

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Blida 1**  
**Faculté Des Sciences Technologiques**  
**Département de Chimie Industrielle**



**MEMOIRE DE MASTER PROFESSIONNEL**

En Génie Des Procédés

**Spécialité : Pharmacie Industrielle**

Par

KADI Souad

**Valorisation des extraits des fruits de l'arbre**  
***Sapindus Mukorossi* dans la formulation d'un bain**  
**de bouche**

Proposé et Dirigé par :

Pr. A. Hadj-Ziane-Zafour (Promotrice)

D. Youcefi (Co-promotrice)

Blida, octobre 2014

## ***Avant propos***

*Je tiens tout d'abord à remercier et en premier lieu ALLAH, le Tout Puissant et Miséricordieux qui m'a donné la force, la volonté et le courage pour mener à fin ce travail.*

*Ce travail a été réalisé aux laboratoires Pédagogique de Pharmacie industrielle et de recherches Génie Chimique au Département de Chimie Industrielle à L'université Blida 1.*

*Mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance vont à mes chers parents.*

*Je tiens à remercier particulièrement Pr. A. HADJ Ziane-Zafour, responsable du Master Professionnel Pharmacie Industrielle et Promotrice ainsi que Mme Youcefi Djamila pour leurs conseils et leur soutien tout au long de l'élaboration de ce travail.*

*J'adresse mes remerciements aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce modeste travail.*

*Mes pensées vont à tous les enseignants(es) qui ont participé à notre formation ainsi qu'au staff administratif et technique du département.*

*J'oublie pas de remercier Monsieur CHAKAR ALI, Mme Rachida et à tous ceux et celles qui m'ont donné le l'aide au niveau de l'usine SAIDAL biotique Guée de Constantine.*

*Finalement, un grand merci à tous ceux et toutes celles qui d'une manière ou d'une autre nous ont aidé et soutenu de près ou de loin.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*A MES PARENTS*

*En témoignage de l'immense reconnaissance que je vous porte pour m'avoir offert un cadre de vie extraordinaire pendant toutes ces années, je vous remercie profondément.*

*Vous m'avez toujours soutenue et encouragée dans mes choix, mes études, et dans tout ce que j'ai pu entreprendre. Pour ces raisons et bien d'autres encore, je vous aime de tout mon cœur !*

*Je vous remercie également pour votre générosité, votre dévouement et votre Amour. J'ai énormément compté sur vous durant ces années et vous avez toujours répondu présent ;*

*Vous êtes les meilleurs parents qu'on puisse rêver d'avoir !*

*Puissiez-vous trouver dans ce mémoire l'empreinte de mon éternelle reconnaissance et de ma profonde affection.*

*A MES SŒURS ET FRÈRES*

*J'adresse mes remerciements à ceux qui m'ont permis le travail acharné de mémoire en acceptant de me voir très peu: mes sœurs Mahdia, Fathia, Fella pour leur amitié et leur générosité, bien sûr je n'oublie pas mon très cher frère*

*Oussama, ainsi à mon frère Ahmed ;*

*A mes neveux : Mohamed Houssam, Imad- Eddine, Ayoub, et Yassine merci d'être ma famille.*

*A tous mes Amis (es) et surtout ma chère amie DRIZA Fayza qui a partagée avec moi le bon et le mauvais.*

*A tous les miens.*

## الملخص:

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم مستخلصات فاكهة وأوراق الصابونيات الهندي سابانديس موكوروسي في صياغة غسول الفم. استخراج بواسطة النقع في المذيبات القطبية اثبت نجاعته في الحفاظ على المركبات الكيميائية المتواجدة في المواد النباتية. التشخيص الكيميونباتي للنبات كشف وجود نسبة عالية من الصابونين; مادة نشطة بيولوجيا لها خصائص منظفة مؤكدة من خلال اختبار الرغوة. وأظهر تقييم الأنشطة البيولوجية الفعالية الملحوظة للمحاليل المخففة في القضاء على الجراثيم. التركيز على التأثيرات المضادة للجراثيم والفطريات لتأكيد صحة الفم. كما أن مستخلصات الأوراق أعطت نتائج أفضل من مستخلصات الفواكه. المساهمة في تركيبة غسول الفم باستعمال المستخلصات الطبيعية كمادة فعالة أثبتت أن هذه الأخيرة تضاهي غسول الفم التجاري من حيث نسبة الكحول و نسبة الحموضة معتدلة.

## Abstract:

The main objective of this study is the development of extracts from fruits and leaves of *Sapindus Mukorossi* in formulating a mouthwash. The extraction by maceration in polar solvents proves most recommended for the conservation of chemical compounds contained in the plant material. Phytochemical characterization of the plant revealed the presence of a high proportion of saponins; bioactive material having detergent properties confirmed by testing foaming. Evaluation of biological activities showed remarkable effectiveness of diluted extracts. The antibacterial and antifungal effects are most sought after in the oral hygiene. Extracts from the leaves gave better results than those fruits. The contribution in the formulation of a mouthwash means extracts as active ingredient has proved that the bioactive extracts formulation was comparable to commercial with a neutral pH and a lower than in current formulations alcohol level.

## Résumé :

L'objectif principal de cette étude est la valorisation des extraits des fruits et feuilles de *Sapindus Mukorossi* dans la formulation d'un bain de bouche. L'extraction par macération dans les solvants polaires s'avère la plus recommandée pour la conservation des molécules chimiques contenues dans la matière végétale. La caractérisation phytochimique de la plante a mis en évidence la présence d'une forte proportion en saponines ; matière bioactive ayant des propriétés détergentes confirmées par les tests de moussage. L'évaluation des activités biologiques a montré l'efficacité remarquable des extraits dilués. Les effets bactéricide et antifongique sont les plus recherchés dans l'hygiène bucco-dentaire. Les extraits des feuilles ont donné des résultats meilleurs que ceux des fruits. La contribution dans la formulation d'un bain de bouche moyennant les extraits comme principe actif a prouvé que la formulation aux extraits bioactifs était comparable à celle commerciale avec un pH neutre et un taux d'alcool moins élevé que celui dans les formulations courantes.

## Sommaire :

Liste des tableaux et figures

Abréviations

Introduction .....1

Synthèse bibliographique

### **Chapitre I : Généralité sur la bouche**

I.1. Introduction.....	3
I.2. La bouche.....	3
I.3.Morphologie de la bouche : .....	4
I.3.a. Ecosystème buccal.....	4
I.3.b. Facteurs de rétention de plaque.....	7
I.3.c. Le contexte carieux.....	7
I.3.c.1. La carie : définition et étiopathogénie .....	7
I.3.c.2. Bactéries de la flore cariogène .....	8

### **Chapitre II : Les bains de bouche**

II.1. Introduction.....	9
II.2. Historique des bains de bouche.....	9
II.3. Définition. ....	9
II.3.1. Rôle des bains de bouche.....	10
II.3.2. Principaux constituants.....	10
II.3.3. Avantage des bains de bouche.....	10
II.4. Les bios bains de bouche.....	11
II.4.1. Un peu d'historique.....	11
II.4.2.Définition.....	11
II.5. Bactéries provoquant des problèmes .....	11
II.5.1. Les staphylocoques ... ..	11
II.5.2. Un peu d'histoire.....	12
II.5.3. Les candida albicans .....	13
II.5.4. Traitement .....	13
II.5.5. Prévention .....	13

### **Chapitre III : *Sapindus Mukorossi***

III.1. Historique de la plante.....	14
III.2. Classification.....	14
III.3. Description botanique.....	14
III.4. Biologie.....	16
III.5. Constituants phytochimique.....	16
III.5.1. Les saponines.....	17
III.5.2. Distribution des saponines.....	17
III.5.3. Source des saponines.....	17
III.5.3.1. Les saponines dans le règne végétal.....	18
III.5.3.2. Les saponines dans le règne animal.....	18
III.5.4. La structure des saponines.....	19
III.5.5. Les propriétés des saponines.....	21
III.5.6. Toxicologie.....	22
III.6. Domaine d'utilisation du <i>Sapindus mukorossi</i> .....	22

### **Chapitre IV : Méthodologie expérimentale**

IV.1. Objectif du travail.....	24
IV.2. Mode opératoire.....	24
IV.2.1. Prétraitement de la plante.....	24
IV.2.1.a. Le lavage.....	24
IV.2.1.b. Le séchage.....	24
IV.2.1.c. Le broyage.....	25
IV.2.1.d. Le tamisage.....	25
IV.2.2. Traitement des poudres.....	25
IV.2.2.1. L'extraction.....	25
IV.2.2.2. La dilution en but d'étude bactériologique.....	26
IV.3. Les méthodes d'analyses chimiques des extraits.....	27
IV.3.1. Les réaction de détection des familles chimiques.....	27
IV.3.1.1. Préparation des réactifs.....	27
IV.3.1.2. Les tests pour la détection des constituants chimiques.....	27
IV.3.2. Test de présence de saponines dans la plante par le calcul de l'indice de mousse .....	29



## Liste des tableaux

**Tableau I.3.a** : Bactéries de la cavité buccale

**Tableau II.3.2** : Exemple de quelques constituants d'un bain de bouche

**Tableau V.1.** Résultats de screening chimique sur l'extrait de fruit et des feuilles de *Sapindus mukorossi*

**Tableau V.2** : Résultats du test de présence des saponines par le calcul de l'indice de la mousse

**Tableau V.3** : Les teneurs en matières sèches, taux d'humidité et matière organique dans les feuilles et les fruits

**Tableau V.4** : pH des concentrations des solutions dilués

**Tableau V.4** : L'activité antimicrobienne et antifongique pour l'extrait du fruit et des feuilles *Sapindus mukorossi*

## Liste des figures

**Figure I.2 :** La cavité buccale

**Figure I.3.a.1:** Coupe d'une molaire mandibulaire

**Figure I.3.a.2 :** Schéma explicatif de la plaque supra- et sous-gingivale

**Figure I.3.c:** Lésion carieuse cavitaire

**Figure I.3.c.1:** Image au microscope de *Lactobacillus*

**Figure I.3.c.2:** Image au microscope de *Streptococcus mutans*

**Figure II.5.2 :** Staphylocoques aureus

**Figure II.5.3 :** Une colonie de candida albican

**Figure III.3:** Petit arbre de noix de lavage

**Figure III.4 :** Feuilles de noix de lavage

**Figure III.5 :** Fruits de noix de lavage

**Figure III.5.3.1:** Coupe histologique du fruit mur montrant les poches de saponines sans aucun réactif de révélation

**Figure III.5.4.a :** Les principaux squelettes stéroïdiques

**Figure III.5.4.b :** Les principaux squelettes triterpéniques

**Figure III.5.4.c:** Les sucres les plus courants au niveau des saponosides

**Figure VI.2.2.1:** Procédé d'une simple filtration

**Figure VI.2.2.2:** Schéma explicatif du procédé de la dilution

**Figure VI.6.1.a :** Bain de bouche GETRIL®

**Figure V.1 :** Test de présence des saponines

**Figure V.2 :** Dilutions des extraits de fruit et des feuilles

**Figure V.3 :** Plaques avant l'incubation

**Figure V.4 :** Plaques après l'incubation

## Abréviations

ATCC: American Type Culture Collection

BBA : Bain de bouche aseptique alcoolique

BBA : Bain de bouche aseptique

CMI : La concentration minimale inhibitrice

FeCl<sub>3</sub> : Chlorure ferrique

HCl : Acide chloridrique

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : Acide sulfurique

M/V : masse /volume

mm : Millimètre

µm : Micromètre

NF B 51- 004 : norme européenne

pH : potentiel d'Hydrogène

q.s.p : quantité suffisante pour

T 211 om-93 : norme européenne

ufc : Unités formant colonie

## Liste des tableaux

**Tableau I.3.a** : Bactéries de la cavité buccale

**Tableau II.3.2** : Exemple de quelques constituants d'un bain de bouche

**Tableau V.1.** Résultats de screening chimique sur l'extrait de fruit et des feuilles de *Sapindus mukorossi*

**Tableau V.2** : Résultats du test de présence des saponines par le calcul de l'indice de la mousse

**Tableau V.3** : Les teneurs en matières sèches, taux d'humidité et matière organique dans les feuilles et les fruits

**Tableau V.4** : pH des concentrations des solutions dilués

**Tableau V.4** : L'activité antimicrobienne et antifongique pour l'extrait du fruit et des feuilles *Sapindus mukorossi*

## Liste des figures

**Figure I.2 :** La cavité buccale

**Figure I.3.a.1:** Coupe d'une molaire mandibulaire

**Figure I.3.a.2 :** Schéma explicatif de la plaque supra- et sous-gingivale

**Figure I.3.c:** Lésion carieuse cavitaire

**Figure I.3.c.1:** Image au microscope de *Lactobacillus*

**Figure I.3.c.2:** Image au microscope de *Streptococcus mutans*

**Figure II.5.2 :** Staphylocoques aureus

**Figure II.5.3 :** Une colonie de candida albican

**Figure III.3:** Petit arbre de noix de lavage

**Figure III.4 :** Feuilles de noix de lavage

**Figure III.5 :** Fruits de noix de lavage

**Figure III.5.3.1:** Coupe histologique du fruit mur montrant les poches de saponines sans aucun réactif de révélation

**Figure III.5.4.a :** Les principaux squelettes stéroïdiques

**Figure III.5.4.b :** Les principaux squelettes triterpéniques

**Figure III.5.4.c:** Les sucres les plus courants au niveau des saponosides

**Figure VI.2.2.1:** Procédé d'une simple filtration

**Figure VI.2.2.2:** Schéma explicatif du procédé de la dilution

**Figure VI.6.1.a :** Bain de bouche GETRIL®

**Figure V.1 :** Test de présence des saponines

**Figure V.2 :** Dilutions des extraits de fruit et des feuilles

**Figure V.3 :** Plaques avant l'incubation

**Figure V.4 :** Plaques après l'incubation

## Abréviations

ATCC: American Type Culture Collection

BBA : Bain de bouche aseptique alcoolique

BBA : Bain de bouche aseptique

CMI : La concentration minimale inhibitrice

FeCl<sub>3</sub> : Chlorure ferrique

HCl : Acide chloridrique

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : Acide sulfurique

M/V : masse /volume

mm : Millimètre

µm : Micromètre

NF B 51- 004 : norme européenne

pH : potentiel d'Hydrogène

q.s.p : quantité suffisante pour

T 211 om-93 : norme européenne

ufc : Unités formant colonie

## ***Conclusion générale***

L'objectif de cette présente étude qui fait partie d'un projet de recherche sur la valorisation des richesses végétales Algériennes par la recherche de nouvelles molécules pouvant présenter des propriétés bioactives ; il s'agit du *Sapindus Mukorossi* ; un arbre très répandu dans notre pays et les fruits sont abandonnés et rejetés dans l'environnement.

La caractérisation phytochimique des écorces des fruits du *Sapindus* a montrés sa richesse en saponines ; un tensioactif naturel présentant des activités interfaciales ; ceci a été confirmé par des tests physico-chimiques en particulier le test de mousse.

L'extraction des substances bioactives par macération permet de récupérer un bon rendement et aussi de conserver les propriétés chimiques des substances chimiques de l'extrait, ces derniers peuvent se dégrader sous l'action de la chaleur en utilisant d'autres moyens d'extraction.

La caractérisation des extraits par évaluation de l'activité biologique a mis en évidence la forte efficacité bactéricide et antifongique, ce qui nous a encouragés à les utiliser comme principe actif dans une formulation de bain de bouche pour l'hygiène bucco-dentaire pour substituer les composés fluorés pouvant être très nocif et détruisent les dents en s'attaquant au calcium.

La contribution de la formulation d'un bain de bouche moyennant les extraits du *Sapindus Mukorossi* comme principe actif a montré que cette voie pourrait être très prometteuse,

Les caractéristiques physico-chimiques notamment le pH était comparable à la formulation commerciale de référence et le faible taux d'alcool est très recommandé étant donné que la forte teneur en alcool est soupçonnée d'être une des causes du cancer de la bouche. Néanmoins il faut approfondir mieux cette étape pour optimiser les conditions opératoires de la formulation en utilisation la stratégie de la planification expérimentale par les plans d'expériences.

Les résultats de cette présente recherche ont permis d'apporter une contribution à la valorisation des extraits dans le secteur pharmaceutique particulièrement dans la lutte contre la carie dentaire ainsi que l'activité bactéricide et antifongique sur les bactéries pathogènes.

Enfin, et vue les caractéristiques et l'efficacité exceptionnelle de l'extrait issu de cet arbre, il est de notre devoir d'encourager le reboisement de cet arbre dans d'autres régions de l'Algérie surtout près des rivières et des lacs.

Comme toute recherche préliminaire, cette étude ouvre des perspectives pour la continuité des travaux ; quelques recommandations sont à prescrire :

- Faire des extractions des matières bioactives sur le fruit à différents stades de maturité
- Exploiter les différentes parties de l'arbre ; les feuilles, les tiges, les racines etc.
- Réaliser des analyses plus poussées pour quantifier les teneurs en différentes familles chimiques et par la suite isoler les composés majoritaires ; il s'agit dans cette étape de la chromatographie liquide haute performance et la spectroscopie de masse couplée à la CPG

Enfin, de plus en plus, les populations s'intéressent à leurs hygiène buccodentaire pour avoir de belles dents et surtout une bonne haleine et encourage la communauté scientifique à développer de plus en plus des recherches dans ce volet.

---

### **I.1. Introduction :**

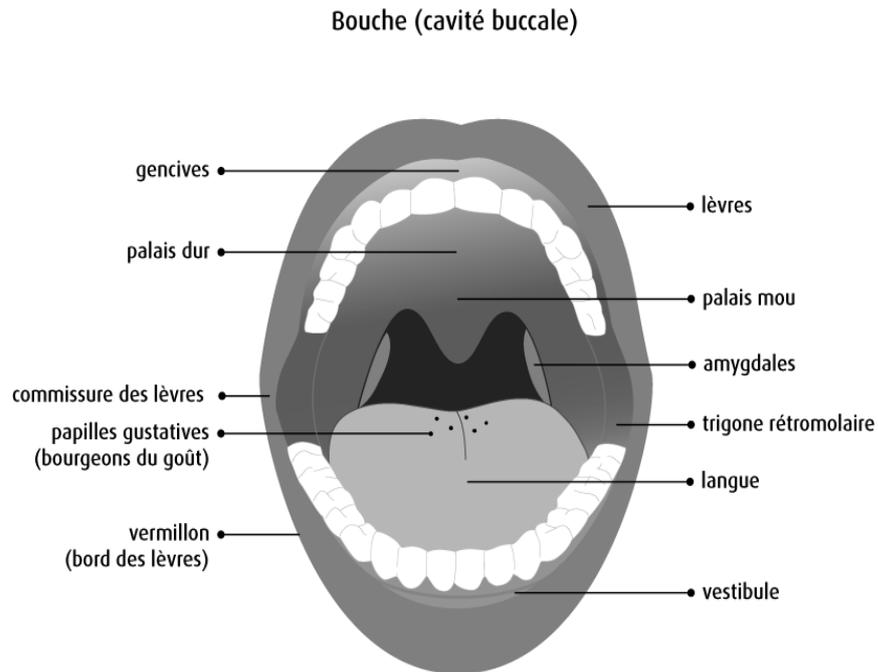
La bouche ne peut être considérée comme un simple organe, objet de soins mais comme un outil d'alimentation, de respiration, de communication et d'affectivité. La douleur, la mauvaise haleine, la sécheresse... sont des obstacles aux relations, aux contacts du malade avec son entourage, une entrave à la déglutition et la respiration : tous des besoins vitaux.

La muqueuse buccale est une voie d'accès pour les micro-organismes pathogènes. La bouche contient une flore bactérienne non pathogène qui occupe les endroits disponibles empêchant l'installation d'autres bactéries, contribuant à l'immunité en stimulant l'organisme, et synthétisant certaines vitamines. Un déséquilibre de cette flore entraîne des abcès, des caries dentaires, mauvaise haleine ou encore des gingivites.

### **I.2. La bouche :**

Les dents et les gencives sont une source potentielle d'infection et d'inflammation pouvant provoquer des maladies à distance. La bouche joue, en effet, un rôle extrêmement important dans la vie de chacun.

Toujours en contact avec l'environnement, la bouche est un filtre, entre notre corps et le monde qui nous entoure. En prendre soin est indispensable car une bouche et des dents saines sont synonymes de bonne santé. En effet, une carie mal soignée ou des gencives enflammées peuvent entraîner des maladies à distance bien plus graves. Or cette notion de troubles à distance n'est pas nouvelle. Déjà, au début du XIXe siècle, Osler soulignait le risque d'endocardite lors de bactériémies engendrées par des germes provenant de la cavité buccale, par exemple lors d'extractions dentaires ou d'interventions chirurgicales pour assainir l'infection des gencives. Le risque est donc extrêmement sérieux et, aujourd'hui, bien documenté par de nombreuses études et publications scientifiques. [2]



**Figure I.2 : La cavité buccale**

### **I.3. Morphologie de la bouche :**

#### **I.3.a. Ecosystème buccal :**

L'écosystème buccal est une niche écologique où cohabitent plusieurs éléments :

**La muqueuse buccale**, qui limite cette niche,

- **La salive**, liquide biologique dans lequel baignent tous ces éléments,
- **Les aliments**, éléments externes transitant dans le milieu buccal,
- **L'organe dentaire**
- **La flore bucco-dentaire** [3]

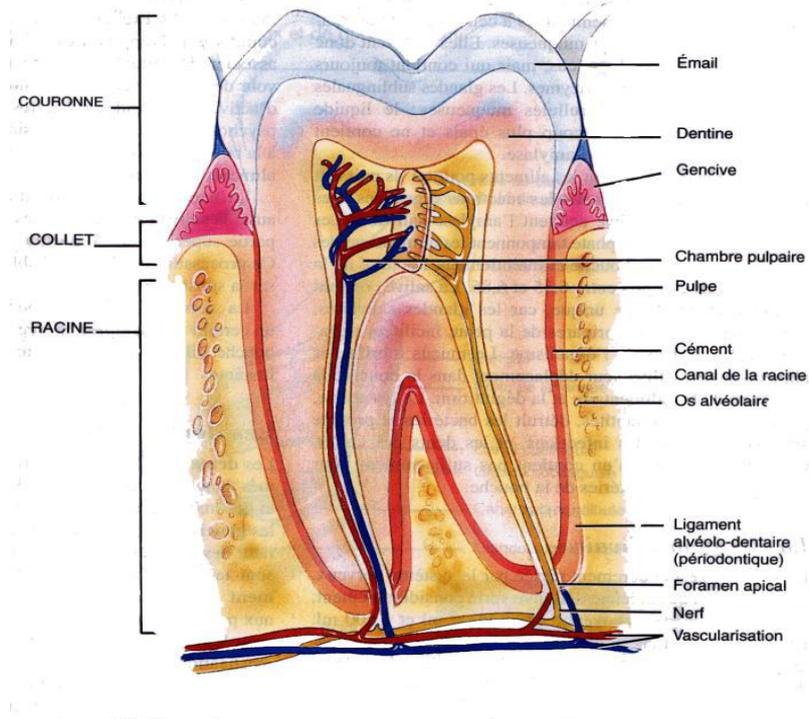


Figure I.3.a.1: Coupe d'une molaire mandibulaire [3]

Le tableau I.3.a : les bactéries les plus fréquemment rencontrées dans la cavité buccale [3] :

	<i>Bactéries</i>	<i>Genre</i>	<i>Espèce</i>
Bactéries anaérobies strictes	Bâtonnets à Gram-négatif	Porphyromonas	P. gingivalis, P. endodontalis, P. catoniae
		Selenomonas	S. sputigena
		Bacteroides	B. forsythus
	Bâtonnets à Gram-positif	Eubacterium	E. alactolyticum, E. lentum, E. yurii
		Arachnia	A propionica
		Actinomyces	A. israelii, A. odontolyticus,

			A. meyeri
	Coques à Gram-négatif	Veillonella	V. parvula, V. alcaescens
	Coques à Gram-positif	Peptostreptococcus	P. anaerobius P. micros
Bactéries Anaérobies facultatives	Bâtonnets à Gram-négatif	Eikenella	E. corrodens
		Actinobacillus	A. actinomycetemco mitans
	Bâtonnets à Gram-positif	Corynebacterium	C. xerosis, C. matruchotii
		Lactobacillus	L. acidophilus, L. brevis, L. buchneri,
	Coques à Gram-négatif	Neisseria	N. flavescens, N. mucosa
		Branhamella	B. catarrhalis
	Coques à Gram-positif	Streptococcus	S. mutans S. salivarius S. sanguis
		Staphylococcus	S. aureus, S. epidermidis
		Enterococcus	E. faecalis, E. faecium

Ces différents groupes de bactéries colonisent les différentes surfaces buccales. Cependant, la flore bucco-dentaire varie dans le temps et d'un site à l'autre chez le même individu [3]. En effet, différents facteurs influencent la croissance et la composition bactérienne au sein de l'écosystème buccal :

- **Le système immunitaire** : Différents agents antimicrobiens sont présents dans la salive par exemple les lysozymes.

- **La composition de la salive** : Certaines protéines salivaires, les mucines, jouent un rôle dans les mécanismes d'agglutination bactérienne.
- **Le régime alimentaire** : Les aliments fournissent des substances nutritives aux bactéries.
- **L'anaérobiose** : L'éruption des dents va permettre le développement des zones anaérobies dans la cavité buccale.
- **Les capacités d'adhérence des bactéries** : L'adhésion bactérienne dépend notamment de la synthèse de polysaccharides extracellulaires insolubles [3]

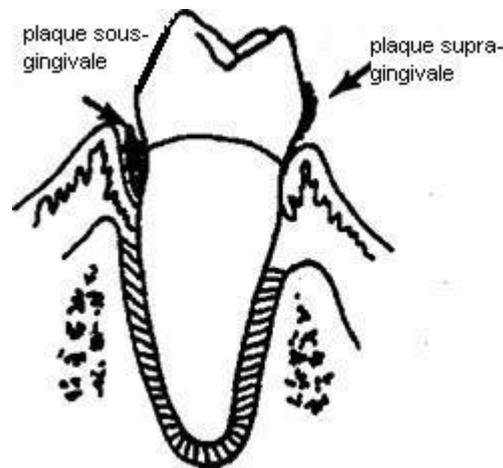


Figure I.3.a.2 : Schéma explicatif de la plaque supra- et sous-gingivale [3]

### I.3.b. Facteurs de rétention de la plaque :

En bouche, divers facteurs contribuent à la rétention de plaque dentaire [3] :

- **Les facteurs purement dentaires** :

La morphologie et la position des dents influencent leur colonisation par la plaque dentaire.

- **Les facteurs pathologiques** :

Les cavités carieuses, et les embrasures inter-dentaires ayant perdu leur papille gingivale sont des lieux dans lesquels se niche facilement la plaque dentaire

- **Les facteurs liés au patient** :

Une mauvaise hygiène bucco-dentaire, liée soit à un manque de volonté, soit à des difficultés (personnes âgées), favorise la croissance rapide de la plaque dentaire.

### I.3.c. Le contexte carieux :

#### I.3.c.1. La carie : définition et étiopathogénie [3]:

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.), la carie est le 4ème fléau mondial, après les cancers, les maladies cardiovasculaires, et le SIDA. C'est une maladie infectieuse polymicrobienne, transmissible et multifactorielle, détruisant localement les tissus durs des dents peu après leur éruption.



Figure I.3.c: Lésion carieuse cavitaire [3]

#### I.3.c.2. Les bactéries cariogènes de la plaque dentaire [3] :

L'étiopathogénie de la carie est étroitement liée à la présence de la plaque bactérienne, perturbateur de l'équilibre existant au sein de la microflore buccale. En effet les bactéries cariogènes de la plaque, essentiellement des Streptocoques (*Streptococcus mutans* étant le plus cariogène), des Lactobacilles, et des Actinomyces, produisent des acides organiques (lactique et acétique) lorsqu'elles dégradent les sucres alimentaires fermentescibles (tels que le saccharose, le glucose, et le fructose) (Figures I.3.c.2 et I.3.c.3).

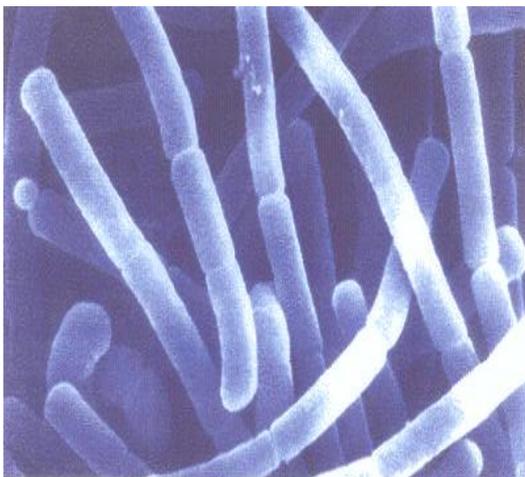


Figure I.3.c.1: Image au microscope de *Lactobacillus* [3]

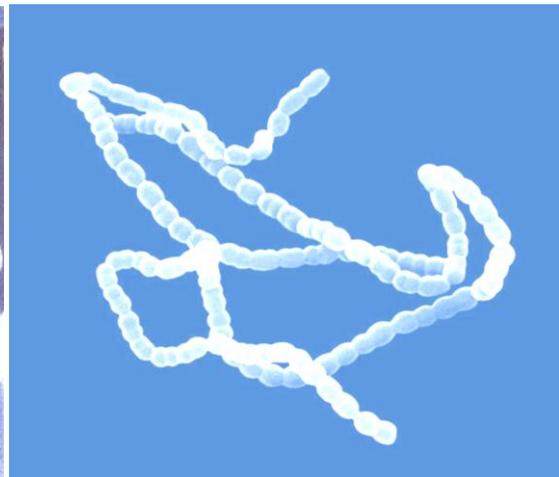


Figure I.3.c.2: Image au microscope de *Streptococcus mutans* [3]

---

## II.1. Introduction :

Se brosser les dents est donc essentiel pour la santé de notre bouche mais pas suffisant : l'utilisation d'un bain de bouche au quotidien est un nouveau geste complémentaire indispensable à notre hygiène bucco-dentaire. 80% des bactéries de notre bouche ne sont pas sur nos dents. Elles sont aussi présentes sur nos muqueuses comme les joues, la langue et les gencives et également dans les zones difficiles d'accès comme les espaces inter-dentaires ou le bord des gencives.

## II.2. Historique des bains de bouche :

Le premier produit formulé est la Listerine, c'est une marque de bain de bouche antiseptique développée par Joseph Lister et Jordan Wheat Lambert en 1879. Elle fut nommée ainsi en l'honneur de Joseph Lister, le premier médecin à stériliser le matériel médical avant les opérations chirurgicales.

La Listerine est le bain de bouche le plus populaire actuellement vendu aux États-Unis. A l'origine, distribuée par la « Lambert Pharmacal Company » (qui devient plus tard la « Warner-Lambert », rachetée par la suite par Pfizer), la Listerine est vendue depuis décembre 2006 par Johnson & Johnson.

Sa formule originale possédait un goût très fort et fut sujette à de nombreuses variations pour l'adoucir. Ce produit fut vendu sous le slogan « *Kills Microorganisms that cause bad breath* », que l'on pourrait traduire par : « Tue les germes responsables de la mauvaise haleine ».

D'abord formulée en 1879 par le D<sup>r</sup> Joseph Lawrence et Jordan Wheat Lambert à Saint-Louis en tant qu'antiseptique chirurgical, la Listerine est introduite dans la dentisterie en 1895 et devient dès 1914 le premier bain de bouche vendu au-delà des frontières américaines [4].

## II.3. Définition :

Les bains de bouche sont des solutions aqueuses destinées à être mises au contact de la muqueuse buccale, généralement après dilution avec de l'eau. Elles ne doivent pas être avalées [3].

### II.3.1. Rôle des bains de bouche :

Les bains de bouche antiseptiques (BBA) sont fréquemment prescrits au cours de la prise en charge des maladies parodontales, des lésions muqueuses ou dans la prévention des complications infectieuses postopératoires. Les données actuelles de la littérature rapportent la nécessité d'éradiquer les foyers bactériens de toute la cavité buccale pour contrôler l'infection parodontale ou prévenir son déclenchement. Cela suppose l'utilisation des BBA à long terme dans les pratiques d'hygiène buccodentaire quotidienne [5].

### II.3.2. Principaux constituants :

Bain de bouche = eau distillée + principe actif + additifs

- agent mouillant : meilleur contact entre BB et surfaces dentaires et muqueuses
- stabilisateur : garde stables les différents constituants de la solution ex. polysorbate 80.
- essence aromatique : essence d'anis, essence de menthe, eucalyptol, ...
- édulcorant : saccharinate de Na, glycérine ou sorbitol
- solvant : alcool éthylique 95°, alcool camphré sont aussi antiseptiques
- colorant (facultatif) : bleu patenté, jaune de quinoléine, jaune orangé ...
- eau purifiée (distillée) en qsp
- principe actif : selon l'effet recherché

### II.3.3. Avantages des bains de bouche :

Actuellement, les bains de bouche sont utilisés comme antiseptiques de la bouche et produits d'usage régulier pour l'hygiène bucco-dentaire quotidienne, ou en cas d'opération chirurgicale ou d'infections bucco-dentaires. Les bains de bouche connus, dits antiseptiques, contiennent divers ingrédients, notamment des antiseptiques à large spectre, des détergents de synthèse ou des principes actifs agissant contre les symptômes des infections ou inflammations bucco-dentaires. Les détergents et les antiseptiques, par exemple l'éthanol, le phénol, l'héxétidine, la chlorhexidine et les ammoniums quaternaires, inhibent le développement ou détruisent les bactéries du biofilm oral et les *Candida albicans*, et notamment *C. albicans* (*Candida albicans*) qui est le champignon pathogène majeur du biofilm et souvent associé à la bouche sèche. Ces bains

---

de bouche sont également utilisés en cas de sécheresse buccale. Pourtant, ces bains de bouche antiseptiques présentent des inconvénients majeurs [6].

## **II.4. Les bios bains de bouche :**

### **II.4.1. Un peu d'historique:**

Signes de formation d'une carie dentaire ou d'une irritation de la gencive, les maux des dents peuvent aussi annoncer une infection virale ou bactérienne, voire un abcès un aphte ou une mauvaise haleine. Mais au-delà du diagnostic, le problème bucco-dentaire au quotidien nous empêche en urgent de traiter rapidement ce douloureux problème par des simples préparations fabriquées par nos mères, par exemple :

- Rinçage avec de l'eau salée ;
- Rinçage avec de vinaigre de pomme ;
- Rinçage avec l'alun.

### **II.4.2. Définition du bio bain de bouche :**

C'est un complexe d'extraits fluides de différents plantes utilisé comme anti-inflammatoire bucco-pharyngé, adoucissant dans le cas d'irritations, d'aphtes et dans les stomatites.

Grâce aux propriétés antiseptiques et astringentes des plantes qu'il contient, le bain aux plantes bio assure une bonne hygiène bucco-dentaire au quotidien, protège les gencives et retarde l'apparition de la plaque dentaire, tout en rafraîchissant l'haleine.

Le bain de bouche bio se caractérise par son effet antiseptique et déodorant, procure une sensation de fraîcheur agréable [7].

## **II.5. Bactéries provoquant des problèmes :**

### **II.5.1. Les staphylocoques :**

LES STAPHYLOCOQUES sont présents en permanence tout autour de nous, et même sur nous, sans que nous nous en rendions compte, les staphylocoques pourraient presque être considérés comme des « compagnons », s'ils n'avaient pas la fâcheuse capacité à nous infecter dès qu'une occasion se présente.

C'est la bactérie la plus souvent retrouvée dans les infections courantes de la peau, après le rasage, autour du nez, sur les plaies des genoux des enfants [8].

### II.5.2. Un peu d'histoire...

En 1878, Louis Pasteur (1822-1895), travaillant avec Emile Roux et Chamberland sur les germes des maladies, observa au microscope dans le pus de furoncle et d'ostéomyélite des formations en « amas de grains » qu'il appelle staphylocoque.

En 1880, Sir Alexander Ogston (1844-1929), un écossais, isola le premier les staphylocoques à partir d'abcès et d'autres lésions cutanées et les cultiva in vitro, reconnaissant leur rôle dans l'inflammation et la suppuration. Il décrivit en 1881 la première espèce connue de staphylocoque : *Staphylococcus aureus* ou staphylocoque doré en raison de la couleur des colonies bactériennes obtenues en culture. Plus tard, une autre variété de staphylocoques donnant des colonies bactériennes non pigmentées sera nommée tout naturellement staphylocoque blanc.

Les découvertes de Pasteur sur la bactériologie ont permis de faire des progrès considérables en hygiène et en prévention. Afin que les chirurgiens et les accoucheurs cessent de semer la mort autour d'eux, Pasteur leur apprendra à se laver les mains, à flamber les instruments et à stériliser les objets. Ainsi fut établie la nécessité de stériliser les instruments chirurgicaux et l'équipe de Pasteur conçut le premier autoclave (Chamberland) [8].

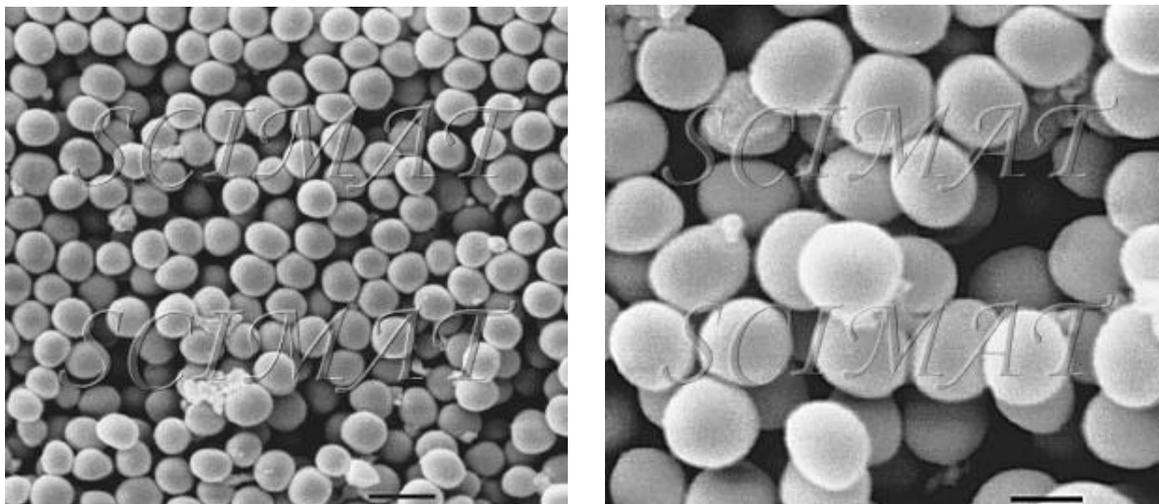


Figure II.5.2 : *Staphylocoques aureus* (microscopie électronique) [8]

### II.5.3. Les candida albicans :

Le candida albican est une levure, une sorte de champignon microscopique, habituellement inoffensive et qui siège naturellement dans le tube digestif, la bouche et la peau. Dans certains cas, il peut devenir pathogène et est alors responsable de candidose, une infection fongique. Cela se produit lorsqu'il atteint des organismes fragilisés dont les défenses immunitaires sont diminuées, notamment chez les individus porteurs du virus du SIDA ou les patients sous traitement immunosuppresseurs (dans le cadre de maladies auto-immunes, de traitements pour des cancers ou après une greffe). Généralement, les lésions causées par le candida albican sur les muqueuses ou la peau sont sans gravité. Mais elles peuvent être plus graves lorsqu'elles atteignent les viscères digestifs ou les poumons ; dans les cas extrêmes, une septicémie à candida albican est possible et de pronostic sévère [9].

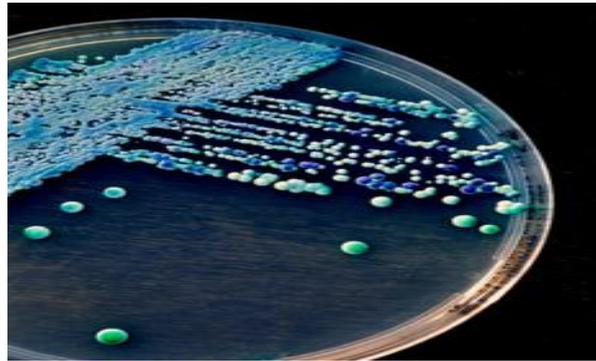


Figure II.5.3 : Une colonie de candida albican [9]

### II.5.4. Traitement :

Une infection cutanée ou muqueuse due au candida albican nécessite la prise locale d'antifongiques sous forme de poudre ou de pommade ou même d'un bain de bouche afin d'enrayer la prolifération de cette levure [9].

### II.5.5. Prévention :

Une bonne hygiène alimentaire permet de limiter la prolifération du candida albican dans l'organisme [9].

### III.1. Historique de la plante :

Le *Sapindus* figure parmi les végétaux introduits, en Algérie, par la pépinière du gouvernement coloniale français, un des plus intéressants est une espèce du genre *Sapindus* importée en 1845. Cet arbre, qui provenait des collections du Muséum, s'est rapidement développé et, en 1859, des jeunes sujets étaient déjà mis en vente sous le nom de *Sapindus indicus*. En 1867, M.Hardy, dans une très intéressante note à la Société d'Acclimatation, appelle l'attention sur la fructification abondante des *Sapindus* élevés à la Pépinière du Gouvernement ou Jardin d'Essai. Ce *Sapindus* est d'origine japonaise. C'est le *Sapindus Mukorom* légèrement modifié, ce qui justifie sa dénomination de *Sapindus nlilia* appliquée à la forme fertile susceptible d'être cultivée. Le fruit est formé par une coque charnue, luisante, devenant coriace, gommeuse, translucide par la dessiccation. [10]

### III.2. Classification :

La famille des Sapindacées est une famille tropicale et subtropicale qui se compose de 158 genres et 2230 espèces. [11]

### III.3. Description botanique :

*Sapindus mukorossi* Gaertn, est connu sous plusieurs noms tels que: la noix de lavage, savonnier, *washnut*, *reetha*, *Aritha*, *Dodan* et *doadni*. C'est un arbre à feuilles caduques largement cultivé en amont de plaines Indo-gangétique, Shivaliks et les voies de l'Himalaya à des altitudes sous de 200 m à 1500 m.

Les "noix de lavage" c'est un arbre de la famille des Sapindacées. *Sapindus Mukorossi* est assez grand arbre à feuilles caduques, allant jusqu'à 12 m d' hauteur, parfois atteignant une hauteur de 20 m et une circonférence de 1,8 m, avec une globuleuse couronne et assez fine feuillage coriace. Écorce sombre au jaune pâle, assez lisse, vertical avec de nombreuses lignes de lenticelles et de fines fissures exfoliant dans les échelles de bois irréguliers [12].



Figure III.3: Petit arbre de noix de lavage [13]

Feuilles 30-50 cm de long, alternes, paripennées; pétiole très commun étroitement encadré, glabre; brochures 5-10 paires, opposées ou alternes, 5 -18 par 2,5-5 cm, lancéolées, acuminées, entières, glabres, légèrement souvent falciforme ou oblique; pétioles 2-5 m de long.

Inflorescence composé de panicule terminale, 30 cm ou plus de longueur, avec branches pubères. Fleurs de 5mm de diamètre, polygame, verdâtre blanc, multitude nombreuse, surtout bisexuel. Sépales 5, chacune avec une échelle laineux sur chaque côté au-dessus de la griffe. Fruit globuleux, charnu, drupe à 1 graine, parfois deux drupes ensemble. Graine 0,8-1,3 cm de diamètre, globuleux, lisse, noir, lâche en fruits sec [12].



Figure III.4 : Feuilles de noix de lavage [13]

### III.4. Biologie :

Les feuilles jaunissent en Décembre avant d'être remise en Décembre-Janvier. L'arbre est sans feuilles jusqu'à Mars-Avril lorsque les nouvelles feuilles apparaissent. Les panicules de fleurs blanches ou violacées apparaissent bisexuels en mai - Juin, avec les fruits verts de maturation en Octobre-Novembre. Celles-ci restent sur l'arbre jusqu'à Janvier ou plus tard, les grappes de ronde brune ou orange fruits colorés se faire remarquer lorsque l'arbre est sans feuilles agroforesterie [13].

Les noix sont récoltées en automne puis elles sont séchées et décortiquées car les graines contenues dans les noix peuvent être toxiques en cas d'ingestion et c'est la coque qui, seule, est utilisée.

Les fruits du *Sapindus* sont riches en saponines ; un détergent naturel antibactérien qui protège le noyau. Contrairement aux idées reçues, c'est le noyau qui est toxique et non la saponine du *Sapindus mukorossi*. Selon le type de sapindus, les fruits peuvent être toxiques en cas d'ingestion, et peuvent provoquer des réactions allergiques comme l'urticaire chez certaines personnes en cas de contact avec la peau. Le *Sapindus mukorossi*, ou l'arbre à savon, qui pousse en Inde et plus particulièrement dans les contreforts de l'Himalaya, est utilisé comme détergent par les Indiens. Le *Sapindus mukorossi* n'est pas toxique et est utilisé en médecine ayurvédique pour guérir les maladies de la peau. [14]



Figure III.5 : Fruits de noix de lavage [13]

### III.5. Constituants phytochimiques :

Les principaux constituants des fruits *Sapindus mukorossi* sont les saponines (10% -11,5%), les sucres (10%) et mucilage<sup>10</sup>. Les saponines sont des métabolites secondaires dans les plantes avec activités biologique divergent. Saponines *Sapindus* sont un mélange de sapindosides.

### III.5.1. Les saponines :

Les saponines sont une grande famille de substances structurellement liées composés d'aglycones stéroïdes ou triterpénoïdes (sapogénine) liés à une ou plusieurs fractions d'oligosaccharides par une liaison glycosidique. L'aglycone, ou sapogénine, peut contenir un ou plusieurs C-C insaturé. La chaîne oligosaccharidique est normalement attachée à la position C3 (Monodesmosidique), mais beaucoup de saponines ont une fraction supplémentaire de sucre à la position C2 ; C2, 6 ou 8 (bidesmosidique). La grande complexité de la structure de saponine due à la variabilité de la structure de l'aglycone, la nature des chaînes latérales et la position de rattachement de ces groupements sur l'aglycone. La partie hydratée de carbone se compose de pentoses, hexoses ou des acides uroniques. En raison de cette complexité, les saponines sont difficiles à classifier.

Ils tirent leur nom du latin *sapo* signifiant savon en raison de leur propriété à former des solutions moussantes en présence d'eau. [15]

Les saponines, également appelées glycosides de saponine, constituent un vaste groupe d'hétérosides complexes appartenant aux terpènes cycliques ou aux stéroïdes. Une saponine est issue de la combinaison chimique d'un sucre (glucide) et d'un stéroïde, d'un stéroïde alcaloïde ou d'un triterpène. Certaines compositions de l'art antérieur comprennent des saponines stéroïdiennes ou triterpéniques. Dans le cadre de l'invention, les saponines sont préférentiellement non stéroïdiennes. Douées de propriétés tensioactives, les saponines font mousser leurs solutions et servent de détergent, par exemple de savons végétaux. Elles ont été également proposées pour traiter l'hypercholestérolémie, comme anticancéreux ou comme adjuvants dans les vaccins. Les saponines sont détergentes, hémolytiques, chélatrices du fer, du zinc et du calcium. Les saponines se fixent sur les stérols membranaires, l'ergostérol des cellules fongiques et le cholestérol des cellules humaines [6].

### III.5.2. Distribution des saponines:

Les Saponines sont distribuées dans une large variété de produits alimentaires et dans plusieurs familles de plantes différentes incluant l'asperge, les haricots, les mûres sauvages, les pois, les pommes de terre, la betterave sucrière et le thé (Dini *et al.* 2001).

### III.5.3. Les sources des saponines :

La présence des saponines a été reportée dans plus de 100 familles de plantes.

### III.5.3.1. Les saponines dans le règne végétal :

Les sources des saponines consommables sont les légumes (pois, pois chiche, haricot, les arachides, lentille, avoine, l'ail (gallique) asperges, thé, épinards, betteraves, et igname [16]. Les majeures sources des saponines non alimentaires mais utilisées dans la santé et l'industrie sont : l'arbre de savon *Quillaya saponaria*, fenugrec, marronnier, licorice, saponaire (saponine officinaux), *Mojave yucca*, [17] comme elles ont été trouvées dans les sécrétions défensives de certaines insectes.

Les espèces d'une même plante peuvent contenir un mélange complexe de saponines. La composition en saponines d'une partie de la plante est affectée par: l'espèce de la plante, l'origine génétique, la partie de la plante examinée, les facteurs environnementaux et agronomiques associés à la croissance de la plante, par le traitement comme le stockage et le proceeding [18].

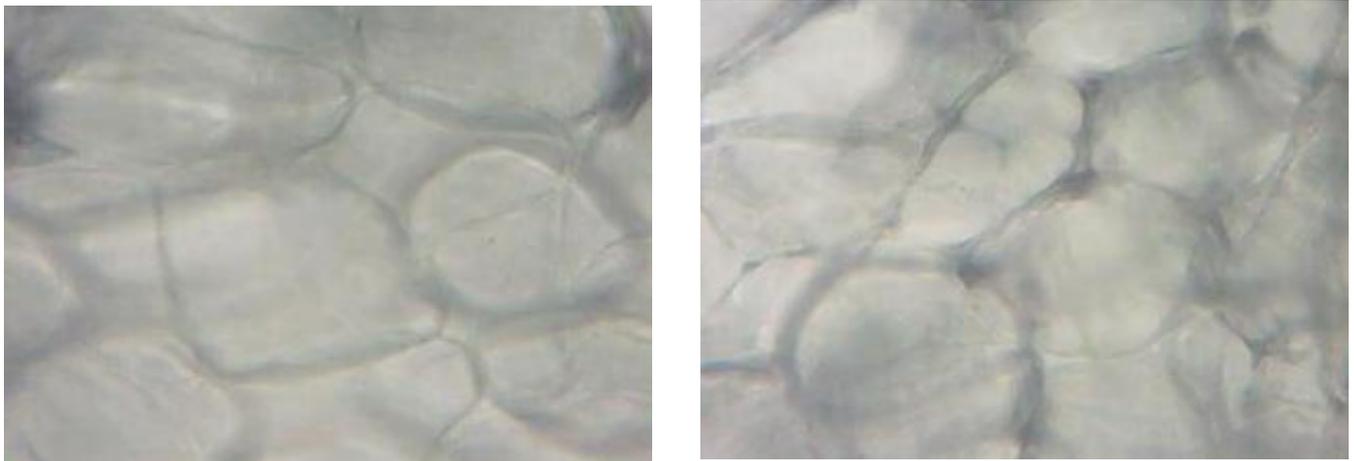


Figure III.5.3.1: Coupe histologique du fruit mur montrant les poches de saponines sans aucun réactif de révélation

### III.5.3.2. Les saponines dans le règne animal :

Dans le règne animal, on n'a retrouvé ces produits que chez les échinodermes. Ainsi, de grandes quantités de ceux-ci ont été retrouvées dans les tissus d'étoiles de mer et de concombres de mer, tandis que chez les ophiures, les échinides et les crinoïdes, ces substances ont été retrouvées en traces. [19]

### III.5.4. La structure des saponines :

Au niveau structural, les saponines sont classées en deux groupes en fonction de la nature de leur génine pouvant être de type stéroïdique ou triterpénique. Les unités saccharides qui constituent les saponines sont communes: glucose, galactose, arabinose, rhamnose, xylose, fucose et acide glucuronique. La partie sucre de la molécule peut compter jusqu'à 11 oses liés à la génine par une liaison de type acétal. Habituellement, la liaison glycosidique s'effectue entre une seule section saccharidique et le groupement hydroxyle en position 3 de la génine monodesmoside. Toutefois, un deuxième chaînon peut s'ajouter par une liaison ester avec le carboxyle en position 28 pour donner une bidesmoside. Ces bidesmosides facilement converties en monodesmosides par hydrolyse chimique ou enzymatique, sont de loin les saponines les plus fréquentes de la pharmacopée végétale [20].

Les sucres rencontrés au niveau des saponosides sont :

- Des hexoses (D glucose, D galactose).
- Des pentoses (D et L arabinose et D xylose).
- Des méthyl pentoses (L Rhamnose et quinovose).
- Des acides uroniques (acide D glucuronique et acide galacturonique)
- Les génines sont :
  - Triterpénique (" amyrine [différence au niveau des carbones 29 et 30]).
  - Stéroïdique (deux cycles lactoniques : l'un pentagonal et l'autre hexagonal).

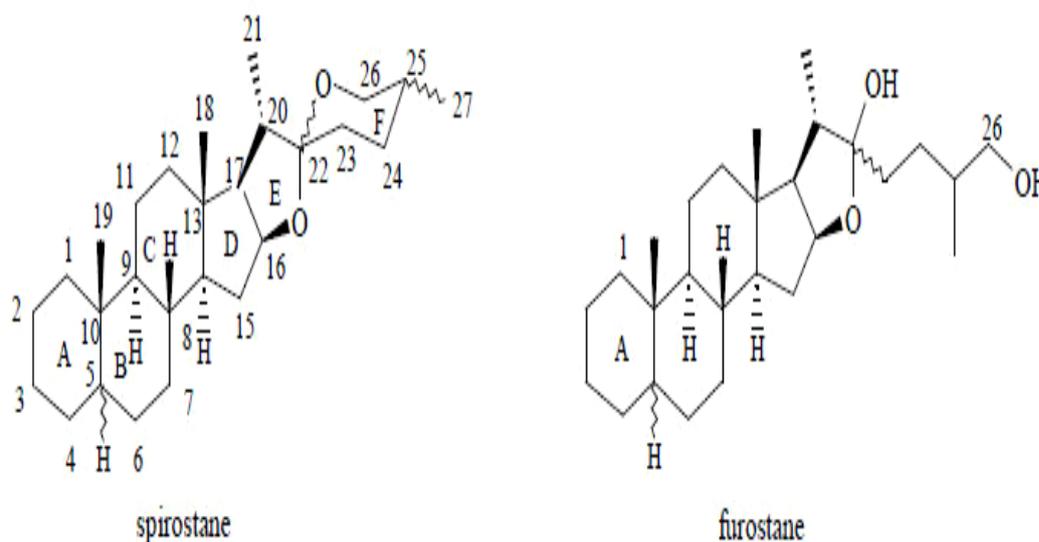


Figure III.5.4.a : Les principaux squelettes stéroïdiques [21]

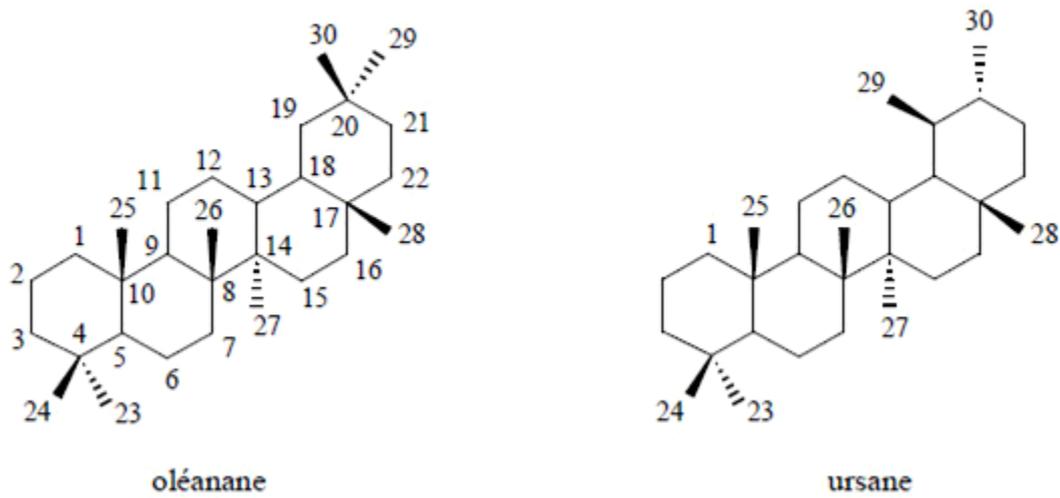
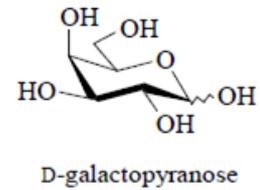
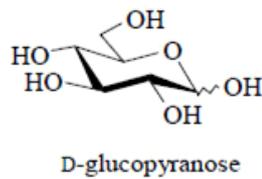
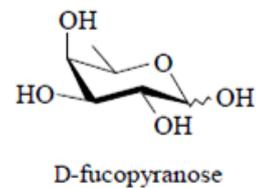
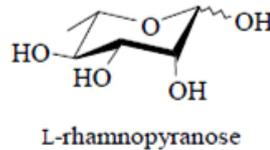


Figure III.5.4.b : Les principaux squelettes triterpéniques [21]

- des hexoses :



- des 6-désoxy-hexoses :



- des acides uroniques :

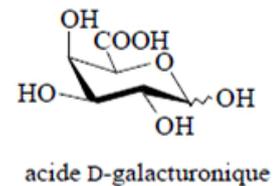
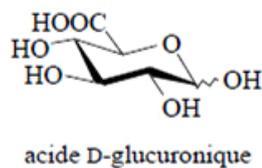


Figure III.5.4.c : Les sucres les plus courants au niveau des saponosides [21]

### **III.5.5. Les Propriétés des saponines :**

La complexité structurelle des saponines implique différentes propriétés physiques, chimiques et biologiques et quelques-unes seulement sont communes avec tous les membres de ce groupe divers.

#### **Les propriétés physicochimiques :**

Leur nature amphiphile leur confère les propriétés d'agents de surface, détergent, mouillant, émulsifiant, moussant. Ils forment des micelles dans les solutions aqueuses dont la taille et la structure dépendent du type de saponines.

L'interaction des stérols, des minéraux et des protéines avec les saponines conduit à des modifications des propriétés physicochimiques et de l'activité biologique de ces composés. La nature et l'effet de l'interaction type protéine-saponine dépendent du type de protéine, du mélange de saponines et de la température [22].

Les saponines sont des biosurfactants nonioniques prouvés par des études et des tests dans des thèses et mémoires :

Les tensioactifs non ioniques (NI) ont les propriétés suivantes :

- ✓ Ils sont compatibles avec toutes les autres classes de tensioactifs.
- ✓ Ils sont plus solubles dans les solvants polaires et non polaires que les tensioactifs ioniques.
- ✓ Ils ont de bonnes propriétés toxicologiques
- ✓ Ils ne possèdent pas de charge électrique
- ✓ Ils forment un film interfacial plus compact et un rayon de courbure plus grand des gouttelettes de la phase dispersée
- ✓ Ils ne sont pas affectés par les ions bivalents et solubilisent les sels de ces ions en présence de tensioactifs anioniques, ils sont ajoutés dans toutes formulations susceptibles d'être utilisées dans des eaux calcaires

### **III.5 .6. Toxicologie :**

La toxicité des saponines aux espèces homéothermiques par voie orale est de (50-100 mg/kg). Les saponines montrent différents spectres de toxicité des applications parentérales ou intraveineuses (LD50 0.7—50 mg/kg). L'action hémolytique de certaines saponines empêche leur administration intraveineuse. La détoxification par formation de complexes avec le sérum de cholestérol, l'albumine et autres constituants du plasma, réduit cet effet. Les saponines membranolytiques se combinent irréversiblement avec les membranes cellulaires et produisent des lésions avec un diamètre des pores d'environ 8nm.

Différentes saponines ont réagi suivant plusieurs méthodes avec les érythrocytes et les membranes liposomiques tout en respectant le cholestérol la phosphatidylcholine et la distearoyllecithine.

La toxicité des saponines aux animaux à sang froid dépend du mode d'administration, de la source, de la composition et de la concentration des saponines. Suite aux résultats des études in vivo sur les rats et les souris, Gestetner suggère que les saponines ne sont pas absorbées avec la chaîne alimentaire mais elles sont hydrolysées en sapogenines par action enzymatique. La sécurité de consommation des saponines en tant qu'additifs alimentaires est discutée dans plusieurs revues comme « JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES ». Pour les saponines de Quillaja, la dose prise acceptée quotidiennement (ADI) (Acceptable Daily Intake) est basée sur le contenu des extraits de saponines [23].

### **III.6. Domaines d'utilisation de l'arbre *Sapindus mukorossi* :**

#### **Carburant:**

Le bois est utilisé pour la production de charbon de bois et bois de chauffage.

#### **Fourrage:**

Les feuilles sont utilisées comme fourrage pour le bétail.

#### **Poison:**

La pulpe du fruit est utilisée dans le nord de l'Inde et de la Chine pour le contrôle des poux de tête et comme poison de pêche. Graines réduites en poudre sont insecticides.

---

**Médecine:**

Le fruit et les graines sont considérées comme un remède pour l'épilepsie dans le nord de l'Inde. Une décoction du fruit est utilisé comme un expectorant. Les graines sont utilisées en Chine pour arrêter la carie dentaire. Le fruit est considéré comme hémolytique.

**Apiculture:**

Miel eau-blanc (aussi décrit comme la lumière d'or), de saveur douce et de bonne odeur.

**Autres produits:**

Le produit principal de l'arbre est son fruit, la pulpe de qui est utilisé comme un substitut pour le savon. Les noix de lavage sont utilisées comme détergent pour bijoux de polissage, et de lavage et de blanchiment cardamome. Les saponines sont utilisées comme un auxiliaire pour textiles et en tant que émulsifiant dans insecticides [12].

### IV.1. Objectif du travail :

Ce travail a pour premier objectif la valorisation des extraits d'une espèce végétale très disponible en Algérie par extraction des principes actifs à visée thérapeutique et contribuer à la formulation d'un bain de bouche antiseptique. Pour se faire, nous avons opté pour la stratégie suivante :

- ✓ effectuer une étude chimique du fruit et des feuilles de l'arbre du *Sapindus mukorossi* en vue d'établir une relation entre les substances chimiques trouvées dans la plante et certaines propriétés intéressantes qui lui sont attribuées, en l'occurrence les propriétés tensioactives
- ✓ évaluer les activités biologiques des extraits de cette plante, en particulier les activités microbiologiques
- ✓ contribuer à la formulation d'un bain de bouche utilisant comme principe actif les extraits du *Sapindus mukorossi* comprenant des saponines et comparer certaines de ses propriétés avec un produit commercial ; GETRIL®

### IV.2. Modes opératoires :

Les différentes expériences ont été réalisées au laboratoire pédagogique de pharmacie industrielle conjointement au laboratoire de recherches génie chimique

#### IV.2.1. Prétraitement de la plante :

##### IV.2.1.a. Lavage :

Les fruits et les feuilles de l'arbre *Sapindus mukorossi* ont été récoltés au mois de mars dans la région de Bousmail au lieu surnommé « Haouch Saboun », ils ont été lavés soigneusement avec l'eau de robinet puis à l'eau distillée pour éliminer toutes traces d'impuretés et de corps étrangers.

##### IV.2.1.b. Séchage :

Les échantillons des feuilles et des fruits ont été séchés dans l'étuve de laboratoire à une température ne dépassant pas les 40°C afin de conserver la composition chimique des plantes (spécialement les saponines qui ont composés des sucres ).

#### **IV.2.1.c. Le broyage :**

Après séchage, les fruits ont été débarrassés des noix et ont été réduits en poudre par broyage en utilisant un broyeur de marque « SAMBROOM », les feuilles ont subi la même opération.

#### **IV.2.1.d. Le tamisage :**

Après broyage, une des étapes les plus critiques consiste le tamisage au cours duquel la taille de la poudre passe d'un état hétérogène à un état homogène. Pour se faire, des tamis de différentes ouvertures ont été utilisés, on a choisit une taille égale à 0,16 µm (plus la taille des particules est petite plus que la surface de contact est grande et on obtient une meilleur extraction). Après cette opération, les deux poudres ont été soigneusement conservées dans des bouteilles étanches à l'abri de l'humidité et la lumière.

#### **IV.2.2. Traitement des poudres :**

Au cours de cette étape, les poudres subissent une série d'opérations unitaires consistant en :

- ✓ l'extraction
- ✓ la filtration
- ✓ et la dilution.

##### **IV.2.2.1. L'extraction :**

Parmi les nombreuses méthodes d'extraction connues, on a utilisé l'extraction par macération. C'est est une technique au cours de laquelle on immerge longuement des matières végétales ou animales dans un liquide froid afin d'en extraire les espèces chimiques solubles dans ce liquide. Le choix de cette méthode est tributaire de la conservation des constituants chimiques pouvant subir des altérations par action de la chaleur (les saponines).

Les matières bioactives ont été extraites des fruits et des feuilles séparément selon un même protocole expérimental classique.

Dans un bécher, on verse le solvant froid et le met sous agitation mécanique avant d'introduire les 10 grammes de la poudre des fruits de noix de lavage. Même opération pour les feuilles. La poudre est laissée en contact prolongé avec le solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

- Maintenu le mélange au repos pendant 24 heures.

Après la durée nécessaire à la macération, le mélange est soumis à une opération de filtration.

### La filtration :

Le but de la filtration est de séparer les constituants d'un mélange liquide -solide par passage à travers un milieu filtrant. Cette opération est beaucoup plus rapide que la sédimentation.

La figure ci-après illustre le montage classique de filtration qui consiste à verser soigneusement le mélange à filtrer sur le papier filtre et ainsi de suite jusqu'à la fin et récupérer le filtrat obtenu et le conserver dans le réfrigérateur pour une utilisation ultérieure.

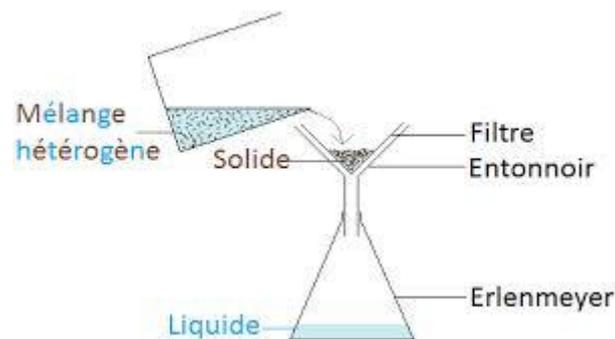


Figure VI.2.2.1: Procédé d'une simple filtration

### II.2.2.2. La dilution en but d'étude bactériologique :

La dilution est l'opération qui consiste à diminuer la concentration d'une solution.

On prélève de la solution mère des volumes décroissants de la solution mère 2,4,6,8 et 10 mL et on complète jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée, on agite les solutions puis on prend des échantillons dans des tubes à essais. On conserve ces tubes dans le réfrigérateur jusqu'au moment de l'emploi. La figure ci-après illustre schématiquement la méthode de dilution utilisée au laboratoire.

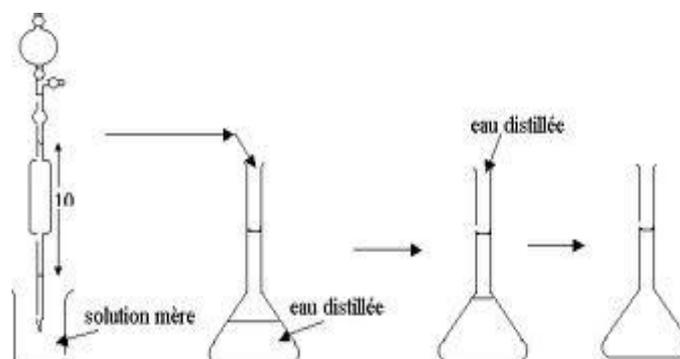


Figure VI.2.2.2: Schéma explicatif du procédé de la dilution

### IV.3. Les méthodes d'analyses chimiques des extraits :

#### IV.3.1. Les réactions de détection des familles chimiques :

**IV.3.1.1. Préparation des réactifs :** Pour la détection des constituants chimiques des fruits et des feuilles, des solutions de réactifs ont été préalablement préparées :

**Chlorure ferrique alcoolique:** une solution à 5% M/V de chlorure ferrique dans 90% d'alcool est utilisée pour la détection des phénols. [24]

**Réactif de Mayer:** il est utilisé pour la détection des alcaloïdes. On fait dissoudre 1.36g de chlorure mercurique dans 60ml d'eau (A). Dissoudre 5g d'iodure de potassium dans 20ml d'eau distillée(B), mélanger (A) avec (B) et ajuster le volume à 100ml avec de l'eau distillée.

**Réactif de Molisch:** Il est utilisé pour la détection de carbohydrates. Dissoudre 10g d'alpha-naphthol dans 100 ml d'alcool à 95%. [24]

**Réactif d'Hager :** une solution aqueuse standard d'acide picrique est utilisée pour la détection des alcaloïdes. [24]

**Réactif de Wagener:** Il est utilisé pour la détection des alcaloïdes. Dissoudre 1.27g d'iode et 2g d'iodure de potassium dans 5 ml d'eau distillée et compléter le volume à 100 ml avec de l'eau distillée. [24]

#### IV.3.1.2. Les tests pour la détection des constituants chimiques:

➤ **Tests pour les alcaloïdes:**

Mélanger une petite quantité d'extraits aqueux ou alcoolique séparément avec quelques gouttes de HCl dilué puis filtrer. Le filtrat est testé grâce à plusieurs réactifs des alcaloïdes. Le réactif de Mayer (précipité crème), le réactif de Hager (précipité jaune), le réactif de Wagener (précipité marron-rougeâtre).

➤ **Test pour les carbohydrates:**

Dissoudre une quantité (200mg) de l'extrait aqueux et alcoolique séparément dans 5mL d'eau distillée puis filtrer, le filtrat est testé avec le réactif de Millon.

➤ **Test de Millon:**

A 2-3 ml d'extrait aqueux, Ajouter quelques gouttes d'alpha-naphthol en solution alcoolique, mélanger, Ajouter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré sur les côtés du tube. Un anneau violet se forme à la jonction des deux liquides.

➤ **Test de Fehling:**

Mélanger 1 ml de Fehling A et 1 ml de Fehling B, faire bouillir pendant 1 minute. Ajouter un volume égal de solution d'essai. Faites bouillir dans un bain-marie pour 5-10 minutes. Une précipitation d'abord jaune, brique, puis rouge sera observée.

➤ **Tests pour les glycosides:**

Hydrolyser une petite portion de l'extrait avec l'acide chlorhydrique pour quelques heures dans un bain marie, faire les tests de Liebermann- Burchard's, Legal et de Borntrager sur l'hydrolysate.

➤ **Test de Liebermann- Burchard:**

Mélanger 2 ml d'extrait avec 2mL de chloroforme, ajouter 2mL d'anhydride acétique et 2 gouttes de  $H_2SO_4$  sur les côtés du tube à essai. Une couleur d'abord rouge, bleue puis verte apparaît.

➤ **Test de Legal's:**

Ajouter à l'extrait aqueux ou alcoolique, 1 ml de pyridine et 1 ml de nitroprussiate de sodium. Une couleur rose ou rouge apparaît.

➤ **Test de Borntrager:**

Pour 3ml d'extrait aqueux, ajouter  $H_2SO_4$  dilué. Faire bouillir et filtrer. Ajouter un volume égal de benzène ou le chloroforme. Agitez bien. Séparez le solvant organique, ajouté de l'ammoniaque. La couche ammoniacale devient rose ou rouge.

➤ **Test pour les composés phénoliques et les tanins:**

A 2ml de l'extrait aqueux ou alcoolique, ajouter quelques gouttes de réactifs suivants :

- a) solution de  $FeCl_3$  à 5%: couleur bleue-noire foncée.
- c) solution de Gélatine: précipité blanc.
- e) solution d'acide Acétique: solution de couleur rouge.

➤ **Tests pour les saponines:** test de mousse. [25]

### **IV.3.2. Test de présence de saponines dans la plante par le calcul de l'indice de mousse :**

La présence des saponines est déterminée qualitativement par le calcul de l'indice de mousse.

Pour cela, on doit réaliser l'expérience suivante :

- Deux grammes (2g) de matière végétale sèche broyée à tester est utilisée pour préparer une décoction avec 100ml d'eau.
- On porte à l'ébullition pendant 30min, après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100ml à partir de cette solution mère, on remplit 10 tubes (1,3 cm de diamètre interne) avec 1, 2,3...10 ml, le volume final étant réajusté à 10ml avec l'eau distillée.
- Chacun de ces tubes est agité avec énergie pendant 15 secondes.
- Après le repos de 15 min en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en cm, si elle est proche de 1 cm dans me Xe tube, alors l'indice de mousse est calculé par la formule suivante : [26]

$$I = \frac{h * 5}{(0.01 * X)}$$

I : indice de mousse en cm / mL.

h : hauteur de mousse (en cm) dans le Xe tube

x : le volume de la solution mère dans le Xe tube

La présence de saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100.

## **IV.4. Détermination de la matière sèche, minérale et organique :**

### **IV.4.1. La matière sèche :**

La matière sèche est déterminée selon la norme NF B 51- 004, à partir d'une masse m=3g de matière végétale introduite dans un creuset taré, puis séchée dans une étuve à 105°C jusqu'à poids constant. Après refroidissement dans un dessiccateur, le creuset est pesé. Le taux de matière sèche est : [27]

$$M S (\%) = (S : E) \times 100$$

M.S.= taux de matière sèche

S = masse du creuset sorti du dessiccateur moins la tare

### **IV.4.2. La matière minérale ; les cendres :**

La matière minérale est déterminée selon la norme T 211 om-93, à partir du creuset contenant la matière sèche (hémicelluloses extraites). Celle-ci est introduite dans un four à 550°C durant

3 heures. Le creuset est pesé après refroidissement dans un dessiccateur. La fraction de matière minérale est donnée par la relation:[27]

$$M. M. (\% \text{ matière initiale}) = (m : E) \times 100$$

$$M. M. (\% \text{ matière sèche}) = (m : S) \times 100$$

M.M. = matière minérale

m = masse du creuset après refroidissement tare

S = masse du creuset sorti du dessiccateur moins la tare

E = masse de la matière végétale

#### **IV.5. Détermination de l'activité antimicrobienne :**

Tester un agent antimicrobien débute souvent par une évaluation destinée à vérifier si les agents sont efficaces et à quelle concentration. On utilise des microorganismes pathogènes « modèles » comme témoins d'efficacité d'un traitement : *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli* parfois même des virus, parmi les déterminations les plus courantes, on distingue : la concentration minimale inhibitrice [28].

##### **IV.5.a). Détermination de la concentration minimale inhibitrice :**

L'évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) consiste à déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme. La CMI est déterminée par l'utilisation d'une gamme de dilution de l'agent antimicrobien, additionné à une série des milieux de culture, de composition convenable.

Après inoculation des espèces microbiennes étudiées et incubation dans les mêmes conditions la CMI est indiquée par la boîte de la dilution à partir de laquelle aucune croissance microbienne n'est constatée. C'est-à-dire qu'aucune turbidité ou trouble ne sont observés dans le milieu [28].

##### **IV.5.b). Diffusion sur gélose :**

La méthode de diffusion sur gélose (agar) est particulièrement adaptée à l'étude de l'action des antibiotiques sur la croissance des bactéries. Elle permet de déterminer leurs antibiogrammes, qui rendent compte de la sensibilité spécifique des différentes espèces bactérienne vis à vis d'un antibiotique donné. Mais elle peut être adaptée aux tests d'autres agents antimicrobiens. Elle consiste à utiliser des boîtes de pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée.

Des disques en papier filtre, préalablement imprégné de quantité connue d'antibiotique, sont alors placés en surface de la gélose [28].

Dans la période d'incubation, l'antibiotique diffuse dans la gélose à partir des disques, selon un gradient de concentration jusqu'à une limite de distance où sa concentration est la plus faible. Après incubation, on constate que dans la boîte de pétri, un développement bactérien normal dans la gélose, sauf autour des disques d'antibiotiques qui ont une action inhibitrice.

Autour de ces disques, on observe une zone d'inhibition exempte de développement microbien, avec un diamètre proportionnel à la concentration et à l'efficacité de l'antibiotique. Ce type de test est couramment utilisé dans la détermination de la sensibilité des bactéries pathogènes d'antibiotiques [28].

#### **IV.5.c). Protocole de travail :**

L'activité antimicrobienne de différents extraits (les extraits qui ont une concentration égale à : 2, 6, et 10ml) a été déterminée par la méthode de diffusion en puits de gélose (Okeke et al., 2001) au niveau du laboratoire central de l'hôpital *Franz Fanon à Blida*.

La densité de chaque suspension microbienne a été ajusté égal à celui de  $10^6$  ufc / ml (standardisés par la norme 0.5McFarland) à l'aide d'un densitomètre.

A l'aide d'un écouvillon stérile l'isolat pur de staphylocoque aureus a été repiquée sur des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive puis on fait l'ensemencement des disques qui contiennent de l'extrait (par capillarité).

Les plaques ont été laissées au repos pendant 10 minutes pour la diffusion de l'extrait. Elles ont été incubées à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures et observées pour les zones d'inhibition (Aneja et al., 2009; . Khokra et al., 2008; . Rios et al., 1980.)

### **IV.6. Formulation du bain de bouche**

#### **IV.6.1. Objectifs de cette étape :**

Afin de valoriser les extraits obtenus pour la formulation d'un produit à visée thérapeutique pour l'industrie pharmaceutique, on a opté pour un bain de bouche en utilisant les saponines extraites comme principe actif et comparer certaines de ses propriétés par rapport à un produit commercial

Dans une première étape, nous avons travaillé par tâtonnement en choisissant les excipients nécessaires dictés par la littérature, un exemple de ces produits est **GETRIL®**

#### **IV.6.1.a. La composition de GETRIL® est :**

Sodium fluorure.....55,28 mg

Excipients : q.s.p .....100 mL



**Figure VI.6.1.a : Bain de bouche GETRIL®**

Flacon de 125ml en bain de bouche fabriqué par le laboratoire ARAB PHARM, la zone industrielle SETIF ALGERIE.

#### **IV.6.1.b. Indications thérapeutiques :**

-Traitement local d'appoint des infections de la bouche

-Prévention de la carie dentaire.

#### **IV.6.1.c. Mode d'administration:**

**GETRIL®** est réservé à l'adulte et à l'enfant plus de 6 ans (il ne faut pas l'avaler)

2 cuillerées à café dans un demi-verre d'eau tiède de 2 à 4 fois par jour.

Les deux bains de bouche (commercial et formulé) ont été caractérisés par détermination du pH qui est un paramètre essentiel pour l'application de ces produits au niveau de la bouche.

#### **IV.6.2. Taux d'alcool :**

Un grand nombre de bains de bouche aseptiques BBA commercialisés contiennent de l'éthanol pharmaceutique dénaturé comme excipient (7–26%). Le rôle principal de l'éthanol est de solubiliser des substances responsables de la saveur ou de molécules actives pour augmenter leur biodisponibilité.

L'alcool dans ces BBA est aussi parfois considéré comme irritant pour la muqueuse buccale et pouvant entraver le processus de cicatrisation après un acte chirurgical.

En effet, la présence d'alcool dans les BBAA est considéré comme cancérigène ceci est basé sur le fait que les bactéries du biofilm oral ont la capacité de métaboliser l'éthanol en acétylaldéhyde (Lachenmeier et coll. 2009). Ce dernier est considéré comme un cancérigène potentiel, et son accumulation dans les muqueuses buccales pourrait déclencher et/ou favoriser l'apparition de cancers [5].

Le taux d'alcool a été déterminé au niveau de L'entreprise Saidal El Harrach. L'objectif principal est de mettre en évidence l'effet de la dilution dans la diminution du taux d'alcool tout en gardant les mêmes caractéristiques aseptiques.

Dans ce chapitre seront présentés les principaux résultats obtenus dans l'ordre cité ci-après :

- Détection des familles chimiques
- Extraction et caractérisation des principes bioactifs
- Evaluation de l'activité biologique
- Application pour la formulation d'un bain de bouche et comparaison à un produit commercial

### V.1. Détection des constituants chimiques :

Le screening phytochimique effectué sur les feuilles et les fruits *Sapindus mukorossi* a permis d'obtenir les résultats regroupés sur le tableau ci-dessous :

Tableau V.1. Résultats de screening chimique sur l'extrait de fruit et des feuilles de *Sapindus mukorossi*

	Tests	Extrait des fruits	Extrait des feuilles
<b>01</b>	Les alcaloïdes		
	Test de Hager	-	+
	Test de Mayer	-	+
	Test de Wagner	-	+
<b>02</b>	Les carbohydrates		
	Test de Molisch	+	+
	Solution de Fehling	+	+
<b>03</b>	Les glycosides		
	Test de Liberman-Burchard's	+	+
	Test de Legal	+	-
	Test de Borntrager	-	-
<b>04</b>	Tanins et composés phénoliques		
	Solution de FeCl <sub>3</sub>	-	+
	Solution de Gélatine	-	-
	Solution d'acide acétique	-	+
<b>05</b>	pH	4.72	6.10

Les tests phytochimiques indiquent la présence de produits naturels usuels dans le fruit et les feuilles et l'absence d'autres. A titre d'exemple, l'absence totale des alcaloïdes dans l'extrait de fruit et une existence majeure dans l'extrait des feuilles. La présence des carbohydrates dans les deux extraits, comme ils montrent la présence des glycosides des saponines dans l'extrait du fruit plus que dans l'extrait des feuilles. L'extrait de fruit n'a montré aucune présence des tanins ni composés phénoliques par comparaison à l'extrait des feuilles.

## V.2. Test de la mousse:

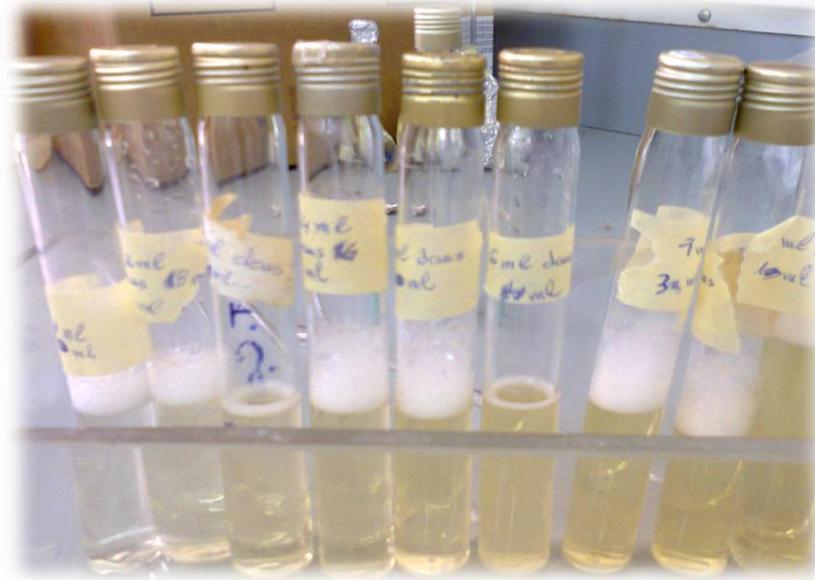
Le test de mousse est une caractérisation physico-chimique des extraits qui permet de mettre en évidence les propriétés tensioactives et moussantes des extraits. Plusieurs études ont montré que les saponines sont des tensioactifs non-ioniques naturels qui ont été utilisés autrefois pour leurs propriétés détergentes et lavantes. Les résultats de la stabilité de mousse sont regroupés sur le tableau ci-après :

Tableau V.2 : Résultats du test de présence des saponines par le calcul de l'indice de la mousse

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
V mère (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8
h (cm)	1,2	2	2,4	2,7	3	0,4	3,5	3
I (cm/mL)	600	500	400	337,5	300	33,3	250	187

La figure ci-après illustre bien les propriétés moussantes des extraits, ce qui met bien en évidence les propriétés tensioactives.

Figure V.1 : Test de présence des saponines



D'après les valeurs de l'indice de la mousse obtenu « I est supérieur à 100 » et l'aspect visuel « formation de la mousse » on confirme la présence des saponines.

### V.3. Caractérisation phytochimique de la matière végétale :

#### V.3.1. Détermination des taux de matière sèche, d'humidité et taux de la matière organique pour les feuilles et le fruit :

Les teneurs en matières sèches, taux d'humidité et matière organique dans les feuilles et les fruits sont regroupés sur le tableau ci-après :

Tableau V.3 : Les teneurs en matières sèches, taux d'humidité et matière organique dans les feuilles et les fruits *Sapindus mukorossi*

	Taux de matière sèche	Taux d'humidité	Taux de matière organique
Dans les feuilles	93,66%	6,34%	87,32%
Dans les fruits	91,87%	8,12%	83,75%

D'après ces résultats on remarque que les teneurs matières sèches, taux d'humidité et matière organique les deux poudres sont pratiquement identiques il n'y pas un grand écart en pourcentage.

### V.3.2 : pH des concentrations des solutions dilués à une température égale à 25C° :

Le pH des solutions diluées est d'une importance primordiale pour les études microbiologiques car ces derniers sont très affectés par l'acidité du milieu et conditionne par la suite les éventuelles proliférations et peut renseigner sur l'efficacité de son utilisation comme bain de bouche. Les résultats sont regroupés sur le tableau ci-dessous :

A : solution mère du fruit

A1, 2, 3... : solutions filles (de l'extrait du fruit)

F : solution mère des feuilles

F1, 2,3... : solutions filles de l'extrait des feuilles

Tableau V.4 : pH des concentrations des solutions dilués

Extrait de fruit			Extrait des feuilles		
Echantillon	mL/50mL	pH	Echantillon	mL/50mL	pH
A		4,72	F		6,10
A1	2	4,58	F1	2	6,33
A2	4	4,12	F2	4	5,94
A3	6	4,14	F3	6	5,84
A4	8	4,13	F4	8	5,78
A5	10	4 ,12	F5	10	5,76

La figure ci-après illustre les différentes solutions colorées à différentes concentrations



Figure V.2 : Dilutions des extraits de fruit et des feuilles

#### **V.4 : Tests antibactérien et antifongique :**

L'activité antimicrobienne des extraits a été étudiée en utilisant deux souches :

- Les souches bactériennes : *Staphylocoques aureus* ATCC
- Souche fongique : *Candida albican*

La préparation de solutions diluées à l'aide d'une solution mère « extrait de *Sapindus mukorossi* dans l'eau distillée stérile et de l'éthanol à 96% » la méthode utilisée c'est la méthode de diffusion sur disque.

La figure si dessous illustre les essais effectués sur les staphylocoques :

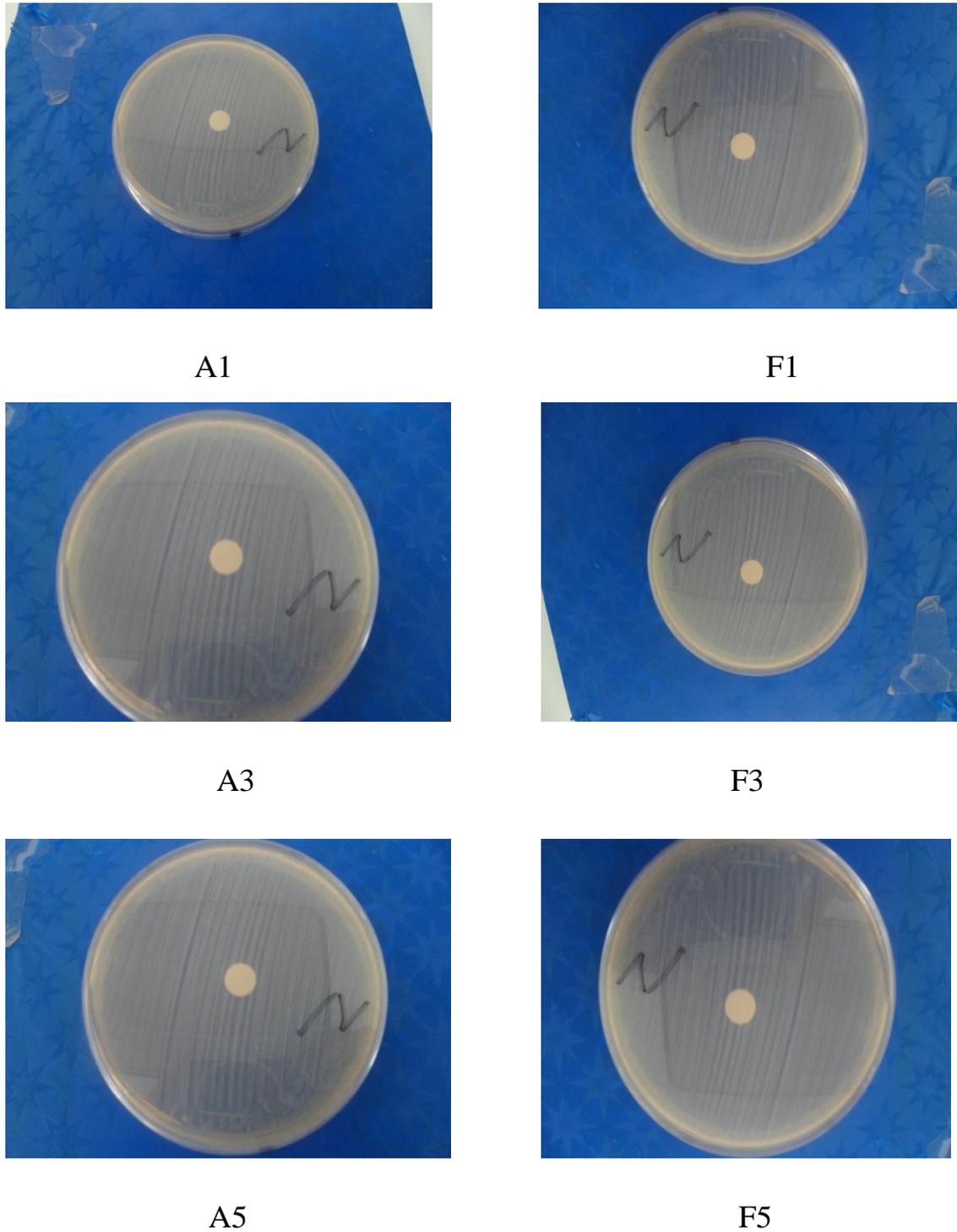


Figure V.3 : Plaques avant l'incubation

Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits par le procédé de diffusion sur disques sont illustrés sur la figure ci dessous :

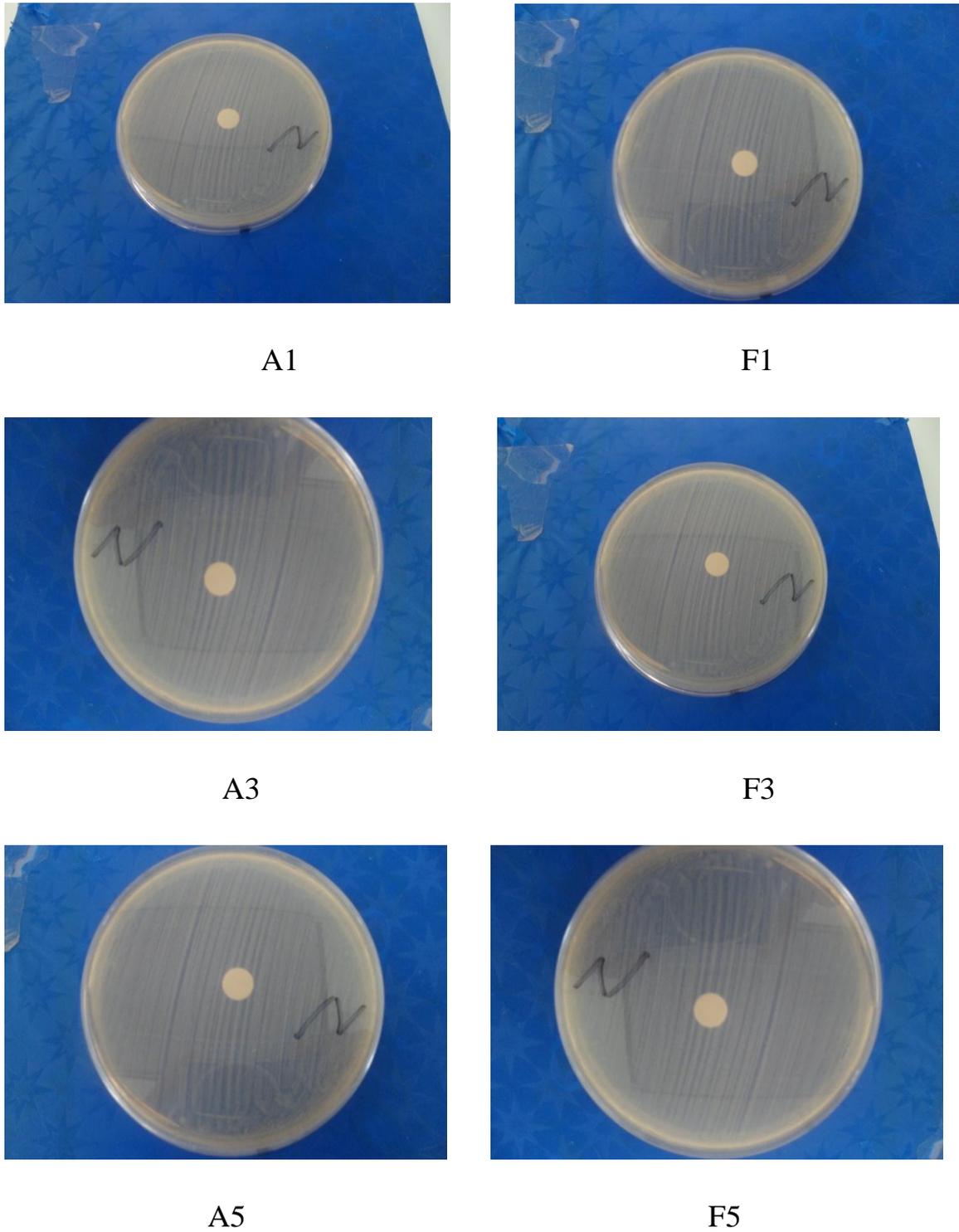


Figure V.4 : Plaques après l'incubation

Le tableau ci-après représente les résultats de l'activité antimicrobienne et antifongique des trois concentrations (2, 6, et 10mL) pour l'extrait du fruit et des feuilles *Sapindus mukorossi* :

Tableau V.4 : L'activité antimicrobienne et antifongique pour l'extrait du fruit et des feuilles *Sapindus mukorossi*

C en µg /disque	Candida albicans	Staphylocoque aureus ATCC
Extrait des fruits		
2	-	+
6	-	+
10	-	+
Extrait des feuilles		
2	-	+
6	-	+
10	-	+

- : peu actif

+ : très actif

D'après ces résultats, on peut conclure que les extraits de la plante *Sapindus mukorossi* ont une activité antibactérienne et antifongique très puissante et efficace pour la lutte contre les microorganismes et surtout ceux qui causent la carie dentaire, ce qui nous encourage à l'utiliser comme principe actif dans les bains de bouche

### V.5. La formulation :

Les caractéristiques recherchées pour notre formulation sont d'une part une efficacité du principe actif proche de celle des composés fluorés en termes d'activités aseptiques et d'autre part un taux d'alcool inférieur que celui retrouvé dans les bains de commerciaux. A cet effet, on a réalisé plusieurs dilutions avec une concentration en alcool la plus faible possible (2 mL d'extrait éthanolique/50 mL d'eau). L'extrait très riche en saponines a présenté les meilleures efficacités microbiologiques à cette teneur

#### V.5.1. Composition de la formule:

Après plusieurs essais par tâtonnement, le choix de la formule optimale a été basé sur deux critères organoleptiques à savoir un aspect transparent attrayant par sa couleur et un goût appréciable

Extraits éthanoliques de la plante *Sapindus mukorossi* .....50 mL

---

Thymol .....	0,021 g
Solution de sorbitol 70% .....	0,5 mL
L'eau bidistillée q.s.p.....	100 mL

Notons que dans cette étape, le choix de la stratégie des plans d'expériences sera la meilleure façon pour l'optimisation de la formule

Aussi le Thymol  $C_{10}H_{14}O$  a été utilisé pour ses propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques ainsi que pour stabiliser les préparations pharmaceutiques et même pour l'odeur et le goût relativement acceptable mais qui reste très loin de celui des composés fluorés très agréables.

La solution de sorbitol 70% a été rajoutée comme édulcorant.

## V.5.2. Caractérisation du bain bouche :

### V.5.2.1. Le pH :

Le tableau ci-dessous représente les résultats du pH du produit référence GETRIL®, le bain de bouche à base d'extrait des feuilles et à base de fruit *Sapindus mukorossi* après l'ajout des additifs à une température de 25°C.

pH		
GETRIL®	Bain de bouche à base d'extrait des feuilles	Bain de bouche à base d'extrait de fruit
6,26	6,15	5,25

Tableau V.5 : Les valeurs du pH à T= 25°C

D'après ces résultats on remarque que le pH est légèrement acide, c'est ce qu'on recherche pour un bain de bouche afin de minimiser la prolifération des bactéries qui vivent dans la bouche et sont favorisées dans les milieux acides.

---

### **V.5.2.2. Le taux d'alcool :**

Les résultats de cette étape donnés pour le taux d'alcool confirment que pour le produit commercial a donné une teneur de 20%, celui à base d'extraits une teneur de 12%. Les deux valeurs sont acceptables en termes de normes mais celui obtenu avec les extraits est très prometteur ceci est du principalement à la dilution maximale des extraits éthanoliques. Ce qui nous encourage à pousser plus l'étude dans cet axe et étudier les teneurs en alcool de façon plus approfondie.

### **V.6. Conclusion :**

Dans cette modeste étude préliminaire, on a pu formuler un bain de bouche présentant avec des caractéristiques physico-chimiques de pH proche de la neutralité et un taux d'alcool réduit, avec un aspect visuel et un goût et odeur acceptables. Beaucoup d'étapes restent à réaliser car le secteur pharmaceutique touchant directement la santé Humaine nécessite des tests et des travaux conformes aux normes internationales.

# **Chapitre I**

## **Généralités sur la bouche**

## *Chapitre II*

### **Les bains de bouche**

## *Chapitre III*

*Sapindus Mukorossi*

# **Chapitre IV**

## **Méthodologie expérimentale**

# **Chapitre V**

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

# Annexes

## Introduction générale

Depuis la nuit des temps, les Hommes ont toujours apprécié les vertus apaisantes et analgésiques des plantes dans leurs vies quotidiennes et comme remède thérapeutique.

De nos jours encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours aux produits végétaux pour leurs propriétés curatives. Les traditions humaines ont su développer les connaissances sur l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques médicales paraissent étranges, d'autres au contraire semblent plus fondées, plus efficaces. Pourtant toutes ont pour objectif de vaincre la *douleur*, la souffrance et d'améliorer la santé des Humaine.

Alors qu'il existe une demande de plus en plus forte pour des traitements par les plantes, beaucoup considèrent encore ceux-ci comme des survivantes des « pratiques populaires », la plupart de bon sens, certes, mais seulement employées pour attendre un rendez vous chez son praticien.

Il existe, cependant une phytothérapie médicale (dont buccodentaire), servant à l'usage des plantes pour des applications dentaires

Il est bien connu que de nombreux médicaments contemporains et produits d'hygiène buccodentaires contiennent dans leur composition des extraits de plantes sous différentes formes [1].

Dans cet axe, l'objectif de cette présente étude est la valorisation d'une matière végétale très disponible en Algérie par utilisation de ses extraits dans la formulation d'un bain de bouche pour l'hygiène bucco-dentaire ; il s'agit de l'arbre *Sapindus mukorossi*. Le recours aux principes actifs extraits des plantes pourrait substituer les composés fluorés utilisés dans la plupart des formulations commerciales qui malgré leur efficacité remarquable et leurs goût agréable, leur usage fréquent risque de détruire les dents en s'attaquant au calcium.

En effet, cette espèce végétale est connue depuis des décennies par les populations qui ont toujours utilisé ses fruits pour ses pouvoirs détergents très intéressants pour le lavage du linge et les soins corporels. Son fruit appelé noix de lavage est très abondant en Algérie et très peu d'études y sont rapportés dans la littérature. La saponine ; substance bioactive majoritaire dans ce fruit est un tensioactif naturel à plusieurs propriétés et est utilisée par plusieurs

industries. Que ce soit en agriculture en tant qu'insecticide, en médecine et en pharmacologie pour ses propriétés antibactériennes et anti-inflammatoires.

Pour ce faire, nous avons structuré notre présent mémoire en deux parties :

- Une théorique dans laquelle sont regroupés les différentes notions sur la morphologie de la bouche et les différentes parties s'y rapportant, ainsi qu'une description succincte sur la matière végétale objet de notre étude.
- Une partie expérimentale dans laquelle sont décrits les protocoles expérimentaux pour l'extraction de la matière active et la caractérisation biologique des extraits par évaluation des activités microbiologiques et par la suite essais de formulation d'un bain bouche en utilisant les extraits de cette plante comme matière active et comparaison de certaines de ses propriétés par rapport à un produit commercial. Dans cette partie, un chapitre est réservé à l'interprétation et discussion des résultats

Enfin, ce mémoire est achevé par une conclusion générale ainsi que des recommandations et perspectives pour la continuité du travail.

## Références bibliographiques

1. Kassouri L.F et Benkemel M. L, ‘‘ Phytothérapie buccodentaire’’, (2012), P. 4, 5
2. PASCAL EPPE, ‘‘ Quand les dents provoquent des maladies à distance ’’, (2013), P.1
3. TIBI Julien, ‘‘Influence d’un bain de bouche sur la présence de bactéries cariogènes au sein du biofilm dentaire’’ (2010)
4. D'après *Freakonomics*, l'ouvrage de l'économiste américain Steven Levitt, (2007)
5. Badran Z, Bories C, Verner C, Demoersman J, Soueidan A: ‘‘Alcohol-containing mouthwashes: An update on potential side effects’’ (en français): Rev Mens Suisse Odontostomatol 120: 603–606 (2010)
6. MADINIER, Isabelle GÉRIBALDI Mireille, WIPO Patent Application WO/2010/072923
7. Produit hygiène bio, Clicmanager.fr (2014)
8. AUDREY Touchard, ‘‘Staphylocoques ’’, (2011) p: 1, 2, 3.
9. <http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=albican&oldid=90230325>
10. Trabut, L. et Mares, R. ‘‘L'Algérie agricole en 1906’’, bibliothèque nationale de France, (1906)
11. Pandey, B.P., ‘‘Taxonomy of Angiosperms’’, Chand and Company Ltd. Ram Nagar, Newdelhi, (2001), 297-299
12. Orwa et al , ‘‘ *Sapindus mukorossi* Geartn sapindaceae’’, Agroforestry Database, (2009)
13. INRA VILLA THURET, ‘‘Découverte plante sauvage protection de l'environnement’’. (2010)
14. La Flore De Mostaganem, ‘‘Le Sapindus Mukorossi, l’arbre à savon ou noix de lavage’’, (2010)
15. Gauthier, C., ‘‘Glycosidation de triterpènes pentacycliques de type lupane et évaluation *in vitro* de leur potentiel anticancéreux’’, thèse de doctorat, université du Québec, (2006)
16. Chan, P., Mak, M., Wang, Y., ‘‘Composition comprising triterpene saponins and compounds with angeloyl functional group, methods for preparing same and uses thereof’’ (2009)
17. Hostettmann and Marston., ‘‘saponins, chemistry and pharmacologie of natural products’’, (1995), 19-51
18. Fenwick, G.R., Price, K.R., Tsukamota, C., and Okubo, K., ‘‘Saponins. In Toxic substances in crop plants’’, Edited by J.P. D’Mello, C.M. Diffins, and J.H. Duffus. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. (1991), 285-327
19. Mackie,A.M., Singh, H.T., et Owen, J.M. ‘‘Studies on the distribution, biosynthesis and function of steroidal saponins in echinoderms’’. Comp. Bioch. Physi. 56B, (1977), 9-14

20. Bruneton, J., ‘Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales’, Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 2ème Ed, (1999), 915 p
21. Chwalek, M., ‘hémisynthèse de saponosides à hédéragénine. Etude de l’influence de la chaîne osidique sur la chaîne hémolytique’, thèse de doctorat, université de Reims, Champagne Ardenne, (2004)
22. AMZAL Hassene , ‘Etude de l’activité antioxydant des saponines du tourteur de l’arganier’, (2010)
23. Schwarz, M. W., ‘Saponins’, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (2000), P.423-485
24. Kokate, C.K., Practical Pharmacognosy, 4th ed., Vallabh Prakasan, Delhi, (1994), 177-180
25. Kokate, C.K., Practical Pharmacognosy, 4th ed., Vallabh Prakasan, Delhi, (1994), 107-111
26. Salager, J-L., Choplin, L., ‘Mousses - Formation, formulation et propriétés’, Technique de l’ingénieur, J2200, (2008)
27. Bouzidi, M. A., Latrèche, A., et al., ‘Caractérisation et valorisation des polysaccharides pariétaux d’Urgine pancration (Steinh) Phil. de Djebel Tessala (Nord-Ouest Algérien), les technologies de laboratoire, (2010), Vol 5, N°19, 24p
28. KACHKAR Madina, ‘Extraction de la silymarine et étude de son activité antimicrobienne’, (2007-2008), p : 38, 39, 40.

---

**Annexe 1**

Tableau I.1 : Les différents composants de l'écosystème buccal [3]

Organe	Définition	Composition	Fonction
1. La muqueuse buccale		-D'un tissu épithélial, -D'une membrane basale, -D'un tissu conjonctif	-Protège les os et les muscles sous-jacents  -Transmet certaines sensations (gustatives, tactiles, thermiques, nociceptives)
2. Salive	Un liquide biologique incolore, plus ou moins visqueux et d'odeur fade, qui baigne la cavité buccale. Elle est sécrétée par les glandes salivaires mineures et majeures. C'est un élément propre et spécifique de la cavité orale, constant mais éphémère car assez rapidement déglutie .	-Les protéines et les glycoprotéines, composée à 99.5% d'eau, et à 0.5% de substances qui y sont dissoutes. La moitié de ces substances est de nature minérale, l'autre organique *Facteurs minéraux, on retrouve des concentrations importantes de calcium, de phosphate, de fluor, et des ions bicarbonates .  *Facteurs organiques, on retient la présence essentielle de protéines enzymatiques, synthétisées au niveau des glandes salivaires. Ex : L'alpha-amylase	-Son pH est compris entre 6.75 et 7.25 -Elle participe à la mastication, la déglutition, la phonation et constitue un élément primordial du milieu dans lequel se trouvent les dents.
3. Aliments	éléments externes de l'écosystème buccal	Sont constitués de macro- et de micronutriments, a) Glucides b) Protéines c) Lipides d) Sels minéraux	

## Annexes :

---

Organe	Définition	Composition	Fonction
4. Organe dentaire	L'organe dentaire, élément spécialisé de l'appareil manducateur, est formé par l'odonte (dent) et ses tissus de soutien (parodonte) (Figure 2).	<p>-L'émail et la dentine sont essentiellement constitués d'hydroxy-apatite, la principale différence entre les deux étant la proportion de la matrice supportant le collagène :L'émail contient 96% de cristaux d'hydroxy-apatite.</p> <p>-La dentine, elle, ne contient que 45% de cristaux d'hydroxy-apatite.</p>	Intervient principalement dans la mastication, mais également dans d'autres fonctions telles que la déglutition, la phonation et l'esthétique.
5. Flore bucco-dentaire		renferme plus de 50 milliards de bactéries, réparties sur plus de 500 espèces différentes, soit plus de 20 genres distincts. Ces bactéries représentent environ 20g dans la bouche de l'homme.	

## Annexes :

Organe	Définition	Composition	Fonction
6. Biofilm dentaire	<p>Plaque bactérienne, est un agrégat mou et blanchâtre qui se dépose en quelques heures sur les surfaces dentaires (naturelles, obturées ou prothétiques) et gingivales, en l'absence d'un brossage efficace .</p> <p>Il faut différencier la plaque supra-gingivale, qui se fixe sur l'émail, et la plaque sous-gingivale, qui se fixe sur le cément dans le sillon gingivo-dentaire (Figure 4). Toutes les deux perturbent l'équilibre existant au sein de l'écosystème buccal et sont respectivement la cause principale des caries et des parodontopathies .</p>	<p>-Eau (80%), et, (20%), de substances solides .Ces éléments solides sont de nature organique, ou inorganique.</p> <p>-Les solides organiques : plus de 200 espèces différentes de microorganismes aéro-anaérobies, tels que <i>Streptococcus mitis</i>, <i>Actinomyces israelii</i>, <i>A. viscosus</i>, et <i>A. naeslundii</i></p> <p>-Les solides inorganiques:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>□ des protéines, des polysaccharides, et des lipides, d'origine bactérienne et salivaires,et</li> <li>□ du calcium, des phosphates, du potassium, du sodium, du fluor, et des oligo-éléments.</li> </ul>	

### **Une bactérie que l'on retrouve partout ou presque...**

Les staphylocoques sont très présents dans notre environnement et on peut les retrouver dans l'eau, dans l'air, sur le sol, sur les meubles, sur les poignées de porte, sur la vaisselle, dans les aliments et sur les animaux. L'Homme est le principal réservoir du staphylocoque doré (30% des adultes hébergent *Staphylococcus aureus* de façon permanente, 50% de façon intermittente). Ainsi, on le retrouve normalement et fréquemment dans les fosses nasales (narines) ou les oreilles, et à la surface de la peau (mains). On parle alors de colonisation ou de « porteurs sains », les staphylocoques étant présents mais ne provoquant pas d'infection [8].

## Annexes :

---

### **1. Moyens de défense:**

Les moyens de défense de l'organisme contre l'invasion des germes sont multiples et complexes :

- La peau et les muqueuses constituent une barrière naturelle infranchissable, tant qu'elles sont saines.
- Le tube digestif draine et élimine en permanence les agents infectieux.
- Les voies urinaires sont pourvues de systèmes anti-reflux.
- Les bronches drainent et éliminent les bactéries par un système de mucus et de cils très efficace, tant qu'il n'y a pas d'inflammation.
- Le tout est protégé par notre système de défense immunitaire dont l'intégrité est conditionnée par un bon état nutritionnel [8].

### **2. Différents staphylocoques :**

#### **2.1. Le staphylocoque doré :**

Les souches de *Staphylococcus aureus* sont connues pour provoquer des infections de la peau : furoncles, folliculites, panaris, impétigo, abcès mammaires chez les femmes qui allaitent. La moindre lésion cutanée peut leur donner l'occasion de proliférer. En revanche, une hygiène correcte et des mesures simples de désinfection des plaies cutanées suffisent généralement à les contenir [8].

#### **2.2. Les staphylocoques blancs :**

A la différence de *Staphylococcus aureus*, les staphylocoques « blancs » principalement *Staphylococcus epidermidis* (70%), font naturellement partie des flores cutanéomuqueuses de l'Homme [8].

Annexes :

---

**Annexe 2**

Liste non exhaustive des différents bains de bouche commercialisés en France et leur teneur en alcool

<b>BBA</b>	<b>Molécule(s)</b>	<b>Titre alcoolique</b>
Collunovar®	chlorhexidine	sans alcool
Corsodyl®	chlorhexidine	5,52 g/100 ml
Eludril®	chlorhexidine	33,77 g/100 ml
Paroex®	chlorhexidine	sans alcool
Periogard®	chlorhexidine	9,07 g/100 ml
Prexidine®	chlorhexidine	10 g/100 ml
Listerine®	original Huiles essentielles	21,22 g/100 ml
Listerine® menthol	Huiles essentielles	17,91 g/100 ml
Meridol®	fluorure d'amine, fluorure d'étain	sans alcool
Givalex®	Hexetidine	45,76 g/100 ml
Hextril®	Hexetidine	4,33 g/100 ml

Annexes :

**Caractérisation :**

<u>Produit ou réactif</u>	<u>marque</u>	<u>caractéristique</u>
-Ethanol 96%	Panreac	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH M=46,07 D≈0.8051 ≈0.8124
-Fehling's A	Panreac	Composition : -Copper (III) sulfate 5 hydrates 48,3 g -acide sulfurique 96% 1ml -eau s.q.m 1L
-Fehling's B	Panreac	Composition : -Sodium hydroxyde 90g -Potassium sodium -Tartrate 4-hydrate 300g -eau s.q.m 1L
-Acide perique	Quimicen	C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub> Toxique Aspect cristallin Soluble dans l'eau éthanol , benzène le chloroforme et l'ether
-Chlorure mercurique		Hg <sub>2</sub> cl <sub>2</sub> M=472,09 99.6%Hg <sub>2</sub> cl <sub>2</sub>
-Chlorure ferrique	FlukaAG Chemische Fabrik	Fecl <sub>3</sub> M=162.21
-Sodium nitro-prosside dihydrate	Fluka	C <sub>5</sub> FeN <sub>6</sub> Na <sub>2</sub> O.2H <sub>2</sub> O Mr=297.95
-Sodium dichromate	BIOCHEM Chemopharma	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Toxique
-Acide chloridrique 37%	Panreac	Hcl M=36.46
-Chloroforme	Panreac	CHcl <sub>3</sub>
-Méthanol	Panreac	CH <sub>4</sub> O M=32.04

## Annexes :

---

<u>Equipement</u>	<u>marque</u>	<u>caractéristique</u>
1-Agitateur magnétique	Stuart® heat-stir	
2-Tamis	VEB Metallweberei	Diamètre=0.5mm
3-pH mètre	HANNA	
4-Broyeur	SAMBROOM	
5-Etuve	memment	Typ : UNB 400 230V Nenn temperture220c°
6-Papier filtre	DR.WATTS	Qualitative No.1 Diamètre : 9.0cm