expérimental :

- Un flacon contenant un éluant d'une hauteur d'environ 1 cm, il doit être fermé pour éviter l'évaporation de l'éluant.
- La plaque de chromatographie d'une taille de 2,5*6,5 cm est recouverte de gel de silice.
- Le dessin de la ligne de dépôt n'est pas représenté sur la ligne de dépôt .

- Déposer les échantillons à l'aide d'une pipette, puis sécher les dépôts à l'aide d'une plaque chauffante .
- Lecture des résultats sous un dispositif ultraviolet d'une longueur d'onde de 365 nm.



Figure III-10: Analyse par CCM.

Les systèmes élution utilisés sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau III- 1:les systèmes élution utilisés dans la séparation des coumarines sur CCM pour les extraits (hexane , dichlorométhane ,acétate éthyle).

Éluant	Volume (ml)
Acétate d'éthyle /éthanol /H ₂ O	(8.1-1.1-0.8)
Toluène /chloroforme /acétone	(4-2.5-3.5)

III.2.6.L'étude de l'activité antibactérienne des extraits (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle):

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'hexane, de dichlorométhane et d'acétate d'éthyle de tilleul à jeunes feuilles a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (antibiogramme), initialement conçue pour les antibiotiques, mais en remplaçant les comprimés antibiotiques par des comprimés imprégnés de l'extrait

(aromatogramme). Au niveau du Laboratoire d'Analyse des bactéries et des parasites de l'hôpital « Hakim Saadan » à Biskra.

Les souches bactériennes qui ont fait l'objet de cette étude ont été isolées chez des patients de cet hôpital, ce sont:

- Bactérie *Escherichia coli*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Staphylococcus aureus*

Les bactéries sont partout leur capacité à s'adapter aux environnements les plus divers et les plus rudes en a fait un élément clé de la biodiversité. Ils sont également nécessaires dans les cycles biogéochimiques. Pour l'homme, il est évident que les bactéries sont responsables de nombreuses maladies, mais elles remplissent également une fonction nutritionnelle importante dans notre système digestif. Et au final, les bactéries sont un véritable outil industriel, qui a longtemps été utilisé dans les transformations agroalimentaires comme la fermentation du lait, et plus récemment dans la production d'enzymes ou de médicaments. La présence massive de bactéries est en grande partie due à leur remarquable adaptabilité. Comprendre cette adaptabilité nous permettra à long terme de prévenir et de traiter les infections. Et à l'ère du développement durable, ces connaissances peuvent également ouvrir de grandes perspectives d'applications industrielles et agricoles [09].

III.2.6.1. Les bactéries :

Une bactérie est un microorganisme unicellulaire (procaryote) de petite taille, de formes diverses, caractérisé par des caractéristiques spécifiques. La taille des bactéries varie de 1 à 10 micromètres. Le poids des bactéries est d'environ 10-12 mg. Il contient 70% d'eau. En poids sec, les bactéries sont constituées de protéines (55%), de lipides (10%), de lipopolysaccharides (3%), de peptidoglycanes (3%), de ribosomes (40%), d'ARN (20%) et d'ADN (3%). La classification est basée sur la coloration (par Christian Gram en 1884) en fonction de la perméabilité de la paroi cellulaire au solvant. Il existe deux grandes catégories de bactéries: les bactéries à gram positif et les bactéries à Gram négatif. La différence réside principalement dans la structure de la paroi cellulaire [10].

Des bactéries se forment.

- Un noyau qui contient sur un chromosome le patrimoine génétique de la cellule.
- Le cytoplasme, qui contient des ribosomes, siège des synthèses protéiques et éventuellement des plasmides
- une paroi, ou membrane, lui donnant sa forme, sa rigidité et son antigénicité [11].

III.2.6.2. Escherichia coli :

Escherichia coli est une bactérie de la famille des Escherichia coli. elle est une bactérie qui vit dans le tube digestif de nombreux vertébrés, y compris les humains.

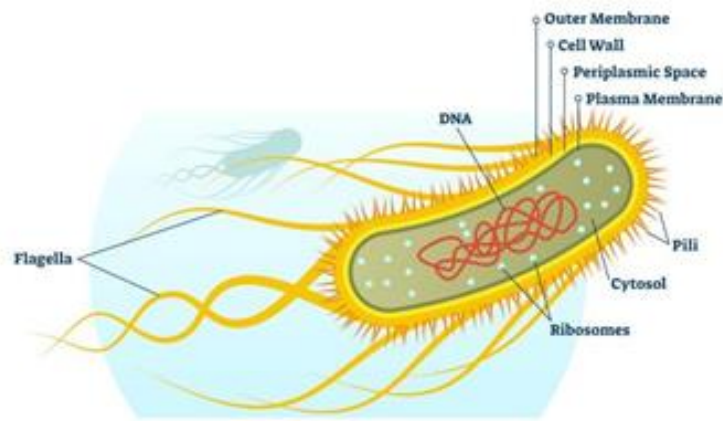


Figure III-11 : Escherichia coli [13].

Ce sont des bactéries aérobies facultatives, c'est-à-dire qu'elles peuvent se développer à la fois avec la présence et l'absence d'oxygène. Leur longueur varie de 0,5 à 3 micromètres et leur poids est compris entre 0,5 et 5 picogrammes. Le comte E. coli est l'un des microorganismes les plus étudiés et les plus utilisés en recherche. Ils ont été découverts par Escherich en 1885, et depuis lors, ils ont été largement utilisés par les microbiologistes. Les cultiver est facile et à croissance rapide, dans des conditions idéales, leur nombre peut doubler toutes les 20 minutes. L'accumulation de connaissances et de techniques autour de E a fait de coli un organisme modèle et un outil important dans les laboratoires. Le chromosome d'E. coli contient 4,6 millions de paires de bases et comprend 4 300 gènes codant pour des protéines (Blattner et al., 1997). À titre de comparaison, la longueur de l'ADN humain est d'environ 3,2 milliards de paires de bases, soit mille fois plus longue. Mais il ne contient qu'environ 20 000 gènes, ce qui équivaut à deux à trois fois le nombre de gènes e. coli seulement. Les souches de E peuvent provoquer des infections à coli, qu'elles soient de nature pathogène ou opportunistes, du tractus gastro-intestinal. Ou des infections urinaires, ou des méningites, voire des intoxications sanguines (septicémie) [12].

III.2.6.3. P. aeruginosa :

P. aeruginosa est une bactérie bacille de forme mince dont la longueur varie de 1 à 5 micromètres et la largeur de 0,5 à 1 micromètre. Il s'agit d'une bactérie à gram négatif, non sporulée, complètement aérobie, généralement non encapsulée mais parfois entourée d'une

fausse enveloppe appelée albumine qui peut jouer un rôle important dans la capacité pathogène de cette bactérie. Ces bactéries se caractérisent par leur grande mobilité grâce à la présence de flagelles polaires, généralement uniques (monocotylédones). Caractérisé par *P. aeruginosa* a un métabolisme oxydatif. Il a la capacité d'analyser des composés complexes, tels que des protéines et des polysaccharides complexes tels que l'amidon et la cellulose. Ils réduisent également généralement le nitrate en nitrite (et ce processus peut équivaloir à la conversion du nitrate en azote gazeux), contiennent de l'arginine déshydrogénase et de la lécithine (qui ne peuvent être détectées que dans un environnement liquide). Ces bactéries produisent de l'ammoniac à partir de la décomposition de l'acétamide. Ces bactéries se trouvent généralement dans le sol, l'eau et les espaces qui entrent en contact avec ces deux milieux [14].

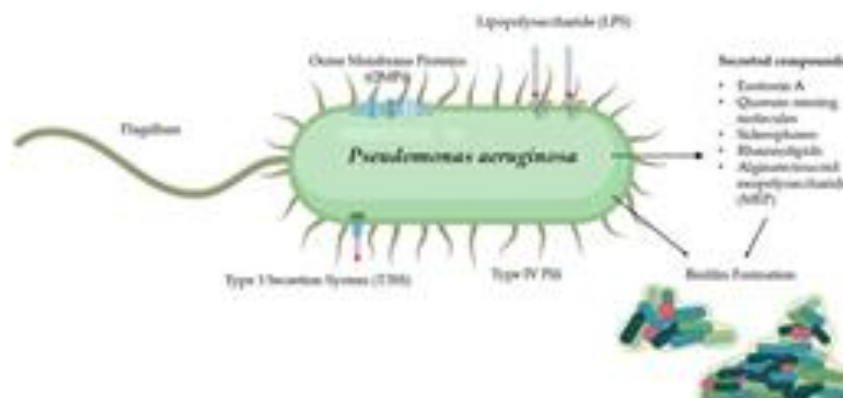


Figure III-12 : *P. aeruginosa* [15].

III.2.6.4. *Staphylococcus aureus* :

Les bactéries appartenant au genre *Staphylococcus* sont des cocci à Gram positif, regroupés sous forme de grappes, caractérisées par une grande résistance à l'environnement extérieur, et sont également faciles à cultiver en laboratoire. Ces bactéries sont classées en fonction de leur capacité à coaguler le sang. Une distinction peut être faite entre les staphylocoques à coagulase positive, qui sont principalement représentés par *S. aureus* (également connu sous le nom de *Staphylococcus aureus*), et les staphylocoques à coagulase négative (SCN), tels que *S. aureus* (également connu sous le nom de *Staphylococcus aureus*), *epidermidis* et *S. saprophyticus* et *S. hominis*. Ces dernières sont souvent des bactéries opportunistes. Le comte *S. aureus* et les staphylocoques à coagulase négative sont particulièrement responsables des

infections associées aux dispositifs médicaux, tels que les cathéters, les chambres d'injection sous-cutanée, les stimulateurs cardiaques, ainsi que les prothèses.

Appartiennent à *S. aureus* se réfère à la flore normale de la peau et des muqueuses humaines, 30 à 50% des personnes en bonne santé sont ses porteurs temporaires et 10 à 20% sont des porteurs permanents. La muqueuse nasale est le site le plus courant de son transport. Cette bactérie est transmise par les mains, en particulier dans les hôpitaux par le personnel médical ou les patients, de sorte que le pourcentage de porteurs de celle-ci est plus élevé dans ce milieu. L'infection peut survenir lorsque la barrière cutanée est endommagée (lors d'une plaie ou d'une intervention chirurgicale), et le risque d'infection augmente si le système immunitaire est affaibli. Tous ces facteurs en font l'un des principaux germes responsables des infections nosocomiales, avec *E. coli*, *WP. aeruginosa*, qui nécessite des mesures d'hygiène strictes pour prévenir ou minimiser sa transmission au sein des hôpitaux. Ces bactéries peuvent également causer des infections communautaires, y compris certaines infections d'origine alimentaire. L'infection à *S. aureus* est le plus souvent d'origine cutanée, par une plaie. Les symptômes cliniques varient, car ces bactéries provoquent principalement des infections purulentes de la peau et des muqueuses telles que des furoncles ou des abcès cutanés, des infections des ongles telles qu'une inflammation des bords des ongles, ainsi que des infections des oreilles ou des sinus. L'infection peut se propager localement ou par le sang pour provoquer une bactériémie, une endocardite ou une septicémie. Il est également responsable d'infections osseuses et articulaires à la fois originelles et associées à la chirurgie, et d'infections musculaires (myosite staphylococcique). Il peut pénétrer dans les poumons et provoquer une pneumonie [16].

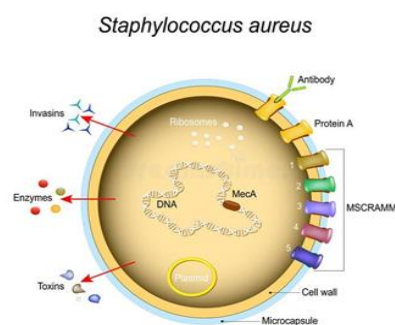


Figure III-13: *Staphylococcus aureus* [17].

III.2.6.5. Préparation des milieux de culture et d'inoculum:

Milieux solides (gélose nutritive, gélose Muller-Hinton) selon les protocoles standards: dissolution dans de l'eau distillée, stérilisation en autoclave (121 C C. Pendant 30 minutes), puis versé dans des boîtes de pétri stériles. Après solidification, ils ont été stockés à 4 C C.

Des souches bactériennes (Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa) ont été obtenues à partir de collections de laboratoire certifiées. Le vaccin a été préparé à partir de colonies pures en suspension dans une solution physiologique stérile et homogène pour une utilisation immédiate dans les tests.

III.2.6.7. Méthode de dilution des extraits :

Les extraits dissous sont dilués dans de l'éthanol selon le protocole de dilution suivant :

Tableau III- 2 : protocole de dilution.

Les dilutions	Description	Volume de solution	Volume d'éthanol
A	Extrait + éthanol	(extrait)	4ml
B	Solution A + éthanol	2ml(solution A)	2ml
C	Solution B + éthanol	2ml(solution B)	2ml
D	Solution C + éthanol	2ml(solution C)	2ml

III.2.6.8. Préparation des disques :

Les disques sont préparés à partir de papier Whatman N°3 d'un diamètre de 6 mm, puis ils sont soigneusement rincés à l'eau distillée et placés dans un tube à essai, stérilisés en autoclave.

III.2.6.9. Préparation du milieu de culture pour le test :

- ✓ Chauffer le gélose jusqu'à dissolution complète et faire bouillir pendant au moins une minute.
- ✓ Stérilisez le milieu à 121 degrés Celsius pendant 30 minutes pour éliminer les contaminants.
- ✓ Laisser refroidir pour éviter la condensation dans les boîtes de pétri et les tubes.
- ✓ Versez environ 25 ml de gélose dans chaque boîte de pétri stérilisée et dans les tubes inclinés stérilisés, en laissant environ 1 à 2 cm au fond et en inclinant les tubes pour obtenir une surface inclinée.

- ✓ Laisser refroidir et durcir à température ambiante et conservez les tubes inclinés et les boîtes de pétri à 4°C une fois solidifiés.

Ces étapes assurent la préparation stérile de la Gélose pour la culture microbiologique.

Références bibliographiques :

- [01] : (Duke, J. A. (2002). Handbook of Medicinal Herbs. CRC Press)
- [02]: (ESCOP Monographs. *Tiliae flos* – *Tilia cordata*)
- [03] : Salhaoui, I., & Benabderrahmane, Z. (2020). Étude d'une plante médicinale : « *Amarilla sacaca* » criblage phytochimique, polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et flavonols totaux (Mémoire de licence, Université Mohamed Khider de Biskra, Algérie). Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences de la Matière.
- [04] : Daira, N. E.-H., Maazi, M. C., & Chefour, A. (2016). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) de l'Est Algérien. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 85, 276–290.
- [05] : Sebbakh, Y. (2017). Extraction liquide–liquide des métaux de transition avec salicylidene-para-anisidine dans le toluène (Mémoire de Master, Université Mohamed Khider – Biskra, Algérie, Département de Chimie Industrielle, Faculté des Sciences et de la Technologie).
- [06] : Demirdjian, H., de Mecquenem, C., Drommi, M., Topart, C., & Baudin, J.-B. (2007, novembre 15). L'extraction liquide-liquide. Science Photo Library. <https://www.sciencephoto.com>
- [07] : Mecquenem, C., Drommi, M., & Topart, C. (2018, June 20). Utilisation de l'évaporateur rotatif.
- [08] : Bedjadj, N., & Houari, M. (2019). Étude phytochimique des extraits des capsules de *Gossypium arboreum* et leur activités biologiques (Mémoire de Master, Université de Ghardaïa, Faculté des Sciences et de la Technologie, Département de Génie des procédés). Soutenu publiquement le 27 juin 2019, p. 28
- [09] : Cottinet, D. (2013). Diversité phénotypique et adaptation chez *Escherichia coli* étudiées en millifluidique digitale (Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI). École doctorale de chimie physique et chimie analytique de Paris Centre. <https://example.com/thesis-link>

- [10] : Madani, S. (2020). Synthèse, caractérisation, étude des propriétés adsorbantes et activité antibactérienne du polystyrène-4-(5-mercapto-1,3,4-thiadiazol-2-ylimino) pentan-2-one, chélateur des ions métalliques (Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Faculté de Technologie, Département de Génie des Procédés).
- [11] : Djebaili, R. (2016). Étude des sesquiterpènes lactones de la plante *Tilia cordata*, activité biologique (Mémoire de Master). Université Mohamed Khider, Biskra.
- [12] : Cottinet, D. (2013). Diversité phénotypique et adaptation chez *Escherichia coli* étudiées en millifluidique digitale (Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie, École doctorale de chimie physique et chimie analytique de Paris Centre).
- [13] : Keller, M., & Dörr, T. (2023, juillet 5). *E. coli* est l'un des organismes les plus étudiés – et cela peut constituer un problème pour la science et la médecine. Université Cornell.
- [14] : Benelmili, S. (2021). Etude du profil bactériologique et de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau du CHU de Constantine (Mémoire de Master, Université de Constantine 1, 2020-2021).
- [15] : Killough, M., Rodgers, A. M., & Ingram, R. J. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*: Avancées récentes dans le développement de vaccins. *Vaccines*, 10(7), 1100. <https://doi.org/10.3390/vaccines10071100>
- [16] : Ballet, M. (2020). Impact de l'ajout d'antibiotiques dans les ciments orthopédiques sur la prévention de la formation de biofilm au cours d'infections sur prothèse articulaire à *Staphylococcus aureus* (Thèse de doctorat, Diplôme d'État de docteur en pharmacie). Université de Paris.
- [17] : Designua. (n.d.). Structure cellulaire de *Staphylococcus aureus* et facteurs pathogènes : Composants de cellules illustration de vecteur pour l'usage médical, éducatif et de la science [Illustration vectorielle]. Dreamstime. <https://www.dreamstime.com/structure-cellulaire-de-staphylococcus-aureus-et-facteurs-pathogènes-composants-cellules-illustration-de-vecteur-pour-image122532471>

Chapitre IV :Résultats et discussion

IV.1. Le criblage phytochimique de l'espèce *Tilia Cordata* (feuilles , graines et tiges)[01][02] :

Des analyses phytochimiques ont révélé la présence de certains métabolites secondaires dans les différents organes de la plante *Tilia cordata* (feuilles, graines et racines). De tels essais ont été réalisés par des réactions basées sur des phénomènes de précipitation ou de décoloration à l'aide de réactifs qualitatifs.

IV.1.1.Les flavonoïdes :

IV.1.1.1.les feuilles :

Notez dans le premier test que la décoloration de l'extrait des feuilles de *Tilia cordata* après l'ajout de réactifs à une couleur jaune claire est une indication de la présence de flavonoïdes et dans le deuxième test , un changement de couleur de l'extrait a été observé après l'ajout des réactifs à la couleur rouge orangé , ce qui indique la présence du type de flavonoïdes est flavones (figure IV-1).



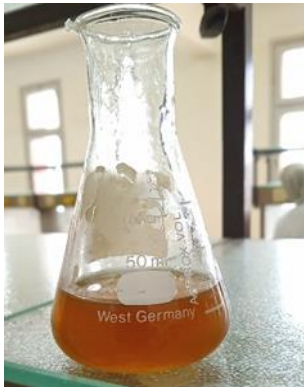
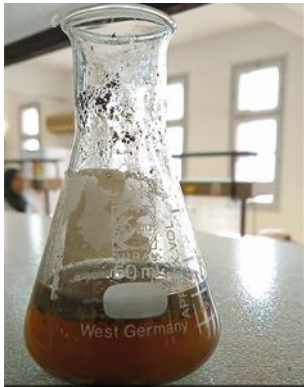
Feuilles	Avant	Après
Test01		
Test02		

Figure IV-1 :résultats des tests de flavonoïdes des feuilles de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.1.2.les tiges :

Notez dans le premier test que la décoloration de l'extrait des tiges de *Tilia cordata* après l'ajout de réactifs à une couleur jaune claire est une indication de la présence de flavonoïdes et dans le deuxième test , un changement de couleur de l'extrait a été observé de couleur jeune orangé , ce qui indique la présence du type de flavonoïdes est flavones (figure IV-2)

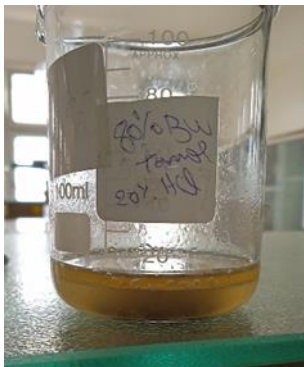



Tiges	Avant	Après
Test01		
Test02		

Figure IV-2 :résultats des tests de flavonoïdes des tiges de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.1.3. les graines :

Dans le premier test on observe la décoloration de l'extrait après l'ajout de réactifs à une couleur jaune claire est une indication de la présence de flavonoïdes et dans le deuxième test , un changement de couleur de l'extrait a été observé après l'ajout des réactifs à la couleur rouge orangé , ce qui indique la présence du type de flavonoïdes est flavones (figure IV-3).

Graines	Avant	Après
---------	-------	-------





Test01		
Test02		

Figure IV-3 : résultats des tests de flavonoïdes des graines de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.2. Les quinones:

IV.1.2.1. les feuilles :

Le test de détection de la quinone a donné un changement de couleur du réactif en orange rougeâtre, ce qui indique la présence de composés quinoniques dans l'extrait de feuilles de la plante *Tilia cordata*.

IV.1.2.2. les tiges :

Après l'apparition de la couleur rouge dans le test de détection des quinones à partir de l'extrait des tiges de la plante *Tilia cordata* avec l'ajout de réactifs indique la présence des composés quinoniques.

IV.1.1.3. les graines :

Le changement de couleur qui s'est produit indique la présence de Quinones dans les graines de *Tilia cordata*. Où la couleur rouge-brun est due à l'oxydation des quinones (figure IV-4)







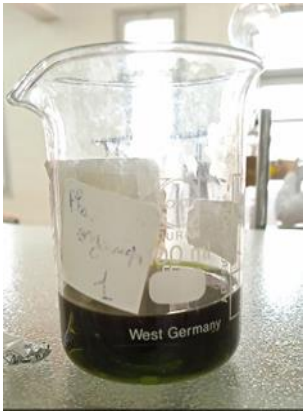
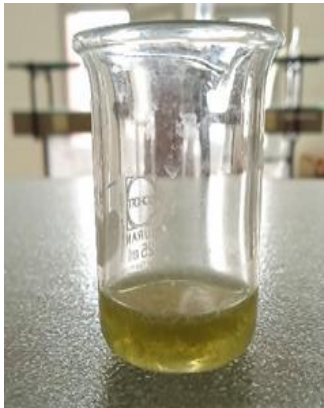


Quinones	Avant	Après
Les feuilles		
Les tiges		
Les graines		

Figure IV-4 : résultats des tests de quinones des graines et tiges et feuilles de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.3. Les coumarines :

L'apparition d'un précipité lors de l'ajout d'acide chlorhydrique dans l'extrait de feuilles et de tiges indique la présence de coumarines, mais au niveau des graines, la réaction est négative, aucun précipité ne s'est formé et la couleur jaune de l'extrait indique l'absence de coumarines (figure IV-5).



Coumarines	Avant	Après
Feuilles		
tiges		

Graines		
---------	---	--

Figure IV-5: résultats des tests de coumarines des graines et tiges et feuilles de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.4. Les tannins :

L'apparition d'un mélange de vert et de noir dans les extraits des feuilles, tiges et graines de la plante *Tilia cordata* indique la présence de tanins, à savoir les tanins catéchiques et galliques (figure IV-6)

Les tannins	Avant	Après
Feuilles		





Tiges		
Graines		

Figure IV-6 : résultats des tests des tanins des graines et tiges et feuilles de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.5. Les saponosides :

L'apparition d'une mousse persistante après agitation de l'extrait des feuilles et tiges de *Tilia cordata* est une indication de la présence des saponosides (figure IV-7).



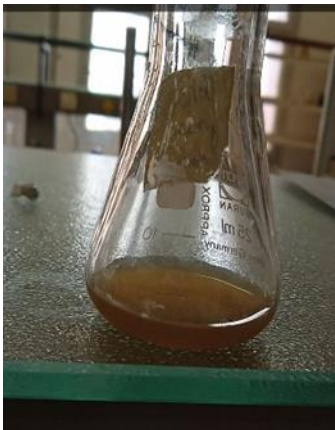

Saponosides	Avant	Après
Feuilles		
tiges		

Figure IV-7 : résultats des tests des saponosides des tiges et feuilles de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.6. Les anthocyanes:

La couleur de l'extrait a changé après l'ajout de réactifs du rouge brunâtre au jaune orangé. Le changement de couleur indique la présence d'anthocyanes dans les feuilles de *Tilia cordata*, mais l'absence de changement de couleur lors de l'ajout de réactifs à l'extrait de tige de *Tilia cordata* indique l'absence d'anthocyanes (figure IV-8).


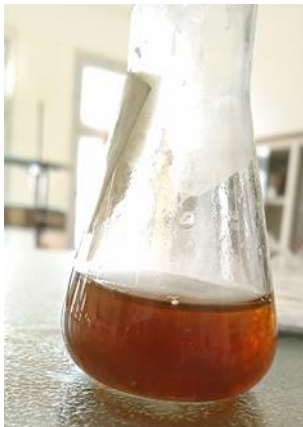





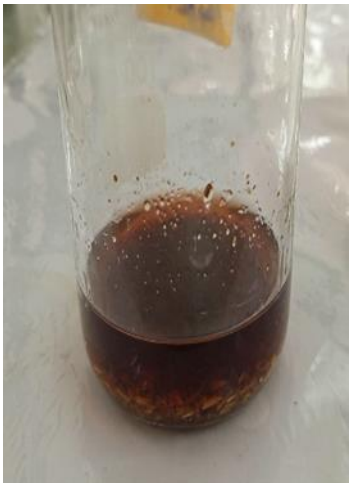
Les anthocyanes	Avant	Après
Feuilles		
tiges		

Figure IV-8 : résultats des tests des anthocyanes des tiges et feuilles de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.7. Leucoanthocyanes :

Le test est négatif pour les feuilles de *Tilia cordata*, il n'y a pas d'apparition de couleur rouge après l'ajout de réactifs, contrairement aux tiges, la couleur de l'extrait est passée au rouge, indiquant la présence de leucoanthocyanes (figure IV-9).

Leucoanthocyanes	Avant	Après
Feuilles		
Tiges		

1Figure IV-9:résultats des tests Leucoanthocyanes des tiges et feuilles de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.8.Test de Stérols et terpènes :

L'apparition d'une couleur verte entre deux couches dans les extraits de feuilles et de tiges de *Tilia cordata* indique la présence de terpènes et de stérols, quant aux graines, il n'y a pas d'apparition de couleur verte, c'est-à-dire l'absence de terpènes et de stérols (figure IV-10).

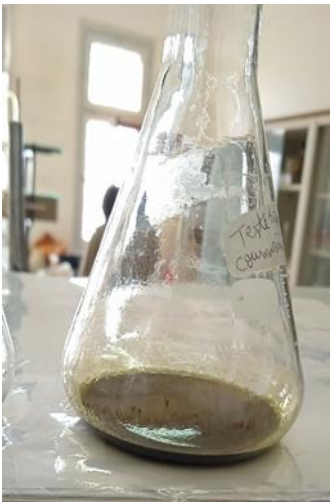









Stérols et terpènes	Avant	Après
Feuilles		
Tiges		
Graines		

Figure IV-10 : résultats des tests Stérols et terpènes des tiges et feuilles et graines de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.9. Test de Caroténoïdes :

Le changement de couleur de l'extrait de graine de *Tilia cordata* en violet est la preuve de la présence de caroténoides, et l'absence de couleur violette dans les extraits de feuilles et de tiges de *Tilia cordata* lors de l'ajout de réactifs est la preuve de l'absence de caroténodes (figureIV- 11).




Caroténoïdes	Avant	Après
Feuilles		
Tiges		

Graines		
---------	---	--

Figure IV-11 :résultats des tests Caroténoïdes des tiges et feuilles et graines de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.10.Test des alcaloïdes :

En ce qui concerne les tiges et les feuilles, tous les tests sont négatifs, c'est-à-dire l'absence d'alcaloïdes dans l'extrait de tiges et de feuilles, l'apparition d'une couleur jaune dans le test de Meyer, d'une couleur rouge-orange dans le test de dragendorff et d'une couleur rouge-brun dans le test de boucherdat dans l'extrait de graine de *Tilia cordata*, cela indique la présence d'alcaloïdes en eux (figureIV-12).

Alcaloïdes	Feuilles	Tiges	Graines
Mayer			





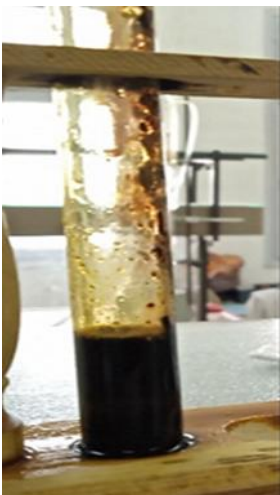

dragendorf			
busherd			

Figure IV-12: résultats des tests alcaloïdes des tiges et feuilles et graines de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.11. Test de l'amidon :

Lorsque de l'iode est ajouté à la poudre des tiges et des feuilles de *Tilia cordata*, l'absence de couleur bleu-violet témoigne de l'absence d'amidone dans celles-ci (figure IV-13).

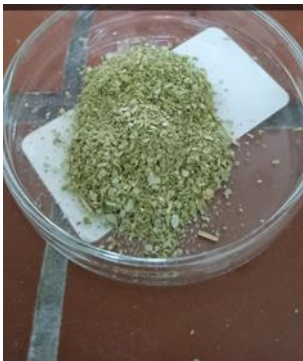



Amidon	Avant	Après
Feuilles		
Tiges		

Figure IV-13 :résultats des tests amidons des tiges et feuilles de *Tilia cordata* avant et après.

IV.1.12. Test de Sucres réducteurs :

L'apparition de la couleur rouge brique après l'ajout de réactifs aux extraits de feuilles, graines et tiges de la plante *Tilia cordata* indique la présence de sucres réducteurs en eux (figure IV-14).







Sucres réducteurs	Avant	Après
Feuilles		
Tiges		
Graines		

Figure IV-14 : résultats des tests Sucres réducteurs des tiges et feuilles et graines de *Tilia cordata* avant et après.

Les résultats de la criblage préliminaire, compilés dans le tableau (IV-1), montrent la présence de flavonoïdes, de sucres réducteurs, de coumarines, de Quinones et de tanins dans l'extrait de tiges, de feuilles et de graines . Il a également été constaté que les terpénoïdes, les stérols et les saponosides sont présents dans l'extrait de tiges et de feuilles et leur absence dans les graines, mais que les caroténoïdes sont présents dans ce dernier extrait, alors qu'ils sont absents dans les extraits de feuilles et de tiges. Quant à la détection des anthocyanes, elles ont donné un résultat positif dans l'extrait de feuille et un résultat négatif dans l'extrait de tige, tandis que les leucoanthocyanes sont présents et absents dans l'extrait de tige . Il a également été constaté que l'amidone est absente dans les deux derniers extraits .

La présence ou l'absence de l'un des composés secondaires dans un extrait particulier dépend du type de solvant, de la méthode d'extraction et de la durée de l'extraction Sur la base des résultats obtenus à partir des tests de détection phytochimique initiaux, nous pouvons prédire que la plante *Tilia Cordata* contient une grande variété de composés secondaires dans ses divers organes végétaux.

Tableau IV-1 : résultats des tests préliminaire de mise en évidence de quelques métabolites secondaires des organes (tiges ,feuilles et graines)de *Tilia cordata*.

(-) absence ,(+) présence ,(/)non déterminé,(++) présences dans les deux test,(+++) présences dans les trois tests ,(-- --) présences dans les trois test .

Composés chimiques	Feuille	Tiges	Graines
Flavonoïdes	++	++	++
Quinones	+	+	+
Coumarines	+	+	-
Tanines	+	+	+
saponosides	+	+	/
Anthocyanes	+	-	/
Leucoanthocyanes	-	+	/
Stérols et terpènes	+	+	-
Caroténoïdes	-	-	+
Alcaloïdes	---	---	+++

Amidons	-	-	/
Sucres réducteurs	+	+	+

IV.2.Détermination du rendement d'extraction(R) [03]:

Le rendement d'extraction, qui est exprimé en pourcentage (%) et calculé par rapport au poids de la matière sèche primaire utilisée à partir de *Tilia cordata*, varie en fonction du type de solvant utilisé . Ce rendement varie de 0,34% à 0,626%.

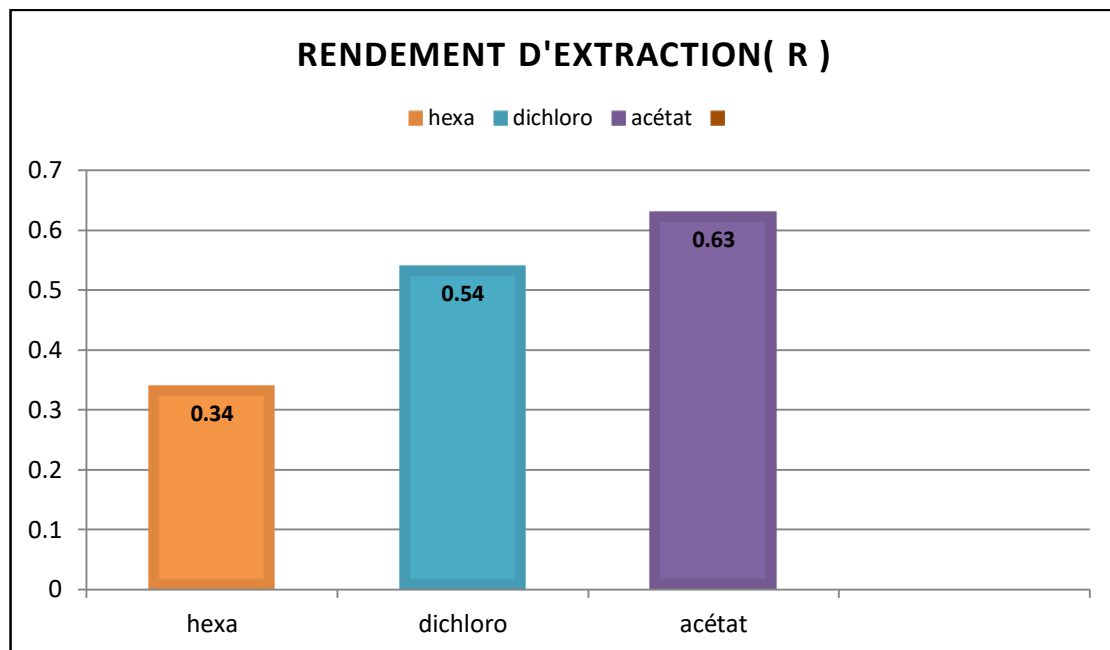
$$R = \frac{m_{\text{extrait}}}{m_{\text{plante}}} \times 100\%$$

Les pourcentages de rendement les plus élevés ont été observés dans l'extrait d'acétate d'éthyle par rapport aux extraits de dichlorométhane et d'hexane qui étaient plus faibles. Comme indiqué dans le tableau IV-2.

On voit que le rendement d'extraction augmente avec l'augmentation de la polarité du solvant. L'extrait d'hexane apparaît dans une couleur vert jaunâtre clair, tandis que le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle apparaissent dans une couleur vert foncé.

Tableau IV-2: rendement d'extraction des extraits (hexane,dichlorométhane , acétate d'éthyle).

Solvant	Masse d'extrait sec (g)	Rendement(%)
Hexane	0.52	0.35
Dichlorométhane	0.81	0.54
Acétate d'éthyle	0.94	0.63





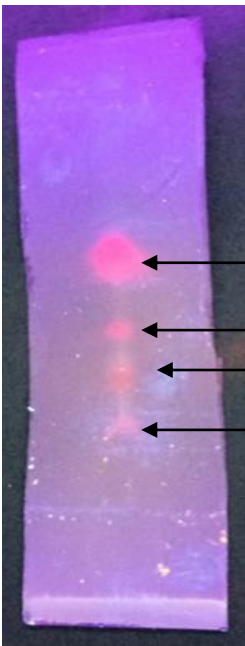





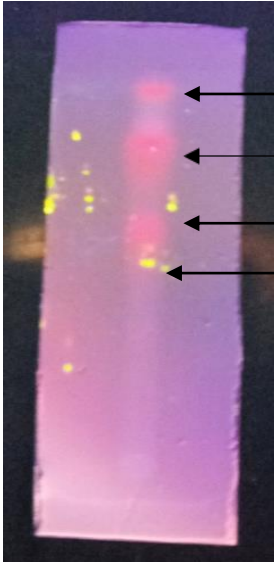




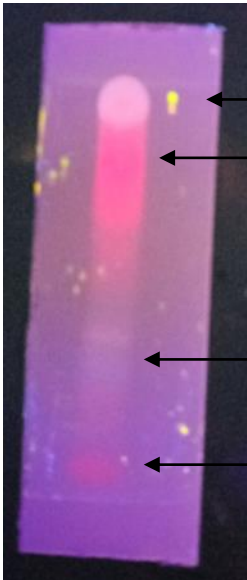







Histogramme sur : « réparation relative du rendement en extraits de *Tilia cordata* à partir d'une masse de 150 g en utilisant divers solvants .

Les résultats d'extraction ont montré la supériorité de l'acétate d'éthyle par 42% ,suivi du dichlorométhane de 36% , tandi que l'hexane a montré un rendement inférieur de 22% . ces résultats reflètent l'efficacité de différents solvants utilisés ,en fonction de leur polarité et de leur effet dans l'extraction des composés actifs de l'échantillon végétal «*Tilia cordata* » .

IV.3.Analyse des extraits par chromatographie sur couche mince (CCM) :

IV.3.1. les places CCM (résultats) [05]:

Extrait	Eluant 01	Eluant 02
Hexane	 <p>  Marron  Marron  Bleu </p>	 <p>  rouge  Marron  Jeune-  Marron  rouse </p>
Dichlorométhane	 <p>  Marron  marron  rouse  Jeune-vert </p>	 <p>  Jeun vert  Rouge-  marron  Bleu pale  Marron </p>

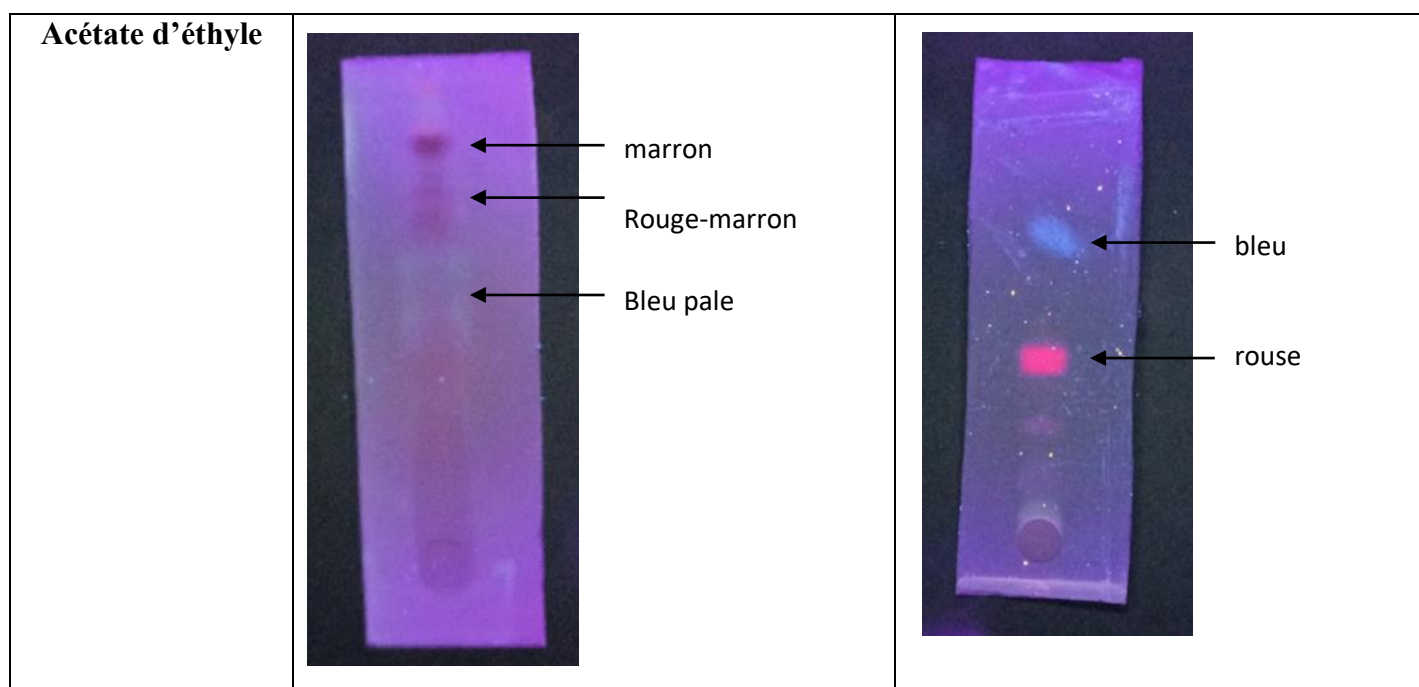


Figure IV-15: les résultats de l'analyse CCM des extraits de *Tilia cordata* par (hexane , dichlorométhane et acétate d'éthyle sous lumière UV (366 nm).

D'après les résultats de la chromatographie CCM (figure IV-15). On trouve que la couleur marron et jaune trouvée en plaque CCM indique la présence de coumarines de type furanocoumarine. La couleur jaune-marron et le bleu pâle suggèrent la présence de chromone, la couleur bleu cyan et le bleu indiquent la présence de coumarines simples. Il y a des points jaune-vert dans l'extrait de dichlorométhane répartis sur la face de la plaque qui peuvent exprimer la présence de plusieurs types de coumarines non substituées . Il existe d'autres couleurs visibles comme le rouge, le rose et le Violet, ces couleurs indiquent la présence d'autres composés ou impuretés dans les extraits. La multiplicité des taches en plaque CCM exprime la multiplicité des composés présents dans l'extrait.

L'analyse via CCM montre que l'extrait contient un ensemble complexe et diversifié de coumarines, y compris des furanocoumarines, des coumarines simples et des chromones, ainsi que d'autres composés non spécifiques. Cela indique la richesse de la plante *Tilia cordata* en composés biologiquement actifs, qui peuvent mériter une étude plus approfondie et une séparation en utilisant des techniques plus spécialisées.

IV.3.2. Calcule de facteur de rétention [04]:

Aussi appelé coefficient de flux est le rapport du mouvement de la substance (L_C) par rapport au mouvement du solvant (L_S) sur le papier CCM, chaque composé a une valeur R_f caractéristique en fonction du type de conditions dans lesquelles La plaque CCM a été réalisée, son calcul nous aide à identifier le type de substance.

$$Rf = \frac{L_c}{L_s}$$

L_c :longueur du mouvement de composée.

L_s :longueur du mouvement de solvant .

Tableau IV- 3 : Facteur du retention Rf des composés des plaques CCM des extraits .

Extrait	Eluant	Lc(cm)	Ls(cm)	Rf
Hexane	01	5.6	6.2	0.90
		5.4		0.87
		4.8		0.77
	02	3.7	6	0.62
		3		0.5
		2.7		0.45
		2		0.33
Dichlorométhane	01	4.6	5.3	0.87
		4.2		0.79
		3.3		0.66
		2.8		0.53
	02	4.7	5.6	0.83
		4		0.71
		2.3		0.41
		1.1		0.19
Acétate d'éthyle	01	5.1	6.1	0.83
		4.5		0.73
		3.5		0.53
	02	3.7	5.4	0.68
		2.4		0.44

D'après le tableau (IV-3) ,on notez que certains composés sont co-présents dans les extraits.

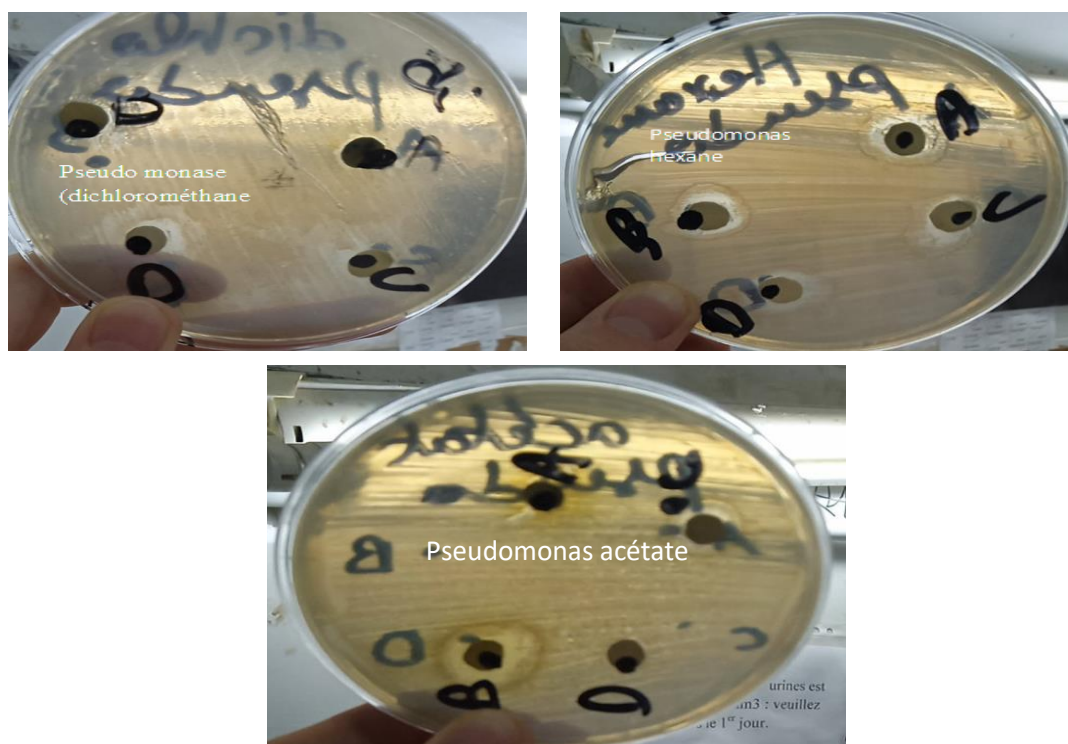
IV.4. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle):

Pour étudier in vitro l'activité antibactérienne de nos trois extraits obtenus à partir des feuilles de la plante *Tilia cordata*, la méthode d'étalement des comprimés sur un milieu gélosé a été utilisée. Cette activité est estimée, après 24 heures d'incubation à une température de 37 C°, en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne autour des comprimés contenant différentes concentrations des trois extraits (hexane, dichlorométhane et acétoéthyle) par rapport aux bactéries (*Pseudomonas*. *Staphylococcus aureus*, *escherichia coli*).

IV.4.1.Bactéries *Pseudomonas* (résultats des antibiogrammes) :

Tableau IV-4 : résultats des antibiogrammes des extraits sur bactérie *pseudomonas*(diamètre d'inhibition).

Pseudomonas	Dilution A	Dilution B	Dilution C	Dilution D
EX : hexane	10mm	11mm	13mm	12mm
EX :dichlorométhane	08mm	08mm	10mm	11mm
EX :acétate d'éthyle	Résistance	14mm	13mm	Résistance



FigureIV-16 :résultats de antibiogramme de bactérie *pseudomonas*.

IV.4.2. Escherichia coli (résultats des antibiogrammes) :

Tableau IV-5 : résultats des antibiogrammes des extraits sur bactérie Escherichia coli (diamètre des zones d'inhibition).

Escherichia coli	Dilution A	Dilution B	Dilution C	Dilution D
EX : hexane	Résistance	08mm	Résistance	09mm
EX :dichlorométhane	07mm	Résistance	Résistance	Résistance
EX :acétate d'éthyle	Résistance	09mm	08mm	09mm



Figure IV-17 : résultats de antibiogramme de bactérie Escherichia coli.

IV.4.2. Staphylococcus aureus(résultats des antibiogrammes) :

Tableau IV-6 : résultats des antibiogrammes des extraits sur bactérie Staphylococcus aureus (diamètre des zones d'inhibition).

Staphylococcus aureus	Dilution A	Dilution B	Dilution C	Dilution D
EX : hexane	12mm	09mm	19mm	14mm
EX :dichlorométhane	14mm	11mm	10mm	Résistance
EX :acétate d'éthyle	10mm	09mm	Résistance	07mm

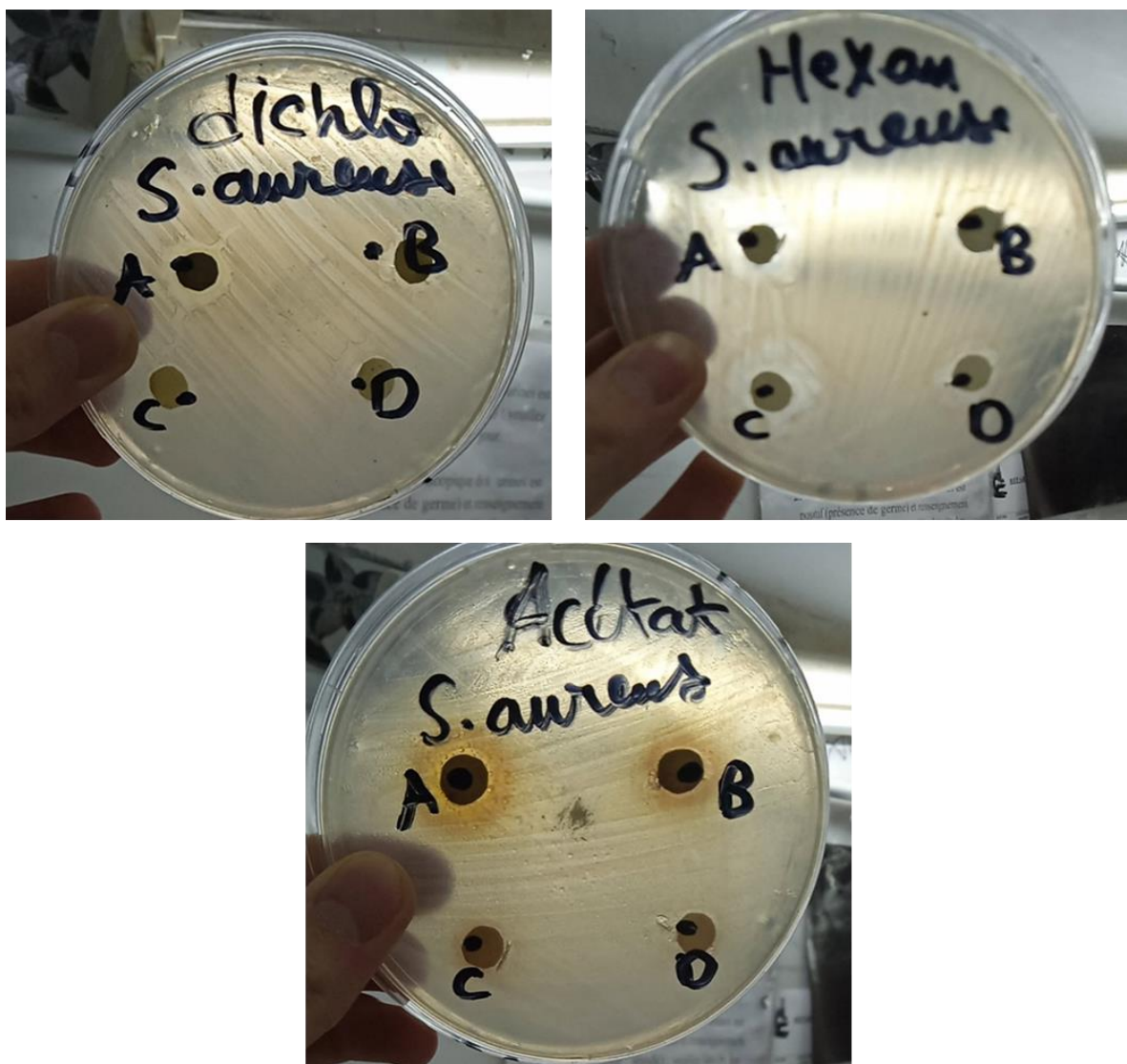


Figure IV-18 : résultats de antibiogramme de bactérie Staphylococcus aureus.

Pour les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, les zones d'inhibition les plus élevées étaient de 14 mm, 13 mm, 12 mm, enregistrées dans les extraits d'hexane et d'acétate d'éthyle. L'extrait d'acétate d'éthyle a enregistré la zone d'inhibition la plus élevée avec 14 mm dans

laquelle ces bactéries étaient très sensibles à l'extrait, c'est entre l'extrait d'acétate d'éthyle ayant une activité antibactérienne contre ces bactéries. D'autres extraits ont également montré une inhibition des pseudo bactéries, avec une sensibilité variable en fonction de la différence de concentrations (les concentrations C et B présentaient les zones d'inhibition les plus élevées) . Par conséquent, les trois extraits sont efficaces contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour les bactéries *Escherichia coli*: ces bactéries ont montré une résistance aux trois extraits, elles avaient des zones d'inhibition limitées, la zone d'inhibition la plus élevée était de 09 mm dans l'extrait d'hexane et d'acétate d'éthyle, tandis que l'extrait de dichlorométhane montrait une faible activité antibactérienne contre ces bactéries .

Pour *staphylococcus aureus*: les extraits de dichlorométhane et d'hexane ont pu produire une efficacité significative contre ces bactéries, les zones d'inhibition les plus élevées étaient dans l'extrait d'hexane avec 19 mm à la concentration C, suivi de l'extrait de dichlorométhane avec 14 mm à la concentration A, tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle avait un effet modéré à faible. Nous pouvons conclure que les trois extraits ont une activité antibactérienne sur ces bactéries avec des concentrations différentes.

Tableau IV- 7 : la sensibilité des bactéries pour les extrait .

Extrait	Dilution	Pseudo	E.Coli	S.aureuse
Hexane	A	+	-	+
	B	+	+	+
	C	+	-	+++
	D	+	+	++
Dichlorométhane	A	+	-	++
	B	+	-	+
	C	+	-	+
	D	+	-	-
Acétate d'éthyle	A	-	-	+
	B	++	+	+
	C	+	+	-

	D	-	+	-
--	----------	---	---	---

D(diamètre) <8 : bactérie résistante (-).

8<D<14 :bactérie est limite (+).

14<D<18 : bactérie très sensible (++).

D>18 : bactérie extrêmement sensible (+++).

Références bibliographiques :

- [01] : Salhaoui, I., & Benabderrahmane, Z. (2020). Étude d'une plante médicinale : « Amarilla sacaca » criblage phytochimique, polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et flavonols totaux (Mémoire de licence, Université Mohamed Khider de Biskra, Algérie). Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences de la Matière.
- [02] : Daira, N. E.-H., Maazi, M. C., & Chefrou, A. (2016). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) de l'Est Algérien. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 85, 276–290.
- [03]: N'Guessan, J. M., Konan, B. R., N'Guessan, Y. F., & Allou, K. (2024). Extraction et screening phytochimique des extraits des feuilles de 3 plantes à effet insecticide pour la lutte contre les punaises *Pseudotheraptus devastans* D. en culture de cocotier (*Cocos nucifera* L). International Journal of Biological and Chemical Sciences, 18(5), 1758–1767. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v18i5.11>
- [04] : Interchim. (2019, mai). Guide : La chromatographie sur Couche Mince (CCM). Purification, Synthèse, Tips & Tricks. https://blog_fr.interchim.com/guide-chromatographie-couche-mince-ccm/?utm_source=perplexity
- [05] : Tahouo, S. F. (2016). Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments à base de plantes (Thèse de doctorat en pharmacie, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université de Côte d'Ivoire).

Conclusion :

Cette étude a permis de mettre en évidence la richesse du profil phytochimique des feuilles de *Tilia cordata*, révélant la présence de plusieurs familles de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les coumarines, les tanins, les saponines, les terpènes, les stérols, les alcaloïdes et les anthraquinones, ce qui confirme le potentiel biologique de la plante et soutient ses usages traditionnels.

Des extraits ont été obtenus à l'aide de solvants de polarités différentes, avec un rendement maximal enregistré pour l'extrait à l'acétate d'éthyle (0,63 %), suivi par l'extrait au dichlorométhane (0,54 %) et enfin l'extrait à l'hexane (0,34 %). La présence des coumarines a été confirmée dans tous les extraits, démontrant la stabilité de ces composés à travers les différents solvants.

Sur le plan biologique, les extraits ont montré une activité notable contre *Staphylococcus aureus*, l'extrait à l'hexane présentant le plus grand diamètre d'inhibition (19 mm), suivi par l'extrait au dichlorométhane (16 mm) et l'extrait à l'acétate d'éthyle (14 mm). En revanche, l'activité antibactérienne contre *Escherichia coli* était faible voire absente, reflétant la sensibilité variable des bactéries selon la structure de leur paroi cellulaire.

Ces résultats suggèrent que les feuilles de *Tilia cordata* constituent une source riche en composés phénoliques et coumarines, qui contribuent principalement à l'activité antimicrobienne, avec une réponse bactérienne variable selon le type. Il apparaît également que les solvants de polarités différentes influencent à la fois la quantité des composés extraits et leur efficacité biologique, l'extrait à l'acétate d'éthyle se distinguant par son rendement, tandis que l'extrait à l'hexane excelle dans l'activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif.

Compte tenu de ces résultats, il est essentiel de poursuivre par la purification des composés actifs et leur identification précise via des techniques analytiques avancées telles que la RMN, et la LC-MS, afin de mieux comprendre leurs propriétés biologiques. Par ailleurs, il convient d'élargir les études pour inclure un spectre plus large d'organismes, y compris les champignons et les bactéries à Gram négatif, afin d'évaluer l'activité antibactérienne globale. De plus, l'adoption de méthodes d'extraction écologiques et modernes, telles que l'extraction assistée par ultrasons ou l'utilisation de solvants eutectiques profonds, est recommandée pour améliorer l'efficacité d'extraction tout en réduisant l'impact

environnemental. Enfin, des études toxicologiques approfondies sont nécessaires pour évaluer la sécurité de ces extraits avant toute application pharmaceutique ou alimentaire potentielle.



تصرف شرفف

خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية لانجاز بحث

(ملحق القرار 1082 المؤرخ في 2021/12/27)

لا المعصف اسفاه

السفء(ة).....
لقصص.....
الحامل(ة) لبطالفة التعرفف الوطففة رقم.....
المسجل بكلفة:.....
العلمف.....
المسجل بكلفة:.....
المسجل بكلفة:.....



بانجاز اعمل بحث : مسفرة ماسفر فف الكلفاء

عنوانها: "Etude des composées de plante"

Tilia cordata

اصرح بشرفف فف افترزم بفراعات المعاففر العلمية والمنهففة ومعاففر الأخلافاك المهنية والنزاهة الأكفمفة المعطوفة فف انجاز
البعث المنكور اعلاه وفق ماف فلفف الفقرار رقم 1082 المؤرخ فف 2021/12/27 المعففد تلقواعد المنطفة بالفوقفة من
السرفة العلمية ومكاففها.

النارفف: 2025.1.23.26

امضاء المعصف بالمر