

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

BADJI MOKHTAR-ANNABA UNIVERSITY
Université Badji-Mokhtar, Annaba

عناية - جامعة باجي مختار



Faculté des Sciences
Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Végétale et Environnement

Mémoire de Magistère

Filière : Biologie Végétale

Option : Physiologie des Plantes Médicinales

Activité bactéricide des huiles essentielles et des flavonoides isolés d'une plante médicinale du Nord-Est algérien : la Sauge officinale ou Salvia officinalis L.

Présenté par :

Mr. BENKHERARA Salah

Membres de jury :

Président : Mr. Ali TAHAR

Professeur

Université d'Annaba

Directrice de recherche : Mme. Ouahiba BORDJIBA

Professeur

Université d'Annaba

Examinatrice : Mme. Ratiba SERIDI

Professeur

Université d'Annaba

Examinatrice : Mme. Monia SERRADJ-Ali Ahmed

Maître de conférences

Université d'Annaba

Année 2009/2010

REMERCIEMENTS

Je remercie ALLAH le tout puissant pour m'avoir accordé la force, le courage et la patience afin de mener à bien mon travail.

Toute ma gratitude va à mes parents pour leur soutien tout au long de mes études et durant mon mémoire.

Je tiens particulièrement à remercier Madame le Professeur BORDJIBA Ouahiba, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de diriger mon travail. Ses compétences, ses conseils précieux et sa rigueur scientifique m'ont poussé de mener à bien mes recherches.

Je remercie sincèrement Monsieur le Professeur TAHAR Ali, Directeur du laboratoire de Biologie Végétale et Environnement, pour m'avoir accordé sa confiance et pour m'avoir honoré en acceptant de présider le jury de ma soutenance. Le soutien moral et l'intérêt qu'il a réservé à ce travail m'ont beaucoup aidé, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie également Madame le Professeur SERIDI Ratiba pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'examiner ce mémoire et un grand merci à lui pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, pour m'avoir fait confiance, encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté. Aussi pour son soutien et sa grande générosité, qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude.

Mes remerciements vont également à Madame Monia SERRADJ-Ali Ahmed, Maître de Conférences à l'Université d'Annaba pour avoir accepté de faire partie du jury de ma soutenance, pour avoir accepté d'en être examinatrice de mon mémoire de magistère.

J'aimerais également citer ici les personnes dont la collaboration a été essentielle. Je remercie en particulier Monsieur DJERIBI Ryad, Maître de Conférences et Directeur du laboratoire de Biofilms et Biocontamination des Matériaux au département de biologie cellulaire et moléculaire Université d'Annaba pour ses conseils et son aide notamment pour le matériel microbiologique, Madame le Professeur KIRANE Djamila, Chef de département de biologie cellulaire et moléculaire d'avoir apporté son aide en me procurant ou fournissant quelques souches microbiennes, Monsieur le Professeur DJOUROUROU Directeur du laboratoire de Biocatalyse au département de Chimie Université d'Annaba pour l'accueil et pour m'avoir accordé la chance de faire mes analyses par CG/SM, Monsieur DJAMAI Rachid Maître de Conférences à l'Université d'Annaba pour m'avoir dirigé et orienté afin de mener à bien mes analyses de pédologie et plus particulièrement Monsieur DJAHOUDI Abdelghani Maître de Conférences à la faculté de Médecine Université d'Annaba, pour ses précieuses orientations et pour m'avoir accueilli dans son laboratoire pour la réalisation des tests préliminaires de l'activité antimicrobienne.

Je ne saurai oublier de remercier vivement mes collègues au département de Chimie, Université d'Annaba, Monsieur YUCEF et ABDELKADER pour la collaboration et leur aide précieuse. Qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect.

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus vifs à mon cher ami DJAHRA Ali Boutliliss pour l'amitié, la présence ainsi que pour sa précieuse aide.

Un très grand merci à Mademoiselle la doctorante BOUKHDIR Sameh qui a joué un rôle fondamental dans la réalisation de ma partie expérimentale. Tout au long de ma présence au laboratoire, il a su m'aider à orienter mes recherches. Pour son amitié, son aide, sa gentillesse et ses conseils si précieux tout le long de mon travail de mémoire, je me permets de lui transmettre mes plus vifs remerciements.

Bien que le mémoire soit fondamentalement un travail individuel, il n'aurait pu être mené à bien sans une équipe de collègues qui contribuent au bon fonctionnement du laboratoire, avec lesquels il est possible d'échanger conseils et suggestions, et qui assurent une atmosphère de travail donnant envie de se lever chaque matin. Je remercie pour cela tous mes anciens et actuels collègues de département de Chimie et ceux de département de Biologie où j'ai effectué mon travail de magistère. Parmi ces collègues, j'aimerais en particulier remercier Monsieur le doctorant SLIMANI Abdel Rachid, mon super exemple de serviabilité et de gentillesse, pour les moments inoubliables qu'il m'a permis de partager et pour son agréable compagnie et sa précieuse aide.

Je tiens enfin à redire le plaisir que j'ai eu à travailler sous l'encadrement de madame le professeur Bordjiba Ouahiba.

This document was created by
Smart PDF Creator
To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

DEDICACES

Je dédie ce modeste mémoire

A mes très chers parents, pour leur amour, leurs conseils et leur soutien moral et financier tout au long de ma formation.

A tous mes frères et ma très chère sœur pour leurs encouragements et leur aide. Que ce travail soit, pour eux, un faible témoignage de ma profonde affection et mon profond respect.

A tous mes amis et à tous les membres de ma famille.

A mon meilleur ami Djahra Ali Boutliliss je dédie ce mémoire.

Table des matières

<i>Résumé français</i>	
<i>Résumé anglais</i>	
<i>Résumé arabe</i>	
<i>Liste des tableaux</i>	
<i>Liste des figures</i>	
<i>Liste des abréviations</i>	
INTRODUCTION.....	01
HISTORIQUE.....	03
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : Les plantes médicinales.....	07
1. <i>Définition.....</i>	07
2. <i>Etude des plantes médicinales.....</i>	07
3. <i>Source des plantes médicinales.....</i>	08
4. <i>Importance de la provenance.....</i>	10
5. <i>Récolte des drogues végétales.....</i>	10
6. <i>Conservation et stockage des drogues végétales.....</i>	11
7. <i>Principes actifs des plantes médicinales.....</i>	13
8. <i>Phytothérapie, homéopathie et aromathérapie.....</i>	16
9. <i>Normalisation et diagnose des drogues végétales.....</i>	17
10. <i>Classification des plantes médicinales selon leurs effets thérapeutiques.....</i>	23
CHAPITRE II : Etude de l'espèce végétale <i>Salvia officinalis L.</i>	27
1 – <i>Ordre des Lamiales.....</i>	27
1 – 1. <i>Place dans la classification systématique botanique.....</i>	27
1 – 2. <i>La famille des Lamiacées (Les labiées).....</i>	28
1 – 2.1. <i>Distribution et principales caractéristiques.....</i>	28
1 – 2.2. <i>Anatomie des Lamiacées</i>	29
1 – 2.3. <i>Variations et principales espèces</i>	29
2 – <i>Genre et principales espèces.....</i>	32
3 – <i>Présentation de l'espèce végétale <i>Salvia officinalis L.</i></i>	32
CHAPITRE III : Huiles essentielles et flavonoïdes.....	35
LES HUILES ESSENTIELLES.....	35
1. <i>Définition.....</i>	35
2. <i>Répartition, localisation et formation.....</i>	35
3. <i>Teneur et fonction des huiles essentielles.....</i>	35
4. <i>Procédés d'extraction des huiles essentielles.....</i>	36
5. <i>Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....</i>	37
6. <i>Composition chimique des huiles essentielles.....</i>	37
7. <i>Propriétés biologiques et physiologiques des huiles essentielles.....</i>	39
8. <i>Emplois des Huiles essentielles.....</i>	40
9. <i>Squelettes des principaux terpènes.....</i>	40

LES FLAVONOIDES.....	44
1. Définition.....	44
2. Localisation et Répartition botanique des flavonoides.....	44
3. Rôle physiologique et biologique des flavonoides.....	45
4. Composition chimique et classification des flavonoides.....	46
5. Caractérisation et dosage des flavonoides.....	47
6. Propriétés biologiques des flavonoides.....	48
7. D'autres propriétés des flavonoides.....	48
8. Emplois des flavonoides.....	48

DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

I – MATERIEL ET METHODES

1 – 1. Matériels utilisés.....	51
1 – 1.1. Matériel végétal.....	51
1 – 1.1.1. Site de prélèvement.....	51
1 – 1.1.1.1. Présentation générale	51
1 – 1.1.1.2. Facteurs climatiques	52
1 – 1.1.1.3. L'hydrogéographie du site	53
1 – 1.1.1.4. Flore du site	54
1 – 1.1.2. Echantillonnage.....	54
1 – 1.1.3. Séchage.....	55
1 – 1.2. Matériel pédologique : Sol.....	55
1 – 1.3. Matériel microbiologique	55
1 – 1.3.1. Souches bactériennes	55
1 – 1.3.2. Milieu de culture	56
1 – 1.3.3. Antibiotique utilisé	56
1 – 2. Méthodes d'analyse.....	58
1 – 2.1. Analyse des paramètres physicochimiques du sol.....	58
1 – 2.2. Etude histologique.....	61
1 – 2.3. Tests biochimiques préliminaires des feuilles.....	61
1 – 2.4. Extraction, séparation et identification des principes actifs.....	64
1 – 2.4.1. Extraction des huiles essentielles	64
1 – 2.4.2. Identification par Chromatographie en Phase Gazeuse.....	66
1 – 2.4.3. Extraction des flavonoides.....	67
1 – 2.4.4. Séparation et identification par Chromatographie sur couche mince.....	69
1 – 2.5. Activité bactéricide.....	71

II – RESULTATS ET DISCUSSION

2 – 1. Analyse des paramètres physicochimiques du sol.....	74
2 – 2. Etude histologique.....	75
2 – 3. Tests biochimiques préliminaires des feuilles.....	81
2 – 4. Extraction, séparation et identification des principes actifs.....	86
2 – 4.1. Extraction des huiles essentielles.....	86
2 – 4.2. Séparation et identification des huiles essentielles.....	87
2 – 4.3. Extraction des flavonoides.....	88
2 – 4.4. Séparation et identification des flavonoides.....	89
2 – 5. Activité bactéricide.....	91

CONCLUSION ET PERSPECTIVES..... 105

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

This document was created using
Smart PDF Creator

To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

Résumé :

Cette étude visait donc à vérifier l'effet antimicrobien de certains principes actifs d'une espèce végétale à usage thérapeutique sur des bactéries multirésistantes. Pour ce faire, l'extraction et l'identification des flavonoides et des huiles essentielles ainsi que leur activité bactéricide sur neuf souches bactériennes responsables d'infections nosocomiales, respiratoires, urinaires et génitales ont été déterminées.

*Les résultats ont démontré que l'huile essentielle extraite des feuilles de la Sauge officinale *Salvia officinalis L.* analysée par CG/SM est composée d'un Chémotype de dix-neuf composés terpéniques avec prédominance de la Thujone (45.55 %).*

Aussi, l'analyse par CCM de l'extrait flavonoïque a révélé la présence de trois composés flavonoïques ayant des rapports frontaux plus ou moins rapprochés.

Les tests de l'activité antimicrobienne ont permis d'évaluer la puissance bactéricide de ces extraits sur les souches bactériennes testées. L'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce, la nature et la concentration de l'extrait.

*D'une manière générale, les huiles essentielles ont été plus efficaces que les flavonoides. Un effet bactéricide très intéressant a été observé vis-à-vis de souches considérées parmi les plus résistantes et responsables d'infections graves souvent mortelles telles que *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.*

Mots clés : *Activité bactéricide, huiles essentielles, flavonoides, *Salvia officinalis L.*, bactéries multirésistantes.*

Abstract:

This study was watching then to inspect the antimicrobial effect of some active principles of a vegetal species to therapeutic use on multiresistant bacteria.

In order to do this, the extraction and the identification of flavonoids and essential oils as their bactericidal activity on nine bacterial species responsible for nosocomial infections, respiratory, urinary and genital have been determined.

Results have demonstrated that the essential oil extracted from the leaves of the officinal Sage and analysed by CG/SM is composed of a Chemotyp of nineteen terpenic composites with predominance of the Thujone (45.55 %).

Also, the analysis by TLC of the flavonoic extract has revealed the presence of three flavonoic compounds having frontal reports more or less equal.

Tests of the antimicrobial activity have permitted to value the bactericidal power of these extracts on bacterial tested species. The inhibition of the growth varies with the kind, the nature and the concentration of the extract.

Of a general manner, essential oils have been more efficacious than flavonoids. A bactericidal effect very interesting has been observed opposite to bacterial species which are considered among the most resistant and responsible for severe infections often mortal such as Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus.

Key words: *bactericidal activity, essential oils, flavonoids, Salvia officinalis L., multiresistant bacteria.*

ملخص:

أجريت هذه الدراسة لأجل معرفة الفعل ضد البكتيري لبعض المركبات النشطة المستخلصة من نوع نباتي ذو استعمال علاجي، تجاه بعض الفصائل البكتيرية متعددة المقاومة.

النتائج المتحصل عليها بينت أن الزيت العطري المستخلص من أوراق النبات المدروس *Salvia officinalis* L. والذي تم تحليله ب CG/SM يتميز بطابع كيميائي ذو تسعة عشر مركب تاربيني مع سواد أعظم ل: التوجون بنسبة 45.55 % .

من جهة أخرى، كشف التحليل بواسطة CCM للمستخلص الفلافونويدي وجود ثلاث مركبات فلافونويدية والتي تميزت بنسب انتقالية RF ذات قيم متقاربة نوعاً ما.

سمحت اختبارات النشاط ضد الجرثومي بتقدير وتقييم قوة تثبيط هذه المستخلصات النباتية للفصائل البكتيرية المختبرة، وعليه نستنتج أن تثبيط نمو وتكاثر هذه الجراثيم يتوقف على نوع النبات وكذا طبيعة وتركيز المستخلص المدروس.

بصفة عامة، الزيوت العطرية كانت أكثر فعالية مقارنة مع الفلافونويدات. كما لوحظ أنه من أبرز تأثيرات هذه المستخلصات كان تجاه بعض البكتيريا المعروفة بشدة المقاومة والمسببة لبعض الإصابات الخطيرة والقاتلة أحياناً، مثال ذلك كل من *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa*.

كلمات مفتاحية: نشاط ضد بكتيري، زيوت عطرية، فلافونويدات، *Salvia officinalis* L.، بكتيريا متعددة المقاومة.

Liste des tableaux

Tableau n°	Titre	Page
Tableau 01	<i>Principales réactions générales de coloration et de précipitation.....</i>	20
Tableau 02	<i>Quelques exemples de séparation et d'identification par chromatographie sur couche mince.....</i>	21
Tableau 03	<i>Tableau récapitulatif des différentes caractéristiques des Lamiacées.....</i>	30
Tableau 04	<i>Echelle de la texture.....</i>	58
Tableau 05	<i>Classification des sols d'après leur teneur en matière organique.....</i>	58
Tableau 06	<i>Gamme de pH des Sols.....</i>	59
Tableau 07	<i>Echelle de salinité du sol.....</i>	59
Tableau 08	<i>Valeurs des différents paramètres physicochimiques étudiés.....</i>	74
Tableau 09	<i>Valeurs des différents éléments minéraux du sol analysé.....</i>	74
Tableau 10	<i>Teneur en eau des feuilles de l'espèce végétale <i>Salvia officinalis</i> L.</i>	81
Tableau 11	<i>Tableau récapitulatif des différents constituants chimiques des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> L.</i>	82
Tableau 12	<i>Teneurs en huiles essentielles extraites des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> L.</i>	86
Tableau 13	<i>Liste des différents composés terpéniques séparés et identifiés de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.</i>	88
Tableau 14	<i>Couleurs de différentes tâches obtenues par CCM après l'action du Chlorure d'Aluminium ($AlCl_3$ à 2 %).....</i>	89
Tableau 15	<i>Valeurs des rapports frontaux des différentes tâches observées.....</i>	90
Tableau 16	<i>Valeurs des différents diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la croissance des bactéries vis-à-vis des produits extraits des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> L.</i>	91
Tableau 17	<i>Valeurs des différents diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la croissance des bactéries vis-à-vis des produits témoins.....</i>	91

Liste des figures

Figure n°	Titre	Page
Figure 01	<i>Principales structures caractéristiques des Lamiacées</i>	31
Figure 02	<i>Diagramme floral de la Sauge officinale</i> <i>Salvia officinalis L.</i>	33
Figure 03	<i>Présentation photographique des différentes parties aériennes de l'espèce végétale</i> <i>Salvia officinalis L.</i>	34
Figure 04	<i>Principaux terpènes des huiles essentielles reconnues</i>	43
Figure 05	<i>Limites administratives du Parc National d'El Kala</i>	52
Figure 06	<i>Escherichia coli</i>	57
Figure 07	<i>Proteus</i>	57
Figure 08	<i>Staphylococcus</i>	57
Figure 09	<i>Pseudomonas</i>	57
Figure 10	<i>Extracteur des huiles essentielles (Appareil d'hydrodistillation)</i>	65
Figure 11	<i>Schéma de l'appareil d'hydrodistillation des huiles essentielles selon la Pharmacopée Belge</i>	65
Figure 12	<i>Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse</i>	67
Figure 13	<i>Représentation schématique de la méthode d'extraction des flavonoïdes</i>	68
Figure 14	<i>Manière dont sont disposés les disques sur milieu Mueller-Hinton</i>	72
Figure 15	<i>Coupe transversale de la tige de Salvia officinalis L. Vue générale (Gx10)</i>	75
Figure 16	<i>Vue générale d'un angle d'une coupe transversale de la tige de Salvia officinalis L. (Gx20)</i>	75
Figure 17	<i>Coupe transversale de la tige de Salvia officinalis L. Détail Parenchyme médullaire (Moelle). (Gx20)</i>	76
Figure 18	<i>Coupe transversale de la tige de Salvia officinalis L. Détail Phloème et Xylème. (Gx40)</i>	76
Figure 19	<i>Coupe transversale de la feuille de Salvia officinalis L. Vue générale (Gx10)</i>	77
Figure 20	<i>Vue générale de la face supérieure de la feuille de Salvia officinalis L. Détail Poils tecteurs et sécréteurs (Gx20)</i>	77
Figure 21	<i>Coupe transversale de la feuille de Salvia officinalis L. Détail Xylème et Phloème (Gx40)</i>	78
Figure 22	<i>Coupe transversale de la feuille de Salvia officinalis L. Détail des parenchymes foliaires (Mésophile)</i>	78
Figure 23	<i>Coupe transversale de la racine de Salvia officinalis L. Vue générale (Gx10)</i>	79
Figure 24	<i>Coupe transversale de la racine de Salvia officinalis L. Détail Xylème et Phloème (Gx20)</i>	79
Figure 25	<i>Taux d'humidité des feuilles fraîches de Salvia officinalis L.</i>	81
Figure 26	<i>Taux de cendres totales des feuilles de Salvia officinalis L.</i>	82
Figure 27	<i>Recherche des tanins dans les feuilles de Salvia officinalis L.</i>	83
Figure 28	<i>Recherche des Saponosides dans les feuilles de Salvia officinalis L.</i>	83
Figure 29	<i>Recherche des Anthocyanes dans les feuilles de Salvia officinalis L.</i>	83
Figure 30	<i>Recherche des Leuco anthocyanes dans les feuilles de Salvia officinalis L.</i>	84
Figure 31	<i>Recherche des Alcaloïdes dans les feuilles de Salvia officinalis L.</i>	84
Figure 32	<i>Recherche des Flavonoïdes dans les feuilles de Salvia officinalis L.</i>	84

Figure 33	<i>Recherche des Cardinolides dans les feuilles de Salvia officinalis L.</i>	85
Figure 34	<i>Recherche des Terpènes et Stérols dans les feuilles de Salvia officinalis L.</i>	85
Figure 35	<i>Teneur en huiles essentielles des feuilles de Salvia officinalis L.</i>	86
Figure 36	<i>Chromatogramme de l'huile essentielle obtenu par CG/SM.</i>	87
Figure 37	<i>Teneur en flavonoïdes des feuilles de Salvia officinalis L.</i>	88
Figure 38	<i>Analyse par chromatographie sur couche mince de l'extrait flavonoïque des feuilles de Salvia officinalis L.</i>	89
Figure 39	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance d'Escherichia coli 12 vis-à-vis des produits testés.</i>	93
Figure 40	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance d'Escherichia coli 1554 vis-à-vis des produits testés.</i>	93
Figure 41	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance d'Escherichia coli 1429 vis-à-vis des produits testés.</i>	93
Figure 42	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance d'Escherichia coli ATCC 25922 vis-à-vis des produits testés.</i>	94
Figure 43	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance de Pseudomonas aeruginosa 7244 vis-à-vis des produits testés.</i>	94
Figure 44	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance de Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 vis-à-vis des produits testés.</i>	94
Figure 45	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance d'Entérobactériacée 1520 vis-à-vis des produits testés.</i>	95
Figure 46	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance de Proteus 22M vis-à-vis des produits testés.</i>	95
Figure 47	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance de Staphylococcus aureus vis-à-vis des produits testés.</i>	95
Figure 48	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance des bactéries utilisées vis-à-vis des produits purs testés.</i>	96
Figure 49	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance des bactéries utilisées vis-à-vis des produits dilués au 1/2.</i>	96
Figure 50	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance des bactéries utilisées vis-à-vis des produits dilués au 1/4.</i>	97
Figure 51	<i>Présentation des résultats de l'activité bactéricide des produits extraits des feuilles de Salvia officinalis L.</i>	99
Figure 52	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance des bactéries les plus résistantes et les plus sensibles vis-à-vis des huiles essentielles et de l'antibiotique.</i>	103
Figure 53	<i>Variation du diamètre d'inhibition de la croissance des bactéries les plus résistantes et les plus sensibles vis-à-vis des flavonoïdes et de l'antibiotique.</i>	103

Liste des abréviations

<i>CCM</i>	<i>Chromatographie sur couche mince</i>
<i>CFU</i>	<i>Unité formant colonie</i>
<i>CG/SM</i>	<i>Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse</i>
<i>Col</i>	<i>Collenchyme</i>
<i>CPG</i>	<i>Chromatographie en phase gazeuse</i>
<i>DER</i>	<i>Rapport drogue – extrait ou « drug – extract ratio »</i>
<i>D.mm</i>	<i>Dimension en millimètre</i>
<i>Ep.S</i>	<i>Epiderme supérieur</i>
<i>Ep.I</i>	<i>Epiderme inférieur</i>
<i>FID</i>	<i>Détecteur à ionisation de flamme</i>
<i>Flav</i>	<i>Flavonoïdes</i>
<i>Fx Lb.Lg</i>	<i>Faisceau libéro – ligneux</i>
<i>HE</i>	<i>Huiles essentielles</i>
<i>HPLC</i>	<i>Chromatographie liquide à haute performance</i>
<i>M</i>	<i>Moelle</i>
<i>MH</i>	<i>Mueller-Hinton</i>
<i>P</i>	<i>Péricycle</i>
<i>P.Cr</i>	<i>Parenchyme cortical</i>
<i>Phl</i>	<i>Phloème</i>
<i>Pl</i>	<i>Poil</i>
<i>Pl.S</i>	<i>Poil sécréteur</i>
<i>Pl.T</i>	<i>Poil tecteur</i>
<i>P.N.E.K</i>	<i>Parc National d'El Kala</i>
<i>Pr.Lc</i>	<i>Parenchyme lacuneux</i>
<i>Pr.Pa</i>	<i>Parenchyme palissadique</i>
<i>Rhz</i>	<i>Rhizoderme</i>
<i>RF</i>	<i>Rapport frontal</i>
<i>RMN</i>	<i>Résonance magnétique nucléaire</i>
<i>SM</i>	<i>Solution mère</i>
<i>TR</i>	<i>Temps de rétention</i>
<i>UV</i>	<i>Ultra – Violet</i>
<i>Xyl</i>	<i>Xylème</i>
<i>Zc</i>	<i>Zone corticale</i>

This document was created using
Smart PDF Creator

INTRODUCTION

To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

INTRODUCTION

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : Nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. Aujourd'hui, le savoir des tradipraticiens est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie s'emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages (Pelt, 2001). La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethnopharmacologiques.

Bien qu'une grande partie du XXème siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines (Gurib Fakim, 2006).

La phytothérapie est une pratique millénaire basée sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil d'innombrables générations. Selon l'O.M.S, plus de 22000 espèces végétales ont été inventoriées comme plantes médicinales (Duraffourd et al, 1997). Leur usage a eu un déclin avec le développement de la chimie de synthèse, toutefois les effets indésirables des médicaments ont ravivé l'intérêt des scientifiques pour les plantes médicinales. C'est ainsi que de nouvelles recherches ont vu le jour, notamment de l'espoir de traiter certaines maladies infectieuses par les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques, ce qui est de plus en plus fondé du fait de l'apparition de résistante des germes aux antibiotiques.

Aujourd'hui encore, l'efficacité des antibiotiques est appréhendée par les scientifiques à cause des résistances accrues des bactéries dont la conséquence est l'échec thérapeutique. La plupart des espèces végétales, contiennent des principes actifs qui ont un pouvoir de vaincre la souffrance des hommes et d'améliorer leur santé.

La connaissance fondée de ces principes actifs que les plantes médicinales renferment, de leur propriété, leur mode d'action et la mise en évidence de leurs effets positifs ou négatifs ; tant sur l'animal que sur tissus ou organes isolés, n'a véritablement trouvé sa dimension que très récemment.

Parmi ces principes actifs, on trouve les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes et les huiles essentielles qui sont des substances naturelles élaborées dans le végétal. Ces dernières forment le groupe le plus important des substances actives des plantes médicinales. Elles sont douées de propriétés antibactériennes à des degrés divers suivant leur richesse biochimique en terpènes, phénols, aldéhydes et en alcools.

Dans ce contexte là, nous nous sommes intéressés à une espèce végétale très répandue dans le bassin méditerranéen et très utilisée pour ses innombrables vertus thérapeutiques. Il s'agit de Salvia officinalis L. ou Sauge officinale.

Notre objectif était de vérifier la spécificité de cette espèce végétale aussi bien du point de vue biochimique que sur le plan antiseptique et notamment l'activité bactéricide de ses principes actifs majeurs.

*L'utilisation massive de cette espèce par les populations est-elle justifiée ?
Est-elle riche en substances naturelles phytothérapeutiques ?*

Pourrait-elle être un antiseptique efficace vis-à-vis des maladies dues à certaines bactéries pathogènes, devenues résistantes aux antibiotiques et que la médecine moderne avec son large panel de produits chimiques synthétiques (antibiotiques) ne peut pas guérir ?

C'est ce que nous efforcerons de démontrer à travers cette étude dans le cadre de ce mémoire.

Notre travail est subdivisé en cinq parties.

Dans une première partie, nous essayerons de dresser un aperçu bibliographique sur les plantes médicinales, sur l'espèce végétale concernée ainsi que sur ses majeurs principes actifs synthétisés voire même leur classification et leur mode d'extraction et d'identification.

La seconde partie consiste en une analyse physico-chimique du sol sur lequel pousse cette espèce végétale.

La troisième partie a été réservée uniquement à la mise en évidence des principales substances actives des feuilles de cette espèce.

Dans la quatrième partie, nous procéderons à l'extraction, la séparation et l'identification de deux principes actifs qui sont les plus abondants : huiles essentielles et flavonoïdes.

Enfin et dans la cinquième partie, nous essayerons de démontrer le pouvoir antiseptique ou l'activité bactéricide de ces principes actifs isolés et nous terminerons enfin par la discussion, conclusion et les perspectives.

HISTORIQUE

Le recours aux plantes comme moyen de guérison est aussi ancien que l'humanité. Plus même, pourrait on dire, si l'on fait entrer en ligne de compte les cas, authentiques ou non, où l'on voit des animaux employer la même méthode. Si nous manquons, et c'est inévitable, de renseignement sur l'usage médicinal que faisaient les plantes des populations préhistoriques, nous pouvons cependant nous en faire une idée par deux moyens. D'abord par analogie avec les pratiques des peuples dits « primitifs » qui subsistent encore actuellement. Ensuite par induction à partir des croyances, superstitions et observances des populations des campagnes, telles que les recueille actuellement la science folklorique. Ce sont là souvent les dernières survivances des plus anciens errements des hommes en quête de remèdes à leurs maux.

Cette première et prodigieusement longue étape de la phytothérapie se caractérisa indubitablement, du point de vue des méthodes, par d'innombrables tâtonnements et essais, guidés tant par l'observation des animaux que par un certain instinct, et, du point de vue des conceptions, par une mystique animiste. Les maladies apparaissent comme des attaques ou des vengeances d'esprits mauvais, qu'il s'agissait de chasser et tenir à distance par des pratiques appropriées. Inversement les propriétés des plantes ainsi découvertes étaient mobilisées par des procédés en parties magiques et attribuées à des forces extranaturelles bienfaisantes.

N'empêche que les découvertes, dès ce temps, furent très nombreuses, puisque, dès les débuts de l'ère historique elles constituaient déjà un ensemble respectable. Comme à toutes les époques de l'histoire des sciences, de notions fausses sont issues des conquêtes solides. L'empirisme primitif a conduit à des connaissances qui, transmises de génération en génération, subsistent encore aujourd'hui dans la médecine populaire. Bien plus, la pharmacopée moderne elle-même est redevable de maintes médications de valeur certaine à nos plus lointains ancêtres. Toutes les populations primitives ont connu et utilisé de nombreux produits végétaux comme purgatifs, vomitifs, stomachiques, vermifuges... C'est aux « Primitifs » que nous devons la découverte des vertus du café, du thé, du maté, du cacao, de la kola, etc...

Les nombreuses listes de plantes conservées dans les textes cunéiformes de la bibliothèque d'Assurbanipal témoignent de la grande place que tenait la médecine par les plantes dans la société mésopotamienne. Chez les anciens Egyptiens, la matière médicale était extraordinairement riche en principes d'origine végétale. Dès les temps homériques, l'Egypte apparaît comme une merveilleuse contrée où foisonnaient les plantes médicinales.

L'Ancien Testament nous révèle quelques emplois médicamenteux de plantes en usage dans le monde juif et l'on attribue à Salomon un vaste traité sur les plantes médicinales. Mais c'est surtout par les écrits talmudiques que nous connaissons la phytothérapie juive, apparentée d'ailleurs à celles des Arabes et de la Perse (Fournier, 1999).

Le premier musulman à tirer largement profit de ses traductions médicales fut Abu Bahr Muhammad ibn Zakaria al-Razi, connu sous le nom de Rhazés (865-925), originaire du Nord de la Perse. Il laissa de nombreux ouvrages concernant les médicaments, et surtout le Kitab al-Mansuri, ainsi que vingt-quatre autres tomes de textes médicaux, comportant un grand nombre de formules médicales. Le plus célèbre médecin arabe fut Avicenne (Abu Ali Ibn Sina, 980-1037). Auteur de l'ouvrage Canon de la médecine en langue arabe (1014-1021). Il

décrivit les remèdes les plus efficaces de son époque dans le deuxième livre du *Conon*, consacrés à la pharmacologie et à l'enseignement des remèdes naturels simples. Il y décrit 811 produits végétaux et minéraux en expliquant leurs effets sur l'organisme humain. Toutes les plantes médicinales par Avicenne n'ont pas encore été identifiées et beaucoup d'entre elles sont d'origine indienne, tibétaine, chinoise ou orientale (Volak et Stodola, 1983).

La phytothérapie des anciens Indo-européens était aussi très développée et s'est maintenue surtout chez les Hindous.

Les grands botanistes du XVIIIème siècle ne séparent guère eux non plus de la science pure les applications thérapeutiques. Joseph Pitton de Tournefort (1656-1708), Linné (1707-1762), Albert de Haller (1708-1777), les illustres de Jussieu, qui constituent toute une dynastie, ne se contentèrent pas de joindre à la partie descriptive et géographique de leurs ouvrages des indications précises sur les propriétés des plantes : Ils ont laissé des écrits expressément consacrés à la botanique médicale.

Dès la fin de ce même siècle se multipliaient les traités du même genre sous les titres les plus divers en tous pays et en toutes langues ; leur liste jusqu'à nos jours formerait un petit volume.

Au cours de ces diverses époques des doctrinaires de la médecine sont venus imprimer à la phytothérapie des impulsions systématiques, originales et passagères, qui contrastent fortement avec les exposés purement objectifs des purs phytothérapeutes.

Philippe-Théophraste Bombast Paracelse de Hohenheim (1493-1541), ce révolutionnaire romantique, mystique, volontiers métaphysicien et abstrus, partant de ses théories du macrocosme et du microcosme, fonda la doctrine de la « signature », qui jouit si longtemps d'une immense popularité en thérapeutique et fut plus tard (1588) développé et poussé jusqu'aux plus absurdes conséquences par J.-B. Porta. Le « principe de la signature » et que tous les remèdes présentent la forme et la couleur des maladies pour lesquelles ils sont efficaces : la Pulmonaire avec ses taches blanches est tout indiquée contre la tuberculose pulmonaire, le Grémil aux fruits pareils à deux petits cailloux se recommandera contre la pierre, les plantes à suc jaune deviendront des spécifiques de la sécrétions urinaires. Le plus curieux est que ces théories arbitraires ont plus d'une fois permis de découvrir des efficacités réelles.

Continuant Paracelse, le bruxellois J.-B. van Helmont (1577-1644) mêla étroitement alchimie, rêveries métaphysiques, médecine et chimie ; il fut un chimiste de valeur et préconisa, comme plus actif, l'emploi des plantes sous forme de teinture, au lieu des infusions et décoctions alors en usage.

Au rebours de ces derniers l'anglais Thomas Sydenham (1624-1689), revient à la tradition hippocratique. Dans les simples, auxquels il fait une très grande place, il cherche avant tous des spécifiques. C'est un qu'il fut l'un des premiers à reconnaître les vertus curatives du quinquina, récemment importé en Europe, et de l'opium où il voit un médicament du cœur par excellence.

Condamnant au contraire opium et quinquina. Frédéric Hoffmann (1660-1742), ce systématique outrancier, introduisit dans la thérapeutique toute une série de préparations plus ou moins secrètes, parmi lesquels les vins de plantes, les essences, les élixirs, le camphre étaient en bonne place.

C'est pour avoir cru observer que le quinquina produit des accès de fièvre que Samuel Hahnemann (1755-1843) lança dans le monde son fameux système homéopathique, basé sur le principe similia similibus curantur. Sans en être radicalement bouleversée, car bien souvent allopathes et homéopathes usent de la même plante pour la même maladie, la phytothérapie fut cependant contrainte de subir, auprès des tenants de la nouvelle école, une révision totale et une mise au point complète de ses méthodes. Au lieu de forcer les doses, comme la plupart de ses prédécesseurs, l'homéopathe recourt à des dilutions poussées incroyablement loin qui doivent accroître l'intensité des effets des remèdes ainsi « dynamisé » (Fournier, 1999).

Le XIXème siècle fut caractérisé par sa désaffection pour l'emploi des simples végétaux et son effort pour isoler leurs éléments actifs, pour les obtenir même synthétiquement dans un certain nombre de cas. Il s'en suivit l'oubli parfois complet de plantes d'une efficacité certaine, la multiplication à l'infini de drogues chimiques obtenues industriellement, de spécialités toutes préparées qui réduisent la pharmacie au rang d'épicerie supérieure. Dans les traités de pharmacologie et de matière médicale les plantes se virent reléguer au second plan, alors que jadis elles y tenaient et de beaucoup, la première place. Cependant, on découvrit les avitaminoses ou maladies de carence, qui obligèrent déjà à revenir aux fruits et légumes frais, aux aliments végétaux porteurs de vitamines. On s'aperçut également que isolés, les principes des plantes regardés comme actifs sont le plus souvent très loin de donner les mêmes résultats que la plante elle-même dans son intégralité. On dut constater que la médecine par les plantes, restée dans l'usage populaire ou tombée aux mains des guérisseurs, produisait des guérissons que la médecine classique n'avait pu procurer (Beloued, 1998). Enfin quelques empiriques de grandes valeurs maintenaient, chez leurs adeptes, et les naturistes reprenaient à leur compte, le recours à la médecine végétale. L'abbé bavarois Sébastien Kneipp (1821-1897) s'acquiesça une célébrité mondiale et de bon aloi par sa thérapeutique végétale non moins que par sa cure d'eau. Et ainsi nous arrivons aux actuelles écoles de phytothérapie, parmi lesquels l'Ecole française, avec le Dr H. Leclerc à sa tête, tient une place d'honneur.

A l'époque actuelle et d'après Volak et Stodola (1983), nous voyons se poursuivre intensivement la recherche et l'étude scientifique des plantes médicinales dans de nombreux instituts, entreprises pharmaceutiques ou cliniques des pays industrialisés. Cette étude se fait dans deux directions : d'une part, on applique des méthodes modernes d'investigation chimique et physicochimique à l'étude des matières actives des plantes de la médecine populaire traditionnelle et on vérifie leurs effets pharmacologiques dans la pratique clinique. D'autre part, on étudie des drogues nouvelles, celles des régions encore peu connues, des forêts vierges et des jungles (médecine dite verte). Ces régions abritent en effet bien des plantes médicinales aux effets encore inconnus, croissant dans des sites hors de la portée de nos civilisations, et connues des seuls indigènes.

PREMIERE PARTIE
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

This document was created using
Smart PDF Creator

To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

CHAPITRE I : LES PLANTES MEDICINALES

1 – Définition

1 – 1. Plante médicinale

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies.

Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation (Schauenburg et Paris, 1977).

1 – 2. Drogue végétale

On appelle drogue végétale tout matériel végétale utilisé en thérapeutique et n'ayant encore subi aucune préparation pharmaceutique (Paris et Hurabielle, 1981).

D'après Wichtl et Anton (2003), les drogues végétales sont essentiellement des plantes, parties de plantes ou algues, champignons, lichens, entiers, fragmentés ou coupés, utilisés en l'état, soit le plus souvent sous forme desséchée, soit à l'état frais.

Certains exsudats n'ayant pas subi de traitements spécifiques sont également considérés comme des drogues végétales. Les drogues végétales doivent être définies avec précision par la détermination scientifique selon le système à deux mots. Elles sont obtenues à partir de plantes cultivées ou sauvages. Des conditions appropriées de collecte, de culture, de récolte, de séchage, de fermentation et de stockage sont essentielles pour garantir leur qualité. Elles sont identifiées par leur description macroscopique, microscopique et par chromatographie sur couche mince CCM notamment à partir de la détermination de leurs substances actives.

Elles satisfont aux exigences mentionnées dans les monographies individuelles de la pharmacopée européenne (définition, identification, essai, dosage).

2 – Etude des plantes médicinales

Selon Paris et Hurabielle (1981), l'étude des plantes médicinales fait appel à des connaissances variées en botaniques, en biologie végétale, en agronomie, en chimie et en pharmacologie.

En effet, cette étude commence par une identification botanique très précise du matériel végétal ; elle nécessite ensuite une recherche chimique approfondie, avec l'isolement à l'état pur et la détermination de structure des différents constituants ; viennent ensuite les essais pharmacologiques avec l'évaluation de l'activité thérapeutique et de la toxicité des principes isolés.

2 – 1. Production et Formes actuelles d'utilisation des drogues végétales

Les drogues végétales sont obtenues à partir de plantes cultivées ou sauvages. Les conditions de culture, de récolte, de fragmentation et de stockage, ont une action déterminante sur la qualité des drogues végétales. Celles-ci sont, dans la mesure du possible, exemptes d'impuretés telles que terre, poussière, souillure, ainsi que d'infections fongiques ou de contamination animale. Elles ne présentent aucun signe de pourriture ou d'endommagement.

Dans le cas où un traitement décontaminant a été utilisé, il est nécessaire de montrer qu'il n'altère pas les constituants de la plante et qu'il ne laisse pas de résidus nocifs.

L'emploi d'oxyde d'éthylène est interdit pour la décontamination des drogues végétales.

Ces drogues végétales sont connues depuis longtemps par plusieurs formes d'usage et d'application. Comme autrefois, elles sont utilisées en nature, sous forme de poudres ou de tisanes (Tilleul, Menthe, Camomille, Verveine...), ou sous forme de préparations galéniques (Teintures, extraits, Sirops...) qui renferment, sous une forme concentrée, la totalité des principes actifs de la drogue et représentent un mode d'administration commode et peu coûteux.

Elles servent aussi (le plus souvent aujourd'hui) de matières premières pour la préparation des médicaments :

- *A partir de la plante, on extrait des principes actifs. Une fois isolés et purifiés, les principes actifs peuvent être utilisés tels quels, ou légèrement modifiés en vue d'obtenir des composés plus stables, plus solubles, ou encore, d'améliorer l'effet thérapeutique (Clivage éventuel de propriétés physiologiques intéressantes, diminution de la toxicité...).*

- *On peut également isoler du végétal des « précurseurs de principes actifs ». Ce sont des substances inactives physiologiquement, mais qui servent de point de départ pour l'hémisynthèse de composés actifs, on prépare maintenant de nombreux dérivés stéroïdiques progestatifs ou corticoïdes (Paris et Hurabielle, 1981).*

3 – Source des plantes médicinales

3 – 1. Plantes de cueillette

La récolte des plantes sauvages couvrait autrefois presque la totalité des besoins de la thérapeutique.

Elle est aujourd'hui insuffisante pour beaucoup de drogue. De plus, elle présente des inconvénients surtout d'ordre économique, la main-d'œuvre étant souvent trop onéreuse en regard de la valeur marchande de la plante récoltée.

La cueillette reste importante quand les peuplements naturels sont abondants et denses et dans les pays où les salaires sont peu élevés mais où elle représente une ressource appréciable pour la population. Elle est aussi pratiquée quand la demande, réduite, ne justifie pas la culture.

Dans l'ensemble, la cueillette des plantes médicinales est trop peu lucrative dans un pays à niveau de vie élevé. Enfin, lorsque la culture est difficile on a obligatoirement recours aux plantes spontanées, ceci aboutit parfois à la dévastation des gîtes tel que le Droséra qui a pratiquement disparu de France alors qu'il est encore récolté en Europe centrale (Paris et Moysse, 1976).

3 – 2. Plantes de culture

Malgré certains inconvénients (contamination plus facile par les parasites, parfois pléthore d'une drogue), les cultures de plantes médicinales offrent de nombreux avantages :

- *Matière première abondante, homogène et de bonne qualité (possibilité d'amélioration).*
- *Récolté aisée, souvent mécanisée.*
- *Frais de main-d'œuvre réduits.*
- *Parfois traitement du matériel végétal au voisinage des champs de culture évitant l'altération des drogues.*
- *Risque très faible de substitutions ou de falsification.*

3 – 2.1. Culture et amélioration des plantes médicinales :

3 – 2.1.1. Facteurs influençant sur la culture des plantes médicinales :

Dans la culture interviennent deux sortes de facteurs :

- Facteurs extrinsèques, ou extérieurs à la plante. Ce sont surtout le climat et le sol :

■ Le climat intervient par la température, l'humidité, la luminosité, le vent ; l'altitude a une certaine importance par les modifications qu'elle apporte à ces différents facteurs.

■ Le sol intervient par son état physique (porosité, perméabilité), par son état chimique (pH, équilibre entre certains éléments minéraux N, P, K, présence de certains oligo-éléments), par son état biologique (microflore).

- facteurs intrinsèques, ou endogène : ce sont ceux qui agissent sur le patrimoine héréditaire du végétal, par conséquent au niveau génétique.

3 – 2.1.2. Amélioration des plantes médicinales :

Son but est de produire des plantes médicinales de haute qualité et faciles à cultiver. En dehors des critères classiques de vigueur (résistance aux parasites, aux conditions climatiques défavorables), le critère d'amélioration est avant tout l'obtention d'une forte teneur en principes actifs.

1/ Action sur les facteurs extrinsèques (facteurs écologiques)

Si l'on peut agir sur le climat, on peut remédier à certaines conditions défavorables : lutte contre le froid, la sécheresse, le soleil, les vents.

Le terrain peut être modifiée par l'apport d'engrais : engrais de base ou oligo-éléments.

Enfin, on peut faire appel à toute les pratiques culturales classiques : levée de dormance pour la multiplication par graines ; apport d'hormones de croissance dans le cas de la multiplication végétative ; vernalisation pour hâter l'aptitude à la floraison ; taille, écimage, lutte contre les parasites (Phytopharmacie).

2/ Action sur les facteurs intrinsèques (facteurs génétiques)

La sélection de bonnes graines et de bonnes souches est très importante. On distingue :

- La sélection naturelle ou conservatrice : on n'altère pas le patrimoine génétique, mais on choisit, pour la reproduction d'une espèce, les individus les plus intéressants.

- Cette sélection peut être « massale » : on choisit dans une population d'une même espèce les plantes les plus valables ; les semences sont multipliées et fournissent une culture d'élite.

Cette sélection doit être permanente, c'est-à-dire répétée tous les ans, afin d'éliminer les individus de valeur médiocre.

- Elle peut être individuelle ou généalogique : dans ce cas, on isole un individu possédant les caractères recherchés et on suit sa descendance.

Cette pratique, bien qu'apportant certaines contraintes (autofécondation notamment), est largement utilisée pour les plantes médicinales : pavot, ...

- La sélection artificielle ou créatrice : on modifie expérimentalement le patrimoine héréditaire de l'espèce considérée, en provoquant des mutations ou en créant des hybrides (Paris et Hurabielle, 1981).

4 – Importance de la provenance

Le caractère origine ou provenance est un caractère extrêmement important qu'on doit le prendre en considération lors de la recherche de la plante.

Le choix de cette plante est autant intéressant qu'elle soit de type cultivé ou spontané, car cela se traduit par des variations assez considérables sur leur teneur en divers principes actifs élaborés, ex : la structure de certains ginsénosides, principes actifs adaptogènes et stimulants du ginseng, peut être différente selon que la plante est cultivée au Japon, en Corée, voire aux Etats-Unis, ainsi que la matricaire qui aura une teneur variable en huile essentielle (de 0.6 à 1 %) qui présentera également des teneurs différentes en Chamazulène et en Bisabolol (0 à 60 %), d'où une activité anti-inflammatoire à priori variable d'un lot à l'autre.

En conséquence, le pharmacien veillera à ce que le maximum de renseignements concernant l'origine géographique et les conditions écologiques soit disponible. D'autres paramètres comme le lieu exact de la culture, l'altitude, la nature et le degré de fertilisation du sol, le caractère sauvage ou cultivé de la plante, son stade de végétation... sont aussi de premier plan (Wichtl et Anton, 2003).

5 – Récolte des drogues végétales

5 – 1. Période et meilleur stade végétatif de récolte

Selon Wichtl et Anton (2003), des poussées de biosynthèse engendrent une accumulation plus ou moins importante de certains constituants des chaînes métaboliques ; cela au cours des temps, des saisons, des mois, voire des journées. Ainsi, la notion de chronobiologie, applicable à l'homme, peut l'être également à la plante. Certaines études ont même montré que, dans les cas extrêmes, le profil chimique d'une huile essentielle de menthe peut être différent au cours de la journée, c'est-à-dire à 8h, à 12h ou à 18h. Ceci explique en partie les modalités traditionnelles en matière de cueillette liées à certaines époques, voire à certains jours précis de calendrier.

D'ailleurs, les monographies des drogues de la pharmacopée décrivent souvent des éléments macroscopiques, non pas indispensables par eux-mêmes à l'activité thérapeutique proprement dite, mais qui sont des « marqueurs » du moment optimal de la récolte donnant certaines garanties pour la qualité de la matière première (présence de quelques fleurs, de fruits...).

Des études scientifiques ont permis de définir le moment optimal de la récolte. Ainsi les racines sont récoltées au moment du repos végétatif (Automne, hiver), les parties aériennes le plus souvent au moment de la floraison alors que les feuilles juste avant la floraison.

D'après Paris et Hurabielle (1981), la position des feuilles sur la tige, c'est-à-dire leur âge, a aussi son importance : ex. chez le Théier, on ne récolte que les bourgeons et les jeunes feuilles où la teneur en caféine est maximale, cette teneur s'abaisse considérablement dans les feuilles âgées. De la même façon, chez les labiées, les feuilles supérieures sont plus riches en essence que les feuilles de la base. Chez l'eucalyptus, par contre seules les feuilles falciformes portées par les rameaux âgés sont récoltées car elles sont plus aromatiques.

Les fleurs sont récoltées à leur plein épanouissement, voire en bouton (Aubépine). Cependant, la récolte des graines s'effectue lorsqu'elles ont perdu la majeure partie de leur humidité naturelle (Wichtl et Anton, 2003).

5 – 2. Conditions et modalités de récolte

Seules les plantes très saines doivent être récoltées. Par ailleurs, quelle que soit la plante ou la partie de la plante que l'on veut obtenir, la récolte doit être faite par temps sec (excepté pour les écorces qui se détachent plus facilement après une période d'humidité).

Les plantes à huile essentielle nécessitent certaines précautions ; en général, elles sont cueillies le matin, avant le lever du soleil. Les procédés de récolte sont variables selon les drogues.

Souvent, la récolte à la main est nécessaire ; c'est le cas pour de nombreuses fleurs telle que cueillette de Tilleul (Inflorescence et bractée), Safran (Stigmate) et du Coquelicot (Pétale). De la même façon, la technique manuelle doit être utilisée pour l'arrachage des organes souterrains, des écorces et l'obtention par incision des gommages, résines et des latex.

Parfois, elle est mécanisée : Récolte des parties aériennes, sommités fleuries, certains fruits ou de certaines graines. On utilise alors le plus souvent un matériel agricole classique plus ou moins adapté aux plantes médicinales : Ex ; lavande, pavot, fruits d'ombellifères séparés et triés mécaniquement après battage. Pour certaines cultures, la mise au point de machines spéciales est nécessaire (Paris et Hurabielle, 1981).

6 – Conservation et stockage des drogues végétales

6 – 1. Conservation

Les plantes médicinales, rarement utilisées à l'état frais, doivent être conservées dans des bonnes conditions. Or, une fois récolté, la plante se fane et meurt ; apparaissent alors des processus de dégradation souvent préjudiciables à l'activité thérapeutique de la drogue : Les principes actifs peuvent subir des hydrolyses (ex. hétérosides, alcaloïdes – esters), des oxydations et (ou) des polymérisations (tanins, composés terpéniques des huiles essentielles), des isomérisations (alcaloïdes de l'ergot de seigle), des racémisations (hyoscyamine)... aboutissant à une perte d'activité de la drogue.

Ces dégradations, de nature enzymatique, nécessitent la présence d'eau. Elles peuvent être évitées par différents moyens ; les principaux sont :

- La dessiccation, qui a pour but d'inhiber l'action des enzymes par élimination d'eau.
- La stabilisation, qui vise à les détruire.

Ce n'est qu'après avoir convenablement réalisé ces opérations que l'on pourra envisager la conservation proprement dite des drogues, qui s'apparente alors au problème de stockage (Paris et Hurabielle, 1981).

6 – 1.1. La dessiccation :

Pour assurer une bonne conservation, c'est-à-dire favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique après la récolte, éviter la dégradation de certains constituants ainsi que la prolifération bactérienne, le séchage apparaît comme un élément primordial.

Les techniques de dessiccation sont diverses :

- *Au soleil et à l'air libre pour les écorces et les racines.*
- *A l'abri d'une lumière trop vive pour les fleurs, afin d'éviter une modification de leur aspect, et parfois leur activité (huile essentielle).*
- *Avec une température bien choisie, car la composition chimique peut varier selon les conditions. Ainsi, dans le cas de Séné (Cassia sp.), la dimérisation des hétérosides anthraquinoniques présents dans la drogue fraîche s'effectue au cours du séchage à 40°C, alors qu'elles n'a pas lieu si la température atteint 100°C. Or, l'activité thérapeutique est essentiellement liée à ces hétérosides dianthroniques, considérés en réalité comme des « prodrogues ». Enfin, une température trop élevée peut engendrer la dégradation de substances thermolabiles, comme les vitamines, les anthocyanes et certains terpènes (Wichtl et Anton, 2003).*

Parmi les autres procédés utilisés, on peut citer, selon Paris et Hurabielle (1981), le séchage sous vide : à chaud, il est peu pratiqué ; à froid, c'est la cryodessiccation ou lyophilisation. C'est une dessiccation par sublimation directe de l'eau du végétal préalablement congelé. Intéressante pour les souches d'antibiotiques, elle est coûteuse et donne des résultats irréguliers pour les plantes médicinales.

6 – 1.2. La stabilisation :

Comme nous l'avons vu précédemment, la dessiccation ne détruit pas les enzymes mais les empêche d'agir ; celles-ci peuvent, à nouveau, exercer leur action si la plante est réhydratée. A l'inverse, la stabilisation dénature irréversiblement les enzymes.

Les enzymes, de nature protéique, peuvent être détruites par l'action de l'alcool ou de la chaleur. On distingue plusieurs méthodes de stabilisation :

6 – 1.2.1. Traitement par l'alcool bouillant :

La drogue, convenablement divisée, est projetée par petites quantités dans l'alcool bouillant ; les enzymes sont détruites, mais, en même temps, sont extraits tous les principes de la plante solubles dans l'alcool. Ce procédé permet donc d'obtenir des extraits alcooliques stabilisés, intéressants pour certaines plantes (Marronnier d'inde, Valériane), mais il n'est pas applicable à la conservation des drogues elles mêmes.

6 – 1.2.2. Utilisation de la chaleur humide :**1/ Vapeurs d'alcool**

La stabilisation s'effectue en autoclave au sein de vapeurs d'alcool à 95° ; il y a, à la fois, action dénaturante de la chaleur et de l'alcool. Cette méthode est d'emploi limité en raison de son coût élevé et de sa réalisation délicate (inflammabilité des vapeurs d'alcool).

2/ Vapeurs d'eau

On remplace ici les vapeurs d'alcool par les vapeurs d'eau. Ce procédé n'est utilisé que pour les drogues peu fragiles : racines, écorces, graines.

6 – 1.2.3. Autres procédés :

D'autres techniques peuvent être mises en œuvre : L'emploi de la chaleur sèche pendant quelques minutes est la plus intéressante.

Les différents procédés énumérés doivent être adaptés à la nature de l'organe (feuille, racine, etc...) et dépendent de la fragilité des principes actifs. Il n'y a pas de procédés universels.

6 – 2. Stockage

Un échantillon de plante médicinale mal conservé ou trop ancien perd une grande partie de sa valeur thérapeutique ; il est donc important de renouveler assez souvent les drogues végétales, particulièrement celles à principes volatils (drogues à huiles essentielles).

Une bonne conservation dépend de conditions de stockage et des matériaux employés. En effet, elle nécessite certaines précautions car il faut limiter l'action de certains facteurs :

- *Air, favorable aux réactions d'oxydation.*
- *Humidité, pouvant faciliter le développement de moisissures sur la drogue et la détérioration des principes.*
- *Lumière, à l'origine des phénomènes de lumi-altération. Il faut aussi protéger les drogues de l'attaque des animaux : rongeurs, insectes et autres parasites (Paris et Hurabielle, 1981).*

7 – Principes actifs des plantes médicinales

Selon Volak et Stodola (1983), après la série des transformations technologiques qui fait de la plante médicinale une drogue végétale, celle-ci contient un certain nombre de substances dont la plupart agissent sur l'organisme humain. C'est la phytochimie (chimie des végétaux) qui se charge d'étudier ces substances actives, leur structure, leur distribution dans la plante, leurs modifications et les processus de transformation qui se produisent au cours de la vie de la plante, de la préparation du remède végétale, puis durant son stockage. La phytochimie est en liaison étroite avec la pharmacologie (étude des effets sur l'organisme humain des substances médicales, du mécanisme et de la vitesse de leur action, de leur absorption, de leur élimination, enfin des indications de telle ou telle substance médicale, c'est-à-dire de leur emploi contre telle ou telle maladie) la pharmacologie à son tour, est en collaboration étroite avec la médecine clinique.

Les substances ou principes actifs de des plantes médicinales sont de deux types : les produits du métabolisme primaire, substances indispensables à la vie de la plante, qui se forment dans toutes les plantes vertes grâce à la photosynthèse ; le second type de substance se compose des produits du métabolisme secondaire, c'est-à-dire des processus résultant essentiellement de l'assimilation de l'azote. Ces produits apparaissent souvent comme inutiles à la plante, mais leurs effets thérapeutiques sont par contre remarquables. Il s'agit notamment des huiles essentielles, des résines, des alcaloïdes comme ceux de l'ergot ou de l'opium.

Généralement, ces principes ne se trouvent pas dans la plante à l'état pur, mais sous forme de complexe, dont les différentes composantes se complètent et se renforcent dans leur action sur l'organisme. Pourtant, même lorsque la plante médicinale ne contient qu'une seule substance active, celle-ci a sur l'organisme humain un effet plus bénéfique que celle obtenue par chimiosynthèse.

Cette propriété présente un grand intérêt pour la phytothérapie, les soins par les plantes ou par des substances d'origine végétale. Le principe actif n'est pas uniquement un composé chimique, mais il présente un équilibre physiologique, il est mieux assimilable par l'organisme et ne présente pas d'effets nocifs. C'est en cela que réside le grand avantage de médecine naturelle.

Les techniques particulières de la chimie qualitative et quantitative permettent enfin de dépister la présence de telle ou telle substance ; c'est ainsi que la nature de la drogue est déterminée par sa teneur en substances des groupes principaux.

7 – 1. Huiles essentielles

En effet, la notion d'huile essentielle peut varier avec le point de vue auquel se placent des personnes de formation professionnelle aussi dissemblable que des botanistes, des physicochimistes, des industriels, des parfumeurs ou des pharmacologues.

Sous le nom d'essences ou d'huiles essentielles, on désigne les principes généralement odoriférants contenus dans les végétaux et susceptibles d'être obtenus par entraînement à la vapeur d'eau ou par expression, comme dans le cas des hespéridés (Citron, orange, etc.) (Belaïche, 1979).

7 – 2. Huiles grasses

Il s'agit d'huiles végétales liquides à température ambiante, le froid les trouble et les fait figer, elles sont insolubles à l'eau, mais bien solubles dans les solvants organiques (chloroforme, acétone, ...). Parmi les huiles non siccatives, on peut citer l'huile d'olive et l'huile d'amandes. En ce qui concerne les semi siccatives, on peut citer celle de l'arachide, de tournesol et de colza (Volak et Stodola, 1983).

7 – 3. Flavonoides

Ces substances de structures $C_6-C_3-C_6$ sont biosynthétisées à partir du phloroglucinol et d'un acide phénylpropanoïque, ce qui conforte la présence de deux groupes hydroxyles en 5 et en 7 (Wichl et Anton, 2003).

Les flavonoides présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Ce sont de bon antioxydant, luttent contre les cancers en éliminant les radicaux libres et ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoides ont aussi des propriétés anti-inflammatoires antivirales, et des effets protecteurs sur le foie. Des flavonoides comme l'hespéridine et la rutine, présentes dans plusieurs plantes, dont le sarrasin (Fagopyrum esculentum) et le citronnier (Citrus limon), renforcent des parois des capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins. Les isoflavones, que l'on trouve par exemple dans le trèfle rouge (Trifolium pratense) à effets ostrogéniques, sont efficaces dans le traitement des troubles liés à la ménopause (Iserin, 1997).

7 – 4. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances alcalines. Elles sont constituées de noyaux hétérocycliques le plus souvent azotés. Ces substances sont toxiques, parfois même à faible dose, mais à effet thérapeutique connu.

7 – 5. Tanins

Les plantes peuvent contenir des tanins purs, dont la substance active est un associé à un sucre qui se transforme en acides galliques et ellagiques. Les plantes peuvent contenir plus souvent des tanins composés.

La plupart des tanins végétaux ont la propriété d'être des astringents faibles présentant, ainsi une utilisation intéressante vis-à-vis des affections coliques, pour le nettoyage de la peau, des brûlures, des escarres...

Le tanin est un mélange d'esters glycosidiques, d'acide gallique et il est extrait de la noix de galle. On l'utilise comme médicament, en poudre blanchâtre, en gargarisme, en lavement à 2 %, en glycérolé à 20% pour tonifier les pieds sensibles, en solution à 5 % dans le traitement de l'ulcère de décubitus, comme antiseptique à 10 % (Hullard, 1988).

7 – 6. Phénols

Les phénols sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être également estérifiées, étherifiées, et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ayant tendance à s'isomériser et à se polymériser, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires. Ce sont surtout des antiseptiques (arbutoside de la busserole), des analgésiques (dérivés salicylés de la reine des prés et de saule), des anti-inflammatoires.... (Wichtl et Anton, 2003).

7 – 7. Saponines

Les saponines sont très communes dans les plantes médicinales. Du point de vue chimique, elles se caractérisent également par un radical glucidique (glucose, galactose) joint à un radical aglycone. Leur propriété physique principale est de réduire fortement la tension superficielle de l'eau. Toutes les saponines sont fortement moussantes et constituent d'excellents émulsifiants. Elles ont une autre propriété caractéristique : celle d'hémolyser les globules rouges (érythrocytes), c'est-à-dire de libérer leur hémoglobine, ce qui explique l'effet toxique de certaines d'entre elles, qui les rend inconsommables.

7 – 8. Glucosides

Les glucosides sont des produits de métabolisme secondaire des plantes. Ils se composent de deux parties. L'une contient un sucre, tel que le glucose, et il est le plus souvent inactive, tout en exerçant un effet favorable sur la solubilité du glucoside et son absorption, voire son transport vers tel et tel organe. L'effet thérapeutique est déterminé par la seconde partie, la plus active, nommée aglycone (Volak et Stodola, 1983).

7 – 9. Quinones

Ce sont des dicétones aromatiques provenant de l'oxydation de diphénols ; on a les naphthoquinones qui ont une activité antimicrobienne, fongicide et parfois vermifuge.

Les anthraquinones naturelles les plus utilisées sont pratiquement laxatifs et purgatifs (Paris et Moyses, 1976).

8 – Phytothérapie, homéopathie et aromathérapie

Pour le « grand public », ces trois disciplines sont souvent confondues, parce qu'elles font appel aux produits naturels qui en constituent la base. Dans ce cas, l'amalgame est de règle, avec toutes les conséquences négatives que cela peut entraîner.

- *La phytothérapie : La phytothérapie est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes. Ce n'est ni une thérapeutique « spéciale » ni une médecine « alternative », car elle fait partie intégrante de la thérapeutique.*

- *L'Homéopathie trouve son origine, le plus souvent, dans l'utilisation de plantes fraîches, qui servent à la préparation des teinture mère, par macération dans de l'alcool (le profil chimique n'est d'ailleurs pas forcément identique à celui d'une teinture officinale préparé en général à partir de drogues sèches). Ces teintures mères constituent ce que l'on appelle des souches homéopathiques.*

A partir de ces souches et selon diverses pratiques qu'ils ne convient pas de discuter ici, des dilutions successives conduisent peu à peu à la préparation du médicament homéopathique. La conséquence est qu'il s'agit de produits administrés à des doses infinitésimales selon le principe de la loi des similitudes (« traitement du semblable par le semblable »), ce qui n'a rien de commun avec l'allopathie, dans la phytothérapie fait partie intégrante.

- *L'Aromathérapie, de son côté, est une thérapeutique utilisant les huiles essentielles provenant de plantes dites « Aromatiques ». D'une façon générale, il s'agit de recueillir par entraînement par la vapeur d'eau les principes odorants et volatils des drogues. Pour les agrumes (Citrus sp. de la famille des rutacées), les essences sont obtenues exceptionnellement par expression du péricarpe frais de ces fruits. Ces huiles essentielles, souvent, dénommées « essence », sont localisées dans un appareil sécréteur particulier (cellules à essence, canaux sécréteurs, poches schizogènes ou schizolysigènes, poils sécréteurs...), présent aussi bien dans les fleurs, les feuilles, les fruits, les écorces, les graines et les racines. Cette appellation d'« huile » peut prêter à confusion, dans la mesure où ce ne sont en aucune façon des corps gras alimentaires. Quelquefois incolores, elles peuvent au contraire être vivement colorées (en rouge pour la cannelle, en bleu pour la camomille...)*

- La quantité obtenue varie selon la plante d'origine : de 30 gr pour la violette à 200gr pour le thym, et jusqu'à 3 Kg pour le Cyprès, et ce à partir de 100 Kg de plante. Ce faible rendement de production explique le prix élevé de certaines huiles essentielles et la tentation évidente de les falsifier.

En conclusion, l'aromathérapie n'utilise en fait pas de produits banals. Les huiles essentielles sont très efficaces et utiles si elles sont utilisées dans des limites strictes, mais leur dispensation doit être contrôlée sévèrement, car trop d'accidents sont apparus lors d'utilisations inconsidérées. Enfin, rappelons qu'une huile essentielle n'est qu'une partie du végétal, et que, par conséquent, il est erroné de vouloir lui attribuer l'ensemble des propriétés thérapeutiques dévolues à la plante entière dont elle est issue (Wichtl et Anton, 2003).

9 – Normalisation et diagnose des drogues végétales

D'après Paris et Hurabielle (1981), de nombreux facteurs influencent la qualité d'une drogue végétale : origine, conditions de culture, époque de récolte, mode de dessiccation... Or, si l'on veut conserver aux plantes leur place en thérapeutique, il faut ne produire et ne mettre sur le marché que des drogues de qualité et d'activité sensiblement constantes. Ces drogues doivent donc répondre à des normes, et par conséquent faire l'objet de contrôle ou essai avant leur emploi pour la préparation des médicaments.

9 – 1. Normalisation et pharmacopées

La normalisation des plantes médicinales consiste d'abord à choisir l'espèce végétale à normaliser, compte tenu de son intérêt commercial et surtout thérapeutique ; elle se propose ensuite de définir la nature de la drogue et ses qualités par un ensemble de caractères morphologiques et anatomiques, de propriétés physico-chimiques et pharmacologique.

Pour les plantes les plus importantes, les normes et les essais sont inscrits dans des recueils appelés pharmacopées (plantes officinales) : ex : La pharmacopée française IV^e Edition, la pharmacopée européenne, les pharmacopées nationales. Pour les autres, ils sont établis par divers organismes de standardisation comme l'A.F.N.O.R en France (Association Française de Normalisation) ou l'I.S.O sur le plan international (International Standardization Organization). (Paris et Hurabielle, 1981).

9 – 2. Diagnose

Selon Paris et Hurabielle (1981), le pharmacien doit contrôler les matières premières végétales mises à sa disposition.

Le contrôle ou diagnose d'une drogue est particulièrement important. Il a pour but de vérifier son identité, de contrôler sa pureté, de s'assurer de sa qualité c'est-à-dire de son activité. Cette diagnose doit être effectuée sur un échantillon moyen, prélevé au hasard. Il comprend un contrôle botanique, un contrôle physico-chimique, et éventuellement un contrôle physiologique.

9 – 2.1. Méthodes d'identification botanique :

La diagnose botanique fait appel à trois types d'examen :

1/ L'examen organoleptique

Ce premier contact avec la drogue permet de repérer des éléments d'identification immédiats comme sa morphologie, sa couleur, sa saveur, mais aussi certains éléments comme :

- Le degré de pureté : présence ou absence de taches de moisissures, de matières étrangère.
- Les altérations éventuelles : Taux d'humidité, couleur indiquant si la drogue a été préalablement épuisée par un solvant.
- Les falsifications par des éléments étrangers ou les éventuelles erreurs grossières.

■ Racines, rhizomes, écorces de bois ou de tige : l'examen portera plus particulièrement sur :

- L'aspect général : raclage éventuel du suber (cannelle de Ceylan)
- L'aspect de la tranche lorsqu'il s'agit de racines épaisse (Quassia)
- La nature plus ou moins fibreuse de la cassure (Réglisse)
- L'aspect extérieur de l'écorce (lenticelles de la bourdaine).

■ Tiges : l'examen permet d'apprécier :

- Sa forme : cannelée (Apiacées) ou carrée (Lamiacées).

- Sa couleur : la menthe poivrée a une tige rouge.
- La présence ou l'absence de poils formant un duvet.
- L'implantation des feuilles de types opposé ou alterne.
- La présence ou l'absence de moelle (Poacées) ou de nœuds (Caryophyllacées).

■ Feuilles : Il s'agit d'examiner :

- Leur couleur : brune, voire noire, en cas de mauvais séchage, la différence de teinte entre la face supérieure et inférieure.
- Leur forme générale : elliptique, cordée, dentée, allongée, large, ronde, simple, composée.
- Leur nervures plus ou moins apparentées.
- La nature de leur bord : découpé, crénelé...
- La présence des pétioles.

■ Inflorescences et fleurs : Le contrôle organoleptique se limite à l'examen des bractées, des sépales et des pétales.

■ Fruits et graines : la forme, la couleur et la taille sont importantes.

Enfin, une diagnose fondée sur l'examen des fragments de drogue est beaucoup plus délicate que celle effectuée sur la drogue entière.

2/ Etude macroscopique

L'examen se fait à l'œil nu, plus généralement à l'aide d'une loupe, de préférence sur des drogues entières, mais, en réalité, le plus souvent sur les drogues incisées.

Schématiquement, les éléments suivants seront appréciés, selon le cas :

■ Racines :

- Aspect des grains de la loupe.
- Dessin des rayons médullaires.
- Présence de vaisseaux de bois ou de sclérites.

■ Tiges :

- Implantation des feuilles.
- Détails particuliers : lenticelles, taille des poils...

■ feuilles :

- Aspect du bord du limbe : présence de poils ou de crochets.
- Détail des nervures.
- Eléments sécréteurs ou présence de poils tecteurs.

■ Fleurs :

- Forme du calice : présence de dents ou de lobes plus ou moins profondément échancrés, présence ou absence d'étamines ou d'anthères.
- Caractéristiques du pistil.

3/ Etude microscopique

Cet examen (coupes d'organes) qui demande une certaine dextérité, n'est réservée qu'en cas de besoins pour lever un doute ou confirmer une diagnose. Chaque plante possède en effet une « carte d'identité » microscopique qui lui est propre.

Les coupes se font sur des organes conservées dans l'alcool ou sur des organes secs préalablement réhydratés, par un simple contact à l'eau (fleurs), au moyen d'une infusion (feuille), d'une décoction (racine, écorce).

Ces coupes sont réalisées à l'aide d'une lame de rasoir ou d'un microtome, le plus souvent transversalement, mais également longitudinalement dans certains cas (observation des fibres sclérifiées, détail des vaisseaux de bois...).

Le réactif de Carmino-vert (vert d'iode puis carmin) donne d'excellents résultats et permet de différencier :

- ♦ Les membranes celluloseuses en rose, caractéristiques du parenchyme cellulosique, du liber et du collenchyme.

- ♦ Les membranes lignifiées ou sclérifiées en vert, comme celles du bois, du sclérenchymes...

9 – 2.2. Méthodes d'identification chimique :

Trop nombreux, tous les constituants de la plante ne peuvent évidemment être mis en évidence. Ceux provenant du métabolisme primaire sont généralement dénués d'intérêt pour une diagnose précise, ceux issus du métabolisme secondaire, beaucoup plus spécifique, permettent une excellente identification de la drogue.

9 – 2.2.1. Réactions d'identité :

Ces réactions mettent en évidence certaines classes de substances chimiques originales : alcaloïdes, flavonoïdes, coumarines, saponosides...

Généralement simples, rapides à mettre en œuvre, réalisées le plus souvent en tube à essai, elles font apparaître, soit une coloration, soit une précipitation, pouvant donner une idée, suivant l'intensité du résultat obtenu, de la concentration en certains constituants. Elles concernent le plus souvent un composant présent en qualité importante, servant de marqueur ou de traceur. (Tableau 01).

Cependant, des réactions faussement positives ou des interférences avec d'autres substances chimiquement proches peuvent être observées, impliquant une interprétation prudente des résultats.

Tableau 01: Principales réactions générales de coloration et de précipitation (Paris et Hurabielle, 1981).

Réactifs	Coloration ou précipitation	Substance caractérisée
Anhydride acétique + acide sulfurique (réaction de Liebermann)	Bleu puis violet puis vert	Stéroïdes
Trichlorure d'antimoine (réaction de Carr et Price)	Violet	Sapogénines
Potasse ou soude (réaction de Borntraeger)	Rouge	Anthraquinones
Chlorure ferrique	Bleu - noir Brun - vert	Tanins galliques Tanins catéchiques
Magnésium + acide chlorhydrique (réaction dite de la cyanidine)	Rose, orangé ou rouge	Flavonoïdes
Dérivés nitrés en milieu alcalin : - acide picrique (réactif de Baljet) - acide dinitro- 3.5 benzoïque (réactif de Kedde) - m- dinitrobenzène (réactif de Raymond - Marthoud)	Orangé Rouge violacé Violet fugace	Cardénolides Cardénolides Cardénolides
Papier picrosodé	Rouge	Hétérosides cyanogénétiques
Solution neutre de mercuriodure de potassium (réactif de Mayer)	Précipité blanc	Alcaloïdes
Solution acide d'iodobismuthite de potassium (réactif de Dragendorff).	Précipité rouge orangé	Alcaloïdes
Solution d'iodure de potassium iodé (réactif de Bouchardat)	Précipité brun	Alcaloïdes

9 – 2.2.2. Analyses chromatographiques :

Des techniques chromatographiques très variées, destinées à confirmer l'identité d'une drogue et à garantir sa qualité pharmaceutique, sont exigées dans les monographies des pharmacopées. Ces méthodes sont toutes fondées sur le même principe : séparation de substances présentes en mélange à l'aide d'un support solide (plaque, colonne) et d'un éluant (solvants organiques, gaz). La nature du support, de l'éluant et des conditions opératoires (température, débit, gradient...) sera choisie pour permettre une séparation optimale des différents constituants. D'excellents ouvrages analytiques sont disponibles.

1/ La Chromatographie sur couche mince (CCM)

Selon la pharmacopée européenne : La chromatographie sur couche mince est une technique de séparation, dans laquelle une phase stationnaire constituée d'un matériaux approprié est répandue en une couche mince et uniforme sur un support (plaque de verre, de métal ou de plastique). Les solutions à analyser sont appliquées sur la plaque avant le développement.

La séparation repose sur les mécanismes d'adsorption, de partage ou d'échange d'ions ou sur une combinaison de ces mécanismes, et elle s'effectue par migration de solutés à travers la couche mince (phase stationnaire), dans un solvant ou un mélange de solvants approprié (phase mobile). (Tableau 02) :

Tableau 02: Quelques exemples de séparation et d'identification par chromatographie sur couche mince (Paris et Hurabielle, 1981).

Substances identifiées	Support	Solvant de migration	Révélation
Alcaloïdes	Gel de Silice	Acétone-eau-ammoniaque 90, 7, 3 v/v. Chloroforme – diéthylamine 9, 1 v/v.	Réactif de Dragendorf ou Réactif de l'iodo-platinate de potassium
Flavonoïdes	Gel de Silice Cellulose	Acétate d'éthyle – méthyléthylcétone – acide formique – eau : 50, 30, 10, 10 v/v. n – Butanol – acide acétique – eau (phase supérieure) : 4, 1, 5 v/v.	Trichlorure d'aluminium (UV)
Hétérosides anthracéniques	Gel de Silice	Acétate d'éthyle - méthanol - eau : 100, 17, 13 v/v.	Potasse alcoolique
Huiles essentielles	Gel de Silice	Benzène - acétate d'éthyle 96, 4 v/v. Benzène - éther isopropylique : 80, 20 v/v.	Vanilline sulfurique ou anisaldéhyde sulfurique (étuve 100 - 105 °C pdt 10mn).

2/ La Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

D'après la Pharmacopée Européenne ; la chromatographie en phase gazeuse est une technique de séparation chromatographique reposant sur la distribution différentielle des espèces entre deux phases non miscibles, une phase stationnaire contenue dans une colonne et un gaz vecteur, comme phase mobile, qui traverse cette phase stationnaire. Elle est applicable aux substances, ou dérivés de substances, qui se volatilisent dans les conditions de température utilisées. La CPG est fondée sur les mécanismes d'adsorption, de distribution de masse, ou d'exclusion.

3/ La Chromatographie liquide (CL)

La chromatographie liquide (CL), d'après la pharmacopée européenne, est une technique de séparation chromatographique reposant sur la distribution différentielle des espèces entre deux phases non miscibles, une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase mobile qui traverse, par percolation, cette phase stationnaire. La CL est principalement fondée sur les mécanismes d'adsorption, de distribution de masse, d'échange d'ions, d'exclusion ou d'interaction stéréochimique (Wichtl et Anton, 2003).

9 – 2.3. Méthodes d'identification physiologique :

Selon Paris et Hurabielle (1981), la diagnose chimique ne reflète pas toujours l'activité réelle de la drogue (dosage des principes actifs totaux, chacun d'activité physiologique très inégale ; Synergie de substances de constitution différente...).

La diagnose ou l'essai physiologique est pratiquée quand l'essai chimique est donc jugé insuffisant.

Généralement, il comporte un essai de toxicité et un contrôle d'activité.

9 – 2.3.1. Essai de toxicité :

- Toxicité aigue (détermination de la dose minimale mortelle ; de la dose létale 50) ; cet essai de toxicité aigue est effectuée notamment pour les drogue à hétérosides cardiotoniques et l'Aconit.

- Toxicité chronique à moyen et à long terme.

9 – 2.3.2. Contrôle d'activité :

Selon les propriétés physiologiques du ou des principes actifs, il peut consister en :

- Une vérification chez l'animal de l'action spécifique de la drogue sur différentes fonctions ou organes.

- Essai, *in vitro* et *in vivo*, sur cellules animales et végétales (plantes antitumorales).

- Une recherche de l'activité antimicrobienne par inhibition de croissance de certains germes (végétaux producteurs d'antibiotiques)...

Cependant, malgré les progrès des méthodes d'analyses, l'interprétation des résultats est parfois délicate et l'extrapolation à l'homme toujours difficile.

10 – Classification des plantes médicinales selon leurs effets thérapeutiques

La nature chimique des substances actives des végétaux détermine leur effet thérapeutique sur l'organisme humain. On les répartit donc en groupes, tout comme les autres remèdes de notre pharmacopée, en tenant compte de leur champ d'action. Une plante médicinale n'a pas toujours une action unique : son spectre est parfois plus ou moins large, c'est-à-dire que la même plante permet de traiter plusieurs affections. Inversement, on fait souvent appel à des mélanges pour renforcer l'effet thérapeutique, l'association de plusieurs plantes ayant pour résultat de démultiplier leur action.

1/ Amara (les plantes amères)

Ce sont des drogues végétales influant sur la fonction gastrique, notamment en cas d'inappétence. Il en existe différentes sortes, à prendre avant les repas : les amers purs (petite centaurée, gentiane, trèfle d'eau), les amères contenant des substances aromatiques (armoise, acore et angélique officinale), plantes amères et mucilagineuses (tussilage, chanvre), et d'autres plantes qui ont en même temps un léger effet astringent, utile contre les catarrhes et les gastrites légères (écorce de condurango).

2/ Adstringentia (les drogues astringentes)

Ce sont des substances agissant sur l'épiderme ou sur les muqueuses, formant un précipité solide avec le tissu protéique. Elles ont également pour effet de déshydrater le tissu, ou tout au moins de le drainer, d'avoir une action anti-inflammatoire. Elles sont souvent composées essentiellement de tanins. Ce groupe comprend : la busserole, la myrtille, l'aigremoine, le millepertuis, la sauge, la tormentille, la consoude, la pâquerette (dermatoses et eczémas enflammés et suppurants), véronique, pulmonaire, écorce de chêne et de saule, bardane, hépatique, potentille ansérine, alchémille, noyer, sanguisorbe, renouée des oiseaux, origan, agripaume et hysope.

3/ Antiphlogistica

Ce sont des drogues aux effets vulnéraires. Elles réduisent les inflammations et accélèrent le renouvellement des tissus lésés ainsi que la cicatrisation des plaies (la camomille, la bruyère, le souci, le romarin et le fraisier).

4/ Carminativa

Il s'agit de produits ayant une influence bénéfique sur l'évacuation des gaz intestinaux et les contractions douloureuses, voire les crampes, de la musculature intestinale. Elles réduisent la sensation de tension douloureuse et freinent le développement des bactéries responsables des fermentations. Ce groupe comprend les drogues contenant des substances spasmolytiques (qui relâchent les crampes : camomille, anis, fenouil, genévrier, menthe poivrée, sauge, mélilot, cumin et hysope).

5/ Diaphoretica (sudorifiques)

Ce sont des plantes facilitant la transpiration : molène, sureau noir, camomille, tilleul, fumeterre, pétasite, feuilles de cassissier, ulmaire, véronique, bardane, chiendent et la pensée sauvage.

6/ Antidiaphoretica

Ce sont les plantes qui s'opposent à une transpiration excessive : sauge, valériane, belladone ; en usage externe : noyer, écorce de chêne.

7/ Diuretica

Plantes favorisant la sécrétion d'urine. Utiles dans les affections des voies urinaires. Elles sont diurétiques et légèrement désinfectantes. Elles sont à prendre en cas d'affections rénales légères, de petits calculs ou de sable urinaire. En cas d'une affection rénale plus sérieuse, de problème cardiaque, d'enflures d'origine cardiaque, de cirrhose, ces drogues exercent une action défavorable : consulter un médecin ! On emploie ici le plus souvent des mélanges pour infusions diurétiques ou urologiques.

Plantes officinales (fleur de sureau noir, busserole, genévrier, myrtille, herniaire, millepertuis, ononis épineux, racine de persil), plantes non officinales (chardon béni, haricot, capselle bourse à pasteur, feuilles de bouleau, ortie et aspérule odorante).

8/ Expectorantia mucillaginosa

Ce sont des plantes médicinales qui facilitent l'expectoration. Elles contiennent des substances végétales mucilagineuses, qui gonflent à l'humidité et qui humidifient, grâce à leurs propriétés hydrophiles, la région entourant l'entrée du larynx, en atténuent l'inflammation tout en réduisant le besoin de tousser. Certaines de ces plantes contiennent, en plus de leurs mucilages, des huiles essentielles et des saponines : mauve sauvage, fleur de molène, guimauve, plantain, mousse d'Islande (cétraire).

9/ Expectorantia emetica

Les plantes de ce groupe augmentent les sécrétions des glandes des bronches et des bronchioles. A forte dose, elles sont émétiques (entraînent des vomissements), à faible dose, elles ne sont que nauséuses ; ce qui est parfois souhaitable du point de vue médical. L'alcaloïde nommé émétine, les saponines, appartiennent à ce groupe. Ce sont : herniaire, ononis épineux, racine de primevère, réglisse et fleur de molène.

10/ Expectorantia stimulantia

Ce sont des plantes contenant des substances volatiles éliminées par l'appareil respiratoire dont elles excitent les muqueuses, facilitant la dissolution des mucosités et leur expectoration. Les mêmes substances relâchent les contractions des muscles lisses des bronchioles et sont légèrement désinfectantes. Ce groupe comprend des drogues contenant des huiles essentielles. Drogues officinales servant à la préparation des tisanes (pimprenelle, fenouil, feuilles de menthe poivrée, thym et serpolet), drogues non officinales (mauve, tussilage et la graine de lin).

11/ Antitussica (antitussifs, béchiques)

Ce sont des plantes expectorantes calmant les accès de toux. On les emploie le plus souvent en mélange (tisanes pectorales). On cite la guimauve, la mauve, le tussilage, le plantain, la mousse d'Islande, le pépin de coing et la réglisse.

12/ Cholagoga (Cholagogues)

Il s'agit de substances qui peuvent soit favoriser la production de bile dans les cellules hépatites, soit aider à son élimination des voies biliaires et de la vésicule. Dans les soins des inflammations de la vésicule et des voies biliaires, voire contre les petits calculs biliaires, on emploie à côté des remèdes aux effets puissants, également des drogues végétales contenant des substances favorisant la production biliaire et renferment des essences naturelles spasmolytiques des voies biliaires, légèrement désinfectantes et anti-inflammatoires. Ce sont la feuille de boldo, l'aigremoine, le cardon, l'aunée, la liniaire, le marrube blanc et la rhubarbe (drogues officinales) ; la chélidoine, le pissenlit, l'écorce de berbérís, la menthe crépue, l'origan et l'achillée (drogues non officinales).

13/ Laxantia (laxatifs)

Ce sont les drogues qui accélèrent l'évacuation intestinale : drogues officinales (écorce de nerprun, gousses et feuilles de séné, racine de réglisse, racine du rhubarbe), drogues non officinales (fruits et tiges feuillées de hièble, pensée sauvage, achillée, bétoine, bryone, liseron des haies et lin).

14/ Cardiotonica

Ce groupe comporte des glucosides végétaux à action cardiotonique : ils accélèrent donc le rythme cardiaque et ils ont également des effets secondaires sur l'élimination de l'eau : digitale pourpre et laineuse, adonis, muguet, aubépine, gratiole, hellébore.

15/ Antiasthmatica (antiasthmiques)

Plantes contenant des substances s'opposant aux spasmes bronchiques accompagnant l'asthme : belladone, jusquiame et datura.

16/ Nervina et sedativa

Substances calmantes, employées en cas de névroses et de neurasthéniques, modifications de comportement du système nerveux central. La valériane, passiflore, houblon et la bruyère ; sont des drogues qui exercent une action beaucoup plus douce en comparaison avec les remèdes chimiques.

17/ Antisclerotica

Les plantes de ce groupe exercent une action sur l'ensemble des altérations génératives du système circulatoire. Les scléroses sont défavorablement influencées par l'action du cholestérol qui se dépose sur les parois veineuses en favorisant leur calcification : une autre complication est causée par la thrombose et l'hypertension. Dans ce cas, les drogues riches en rutine et en vitamine C peuvent avoir des effets bénéfiques : ail, aubépine, rossolis, sophora et gui.

18/ Hypotensiva

Les drogues agissant sur l'hypertension sanguine sont très nombreuses. Au stade d'hypertension commençante, on peut faire appel à des sédatifs et hypertenseurs végétaux tels que la valériane, l'ergot de seigle, l'avoine, l'ail, le mélilot, l'aubépine et l'houblon.

19/ Aromatica

Ce sont des plantes servant à corriger le goût ou l'odeur des remèdes, avec des effets partiellement antiseptiques : sauge, camomille romaine, lavande et romarin.

20/ Anthelminthica (vermifuges)

Les plantes de ce groupe sont très efficaces contre les vers intestinaux. Ce groupe comporte : fougère male, chénopode, carotte, oignon, fumeterre, grenade, dauphinelle et courge.

21/ Antidiabetica (antidiabétiques)

Ce sont des plantes adjuvantes dans les soins du diabète : production insuffisante d'insuline au niveau du pancréas. Ces insulines végétales (glucoquinines) sont le plus efficaces en extraits acides : épervière, haricot, airelle, myrtille, bardane ; les plantes amères sont également bénéfiques : trèfle d'eau, chardon béni, petite centaurée, gentiane et armoise.

22/ Gynecologica

Ce sont des plantes qui atténuent les crampes de la musculature lisse du petit bassin (utérus, voies urinaires) et réduisent les douleurs de la menstruation. Certaines de ces substances agissent sur l'utérus, surtout au moment de la grossesse, comme thérapeutique non spécifique stimulante, toujours sous surveillance stricte d'un médecin : alcaloïdes de l'ergot, alchémille, capselle, nigelle, poivre d'eau potentille, rue et millepertuis. Les lactagogues tels que l'épervière, fenouil, anis et fenugrec stimulent la sécrétion lactée.

23/ Obstipantia

Plantes servant à ralentir le péristaltisme excessif. Le remède souverain demeure l'opium, mais citons aussi les plantes riches en tanins, le charbon végétal, l'écorce de chêne ainsi que des préparations mucilagineuses telles que les flocons d'avoine, la décoction d'orge l'eau de riz, le thé de chine. Pour les enfants, la carotte, la pomme râpée (pectine) après brunissement de la pulpe, la tormentille, le chêne, la rose, la ronce, la sauge, la pimprenelle, l'airelle, la myrtille et le fraisier.

24/ Cytostatica

Les drogues de ce groupe renferment des substances à action antitumorale, parmi lesquelles on cite les nymphéacées (nymphéa, nénuphar, surtout le nymphéa tropical), le gui ainsi que les alcaloïdes de la pervenche.

25/ Venena (poisons végétaux)

Une grande partie de substances actives de certaines plantes médicinales telles que les alcaloïdes et les glucosides sont considérés comme des poisons violents pour l'organisme humain. Cependant prises à doses médicinales, il s'agit de remèdes très bénéfiques pour l'homme. Même la collecte et le traitement de telles drogues doivent être effectuée par un spécialiste, sans parler de la thérapeutique qui ne relève évidemment que du médecin (Volak et Stodola, 1983).

CHAPITRE II : ETUDE DE L'ESPECE VEGETALE Salvia officinalis L.

L'étude de l'espèce végétale Salvia officinalis L. nécessite en premier lieu la détermination de son emplacement dans les diverses catégories de la classification systématique botanique. D'ailleurs, elle fait partie de l'embranchement des spermatophytes, sous embranchement des angiospermes et la classe des dicotylédones.

Cette classe taxonomique constitue une importante partie dans la totalité des espèces végétales répandues dans le monde entier. Cela est confirmé par son énorme distribution et ses nombreux ordres. Parmi lesquels on cite l'ordre des Lamiales dont l'espèce à étudier fait partie.

1 – Ordre des Lamiales**1 – 1. Place dans la classification systématique botanique**

La place des Lamiales dans la classification systématique botanique APG II (Angiosperm Phylogeny Group) est la suivante :

- *Embranchement des Spermatophytes (Plantes à graines), encore appelés Phanérogames*
- *Sous-embranchement des Angiospermes (graines protégées) ou plantes à fleurs.*
- *Clade des Eudicotylédones (Eudicots) ou dicotylédones vraies : Plantes à grains de pollen tri-aperturés ou d'un type dérivé, toujours dicotylédonées, toujours sans cellule à essence dans les tissus parenchymateux.*
- *Clade des Eudicotylédones centrales (Core Eudicots) : Plantes ne combinant pas à la fois la production d'alcaloïdes et une placentation marginale (contrairement aux Eudicotylédones basales), à fleurs ayant des caractères apomorphiques (évolués) : périanthe souvent hétérochlamydé (c'est-à-dire composé d'une corolle et d'un calice différenciés), soudure des pièces, disposition verticillé, pentamérie, parfois apétalie. Les étamines ne sont jamais laminées, le filet des anthères est généralement bien différencié. La placentation est rarement marginale, souvent axile ou pariétale, moins souvent basale ou apicale. Elles sont très souvent productrices de tanins, de bétalaines, d'huiles sinapiques ou de composés iridoïdiques.*
- *Classe des Asteropsida ou grade des Asteridae : plantes à ovules ordinairement tenuinucellés et à fleurs gamopétales, moins fréquemment dialypétales ; étamines généralement isomères des lobes de la corolle ou moins nombreuses, verticille d'étamines le plus externe toujours alterne des pétales ; ovaire supère ou infère, ovules fréquemment unitéguminés, parfois bitéguminés, ovules crassinucellés et bitéguminés extrêmement rares, placentation axile ou pariétale ; semences albuminées ou fréquemment exalbuminées ; composés iridoïdiques ou d'autres sortes de répulsifs fréquents, tanins rares, bétalaines et huiles sinapiques absentes.*
- *Groupe des Euastéridées I, caractérisé par une sympétalie tardive et des fleurs assez régulières à préfloraison tordue ou valvaire éventuellement tétracycliques.*
- *Super-ordre des Lamianeae, qui regroupe Gentianales, Lamiales, Solanales et des familles telles que les Borraginacées. (Sauquet et al 2003, Guignard 2001, Bray 2005).*

L'ordre des Lamiales est homogène, nettement monophylétique. Au niveau chimique, il est caractérisé par la présence d'oligosaccharides, tel que le plantéose, qui constituent les réserves de la plante à la place de l'amidon, ainsi que de flavones oxygénés en 6. L'ovaire supère contient une forte proportion d'arabinose dans sa paroi. D'un point de vue morphologique, on note la présence fréquente de stomates diacytiques (entourés d'une ou de plusieurs paires de cellules subsidiaires dont les parois communes forment un angle droit avec les cellules de garde), des embryon de type « onagre » (variante Veronica), un albumen muni de suçoirs

apparents à chaque extrémité. La fleur peut être actinomorphe (Oléacée, Tétrachondracées, probablement à la base de l'ordre ; Buddlejacées secondairement actinomorphes) ou le plus souvent zygomorphe. Dans ce dernier cas, elle est généralement de type 2/3 (deux lobes supérieurs, trois lobes inférieurs).

L'ordre comprend environ 17800 espèces, regroupées en vingt familles. Alors c'est un très vaste ordre (Judd et al 2002, Guignard 2001).

Le genre *Salvia* (*Sauge*) par exemple appartient à cet ordre, qui comprend près de 900 espèces majoritairement riche en diterpénoides. (Nègre, 1962). L'une des vingt familles de cet ordre nommée les Labiées ou récemment la famille des Lamiacées.

1 – 2. La famille des Lamiacées (Les labiées)

1 – 2.1. Distribution et principales caractéristiques :

Les Lamiacées sont rencontrées sous tous les climats, à toutes les latitudes. Certains des genres que compte la famille sont quasiment cosmopolites (*Salvia*, *Stachys*), d'autres ont une distribution plus restreinte. Rares dans le milieu forestier tropical, les Lamiacées se concentrent dans la région méditerranéenne. Herbes et sous arbrisseaux, elles y peuplent maquis et garrigues : *Thym* (*Thymus* spp.), *Romarin* (*Rosmarinus*), *Lavandes* (*Lavandula* spp.), etc. Une tige carrée, des feuilles opposées décussées, des fleurs généralement bilabiées, un style gynobasique et la présence très fréquente de poils sécréteurs émettant une forte odeur aromatique rendent leur identification aisée (Bruneton, 2000).

Ce sont généralement des herbes à tige quadrangulaire, se multipliant souvent en une même saison à l'aide de rejets qui, produits à la base de la tige, sont tantôt aériens, feuillés et rampants sur le sol (stolons), tantôt souterrains et portant des écailles (tiges rhizomateuses). Mais de véritables rhizomes, assurant la survie de l'espèce d'une année à l'autre, sont rares. Au lieu d'être des herbes, les Labiées peuvent être également, mais plus rarement, des arbrisseaux de petite taille, comme le *Thym*, la *Lavande* ou le *Romarin*. Les tiges présentent alors, quand elles sont suffisamment âgées, une section arrondies en raison du fonctionnement d'une assise génératrice subérophellodermique qui élimine les parties externes de l'écorce.

- Les feuilles sont opposées et simples ; le limbe est habituellement penninerve et peut présenter des découpures plus ou moins profondes sur les bords.

- Les inflorescences sont situent à l'aisselle des feuilles supérieures. Ce sont des cymes bipares, dont les rameaux successifs se divisent de la même façon, tant que le manque de place ne les oblige pas à ne donner de rejets que d'un seul côté. Les inflorescences étant caractérisées par la production de rameaux habituellement très courts, on les désigne sous le nom de glomérules. Les glomérules, nés à l'aisselle de deux (2) feuilles opposées, se touchent par leurs bords et simulent, autour de la tige, des verticilles axillaires que l'on appelle souvent des verticillastres. Quand les glomérules sont éloignés les uns des autres sur la tige, les feuilles à l'aisselle desquelles ils naissent sont peu différentes de celles qui se développent sur les parties végétatives ; quand ils sont, au contraire, rapprochés les uns des autres au sommet de la tige, formant de faux épis ou simulent même des capitules, les feuilles se simplifient à leur niveau et prennent l'aspect de bractées.

- Les fleurs des Labiées sont zygomorphes et hermaphrodites. Leur calice est gamosépale en forme de tube, divisé au sommet en 5 dents ou lobes plus ou moins profonds (Crété, 1965).

Selon Guignard et Dupont (2004) :

- *La corolle est nettement bilabée : d'où la nom donné par les premiers botanistes : une lèvre est formée des deux pétales dorsaux. L'autre des trois pétales ventraux.*
- *L'androcée : à quatre étamines, est didyname. Ce sont les deux étamines latéro-ventrales qui sont généralement les plus grandes.*

L'androcée des Lamiacées est ainsi très comparable à celui des Scrofulariacées. De même que ces dernières avaient des genres primitifs à cinq étamines et des espèces surévoluées à deux étamines, on trouve chez quelques rares Lamiacées tropicales une cinquième étamine dorsale et quelques genres dont les Sauges, Romarins, n'ont plus que deux étamines.

- *Le gynécée, quant à lui, est très semblable à celui des Borriginacées : il comporte, disposés sur un disque nectarifère toujours présent, deux carpelles soudés, avec fausse cloison et styles gynobasiques (mais les stigmates sont séparés et les ovules sont disposés différemment). De même que chez les Borriginacées tout un groupe, primitif, avait encore le style terminal, on retrouve celui-ci chez quelques espèces de Lamiacées tropicales (chez la Bugle, sa position est intermédiaire, subterminale).*

- Le fruit ou tétrakène ; est également très voisin de celui des Borriginacées, mais ici les fruits sont lisses (ils étaient généralement épineux chez les Borriginacées) et ils restent longtemps au fond du calice desséché. L'aspect général est ainsi assez différent.

D'après Crété (1965), ce fruit est un tétrakène, qui se décompose en 4 nucules monospermes. Exceptionnellement, c'est une drupe qui se forme chez les Prasium et quelques genres voisins. Les graines, pratiquement exalbuminées, sont recouvertes d'un tégument très mince, mais sont efficacement protégées par le péricarpe fortement sclérifié qui les entoure.

1 – 2.2. Anatomie des Lamiacées :

Des amas de collenchyme sous épidermique se localisent aux angles des tiges herbacées. Le pachyte est discontinu. L'épiderme porte de nombreux poils tecteurs et sécréteurs. Les poils sécréteurs à essence peuvent avoir une tête unicellulaire et un pied pluricellulaire ou, plus souvent, une tête bicellulaire et un pied long ou court. Ils peuvent encore présenter des têtes quadrangulaires ou octocellulaires et un pied habituellement court. Quand les têtes sont pluricellulaires, tous les éléments demeurent juxtaposés sur un même plan horizontal, de façon à former un plateau. L'essence s'accumule à l'extérieur de la paroi cellulosique, sous la cuticule qui se soulève (Crété, 1965).

1 – 2.3. Variations et principales espèces :

Cette famille étant très homogène, les variantes sont peu nombreuses.

1/ Nous noterons d'abord des variations assez secondaires de la forme du calice et de la corolle.

- ✓ *Le calice, formant généralement un tube régulier, peut être bilabié (Sauge) ou présenter des dents supplémentaires (six à dix chez la ballote).*
- ✓ *La corolle, presque régulière chez les Menthes, peut voir la lèvre supérieure se réduire considérablement (Bugle, Germandrée...).*

2/ Plus intéressantes sont les particularités des étamines chez quelques espèces comme les Sauges, les Romarins.

Les Lamiacées sont, en effet, des plantes très entomophiles (les miels de lavande, de Romarin, sont réputés). Cette entomophilie se traduit dans certains cas, par des dispositifs remarquables.

Par exemple, chez les Sauges (où il n'y a que deux étamines fertiles), le connectif séparant les deux loges s'allonge en forme de balancier. Une des loges devient stérile, la tête de l'insecte butte sur cette dernière et rabat ainsi la loge fertile sur son dos.

De nombreuses Lamiacées seront rencontrées en herborisation, Lamier blanc, Lierre terrestre, Bugle, Ballote fétide, Origan, Sauge des Prés...

Enfin, plusieurs Lamiacées sont cultivées, comme les Sauges à fleurs rouges... Stachys tuberifera fournit les Crosnes du Japon, utilisés comme légume. (Guignard, 1998).

Tableau 03: Tableau récapitulatif des différentes caractéristiques des Lamiacées (Spichiger et al, 2002).

LAMIACEAE	
GENRES	260
ESPECES	6500-7000
DISTRIBUTION	Cosmopolite, mais concentration importante dans les régions méditerranéennes. Généralement plantes de milieux ouverts.
DISTRIBUTION DE LA FAMILLE	
Habitus :	Herbes ou arbustes. Plantes aromatiques, poilues, glanduleuses. Tige jeune quadrangulaire.
Feuilles :	Opposées – décussées, parfois verticillées, simple, parfois composées. Pas de stipules. Adaptation des feuilles aux climats secs caractérisée par un limbe coriacé, réduit et des poils sécréteurs.
Inflorescences :	Cymes terminales ou axillaires, condensées en verticille, parfois fleur solitaire.
Fleur :	5S / 5P / (2-) 4 St / 2C. Cyclique, hétérochlamyde, gamopétale, zygomorphe, méiostémone, hypogyne, bisexuée. Calice régulier, parfois bilabié, généralement persistant. Corolle tubuleuse, souvent bilabiée, la lèvre inférieure à trois lobes, la supérieure à deux lobes. Disque nectarifère à la base de l'ovaire. Etamines généralement didynames, parfois deux fertiles et deux staminodiales, insérées sur la corolle, anthère à déhiscence longitudinale ; connectif parfois élargi. Ovaire supère bicarpellé ; carpelle divisée par une fausse cloison, formant quatre loges uniovulés ; style gynobasique, parfois terminal ; deux stigmates ; placentation axile ; un ovule solitaire par loge, anatrophe, unitégumenté.
Fruit :	Tétrakène formé par quatre nucules, parfois drupe. Graine avec un embryon droit, peu ou pas d'albumen.

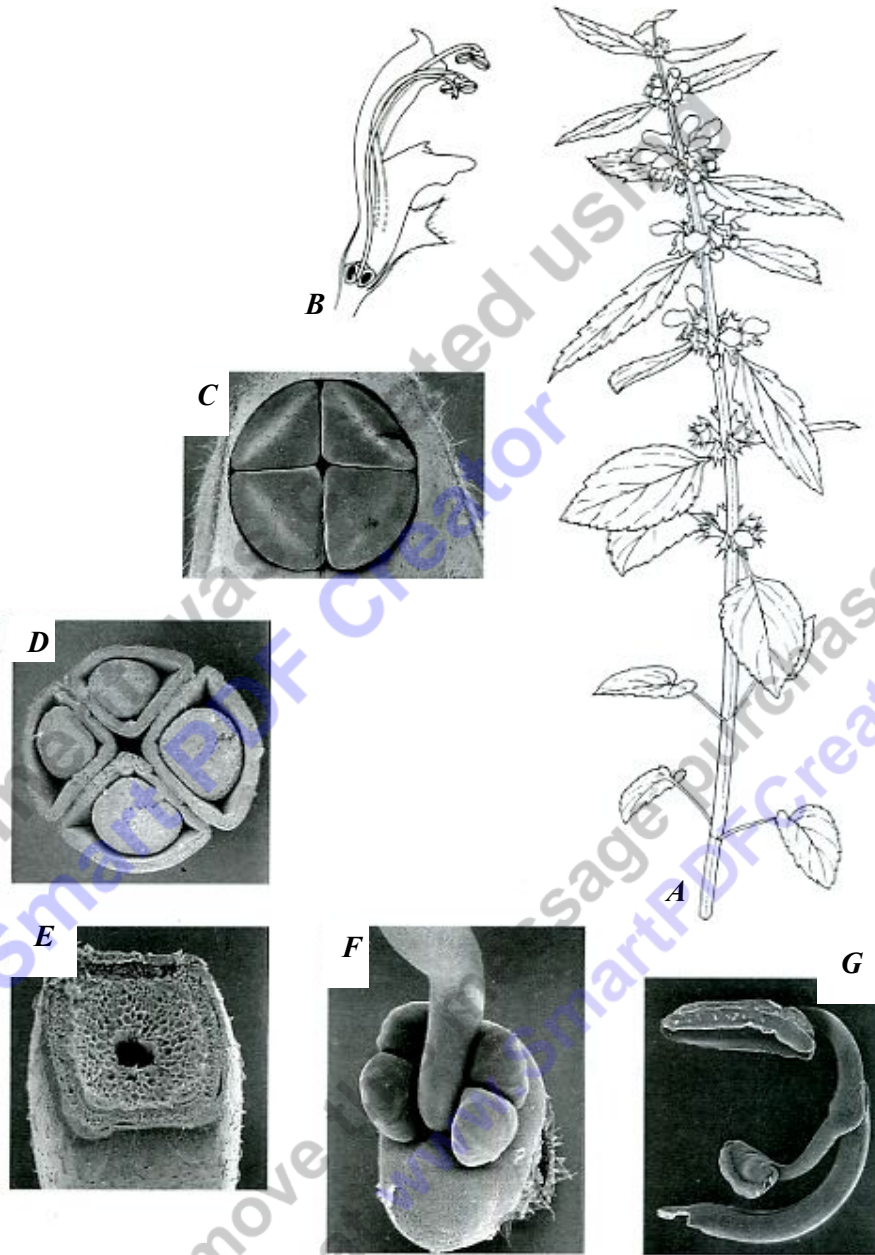


Figure 01: Principales structures caractéristiques des Lamiacées.

(A : Habitus, B : Fleur en coupe, C : Fruit [tétrakène] entouré par le calice, D : Tétrakène en coupe avec une graine par loge, E : Coupe transversale de la tige quadrangulaire – *Salvia pratensis*, F : Style gynobasique entre les quatre nucules – *Salvia officinalis*, G : Détail d'une étamine avec une anthère modifiée en balancier (Spichiger et al, 2000).

2 – Genre et principales espèces

2 – 1. Genre (Salvia)

Il y a à la fois des arbustes et des plantes herbacées. Calice bilabié, variable, à lèvre supérieure tridentée, l'inférieure bidentée. Corolle bilabiée. Etamines 2, à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales l'une portant une loge de l'anthere et l'autre, le plus court, une écaille ou bien terminé en pointe. (Quezel et Santa, 1963).

2 – 2. Principales espèces

2 – 2.1. *Salvia sclarea* L. : C'est une plante très magnifique, robuste, hauteur de 1 m, très velue, presque visqueuse et tous ses organes (y compris ses grandes feuilles entières, ridées et crénelées) possédant des poils glanduleux. Sa culture exige un important ensoleillement et des terrains calcaires. (Boullard, 2001).

2 – 2.2. *Salvia officinalis* L.: C'est un sous-arbrisseau, de quelques décimètres de hauteur, porte des feuilles simples, oblongues, rugueuses et presque laineuses à leur face inférieure, ses tiges de couleur gris-verdâtre, finement pubescentes et à section quadrangulaire. Un calice campanulé à dents longues de 5-8 mm. Généralement cultivée.

2 – 2.3. *Salvia triloba* L.: se caractérise par des tiges et face inférieure des feuilles blanches tomenteuses ainsi que par des feuilles présentant, en général, 2 lobules arrondis à la base du limbe. Un calice urcéolé – campanulé à dents longues au plus de 2 mm. Elle est cultivée et souvent spontanée.

2 – 2.4. *Salvia lavandulaefolia*: C'est une espèce rocailleuse avec des feuilles en général brusquement rétrécies en pétioles, des inflorescences généralement en épis simples, denses, à bractées florales ovales lancéolés longues de 4-6 mm et persistantes (Boullard 2001, Quezel et Santa 1963).

3 – Présentation de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L.

A l'époque du troc commercial avec les Chinois, Ces derniers n'hésitaient pas à échanger deux caisses de leur thé réputé contre une de Sauge, dont les noms populaires variaient alors de « Thé sacré » à « Thé de Provence » en passant par « Thé de France ». Car la Sauge, depuis l'Antiquité, n'a jamais failli à sa réputation d'herbe sacrée... Sacrée pour la santé, aussi bien pour la préserver que pour la retrouver. Rares sont ceux qui ne connaissent pas la Sauge car si elle pousse à l'état naturel dans les rocailles du Midi et de l'Europe méridionale, elle s'est acclimatée dans les jardins au nord de la Loire. Il suffit d'en planter un pied et de la laisser proliférer.

La Sauge officinale *Salvia officinalis* L. est une espèce très anciennement connue par ses innombrables vertus thérapeutiques et ses nombreux pouvoirs curatifs, cela grâce à sa richesse en plusieurs éléments actifs appartenant généralement à deux grandes familles de substances chimiques : celles des terpènes et des polyphénols.

Elle est actuellement cultivée, de 30 à 60 cm de hauteur, de tiges formant des rameaux quadrangulaires dressés et velus, aux feuilles ovales et allongées, gris verdâtre en raison d'une pubescence cotonneuse sur la face inférieure, ont une odeur aromatique caractéristique et de petites fleurs bleu-violettes qui s'épanouissent en juin ou juillet (figure 03); C'est d'ailleurs le

meilleur moment pour récolter les feuilles, mais comme elles restent vertes toute l'année, il faut se priver de les prélever en fonction des besoins (Lacoste 2006, Fleurentin 2008).

3 – 1. Classification systématique

La détermination de la position taxonomique de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L. dans la classification systématique botanique a été faite selon Quezel et Santa (1963). Elle est la suivante :

<i>Embranchement</i>	<i>Spermaphytes</i>
<i>Sous-embranchement</i>	<i>Angiospermes</i>
<i>Classe</i>	<i>Dicotylédones</i>
<i>Sous-classe</i>	<i>Gamopétales</i>
<i>Ordre</i>	<i>Lamiales</i>
<i>Famille</i>	<i>Lamiacées</i>
<i>Genre</i>	<i>Salvia</i>
<i>Espèce</i>	<i>officinalis</i>

3 – 2. Formule florale

La formule florale de cette espèce est : $(5S) + ((5P) + 4E) + (2C)$.

3 – 3. Diagramme floral

Le diagramme floral correspondant à la formule florale de cette espèce végétale est illustré dans la figure suivante :



Figure 02: Diagramme floral de la Sauge officinale *Salvia officinalis* L.



Figure 03: Présentation photographique des différentes parties aériennes de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L.

(A : Plante entière, B : Tige, C : Feuilles, D : Bourgeon, E : Fleur, F : Fruit)
 (alain.gilfort.free.fr/botaniko/fr/Salvia_officialis.html -).

3 – 4. Principales indications thérapeutiques

La Sauge officinale ou *Salvia officinalis* L. est un excellent tonique, elle est à la fois digestive, stimulante du foie et de l'estomac, réputé pour calmer les douleurs des rhumatisants, combattre la fatigue nerveuse, l'excès de transpiration, la dépression, les infections respiratoires et les irrégularités menstruelles... Bref, il est peu de domaines dans lesquels elle ne soit pas bénéfique et c'est sans doute pour cela qu'au fil des siècles, elle a toujours conservé la réputation justifiée de reine des plantes médicinales.

3 – 5. Peu de contre-indications

Les seules véritables contre-indications à l'emploi de la Sauge sont la grossesse et l'allaitement. Les avis sont également partagés en ce qui concerne les cancers féminins (utérus, sein) car la Sauge est très riche en phyto-œstrogènes, ce qui lui confère par ailleurs un grand intérêt en cas de règles douloureuses, irrégulières, de ménopause, et comme facteur de fertilité féminine.

3 – 6. Usage commun de la sauge

Pour bénéficier des nombreuses propriétés de la Sauge, le moyen le plus simple est de la préparer sous forme d'infusion avec les feuilles fraîches ou sèches : on met deux ou trois feuilles dans une tasse, on verse de l'eau bouillante puis on laisse infuser 5 minutes en couvrant avant de filtrer et de boire (2 à 3 tasses par jours) (Lacoste, 2006).

CHAPITRE III : HUILES ESSENTIELLES ET FLAVONOÏDES

LES HUILES ESSENTIELLES

1 – Définition

Au début de XVII^e siècles, Paracelse étudia l'extraction de l'âme des végétaux sous forme de quintessence à laquelle le nom d'esprit a été donné.

Puis, on lui attribua le nom d'«essence » et finalement « d'huile essentielle » (El Abed et Kambouche, 2003).

Sous le nom d'essence ou d'huiles essentielles, on désigne les principes généralement odoriférants contenus dans les végétaux et susceptibles d'être obtenus par entraînement à la vapeur d'eau ou par expression, comme dans le cas des hespéridés (citron, orange, etc.).

Dans un souci de normalisation, la dénomination « essence » a été abandonnée, seule subsiste celle d'« huiles essentielles ». Depuis 1972, la pharmacopée française l'utilise exclusivement elle aussi. (Belaïche, 1979).

Selon AFNOR NFT 75006 ce sont des produits obtenus à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir du péricarpe des citrus (Hernandez, 2005).

2 – Répartition, localisation et formation

Les huiles essentielles sont largement réparties dans le règne végétal ; certaines familles en sont particulièrement riches (conifères, rutacées, Myrtacées, ombellifères, labiées, composées) (Paris et Hurabielle, 1981).

Ces huiles essentielles sont élaborées au sein du cytoplasme de certaines cellules ; elles s'en séparent par synérèse, sous forme de petites gouttelettes qui confluent ensuite en plages plus ou moins étendues.

Les cellules sécrétrices peuvent se trouver dans tous les organes végétaux (organes végétatifs et organes reproducteurs). Il arrive que dans une même plante, plusieurs organes contiennent des éléments sécréteurs (Belaïche, 1979).

D'après Paris et Hurabielle (1981), La composition de ces essences peut alors varier d'un organe à l'autre (ex. huiles essentielles de fleurs, de feuille et de fruits de divers citrus).

3 – Teneur et fonction des huiles essentielles

La teneur d'une drogue en huile essentielle est généralement faible, de l'ordre de 1% à 1%. Il existe cependant quelques exceptions : ex. Badiane de Chine, où la teneur en essence est supérieure à 5% ; « clou de Girofle » qui renferment plus de 15% d'essence (Guignard, 2000).

Selon Belaïche (1979), la fonction des huiles essentielles dans les plantes est mal connue ; elle n'a pas pu être clairement démontrée. Généralement, on considère qu'il s'agit de produits de déchets du métabolisme.

Toutefois, certains auteurs pensent que la plante utilise son huile essentielle pour repousser les insectes, ou au contraire pour les attirer et favoriser la pollinisation. A titre d'exemples ; l'utilité des huiles essentielles pour les plantes désertiques, a été rattachée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes, exposées à des climats désertiques. Les vapeurs aromatiques ont pour propriété de saturer l'air autour de la plante, empêchant le jour la température de l'air de monter jusqu'à un degré insupportable pour la vie et la nuit de baisser de façon excessive. D'autres auteurs ont voulu voir, dans les huiles essentielles, une ressource énergétique, facilitant certaines réactions chimiques.

4 – Procédés d'extraction des huiles essentielles

Parmi les divers procédés d'extraction des huiles essentielles, deux seulement sont admis par la pharmacopée française (ainsi que par l'AFNOR et l'ISO) :

- L'entraînement à la vapeur d'eau.
- L'expression à froid du péricarpe frais de certains Citrus.

4 – 1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La plante ou partie de la plante souvent contusée et placée dans un alambic est traversée par un courant de vapeur d'eau ; les principes volatils ; peu solubles dans l'eau, sont entraînés et, après condensation, séparés du distillat par décantation. Celle-ci s'effectue dans un récipient spécial ou vase florentin (de type différent selon qu'il s'agit d'une essence plus légère ou plus lourde que l'eau).

Une variante de cette méthode appelée hydrodistillation consiste à placer la drogue directement dans l'eau portée ensuite à ébullition. Cette technique est réservée au dosage des huiles essentielles dans les drogues végétales

C'est la méthode retenue par la Pharmacopée Française, IV^e Edition.

4 – 2. Extraction par expression à froid

L'essence, altérable par entraînement à la vapeur d'eau, est ici extraite du péricarpe frais d'agrumes par différents modes d'expression : Dans l'industrie, on procède aujourd'hui par scarifications mécaniques et entraînement de l'huile essentielle par un courant d'eau. L'essence est séparée par décantation comme précédemment (Paris et Hurabielle, 1981).

4 – 3. Autres procédés d'extraction

4 – 3.1. Extraction par les solvants organiques :

On épuise les plantes par des solvants volatils, qui sont distillées ensuite (par exemple l'essence de jasmin). On obtient par ce procédé les « concrètes », habituellement de consistance solide et insoluble dans l'alcool (1 partie soluble pour 100 d'alcool à 95°). Ces « concrètes » par traitement, conduiront aux « absolues » (solubles dans l'alcool à froid).

4 – 3.2. Extraction par enfleurage :

Elle consiste à mettre en contact la fleur avec un corps gras qui se sature d'essence. Puis ce corps gras est épuisé par un solvant qui est évaporé sous vide. Cette méthode délicate et coûteuse est remplacée par l'extraction par les solvants.

Les différentes méthodes utilisées pour extraire les huiles essentielles des plantes, conduisent à des produits présentant des compositions différentes.

Les pharmacopée n'admettent comme procédés d'extraction que l'entraînement à la vapeur ou l'expression (Belaiche, 1979).

4 – 3.3. Extraction par incision :

C'est une opération très rarement utilisée. Elle est spécifique à l'écorce des arbres. Il suffit de fendre l'écorce pour en récolter le suc, exemple le caoutchouc de l'hévéa (El Abed et Kambouche, 2003).

5 – Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles diffèrent des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et leurs composition, du fait qu'elles se volatilisent à la chaleur et que leurs taches sur le papier sont passagères (Sallé, 1991). Autrefois, les essences étaient appréciées pour leurs propriétés organoleptiques (odeur, goût, couleur et aspect), vu l'usage qui en était fait comme matières aromatisantes et parfumantes.

Aujourd'hui, les propriétés physicochimiques (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, solubilité dans l'alcool, indice d'acide, d'ester...) sont exigées pour leurs évaluations commerciales (El Abed et Kambouche, 2003).

Les huiles essentielles sont des substances caractérisées par une forte odeur aromatique liée à leur volatilité et sont généralement incolores ou faiblement colorées (jaune pâle).

Cependant, on rencontre quelques unes d'entre elles qui sont colorées comme l'essence de cannelle, d'absinthe et de camomille qui sont généralement colorées en rouge, en vert et en bleu.

La plupart d'entre elles sont plus légères que l'eau. Il existe toutefois des huiles plus lourdes comme par exemple les essences de cannelle, girofle et de saffras.

Leur densité varie de 0.8 à 1.08, leur température d'ébullition de 160°C à 240°C (Bruneton 1997, Sallé 1991).

Elles ont des indices de réfraction élevés et elles sont le plus souvent optiquement actives car elles contiennent des molécules asymétriques.

Ces substances sont solubles dans les solvants organiques usuels et les huiles grasses. Elles sont liposolubles et très peu solubles dans l'eau à laquelle toutefois elles communiquent leur odeur. On parle alors d'eau aromatique (Bruneton, 1997).

Elles se caractérisent par des indices chimiques qui permettent d'évaluer approximativement la qualité de fonctions chimiques (acide, ester, alcool...) présente dans les composant de l'essence.

De plus, elles sont sensible à l'oxydation et ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux (El Abed et Kambouche, 2003).

6 – Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions très diverses représentant l'aboutissement de nombreuses biosynthèses qui ont pour localisation les cellules sécrétrices végétales (Garnero, 1991).

Le nombre des composants isolés au sein des huiles essentielles est d'environ un millier et il en reste encore beaucoup à découvrir.

Ces constituants sont surtout des carbures terpéniques et leurs dérivés d'oxydation, des dérivés aromatiques et des dérivés divers provenant de glucosides (Moutarde, Gaultherie, Ail) (Belaïche, 1979).

6 – 1. Carbures terpéniques

Les composés ou carbures terpéniques sont formés d'unités isopréniques (C_5H_8) (Paris et Hurabielle, 1981). L'ensemble des terpènes et des terpénoïdes peut être considéré comme étant des dérivés de l'isoprène.

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue :

Les terpènes proprement dits ou monoterpènes en C_{10} , les sesquiterpènes C_{15} , les diterpènes en C_{20} , les triterpènes C_{30} , les tétraterpènes C_{40} et les polyterpènes $C \sim 4000$. Les stéroïdes rentrent dans le groupe des triterpénoïdes et les caroténoïdes sont des tétraterpénoïdes.

Alors que les terpènes très condensés, en C_{30} et au delà, se rencontrent chez l'ensemble des végétaux, les terpènes « légers », mono- et sesquiterpènes caractérisent essentiellement les

plantes vasculaires. Ces derniers sont apparus plus tardivement au cours de l'évolution et paraissent être liés à l'acquisition d'appareils sécréteurs.

Après avoir vu les différents types de carbures terpéniques, nous étudierons les différents groupes des terpénoïdes en insistant sur les quatre plus importants : les mono- et sesquiterpènes, les diterpènes, les triterpènes et les tétraterpènes.

6 – 1.1. Monoterpènes et Sesquiterpènes :

Les mono- et sesquiterpènes sont, avec les phénylpropanoïdes, les composants principaux des essences. Ils peuvent être acycliques (ex. myrcène), monocycliques (limonène), bicycliques (pinène, camphène), tricycliques... (Guignard et al, 1985).

A côté des hydrocarbures, on rencontre des dérivés oxygénés divers : alcool, aldéhydes, époxy, cétones, acides. Dans une même plante, coexistent d'ailleurs plusieurs molécules de formules voisines ne différant que par leur degré d'hydrogénation ou d'hydroxylation (Guignard, 2000).

En général, on a un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Dans certaines huiles essentielles, les hydrocarbures prédominent ; dans d'autres, la majeure partie de l'essence est constituée de composés oxygénés (l'odeur et le goût des huiles essentielles sont principalement donnés par ces composés oxygénés). Parmi ces composés oxygénés, on peut noter la présence :

- ✓ D'alcool : ex. géraniol, linalol
- ✓ D'esters : ex. acétate de linalyle.
- ✓ D'aldéhydes : ex. citral, citronellal.
- ✓ De cétones : ex. menthone, camphre, thuyone.
- ✓ D'éthers-oxydes : ex. eucalyptol, ... (Paris et Hurabielle, 1981).

6 – 1.2. Les diterpènes :

Ce sont des dérivés de carbures en C₂₀, à point d'ébullition élevé. Ils se rencontrent surtout dans les résines.

6 – 1.3. Les triterpènes :

Les triterpènes se rencontrent à l'état libre (squalène, phytostérols, triterpènes pentacycliques) ou sous forme d'hétérosides (saponosides).

Le squalène provient de la dimérisation « tête à tête » du pyrophosphate de farnésyle sous l'influence d'une squalène-synthétase en présence de NADPH.

La cyclisation de l'époxy-squalène va orienter la synthèse soit vers les stérols végétaux ou phytostérols et leurs dérivés stéroïdiques, soit vers les triterpènes pentacycliques, composés spécifiquement végétaux.

6 – 1.4. Les tétraterpènes (Caroténoïdes) :

Les seuls représentants de ce groupe sont les caroténoïdes, substances colorées en jaune, orange ou rouge auxquelles de nombreuses fleurs et fruits doivent leurs couleurs. Leur nom provient de ce que le premier d'entre eux a été isolé de la racine de carotte (par le pharmacien Arnaud en 1885).

Les carotènes jouent un rôle majeur dans la captation de l'énergie lumineuse lors de la photosynthèse (Guignard et al, 1985).

Enfin et comme nous avons déjà vu, la composition chimique des huiles essentielles est très complexe. Selon Paris et Hurabielle (1981) ; elle appelle plusieurs remarques :

- En fait, la plupart des constituants sont d'origine terpénique ; seul, un petit nombre d'essences (essence de cannelle,...) contiennent une majorité de composés aromatiques.
- Parmi les constituants très nombreux d'une huile essentielle (leur nombre dépasse souvent la centaine), l'un domine généralement : les essences de Badiane et d'Anis par exemple renferment environ 95% d'anéthole.
- La composition chimique des huiles essentielles varie encore de façon appréciable avec le milieu, l'époque de la végétation ; elle peut se modifier au cours de l'obtention et durant la conservation (d'où la nécessité de les conserver dans des flacons bien bouchés, à l'abri de la lumière, et de les renouveler chaque année).

6 – 2. Dérivés aromatiques

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques plus particulièrement des composés « phénylpropanoïdes » dont la biogénèse est différente de celle des terpènes.

6 – 3. Dérivés divers

Entrent également en faible proportion dans la constitution des huiles essentielles :

- Des acides organiques de faible poids moléculaire : acides acétiques, valérique et isovalérique...
- Des cétones de faible poids moléculaire.
- Des coumarines volatiles (ex. bergaptène).

7 – Propriétés biologiques et physiologiques des huiles essentielles

La diversité des constituants présents dans les huiles essentielles entraîne des activités physiologiques variées :

Certaines huiles essentielles agissent au niveau du tube digestif : ce sont des stomachiques, eupeptiques, carminatifs (ex. essence de Badiane, Menthe, Verveine); d'autres sont cholagogues ou cholérétiques (Sauge), d'autres encore sont vermifuges (Tanaïs, Chénopode) (Paris et Hurabielle, 1981).

Les propriétés des essences sont innombrables et variables selon les espèces. Toutes bénéficient de plusieurs indications, ce qui empêche toute classification selon leurs actions thérapeutiques.

Leurs multiples et diverses propriétés dues à leur richesse en terpènes sont relevées dans la littérature (Valnet 1990, Roulier 1990) et résumées dans ce qui suit :

- Les huiles essentielles sont douées d'un pouvoir de pénétration transcutané e. Elles passent à travers la peau en très peu de temps. Par exemple, l'huile essentielle de thym traverse la peau en 2 minutes, alors que celle de la menthe et de la coriandre passe entre 60 et 70 minutes.
- Elles ont antiseptiques pulmonaires, intestinales urinaires, on note l'action antiseptiques des voies respiratoires des essences d'eucalyptus.
- Pour éviter les contagions et combattre la prolifération et la destruction des germes, l'ail, la lavande, l'eucalyptus, le thym, ...sont employés. C'est ainsi que l'huile essentielle de thym diluée en solution savonneuse à 1/1000 détruit la flore microbienne de la bouche en trois minutes (Sallé, 1991).
- Des expériences ont permis de discerner l'existence de principes antibiotiques et d'hormones dans un certain nombre de végétaux et d'essences. Parmi les essences régularisant et favorisant les règles figurent le persil, le lierre, l'armoise, le cerfeuil, ...Ces plantes sont appréciées pour leurs propriétés emménagogues (El Abed et Kambouche 2003).

- Toxicité : *Plusieurs huiles essentielles sont connues pour leur toxicité : c'est le cas, par exemple, des essences à anéthole à action convulsivante à forte dose ; il en est de même des essences à thuyone (Thuya, absinthe). On note que les essences absorbées seules comme médicaments en usage interne (Aromathérapie), peuvent présenter une certaine toxicité (Paris et Hurabielle, 1981).*

8 – Emplois des Huiles essentielles

8 – 1. En Pharmacie

Les drogues à huiles essentielles peuvent être utilisées pour leurs actions physiologiques en nature tel que celles de Menthe, Verveine et de Camomille, pour l'extraction de l'essence ; l'usage est externe ou interne : huiles essentielles ne sont pas dénuées de toxicité.

Elles peuvent être utilisées aussi pour l'isolement de certains constituants (eugénol, anéthole, pinènes, etc...) ainsi que comme excipients de nombreux médicaments (adjuvants ou aromatisants).

8 – 2. Dans l'industrie

8 – 2.1. Parfumerie et cosmétologie :

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles essentielles constituent des « bases » de parfums irremplaçables. Exemples : Rose, Jasmin...

8 – 2.2. Alimentation :

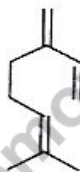
Les huiles essentielles sont très utilisées comme aromatisants des aliments (jus de fruits, pâtisserie).

9 – Squelettes des principaux terpènes

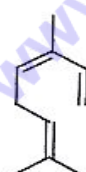
Les squelettes des principaux terpènes de la constitution des différentes huiles essentielles sont illustrés dans la figure ci-dessous :

Monoterpènes (C₁₀)

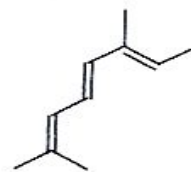
1/ Insaturés aliphatiques



Myrcène
(Laurier)

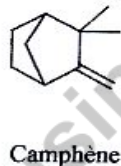
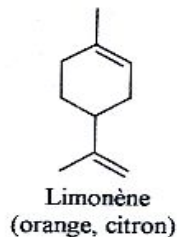


Ocimène
(Basilic)

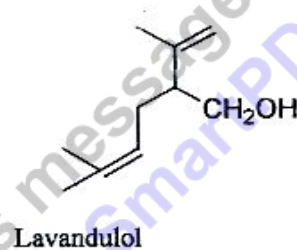
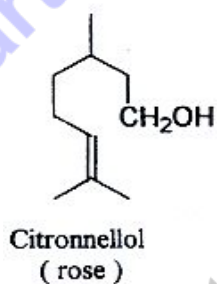
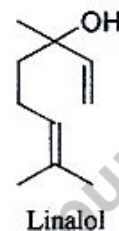
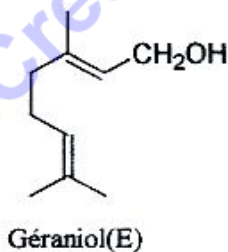
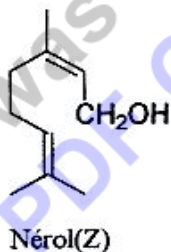


Alloocimène

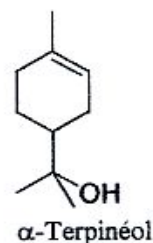
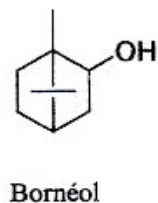
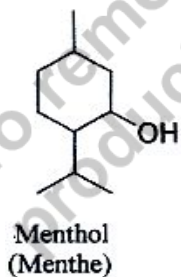
2/ Insaturés cycliques



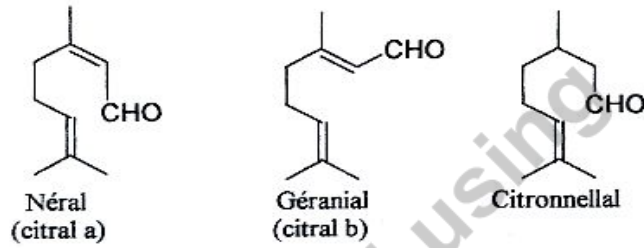
3/ Aliphatiques à fonction alcool



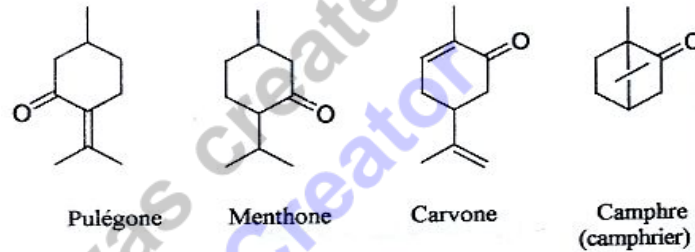
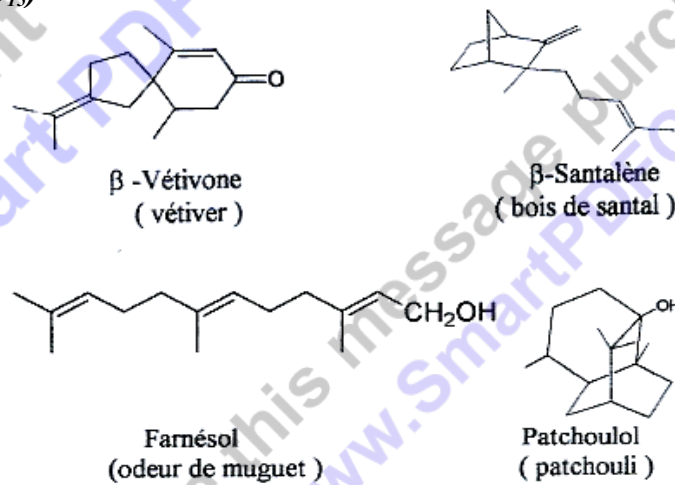
4/ Cycliques à fonction alcool



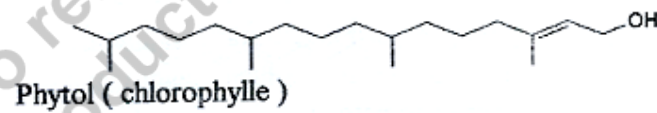
5/ Aliphatiques à fonction aldéhyde



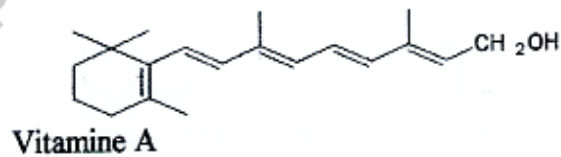
6/ Cycliques à fonction cétone

Sesquiterpènes (C₁₅)Diterpènes (C₂₀)

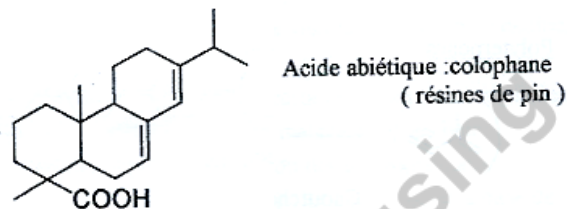
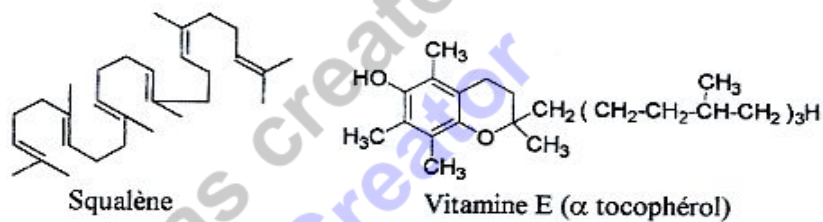
1/ Acyclique



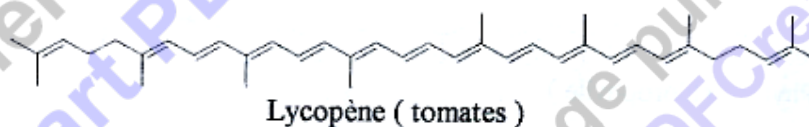
2/ Monocyclique



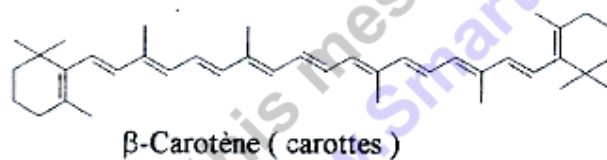
3/ Tricyclique

Triterpènes (C₃₀)Tétraterpènes (C₄₀)

1/ Acyclique



2/ Un cycle à chaque extrémité



Polyterpènes

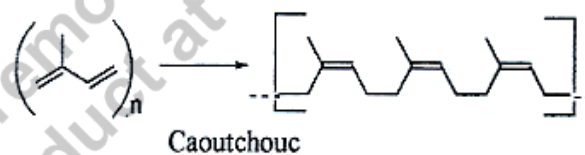


Figure 04: Principaux terpènes des huiles essentielles reconnues (Guignard, 1979).

LES FLAVONOÏDES

1 – Définition

Les flavonoïdes sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux : on les trouve dissoutes dans les vacuoles à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (Guignard et al, 1985). Au sens strict, ce sont des pigments jaunes, généralement polyphénoliques, très répandues, ils sont le plus souvent sous forme d'hétérosides ou flavonoïdes dont les génines sont des dérivés de la phénylchromone (flavones vraies), la chromone étant la benzo γ -pyrone.

Dans les flavonoïdes au sens large, on inclut tous les composés en C₆-C₃-C₆ comprenant en plus les dérivés du phényl-chromane ou flavannes ; ce sont :

- Les catéchols (catéchines) ou dérivés de l'hydroxy-3 flavanne.
- Les proanthocyanidols (anciennement appelés leucoanthocyanes) ou dérivés du dihydroxy-3,4 flavanne.

On rattache aussi aux flavannes les anthocyanes qui sont des dérivés du flavylum (Paris et Hurabielle, 1981).

2 – Localisation et Répartition botanique des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présent dans tous les organes aériens, ils ont une teneur maximale dans les organes jeunes (feuilles et boutons floraux) (Paris et Hurabielle, 1980).

Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, hydrosolubles, s'accumulent dans les vacuoles et se concentrent dans les cellules épidermiques des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle, assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques. Ils sont également présents dans la cuticule foliaire, dans ce cas il s'agit presque toujours des génines libres dont la lipophilie est accrue par la méthylation partielle ou totale des groupes hydroxyle. Cela concerne surtout des plantes de régions arides ou semi-arides, souvent pourvues de structures sécrétrices.

La présence des flavonoïdes chez les algues n'a pas, à ce jour, été démontrée. S'ils sont fréquents chez les bryophytes (Mousses et Hépatites), ce sont toujours des flavonoïdes stricto sensu, majoritairement des O- et C-hétérosides de flavones et des dérivés O-uroniques. Chez les ptéridophytes, la variété structurale des flavonoïdes n'est guère plus grande, les Psylotales et Sélaginelles étant caractérisées par la présence de biflavonoïdes, les Equisétales par celle de proanthocyanidols. Les O- hétérosides de flavonols dominant chez les fougères qui, pour certains, élaborent également chalcones ou proanthocyanidols.

Chez les gymnospermes, les proanthocyanidols sont remarquables constants et l'on note la présence, chez les cycadales et les coniférales (à l'exception des pinaceae), de biflavonoïdes absents chez les Gnétales ; la distribution de ces composés et des hétérosides de flavones et de flavonols qui les accompagnent varie ici nettement en fonction de l'organe (bois, écorce, feuille). C'est chez les angiospermes que la diversité structurale des flavonoïdes est maximale : ainsi, une trentaine de types flavonoïdiques ont pu être identifiés chez les Astéracées.

De nombreux auteurs se sont rattachés à relier la distribution de ces molécules aux différents systèmes taxonomiques proposés par les systématiciens contemporains : dans les grandes lignes, elle n'est pas en désaccord avec les tendance évolutives mises en lumière par ces systèmes. Elle permet même, en particulier pour les dicotylédones, de dresser un phylogramme assez cohérent entre les groupes qui ont conservé une forte proportion de caractères ancestraux et ceux qui ont le plus évolué (Bruneton, 1999).

3 – Rôle physiologique et biologique des flavonoïdes

3 – 1. Rôle Physiologique des flavonoïdes

Le rôle physiologique des flavonoïdes est mal connu, en raison de leurs structures polyphénoliques, ils pourraient jouer un rôle dans les chaînes d'oxydoréduction et modifier certaines réactions concernant la croissance, la respiration et morphogénèse. Ainsi le Kaempférol active l'auxine-oxydase tandis que le quercétol l'inhibe. De nombreux flavonoïdes, en raison de leur richesse en groupes phénols, sont capables de se fixer sur certaines protéines et enzymes, et de modifier ainsi les équilibres enzymatiques ; ils interviendraient à différents stades du développement, notamment lors de la germination.

Les flavonoïdes, dont l'absorption en UV est importante, protègent la plante vis-à-vis des rayonnements nocifs : des esters de l'acide caféique sont présents dans les chloroplastes.

3 – 2. Rôle biologique des flavonoïdes

Le rôle biologique des flavonoïdes dans la répartition des espèces, les mécanismes de la pollinisation est évident et l'on peut parler de leur importance écologique.

En donnant leur couleur aux fleurs et aux fruits, ils participent aux processus de pollinisation et de dispersion. L'intervention comme copigments des flavones, flavonoïdes « incolores » présents chez toutes les fleurs, n'a toutefois été reconnue que tardivement.

Les flavonoïdes qui imprègnent le bois de cœur ont des propriétés fongicides et insecticides qui protègent l'arbre contre l'intrusion des champignons ou des insectes. D'autres, au niveau des feuilles, ont un rôle attractif ou répulsif sur les insectes herbivores entraînant ou non la consommation du feuillage.

Parmi les flavonoïdes présentant le plus d'intérêt :

- Les anthocyanes, qui par suite de leur ionisation, présentent des couleurs différentes pour les divers pH : du rouge-orange en milieu acide au bleu mauve en milieu alcalin.

En réalité, la couleur dépend aussi du nombre d'OH non méthylés (la pélagonidine qui ne porte qu'un seul OH est rouge orange ; la cyanidine- à 2 OH est rouge cramoisi-magenta ; la delphinidine- à 3OH- est bleu mauve) alors que la partie sucrée de l'hétéroside n'intervient pratiquement pas.

En outre, la chélation éventuelle des ces anthocyanes avec des métaux ou leur combinaison avec des peptides peut modifier la couleur. De même, la présence de flavones par un phénomène de co-pigmentation, peut changer de façon importante la coloration, et, notamment, permettre une émission en UV, visible par de nombreux insectes.

La formation des anthocyanes est favorisée par la lumière et par les basses températures (ceci explique la pigmentation souvent éclatante des plantes de montagne) et se trouve sous la dépendance du phytochrome.

Leur synthèse est également stimulée chez les plantes lors d'un traumatisme ou d'une infestation par un parasite.

- Les proanthocyanidols (anciennement appelés leucoanthocyanes ou flavanediols), incolores, se rencontrent fréquemment dans les tiges et dans les feuilles.

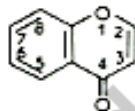
- Les flavonols et, pour une moindre part, les chalcones et les auronnes colorent certaines fleurs en jaune, bien que la couleur jaune de la plupart des fleurs soit due à des caroténoïdes.

- La roténone et les roténoïdes, principes insecticides des Derris et des Lonchocarpus, sont des substances complexes pentacycliques que l'on considère comme dérivant d'un noyau isoflavone (Guignard et al, 1985).

4 – Composition chimique et classification des flavonoïdes

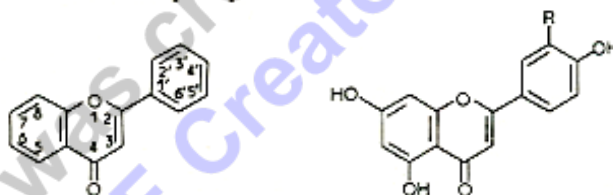
4 – 1. Les génines

Les génines sont des dérivés polyhydroxylés, parfois méthoxylés ou méthylés de la chromone ou benzo γ -pyrone.

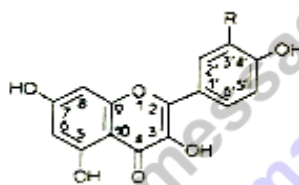


On distingue :

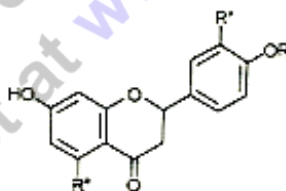
- Les flavones vraies : Dérivées de la phényl-2-chromone. Ex. apigénine (tri OH-5, 7, 4' flavone) $R = H$, lutéoline (tétra OH-5, 7, 3', 4' flavone) $R = OH$.



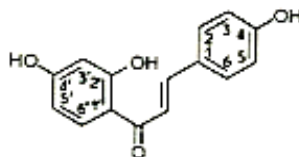
- Les flavonols : Possédant un hydroxyle alcoolique en 3 (OH-3 flavones). Ex. Kaempférol (tri OH-5, 7, 4' flavonol) $R = H$, Quercétol (tétra OH-5, 7, 3', 4' flavonol) $R = OH$.



- Les flavanones : ne comportant pas de double liaison en 2-3. Ex. liquiritigénine (di OH-7, 4' flavanone) $R = R' = R'' = H$, hespérotol (tri OH-5, 7, 3' méthoxy 4' flavanone) $R = CH_3$, $R' = R'' = OH$.

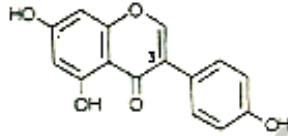


- Les chalcones, dont le cycle pyronique est ouvert (isomères des flavanones). Ex. Isoliquiritigénine (tri OH-4, 2', 4' chalcone).



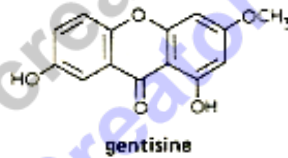
isoliquiritigénine \rightleftharpoons liquiritigénine

- Les isoflavones : *dérivées de la phényl-3 chromone. Ex. génistéine (tri OH-5, 7, 4' isoflavone)*

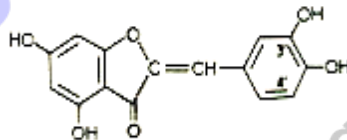


On rattache aux flavonoïdes :

- Les xanthones (*dibenzopyrones*) Ex. *gentisine (di OH-1, 7, méthoxy-3 xanthones)*.



- Les aurones (*benzalcoumaranones*) Ex. *aurensidine (tétra OH-4, 6, 3', 4')*.



4 – 2. Les oses

Sont généralement le glucose ou le rhamnose, parfois le galactose. Le plus souvent ils sont fixés en 3 ou en 7. Il existe des monosides, des biosides, des triosides, les oses pouvant être placés sur le même carbone de la génine ou sur deux carbones différents.

La liaison est le plus souvent fréquemment de type O-hétérosidique, mais on trouve aussi des hétérosides.

5 – Caractérisation et dosage des flavonoïdes

De nombreuses réactions colorées existent pour caractériser les flavonoïdes. En dehors de la coloration jaune donnée par les solutions alcalines, selon Paris et Hurabielle (1981), il existe une coloration plus spécifique dite réaction de la cyanidine : les hétérosides flavoniques en solution alcoolique, mis en présence d'hydrogène naissant, donnent des dérivés diversement colorés selon la structure chimique des flavonoïdes mis en jeu : orangé (flavones), rouge cerise (flavonols) et rouge violacé (flavanones).

L'identification est faite par chromatographie sur papier ou sur couche mince (silice, cellulose, polyamide) pratiquée, par exemple sur une alcoolature. On examine les différentes fluorescences en lumière ultraviolette, directement ou après pulvérisation de chlorure d'aluminium ; d'autres révélateurs peuvent être utilisés : vapeurs d'ammoniac et potasse alcoolique donnant une coloration jaune, chlorure ferrique donnant des colorations variant du vert au brun.

Le dosage physico-chimique des flavonoïdes est colorimétrique ou spectrophotométrique et réalisé à partir d'extraits purifiés, on utilise le plus souvent la formation de chélates fluorescents avec le chlorure d'aluminium.

6 – Propriétés biologiques des flavonoïdes

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être « veino-actifs », c'est-à-dire d'être capable de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance. Chez l'animal, ils peuvent réduire les signes d'une hypovitaminose C expérimentale. Cette propriété leur a valu, pendant un temps, le nom de « Vitaminique P » n'étant pas de vitamine, on a parlé ensuite de « facteur vitaminique P ou mieux facteur P ». Ces termes, ambigus, tendent à ne plus être utilisés : on parle maintenant de « veinotropes » pour ces produits naturels et leurs dérivés que les dictionnaires de spécialité rangent sous la rubrique générale « vasculo-protecteurs et veino-toniques ». Cet intérêt des flavonoïdes est loin de faire l'unanimité ; ainsi, F.D.A (Food and Drug Administration) ne leur reconnaît aucune activité.

7 – D'autres propriétés des flavonoïdes

Souvent présentés comme anti-inflammatoires, les flavonoïdes peuvent être antiallergiques, hépatoprotecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémiants, diurétiques, antibactériens, antiviraux in vitro.

Un petit nombre d'entre eux sont anti-cancérogènes et inhibiteurs de la croissance des cellules tumorales in vitro, ils peuvent interagir avec les enzymes du métabolisme des xénobiotiques, avoir des effets anti-initiateurs et/ou anti-promoteurs ou encore être cytostatiques, voire cytotoxique. La plupart des flavonoïdes sont, in vitro, antimutagène ; a contrario, quelques flavonoïdes sont, sur les mêmes modèles, mutagènes.

Les variations d'activité en fonction des caractéristiques structurales n'autorisent aucune généralisation (Bruneton, 1993).

8 – Emplois des flavonoïdes

Anciennement employées comme colorants (Gaude, Genet des teinturiers), un certain nombre de drogues à dérivés flavoniques sont utilisées aujourd'hui en thérapeutique, soit en nature, soit pour l'extraction des flavonoïdes.

Les substances extraites dans l'industrie sont surtout le rutoside et les citroflavonoïdes (= « bioflavonoïdes ») mais ces dernières années beaucoup d'autres molécules sont apparues sur le marché (Paris et Hurabielle, 1981).

DEUXIEME PARTIE
ETUDE EXPERIMENTALE

This document was created using
SmartPDF Creator

To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

This document was created using
SmartPDF Creator

I - MATERIEL ET METHODES

To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

I – MATÉRIELS ET MÉTHODES

1 – 1. Matériels utilisés

1 – 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est une plante médicinale : Salvia officinalis L. ou Sauge officinale appartenant à la famille des Lamiacées (Tableau 03). L'organe végétatif choisi pour réaliser ce travail et notamment l'étude biochimique (extraction, séparation et identification des principes actifs) et l'étude de l'effet bactéricide des principes actifs isolés est la feuille.

1 – 1.1.1. Site de prélèvement :

1 – 1.1.1.1. Présentation générale :

Les échantillons ont été prélevés à partir d'une parcelle située dans le Parc National d'El-Kala (P.N.E.K) dans le mois de décembre et lors de débournement de la plante.

Le Parc National d'El-Kala et l'extension qui est proposée sont entièrement circonscrits dans la wilaya d'El Tarf, wilaya issue de découpage administratif de 1985. La wilaya fait frontalière avec la Tunisie sur 100 Km et possède une façade maritime de 90 Km. Ainsi les 78000 hectares du Parc National, terrestre et maritime, par leur localisation dans la partie orientale de cette wilaya, forment le coin extrême Nord est du territoire algérien.

La région au sens large (Wilaya) et le Parc présentent globalement deux grands ensembles géomorphologiques. Au sud, et avec un moindre degré d'altitude, à l'est, une zone de montagnes où les reliefs passent de 300 mètres à 1200 mètres, formant un amphithéâtre ouvert vers le nord ouest par où arrivent les masses d'air humides. Dans le secteur nord, on trouve des collines basses et des dépressions dont le fond est occupé par les lacs, les marécages, les tourbières et les sols détrempés. C'est grossièrement, la partie nord du parc.

Plus à l'ouest, en dehors des limites des l'aire protégée, s'étale la plaine alluviale de l'artère hydrologique régionale de l'oued El-Kebir et ses affluents qui finissent leur course dans l'immensité des marais de Mekadda (12000 hectares). On compte 57 % de montagnes couvertes de forêts, 31 % de plaines et des collines 12 % de zones humides et de dunes.

Géographiquement, ce Parc National est donc limité ; au Nord par la mer méditerranée, au Sud par les contreforts des monts de la Medjerda, à L'Est par la frontière Algéro-tunisienne et à l'Ouest par l'extrémité de la plaine alluviale d'Annaba.

Ses coordonnées sont : 36°52 Nord et 8°27 longitudes au niveau de la ville d'El-Kala. (Bentouili, 2007).

Les limites administratives de notre site de prélèvement (P.N.E.K) dans le territoire de la wilaya d'El Taref sont présentées dans la figure 05.

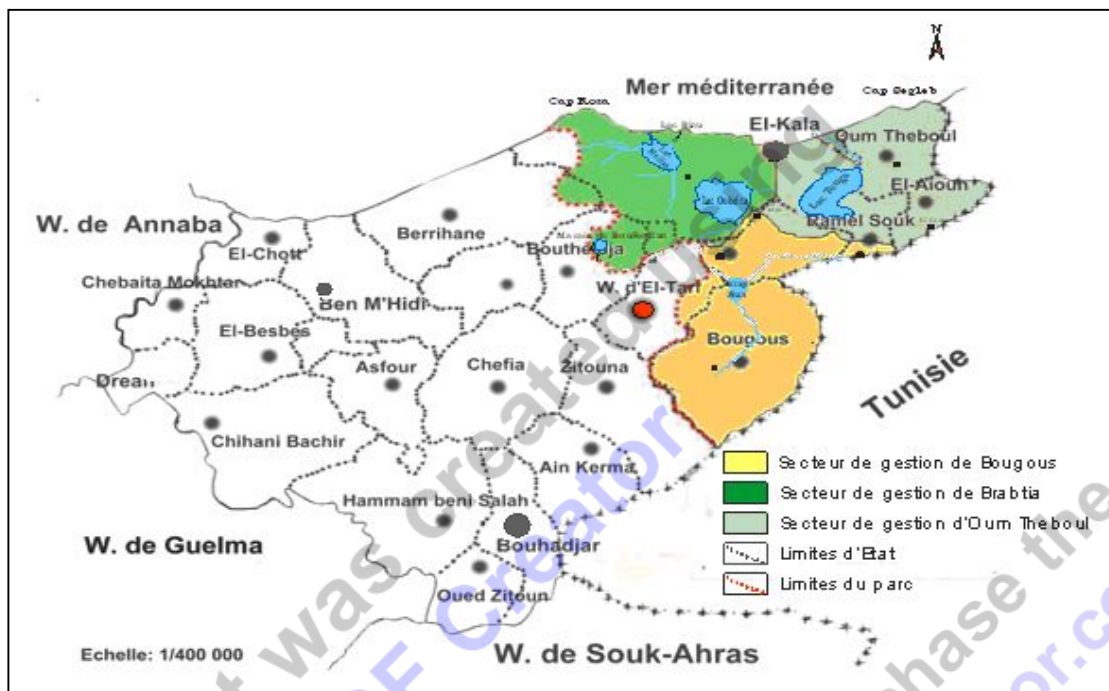


Figure 05: Limites administratives du Parc National d'El Kala (Bentouili, 2007)

1 – 1.1.1.2. Facteurs climatiques :

Les facteurs climatiques du Parc National sont résumés comme suit :

Température :

D'une manière générale, la région d'El-Kala est située dans le méditerranéen chaud avec une température maximale pouvant atteindre 50°C. Les températures les plus basses sont naturellement enregistrées en altitude durant l'hiver au Djebel Ghorra, avec environ 5 à 6 mois de gelée blanche par an. Au niveau de la mer, les températures descendent très rarement à 0°C. Les mois les plus froids sont janvier et février alors que juillet et août sont les plus chauds.

Précipitations :

La région d'El Kala est caractérisée par trois types de précipitations. Ce sont :

- La pluie, qui présente un régime typiquement méditerranéen, avec une saison humide de novembre à avril où le bilan hydrique est positif, et une saison sèche de mai à octobre où le bilan est négatif. La pluviométrie annuelle est donc de 910 mm pour 115 jours de pluies. Une des caractéristiques de la pluviosité dans cette région réside dans sa grande variabilité mensuelle, avec une concentration de la totalité des précipitations sur quelques mois de l'année. Ce phénomène a pour corollaire une grande violence et un caractère orageux des chutes de pluies, caractéristique du climat méditerranéen dans son ensemble. Il n'est pas sans effet sur le relief dont la dissection témoigne d'une érosion intense.
- La neige, dont l'apparition se fait au mois de janvier et février sur les sommets et qui peut descendre jusqu'à 700 mètres d'altitude. En raison de son caractère irrégulier et surtout peu déterminant par les processus généraux de répartition des organismes dans la région, nous n'en tiendrons pas compte.

La nébulosité, dont la proximité de la mer, l'importance des zones humides et la température atmosphérique moyenne élevée, favorisent sa présence et son maintien à des taux élevés. Son rôle est surtout important durant la saison sèche car elle atténue quelque peu les conditions de déficit hydrique c'est-à-dire que cette nébulosité est certainement favorable au maintien d'une végétation éprouvée par un important déficit hydrique.

Ce facteur, désigné comme précipitation occulte, n'a jamais été intégré dans les données climatiques malgré son caractère quasi permanent durant le printemps et le début de l'été.

En plus de ces trois types principaux de précipitations de la région d'El Kala, on cite aussi les vents qui jouent un rôle important et sont souvent liés aux pluies d'équinoxes en apportant les précipitations les plus importantes venues de l'Atlantique. Ces vents du Nord-Est sont assez fréquents mais sont néanmoins faibles et leur action sur le milieu est peu importante. Quant aux vents du Nord-Ouest, ils soufflent avec une régularité importante en hiver et plus modérée en été (Chabi et Benyacoub, 2000).

1 – 1.1.1.3. L'hydrogéographie du site :

La région d'El Kala se caractérise par une aire hydrogéographique assez diversifiée. Elle est constituée par :

Les lacs :

Dans cette région et à proximité de la mer, trois lacs sont présents : lac Oubeira, lac Tonga et lac Mellah.

Lac Oubeira ; est un site de 2200 ha, profond de 04 m au maximum, son bassin versant couvre une superficie de 125 km², en plus de son intérêt économique (pêche), ce lac est aussi important sur le plan ornithologique. Ces coordonnées géographiques sont les suivants : latitude : 36°50'N, longitude : 8°23'E (Bentouili, 2007).

Lac Tonga : ce lac occupe une vaste dépression côtière d'une superficie de 2600 ha environ, et s'étend sur 7,5 km de long et 4 km de large. IL est limité sur toute sa moitié Ouest, Sud et Est par les derniers contreforts des montagnes de la Kroumirie, au Nord-Ouest par les collines sableuses qui le sépare du lac Oubeira et au Nord par les dunes qui le sépare de la mer. D'une profondeur moyenne de 1 à 1,5 m, il est relié à la mer par le canal de la Messida. Son bassin versant plus important que celui de l'Oubeira s'étend sur 155 Km². En effet, Nous distinguons deux sous bassins versants, celui d'Oued El-Hout au Sud et celui d'Oued El-Eurg au Nord. Les coordonnées géographiques de ce lac sont : latitude : 36°53'N, longitude : 8°31'E.

Lac Mellah ; c'est une ancienne vallée fluviale envahie par la mer et qui s'est transformée en lagune, celle-ci est reliée à la mer par un chenal de 900 m. D'une profondeur maximale de 6m et d'une profondeur moyenne de 2,5 m, sa superficie est de 860 ha. Le Mellah est alimenté surtout par Oued El-Aroug, Oued Mellah et Oued Reguibet son bassin versant couvre une superficie de 77 Km². Les coordonnées géographiques du lac Mellah sont : latitude : 36°53'N, longitude : 8°20'E.

En plus de ces trois principaux lacs, une petite dépression inter dunaire d'eau douce d'une superficie de 04 ha avec une altitude moyenne de 05 m s'appelle le lac bleu. C'est un site très riche en espèces d'odonates notamment pour une espèce rélictuelle d'affinité Afro tropicale. Les coordonnées géographiques de ce lac sont : latitude 36° 53' N, longitude 08° 20' E. Ces quatre lacs sont classés comme réserve intégrale au sein du parc et site Ramsar (Chabi et Benyacoub, 2000).

Les marais :

Dans cette région, les marais de Bourdim d'eau douce de faible profondeur qui s'assèche en été, alimenté au nord par la nappe libre dunaire à partir de l'oued Bourdim, sa superficie est de 11 ha et son altitude moyenne est de 25 m. c'est un site de nidification pour une colonie plurispécifique d'ardéidés.

Les barrages :

La région d'El Kala est connue par le barrage Mexa qui est un site d'intérêt aquacole et nouvelle zone humide, son Altitude moyenne est de 42 m. La superficie de la cuvette est 06 km², ses sources d'alimentation sont les oueds : El Kébir, Bougous et Fernana, son apport inter annuel est de 103.00 hm³/an avec un volume utile de 41.00hm³/an et un volume total de 52.00hm³/an (Bentouili, 2007).

Les sources :

De nombreuses sources existent dans le territoire du Parc, les plus importantes étant celles de Bougles, Bouredim et El-Bhaim qui totalisent un débit de 150 l/s soit un débit de 12.700m³/j. Le reste des sources (environ 40) réparties à travers le territoire du Parc où sa périphérie possède un débit variable de 0,5 l/s à 10 l/s.

1 – 1.1.1.4. Cortège Floristique :

Avec environ 850 espèces, la région d'El Kala abrite près du tiers de la flore algérienne. Le patrimoine floristique est ainsi constitué de 550 Spermaphytes et 300 Cryptophytes. Sur le plan botanique, ce sont incontestablement les Angiospermes qui dominent. Quant aux Gymnospermes, ils ne sont représentés que par deux familles taxonomiques, les Cupressacées et les Pinacées. Pour les Cryptophytes, sont recensées 30 fougères, 110 champignons, 40 mousses, 70 algues et 50 lichens.

Des 135 familles recensées dans la flore de Quezel et Santa, plus de 100 familles sont représentées dans la région d'El Kala. Les familles présentant les diversités spécifiques les plus élevées sont : Poacées, Fabacées, Astéracées, Cypéracées, Brassicacées, Apiacées, Renonculacées, Caryophyllacées, Lamiacées, Scrofulariacées.

La flore du Parc, en particulier, et de la région d'El-Kala, en général, constitue un véritable carrefour biogéographique avec d'une part l'élément méditerranéen dominant (50%) et d'autre part, des espèces à affinité européenne (20%), cosmopolite (20%) et tropicale (10%). En effet, le climat est particulièrement arrosé et humide et une grande diversité de milieux permet le maintien d'espèces, aussi bien tropicales, particulièrement au niveau des zones humides qu'européennes telles que l'aulne, le frêne, le saule, l'orme et le houx. Les espèces typiquement méditerranéennes (Chêne liège, Chêne kerme, Olivier sauvage, Bruyère arborée, Calycotome, Myrte, Arbousier) constituent la trame de fond de la flore de la région calloise (Chabi et Benyacoub, 2000).

1 – 1.1.2. Méthode d'échantillonnage :

La méthode d'échantillonnage que nous avons adopté pour la réalisation de ce travail c'était celle basée sur le hasard qui consiste à prélever d'une manière aléatoire et simple de divers points du même pied de la plante considérée des feuilles saines ne présentant aucune lésion de même forme et de tailles différentes en fonction bien sûr de leurs ages, autrement dit ; nous avons réalisé une cueillette des feuilles jeunes et adultes sur plusieurs pieds de sauge afin d'éviter les risques de disparition de l'espèce végétale.

Les prélèvements sont réalisés tôt le matin et au moment de débourrement de la plante à la fin du mois de décembre et par temps sec pour éviter toutes altérations des huiles essentielles. Le matériel végétal est placé dans des étuis en papier stérile puis transporté immédiatement au laboratoire en vue de l'analyse. Les feuilles prélevées sont partagées en deux lots :

- *Un lot est mis à sécher pour servir aux analyses biochimiques et l'extraction des principes actifs.*
- *Un lot est utilisé à l'état frais et le plus rapidement possible pour l'étude morphologique et histologique des différents organes végétatifs.*

1 – 1.1.3. Séchage :

Sécher une plante n'est en fait rien d'autre que lui retirer progressivement son humidité. Il sera souvent nécessaire, avant de procéder à ce séchage, de passer les parties récoltées rapidement sous un filet d'eau, pour éliminer la poussière, les impuretés, les particules de terre, etc.

Les feuilles récoltées sont étendues en couches minces, à bonne aération, en courant d'air, sur une toile blanche pendant trois semaines et en les retournant de temps à autre. Le séchage des feuilles doit se prolonger jusqu'à l'obtention d'une consistance tout à fait friable, facile à briser lorsqu'on les courbe. Une dessiccation excessive fait cependant tomber les plantes ou les organes en poussière et entraîne la perte de leurs matières actives. Dans le cas contraire, si l'humidité résiduelle reste élevée, on court toujours le risque de les voir pourrir ou moisir lors de la conservation.

1 – 1.2. Matériel pédologique : Sol

Les échantillons de sol ont été prélevés à partir de la même parcelle cultivée par la sauge au niveau du Parc National d'El Kala. Selon Mathieu et Pieltain (1998), ces échantillons ont été prélevés à 20-30 cm de profondeur à partir de différents points sur toute la superficie cultivée, au voisinage des racines.

Le sol prélevé est ensuite mis à sécher, puis tamisé afin d'éliminer les gros débris et de façon à obtenir un matériel homogène fin et prêt à l'analyse.

1 – 1.3. Matériel microbiologique

1 – 1.3.1. Souches bactériennes :

Le matériel microbiologique ayant fait l'objet de cette étude est constitué de neuf souches bactériennes. Ce sont des espèces pathogènes pour l'homme, souvent multirésistantes aux antibiotiques, Gram positif et/ ou Gram négatif.

Ces espèces sont des germes responsables d'infections intestinales, uro-génitales, respiratoires ainsi que des infections de la peau et des muqueuses.

Ces souches sont :

Escherichia coli 12
 Escherichia coli 1554
 Escherichia coli 1429
 Proteus 22M
 Entérobactériacée 1520
 Staphylococcus aureus
 Pseudomonas aeruginosa 7244

D'autres souches standard ont été également testées :

Escherichia coli ATCC 25922.
 Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.

1 – 1.3.2. Milieu de culture :

La gélose Mueller-Hinton a constitué le principal milieu de culture utilisé dans la recherche et l'évaluation du pouvoir bactéricide des différents principes actifs étudiés vis-à-vis des souches bactériennes employées. La composition de ce milieu de culture est la suivante :

<i>Peptone pepsique de viande</i>	<i>10g</i>
<i>Glucose</i>	<i>10g</i>
<i>Agar-agar</i>	<i>15g</i>
<i>Eau distillée</i>	<i>1000ml</i>

pH 5.7

1 – 1.3.3. Antibiotique utilisé :

L'antibiotique utilisé dans cette étude bactériologique est la rifampicine [Rifampicine (5 µg), lot : 070531].

La rifampicine ou 5,6,9,17,19,21-hexahydroxy-23-méthoxy-2,4,12,16,18,20,22-heptaméthyl-8-[N-(4-méthyl-1-pipérazinyl)formimidoyl]-2,7-(époxy-pentadéca [1,11,13]trienimino)-naphtho[2,1-b]furan-1,11(2H)-dione-21-acétoxy, est un antibiotique de semisynthèse avec une structure macrolide. Cette substance présente un point de fusion élevé 183-188 °C, elle est colorée en rouge – orange, sa solubilité dans l'eau à pH=7 est réduite pourtant la solubilité dans les solvants comme le chloroforme et le méthanol est accrue.

Cet antibiotique est un bactéricide, fait partie de la famille des Rifamycines. Il est utilisé habituellement à la dose de 10 mg·kg⁻¹·j⁻¹, pendant une durée de 6 mois, pour le traitement de la tuberculose, ainsi que pour le traitement de beaucoup de méningites bactériennes, par contre il peut induire des réactions toxiques ou liées à une hypersensibilité.

La rifampicine provoque une coloration orangée des urines. C'est un bon moyen d'objectiver l'observance du traitement.

Elle a une excellente activité sur les germes à Gram positif (Staphylocoques et entérocoques). En Algérie, la rifampicine est réservée au traitement de la tuberculose (Ganescu et al 2002, Couraud et al 2006, Yala et al 2001).

Les photos suivantes nous donnent une idée sur la forme des espèces bactériennes étudiées. Ces dernières ont été prises à partir du site Web : <http://medicalsciences.files.wordpress.com>

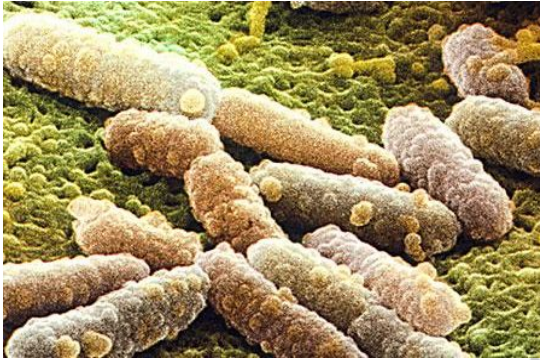


Figure 06: Escherichia coli

C'est une espèce du genre *Escherichia* communément appelée colibacille. Bacilles mobiles, donne des colonies de 2 à 3 mm de diamètre, à contour régulier de type S. Elle est commensale dominante de l'intestin. C'est un hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux où il représente 80% de la flore intestinale aérobie. Elle représente un important agent pathogène, responsable, chez l'homme surtout, d'infections extra-intestinales, parfois d'infections intestinales.

Les infections extra-intestinales sont dues aux *E.coli* commensaux de l'intestin qui, par suite de modifications de terrain que peut présenter l'hôte, vont envahir un autre territoire de l'organisme ; elles se manifestent par des infections urinaires, méningites et septicémies néonatales aussi des septicémies hospitalières.

Les infections intestinales, sont dues à des souches particulières d'*E.coli* à pouvoir pathogène strict et spécifique.



Figure 08: Staphylococcus

Ce sont des coques Gram + arrondis, de 0.8 à 1 µm de diamètre, immobiles, dépourvus de spores et de capsules. Ces germes apparaissent isolés, groupés par 2 ou en amas caractéristiques dits « en grappes de raisin ». ils sont aérobies, facultativement anaérobies et ils se développent bien sur tous les milieux usuels et dans de larges limites de températures.

Ces *Staphylocoques* sont présents dans de nombreux sites ; ils vivent en saprophytes dans le milieu extérieur (eau, sol, air) ; en commensaux sur la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux.

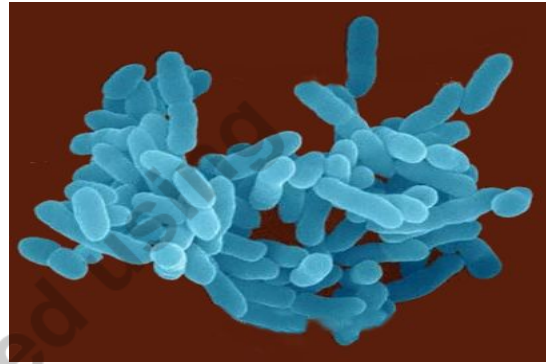


Figure 07: Proteus

C'est un germe de la famille des *Entérobactériacées* (ou bactéries entériques : bactéries appartenant à l'intestin) comme celui d'*Escherichia coli*.

Bacilles très mobiles, sur les milieux d'isolement pour entérobactéries, donnent tous des colonies bien individualisées et de taille moyenne, très répandus dans le milieu extérieur. Ce sont également des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux, mais ils ne se retrouvent qu'en petit nombre dans les selles normales.

Ils ne jouent qu'occasionnellement un rôle pathogène.

Ces germes sont avant tout responsables d'infections urinaires, souvent chroniques ou à répétition, dues le plus souvent à *Proteus mirabilis*. Ils sont également à l'origine d'infections purulentes entraînant la formation d'abcès, surinfectant les plaies et les brûlures.



Figure 09: Pseudomonas

Le genre *Pseudomonas* représente les bacilles Gram – aérobies stricts, fins, droits, très mobiles grâce à des flagelles polaires, très faciles à cultiver. Les *Pseudomonas* se développent sur tous les milieux usuels, même les plus simples.

Ces bacilles sont très répandus dans l'environnement, ils vivent principalement dans l'eau et les sols humides. Ils sont également présents sur les plantes pour lesquelles ils peuvent être pathogènes, quelques espèces seulement se retrouvent chez l'homme ou l'animal, soit comme commensales, soit comme pathogènes.

1 – 2. Méthodes d'analyse

1 – 2.1. Analyse des paramètres physicochimiques du sol

Les principaux paramètres physicochimiques analysés sont : la texture, le carbone organique, le pH (pH_{eau} , pH_{KCL}), la conductivité électrique, le calcaire total et actif et les éléments minéraux (carbonates et bicarbonates, le sodium et le potassium).

1 – 2.1.1. Texture :

La texture a été déterminée selon l'échelle de Soltser (1981). Pour ce faire, nous avons utilisé la méthode par saturation qui consiste à mesurer le pourcentage d'humidité du sol (H) et le comparer ensuite à cette échelle.

Les détails de la méthode sont présentés dans les annexes.

Tableau 04: Echelle de la texture (Soltser, 1981) :

Pourcentage d'humidité (%)	Texture
< 12	Sableuse
12-24	Sableu-limoneuse
24-37.5	Limono sableuse
37.5-45	Limono argileuse
45-75	Argilo limoneuse
> 75	Argileuse

1 – 2.1.2. Carbone organique :

La teneur en matière organique a été évaluée selon Bonneau et Souchier (1994) en utilisant la méthode d'Anne (détails en annexes). Cette teneur a été ensuite comparée aux valeurs de l'échelle de Soltser (1981).

Tableau 05: Classification des sols d'après leur teneur en matière organique (Soltser, 1981)

% de la matière organique	Appréciation
< 1	Extrêmement faible
1 – 1.5	Très faible
1.5 – 2.5	Faible
2.5 – 3.5	Moyen
3.5 – 4.5	Moyennement élevé
4.5 - 5	Elevé
> 5	Très élevé

1 – 2.1.3. pH : pH_{eau} et pH_{KCl} :

Ces deux déterminations conjointes sont d'un grand intérêt pour la majorité des sols hormis les sols neutres et surtout carbonatés, puisque $\Delta pH = pH_{H_2O} - pH_{KCl}$ révèle l'acidité potentielle ou acidité d'échange. La mesure du pH dans les sols carbonatés n'aurait d'intérêt que si elle respectait la pression partielle in situ pCO_2 , ce qui n'est pas réalisable au laboratoire.

Les valeurs obtenues sont aussi comparées à une gamme de pH des sols (Soltser, 1981).

Tableau 06: Gamme de pH des Sols (Soltser, 1981)

pH	Désignation des sols
3-4.5	Extrêmement acides
4.5-5	Très fortement acides
5-5.5	Très acides
5.5-6	Acides
6-6.75	Faiblement acides
6.75-7.25	Neutres
7.25-8.5	Alcalins
> 8.5	Très alcalins

1 – 2.1.4. Conductivité électrique :

La conductivité électrique est un paramètre qui reflète la salinité du sol étudié.

La détermination de la conductivité électrique se fait sur l'extrait du sol (rapport sol/ eau = 15) à l'aide d'un conductimètre. Pour notre sol, la valeur calculée de la conductivité électrique a été comparée avec une échelle de salinité du sol mentionnée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 07: Echelle de salinité du sol (USSSL, 1954).

Conductivité électrique (MS/ cm)	Salure
0 – 0.6	Non salé
0.6 – 1.4	Peu salé
1.4 – 2.4	Salé
2.4 - 6	Très salé

1 – 2.1.5. Calcaire total et actif :

L'évaluation du calcaire total a été réalisée à l'aide de deux solutions ; une solution acide (HCl à 0.5 N) et une solution basique (NaOH à 0.25 N) et en utilisant le réactif de la Phénolphthaléine. Pour le calcaire actif, et selon Bonneau et Souchier (1994) la méthode suivie est celle de Drouineau. Les détails de la méthode sont présentés dans les annexes.

1 – 2.1.6. Eléments minéraux :

Les éléments minéraux qu'on a pu évaluer dans cette étude pédologique sont : Carbonates et bicarbonates, Sodium et Potassium.

Carbonates (CO_3^-) et Bicarbonates (HCO_3^-) :

Les carbonates alcalins, facilement solubles à l'eau ne se trouvent que dans les sols salés à alcalins. Les carbonates alcalinoterreux, solubles dans l'eau chargée en gaz carbonique constitueront l'essentiel des sols calcimagnésiques. Le dosage a été fait par titrimétrie et par spectrophotométrie de flamme (Détails en annexes).

Sodium (Na^+) et Potassium (K^+) :

Cette méthode physique est basée sur la propriété des atomes de passer d'un état fondamental stable à un état excité instable lors d'une excitation thermique : l'atome excité (par une flamme par exemple) revient à son état fondamental par transition spontanée avec émission de lumière sous forme de photons de fréquence donnée (et donc de longueur d'onde donnée) selon l'élément ; cette énergie lumineuse est transformée en énergie électrique, photomultipliée et donnée par un indicateur numérique. Cette méthode est utilisée pour les éléments faciles à exciter (alcalins, Na, K...), pour les éléments difficiles à exciter, on utilise la méthode par absorption atomique.

Dans cette méthode, l'élément (Na, K) est pulvérisé en vapeur atomique dans une flamme air-propane qui excite les atomes et on mesure l'intensité de la raie lumineuse émise par la vapeur atomique à une certaine longueur d'onde en fonction de l'élément. Il s'agit donc d'une méthode basée sur l'émission de radiations atomiques dans une flamme qui est proportionnelle à la concentration en élément.

1 – 2.2. Etude histologique

Dans le but de connaître les différents types des tissus qui caractérisent notre plante *Salvia officinalis L.* nous avons voulu réaliser une étude histologique qui consiste à étudier l'anatomie et la structuration des différents organes aériens et souterrains.

1 – 2.2.1. Principe :

Les coupes se font sur des organes conservés dans l'alcool ou sur des organes secs préalablement réhydratés, par un simple contact à l'eau (fleurs), au moyen d'une infusion (feuilles), d'une décoction (racines, écorce). Dans notre cas, nous avons utilisé des organes à l'état frais qui sont ensuite coupés et conservés dans l'éthanol 75 %.

Les coupes sont réalisées à l'aide d'une lame de rasoir ou d'un microtome, le plus souvent transversalement, mais également longitudinalement dans certains cas (observation des fibres sclérifiées détails des vaisseaux de bois...)

Le principe repose sur la technique de la double coloration (Vert de Méthyle et Rouge Congo). Elle a pour but de colorer les membranes celluloseuses en rose, caractéristiques du parenchyme cellulosique, du liber et du collenchyme et les membranes lignifiées ou sclérifiées en vert, comme celles du bois, du sclérenchyme...

1 – 2.2.2. Mode opératoire :

Les coupes obtenues sont placées successivement :

- Dans l'hypochlorite de sodium (Eau de javel) dilué au 1/2 pendant 15 à 20 mn
- Dans l'eau distillée (Lavage 1 fois).
- Dans la solution d'hydroxyde de sodium à 5 % si la coupe est très riche en amidon : racine; rhizome (Lavage 1 fois).
- Dans l'eau distillée (Lavage 2 fois).
- Dans un bain additionné de quelques gouttes d'acide acétique.
- Dans le Vert de Méthyle pendant 1 à 3 mn.
- Dans l'eau distillée pour un lavage rapide.
- Dans le Rouge Congo pendant 15 mn.
- Enfin dans l'eau distillée pour un dernier lavage rapide, puis monter une coupe plus fine que possible entre lame et lamelle pour l'observation microscopique.

1 – 2.3. Tests biochimiques préliminaires des feuilles

Nous avons entrepris un screening phytochimique afin de connaître les principaux constituants de notre espèce végétale *Salvia officinalis L.* Ces tests ont été réalisés uniquement sur les feuilles.

1 – 2.3.1. Teneur en eau :

La teneur en eau a été calculée par la méthode gravimétrique qui consiste à introduire dans un cristalliseur préalablement séché à l'étuve puis refroidi dans un dessiccateur taré 2 g environ de matière fraîche. Celle-ci est ensuite placée dans une étuve à une température entre 100 et 105°C pendant au moins deux heures. L'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'une masse constante. La teneur est alors calculée pour 100 g de drogue.

1 – 2.3.2. Dosage des cendres totales :

Les cendres totales résultent de la calcination complète de la drogue, elles représentent les éléments minéraux.

Mode opératoire :

- Tarer un creuset en silice préalablement séché à l'étuve, le refroidit dans un dessiccateur taré.
 - Placer environ 2 g de drogue grossièrement broyée et déterminer la masse exacte de cette prise d'essai.
 - Porter le creuset au four à moufle et maintenir la température pendant 1 heure à 600°C.
 - Laisser refroidir, placer dans un dessiccateur.
- Peser et rapporter la masse de cendres à 100g de drogue.

1 – 2.3.3. Recherche des Tanins:

Selon Solfo (1973), on prend 5 ml de l'infusé auxquels on ajoute 1 ml de la solution de Chlorure ferrique (FeCl_3) à 1% par goutte à goutte. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiques et bleu noirâtre pour les tanins galliques.

1 – 2.3.4. Recherche des Saponosides:

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. Deux grammes de matériel végétal sec et broyé sont utilisés pour préparer une décoction avec 100 ml d'eau. On porte à ébullition pendant 30 mn. Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. Le volume final étant de nouveau réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Les tubes sont agités fortement en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 minutes en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en cm. Si elle est proche de 1 cm dans le X^e tube, alors l'indice de mousse est calculé selon la formule suivante :

$$I = \frac{\text{Hauteur de mousse (en cm) dans le } x^{\text{e}} \text{ tube} \times 5}{0.0x}$$

1 – 2.3.5. Recherche des Anthocyanes :

La recherche des anthocyanes repose sur le changement de la couleur de l'infusé à 10 % avec le changement de pH : on ajoute quelques gouttes d'HCl puis quelques gouttes de NH_4OH , le changement de la couleur indique la présence des anthocyanes.

1 – 2.3.6. Recherche des Leuco anthocyanes :

A 5 ml de l'infusé, sont mélangés 4 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol/ HCl pur 3/1 v/v). Après chauffage au bain marie à 50° C pendant quelques minutes, l'apparition d'une couleur rouge cerise indique la présence des leuco anthocyanes. (Solfo, 1973).

1 – 2.3.7. Recherche des Alcaloïdes :

Après une macération de 5 g de feuilles séchées et broyées dans 50 ml d'HCl à 1 %, le mélange a été filtré puis soumis à l'action du réactif de Mayer (quelques gouttes). L'apparition d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes. (Bouquet, 1972).

1 – 2.3.8. Recherche des Flavonoïdes :

10 g de drogue pulvérisée sont macérés dans 150 ml d'HCl à 1 % pendant 24 Heures, après filtration de la solution obtenue, on prélève 10 ml du filtrat auxquels on ajoute une solution basique de NH_4OH . Après 3h de repos, l'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes.

1 – 2.3.9. Recherche des Cardinolides :

On prélève 10 ml du filtrat obtenu à partir d'un macérat de 1g de poudre sèche dans 20 ml d'eau distillée pendant 3 heures, puis on lui ajoute 10 ml du mélange Chloroforme - Ethanol (CHCl_3 et $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$). L'évaporation de la phase organique se fait sur un bain de sable à une température de 90°C . Le précipité est ensuite dissout dans 3 ml d'acide acétique glacial (CH_3COOH) en lui ajoutant quelques gouttes de Chlorure ferrique (FeCl_3) suivi de 1 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré sur les parois de tube.

L'apparition d'une couleur verte bleue dans la phase acide indique la présence des Cardinolides.

1 – 2.3.10. Recherche des Terpènes et Stérols :

05 g de la drogue pulvérisée sont macérés dans 20 ml d'éther de pétrole. Après avoir filtré le mélange, on évapore la phase organique sur un bain de sable à une température de 90°C . Le résidu est dissout dans 0.5 ml d'acide acétique (CH_3COOH) en ajoutant 1 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. Dans la zone de contact entre les deux liquides, il apparaît un cercle violé ou marron qui devient gris par la suite indiquant la présence des terpènes et stérols.

1 – 2.4. Extraction, séparation et identification des principes actifs

Il est signalé dans la bibliographie que les majeurs constituants de cette espèce végétale *Salvia officinalis* L. sont surtout les huiles essentielles et les flavonoïdes. Pour cela, nous avons essayé de les extraire, les quantifier et de les identifier.

1 – 2.4.1. Extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles séchées de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L. a été faite trois fois (trois répétitions ont été réalisées) en utilisant 50g de drogue pour chacune de ces extractions. La moyenne des teneurs obtenues était par la suite calculée.

1 – 2.4.1.1. Principe de l'extraction :

L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé [turbodistillation]) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité.

1 – 2.4.1.2. Dosage et extraction :

Le dosage de l'huile essentielle s'effectue par entraînement à la vapeur d'eau dans un appareil spécial, décrit par la dernière édition de la Pharmacopée Européenne et dont le schéma est reproduit à la page suivante (figure 10).

Pour que cette extraction soit réalisée, la masse de la prise d'essai doit être comprise entre 5 et 50 g avec une vitesse de distillation de 2 à 4 ml par minute et une durée d'ébullition qui varie entre 1h 30 et 4h. Tous ces paramètres dépendent de la nature, la texture et de la richesse en huile essentielle de la drogue utilisée. (Bruneton, 1999).

Dans notre cas, la masse de la prise d'essai que nous avons utilisé pour réaliser cette extraction était égale à 50g avec une durée d'ébullition de 3 heures en gardant toujours la même vitesse de distillation (2 à 4 ml/min).

La séquence opérationnelle est la suivante :

- Distillation de la drogue en suspension aqueuse.
- Récupération du distillat dans le tube gradué contenant une quantité déterminée de xylène pour fixer l'huile essentielle.
- Séparation des phases par décantation.
- Lecture du volume total de la phase organique.
- Calcul de la teneur en huile essentielle après déduction du volume du xylène qui a été entraîné à la vapeur d'eau préalablement à l'introduction de l'échantillon à doser dans le ballon.

1 – 2.4.1.3. Calcul du rendement :

Le rendement des huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle et la masse de la matière végétale utilisée.

Le pourcentage de rendement est calculé à partir de la formule suivante :

$$R \% = \frac{PHE}{PMV} \times 100$$

R : rendement

PHE : poids des huiles essentielles (g)

PMV : poids de matière végétale (g)

Une fois le rendement calculé, les huiles essentielles doivent être stockées le plus rapidement possible dans de très petits flacons de verre opaque, parfaitement bouclés, et maintenues à une température de 4°C (Vincent, 1991).



Figure 10: Extracteur des huiles essentielles (Appareil d'hydrodistillation).

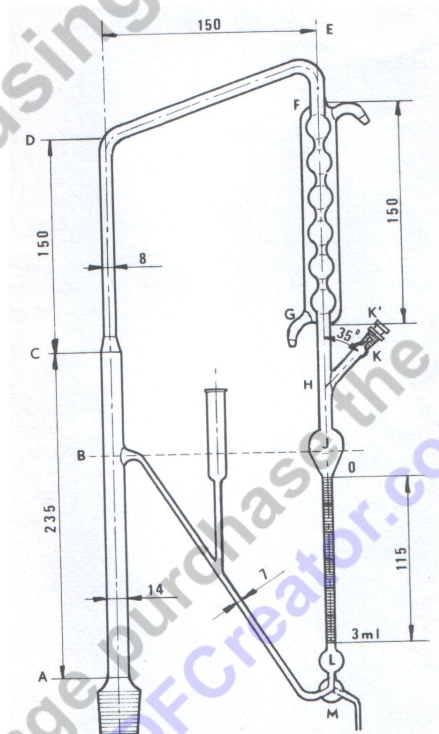


Figure 11 : Schéma de l'appareil d'hydrodistillation des huiles essentielles selon la Pharmacopée Belge (1982) (D.mm)

1 – 2.4.1.4. Calcul de D.E.R (« drug-extract ratio » ou rapport drogue- extrait) :

Le calcul de ce paramètre qui a été effectué selon Wichtl et Anton (2003) a permis avec précision de connaître la qualité de la drogue utilisée. Autrement dit, il permet de calculer la quantité de drogue correspondante et indique en effet le nombre de parties de drogue qui correspondent à une partie de l'extrait obtenu. Ainsi des nombres élevés indiquent des teneurs faibles en substances extractives ; un rapport de 20 :1 signifie par exemple une teneur de 5% en substances extractives dans le produit concerné, alors qu'un rapport drogue -extrait de 4 :1 indique une teneur en substances extractives de 25%.

Ce rapport a été défini comme suit :

$$D.E.R = \frac{\text{Quantité de drogue initiale (g ou kg)}}{\text{Quantité de la préparation obtenue (extrait en g ou kg)}}$$

1 – 2.4.2. Identification par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) :

1 – 2.4.2.1. Principe :

La chromatographie en phase gazeuse est un procédé de séparation chromatographique où la phase mobile est un gaz (gaz vecteur) et la phase stationnaire est un solide ou un liquide dont est imprégné un support solide approprié contenu dans une colonne. A la sortie de la colonne, le gaz vecteur passe à travers un détecteur approprié.

1 – 2.4.2.2. Mode opératoire :

La composition chimique des huiles essentielles a été déterminée par la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de Masse (CG/MS) sous les conditions opératoires suivantes :

L'analyse quantitative a été effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de marque couplée au spectromètre de masse de type Shimadza équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et muni d'une colonne capillaire en silice fondue de type QP20 10C25 FS-OV1701 de 25 m de longueur, 0.25 mm de diamètre interne et 0.25 µm d'épaisseur de film.

La température de la colonne est programmée de 60 à 200° C à raison de 3° C/ min pendant 13 minutes.

La température de l'injecteur est fixée à 240° C et celle de détecteur (FID) à 250° C.

Le débit de gaz vecteur (Hélium) est fixé à 1.5 ml/min.

Le volume de l'échantillon injecté est 0.1 µl de l'huile pure diluée à 10 % dans l'hexane.

Les composés de l'huile essentielle sont identifiées par :

- Leurs indices de rétention sur la colonne (L'indice de rétention est calculé par rapport aux temps de rétention d'une série d'alcane linéaire (C9–C28)).

- La comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés chimiques répertoriés dans une bibliothèque commerciale (ov.17/ GCMS Real time analysis).

Le pourcentage de chaque composé a été déterminé à partir des aires de pics sans tenir compte des facteurs de correction en supposant que tous les constituants ont des coefficients de réponse voisins.



Figure 12: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse.

1 – 2.4.3. Extraction des flavonoïdes :

1 – 2.4.3.1. Principe et méthode d'extraction :

L'extraction des flavonoïdes a été réalisée selon la méthode de Charaux et Paris (1954). C'est une méthode universelle qui consiste à prendre une masse égale à 10g de drogue séchée en les stabilisant par la suite pendant une heure dans 200 ml d'éthanol porté à une température de 96°C.

Après filtration et séchage, la drogue est pulvérisée grossièrement et épuisée à l'aide d'un appareil de Soxhlet par 200 ml d'éthanol porté à une température de 96°C pendant 4 heures. Après une macération de 12 à 24 heures, les deux solutions éthanoliques sont réunies et évaporées sous pression réduite. Le résidu est repris par 20 ml d'eau bouillante, la solution aqueuse obtenue est laissée au repos pendant 24 heures. Enfin, la liqueur est épuisée dans une ampoule à décantation, plusieurs fois successivement par :

(4×10 ml) d'éther.

(4×10 ml) d'acétate d'éthyle.

(5×10 ml) du n-butanol.

Selon Solfo (1973), les composés flavonoïques ne passent pas dans l'éther, sont à l'état de traces dans l'acétate d'éthyle et seul le composé butanolique en contient une quantité susceptible d'être étudiée. L'extrait butanolique a été ensuite évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif réglé à une température de 30°C. Le résidu obtenu est immédiatement récupéré par 5 ml d'éthanol. La liqueur ainsi obtenue va servir à la fois aux analyses par chromatographie sur couche mince et aux tests du pouvoir bactéricide.

Les différentes étapes suivies lors de cette extraction sont schématisées dans la figure suivante (figure 13).

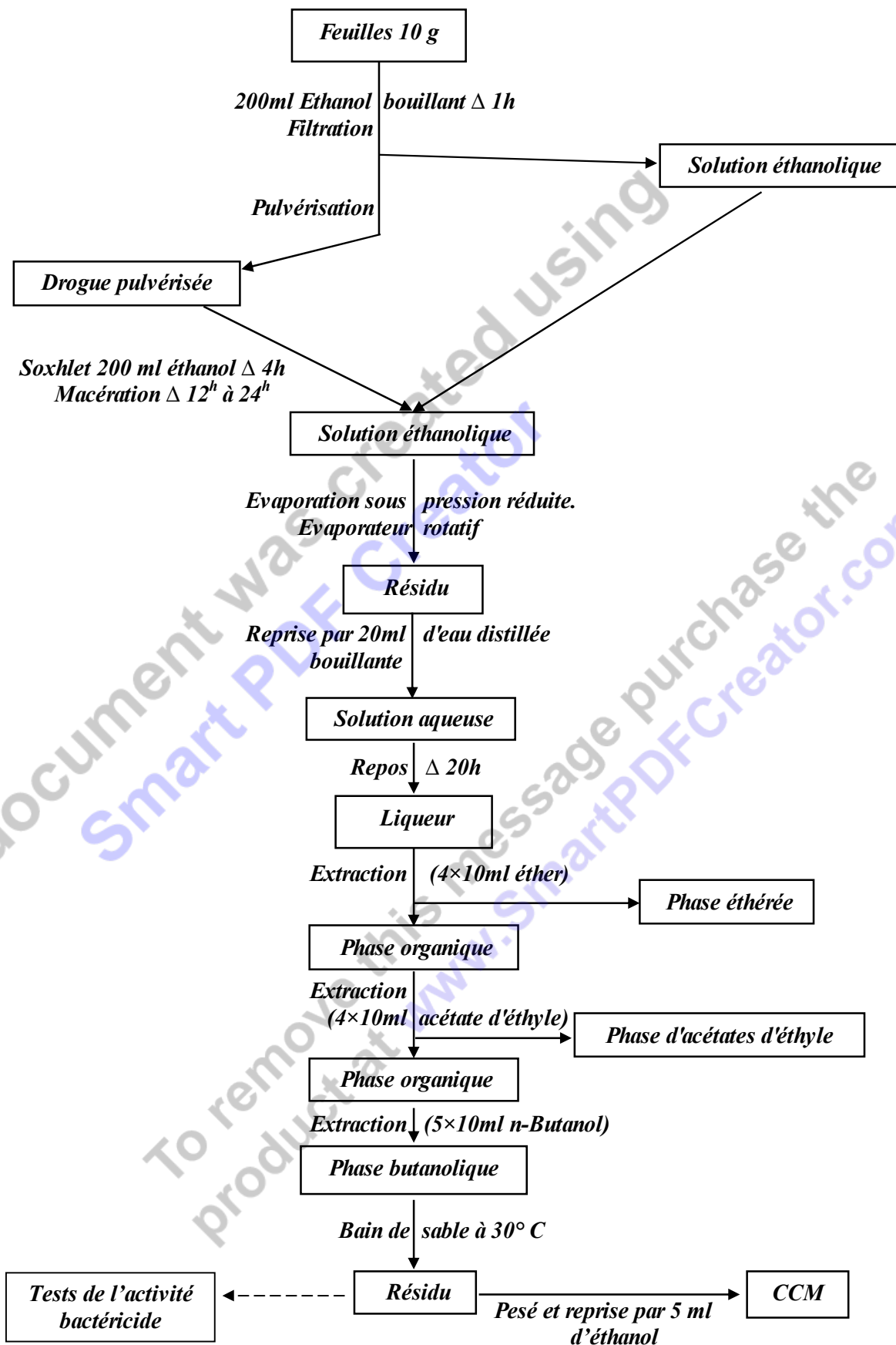


Figure 13: Représentation schématique de la méthode d'extraction des flavonoides.

1 – 2.4.3.2. Calcul de D.E.R :

Après l'extraction des flavonoïdes et la détermination de leur rendement, le calcul de D.E.R reste toujours nécessaire puisqu'il nous permet d'apprécier la qualité de la drogue utilisée en fonction de sa teneur en principe actif extrait.

1 – 2.4.4. Séparation et identification par Chromatographie sur couche mince (CCM) :

1 – 2.4.4.1. Principe :

La chromatographie sur couche mince est une technique de séparation chromatographique, elle est utilisée le plus souvent lors de la séparation et l'identification des extraits non volatils. Elle comporte :

- des plaques de longueur appropriée, généralement de 200 mm, dont la largeur variable permet de déposer aux points déterminés les quantités nécessaires de solution à examiner et de solution témoin.
- un récipient appelé chambre à chromatographie en matière transparente inerte, de dimensions appropriées aux plaques utilisées et muni d'un couvercle assurant une fermeture étanche.

1 – 2.4.4.2. Mode opératoire :

On verse dans la chambre une quantité de phase mobile suffisante pour obtenir une épaisseur de 5 mm à 10 mm de liquide. Les parois de la chambre sont tapissées avec du papier filtre qui devient par la suite humecté avec la phase mobile. On place ensuite le couvercle et on laisse le tout au repos pendant 1 heure à une température comprise entre 20 et 25° C.

Nous avons utilisé le mélange (Acétate d'éthyle – Méthanol – Eau) qui selon Solfo (1973), peut permettre une bonne séparation des différents constituants flavonoïques du notre extrait. Pour ce faire, notre phase mobile correspond à 9 volumes d'Acétate d'éthyle (9V), un volume de Méthanol (1V) et un volume d'eau (1V).

La deuxième étape consiste à déposer les solutions par taches circulaires de 2 à 6 mm de diamètre ou sous forme de bandes (20 mm sur 2 à 6 mm) à 20 mm environ du bord inférieur et à 20 mm au moins des bords latéraux d'une plaque. Les dépôts simultanés sont placés à une distance minimale de 15 mm les uns des autres sur une ligne parallèle au bord inférieur de la plaque.

Sur la plaque de CCM que nous avons préparé et à partir de la solution diluée à analyser (½ ml de l'extrait obtenu dissous dans 2 ml de méthanol absolu), des tâches circulaires d'environ 2 mm de diamètre ont été déposées.

Lorsque le solvant des solutions est évaporé, on place la plaque dans la chambre à chromatographie en position aussi verticale que possible de telle manière que les dépôts restent toujours au dessus du niveau de la phase mobile. La chambre est maintenue fermée à une température de 20 à 25°C jusqu'à ce que le solvant aura parcouru la distance de la migration délimitée sur la plaque. Enfin et lors de la dernière étape, on retire le plus attentivement possible la plaque et on procède à la révélation des chromatogrammes.

1 – 2.4.4.3. Révélation :

La révélation est faite sous une lampe à UV qui met en évidence la présence des flavonoïdes en provoquant une fluorescence brune mate des tâches obtenues.

– Calcul du rapport frontal :

Le calcul du rapport frontal (RF) nous permet éventuellement de connaître la nature des tâches observées des flavonoïdes. Ce rapport est défini comme suit :

$$RF = \frac{\text{La distance parcourue par la molécule}}{\text{La distance parcourue par la phase mobile}}$$

– Confirmation de la nature des tâches obtenues par CCM à l'aide du réactif de Chlorure d'Aluminium $AlCl_3$:

L'ajout de Chlorure d'Aluminium $AlCl_3$ à 2 % solubilisé dans du méthanol à 95° aux différentes tâches provoque l'apparition de couleurs jaune, jaune vert à ocre, caractéristiques des flavonoïdes et par conséquent, nous confirment la nature flavonoïque de l'extrait étudié.

1 – 2.5. Activité bactéricide

L'activité antibactérienne est réalisée par la méthode de l'aromatogramme, c'est une technique de laboratoire identique à celle de l'antibiogramme. Ce dernier sert à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques.

Dans la technique de l'aromatogramme, les antibiotiques sont remplacés par les substances naturelles extraites des drogues végétales (Flavonoïdes, huiles essentielles, tanins ...)

1 – 2.5.1. Principe de la méthode :

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir bactéricide de ou des substances actives extraites (principes actifs) qui consiste à déterminer le spectre d'activité de ces composés sur des espèces bactériennes pour essayer de vérifier la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes vis-à-vis de ces principes naturels.

Un disque imprégné du produit à tester est placé sur une gélose préalablement inoculée avec la souche, s'humidifie et le produit diffuse radialement du disque dans la gélose en formant ainsi un gradient de concentration. Après une incubation de 18 à 24 heures à une température de 37° C, si le produit est toxique pour l'espèce bactérienne, il se forme un halo ou une zone autour du disque. Plus grande est cette zone, plus l'espèce est sensible. Cette zone claire ou halo montre l'inhibition voire même la destruction du germe et évalue l'efficacité du produit testé.

1 – 2.5.2. Préparation des dilutions :

Dans le but de vérifier la sensibilité ou la résistance des différents germes étudiés face à ces composés naturels, des dilutions ont été préparées à partir de la solution mère des extraits flavonoïques et d'huiles essentielles en employant l'éthanol absolu comme solvant dont l'effet antibactérien reste encore à vérifier. Autrement dit, les solutions mères ont été diluées au ½ et au ¼ pour chacun des deux principes actifs testés.

Les solutions à tester sont :

HE pure (SM), HE au ½, HE au ¼.

Flav pur (SM), Flav au ½, Flav au ¼.

1 – 2.5.3. Préparation des suspensions bactériennes :

A partir des cultures bactériennes préalablement réactivées sur milieu Mueller-Hinton à une température de 37°C pendant 24 heures, on réalise des suspensions bactériennes pour chacune des souches étudiées dans de l'eau physiologique stérile.

Les suspensions obtenues sont homogénéisées de façon à obtenir une concentration de l'ordre 10⁶ à 10⁸ C.F.U/ml.

1 – 2.5.4. Ensemencement des souches bactériennes :

La méthode de l'ensemencement que nous avons adopté pour l'évaluation de l'activité bactéricide des différents principes actifs isolés de notre plante est la suivante :

- Plonger un écouvillon stérile dans le tube de la suspension préparée.
- Décharger la quantité forte de suspension en pressant l'écouvillon sur la paroi du tube.
- Repiquer en déplaçant en zig zag l'écouvillon sur la surface de milieu de haut en bas.
- Faire tourner la boîte de pétrie 60° et refait les mêmes étapes précédentes sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui même.
- Enfin passer l'écouvillon sur la bordure de gélose pour s'assurer que l'ensemencement est complet sur toute la surface de la gélose.

* Chaque essai a été réalisé en triplicata (3 répétitions pour chaque souche).

Une fois l'ensemencement terminé, on procède à l'application des disques préalablement imprégnés du produit à tester (pur et/ ou dilué).

Des disques témoins sont inclus dans les essais. Il s'agit dans ce cas de disques imprégnés d'eau distillée stérile et de disques d'antibiotique (la Rifampicine).

Les disques au nombre de 6, imprégnés des différents produits à tester, sont espacés de 24 mm centre à centre.

La manière dont sont disposés les disques est illustrée dans la figure suivante :

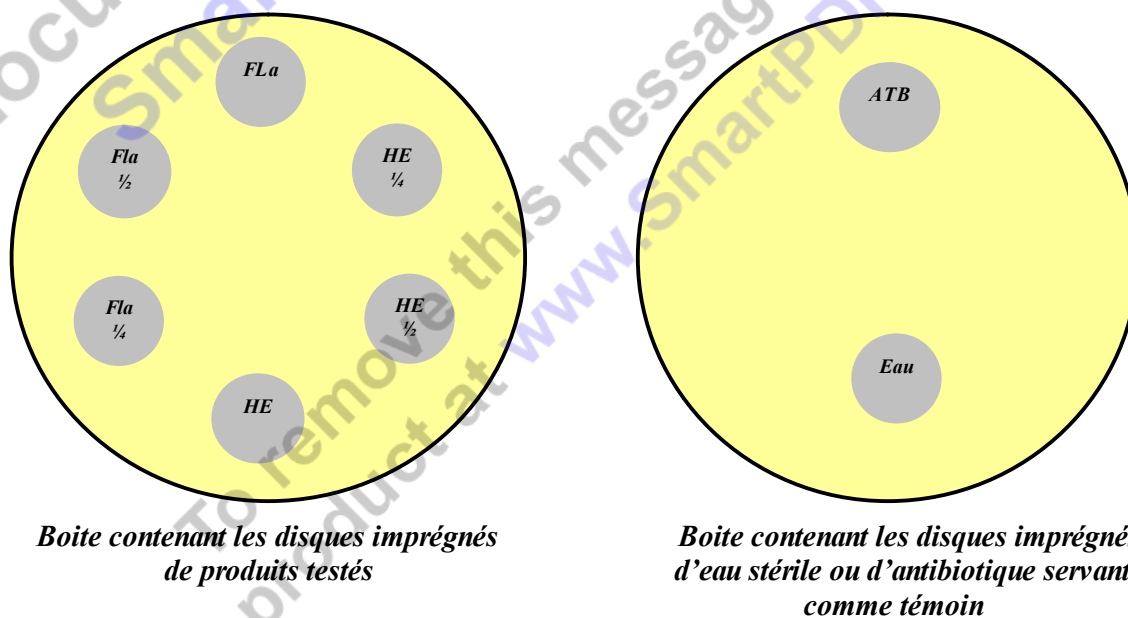


Figure 14: Manière dont sont disposés les disques sur milieu Mueller-Hinton.

Après une incubation de 24 à 48 h à une température de 37° C, on procède à la lecture qui consiste à évaluer l'effet bactéricide des produits testés en mesurant les diamètres des halos transparents formés autour des disques. Ces diamètres ont été exprimés en millimètre.

This document was created using
SmartPDF Creator

II - RESULTATS ET DISCUSSION

To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

II – RESULTATS ET DISCUSSION

2 – 1. Analyse des paramètres physicochimiques du sol

L'analyse pédologique du sol étudié nous a permis de déterminer les différents paramètres physicochimiques. Les valeurs de ces paramètres ont été répertoriées dans les tableaux ci-dessous:

Tableau 08: Valeurs des différents paramètres physicochimiques étudiés.

Paramètres Sol	pH _{eau}	pH _{KCl}	M.org (%)	Condu.électri (EC) (MS/ cm)	Texture
Sec et préalablement tamisé (fin) (<2mm)	7.57	7.38	1.904	0.15	Argilo-limoneuse

Tableau 09: Valeurs des différents éléments minéraux du sol analysé.

Calcaire total (%)	Calcaire actif (%)	Carbonates CO ₃ ⁻ (még/L)	Bicarbonates HCO ₃ ⁻ (még/L)	Sodium (Na) (még/L)	Potassium (K) (még/L)
24.1	01	00	13	1.86	2.19

Les valeurs enregistrées pour le pH_{eau} et le pH_{KCl} sont successivement de l'ordre de 7.57 et 7.38 ce qui indique selon l'échelle de Soltser (1981) qu'on est en présence d'un sol alcalin.

Le pourcentage de la matière organique calculé est situé dans la fourchette comprise entre 1 et 1.5 de l'échelle de Soltser (1981), et par conséquent nous pouvons dire que le sol étudié est de teneur faible en matière organique.

La conductivité électrique calculée est de 0.15 MS/ cm. Ce paramètre nous indique aussi le degré de la salinité du sol étudié. Si nous comparons la valeur retrouvée avec celles de l'échelle de salinité, on déduit alors qu'on est en présence d'un sol non salé.

Par ailleurs, les valeurs enregistrées pour le calcaire total et le calcaire actif sont respectivement de l'ordre de 24.1 et 1 %. Ceci, montre que le sol est assez riche en calcaire total.

On note également une absence totale des Carbonates (CO₃⁻) et un taux assez faible de bicarbonates (13 még/L). Quant aux Sodium et Potassium, ils ne dépassent pas les 2.19 még/L, tous ces chiffres enregistrés nous semblent tout à fait évidents puisqu'il s'agit d'un sol non salé.

Des pH basiques ainsi qu'une teneur faible en matière organique, un degré bas de salinité et un pourcentage élevé de calcaire total, caractérisent la qualité du sol étudié sur lequel est cultivée cette espèce végétale la Sauge officinale : *Salvia officinalis* L.

Ceci étant, la qualité d'un sol reste souvent difficile à déterminer à partir des paramètres physico chimiques par manque de précision et compte tenu, de l'insuffisance des données disponibles concernant les normes d'évaluation d'une part et les multiples interactions entre le sol et les facteurs climatiques et environnementaux d'autre part.

2 – 2. Etude histologique

L'étude histologique des différentes coupes réalisées à partir des différents organes végétatifs de l'espèce végétale étudiée (tige, feuille, racine) et leur observation au microscope optique nous a permis de reconnaître les différents tissus.

2 – 2.1. La tige :

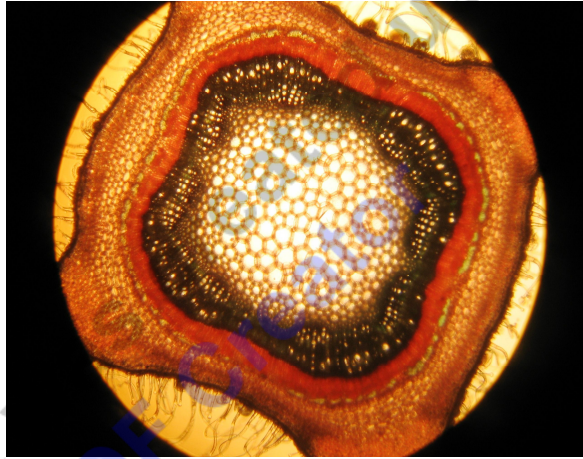


Figure 15: Coupe transversale de la tige de Salvia officinalis L. Vue générale (Gx10)

L'observation microscopique de cette coupe nous a révélée la forme quadrangulaire de la tige de cette espèce végétale ; caractéristique de la famille des Lamiacées. Pour mieux discerner la structure des tissus, les coupes observées ont été présentées sous des grossissements différents.

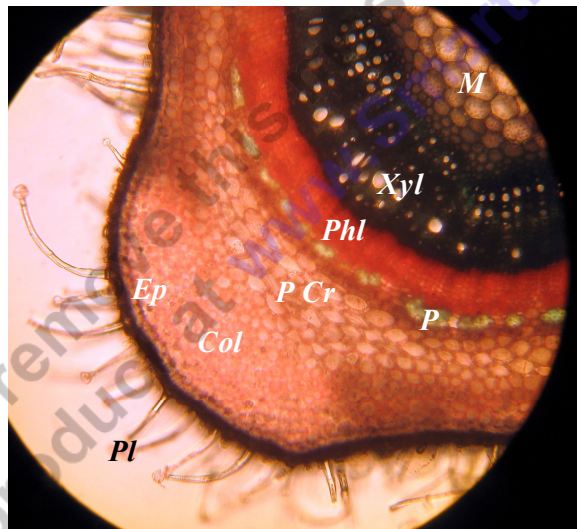


Figure 16: Vue générale d'un angle d'une coupe transversale de la tige de Salvia officinalis L. (Gx20)

Cette vue microscopique nous a permis d'identifier, de l'extérieur à l'intérieur, les différents tissus :

- Une assise de cellules dont la paroi extérieure protectrice est cutinisée (cuticule) : c'est l'épiderme. La plupart de leurs parois minces et celluloseuses sont prolongées par un poil (Pl) tecteur ou sécréteur.
- Sous l'épiderme, un collenchyme (Col) réparti dans la partie externe de la zone du parenchyme cortical (renforcement des angles des tiges des Lamiacées).
- Une couche suffisamment large située au dessous du collenchyme, formée de cellules moyennement allongées, de plusieurs assises cellulaires appliquées les unes contre les autres : c'est le parenchyme cortical (P Cr).
- Une couche présentée par une seule assise de cellules dont les parois sont moyennement lignifiées, elle forme un cercle délimitant les tissus du cylindre central et permettant une bonne distinction de la zone de conduction de la sève ; le péricycle (P).
- A l'intérieur du péricycle, les vaisseaux du xylème et du phloème sont superposés et soudés. Ils forment des faisceaux libéro-ligneux triangulaires, pointe tournée vers le centre où le phloème (Phl) est vers l'extérieur (teinte rose) et le xylème (Xyl) vers l'intérieur (teinte verte).
- Un tissu de remplissage de nature parenchymateuse formé au centre du cylindre central avec des cellules de taille plus grande que celle du parenchyme cortical : c'est la moelle (M).

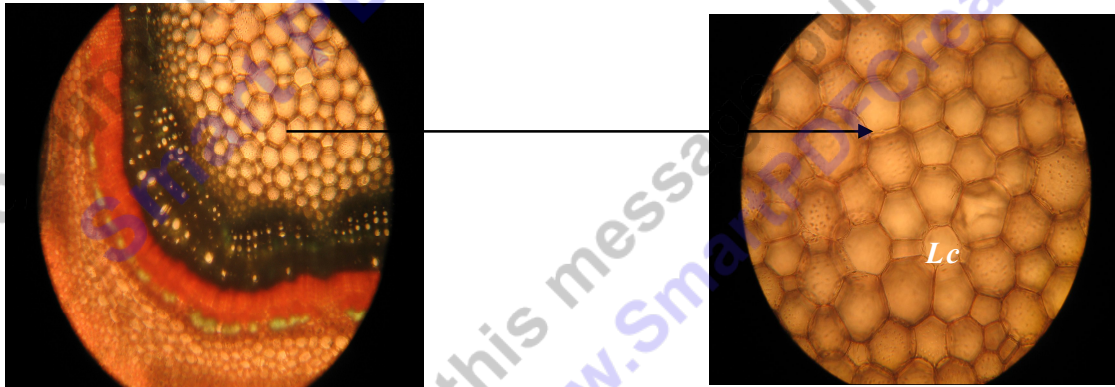


Figure 17: Coupe transversale de la tige de *Salvia officinalis* L. Détail Parenchyme médullaire (Moelle). (Gx20)

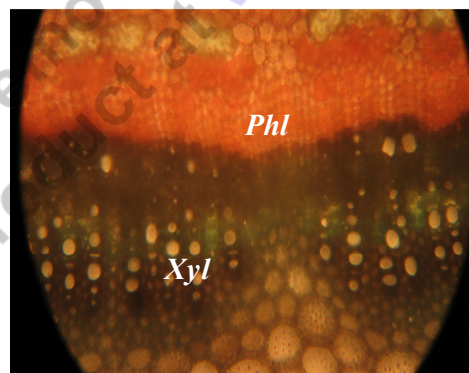


Figure 18: Coupe transversale de la tige de *Salvia officinalis* L. Détail Phloème et Xylème. (Gx40)

2 – 2.2. La feuille :

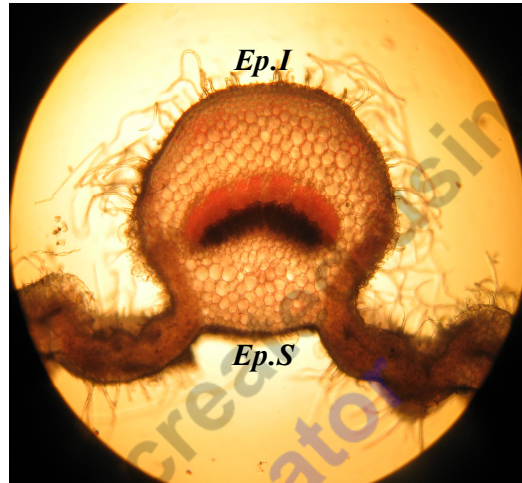


Figure 19: Coupe transversale de la feuille de *Salvia officinalis* L. Vue générale (Gx10)

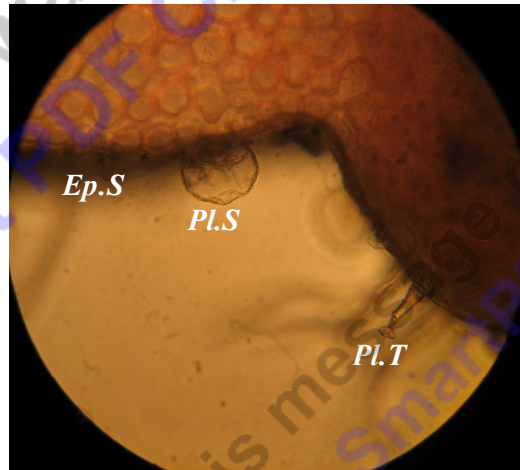


Figure 20: Vue générale de la face supérieure de la feuille de *Salvia officinalis* L. Détail Poils tecteurs et sécréteurs (Gx20)

L'examen au microscope d'une section transversale du limbe d'une feuille de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L. a révélé, de la face supérieure à la face inférieure, la présence des structures histologiques suivantes :

- Une assise de cellules aplaties dont la membrane extérieure est légèrement cutinisée : c'est l'épiderme supérieur (Ep.S). Les cellules de cette assise ont subi des elongations extérieures formant des poils sécréteurs (Pl.S) et des poils tecteurs (Pl.T).
- En dessous de l'épiderme, un tissu composé de deux assises de cellules jointives en forme de palissade : c'est le parenchyme palissadique (Pr.Pa).
- Un tissu composé de cellules arrondies, irrégulières, laissant entre eux des lacunes et avec de larges méats : c'est le parenchyme lacuneux (Pr.Lc).

- A la face inférieure une assise de cellules nettement moins cutinisées qu'à la face supérieure, trop riche en poils tecteurs que sécréteurs : c'est l'épiderme inférieur (Ep.I).

- Au niveau de la nervure principale qui occupe toute l'épaisseur du limbe, un faisceau libéro-ligneux s'est trouvé renforcé par les cellules du parenchyme lacuneux. Ce faisceau était formé de deux sortes de vaisseaux : les vaisseaux du xylème (Xyl) et ceux du phloème (Phl). Il joue un rôle de conducteur de la sève brute et élaborée.

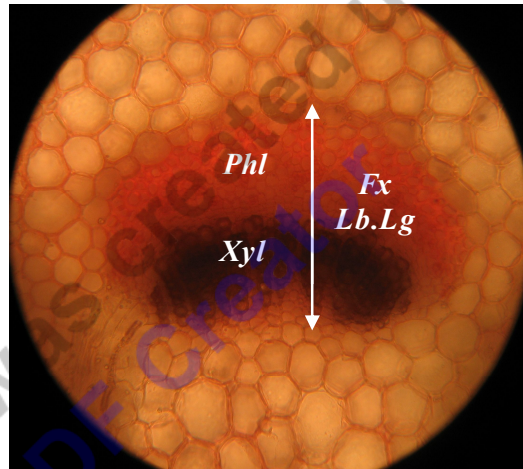
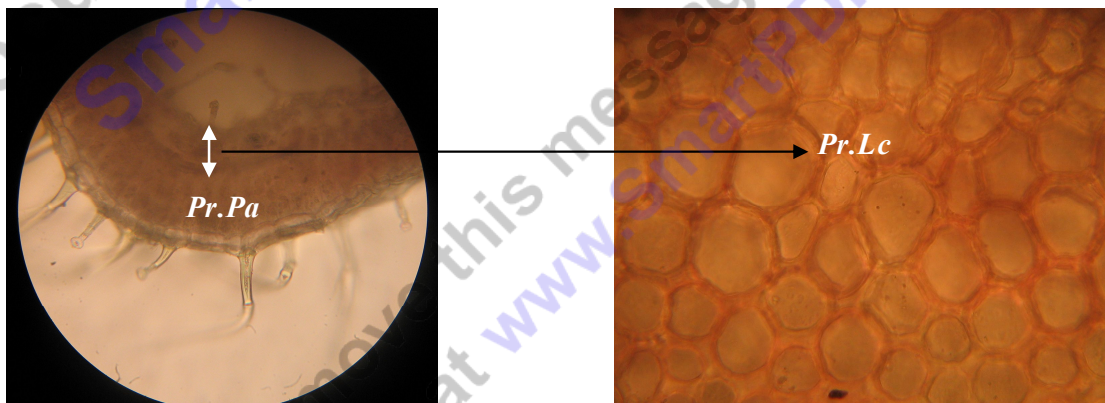


Figure 21: Coupe transversale de la feuille de Salvia officinalis L. Détail Xylème et Phloème (Gx40)



Détail Parenchyme palissadique (Gx20)

Détail Parenchyme lacuneux (Gx40)

Figure 22: Coupe transversale de la feuille de Salvia officinalis L. Détail des parenchymes foliaires (Mésophile)

2 – 2.3. La racine :

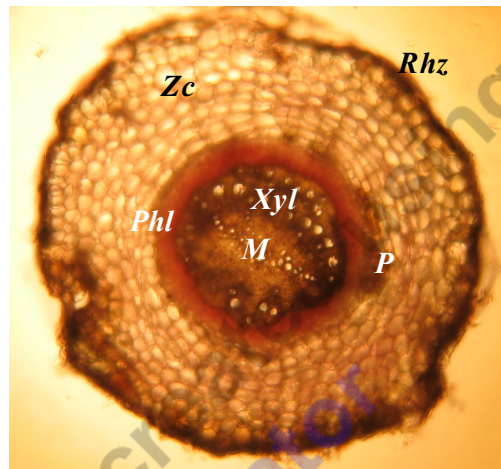


Figure 23: Coupe transversale de la racine de Salvia officinalis L. Vue générale (Gx10)

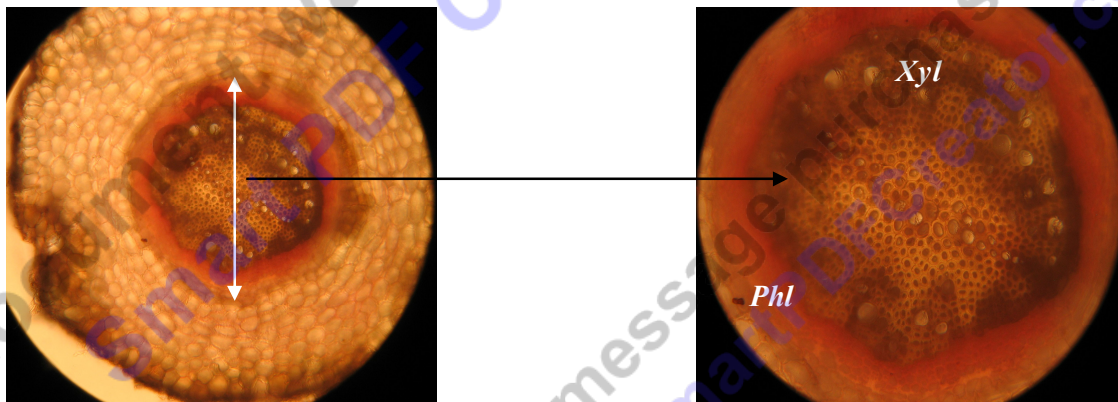


Figure 24: Coupe transversale de la racine de Salvia officinalis L. Détail Xylème et Phloème (Gx20)

L'étude histologique de la racine de cette plante n'a montré aucune spécificité structurale et a permis donc aisément d'identifier les différents tissus :

- De l'extérieur vers l'intérieur, une assise de cellules régulières, accolées les unes aux autres assurant la protection de la racine contre les agents extérieurs du sol : c'est le Rhizoderme (Rhiz).
- Une couche de cellules parenchymateuses étroitement accolées : c'est la zone corticale (Zc).
- Une assise de cellules régulières plus ou moins sclérifiées séparant les cellules de la zone corticale de celles du cylindre centrale : c'est le péricycle (P).
- Une alternance de faisceaux conducteurs de sève :
 - Les uns, arrondis et groupés en masses ovales, colorés en rose,
 - Les autres, plus allongés et groupés triangulairement, colorés en vert.
 Les premiers sont les vaisseaux du liber [vaisseaux du phloème (Phl)].
 Les seconds, sont les vaisseaux du bois [vaisseaux du xylème (Xyl)].
 Ils sont disposés en alternance.
- Une masse de cellules de remplissage, situées au centre : La moelle (M).

Cette étude histologique des différents organes aériens et souterrains de l'espèce végétale Salvia officinalis L. n'a montré aucune différence anatomique ou structurale avec les autres espèces de Sauge.

Cependant, devant la fréquence des poils sécréteurs et tecteurs et la richesse de cette plante en ces organes, il est donc intéressant de réaliser l'extraction notamment des huiles essentielles afin de déterminer le rendement et aussi pour confirmer si notre plante appartient à la catégorie des plantes aromatiques.

This document was created using
Smart PDF Creator
To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

2 – 3. Tests biochimiques préliminaires des feuilles

2 – 3.1. Teneur en eau :

Les valeurs enregistrées dans le calcul de cet important paramètre sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 10: Teneur en eau des feuilles de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L.

Teneur en eau (en g) dans 100g des feuilles fraîches	74.5 g
Pourcentage de la quantité d'eau dans 100g des feuilles fraîches	74.5 %

La quantité d'eau calculée à partir des feuilles fraîches de cette espèce végétale *Salvia officinalis* L. nous montre qu'elles sont riches en eau (74.5 g pour 100g des feuilles fraîches) avec un pourcentage d'humidité égale à 74.5 %.

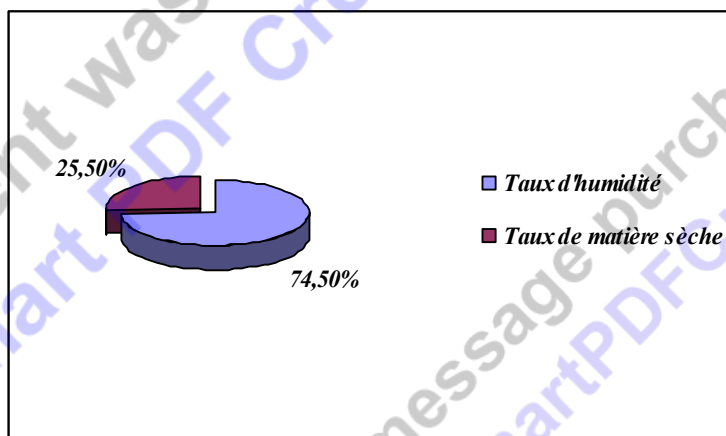


Figure 25: Taux d'humidité des feuilles fraîches de *Salvia officinalis* L.

2 – 3.2. Dosage des cendres totales :

Après une calcination complète de la quantité de drogue végétale utilisée, nous avons pu déterminer le taux de cendres totales qui a été de l'ordre de 8.5 % dans 100 g de drogue. Ceci traduit, selon les normes de la Pharmacopée Européenne (2005) qui signalent que la proportion des cendres dans les drogues végétales est en général de 3 à 6 %, que cette plante est riche en matière minérale.

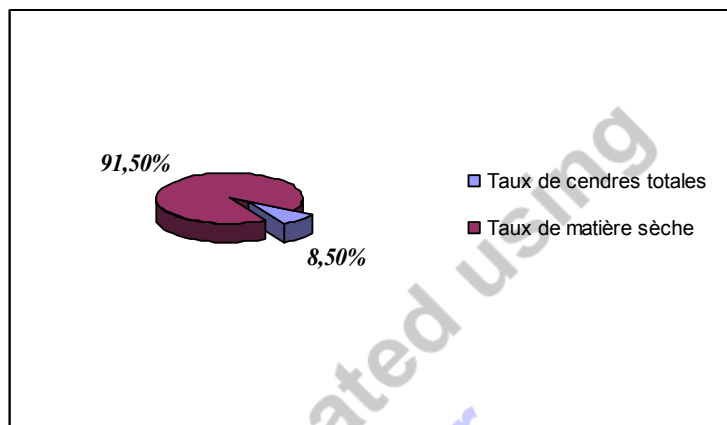


Figure 26: Taux de cendres totales des feuilles de *Salvia officinalis* L.

Les résultats des autres tests biochimiques préliminaires réalisés sur les feuilles séchées de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L. sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 11: Tableau récapitulatif des différents constituants chimiques des feuilles de *Salvia officinalis* L.

PRINCIPE ACTIF	FEUILLES
Tanins galliques	(+)
Saponosides	(+)
Anthocyanes	(-)
Leuco anthocyanes	(-)
Alcaloïdes	(-)
Flavonoïdes	(+)
Cardinolides	(+)
Terpènes et Stérols	(+)

(+) détecté, (-) non détecté

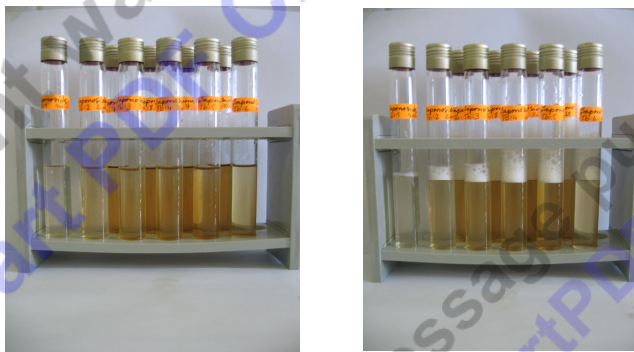
Les tests biochimiques préliminaires des différents composés des feuilles de cette espèce végétale nous ont permis d'apprécier la qualité biochimique de notre espèce. Autrement dit, ces tests ont mis en évidence la présence de cinq composés du métabolisme secondaire (tanins galliques, saponosides, flavonoïdes, cardinolides et terpènes et stérols) et l'absence de trois autres composés aussi importants : les anthocyanes, les leuco anthocyanes et les alcaloïdes.

Les composés du métabolisme secondaire ont été mis en évidence par des réactifs spécifiques dans les figures 27 à 34.

2 – 3.3. Recherche des tanins :

*Infusé de départ**Coloration bleu noirâtre du mélange.**Figure 27: Recherche des tanins dans les feuilles de Salvia officinalis L.*

2 – 3.4. Recherche des saponosides :

*Décocté de départ**Mousse d'environ 1cm dans le 3^{ème} tube.**Figure 28: Recherche des Saponosides dans les feuilles de Salvia officinalis L.*

2 – 3.5. Recherche des anthocyanes :

*Infusé de départ :**Infusé après action du réactif.**Figure 29: Recherche des Anthocyanes dans les feuilles de Salvia officinalis L.*

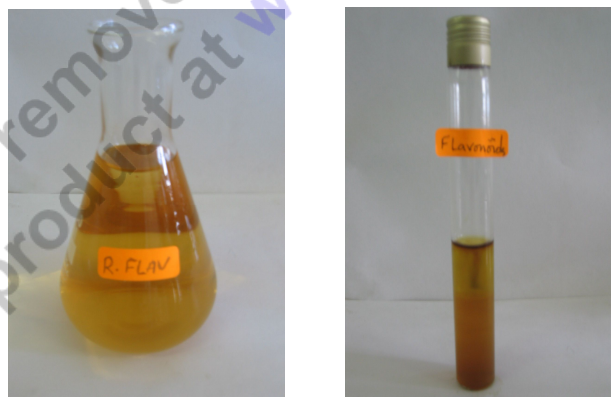
2 – 3.6. Recherche des leuco anthocyanes :

*Infusé de départ**Infusé après action du réactif.***Figure 30: Recherche des Leuco anthocyanes dans les feuilles de Salvia officinalis L.**

2 – 3.7. Recherche des alcaloïdes :

*Macérat de départ**Macérat après action du réactif.***Figure 31: Recherche des Alcaloïdes dans les feuilles de Salvia officinalis L.**

2 – 3.8. Recherche des flavonoides :

*Macérat de départ**Couleur jaune claire de la phase supérieure.***Figure 32: Recherche des Flavonoides dans les feuilles de Salvia officinalis L.**

2 – 3.9. Recherche des cardinolides :



*Coloration vert bleue
du mélange après traitement.*

Figure 33: Recherche des Cardinolides dans les feuilles de Salvia officinalis L.

2 – 3.10. Recherche des terpènes et stérols :



*Un cercle gris entre les
deux liquides après traitement.*

Figure 34: Recherche des Terpènes et Stérols dans les feuilles de Salvia officinalis L.

2 – 4. Extraction, séparation et identification des principes actifs

2 – 4.1. Extraction des huiles essentielles :

Les teneurs obtenues en huiles essentielles pour les trois répétitions réalisées sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau 12: Teneurs en huiles essentielles extraites des feuilles de Salvia officinalis L.

Répétition	1 ^{ère} répétition	2 ^{ème} répétition	3 ^{ème} répétition	Teneur moyenne
Teneur en ml	1.32	1.36	1.88	1.52

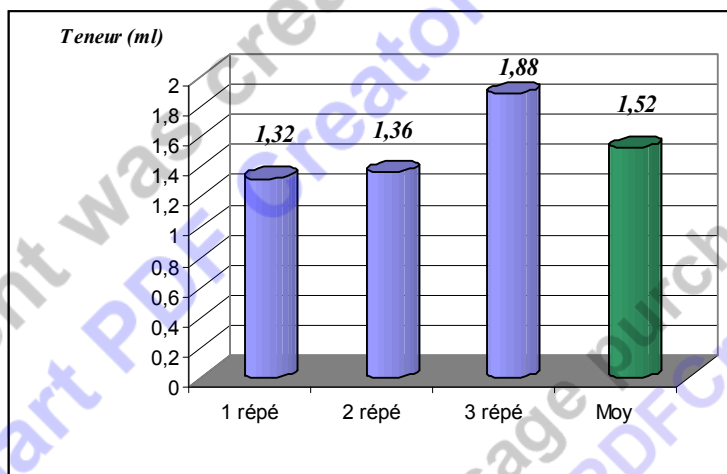


Figure 35: Teneur en huiles essentielles des feuilles de Salvia officinalis L.

La teneur en huiles essentielles des feuilles récoltées de cette espèce végétale Salvia officinalis L. a été de l'ordre de 1.52 ml pour 100 g de matière sèche, ce qui correspond au rendement de 1.52 %. C'est un taux assez important puisque le taux d'huiles essentielles dans toute plante aromatique ne dépasse pas 3 à 4 %.

Ces huiles essentielles extraites ont été de densité plus importante que celle de l'eau, d'un aspect liquide limpide fluide et mobile, de couleur jaune pâle et d'odeur agréable.

2 – 4.1.1. D.E.R :

Le résultat obtenu pour le D.E.R en fin de l'extraction des huiles essentielles a été de l'ordre de 100 : 1.52. Ce rapport signifie une teneur de 1.52 % en substances extractives dans le produit concerné.

2 – 4.2. Séparation et identification des huiles essentielles :

Le profil du chromatogramme obtenu à partir de l'analyse des huiles essentielles extraites des feuilles des Salvia officinalis L. a été reporté dans la figure 36 :

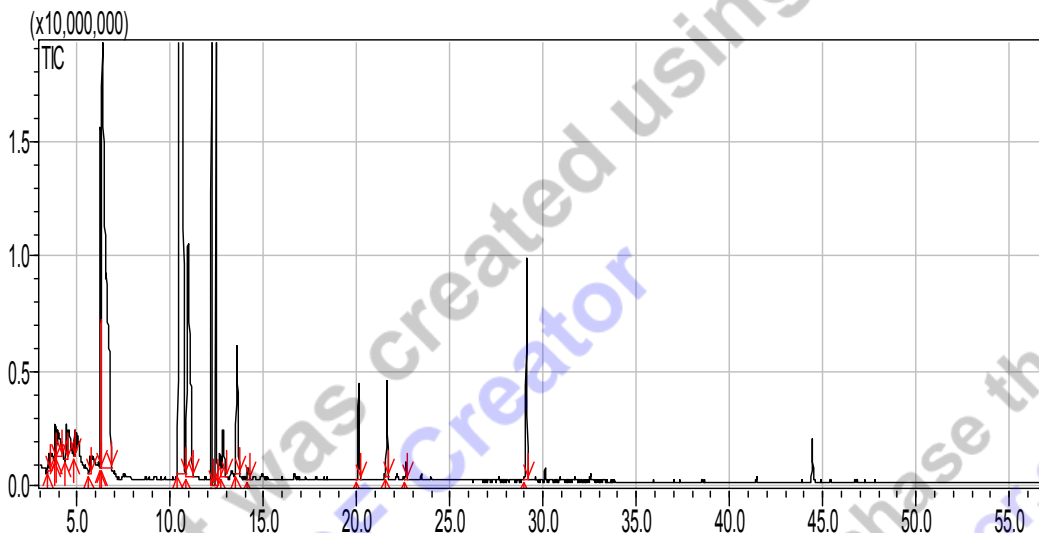


Figure 36: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenu par CG/SM

Le chromatogramme obtenu par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/ SM) a révélé la présence de 19 composés terpéniques dans cette huile essentielle de l'espèce Salvia officinalis L. D'après le temps de rétention et la superficie du pic, nous avons pu identifier la nature de ces différents composés dont le plus abondant est l' α -Thujone (36.74 %), suivi du Cinéole (22.97 %), du Camphre avec une teneur moindre (11.34 %). La β -Thujone vient en 4^{ème} position avec uniquement un pourcentage de 8.81 %.

On noté également la présence de composés terpéniques non négligeables avec une teneur comprise entre 2.94 et 3.81 % tels que le Bornéol, la β -Humulène, l'Eucalyptol et le L-Camphre. Le reste des composés identifiés ont des teneurs relativement faibles avec des valeurs comprises entre 0.20 % pour le D-Limonène et 1.54 % pour le Caryophyllène.

Sur la base du temps de rétention, la surface du pic de l'échantillon et la surface du pic de l'étalon, nous avons dressé une liste des composés identifiés :

Tableau 13: Liste des différents composés terpéniques séparés et identifiés de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

N° de pic	Temps de Réention (TR)	Superficie (%)	Nom de composé
1	3.460	0.22	α -Pinène
2	3.822	0.41	Camphène
3	3.951	1.06	Ocimène
4	4.409	0.37	β -Pinène
5	4.859	0.25	β -Myrcène
6	5.667	0.20	D-Limonène
7	6.253	3.27	Eucalyptol
8	6.345	22.97	Cinéole
9	10.525	36.74	α -Thujone
10	10.950	8.81	β -Thujone
11	12.247	11.34	Camphre
12	12.435	3.81	L-Camphre
13	12.816	1.10	β -Linalool
14	13.560	2.94	Bornéol
15	14.166	0.25	α -terpenéol
16	20.106	1.54	Caryophyllène
17	21.617	1.34	α -caryophyllène
18	22.638	0.23	α -longipinène
19	29.112	3.15	β -Humulène

2 – 4.3. Extraction des flavonoides :

L'extraction des flavonoides à partir des feuilles séchées de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L. a donné un rendement de l'ordre de 0.41 g pour 10 g de drogue, ce qui correspond à un taux de 4.1 %.

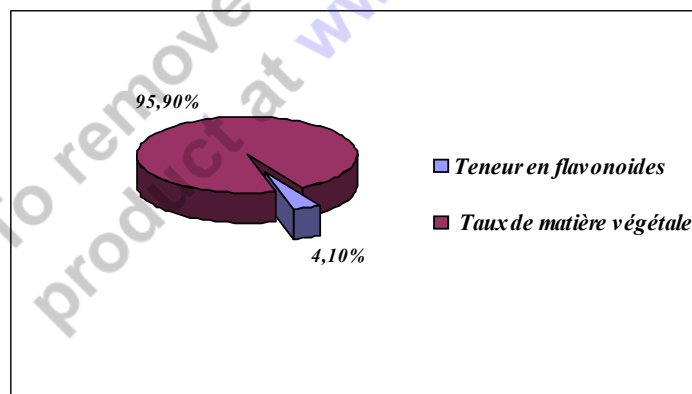


Figure 37: Teneur en flavonoides des feuilles de *Salvia officinalis* L.

2 – 4.3.1. D.E.R :

Le rapport de D.E.R pour ce principe actif correspond à 10 : 0.41. Ceci confirme le taux des flavonoïdes extraits à partir des feuilles de *Salvia officinalis* L. qui a été égal à 4.1 %.

Ce rapport peut éventuellement nous traduire la qualité de la drogue utilisée en fonction des substances extractives concernées.

2 – 4.4. Séparation et identification des flavonoïdes :

L'analyse par chromatographie sur couche mince et l'observation des chromatogrammes de l'extrait flavonoïque de notre plante sous une lampe à UV nous ont permis de noter la présence de constituants actifs à 254 nm et des fluorescences à 366 nm. Les tâches et les fluorescences observées de différentes couleurs (Tableau 14) nous informent, après révélation des chromatogrammes avec $AlCl_3$, sur la présence de flavonoïdes dans les feuilles de notre espèce végétale.

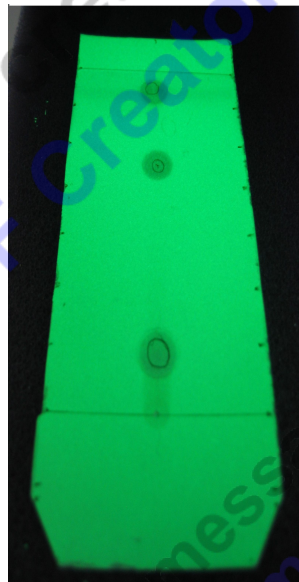


Figure 38: Analyse par chromatographie sur couche mince de l'extrait flavonoïque des feuilles de *Salvia officinalis* L.

Tableau 14: Couleurs de différentes tâches obtenues par CCM après l'action du Chlorure d'Aluminium ($AlCl_3$ à 2 %).

Couleur	Avant ajout de $AlCl_3$ à 2 %	Après ajout de $AlCl_3$ à 2 %
Tâche 1	Brune mate	Jaune verte
Tâche 2	Brune mate	Jaune claire
Tâche 3	Brune mate	Ocre

Trois couleurs différentes ont été détectées en présence du réactif du Chlorure d'Aluminium : tâche jaune verte, tâche jaune claire et tâche ocre. Ceci peut éventuellement signifier que la feuille de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L. contient trois composés ou groupes de composés flavonoïques différents.

– Calcul du rapport frontal :

Tableau 15: Valeurs des rapports frontaux des différentes tâches observées.

Tâche n°	Rapport frontal	RF
Tâche 1		0.128
Tâche 2		0.642
Tâche 3		0.928

Les valeurs des rapports frontaux des trois tâches obtenues après migration le long de la plaque ont été de 0.128, 0.642 et 0.928.

Après la séparation chromatographique sur couche mince des différents constituants flavonoïques de notre extrait végétal, le passage à l'identification nécessite la présence de produits étalons à partir desquels on définit avec précision la composition de l'extrait étudié.

Nous n'avons pas pu identifier la nature de ces composés flavonoïques par manque de produits étalons.

L'extraction de deux grands groupes, les huiles essentielles et les flavonoïdes nous a permis d'obtenir un haut rendement atteignant 4.1 % pour les flavonoïdes et un rendement aussi important de l'ordre de 1.52 % pour les huiles essentielles.

La séparation et l'identification par CG/SM ont détecté la présence de 19 composés terpéniques avec une prédominance de l' α -Thujone (36.74 %), Cinéole (22.97 %), Camphre (11.34 %) et de la β -Thujone avec uniquement un pourcentage de 8.81 %. La liste pourrait s'allonger et s'améliorer en fonction de la disponibilité des produits étalons.

Les flavonoïdes extraits n'ont pas fait l'objet d'une analyse par CG/SM. L'analyse par CCM a tout de même révélé la présence de trois composés ou groupes de composés flavonoïques ayant des rapports frontaux compris entre 0.128 et 0.928.

En se référant à d'autres travaux réalisés par Brieskorn (1991) sur la même espèce végétale Sauge officinale dont les rendements en huiles essentielles varient de 1 à 2.5 % avec plus de Thujone (60 % : mélange composé de α - et β -Thujone), on a remarqué que les rendements retrouvés ont été à peu près similaires. Par contre, ils ont été différents de ceux élucidés par Fleurentin (2008) sur la Sauge officinale de L'Espagne dont le Chémotype a été composé d'une prédominance du Camphre (11 à 36 %), suivi du Cinéole (11 à 25 %) et très peu de Thujone (< 0.5 %).

Cette divergence dans les résultats a bien expliqué le rôle que peuvent jouer les facteurs environnementaux et climatiques sur la composition biochimique et sur la qualité de l'extrait de l'espèce végétale.

2 – 5. *Activité bactéricide :*

L'évaluation de l'activité bactéricide des différents produits extraits des feuilles de l'espèce végétale étudiée vis-à-vis des souches bactériennes utilisées à travers les tests in vitro, a montré une énorme hétérogénéité dans les résultats obtenus.

Le degré de l'activité bactéricide varie en fonction de l'espèce végétale concernée, la nature et la concentration du produit testé.

Les valeurs des différents diamètres des zones ou halos d'inhibition de la croissance des bactéries vis-à-vis d'une part, des produits extraits des feuilles de l'espèce végétale Salvia officinalis L. (huiles essentielles et flavonoïdes) et d'autre part des produits témoins (eau distillée et antibiotique) sont représentées dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 16: Valeurs des différents diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la croissance des bactéries vis-à-vis des produits extraits des feuilles de Salvia officinalis L.

<i>Bactérie</i>	<i>Flavonoïdes</i>			<i>Huiles essentielles</i>		
	<i>Flav pur</i>	<i>Flav ½</i>	<i>Flav ¼</i>	<i>HE pure</i>	<i>HE ½</i>	<i>HE ¼</i>
<i>Escherichia coli 12</i>	22.65	21.40	22.70	27.40	27.50	19.35
<i>Escherichia coli 1554</i>	17.40	24.16	34.50	23.32	34.48	28.04
<i>Escherichia coli 1429</i>	11.32	23.34	39.40	31.56	33.62	29.64
<i>Escherichia coli ATCC 25922</i>	10.00	12.00	14.70	13.40	12.65	29.35
<i>Pseudomonas aeruginosa 7244</i>	11.50	14.00	12.70	05.40	10.00	15.50
<i>Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853</i>	06.70	30.20	45.92	37.08	31.22	30.54
<i>Entérobactériacée 1520</i>	06.00	25.72	34.42	27.56	27.28	24.14
<i>Proteus 22M</i>	25.12	29.44	31.66	24.32	26.74	29.96
<i>Staphylococcus aureus</i>	15.40	15.50	17.40	24.00	22.65	21.45

Tableau 17: Valeurs des différents diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la croissance des bactéries vis-à-vis des produits témoins.

<i>Bactérie</i>	<i>Témoin</i>	<i>Eau distillée stérile</i>	<i>Antibiotique (Rifampicine)</i>
<i>Escherichia coli 12</i>		00.00	00.00
<i>Escherichia coli 1554</i>		00.00	27.72
<i>Escherichia coli 1429</i>		00.00	30.50
<i>Escherichia coli ATCC 25922</i>		00.00	00.00
<i>Pseudomonas aeruginosa 7244</i>		00.00	00.00
<i>Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853</i>		00.00	27.42
<i>Entérobactériacée 1520</i>		00.00	21.68
<i>Proteus 22M</i>		00.00	28.32
<i>Staphylococcus aureus</i>		00.00	40.00

Le tableau n° 16 montre qu'il y a une grande variabilité dans les résultats obtenus. Les souches bactériennes utilisées ont réagi plus ou moins bien selon la nature et la concentration du produit végétal extrait des feuilles de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L.

De manière générale, les concentrations les moins élevées des deux principes testés (huiles essentielles et flavonoïdes) ont provoqué un effet inhibiteur plus important de la majorité des souches.

Flavonoïdes :

Les trois souches d'*Escherichia coli* (*Escherichia coli* 12, *Escherichia coli* 1554, *Escherichia coli* 1429) semblent être plus sensibles aux flavonoïdes dilués au $\frac{1}{4}$. On a enregistré pour cela, des diamètres des zones d'inhibition compris entre 22.70 et 39.40 mm. Le germe *Proteus* 22M a réagi également de façon similaire avec une zone d'inhibition de l'ordre de 31.66 mm vis-à-vis des flavonoïdes dilués au $\frac{1}{4}$ contre 25.12 mm de diamètre pour les flavonoïdes purs. La même chose a été observée pour la souche d'Entérobactériacées 1520 avec une valeur de 34.42 mm de diamètre inhibé.

Quant aux deux espèces *Pseudomonas aeruginosa* 7244 et *Staphylococcus aureus*, elles semblent être plus résistantes aux flavonoïdes dilués au $\frac{1}{4}$ puisqu'on a enregistré des zones d'inhibition moins étendues variant entre 12.70 et 17.40 mm. La souche *Pseudomonas aeruginosa* 7244, bien que fortement résistante à l'antibiotique Rifampicine (0 mm de diamètre), s'est révélée plus affectée par les différentes concentrations utilisées de flavonoïdes, avec un effet plus prononcé en présence de la première dilution (flavonoïdes au $\frac{1}{2}$) avec un halo transparent dont le diamètre atteint 14 mm.

Huiles essentielles :

Les huiles essentielles semblent être légèrement plus efficaces que les flavonoïdes sauf pour les concentrations minimales (HE au $\frac{1}{4}$).

Les meilleures zones d'inhibition ont été cependant obtenues avec la solution diluée de moitié (HE au $\frac{1}{2}$) et ont dépassé tout de même celles enregistrées avec les flavonoïdes dilués au $\frac{1}{2}$, les valeurs ont été comprises entre 12.65 et 34.48 mm de diamètre pour les quatre souches d'*Escherichia coli* dont le meilleur résultat a été observé pour la souche d'*Escherichia coli* 1554 avec 34.48 mm de diamètre d'inhibition contre 24.16 mm vis-à-vis des flavonoïdes dilués au $\frac{1}{2}$. Cette d'inhibition (34.48 mm) a été tout de même de loin plus importante que celle notée avec l'antibiotique (27.72 mm de diamètre).

Le germe *Staphylococcus aureus* n'a montré aucune sorte de résistance face à l'antibiotique utilisé dont la surface inhibée atteint 40 mm de diamètre. Toutefois, il semble légèrement sensible aux différentes dilutions des huiles essentielles avec 22.65 mm de surface inhibée pour les HE diluées au $\frac{1}{2}$ et 21.45 mm pour celles diluées au $\frac{1}{4}$.

Le germe *Pseudomonas aeruginosa* 7244 qui a été complètement insensible à l'antibiotique utilisé (la Rifampicine) n'arrive pas à se développer face à ces huiles essentielles qui ont limité sa croissance sur une zone atteignant 15.50 mm de diamètre en présence des huiles essentielles diluées au $\frac{1}{4}$ et 10 mm de diamètre lorsqu'il a été mis en contact avec l'extrait dilué au $\frac{1}{2}$.

Une efficacité non négligeable des huiles essentielles contre le germe *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 qui est réputé pour sa résistance face à la plupart des antibiotiques. Les diamètres mesurés autour des disques ont été de l'ordre de 30.54 mm pour les HE diluées au $\frac{1}{4}$ et de 31.22 mm pour celles diluées au $\frac{1}{2}$ contre uniquement 27.42 mm de diamètre pour ce qui concerne le seul antibiotique (Rifampicine) testé au cours de cette étude.

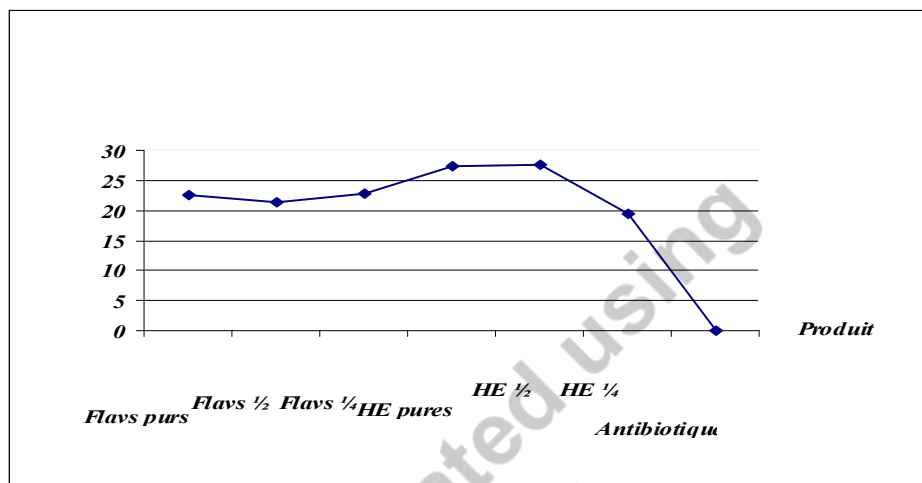


Figure 39: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance d'Escherichia coli 12 vis-à-vis des produits testés.

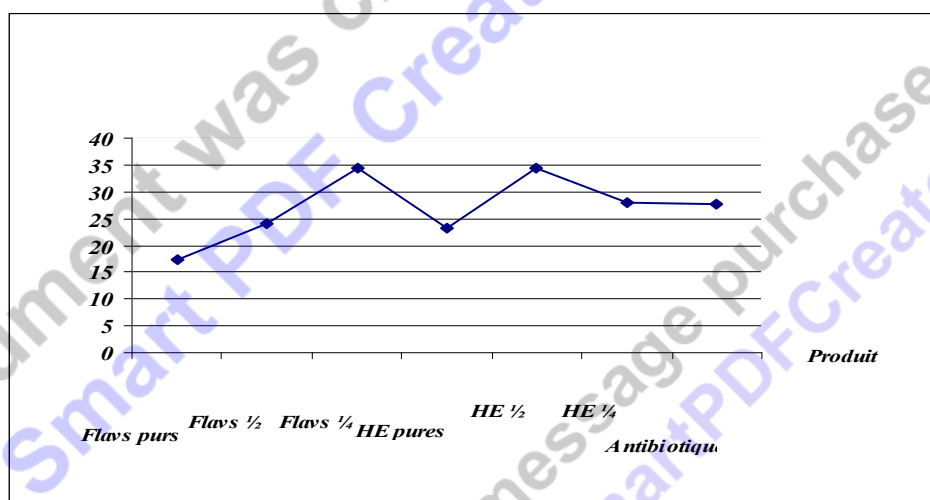


Figure 40: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance d'Escherichia coli 1554 vis-à-vis des produits testés.

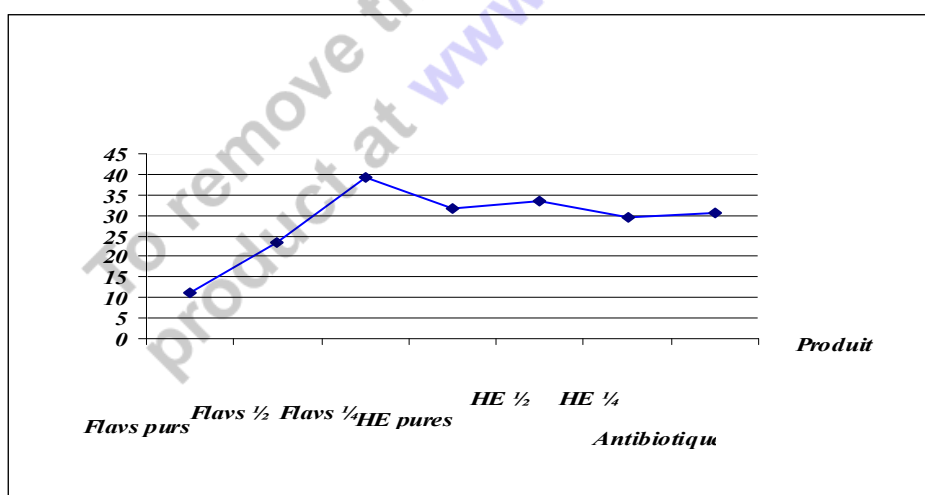


Figure 41: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance d'Escherichia coli 1429 vis-à-vis des produits testés.

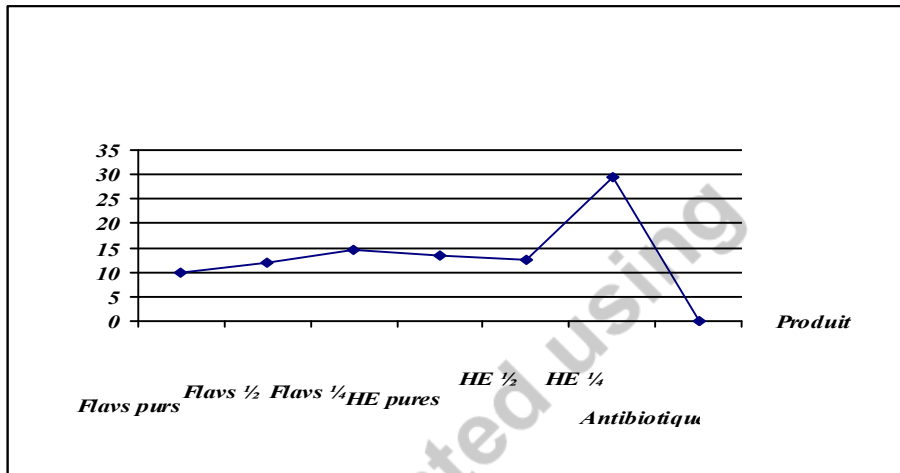


Figure 42: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance d'Escherichia coli ATCC 25922 vis-à-vis des produits testés.

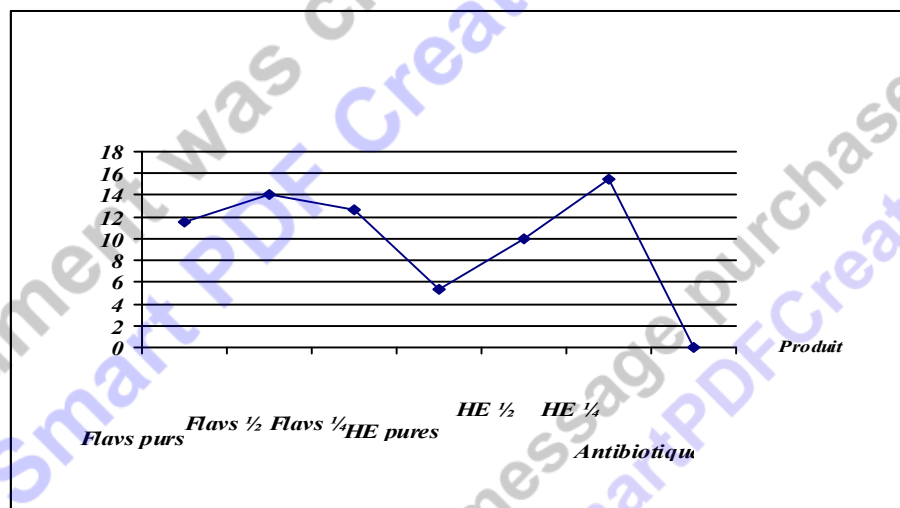


Figure 43: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance de Pseudomonas aeruginosa 7244 vis-à-vis des produits testés.

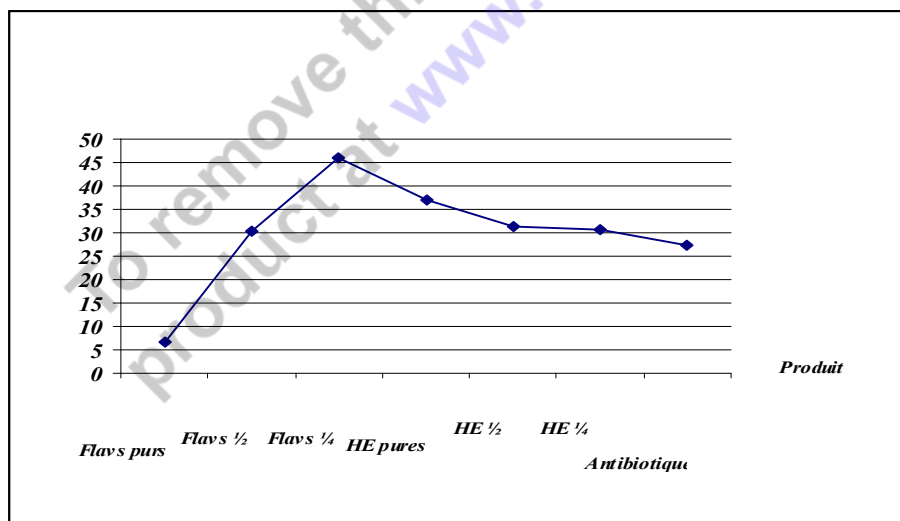


Figure 44: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance de Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 vis-à-vis des produits testés.

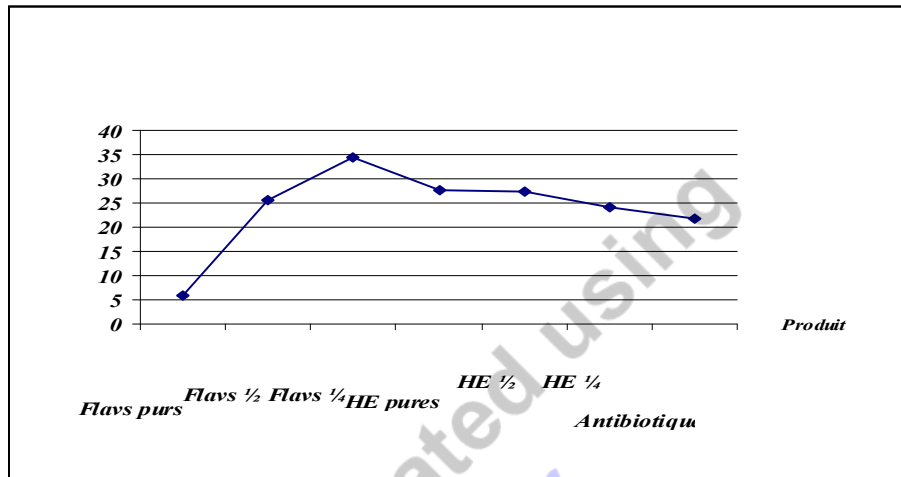


Figure 45: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance d'Entérobactériacée 1520 vis-à-vis des produits testés.

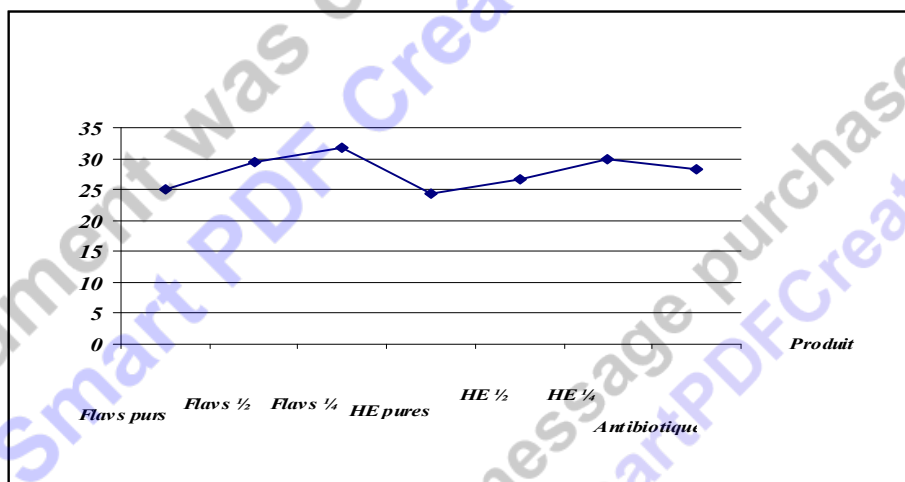


Figure 46: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance de Proteus 22M vis-à-vis des produits testés.

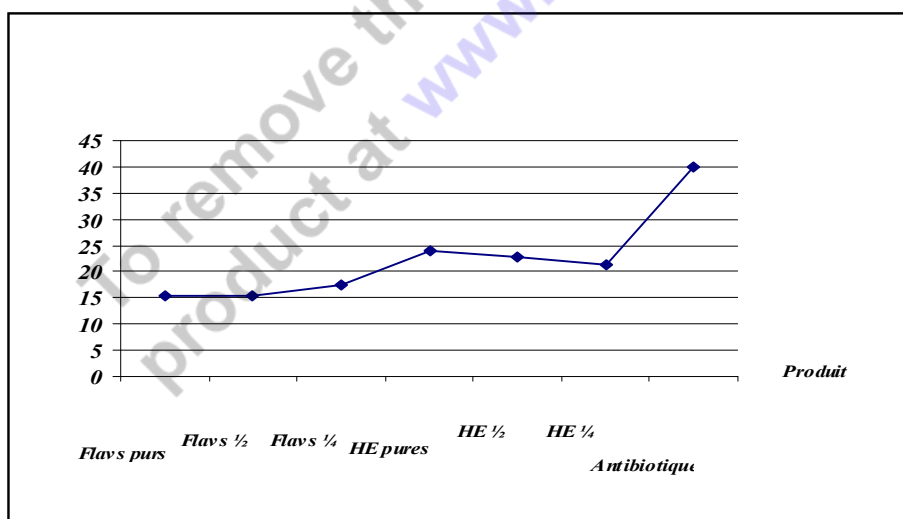


Figure 47: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance de Staphylococcus aureus vis à-vis des produits testés.

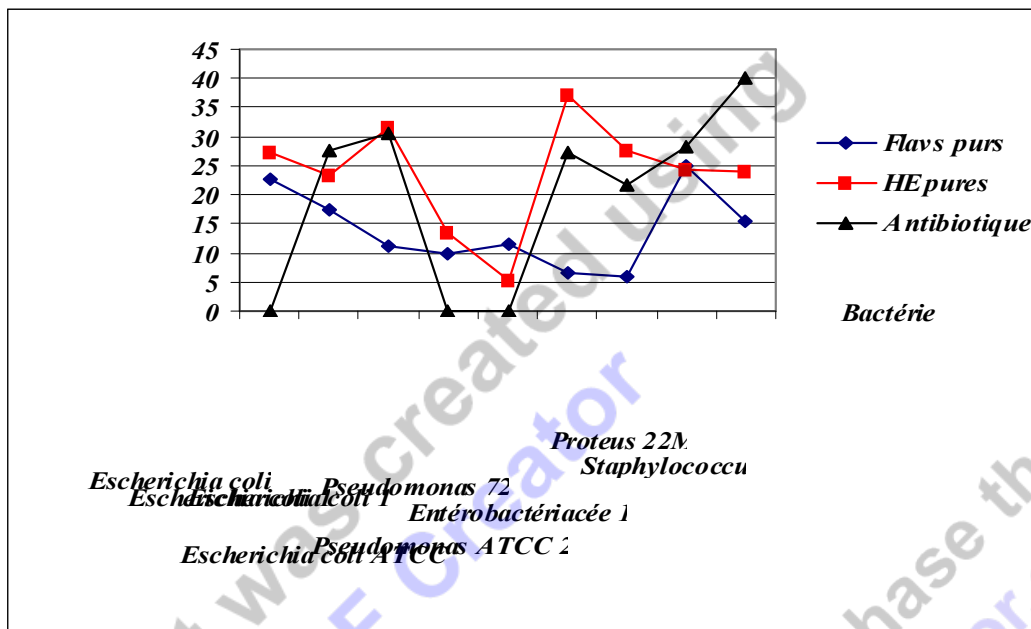


Figure 48: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance des bactéries utilisées vis-à-vis des produits purs testés.

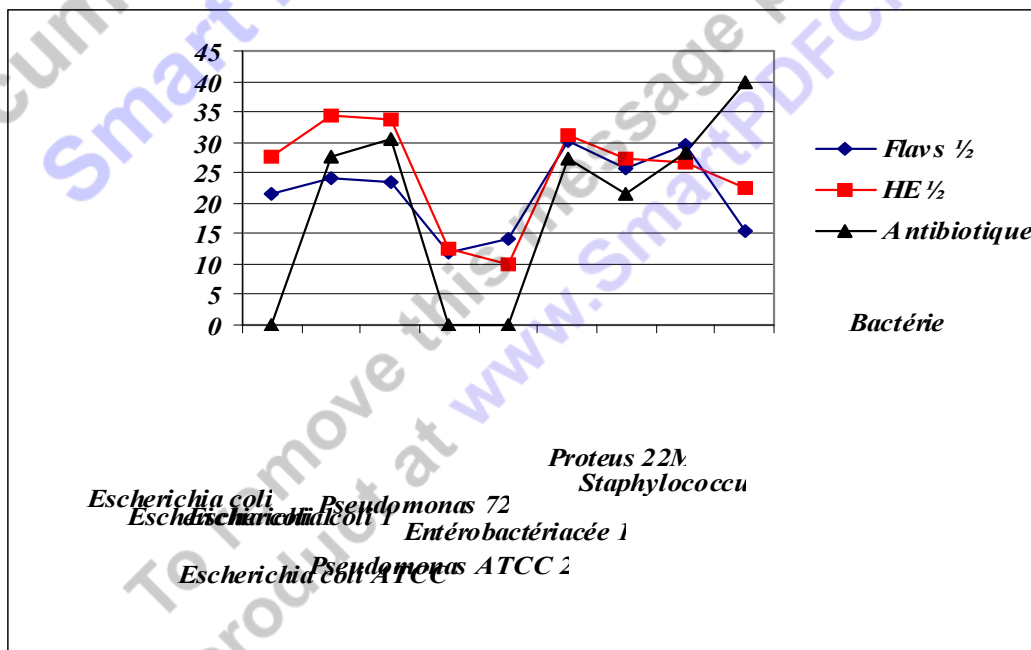


Figure 49: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance des bactéries utilisées vis-à-vis des produits dilués au 1/2.

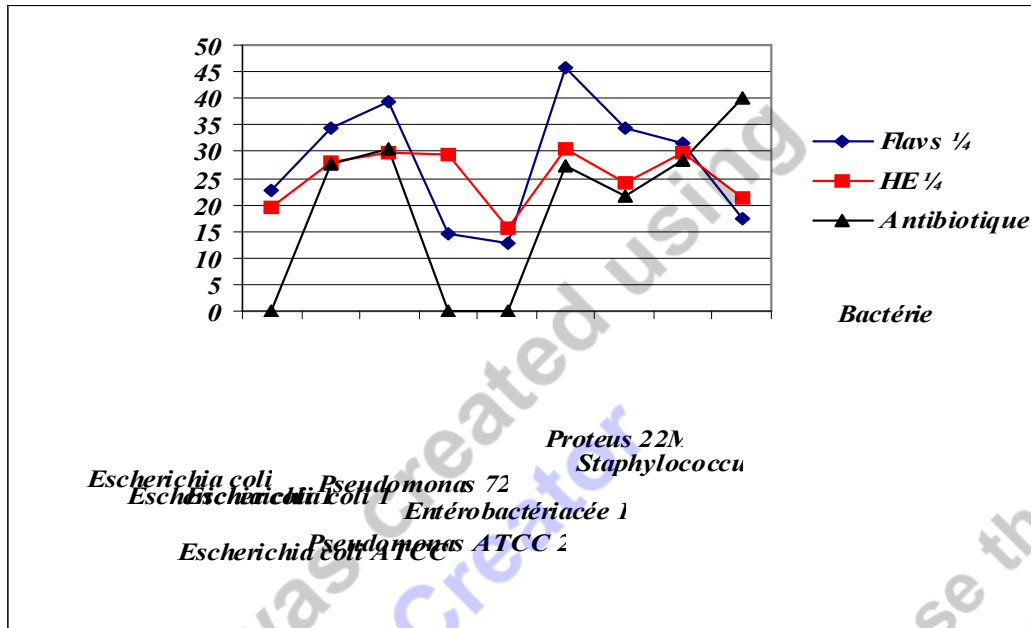
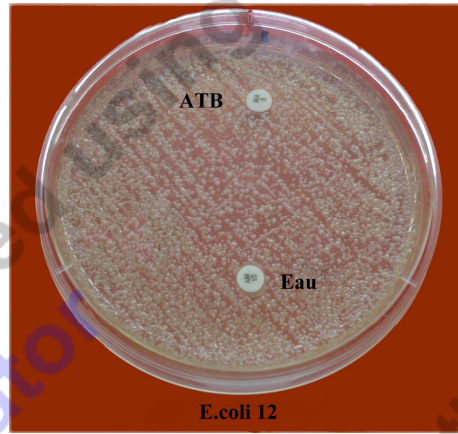
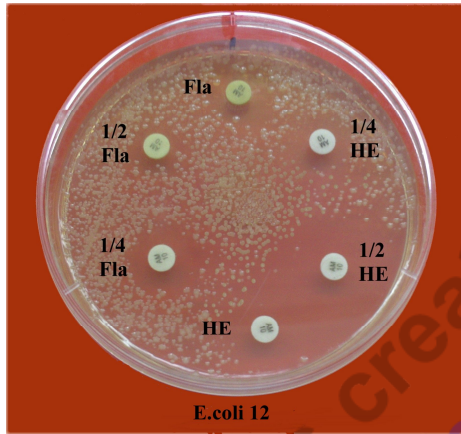


Figure 50: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance des bactéries utilisées vis-à-vis des produits dilués au 1/4.

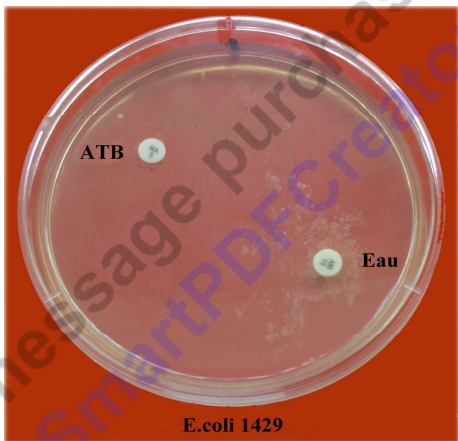
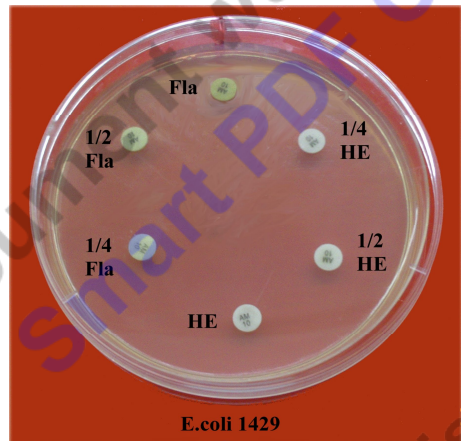
PRODUITS TESTES

PRODUITS TEMOINS



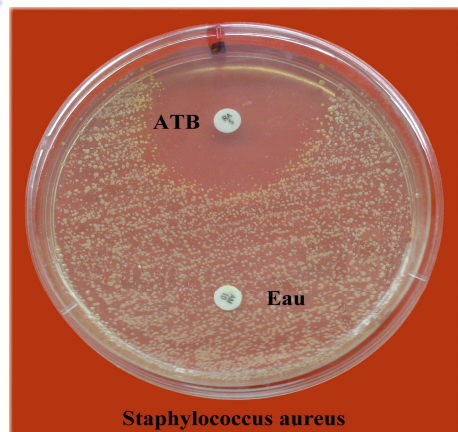
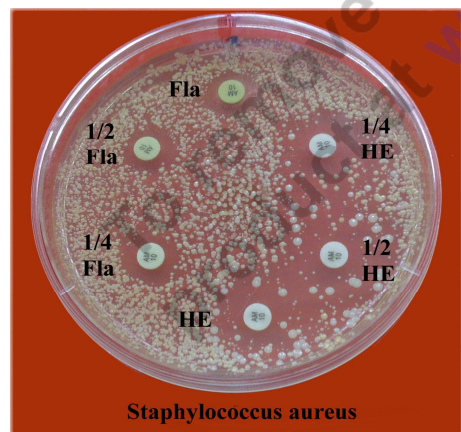
Escherichia coli 12

Escherichia coli 12



Escherichia coli 1429

Escherichia coli 1429



Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus

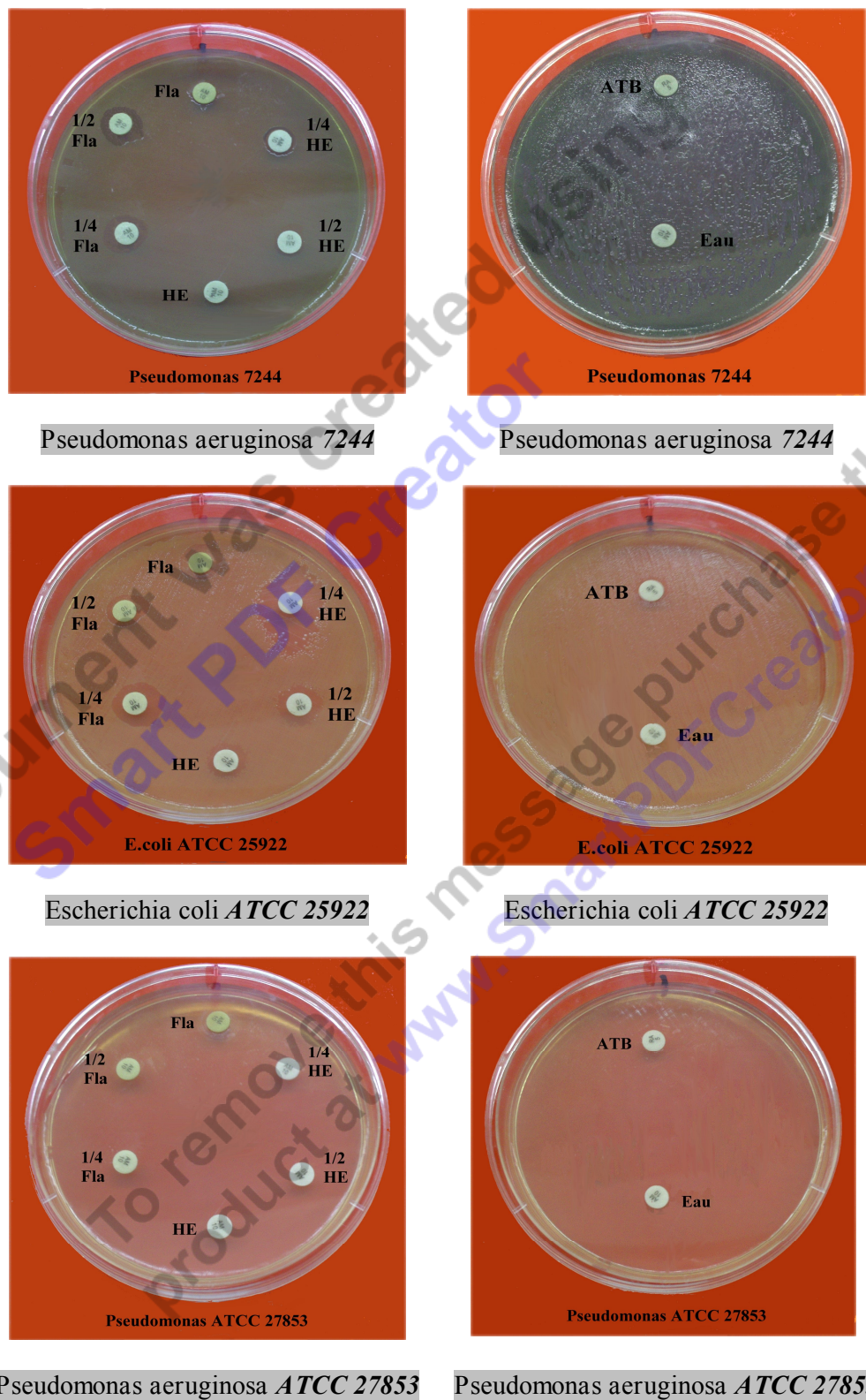


Figure 51: Présentation des résultats de l'activité bactéricide des produits extraits des feuilles de Salvia officinalis L.

D'une manière globale, les huiles essentielles semblent être plus efficaces contre la majorité des souches étudiées, notamment à la dilution au 1/2. Des résultats meilleurs que ceux obtenus en présence de l'antibiotique la rifampicine ont été enregistrés ; même les souches multirésistantes telles que Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa ont été quelque peu affectées face à l'extrait d'huiles essentielles diluées au 1/2, par contre les dilutions au 1/4 ont été moins efficaces. Néanmoins, les diamètres des halos formés autour des disques ne sont pas négligeables tel est le cas par exemple de Staphylococcus aureus (21.45 mm) et de Pseudomonas aeruginosa 7244 (15.50 mm) contre (0 mm) pour l'antibiotique.

Parmi toutes les souches testées, celle de Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 a attiré le plus notre attention vue sa grande performance face à la grande variété d'antibiotique, elle s'est révélée ici sous l'action des huiles essentielles de Salvia officinalis L. moins performante. Sa croissance est affectée par des surfaces très étendues (30.54 mm pour les huiles essentielles diluées au 1/4) et (31.22 mm pour les huiles essentielles diluées au 1/2).

Cet effet positif des huiles essentielles vis-à-vis de cette souche a été également démontré par Barrata et al (1998) avec les huiles essentielles extraites du Romarin et d'Origan.

Pour ce qui est de flavonoïdes, ils sont principalement efficaces à la concentration 1/4 et plus particulièrement pour Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Escherichia coli 1429, Escherichia coli 1554 et Entérobactériacée 1520.

Cet effet positif et cette puissante bactéricide des substances naturelles des plantes médicinales contre les bactéries multirésistantes a été signalé par de nombreux travaux notamment ceux réalisés par Burt (2003) sur cinq huiles essentielles de l'Origan et de Thym qui ont provoqué des propriétés bactériostatiques et bactéricides les plus fortes, suivi de celles de Laurier et de Clou de girofle sur Escherichia coli sous des températures variables.

Dans ce même contexte et selon Rayour (2003), les huiles essentielles de Clou de girofle et d'Origan en particulier le Thymol et l'Eugénol ont provoqué la lyse cellulaire des bactéries associée à une rapide mortalité sur Escherichia coli et Bacillus subtilis.

Par ailleurs, Chami et al (2005) a affirmé l'efficacité thérapeutique du Carvacrol et de l'Eugénol, deux composants phénoliques d'huiles essentielles contre la Candidose buccale induite de façon expérimentale chez des rats avec un système immunitaire déprimé. Le Carvacrol et l'Eugénol ont significativement réduit le nombre de levures présentes dans la cavité buccale des animaux traités pendant huit jours consécutifs.

Une investigation récente réalisée par Ohno et al (2003) sur l'activité des huiles essentielles isolées de plantes de l'Origan et de Laurier, a signalé un pouvoir inhibiteur sur des bactéries Gram (+) et Gram (-) entre autre l'inhibition du développement de Pseudomonas aeruginosa et Escherichia coli. Nous citons encore les travaux de Ezzaoui (2007) concernant les germes nosocomiaux des infections hospitalières dont l'auteur a évoqué l'efficacité d'une trentaine d'huiles essentielles réputées pour leur activité antimicrobienne sur les souches bactériennes telles que Pseudomonas aeruginosa et Staphylococcus aureus.

D'autre part, cette efficacité bactéricide a été recherchée par Oussou et al (2008) sur une Lamiacée Ocimum gratissimum dont les huiles essentielles extraites ont entraîné un fort pouvoir inhibiteur sur la croissance de la souche standard d'Escherichia coli ATCC 25922 qui

a fait également l'objet de notre étude. Dans notre cas, les extraits volatils de *Salvia officinalis* L. ont montré une puissante bactéricide de degré moindre.

Cette même espèce végétale (*Ocimum gratissimum*) de la famille des *Lamiacée*, en raison de l'énorme effet antimicrobien de ses principes actifs, a ravivé l'intérêt des scientifiques pour ses huiles essentielles et par conséquent a fait l'objet d'importants travaux récemment publiés. Parmi lesquels, ceux réalisés par Seri-Kouassi et al (2004) qui ont montré que l'huile d'*Ocimum gratissimum* présente une activité insecticide et entraîne la réduction de la ponte chez les femelles de *Callosobruchus maculatus*. Ces HE ont pu aussi, selon Amvam Zollo et al (1998), inhiber la croissance de *Aureobasidium pollulans* et de *Microsporum gypseum*. Des tests ont été réalisés au Bénin sur ces mêmes huiles essentielles et elles se sont avérées capables de tuer les insectes pathogènes du Maïs. De même, une autre étude entreprise au Congo par N'dounga et al (1997) a confirmé l'effet antibactérien positif de ce même principe actif d'*Ocimum gratissimum* sur des bactéries et des champignons isolés à partir des pus des malades hospitalisés.

Une étude réalisée par Ahmad et al (2005) a été aussi publiée sur l'effet de Clou de girofle sur toute une variété de champignon pathogène du système uro-génital. L'huile essentielle de Clou de girofle a démontré une puissante activité antifongique contre les champignons pathogènes opportunistes tels que *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus*.

Le fort pouvoir antimicrobien des flavonoïdes a été évoqué par Djabou (2006) lors d'une étude sur l'effet des extraits flavonoïques dilués de *Sambucus nigra* L. misent en contact avec *Staphylococcus aureus* cultivée sur milieu Mueller-Hinton. Leurs travaux ont mis en évidence la résistance de cette bactérie face à ces substances. Toutefois, cette même espèce bactérienne cultivée sur le même milieu (milieu MH) semble légèrement sensible aux différentes dilutions de nos huiles essentielles, d'ailleurs nos résultats ont été comparables avec ceux de Pelissier et al (1998) concernant les huiles essentielles des feuilles de *Lippia multiflora* L. où la puissance bactéricide moyenne sur les germes sauvages de Staphylocoques et Entérocoques a été démontrée.

La souche de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 cultivée sur MH au cours de notre travail n'arrive pas à se développer lorsqu'elle est mise en contact avec les huiles essentielles diluées au ¼ (30.54 mm) de *Salvia officinalis* L.

La même chose a été évoquée par Djabou (2006) sur la même souche soumise à l'extrait flavonoïque de *Sambucus nigra* L. mais cultivée sur milieu Chapman où il a été constaté une sensibilité moyenne de 24 mm de surface inhibée. On peut ici mentionner l'intérêt du milieu de culture pour l'activité antimicrobienne.

L'activité biologique des principes actifs entre autre celle des huiles essentielles est liée à leur Chémotype c'est-à-dire la ou les molécules biologiquement actives et majoritairement présentes, leur composition ou les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcool, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques car une huile essentielle contient souvent 50 à 100 molécules biochimiques différentes.

Le plus souvent, l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides.

Cette activité bactéricide de substances naturelles s'explique par la lyse des membranes bactériennes. Les huiles essentielles, flavonoïdes, alcaloïdes voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort.

La puissance de l'activité bactéricide de substances naturelles (flavonoïdes, HE, tanins ...) prouve de plus en plus leur efficacité vis-à-vis des bactéries multirésistantes. D'autre part, de nombreuses bactéries ont récemment développé une résistance à la plupart des antibiotiques. De ce fait, nous pensons que les principes actifs isolés de diverses plantes médicinales pourraient présenter une alternative intéressante à l'utilisation des antibiotiques. En effet, de nombreuses études ont montré que les HE pourraient – bien constituer une candidature particulièrement crédible.

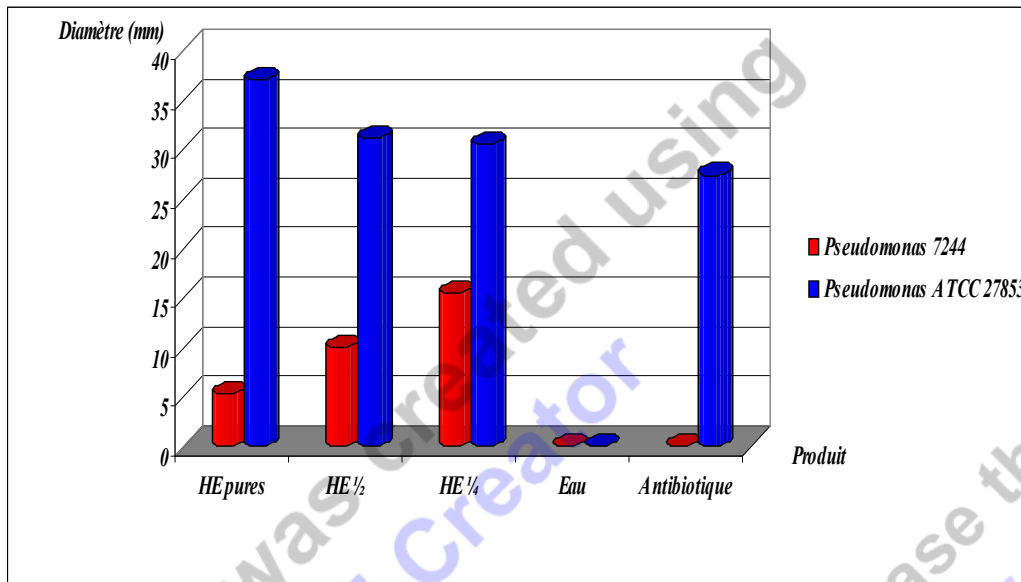


Figure 52: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance des bactéries les plus résistantes et les plus sensibles vis-à-vis des huiles essentielles et de l'antibiotique.

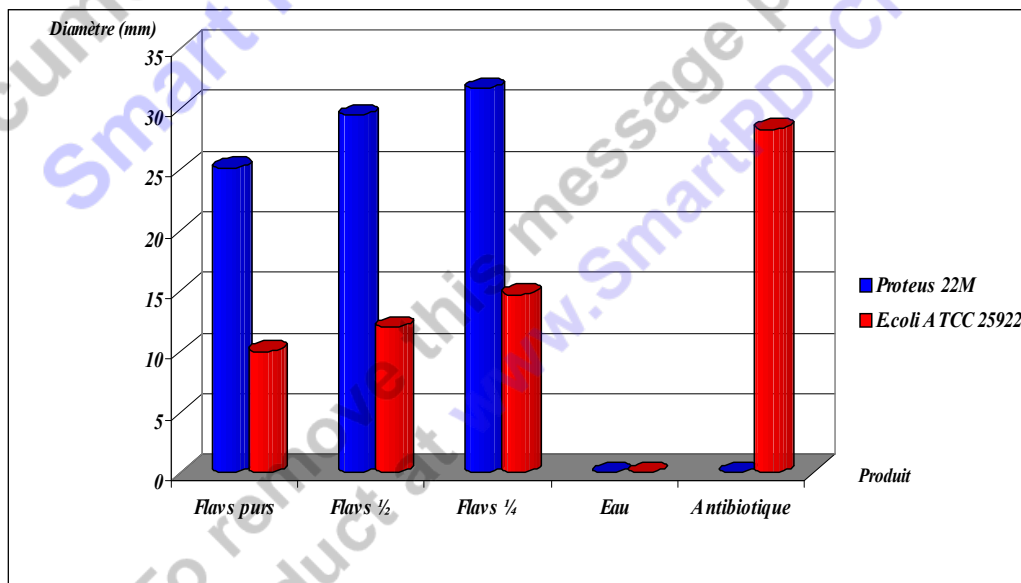


Figure 53: Variation du diamètre d'inhibition de la croissance des bactéries les plus résistantes et les plus sensibles vis-à-vis des flavonoïdes et de l'antibiotique.

This document was created using
Smart PDF Creator

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

En guise de conclusion, il semble important d'évoquer les principaux résultats auxquels nous sommes parvenus.

*Tout d'abord, les analyses physico chimiques du sol et l'étude histologique nous ont permis d'apprécier la qualité du substrat sur lequel pourrait végéter cette espèce végétale *Salvia officinalis L.**

C'est un sol à caractère basique, à faible teneur en matière organique et avec un taux de calcaire assez important. Les coupes réalisées au niveau des différents organes végétatifs n'ont montré aucune spécificité anatomique ou structurale sauf en ce qui concerne l'abondance des poils sécréteurs et tecteurs au niveau des feuilles.

Les tests biochimiques préliminaires ont mis en évidence la présence de cinq composés du métabolisme secondaire (Tanins galliques, Saponosides, Flavonoides, Cardinolides, Terpènes et Stérols) et l'absence des anthocyanes, leucoanthocyanes et alcaloïdes.

L'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles et par solvants organiques des flavonoides des feuilles de l'espèce végétale étudié, a donné des rendements de l'ordre de 1.52 % et 4.1 % pour les huiles essentielles et les flavonoides respectivement.

L'huile essentielle extraite des feuilles, analysée par CG/SM a détecté un Chémotype composé de dix-neuf substances terpéniques avec une prédominance de l' α -Thujone, Cinéole, Camphre et de la β -Thujone successivement.

L'analyse par CCM de l'extrait flavonoïque a révélé la présence de trois composés ou groupes de composés flavonoïques de trois couleurs différentes : jaune verte, jaune claire et ocre, et de rapports frontaux variant entre 0.128 et 0.928.

De l'activité bactéricide évaluée par les tests in vitro, il ressort que les flavonoides et les huiles essentielles possèdent un pouvoir bactéricide important sur les germes multirésistants, responsables de maladies infectieuses.

L'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce bactérienne, de la nature et de la concentration du produit testé. D'une manière globale, les huiles essentielles semblent plus efficaces que les flavonoides à toutes les concentrations utilisées.

*De toutes les souches testées, cinq d'entre elles se sont montrées très sensibles vis-à-vis de ces substances naturelles, qui sont : *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*, *Proteus 22M*, *Escherichia coli 1554*, *Escherichia coli 1429* et la souche d'Enterobactériacées 1520. Les zones d'inhibition enregistrées dépassent le plus souvent celles de l'antibiotique la rifampicine.*

*Ces résultats ont indiqué que les extraits de l'espèce *Salvia officinalis L.* sont très prometteurs quant à leur pouvoir antiseptique. Des applications in situ dans le traitement des maladies infectieuses dues à des bactéries nosocomiales et les infections respiratoires ou uro-génitales peuvent être envisagées.*

Nos perspectives pour l'avenir se résument en ce qui suit :

Approfondir les études concernant l'identification de ces principes actifs du point de vue qualitatif et quantitatif.

Déterminer les Chémotypes exacts et complets par CG/SM, HPLC et RMN.

Envisager des expériences in situ en testant ces principes actifs sur des cas pathologiques.

Il serait également intéressant d'extraire les autres principes actifs de la plante tels que les Tanins, les Cardinolides et les Saponosides, et de tester leur pouvoir bactéricide sur un large panel de souches bactériennes et fongiques devenues à l'heure actuelle multirésistantes aux antibiotiques.

This document was created using
Smart PDF Creator

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

- Ahmad N., Alam M.K., Shehbaz A., Khan A., Mannan A., Rashid Hakim S., Bisht D. and Owais M. 2005. Antimicrobial activity of Clove oil and its potential in the treatment of vaginal candidiasis. *J. Drug. Target.*, 13 (10), pp.555-561.
- Amvam Zollo P.H., Byti L., Choumboungang F.T., Minute C., Lamrti G. and Bouchet P.H. 1998. Aromatics plants of central of Africa, Part XXXII : Chemical composition and activity of thirteen essential oils from aromatic plants of Cameroun. *Flavour and Fragrance Journal*, 13, pp.107-114.
- Barrata M.T., Dorman H.J.D., Deans S.G., Biondi D.M. and Ruberto G. 1998. Chemical composition and antioxidative activity of Laurel, Rosemary, Oregano and Coriander essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 10, pp.618-627.
- Belaïche P. 1979. *Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie*. 7^e Ed., Maloine, Paris, pp.136-138.
- Beloued A. 1998. *Plantes Médicinales d'Algérie*. Ed., Office des Publications Universitaires, Ben-Aknoun, Alger, 278 p.
- Bentouili M.Y. 2007. *Inventaire et qualité des sources du P.N.E.K Nord est algérien*. Mémoire de Magistère, Département de Géologie Univ. Annaba, 150 p.
- Bonneau M. et Souchier B. 1994. *Pédologie : Constituants et Propriétés du sol. Tome II*. 2^e Ed., Masson, Paris, pp.531-649.
- Boullard B. 2001. *Dictionnaire : Plantes médicinales du monde ; Réalités et Croyances*. Ed., ESTEM – ISBN, France, pp.465-467.
- Bouquet A. 1972. *Plantes Médicinales du Congo Brazzaville*. Ed., O.R.S.T.O.M.
- Bray L. 2005. *Qu'est-ce qu'une plante ? In le Truffant – Encyclopédie pratiquée illustrée des jardins*. Ed., Patrick Mioulane. Pub. Larousse, pp.76-77.
- Brieskorn C.H. 1991. *Seine inhaltsstoffe und sein therapeutischer wert*. *Z. Phytotherapie*, 12, pp.61-69.
- Bruneton J. 1993. *Pharmacologie Médicinale*. Ed., TEC., DOC. et Lavoisier, Paris.
- Bruneton J. 1997. *Eléments de Phytochimie et de Pharmacologie*. Ed., Lavoisier, Paris, pp.405-426.
- Bruneton J. 1999. *Pharmacognosie : Phytochimie. Plantes Médicinales*. 3^e Ed., TEC & DOC., Paris, pp.239-243.
- Bruneton J. 2000. *Plantes toxiques : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux*. 2^e Ed., TEC & DOC., Paris, p 327.
- Burt S.A. 2003. Antimicrobial activity of select plant essential oils against *Escherichia Coli O 157 : 47*. *Lett. Appl. Microbial.*, 36 (3), pp.162-167.

Chabi Y. et Benyakoub S. 2000. *Diagnostic écologique de l'avifaune du P.N.E.K. Synthèse revue des Sciences et Technologie.*

Chami F., Chami N., Bennis S., Bouchikhi T. and Remmal A. 2005. *Oregano and Clove essential oils induced surface alteration of saccharomyces cerevisiae. Phytother. Res., 19 (5), pp.405-408.*

Couraud S., Girodet B., Vuillermoz S. et Vincent M. 2006. *Thrombopénie immunoallergique à la rifampicine, à propos d'un cas Rifampin induced thrombocytopenia. Revue Française d'Allergologie, 46 (7), pp.656-658.*

Crété P. 1965. *Précis de Botanique : Systématique des Angiospermes. Tome II. 2^e Ed., Masson, Paris, pp.368-371.*

Djabou N. 2006. *Sambucus nigra L., une plante de la pharmacopée traditionnelle Nord africaine. Mémoire de Magistère, Département de Chimie Univ. Tlemcen, 123 p.*

Duraffourd C., Lapraz J.C. et Chemli R. 1997. *La plante médicinale de la tradition à la science. Ed., Grancher, Paris, p 538.*

El-Abed D. et Kambouche N. 2003. *Les Huiles Essentielles. Ed., Dar El Gharb, Oran, 91 p*

Ezzaoui S. 2007. *Action bactéricide des huiles essentielles sur des bactéries multirésistantes responsables des infections nosocomiales. Thèse de doctorat national, Univ Mohamed V – Agadal – Faculté des sciences, Rabat, Maroc.*

Fleurentin J. 2008. *Plantes médicinales : Traditions et thérapeutique. Ed., OUEST – France, pp.92-93.*

Fournier P. 1999. *Plantes médicinales et vénéneuses de France. Tome I. Ed., Société Nationale d'Horticulture de France, pp.13-18.*

Ganescu I., Bratulescu G., Lilea B. et Ganescu A. 2002. *Anions complexes du chrome en analyse et le contrôle des médicaments, détermination de la Rifampicine. Acta. Chim. Slov., 49, p 339.*

Garnero J. 1991. *Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed., Technique – Encycl. Méd. Nat., Paris, pp.9-20.*

Guignard J.L. 1979. *Abrégé de Biochimie végétale. 2^e Ed., Masson, Paris, 263 p.*

Guignard J.L., Cosson L. et Henry M. 1985. *Abrégé de Phytochimie. Ed., Masson, Paris, pp.120-174*

Guignard J.L. 1998. *Abrégés Botanique. 11^e Ed., Masson, Paris, pp.198-202.*

Guignard J.L. 2000. *Biochimie Végétale. 2^e Ed., DUNOD, Paris, pp.176-209.*

Guignard J.L. 2001. *Botanique systématique moléculaire. Ed., Masson, Paris.*

Guignard J.L. et Dupont F. 2004. *Botanique systématique moléculaire*. 13^e Ed., Masson, Paris, pp.234-237.

Gurib Fakim A. 2006. *Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine*, 27, pp.1-93.

Hernandez L.R. 2005. *Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine «Solvant/actif» d'origine végétale. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse.*

Hullard F. 1988. *Abrégé de Phytothérapie*. Ed., Masson, Paris, pp.6-13.

Iserin P. 1997. *Encyclopédies des Plantes Médicinales : Identification, préparation, soins*. Ed., Larousse-Bordas, p 247.

Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A. et Steven P. 2002. *Botanique systématique: Une perspective phylogénétique*. 1^{ère} Ed., De Boeck Université, Paris et Bruxelles.

Lacoste S. 2006. *Les plantes qui guérissent*. Ed., LEDUC.S., Paris, p 331.

Mathieu C. et Pieltain F. 1998. *Analyse physique des sols : Méthodes choisies*. Ed., TEC & DOC., Paris, 265 p.

N'dounga M. et Ouamba J.M. 1997. *Antibacterial and antifungal activities of essential oils Ocimum gratissimum and O. basilicum from Congo*. *Fitoterapia*, 68, p 191.

Nègre R. 1962. *Petite Flore des Régions Arides du Maroc Occidental, Tome 2*. Ed., CNRS., Paris.

Ohno T., Kila M., Yamaoka Y., Imamura S., Yamamoto T., Mitsufuji S., Kodama T., Kaschima K. and Imanishi J. 2003. *Antimicrobial activity of essential oils against Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 8 (3), pp.207-215.

Oussou K.R., Yolou S., Boti J.B., Guessennd K.N., Kanko C., Ahibo C. et Casanova J. 2008. *Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la Pharmacopée Ivoirienne*. *European Journal of Scientific Research*, 24 (1), pp.94-103.

Paris R.R. et Moysse H. 1976. *Matière Médicale. Tome I*. 2^e Ed., Masson, Paris, pp.11-12.

Paris M. et Hurabielle M. 1980. *Abrégé de Matière Médicale : Pharmacognosie. Tome I*. Ed., Masson, Paris.

Paris M. et Hurabielle M. 1981. *Abrégé de Matière Médicale : Pharmacognosie. Tome I*. Ed., Masson, Paris, pp.1-24.

Pelissier Y., Kone D., Loukou Y., Marion C., Nanga Y. et Casadebaig J. 1998. *Etude chimique, toxicologique, bactériologique et clinique de l'huile essentielle de Lippia multiflora Mold*. Ed., EPPOS., pp.735-747.

Pelt J.M. 2001. *Les nouveaux actifs naturels*. Ed., Marabout, Paris.

Pharmacopée Européenne. 2005. 5 ème Edition.

Pharmacopée Belge. 1982. 6 ème Edition, éditée sous la direction de l'Inspection Générale de la Pharmacie, Ministère de la Santé Publique et de la Famille.

Quezel R. et Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed., Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, pp.793-795.

Rayour. 2003. Mechanism of bactericidal action of Oregan and Clove essential oils and their phenolic major components in Escherichia coli and Bacillus subtilis. Journal of essential oil research.

Roulier G. 1990. Les huiles essentielles pour votre santé. Ed. Dangles.

Sallé J.L. 1991. Les Huiles Essentielles, Synthèse d'Aromathérapie et Introduction à la Sympathicothérapie. Ed., Frison- Roche, Paris, p 21.

Sauquet H., Doyle J.A., Scharaschkin T., Borsch T., Hilu K.W., Chatrou L.W. et Le Thomas A. 2003. Phylogenetic analysis of Magnoliales and Myristicaceae based on multiple data sets: implications for character evolution. Botanical Journal of the Linnean Society, pp.125-186.

Schauenberg P. et Paris F. 1977. Guide des plantes médicinales. Ed., Delachaux et Niestlé, Paris, pp.7-291.

Seri-Kouassi B.P., Kanko C., Aboua L.R.N., Bekon A., Glitho A.I., Koukoua G. et N'guessan Y.T. 2004. Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte d'Ivoire sur Callosobruchus maculatus F. du niébé. C.R. Chimie, 7, pp.1043-1046.

Solfo R.R. 1973. Etude d'une Plante Médicinale Malgache Buxus madagascariensis Bail et ses variétés. Ed., O.R.S.T.O.M.

Spichiger E.D., Savolainen V.V., Figeat M. 2000. Botanique systématique des plantes à fleurs : Une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 1^{ère} Ed., Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p 297.

Spichiger E.D., Savolainen V.V., Figeat M., Jeanmonod D. 2002. Botanique systématique des plantes à fleurs : Une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 2^e Ed., Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p 328.

Valnet J. 1990. Aromathérapie : Traitement des maladies par les essences de plantes. Ed., Maloine, Paris.

Vincent M.C. 1991. L'Aromatogramme. Encyclopédie de Médecine Naturelle, phytothérapie - aromathérapie, 4, p 6.

Volak J. et Stodola J. 1983. Les Plantes Médicinales. Ed., Gründ, Paris.

Wichtl M. et Anton R. 2003. Plantes thérapeutiques : Traditions, Pratique officinale, Sciences et Thérapeutique. 2^e Ed., TEC & DOC., Paris, pp.1-21.

Yala D., Merad A.S., Mohamedi D. et Ouar Korich M.N. 2001. Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques. Médecine du Maghreb, 91, Alger, p 12.

Site Internet :

Site 01: http://alain.gilfort.free.fr/botaniko/fr/Salvia_officinalis.html –

Site 02: <http://medicalsciences.files.wordpress.com>

This document was created using
Smart PDF Creator
To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

This document was created using
Smart PDF Creator

ANNEXES

To remove this message purchase the
product at www.SmartPDFCreator.com

Annexe 01: Clé des principales familles des Lamiales. (Judd et al, 2002).

<i>Clé des principales familles des Lamiales</i>	
<i>1. Périanthe absent ; étamine généralement 1 ; plantes aquatiques à fleurs minuscules pollinisées par l'eau.....</i>	Plantaginaceae
<i>1. Périanthe présent ; étamine généralement 2-4 ; plantes terrestres ou aquatiques à fleurs voyantes pollinisées par les animaux ou par le vent.....</i>	2
<i>2. Arbres ou arbustes des mangroves, à pneumatophores en baguettes dressées ; feuilles à glandes subsessiles excréant une solution sursaturée en sel qui précipité rapidement en cristaux ; fruit généralement 1-séminé.....</i>	Avicenniaceae
<i>2. Plantes herbacées ou arbres non des mangroves ; sans pneumatophores ni glandes excréant du sel ; fruit (2)- 4-séminé.....</i>	3
<i>3. fleur actinomorphe à quatre pétales.....</i>	4
<i>3. Fleur zygomorphe, à 5 pétales, bilabée, la lèvre supérieure à 2 lobes et la lèvre inférieure à 3 lobes.....</i>	6
<i>4. Etamines 2 ; 2 ovules par loge.....</i>	Oleaceae
<i>4. Etamines 4 ; ovules plus ou moins nombreux par loge.....</i>	5
<i>5. Plantes herbacées ; feuilles généralement alternes ou en rosette basilaire, limbe à nervation plus ou moins parallèle ; fleurs en épis ou capitules, minuscules, anémogames ; fruit une pyxide ou un akène.....</i>	Plantaginaceae
<i>5. Plantes généralement ligneuses, feuilles opposées, non en rosette basilaire, limbe à nervation pennée ; fleurs en inflorescences cymeuses variables, bien développées et entomogames ; fruit une capsule à déhiscence variable, une drupe ou une samare.....</i>	Buddlejaceae
<i>6. Ovules 2 par carpelle, chaque loge divisée par une fausse cloison, et donc 1 ovule par logette de l'ovaire ; fruits des drupes (à 1 à 4 noyaux) ou des fruits schizocarpes généralement à 4 nucules ; style terminal à gynobasique ; feuilles opposées.....</i>	7
<i>6. Ovules généralement nombreux mais, si réduits à 2 par carpelle, alors ovaire à 2 loges (non divisé secondairement par de fausses cloisons) ; fruits généralement des capsules, parfois des baies ou des drupes ; style toujours terminal ; feuilles alternes ou opposées.....</i>	8
<i>7. Inflorescences indéterminées, portant latéralement des fleurs individuelles ou des organes semblables ; ovules insérés directement sur la marge des fausses cloisons ; style toujours terminal ; stigmate bien développé, lobé.....</i>	Verbenaceae
<i>7. Inflorescences mixtes, à axe principal plus ou moins indéterminé, portant latéralement des éléments déterminés (cymeux), ceux-ci parfois raccourcis et l'inflorescence paraissant alors pseudo-verticillée ; ovules insérés sur la face des fausses cloisons, à proximité immédiate des marges enroulées du carpelle ; style terminal à gynobasique ; stigmate en général minuscule, aux extrémités des branches du style.....</i>	Lamiaceae

8. Plantes insectivores, à poils mucilagineux collants ou à vésicules prédatrices ; placentation centrale libre.....	Lentibulariaceae
8. Plantes non insectivores, placentation généralement axile ou pariétale.....	9
9. Ovaire supère à infère ; anthères soudées ou adhérentes par paires ; placentation pariétale.....	Gesneriaceae
9. Ovaire toujours supère ; anthères généralement libres ; placentation généralement axile.....	10
10. Graines à albumen bien développé.....	11
10. Graines à albumen fugace ou absent.....	13
11. Plantes hémiparasites (et chlorophylliennes) à holoparasites (dépourvues de chlorophylle), à suçoirs se fixant sur les racines d'hôtes divers ; placentation axile ou pariétale.....	Orobanchaceae
11. Plantes autotrophes (et vertes), sans suçoirs, à placentation axile.....	12
12. Loges de l'anthère adhérentes et anthère s'ouvrant par une seule fente distale, à base non sagittée, étamines 5, 4, ou 2 ; fleurs nettement à obscurément zygomorphes.....	Scrophulariaceae
12. Loges de l'anthère séparées, s'ouvrant par deux fentes longitudinales, ou la position apicale des thèques adnée et s'ouvrant par une fente unique, en U ou en V, anthère plus ou moins sagittée à la base ; étamines 4 ou 2 ; fleurs plus ou moins nettement zygomorphes.....	Plantaginaceae
13. Fruits à déhiscence explosive, graines insérées sur un funicule élargi et spécialisé (jaculateur) ; souvent à cystolithes.....	Acanthaceae
13. Fruits déhiscents mais non de manière explosive, ou indéhiscents ; graines sans jaculateurs ; cystolithes absents.....	14
14. Ovules plus ou moins nombreux par loge, sur des placentas bilobés ; fruits généralement une capsule allongée, jamais une drupe ; feuilles généralement opposées et composées, sans points translucides ; graines généralement aplaties, aillées.	Bignoniaceae
14. Ovules généralement 1 par loge, sur des placentas entiers ; fruit une drupe ; feuilles généralement alternes, simples, à points translucides ; graines ni aplaties ni aillées.....	Myoporaceae

Annexe 02 : Paramètres physico chimiques du sol

1/ Détermination de la texture

Pour déterminer la texture du sol, on applique la méthode par saturation qui consiste à mesurer le pourcentage d'humidité du sol (H) puis le comparer avec une échelle qui détermine la texture lui correspondant.

Pour cela, on suit les étapes suivantes :

On pèse tout d'abord une capsule vide (P_0), dans laquelle on place 50 g du sol auxquels on ajoute de l'eau distillée par goutte à goutte tout en mélangeant jusqu'à ce que la pâte obtenue devient luisante et glisse doucement lorsqu'on incline le récipient. On repèse le tout à nouveau (P_1).

Ensuite, on met la capsule à l'étuve à une température de 105°C pendant 24 heures.

Une fois terminé le séchage, on pèse la capsule pour la troisième fois (P_2). Le poids (P_2) correspond donc au poids de la capsule vide + le poids du sol sec.

$$H \% = \frac{(P_0 + P_1) - P_2}{P_1} \times 100$$

Enfin on compare H % avec les différents pourcentages de l'Echelle de Soltser (1981).

2/ Dosage du carbone organique (Méthode Anne)

On pèse 0.25 à 1 g du sol broyé, soit P_0 g (teneur en C < 30 mg).

Dans un ballon de 100 à 150 ml, on verse 10 ml d'une solution de bichromate de potassium diluée à 8 % et 150 ml d'acide sulfurique pur (H_2SO_4), auxquels on ajoute l'échantillon du sol broyé à analyser. Puis on porte le ballon à ébullition lente.

Le ballon est lié à un réfrigérant ascendant, on laisse l'ébullition pendant 5mn à condition qu'on commence le comptage du temps à partir de la première goutte condensée.

Le ballon est par la suite refroidit. On procède alors aux étapes suivantes :

Transvaser dans une fiole de 100 ml, ajuster avec les eaux de rinçage.

Prélever un volume de 20 ml (V) et le verser dans un bécher de 400 ml.

Diluer jusqu'à 200 ml.

Ajouter 1.5g de NaF pour rendre le virage plus visible.

Ajouter 3 à 4 gouttes de diphénylamine.

Titrer avec une solution de sel de Mohr 0.2 N jusqu'à ce que la couleur brun noirâtre ou violette de la liqueur primitive vire au vert (Virage très sensible).

Soit X (ml) la chute de burette, et Y (ml) pour un essai témoin, sans sol, ou avec sable calciné.

___ Calcul :

1 ml de solution de Mohr 0.2 N correspond à 0.615 mg de carbone organique C. Partant d'une prise d'essai P_0 g et d'une aliquote V ml / 100, on a :

$$C \% = (Y-X) \times 0.615 \times (100/20) \times (100/P_0) \times (1/1000).$$

Y : Quantité de sel de Mohr utilisée pour titrer le témoin.

X : Quantité de sel de Mohr utilisée pour titrer l'échantillon du sol à doser.

100/20 : On utilise 20 ml à partir de 100 ml.

P₀ : Poids du sol en gramme.

1/1000 : Facteur de conversion.

$$\% \text{ de matière organique} = \% C \times 1.72$$

Le pourcentage calculé est enfin comparé avec l'Echelle de Soltser (1981) de la classification des sols d'après leur teneur en matière organique.

Préparation de la diphénylamine et du sel de Mohr 0.2 N :

Dissoudre 0.5 g diphénylamine dans 100 ml de H₂SO₄ concentré et verser cette liqueur sur 20 ml d'eau.

Dissoudre 78.5 de sel de Mohr (Sulfate double d'ammonium et fer ferreux) dans 500 ml d'eau distillée bouillante et refroidie à l'abri de l'air, contenant 20 ml H₂SO₄. Compléter à 1 litre et conserver dans un ballon brun.

3/ Détermination du pH (pH_{eau} et pH_{KCl})

On met en suspension une quantité de sol (P₀ = 10g) dans un flacon avec 25 ml de solution (eau ou KCl), puis on agite (avec agitateur culbuteur) pendant 60 minutes à une température proche de 20°C.

La mesure nécessite une agitation ménagée (barreau magnétique) et une stabilisation de la lecture sur le pH mètre.

Le choix, l'entretien et l'étalonnage des électrodes couplées aux pH mètre sont importants. L'électrode de verre dite « électrode combinée » est souvent utilisée et doit être maintenue soigneusement en état (saturation KCl, intégrité de l'électrode de verre, lavages soigneux entre chaque mesure).

L'étalonnage tient compte de la température et se fait couramment avec deux étalons pH 4, pH 7.

Et ainsi, le pH KCl donne une idée exacte sur la quantité d'ions H⁺ Fixés.

La valeur du pH_{eau} obtenue est comparée avec la gamme de pH de Soltser (1981) des différents types des sols.

4/ Dosage du Calcaire

** Calcaire total : Le dosage du calcaire total se fait selon les étapes suivantes :*

Peser un poids P₀ de sol broyé de 1 à 10 g. (soit 5 g).

Placer l'échantillon dans un Erlen.

Ajouter 50 ml d'HCl 0.5 N.

Recouvrir avec un verre de montre et bouillir pendant 5 min.

Laisser refroidir puis filtrer et laver le filtre.

Déterminer la quantité d' HCl qui n'a pas réagit avec les CaCO₃ en ajoutant deux gouttes de phénophtaléine.

Titrer avec le NaOH 0.25N.

$$\text{CaCO}_3 \% = \frac{5 \times [50 \text{ ml (HCl)} \times 0.5 \text{ N} - X \text{ ml (NaOH)} \times 0.25 \text{ N}]}{P_0}$$

* Calcaire actif :

Par définition, il s'agit des particules de carbone suffisamment fines pour réagir avec l'Oxalate et donner un précipité d'Oxalate de Calcium.

Solution d'extraction : Oxalate d'Ammonium approximativement N/5 soit 14.2 g/L.

Pour les sols peu humifères, on cite la méthode de Drouineau.

Cette méthode consiste à :

Peser 10 g de sol, ajouter 250 ml de la solution d'Oxalate.

Agiter pendant 2 heures à l'agitateur mécanique. Centrifuger et Filtrer.

Prélever 10 ml de solution, ajouter 10 ml de H₂SO₄ 0.1 N et chauffer sans dépasser 60/70° C.

Enfin, titrer par la solution de KMnO₄ 0.1 N jusqu'à l'obtention d'une coloration rose persistante (On dose les ions d'Oxalate qui n'ont pas réagit avec le Calcium).

___ Calcul :

Soit n le nombre de ml de KMnO₄ versés dans la solution d'extraction du sol. N pour 10 ml de la solution témoin d'Oxalate d'Ammonium sans sol.

1 méq d'Oxalate correspond à 1 méq de CaCO₃. Soit 50 mg.

$$\text{CaCO}_3 \% = 1.25 (N-n)$$

5/ Dosage des éléments minéraux

* Dosage de Carbonates et Bicarbonates :

Ce dosage se fait par titrimétrie selon le mode opératoire suivant :

On prélève une aliquote dans une capsule de porcelaine et on lui ajoute 2 gouttes de phénophtaléine (à 1%), en présence des carbonates la couleur devient rouge.

On titre ensuite avec l'acide sulfurique (0,02N) jusqu'à la disparition de la couleur rouge. On note la quantité d'acide sulfurique utilisée (X).

On ajoute encore 2 gouttes de méthyle (à 0.01%) à la même solution, puis on procède au titrage avec l'acide sulfurique jusqu'à l'apparition de la couleur rose.

Enfin, on note la nouvelle lecture sur la burette (Y).

___ Calcul :

$$\text{CO}_3^- \text{ (méq/L)} = \frac{(2X \times \text{Normalité de H}_2\text{SO}_4 \times 1000)}{\text{ml en aliquote}}$$

$$\text{HCO}_3^- \text{ (méq/L)} = \frac{(Y-2X) \times \text{Normalité de H}_2\text{SO}_4 \times 1000}{\text{ml en aliquote}}$$

* Dosage de Sodium et de Potassium :

Préparation de la gamme d'étalonnage :

- Le Sodium (Na) :

Peser exactement 254 mg de NaCl et les introduire dans une fiole jaugée de 1000 ml, compléter au volume avec une solution de La₂O₃ à 0.5 % préparée dans HCl 0.5 N puis agiter.

La solution mère obtenue contient 100 ppm de Sodium. A partir de cette solution, prélever successivement 2 ml, 4 ml, 6 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml et les mettre dans des fioles jaugées de 100 ml. Compléter au volume avec la solution de La₂O₃ à 0.5 % (Le réglage du zéro de l'appareil se fait sur cette solution de La₂O₃ à 0.5 %).

- Le Potassium (K) :

Peser 190.8 mg de KCl et opérer comme ce qui est indiqué pour le Sodium.

Calcul des résultats :

Le mode de calcul est comme suit :

Pour le sodium : $A = \frac{1}{22.99}$, $B = \frac{1}{22990}$

Pour le potassium : $A = \frac{1}{39}$, $B = \frac{1}{39000}$

La concentration [C] est obtenue comme suit :

$$[C] = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + \dots \dots \dots (Lecture\ des\ étalons)}{2+4+6+10+15+20 \dots \dots \dots (Concentrations\ des\ étalons)}$$

La concentration de l'élément est calculée selon la formule suivante :

$$[] (méq/L) = \frac{L \cdot D \cdot A}{C} \text{ avec } L \text{ (la lecture) et } D \text{ (L'inverse de la dilution)}$$