

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

BADJI MOKHTAR-ANNABA UNIVERSITY
Université Badji-Mokhtar, Annaba

عنابة – 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 flavonoïdes et des tanins extraits d'une plante
médicinale spontanée le Marrube blanc : Marrubium vulgare L. de la
région de Chefia Wilaya d'EL Taref (Nord-Est algérien).*

Présenté par :

Mr. DJAHRA Ali Boutliliss.

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. Fatih BEKHOUCHE

Maître de conférences

Université d'Annaba.

Année 2009/2010

Remerciements

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

Je remercie particulièrement, Madame BORDJIBA Oahiba professeur au département de Biologie, université d'Annaba, pour avoir dirigé ce mémoire. Ses compétences et sa rigueur scientifique, ainsi que son appui et ses conseils, m'ont permis de mener à bien mon travail. Je lui adresse mes vifs remerciements et toute ma reconnaissance.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à Monsieur le professeur TAHAR Ali, directeur du laboratoire de Biologie Végétale et Environnement, université d'Annaba, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury.

Je tiens à remercier chaleureusement Madame SERIDI Ratiba Professeur au Département de Biologie, Université d'Annaba pour son aide efficace et pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également Madame BEKHOUCHE Fatiha Maître de Conférences au Département de Biologie, Université d'Annaba de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner mon mémoire.

Que Monsieur DJAHOUDI Abdelghani, Maître de Conférences à la faculté de médecine, Université d'Annaba, trouve ici, l'expression de mon profond respect pour m'avoir soigneusement guidé dans la réalisation des tests préliminaires de l'activité antimicrobienne.

J'adresse mes remerciements à Monsieur LEGSEIR B, Professeur au Département de Chimie. Université d'Annaba pour sa contribution scientifique qui m'a été d'une grande utilité.

Mes remerciements à Monsieur DJERIBI Ryad Maître de Conférences et Directeur du laboratoire des Biofilms et Biocontamination des Matériaux au Département de BMC, Université d'Annaba pour sa collaboration.

Je remercie également Madame le professeur KIRANE Djamila, Chef de Département de BMC, Université d'Annaba pour nous avoir fourni le matériel microbiologique.

J'adresse de sincères remerciements à mon meilleur ami BENKHERERA Salah pour sa présence, son aide, sa gentillesse et sa précieuse collaboration tout au long de ma formation de magistère. Qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect.

Je tiens également à exprimer mes plus vifs remerciements à Mademoiselle la doctorante BENKADOUR Mounia pour sa précieuse aide, sa générosité et son agréable compagnie ainsi que pour son soutien moral tout au long de mon travail.

Mes remerciements les plus sincères vont également à mes collègues Youcef et Abdelkader, Doctorants au Département de Chimie, Université d'Annaba pour m'avoir soigneusement guidé et dirigé sur l'aspect chimique.

Un grand merci à :

Monsieur GORMA Zayane. Chercheur au centre de recherche à l'Université de Biskra, Pour les services qu'il m'a rendus au cours de la préparation de ce mémoire et aussi pour sa gentillesse.

Melle BOUKHDIR Sameh Doctorante au Département de Biologie. Université d'Annaba pour ses connaissances, sa collaboration et pour son aide au cours de mes recherches.

Mes chaleureux remerciements vont également à l'équipe de Laboratoire de Biologie Végétal et Environnement, en particulier Monsieur SLIMANI A.Rachid doctorant au Département de Biologie. Université d'Annaba pour son aide, sa gentillesse et sa sympathie.

Je ne saurais oublier de remercier vivement toute mes amiés et mes collègues spécialement GHARIBE Abdelbaki et SOUFIANE zaytot pour toute l'aide qu'ils m'ont apporté durant mes études.

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

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents pour leurs dévouements, leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements. Que ce travail soit, pour eux, un faible témoignage de ma profonde affection et tendresse.

A mon frère : Boualam et son épouse Souad ainsi que leur petite ange Djawhar.

A toutes mes chères sœurs : Nasira, Souhaila, Madiha, Monira.

A toi Mounia.

Et à mon meilleur ami Salah, je dédie ce mémoire.

TABLE DES MATIERES

Résumé Français.

Résumé Anglais.

Résumé Arabe.

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Listes des abréviations.

INTRODUCTION. 1

HISTORIQUE. 3

PARTIE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.

CHAPITRE I : LES PLANTES MEDICINALES.

1. 1. Définition.....	7
1. 2. Sources des plantes médicinales.....	7
1. 3. Condition de la culture des plantes médicinales.....	8
1. 4. La récolte des plantes médicinales.....	10
1. 5. Conservation des plantes médicinales.....	11
1. 6. Le stockage des plantes médicinales.....	13
1. 7. Principales préparation des plantes médicinales.....	14
1. 8. Les principes actifs des plantes médicinales.....	17
1. 9. Classification des plantes médicinales selon leurs effets thérapeutique.....	21

CHAPITRE II : ETUDE DE L'ESPECE VEGETALE Marrubium vulgare L.

2. 1. Etude de l'ordre des lamiales.....	25
2. 2. Etude de la famille de lamiacées.....	26
2. 3. Etude le Genre Marrubium.....	29
2. 4. Etude de l'espèce Marrubium vulgare L.....	31

CHAPITRE III : ETUDE DES PRINCIPES ACTIFS.

3. 1. LES FLAVONOIDES.....	34
3. 1. 1. Définition.....	34
3. 1. 2. Répartition botanique des flavonoides.....	34
3. 1. 3. Localisation des flavonoides.....	34
3. 1. 4. Structure chimique et classification des flavonoides.....	35
3. 1. 5. La biogenèse des flavonoides.....	36
3. 1. 6. Propriétés physicochimiques, extraction et identification.....	38
3. 1. 7. Emploi des drogues à flavonoides.....	38
3. 1. 8. Utilisation des flavonoides en thérapeutique.....	39

3. 2. LES TANINS	40
3. 2. 1. <i>Définition</i>	40
3. 2. 2. <i>Répartition botanique et localisation des tanins</i>	40
3. 2. 3. <i>Classification des tanins</i>	40
3. 2. 4. <i>Propriétés physicochimiques des tanins</i>	43
3. 2. 5. <i>Extraction des tanins</i>	43
3. 2. 6. <i>L'importance des tanins</i>	43
3. 3. LES HUILES ESSENTIELLES	44
3. 3. 1. <i>Définition</i>	44
3. 3. 2. <i>Répartition et localisation des huiles essentielles</i>	44
3. 3. 3. <i>Composition chimique des huiles essentielles</i>	45
3. 3. 4. <i>Biogenèse des huiles essentielles</i>	47
3. 3. 5. <i>Extraction des huiles essentielles</i>	49
3. 3. 6. <i>Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles</i>	49

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE.

MATERIEL ET METHODES.

1. 1. <i>Matériel utilisé</i>	52
1. 1. 1. <i>Matériel végétal</i>	52
1. 1. 2. <i>Matériel pédologique</i>	55
1. 1. 3. <i>Matériel microbiologique</i>	55
1. 2. <i>Méthode d'analyse</i>	58
1. 2. 1. <i>Analyses physicochimiques du sol</i>	58
1. 2. 2. <i>Etude Histologique</i>	60
1. 2. 3. <i>Tests biochimiques préliminaires</i>	61
1. 2. 4. <i>Extraction, Séparation et identification des principes actifs</i>	63
1. 2. 4. 1. <i>Extraction des flavonoides</i>	63
1. 2. 4. 2. <i>Extraction des huiles essentielles</i>	66
1. 2. 4. 3. <i>Extraction des tanins</i>	68
1. 2. 4. 4. <i>Activité bactéricide</i>	70

RESULTATS ET DESCUSSION.

2. 1. <i>Analyses physico-chimiques du sol</i>	73
2. 2. <i>Etude histologique</i>	74
2. 2. 1. <i>Tige</i>	74
2. 2. 2. <i>Racine</i>	76
2. 2. 3. <i>Feuille</i>	78
2. 3. <i>Tests biochimiques préliminaires</i>	80
2. 4. <i>Extraction, Séparation et identification des principes actifs</i>	86
2. 4. 1. <i>Extraction et séparation des flavonoides</i>	86
2. 4. 2. <i>Extraction et séparation des huiles essentielles</i>	87
2. 4. 3. <i>Extraction et séparation des tanins</i>	88
2. 5. <i>Activité bactéricide</i>	90

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.

107

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

109

ANNEXES.

This document was created using
Smart PDF Creator

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

Résumé :

Avec la généralisation à la fin des années 1940, de l'utilisation des antibiotiques, les médecins ont commencé à vaincre les maladies infectieuses qui ravageaient l'humanité depuis si longtemps, depuis maintenant une décennie, les antibiotiques ont commencé à ne plus être salués comme le miracle qu'ils avaient semblé être quarante ans plus tôt puisque les germes ont acquis une résistance même aux antibiotiques les plus puissants où l'intérêt pour l'utilisation des substances naturelles est en train de refaire surface. De ce fait, l'objectif principal de cette étude était de vérifier l'activité bactéricide des principes actifs d'une plante à usage thérapeutique le Marrube blanc : Marrubium vulgare L. vis-à-vis de quelques souches bactériennes multirésistantes.

L'analyse des deux extraits flavoniques et taniques est faite par Chromatographie sur Couche Mince (CCM), les résultats obtenus ont démontré d'une part que l'extrait flavonoïque est formé de deux composés flavonoïques ayant des rapports frontaux rapprochés et d'autre part que l'extrait tannique est constitué de quatre composés avec des rapport 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 la nature de l'espèce, la nature et la concentration de l'extrait et du milieu de culture utilisé.

D'une manière globale, les flavonoides sont plus efficaces que les tanins à toutes les concentrations utilisées.

Un effet bactéricide important a été observé vis-à-vis des souches considérées parmi les plus résistantes et responsables d'infections graves souvent mortelles telles que Pseudomonas aeruginosa et Staphylococcus aureus. Les zones d'inhibitions dépassent de loin celles de l'antibiotique, la rifampicine.

Mots clés : Activité bactéricide, Flavonoides, Tanins, Marrubium vulgare L., bactéries multirésistantes.

Abstract:

With the generalizing at last years 1940, of the antibiotics utilization, doctors have begun to conquer infectious illnesses who were ravaging the humanity since so a long time, since now a decade, antibiotics have begun has not be more saluted as the miracle that they had seemed to be forty years sooner since germs have acquired a resistance even to antibiotics more adequate where the interest for the utilization natural substances is about to remake surface. In order to this, the principal objective of this study was being to inspect the bactericidal activity of active principles of a plant to therapeutic use the Marrube white: Marrubium vulgare L. opposite to multiresistant bacterial species.

Analysis of both flavonoic and tannic extracts is made out by Chromatography on Thin Layer (CTL). The obtained results have demonstrated of an announcement that the flavonoic extract is formed of two flavonoic compounds having frontal reports near in space and contrariwise that the tannic extract is constituted of four compounds with frontal reports more or less near in space.

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 nature of the species, the nature and the concentration of the extract and the space where are cultivated these species.

Of a global manner, flavonoids are more efficacious that tannins to all used concentration

An important bactericidal effect has been observed opposite to species which are considered among the most resistant and responsible for severe infections often mortal such as Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus. theirs Zones of inhibition exceed distantly that of the antibiotic rifampicin.

Key words: bactericidal activity-flavonoides- tannins- Marrubium vulgare L.- multiresistant bacterial species.

ملخص:

عموما في نهاية سنوات 1940 من استعمال المضادات الحيوية بدأ الأطباء في معالجة الأمراض المعدية التي كانت تقضي على الإنسانية لوقت طويل. منذ عشر سنوات لم تعد تعتبر المضادات الحيوية معجزة كما كانت عليه قبل أربعين عاما ذلك أن الجراثيم اكتسبت مقاومة حتى ضد أقوى المضادات الحيوية من اجل ذلك برزت فائدة استعمال المواد الطبيعية. ولهذا فان الهدف الأساسي من هذه الدراسة هو التحقق من النشاط المبيد للبكتيريا لنبات ذو استعمال علاجي *Marrubium vulgare* L.

تم تحليل المستخلصين الفلافونويدي و التانيني عن طريق صفيحة الكروماتوغرافيا (CCM). النتائج المتحصل عليها بينت من جهة أن المستخلص الفلافونويدي مكون من مركبين فلافونويديين لهما Rf متقاربين ومن جهة أخرى المستخلص التانيني يحتوي على اربع مركبات ذات Rf متقاربة نوعا ما.

اختبارات الفعالية المضادة للميكروبات تسمح بتقييم القدرة المضادة للبكتيريا لهذه المستخلصات على بكتيريا مختبرة. تثبيط النمو يتغير حسب النوع النباتي. طبيعة تراكيز المستخلص و وسط الزرع المستعمل.

بصفة عامة الفلافونويدات جد فعالة مقارنة بالتانينات بجميع التراكيز المستعملة.

هناك اثر مبيد للبكتيريا لوحظ باتجاه بكتيريا تعتبر من بين البكتيريا المقاومة و المسؤلة عن إصابات خطيرة عادتا تكون قاتلة مثل *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* : حيث إن مناطق التثبيط تجاوزت تلك التي يحدثها المضاد الحيوي *La rifampicine*.

كلمات مفتاحية : نشاط مبيد للبكتيريا - الفلافونويدات- التانينات- *Marrubium vulgare* L.-بكتيريا متعددة المقاومة.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	page
Tableau 01	<i>Echelle de la texture (SOLTSEY-1981).</i>	58
Tableau 02	<i>La gamme de pH des sols (Soltser -1981).</i>	58
Tableau 03	<i>Echelle de salinité du sol (USSS-1954).</i>	59
Tableau 04	<i>Analyse des paramètres physico-chimiques du sol (Texture, Matière organique, pH, EC).</i>	73
Tableau 05	<i>Dosage des sels minéraux du sol étudié.</i>	73
Tableau 06	<i>Résultats de la teneur en eau dans les feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	80
Tableau 07	<i>Résultats de taux d'humidité des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	80
Tableau 08	<i>Résultats des tests biochimiques préliminaires des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	81
Tableau 09	<i>Rendement des flavonoides des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	86
Tableau 10	<i>Résultats des rapports frontaux des tâches obtenues pour les flavonoides des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	87
Tableau 11	<i>Action du réactif de Chlorure d'aluminium (AlCl₃) sur les tâches des flavonoides obtenus.</i>	87
Tableau 12	<i>Rendement des huiles essentielles au niveau des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	87
Tableau 13	<i>Rendement des tanins au niveau des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	88
Tableau 14	<i>Rapports frontaux des tâches obtenues des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	89
Tableau 15	<i>Action du réactif de Chlorure d'aluminium (AlCl₃) sur les tâches des tanins obtenus.</i>	89
Tableau 16	<i>Diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la croissance des souches bactériennes en milieu MH.</i>	91
Tableau 17	<i>Diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la croissance des souches bactériennes en milieu Sabouraud.</i>	91

LISTE DES FIGURES

Figures	Titre	page
Figure 01	<i>Quelques espèces de la famille de lamiacées.</i>	28
Figure 02	Marrubium vulgare L. <i>vue générale de la plante.</i>	32
Figure 03	Marrubium vulgare L. <i>détail de la tige et la feuille.</i>	32
Figure 04	Marrubium vulgare L. <i>Détail de la fleur.</i>	32
Figure 05	<i>Schéma de biogenèse des Flavonoïdes.</i>	38
Figure 06	<i>Schéma de structure chimique des tanins hydrolysables.</i>	41
Figure 07	<i>Schéma de structure chimique des tanins condensés.</i>	42
Figure 08	<i>Structures chimiques de quelques exemples monoterpènes et sesquiterpènes rencontrés dans les huiles essentielles.</i>	46
Figure 09	<i>Structures chimiques de quelques exemples diterpènes et triterpènes rencontrés dans les huiles essentielles.</i>	47
Figure 10	<i>Schéma de biogenèse des terpènes.</i>	48
Figure 11	<i>Les limites administratives de la daïra de Chefia dans la wilaya d'El Taref.</i>	52
Figure 12	<i>Zone d'échantillonnage El Chorfa.</i>	53
Figure 13	Staphylococcus.	56
Figure 14	Proteus.	56
Figure 15	Escherichia Coli.	56
Figure 16	Pseudomonas.	56
Figure 17	<i>Appareil de Soxhlet.</i>	63
Figure 18	<i>Schéma des différentes étapes suivies lors de l'extraction des Flavonoïdes.</i>	64
Figure 19	<i>Appareil pour la détermination des huiles essentielles dans les drogues végétales selon la pharmacopée belge (1982).</i>	67
Figure 20	<i>Schéma des différentes étapes de d'extraction des Tanins.</i>	68
Figure 21	<i>Coupe transversale d'une tige de Marrubium vulgare L (G x10).</i>	74
Figure 22	<i>Coupe transversale d'une tige de Marrubium vulgare L. Détail du Phloème et du Xylème (G x40).</i>	75
Figure 23	<i>Coupe transversale d'une tige de Marrubium vulgare L. Détail du parenchyme médullaire.</i>	75
Figure 24	<i>Coupe transversale d'une racine de Marrubium vulgare L (G x10).</i>	76
Figure 25	<i>Coupe transversale d'une racine de Marrubium vulgare L. Détail du Rhizoderme (G x40).</i>	77
Figure 26	<i>Coupe transversale d'une racine de Marrubium vulgare L. Détail du Phloème et du Xylème (G x40).</i>	77
Figure 27	<i>Coupe transversale d'une feuille de Marrubium vulgare L. (Gx10).</i>	78
Figure 28	<i>Coupe transversale d'une feuille de Marrubium vulgare L. (Gx10).</i>	79
Figure 29	<i>Coupe transversale d'une feuille de Marrubium vulgare L (G x40). Détail du parenchyme palissadique.</i>	79
Figure 30	<i>Secteur représentant le taux d'humidité des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	80
Figure 31	<i>Secteur représentant le taux de cendres totales des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	81

Figure 32	<i>Recherche des Saponosides dans les feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	82
Figure 33	<i>Recherche des tanins dans les feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	82
Figure 34	<i>Recherche des anthocyanes dans les feuilles de Marrubium vulgare L</i>	83
Figure 35	<i>Recherche des Leuco-anthocyanes dans les feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	83
Figure 36	<i>Recherche des Flavonoides dans les feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	84
Figure 37	<i>Recherche des Alcaloïdes dans les feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	84
Figure 38	<i>Recherche des Terpènes et stérols dans les feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	85
Figure 39	<i>Recherche des Cardinolides dans les feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	85
Figure 40	<i>Séparation par CCM des flavonoides extraits à partir des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	86
Figure 41	<i>Séparation par CCM des tanins extraits à partir des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	88
Figure 42	<i>Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de Enterrobacteriacée 1520 selon les produits testés sur les deux milieux.</i>	94
Figure 43	<i>Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance d'E.Coli.12 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.</i>	94
Figure 44	<i>Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de Pseudomonas 7244 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.</i>	95
Figure 45	<i>Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de Proteus 22M vis-à-vis des produits testés sur deux milieux.</i>	95
Figure 46	<i>Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de Pseudomonas ATCC 27853 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux</i>	96
Figure 47	<i>Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance d'E.Coli ATCC 25922 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux</i>	96
Figure 48	<i>Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance d'E.Coli 1429 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.</i>	97
Figure 49	<i>Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de Staphylococcus vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.</i>	97
Figure 50	<i>Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance d'E.Coli 1554 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.</i>	98
Figure 51	<i>Résultats de l'activité bactéricide en milieu MH des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	100
Figure 52	<i>Résultats de l'activité bactéricide en milieu Sabouraud des feuilles de Marrubium vulgare L.</i>	101
Figure 53	<i>Histogrammes des souches les plus sensibles et le plus résistantes vis-à-vis des tanins.</i>	105
Figure 54	<i>Histogrammes des souches les plus sensibles et le plus résistantes vis-à-vis des flavonoides.</i>	105

LISTE DES ABREVIATIONS

Cambium :	Cmb.
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince.
CG/SM :	Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrophotométrie de Masse
CLHP- HPLC:	Chromatographie Liquide à Haute Performance.
Col :	Collenchyme.
CTL:	Chromatography on Thin Layer
DER :	Drug-Extract ratio ou rapport drogue- extrait.
e :	écorce.
EC :	Conductivité électrique.
End :	Endoderme.
Ep :	Epiderme.
Ep s :	Epiderme supérieur.
Ep i :	Epiderme inférieur.
Flv :	Flavonoïdes.
I :	Indice de mousse.
m :	moelle.
MH :	Milieu Mueller-Hinton.
Ph 1 :	Protophloème.
Ph 2 :	Métaphloème.
PHE :	Poids des huiles essentielles (g).
PMV :	Poids de matière végétale (g).
Poils Tc :	Poils tecteurs.
Poils Sc :	Poils sécréteurs
Pr co :	Parenchyme corticale.
Pr Lc :	Parenchyme lacuneux
Pr ps :	Parenchyme palissadique.
R :	Rendement.
Rf :	Rapport frontal.
Rh :	Rhizoderme.
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
Sa :	Milieu Sabouraud.
Tan :	Tanins.
UV :	Ultra Violets.
Xy 1 :	Protoxylème.
Xy 2 :	Métaxylème.

INTRODUCTION

Depuis la nuit des temps, les humains apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques médicales paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autre au contraire semble plus fondée, plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des humains (Larousse 2001, Verdrager 1978).

N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leurs résistent de plus en plus. C'est pourquoi on utilise à nouveau l'absinthe chinoise (*Artemisia annua*) et surtout son principe actif pour soigner la malaria lorsque les protozoaires responsables de la maladie résistent aux médicaments (Larousse, 2001).

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels, est bien acceptée par l'organisme et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques.

En dépit des résultats spectaculaires obtenus par l'allopathie, la médecine classique connaît aussi des échecs, l'affaire de la thalidomide en est un exemple dramatique. En 1962, en Allemagne et en Grande-Bretagne, 3000 enfants, dont les mères avaient pris des sédatifs durant leur grossesse, naissent avec des difformités. En effet, on se rend compte, brusquement, qu'un traitement à base de médicaments sophistiqués peut engendrer des effets secondaires catastrophiques. Ceci s'applique aussi aux plantes, car si ces dernières sont faciles à utiliser, certaines d'entre elles provoquent également des effets secondaires. Comme tous les médicaments, les plantes médicinales doivent être employées avec précaution. Il est recommandé de n'utiliser une plante que sur les conseils d'un spécialiste : mal dosée, l'éphédra (*Ephedra sinica*) est très toxique et la consoude (*Symphytum officinale*), une plante qui a connu, jadis, son heure de gloire, peut avoir des effets fatals dans certaines circonstances. Toutefois, lorsqu'un traitement à base de plantes est suivi correctement, les risques d'effets secondaires sont fort limités. (Verdrager 1978, Fernandez 2003).

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes.

Depuis le XVIII^e siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques des plantes, on considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels.

S'il est capital de maîtriser l'action des différents principes actifs pris isolément, la phytothérapie, à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi « totum » plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Etudier les pièces d'une montre et réussir à en identifier les parties essentielles ne permet pas de

comprendre comment elle fonctionne, de même que disséquer une plante médicinale pour isoler ses principes actifs ne suffit pas pour expliquer comment elle agit. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants. Ainsi, des chercheurs ont démontré que les principes actifs de nombreux végétaux, tels ceux du ginkgo (Ginkgo biloba), agissent de manière complexe et combinée pour produire un effet thérapeutique global.

Les plantes contiennent des centaines, voire des milliers de substances chimiques actives. Souvent, déterminer en détail l'action d'une plante est très difficile, sinon impossible, même si son effet médicinal est, en revanche, bien connu. L'étude pharmacologique des plantes entières indique qu'elles fonctionnent comme un puzzle incomplet. (Fernandez 2003, Bruneton 1999)

La phytothérapie continuera-t-elle à être appréciée à sa juste valeur, c'est comme un large éventail de traitements équilibrés, sains, économiques et écologiques, ou ne sera-t-elle qu'une nouvelle activité économique devant impérativement générer des bénéfices immédiats ?

Pour notre part, nous nous sommes intéressés à une espèce végétale utilisée en phytothérapie. Il s'agit de Marrubium vulgare L. ou Marrube blanc.

Notre objectif était de vérifier la spécificité de cette plante aussi bien du point de vue biochimique (composition en principes actifs) que sur le plan antiseptique et notamment l'activité bactéricide de ses composants majeurs.

*- L'utilisation massive de cette plante 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 s'articule en parties.

- Dans une première partie, nous dresserons un aperçu bibliographique sur les plantes médicinales, une étude de l'espèce végétale et sur les principales substances naturelles excrétées et leur classification aussi que le mode d'extraction et d'identification.

- La seconde partie consiste en une analyse physico-chimique du substrat ou du sol de la plante étudiée.

- La troisième partie a été réservée à la mise en évidence des différents principes actifs de la plante.

- Dans la quatrième partie, nous procéderons à l'extraction, la séparation et l'identification des principes actifs.

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

HISTORIQUE

Les traces de l'utilisation des plantes médicinales existent dans des textes chinois datant de plus de 5000 ans avant J.C. Les inscriptions cunéiformes, présentes sur des tablettes sumériennes de Mésopotamie, prouvent que le pavot était déjà recherché il y a plus de 2000 ans avant J.C. Le papyrus médical d'Ebers (environ 1500 ans avant J.C.) est le premier recueil consacré aux plantes médicinales, proposant un inventaire de 12 plantes accompagnées de leur mode d'utilisation (myrrhe, ricin, ail etc.). Les Egyptiens possédaient déjà des notions de pharmacopée et plus de 200 plantes différentes, ramenées de Syrie par le pharaon Thoutmôsis III, apparaissent sur le bas-relief du temple de Karnak (1450 ans avant J.C.). En Inde, les « veda », livres sacrés contenant toute la sagesse divine, rédigés vers 1500 ans avant J.C., témoignent eux aussi de la connaissance des plantes. Le Khella et la Centella furent déjà décrits dans le traité médical dénommé « Charaka Samhita » vers 700 ans avant J.C. (Verdrager 1978, Wichtl et Anton 1999).

Des gravures de plantes antérieures à la culture hellénique ont été retrouvées en Crète. La découverte du nom grec d'une épice « Koriannon » a participé, pense-t-on, au déchiffrement de l'écriture mycénienne de Crète (XVII^e – XV^e siècle avant J.C.). Plus tard, la Grèce antique s'est distinguée avec les premiers thérapeutes du monde occidental. Hippocrate (460-377 avant J.C.) dispensa son enseignement précieux sur l'île de Cos. Il considérait la maladie comme un phénomène normal et préférait laisser agir la nature. Il fut le premier à mentionner des observations cliniques avec plus de 230 plantes médicinales. Chef de la confrérie des asclépiades - Askelpios, et plus tard, Esculape, furent les dieux des « remèdes », il devient le symbole de la médecine. A cette époque un début de classement selon la toxicité des plantes fut élaboré par des savants célèbres (Sérapion, Pline etc.) mais surtout Théophraste (372-287 avant J.C.), qui fut certainement le botaniste le plus marquant de toute l'antiquité. Il nomma quelque 500 espèces de plantes et se livra à des expérimentations sur certaines d'entre elles (« Historia plantarum », « De causis plantarum », « Peri phytoon historias » etc.). De son côté, Aristote (384-322 avant J.C.), célèbre disciple de Platon et naturaliste, écrivait : « Le tout est plus que la somme des parties constitutives. Chaque partie ou chaque organe d'un être vivant n'est pas seulement qu'une partie ou qu'un organe, mais c'est aussi un élément essentiel et indispensable de l'organisme, d'un tout ». Ceci constitue l'un des principes fondamentaux de la médecine par les plantes.

Plus tard, Dioscoride, herboriste grec (100 ans avant J.C.), écrivit un recueil de cinq livres consacré à plus de 500 espèces de plantes médicinales, regroupant déjà les Labiées, les Papilionacées, les Apiacées, les Astéracées. Cet ouvrage connu sous le nom de « Materia Medica », fut publié pour la première fois en 1478 par l'imprimeur de Venise Aldó Manuce. Il constitua la référence principale en Europe jusqu'au XVIII^e siècle, en rassemblant environ 600 plantes (genévrier, orme, pivoine, bardane etc.). Une illustration est fournie avec le «Juliana Anicia Codex », qui présente des descriptions brèves de plantes, mais surtout des données concernant l'utilisation pratique de végétaux, le type d'indications et les médications. Galien (130-201 avant J.C.), d'origine grecque et médecin personnel de l'empereur romain Marc Aurèle, élaborait sa théorie des « quatre humeurs » et s'intéressa surtout à l'anatomie. Son influence se poursuivra durant près de 15 siècles. Il écrivit seulement trois livres et se limita aux plantes qu'il appréciait personnellement. Il est considéré comme le père de la pharmacie (Verdrager 1978, Wichtl et Anton 1999)..

Au II^e siècle, le commerce entre l'Europe, le Moyen-Orient, l'Inde et l'Asie commence à se développer, et les routes commerciales livrent déjà les premières épices (clou de girofle originaire des Moluques) (Wichtl et Anton 1999).

Bien entendu, toutes les grandes civilisations ont eu leurs traditions phytothérapeutiques. Au I^{er} siècle, le « Shen'ong Bencaojing » chinois proposait déjà 252 remèdes à base de plantes (tussilage, réglisse etc.) et les civilisations précolombiennes (Maya, Aztèque, Inca) utilisaient la salsepareille, le tabac et le poivre, et produisaient même la pénicilline sur des peaux de banane verte (Verdrager 1978).

Au Moyen-Âge, de nombreuses écoles de médecine furent fondées, comme la célèbre école de Salerne en Italie, qui utilisait déjà la sauge (la plante qui sauve), tandis que les guérisseurs usaient du pavot et même du cannabis comme analgésique. Hildegarde von Bingen (1098-1179), mystique bénédictine renommée, employait le galanga comme « épice de vie ». De son côté, l'épanouissement de la culture arabe (VII^e – XV^e siècles) fournissait d'excellents médecins et pharmaciens, qui furent à l'origine de découvertes importantes (préparation des essences par distillation...) et qui ont compté de célèbres praticiens (Avicenne 980-1037). Le développement des explorations est incarné par les grands navigateurs, dont Christophe Colombo, qui rapporta de nombreuses plantes des Antilles, comme le bois de gaïac. En 1533, les Espagnols découvrirent la coca du Pérou. C'est aussi l'époque où le cardinal jésuite Juan de Lugo ramena la célèbre «poudre de Jésuites», composée de l'écorce de quinquinas, de la Cordillère des Andes, qui, un peu plus tard, fut le fébrifuge apprécié de certains rois de France (Verdrager 1978, Wichtl et Anton 1999)..

La route des épices vers l'Orient était aussi ouverte : la sauge et les plantes des monastères étaient échangées contre le gingembre, la cardamome, la noix muscade, le curcuma, le safran des Indes, le séné...

Paracelse (1493-1541), alchimiste et professeur de médecine à Bâle, considéré comme le père de la chimie, critiqua les théories de Galien et d' Avicenne. Il rédigea une oeuvre en dix volumes, au sein de laquelle les plantes avaient une place toute particulière. Sa célèbre théorie de la signature était mentionnée ainsi : «La nature munit chaque plante de signes extérieurs, afin d'indiquer son utilité. En conséquence, celui qui veut apprendre ce que la nature veut signifier, doit interpréter ses marques, pour savoir quelles bonnes vertus se cachent de dedans. La signature du poivre d'eau indique que la plante va guérir les plaies : ceci est attesté par la forme de la feuille et les gouttes de sang rouge au milieu de la feuilles...». Cette théorie eut ses adeptes et fut utile pour mémoriser certains usages (Verdrager 1978, Wichtl et Anton 1999).

Dès le XVII^e siècle, d'éminents botanistes ont élaboré les fondements d'une classification, qui, modifiée au cours des années, fait actuellement autorité. N. Culpeper (1616-1654) développa les «herbiers» imprimés, ce qui permit aux propriétés thérapeutiques des plantes d'être mieux connues. Parallèlement, la consommation de thériaques, composées de dizaines de drogues héroïques (mandragone...) était à son comble. Une histoire de la flore universelle, « Historia plantarum », traitant de plus de 18000 espèces, fut entreprise par J.

Ray (1628-1705). Les oeuvres de C. Linné (1707-1778), naturalistes suédois, sont immenses et ne peuvent évidemment être citées ici. Ce Père de la systématique comprit l'importance des espèces et leurs noms et publia de nombreux ouvrages : «Genera Plantarum» (8000 plantes), « Species Plantarum » (5900 plantes), « Systema Naturae » etc. Tous les cinq membres de la famille de Jussieu, médecins et botanistes (1686-1853), furent passionnés de systématique et constituèrent une référence, sans parler du naturaliste Buffon (1707-1788) et de sa célèbre «Histoire Naturelle ».

En 1692, paraissait la première « Pharmacopée Royale Galénique et Chimique » rédigée par M. Charas, véritable recueil de préparations médicamenteuses. En 1778, le premier diplôme d'herboriste était décerné par la Faculté de Médecine de Paris. Le premier codex français

parut en 1818 et les éditions se sont succédées jusqu'à la parution de la dernière édition de la pharmacopée européenne (addendum 1999) (Wichtl et Anton 1999).

Au XIX^e siècle, la découverte des molécules originales, qui font la valeur thérapeutique des drogues héroïques, a été impressionnante. Pour ne prendre que quelques exemples très ponctuels, Meissner proposa en 1819 le nom d'«alcaloïde» (dérivé des termes «al Kali » = cendre et « eidos » = forme), ayant observé le premier que ces substances azotées, présentes dans certaines plantes, possédaient des propriétés basiques. Ces molécules hétérocycliques, dérivant d'acides aminés, sont biosynthétisées à la fois par les plantes et par certains animaux. Elles présentent une forte affinité pour les récepteurs humains, d'où des effets pharmacologiques et thérapeutiques marqués, ce qui implique aussi leur toxicité à dose plus élevée (Verdrager 1978).

Des progrès immenses ont été réalisés à cette époque par des pharmaciens et des chimistes qui ont étudié nombre de plantes exotiques et de notre environnement. Les secrets des remèdes d'autrefois commençaient à être découverts. C'est ainsi que pour ne prendre que l'exemple du pavot, la morphine fut isolée par Sertürner en 1817, la codéine par P. Robiquet en 1832 (il isola aussi l'asparagine de l'asperge), et la papavérine par Merck en 1848. Bien entendu, les structures chimiques complètes de ces structures furent élucidées bien plus tard. C'est aussi l'époque de l'isolement de l'inuline à partir de l'aunée (1804), de l'acide salicylique de l'écorce de saule (1838) et le commencement d'une longue série. P.J. Pelletier (1788-1842) et J. Caventou (1795-1877) isolèrent en 1820, et pour la première fois, des substances naturelles pures qui devaient faire l'orgueil de notre pharmacie, comme la quinine, la strychnine et la colchicine. C'est aussi l'époque de la découverte de toute une série d'alcaloïdes (atropine, éserine, cocaïne etc.).

Des études effectuées sur les curares des Indiens de l'Amazonie et de Colombie, ramenés par l'expédition de la Condamine, permirent vers 1850 au physiologiste C. Bernard (1813-1878) de jeter les bases d'une nouvelle discipline, la pharmacologie expérimentale (Verdrager 1978).

Rendons aussi hommage à W. Withering (1741-1799), médecin anglais qui découvrit le premier les effets bénéfiques de la digitale dans l'hydropisie. Mais aussi à Nativelle, pharmacien français, qui isola en 1868 les hétérosides cardiotoniques à partir de la digitale pourprée, médicaments qui ont sauvé des générations d'insuffisants cardiaques. Plus récemment, de nombreuses drogues utilisées sous forme d'extraits commencèrent à être de plus en plus utilisées, comme l'aubépine, le ginkgo etc. D'autres continuent à apparaître sans cesse sur le devant de la scène, dans des axes thérapeutiques novateurs (millepertuis, épilobe, echinacea etc.). Ainsi partant des feuilles ou des fleurs séchées de la phytothérapie empirique, passant par l'étape de la phytothérapie extractive, on arrive progressivement à la phytothérapie moderne où les principes actifs des plantes sont présentés à l'état pur sous forme de molécules chimiques. Actuellement se manifeste un certain désir de retour vers la nature, un besoin d'évasion vers la montagne, la forêt, la mer et les pays lointains. Les mouvements écologiques se multiplient. Ce désir de retour à la nature se manifeste également par un regain d'intérêt pour les traitements par les plantes que la publicité exploite largement. Les vitrines des pharmacies se couvrent de petits paquets de feuilles sèches dont les vertus sont explicitées par de magnifiques gravures (Verdrager 1978, Wichtl et Anton 1999).

Enfin, évoquons d'un mot les milliers de travaux de pharmaco-toxico-chimie sur les produits naturels qui se sont succédés surtout depuis 1950, et qui ont permis à des milliers de malades de retrouver l'espoir (Wichtl et Anton 1999).

This document was created using
SmartPDF Creator

PARTIE I
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

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

CHAPITRE 1 : LES PLANTES MEDICINALES.

1. 1. DEFINITIONS

- La matière médicale :

« Materia Medica », est, à l'origine, l'étude de toutes les matières premières naturelles à usage médical. Actuellement encore appelée pharmacognosie (Paris et Hurabielle, 1980).

La matière médicale s'occupait de toutes les « drogues végétales », c'est-à-dire des produits bruts fournis à la pharmacie par les minéraux, les animaux et les végétaux. Elle est actuellement réduite le plus souvent à l'étude des drogues d'origine biologique et quelquefois à celle des matières premières végétales utilisées en pharmacie (Paris et Moyses, 1976).

- La drogue végétale :

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 (Wichtl et Anton, 2003).

On appelle drogue végétale tout matériel végétal utilisé en thérapeutique et n'ayant encore subi aucune préparation pharmaceutique (Paris et Hurabielle, 1980).

- La phytothérapie :

C'est l'ensemble des soins thérapeutiques faisant directement appel aux drogues d'origine végétales. Les matériaux végétaux peuvent être employés sous leur forme la plus simple (infusions simples ou composées) ou sous la forme de préparations galéniques (teintures, extraits, onguents). La phytothérapie représente une partie de la thérapeutique médicamenteuse (Volak et Stodola, 1983).

1. 2. SOURCES DES PLANTES MEDICINALES

1. 2. 1. Plantes de cueillette et plantes de culture :

- Plantes de cueillette :

A l'origine, on ne récoltait que les plantes spontanées appelées plantes de cueillette. En fait, celles-ci présentent un certain nombre d'inconvénients : dispersion géographique, irrégularité de leur croissance, qualité inégale...de plus, leur récolte (qui nécessite une main d'oeuvre abondante et qualifiée) se révèle aujourd'hui insuffisante en France pour de nombreuses drogues.

Actuellement, les plantes sont cueillies à l'état sauvage quand les peuplements naturels sont abondants, quand les besoins, réduits, ne nécessitent pas la culture, quand les cultures sont difficiles ou impossibles.

Dans tous les autres cas, on fait appel aux plantes de culture.

- 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).
- Récolte aisée, souvent mécanisée.
- Faire de main-d'œuvre réduite.
- Parfois traitement du matériel végétal au voisinage des champs de culture -évitant l'altération des drogues.
- Risque très faible de substitutions ou de falsifications (Paris et Hurabielle, 1980).

1. 3. CONDITION DE LA CULTURE DES PLANTES MEDICINALES

1. 3. 1. Conditions climatiques :

Le climat est formé par un ensemble de facteurs : température (en relation avec la latitude et l'éloignement de la mer), humidité, insolation, pouvant, pouvant être modifiés par le régime des vents.

La température :

Les variations annuelles sont très importantes. On doit prendre en considération les cartes température et pas seulement la température moyenne. De nombreuses plantes ne peuvent supporter la gelée et il en est, comme le Cacaoyer, pour lesquelles la température ne doit pas être inférieure à quelques degrés au-dessus de 0°C.

Au contraire, l'action du froid peut être nécessaire au développement et à la floraison. C'est le cas pour les plantes dites bisannuelles qui ne florissent et fructifient que la deuxième année de leur végétation, après avoir subi l'influence du froid hivernal (Digitale pourpre, variété bisannuelle de Jusquiame noire).

- L'humidité :

Il faut considérer celle du sol (le Droséra ne pousse bien que dans les tourbières) et celle de l'atmosphère. La hauteur moyenne des pluies intervient, mais aussi leur répartition : un été sec est nécessaire pour la récolte de l'opium ; les pluies peuvent diminuer la teneur en huiles essentielles.

- L'intensité de la lumière :

L'intensité de la lumière nécessaire pour le bon développement des plantes est variable. Il y a des plantes de lumière dites héliophiles (Digitales, Pavot et Lavandula) et des plantes héliophobes ou ombrophiles qui préfèrent les sous-bois (Fougère male, Hydrastis, Muguet et Petite Pervenche).

- L'altitude :

Dans les conditions les plus favorables, le Cocotier pousse au niveau de la mer, la Canne à sucre en plaine, le Théier entre 1000 et 2000 mètres, les Caféiers entre 800 et 1500 mètres. Cependant, ce facteur n'est pas absolu et des plantes peuvent se développer à des altitudes très différentes de celle de leur pays d'origine.

- Le régime des vents :

Conditionne la pluie et aussi la température et intervient donc dans les climat. Certaines plantes médicinales sont adaptées à un climat déterminé.

- *Le climat équatorial :*

Chaleur constante, pluies continues, sans saison sèche, on pousse la forêt dense.

- *Le climat tropical :*

Est toujours chaud mais avec saison sèche et saison humide plus ou moins marquées. Il est propice à de nombreuses plantes médicinales aromatiques.

- *Le climat désertique :*

Chaud, à pluies rares, à grands écarts de température, n'est supporté que par peu d'espèces xérophiiles (adaptées à la sécheresse).

- *Le climat tempérés :*

On peut distinguer :

- *Le climat méditerranéen : à étés secs, hivers doux et humides, indiqué pour nombreuses espèces : Oliver, Laurier rose, Labiées et Ombellifères à huiles essentielles.*

- *Le climat océanique : humide, à température régulière, convient pour Camomille, la menthe.*

- *Le climat continental : mois humide, avec des contrastes plus accentués : été chaud, hiver froid, est supporté par : Digitale, Aconit et Gentiane.*

1. 3. 2. Conditions édaphiques :

Le sol intervient par ses propriétés physiques et chimiques. Il est formé de matières minérales provenant de la désagrégation et de la décomposition des roches et de matières organiques en décomposition ou humus, dont la teneur est importante pour la fertilité (sols pauvres : humus 0.5 %; sols riches : humus 1.5 à 5 %).

La porosité du sol, sa capacité de rétention d'eau, sont très importantes. Cette dernière peut varier de 13 p. 100 (sable grossier) à 40 p. 100 (argile). Le sol lasser l'aire en raison inverse de sa capacité de rétention d'eau. Il donc nécessaire de drainer les sols top humides pour permettre l'aération des racines.

Le pH du sol joue un rôle. On distingue en gros les sols acides (siliceux) et les sols alcalins (calcaires). Certaines plantes sont typiquement calcifuges ou silicicoles : la Digitale pourpre, Pin maritime et Genêt à balai ; d'autres calcicoles : Lavandes et Romarin. En dehors des cas extrêmes, il y a toujours un pH optimal pour chaque espèce.

Les sol intervient par sa microflore : les bactéries du sol permettent la minéralisation de substances organiques au niveau des radicelles. Certains Champignons vivent en symbiose avec les racines (mycorhizes) et ont un rôle dans l'assimilation de l'humus (Paris et Moyse, 1976).

1. 4. LA RECOLTE DES PLANTES MEDICINALES

Traditionnellement, et de façon préférentielle, les plantes médicinales sont récoltées dans leur habitat naturel mais, de plus en plus, et dans beaucoup de régions, c'est difficile à réaliser :

- À cause de l'augmentation permanente des zones agricoles "traitées" par des pesticides, y compris les pâturages, les haies et les jachères.

- Et pour certaines espèces, à cause de la disparition inquiétante des plantes médicinales à l'état sauvage, surexploitées (pour répondre à la demande croissante au niveau mondial de l'industrie pharmaceutique, des négociants et des commerçants en plantes médicinales), ou fragilisées par les modifications du milieu naturel (pollution, agriculture industrielle, agroforesterie, désertification et broutage exagéré).

Beaucoup de plantes médicinales très recherchées sont maintenant cultivées de façon raisonnablement biologique, mais aussi parfois intensivement en utilisant engrais et pesticide. Quand on récolte des plantes sauvages dans tous les cas, il ne faut prélever que la quantité de plantes nécessaire, si possible à l'écart des routes passantes et des zones d'agriculture intensive et enfin s'assurer de la bonne identification de la plante médicinale.

On récolte si possible :

- Les plantes entières : à l'époque de leur floraison.*
- Les feuilles : après développement complet et si possible avant la floraison.*
- Les fleurs et les rameaux fleuris : immédiatement avant l'épanouissement total des fleurs.*
- Les racines des plantes annuelles : à la fin de la période végétative (fin de croissance).*
- Les racines des plantes bisannuelles : à la fin du repos végétatif de la première année et avant la reprise de la deuxième année.*
- Les racines des plantes vivaces : au cours de leur deuxième ou troisième année, avant qu'elles ne deviennent trop dures et fibreuses (lignification).*
- Les fruits et graines : à maturité ou très légèrement avant quand on pense sécher les fruits.*
- Les écorces d'arbre : en hiver ou au début du printemps (ou pendant la saison sèche); les écorces d'arbrisseau : après la saison chaude (ou en fin de saison humide) (Paris et Hurabielle, 1980).*

1. 4. 1. Conditions et procédés de récolte:

Seules les plantes très saines doivent être récoltées. Par ailleurs, quelle que soit la plante ou la partie de 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 procédées de récolte sont variables selon les drogues:

- Souvent, la récolte à la main est nécessaire; c'est le cas pour de nombreuses fleurs. La technique manuelle doit être utilisée pour l'arrachage des organes souterrains, des écorces et l'obtention, par incision, des gommés, résines et latex.

- Par fois elle est mécanisée : récolte des parties aériennes, des sommités fleuries, de certains fruits ou certaines graines. On utilise alors le plus souvent un matériel agricole classique plus ou moins adapté aux plantes médicinales (Paris et Hurabielle, 1980).

1. 5. CONSERVATION DES PLANTES MEDICINALES

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 (Wichl et Anton, 2003). Il faudrait réaliser tout d'abord une dessiccation suivie de la stabilisation (la dessiccation, qui a pour but d'inhiber l'action des enzymes par élimination d'eau et de les rendre inactives d'une façon irréversible).

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, 1980).

1. 5. 1. Dessiccation :

- A l'air libre et au soleil :

Dans les climats chauds et secs, c'est le moyen le plus économique. Ce mode de séchage dure de quelques heures à quelques semaines, suivant l'humidité de l'air et la consistance des végétaux. Il est contre-indiqué pour les fleurs dont il altère souvent la couleur et pour les végétaux à huiles essentielles qui subissent des pertes en essence. L'action des ultraviolets qui interviennent en même que les infrarouges peut être nuisible à certains principes actifs. De plus, les drogues subissent des variations importantes de température. Celle-ci peut s'abaisser beaucoup pendant la nuit, il peut y avoir condensation de rosée le matin. Les végétaux doivent être protégés par des couvertures (Paris et Moysse, 1976).

- Séchage à l'ombre :

Les plantes doivent être étalées ou suspendues sur des claies en bouquets dans des hangars ou des séchoirs et bien ventilés. La méthode est assez longue et reste artisanale.

- Séchage par l'air chaud :

C'est le procédé le plus répandu, car il présente l'avantage d'être rapide, et permet d'opérer dans des conditions bien déterminées, variables selon les drogues. On dispose, le plus souvent, de séchoirs-tunnels dont on règle la température et la ventilation. La drogue, disposée sur des chariots ou sur une bonde transporteuse, se déplace tout au long du tunnel et, au cours de son déplacement, rencontre de l'air de plus en plus chaud; à la sortie du tunnel, la dessiccation doit être terminée.

- Autres procédés :

Parmi les autres procédés utilisés, on peut citer 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. Elle est intéressante pour les souches d'antibiotiques, coûteuse et donne des résultats irréguliers pour les plantes médicinales (Paris et Hurabielle, 1980).

Pour pouvoir réussir la dessiccation, il faut agir le plus vite possible après la récolte pour éviter la destruction des principes actifs par les enzymes et éliminer l'eau du végétal sans altérer les principes actifs. Enfin après toute dessiccation, il est nécessaire de contrôler si celle-ci est suffisante (détermination de la teneur en eau des drogues sèches).

1. 5. 2. La stabilisation :

La dessiccation ne détruit pas les enzymes mais si la plante est réhydratée ces enzymes peuvent de nouveau exercer leur action. 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

1. 5. 3. Méthodes de stabilisation :

- Traitement par l'alcool bouillant :

La drogue, convenablement divisé, et projetée par petites quantités dans l'alcool bouillant; les enzymes sont ainsi détruites, mais en même temps, sont extraits tous les principes de la plante soluble 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.

- Utilisation de la chaleur humide :

- *Vapeurs d'alcool : la stabilisation s'effectue en autoclave au sein de vapeurs d'alcool à 95°C. Il y a, à la fois, une 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).*

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

- Autres procédés :

D'autres techniques peuvent être mises en œuvre. Telles que l'emploi de la chaleur sèche pendant quelques minutes. Le séchage par l'air chaud est une stabilisation quand la température dépasse 80°C : c'est ce qu'on appelle la « Flash dessiccation » (chauffage à 300°C pendant un temps très court).

Les différents procédés utilisés 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 (Paris et Hurabielle, 1980).

1. 6. LE STOCKAGE DES PLANTES MEDICINALES

Pour le stockage, la préférence doit être donnée à un endroit sec bénéficiant d'une température et d'une humidité relative constante. Le « grenier aux plantes », autrefois prisé, exposé au froid l'hiver et à la chaleur de l'été ne constitue plus une référence d'actualité. L'humidité doit être également maîtrisée et il est recommandé en général que le taux d'humidité relative soit inférieur à 60 %. Enfin, la fragmentation augmente la surface de contact avec l'air. Les drogues renfermant des huiles essentielles, tanins et les principes amers, doivent être particulièrement surveillées. En général, on ne stockera guère les drogues sous forme pulvérisée (Wichl et Anton, 2003).

Le stockage est déterminé par la nature des substances actives. Toutes les drogues doivent être conservées au sec, dans l'obscurité, dans des récipients bien fermés, passagèrement dans des boîtes en carton ou des sachets en papier. Lorsqu'il s'agit de quantités importantes, on emploiera des sacs en toile, protégés de la lumière et de l'humidité. On devra à tout prix éviter les emballages et les sachets en matière plastique. Dans les entrepôts en grand, les plantes sont généralement stockées dans des sacs en papier ou en jute, dans des caisses en bois garnies de papier sulfurisé ou dans des boîtes métalliques. Ceci en fonction de la nature des drogues.

Certaines d'entre elles sont particulièrement sensibles à l'humidité de l'air (drogues hygroscopiques) ; elles seront conservées exclusivement dans des bouteilles de verre brun, bouchées avec des bouchons à l'émeri, et renouvelées chaque année, même si elles n'ont pas été entièrement consommées. Les mêmes conseils s'appliquent à la conservation des épices (Volak et Stodola, 1983).

1. 7. DIFFERENTES FORMES DES PREPARATIONS DES PLANTES MEDICINALES

On reconnaît généralement deux type de préparation médicinale : les plantes médicinales et les produits pharmaceutiques. Les produits pharmaceutiques sont des médicaments raffinés ou synthétisés. L'organisation mondiale de la santé a défini les médicaments à base de plantes de la façon suivante :

« Produits médicinales, finis, étiquetés qui contiennent comme principes actifs exclusivement des plantes (parties aériennes ou souterraines), d'autres matières végétales ou des associations de plantes. à l'état brut ou sous forme de préparations. Les produits végétaux comprennent les sucs, gommés, huiles grasses, huiles essentielles ou toutes autres substances de cette nature. Les médicaments à base de plantes peuvent contenir, outre les principes actifs, des excipients.

Les médicaments contenant des produits végétaux associés à des principes actifs chimiquement définis, isolés de plantes, ne sont pas considérés comme des médicaments à base de plantes. Exceptionnellement; dans certains pays, les médicaments à base de plantes peuvent également contenir par tradition des principes actifs naturels, organiques ou inorganiques, qui ne sont pas d'origine végétale.» (Small et Catling, 2000).

1 - Tisanes:

Ce sont des préparations aqueuses obtenues à partir des drogues végétales convenablement divisées et dont la quantité à utiliser variera selon la plante. Elles pourront être préparées par : infusion, décoction et macération (Raynaud, 2007).

- Infusion :

Solution obtenue en versant de l'eau bouillante sur la plante 5 à 10 minutes suivant les espèces (Beloued, 1998).

Ce procédé convient bien pour les fleurs, les feuilles, les sommités fleuries, les plantes riches en huiles essentielles ; il permet une bonne extraction des principes actifs hydrosolubles et même de ceux qui le sont faiblement à l'état pur. Certaines constituantes de la plante (saponines) augmentent leur solubilité (Raynaud, 2007).

- Décoction :

Mettre la plante dans l'eau froide et la faire bouillir 2 à 5 minutes selon le cas ; de 5 à 10 minutes pour les écorces, les racines et les tiges (Beloued, 1998).

Ce procédé convient bien quand la drogue correspond aux organes souterrains : racines et rhizomes, ou pour les écorces (Raynaud, 2007).

- Macération :

Solution obtenue en traitant pendant un temps plus ou moins long une plante par immersion dans de l'eau, l'huile, l'alcool, l'éther ou d'un mélange de ces liquides pour en extraire les principes solubles (Beloued, 1998).

Ce procédé évitera l'extraction des tanins et sera intéressant s'il s'agit d'une drogue à mucilages ou à gommages (Raynaud, 2007).

2 - Teintures :

Elles seront obtenues par extraction hydroalcoolique de la drogue fraîche, leur titre alcoolique étant compris entre 60°C et 80°C.

Pour les drogues utilisées en phytothérapie, elles sont 1/5 (une partie de drogue pour cinq parties de solvant d'extraction). Il existe des teintures au 1/10 pour des drogues à alcaloïdes comme la Belladone, le Datura et la Jusquiame, qui ne seront pas prescrites en phytothérapie.

- Teintures mères :

Elles seront obtenues par extraction hydroalcoolique de la drogue fraîche, leur titre alcoolique sera compris entre 60°C et 70°C. Elles sont au 1/10 et préparées par macération pendant trois semaines.

Poudres :

Les poudres peuvent être préparées de deux manières :

- Après broyage, la drogue sèche est tamisée de façon à avoir une granulométrie convenable, puis mise en gélules.

- Le cryobroyage : la pulvérisation de la plante fraîche est réalisée à très basse température dans l'azote liquide (-196 °C) sans intervention d'aucun solvant. La poudre fine et homogène obtenue se prête bien à la mise en gélules (Raynaud, 2007).

4 - Sirops :

Les extraits de drogues sont ajoutés à un sirop de base (par exemple .sirop simple) qui est un liquide épais en mélangeant de l'eau chaude avec beaucoup de sucre (Schauenberg et Paris, 1977).

Les sirops ont exclusivement pour fonction de masquer la saveur désagréable des substances actives à ingérer (Cecchini, 2003).

5 - Extraits :

Les extraits sont des préparations liquides obtenues par macération aqueuse ou alcoolique des plantes que l'on concentre plus ou moins par évaporation : on obtient de cette manière des extraits fluides, épais ou solides (Schauenberg et Paris, 1977).

6 - Les huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des produits huileux, volatils et odorants sécrétés par les plantes aromatiques. Les huiles essentielles sont employées par voie interne (1 à 3 gouttes dans une cuillerée de miel), ou par voie externe (massage, inhalation, dispersion, bains, etc.) (Lacoste, 2006).

7 - Cataplasmes :

Il se prépare en broyant les plantes fraîches et en étalant sur un linge à appliquer sur la région malade. On peut aussi faire bouillir la plante dans un peu de lait ou d'eau jusqu'à évaporation complète du liquide.

Il s'agit de remède adopté pour soigner les inflammations cutanées, les enflures, les blessures, les plaies, les douleurs rhumatismales (Cecchini, 2003).

8 - Macérats glycérolés :

Le macérat glycérolé de base est en général au 1/20, le solvant d'extraction est un mélange alcool-glycérine. Ces macérats glycérolés sont obtenus à partir des bourgeons ou d'organes jeunes (Raynaud, 2007).

9 - Gélules, comprimés et extraits liquides :

Il s'agit de formes galéniques qui ne peuvent être réalisées que dans des laboratoires équipés de machines spéciales.

- Les gélules :

Les gélules sont des préparations solides, dosées d'une manière précise, destinées à être utilisées par voie buccale. Leur préparation fait appel à côté de la substance active principale, à divers produits auxiliaires, souvent d'origine végétale.

- Les comprimés :

Les principes actifs de la plante sont extraits puis associés à un excipient (cellulose, lactose, fructose, amidon, etc.). Ce procédé est surtout utilisé pour les plantes dont les principes actifs doivent être extraits car peu biodisponibles dans la plante sèche.

- Les extraits liquides :

Les extraits liquides sont d'autres formes galéniques très à la mode en ampoules ou en flacons. Les extraits liquides peuvent être de simples infusions, décoctions ou jus. Il peut aussi s'agir d'extraction hydroalcoolique faite avec de l'alcool et de l'eau (Lacoste, 2006).

10 - Les crèmes :

On prépare une crème en associant de l'huile ou un autre corps gras à de l'eau, par un processus d'émulsion. Contrairement aux onguents les crèmes pénètrent dans l'épiderme. Elles ont une action adoucissante, tout en laissant la peau respirer et transpirer naturellement.

11 - Compresses :

Les Compresses Sont des préparations a base de plantes et d'eau (infusion, décoction ou tenture diluées), sont des linges imbibés de lotion que l'on applique sur la peau et qui contribue à soulager les gonflements et à calmer les inflammations (Iserin.1997).

12 - Les huiles médicinales :

On fait infuser par macération, à froid ou a chaud, les principes actifs d'une plante dans de l'huile d'olive, d'oeillette, de noix, d'amandes, etc (Boureton et Ridayre, 1977). Elles sont appliquées en fraction sur la peau. Certaines huiles de plantes peuvent soulager les rhumatismes ou améliorer la circulation (Lacoste, 2006).

1. 8. LES PRINCIPES ACTIFS DES PLANTES MEDICINALES

Après la série des transformations technologique 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 végétales, puis durant son stockage. La phytochimie est en liaison étroite avec la pharmacologie (étude des effets sur l'organisme humain des substances médicinales, 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 actives des plantes médicinales sont de deux types: les produits du métabolisme primaire, substances indispensables à la vie de la plantes, que se forment dans toutes les plantes vertes grâce à la photosynthèse; le second type de substances 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 (Volak et Stodola, 1983).

La nature chimique de la drogue est déterminée par sa teneur en substances des groupes principaux:

- Alcaloïdes:

Ces sont des substances d'origine biologique et le plus souvent végétale, éventuellement reproductibles par synthèse, azotées, de réaction alcaline, les alcaloïdes renferment toujours du carbone, de l'hydrogène et de l'azote, et le plus souvent, en plus, de l'oxygène (Volak et Stodola, 1983).

- Tanins:

Des substances d'origine végétale, non azotées, de structure polyphénolique, solubles dans l'eau, l'alcool, l'acétone, peu solubles dans l'éther, de saveur astringente et ayant la propriété commune de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines dans les plantes. Les tanins existent à l'état de complexes (les tannoïdes); certains combinés à des sucres sont dénommés tanosïdes (Paris et Moyse, 1976).

- Flavonoïdes:

Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux, presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruit et parfois des feuilles. Tel est le cas des Flavonoïdes jaunes (chalcones, aurones, flavonols jaunes), des anthocyanosides rouges, bleus ou violets. Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigment : tel est le cas des flavones et des flavonols incolores (co-pigment) et protégeant les anthocyanosides. La zone d'absorption de la molécule est située dans le proche ultraviolet. La coloration n'est alors perçue que par les insectes qui sont ainsi efficacement attirés et guidés vers le nectar et donc contraints à assurer le transport du pollen. Les flavonoïdes condition de la survie de l'espèce végétale (Bruntone, 1999).

- Saponines:

Les saponines sont très communs dans les plantes médicinales. Du point de vue chimique, elles se caractérisent également par un radical glucidique (glucose, galactose) joint a 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 rouge, (érythrocytes), c'est-à-dire de libérer leur hémoglobine, ce qui explique l'effet toxique de certaines d'entre elles, qui les rend inconsommables.

- Glucosides:

Les glucosides sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. ils se composent de deux parties. L'une contient un sucre, par exemple le glucose, et 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).

- Phénols:

Ce sont des 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, antalgiques, anti-inflammatoires ... (wichtl et Anton, 2003).

- Principes amers:

Les plantes dites "amers" ce sont des plantes à substances de composition diverse. on appelait autrefois "amers" les substances de structure inconnue (Hauard, 1988).

Ces substances présentent un goût amer, excitent les cellules gustatives, stimulent l'appétit et augmentent la sécrétion des suc gastriques. La pharmacologie regroupe sous le nom de principes amers, les substances végétales terpéniques susceptibles de libérer de l'azulène, ainsi que des glucosides de diverses structures biochimiques. Le premier groupe comporte par exemple les suc amers de l'Aabsinthe et du chardon béni. Le deuxième group est le plus commun : il regroupe les suc des gentianacées (gentiane, trèfle d'eau), de la Centaurée, etc (Volak et Stodola, 1983).

- Les huiles essentielles:

les huiles essentielles (parfois appelées essences) sont des mélange complexes de substances odorantes et volatiles contenues dans les végétaux. En d'autres termes les huiles essentielles peuvent être définies comme étant des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certains citrus (Paris et Hurabielle, 1981).

Les huiles essentielles sont antiseptiques au niveau cutané et intestinal, irritantes pour les muqueuses et stimulantes. A forte dose, les huiles essentielles peuvent entraîner par irritation des diarrhées sanglantes, vomissements et des douleurs abdominales violentes (Hauard, 1988).

- Les huiles grasses:

Ils ne sont pas volatils (huiles fixes), ce qui les différencie des huiles essentielles (Paris et Hurabielle, 1981).

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'amande, et dans la catégorie des semi-siccatives, celle d'arachide, de tournesol et de colza (Volak et Stodola, 1983).

- Mucilages végétaux:

Ce sont des mélanges amorphes de polysaccharides, formant en présence d'eau des systèmes colloïdaux fortement visqueux. A l'eau froide, les mucilages gonflent en formant des gels, à l'eau chaude ils se dissolvent en formant des solutions colloïdales qui se gélifient à nouveau en refroidissant. Dans les plantes, ces substances ont un rôle de réservoirs, surtout par leur capacité à retenir l'eau. Dans les infusions décoctions et les mucilages. Les plantes médicinales ont pour effet de réduire l'irritation tant physique que chimique. Ils exercent donc une action favorable contre les inflammations des muqueuses, notamment celles des voies respiratoires et digestives. Ils atténuent les douleurs des contusions, assouplissent la peau lors d'applications de cataplasmes, réduisant le péristaltisme intestinal. Leur effet d'absorption agit favorablement sur la diarrhée et on les emploie abondamment comme émulsifiants (Volak et Stodola, 1983).

- Quinones :

Ce sont des dicétones aromatiques provenant de l'oxydation de diphénols telles que les naphtoquinones qui ont une activité antimicrobienne, fongicide, et parfois vermifuge.

Les anthraquinones naturelles les plus utilisées sont pratiquement laxatif-purgatifs. (Paris et moysse, 1976). Elles ont un effet laxatif et irritant sur le gros intestin, facilite ainsi le transit intestinal. Telles que le sené (Cassia senna) et rhubarbre de chine (Rheum palmatum) qui toutes deux agissent sur la constipation (Iserin, 1997).

- Glucosinolates :

Substances anioniques soufrées, ces hétérosides caractérisent certaines familles végétales, leur hydrolyse conduit à l'apparition de molécules d'odeur généralement forte piquante (Moutarde. Ail, Oignon). Leur usage immodéré peut engendrer des brûlures gastriques, mais aussi l'apparition d'un goitre. Cependant leur consommation en quantité raisonnable semble le plus démontrer un effet protecteur vis-à-vis de certaines substances cancérigènes (Wichitl et Anton, 2003).

- Anthocyanes :

Sont un groupe de pigments hydrosolubles responsables de la coloration rouge, rose, mauve, pourpre bleu ou violette de la plupart des fleurs et des fruits.

Ces pigments existent sous forme d'hétéroside (les anthocyanosides) et leurs génines (les anthocyanidoles), sont dérivés du flavylium d'où leur appartenance aux groupes des flavonoïdes. Ces sont de puissants antioxydants ils éliminent les radicaux libres.

Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, (mains, des pieds et des yeux). La mure sauvage (Rubus fruticosus), la vigne rouge (Vitis vinifera) et

l'aubepine (Crataegus oxyacantha) en contiennent toutes des quantités appréciables (Bruneton, 1999).

- Coumarines :

Les coumarines ont une propriété biologique de type vitaminique P, mais aussi d'anti-inflammatoire, d'anti-oedémateux utiles dans les thromboses et les embolies. Leur déminéralisation a conduit à la découverte de nombreux anticoagulants de synthèse (Wichtl et Anton, 2003).

- Vitamines:

Les vitamines ont une grande importance du point de vue thérapeutiques. La vitamine A qui augmente le processus de régénération des cellules épithéliales. Vitamine C protège la peau des radiations (Roth et Lindorf, 2002).

Parmi les plantes médicinales riches en vitamines : le citronnier (Citrus limon) contient des doses élevées de vitamines C et la carotte (Daucus carota) est riche en bêta carotène (provitamine A) (Iserin, 1997).

- Hormones végétales (phytohormones) :

Les phytohormones sont des substances de composition chimique très complexe. Ce sont le plus souvent des biocatalyseurs qui agissent sur la croissance et les échanges métaboliques (bio stimulants). On les trouve par exemple dans le Houblon, Anis, Sauge, Guimauve, Capselle, Avoine et la carotte (Grund, 1986).

- Caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont des pigments jaunes ou rouge orangé, liposolubles, très répandus dans le règne végétal. Ce sont des corps non saturés, comportant plusieurs doubles liaisons conjuguées (leur coloration est fonction du nombre de doubles liaisons), aussi sont-ils très oxydables et détruits par la lumière (Paris et Moyse, 1976). Les caroténoïdes sont des antioxydants, stimulent le système immunitaire (Roth et Lindorf, 2002).

1. 9. CLASSIFICATION DES PLANTES MEDICINALES SELON LES EFFETS THERAPEUTIQUE

La nature chimique des substances 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 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 : Amara pure (les amers purs) telles que petite centaurée, gentiane et trèfle d'eau. Amara aromatica (les amers contenant des substances aromatiques) tels que l'armoise, l'acore et l'angélique officinale. Amara adstringentia : ces plantes ont en même temps un léger effet astringent, utile contre les catarrhes et les gastrites légères : écorce de condurango. Amara mucilaginisosa (plantes amères et mucilagineuses).

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 plusieurs espèces végétales tels que la sauge, l'origan, la busserole et le millepertuis.

3/ Antiphlogistica :

Ce groupe des drogues aux effets vulnérinaires, Elles réduisent les inflammations et accélèrent le renouvellement des tissus lésés (en agissant sur les épithéliums ou la couche granulaire). Ainsi : la camomille et le mélilot cicatrisent les plaies, la bruyère a un effet anti-inflammatoire sur les voies urinaires, le romarin est antirhumatismal en application externe.

4/ Carminativa :

Il s'agit de produits ayant une influence bénéfique sur l'évacuation des gaz intestinaux et les contractions douloureuses. Ce groupe comprend les drogues contenant des substances spasmolytiques (qui relâchent les crampes) : camomille, anis, sauge, mélilot et cumin.

5/ Diaphoretica :

Plantes facilitant la transpiration : molène, camomille, tilleul, fumeterre, pétasite, feuilles de cassissier, ulmaire, véronique et pensée sauvage.

6/ Antidiaphoretica :

Plantes s'opposant à une transpiration excessive : sauge, valériane et belladone. En usage externe par exemple noyer et 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'affection rénale légère, 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, on emploie ici le plus souvent des mélanges pour infusions diurétiques ou urologiques.

Plantes officinales : fleur de sureau, busserole, genévrier, myrtille, herniaire, millepertuis, racine de persil.

Plantes non officinales : chardon béni, haricot, bruyère (excellents en cas d'infection des voies urinaires), feuilles de fraisier, racine de bardane, ortie, racine de livèche et agripaume.

8/ Expectorantia mucillaginosa :

Plantes médicinales facilitant 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.

9/ Expectorantia emetica :

*Elles 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 nauséuses ; ce qui est parfois souhaitable du point de vue médical. L'alcaloïde nommé émétine, les saponines, appartiennent à ce groupe. Sur ordonnance médicale, on prépare l'infusion de racine d'ipécacuana (*Uragoga ipecacuana*), sans ordonnance : herniaire, racine de primevère 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 de tisanes : pimprenelle, fenouil, feuilles de menthe, thym et serpolet. Parmi les autres drogues (non officinales) : la mauve contient des mucilages, tout comme le tussilage (fleur et feuilles) et la graine de lin.

11/ Antitussica (antitussifs, béchiques) :

Ce sont en fait des plantes expectorantes calmant les accès de toux. On les emploie le plus souvent en mélange (tisanes pectorales). Parmi les plantes simples, citons la guimauve, la mauve, le tussilage, le plantain, la mousse d'Islande, le pépin de coing, 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. Parmi les drogues officinales : la feuille de boldo, l'aigremoine, le cardon, l'aunée, la linaire, le marrube blanc et la rhubarbe. Parmi les drogues non officinales : la chélidoine, le pissenlit, l'écorce de berbérís, la menthe crépue, l'origan et l'achillée.

13/ Laxantia (laxatifs) :

Les laxatifs accélèrent l'évacuation intestinale : parmi les 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. En comparaison avec les remèdes chimiques, elles exercent une action beaucoup plus douce : La valériane, passiflore, houblon et la bruyère.

17/ Antisclerotica :

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 (fleurs et feuilles), rossolis, sophora et gui.

18/ Hypotensiva :

Agissant sur l'hypertension sanguine (trouble de l'activité régulatrice). Les soins incluent un régime alimentaire et des remèdes appropriés. Au stade d'hypertension commençante, on peut faire appel à des sédatifs et hypertenseurs végétaux que la valériane, l'ergot de seigle, l'avoine, l'ail, le mélilot, l'aubépine et l'houblon.

19/ Aromatica :

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) :

Des plantes efficaces contre les vers intestinaux, tels : fougère male, chénopode, carotte, oignon, fumeterre, grenade, dauphinelle et courge.

21/ Antidiabetica (antidiabétiques) :

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, myrtille et 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 stimulent la sécrétion lactée tels que l'épervière, fenouil, anis et fenugrec.

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 :

*Ce sont des plantes contiennent des substances à action antitumorale : le gui, nymphéacées (nymphéa, nénuphar, surtout le nymphéa tropical *Nymphaea zanzibarensis*), les alcaloïdes de la pervenche.*

25/ Venena (poisons végétaux) :

Les substances actives de certaines plantes médicinales (les alcaloïdes et les glucosides) sont 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 doit être effectuée par un spécialiste, sans parler de la thérapeutique qui ne relève évidemment que du médecin. Pour ce la les plantes médicinales vénéneuses importantes du point de vue pharmaceutique sont cultivées en grand dans des parcelles spéciales tels que pavot, chanvre, solanacées et ergot. La plus part des poisons végétaux (alcaloïdes) précipitent sous l'action de l'acide et il est donc conseille de donner un thé chine fortement infusé. En cas d'empoisonnement par un poison liposoluble, on recommande d'administrer du lait, en cas de faiblesse, de défaillance cardiaque on fera absorber un café noir fort. Des compresses chaudes atténueront les douleurs ventrales violentes et les coliques (Volak et Stodola, 1983).

CHAPITRE II : ETUDE DE L'ESPECE VEGETALE.

L'étude botanique de l'espèce végétale Marrubium vulgare L. qui appartient à la famille de lamiacées doit être précédée par un aperçu général sur l'ordre dont elle fait partie. C'est l'ordre des lamiales.

2. 1. ETUDE DE L'ORDRE DES LAMIALES

Les lamiales (y compris les Bignoniales et les Scrophulariales) sont nettement monophylétiques. Elles sont caractérisées par leurs matières de réserves constituées d'oligosaccharides (au lieu d'amidon), souvent par des flavones oxygénés en 6, souvent par des stomates diacytiques (entourés d'une ou de plusieurs paires de cellules subsidiaires dont les parois communes forment un ongle droit avec les cellules de garde), des embryons généralement de type « onagre » (variante Veronica), un albumen muni de suçoirs apparents à chaque extrémité.

Les Oleacées (et la petite famille des tetrachondracées) sont probablement à la base de l'ordre. Les Oleacées sont caractérisées par des fleurs actinomorphes (généralement à quatre pétales) et à deux étamines seulement ; les fleurs des Tetrachondracées sont également actinomorphes. La plupart des autres membres de l'ordre ont des fleurs zygomorphes bilabié 2/3, c'est-à-dire à deux lèvres opposées (fleurs bilabiées).mais secondairement actinomorphes et tétramères chez les Buddlejacées. Les autres membres de l'ordre ont aussi un androcée de quatre étamines (deux longues et deux courtes), bien qu'elles parfois réduites à deux.

Au sein du clade à fleurs bilabiées. Les « Scrophulariacées », telles qu'on les délimite traditionnellement, sont polyphylétiques, réunies seulement par des symplésiomorphies (considérées à un tel niveau), telles les fleurs globuleuses à petites graines albuminées. Certains membres de ce groupe sont en fait plus apparentés à diverses autres familles des Lamiales qu'ils ne le sont aux autres Scrophulariacées. La famille est divisée en trois groupes principaux, paraissant chacun monophylétiques : Scrophulariacées s.s., les Orobanchacées, les Plantaginacées, les Verbenacées et les Lamiacées sont souvent considérées comme formant un groupe frère : les deux familles ont des ovaires à quatre ovules, divisés en quatre loges et des poils glanduleux à huiles essentielles.

Les lamiales appartiennent sans équivoque au fonds des astéridées, les corolles gamopétales, et les ovules unitégumentés et ténuicellés. L'ordre est sans doute le plus apparenté aux Solanales et aux Gentianales.

L'ordre comprend environ 20 familles et 17.800 espèces ; les familles principales sont les Avicenniacees, Oleacées, Buddlejacées, Bignoniacees, Myoporacées, Scrophulariacées.s.s, Orobanchacées, Plantaginacées, Generiacées, Lentibulariacées, Acanthacées, Verbenacées et Lamiacées (Judd et al, 2002).

2. 2. ETUDE DE LA FAMILLE DES LAMIACEES

2. 2. 1. Description botanique :

2. 2. 1. 1. Appareil végétatif :

- Ce sont des herbes à tiges quadrangulaires : *souvent renflées aux nœuds et se multipliant, en une même saison, à l'aide de rejets aériens stolons ou rhizomateux, plus rarement des arbrisseaux de petite taille comme les thym, lavandes (la tige ligneuse et vivace, est alors arrondie en raison du fonctionnement répété des assises secondaires, circulaires).*

- Les feuilles sont toujours simples et opposées : *elles sont, chez les espèces vivant dans les endroits secs, coriaces et présentent des adaptations leur permettant de réduire leur transpiration (feuilles velues à limbe enroulé par dessous ; stomates enfoncés).*

- Ce sont des plantes à essence dont l'odeur : *se dégage par simple attouchement : en effet, la localisation des huiles essentielles est très externe, elles se forment dans les poils à essence, et se localisent sous la cuticule qui se soulève.*

2. 2. 1. 2. Appareil reproducteur :

- Les inflorescences

Les inflorescences, situées à l'aisselle des feuilles supérieures, sont du type de la cyme : d'abord bipares. Puis unipares par manque de place. Elles sont fréquemment condensées en glomérule et, souvent simulent autour de la tige un verticille de fleurs (et, si les entre-nœuds sont très courts et les feuilles réduites à des bractées, un capitule : Menthes).

- La fleur

- La corolle est nettement bilabée : *d'où le nom donné par les premiers botanistes. Une lèvre est formée des deux pétales dorsaux, l'autre de trois pétales ventraux.*

- L'androcée : *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 borraginacées ; il comporte, disposés sur un disque nectarifère toujours présent, deux carpelles soudés et les ovules sont disposés différemment). De même que chez les borraginacées tout un groupe, primitif, avait encore le style terminal. On retrouve celui-ci chez quelques espèces de lamiacées tropicales telles que la bugle dont la position est intermédiaire et subterminale.*

- Le fruit

Le fruit ou tétrakène est également très voisin de celui des borraginacées, mais ici les fruits sont lisses (ils étaient généralement épineux chez les borraginacées) et ils restent longtemps au fond du calice desséché. L'aspect général est ainsi assez différent (Guignard et Dupont, 2004).

2. 2. Variations et principales espèces :

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

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 ou présenter des dents supplémentaires.*

- La corolle, *presque régulière chez les menthes, avec une lèvre supérieure se réduire considérablement.*

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, Organe, Sauge des Prés...

Beaucoup de lamiacées sont utilisées en pharmacie et en parfumerie pour leur essences : Lavande, Menthe, Romarin, Basilic, Thym.... (Guignard et Dupont, 2004).

2. 2. 3. Description anatomique du point de vue histologique :

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 quadricellulaires 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 (Crété, 1965).



Thymus serpyllum L.



Lamium purpureum L.



Lamium galeobdolon L.



Lavandula stoechas L.



Rosmarinus officinalis L.



Mentha pulginum L.



Salvia prantensis L.



Détail de la fleur entomophil.

Figure 01 : Quelques espèces de la famille de lamiacées (Meyer et al, 2004).

2. 2. 4. Distribution géographique :

Selon Judd et al (2002), la distribution géographique des lamiacées est cosmopolite.

Les lamiacées sont rencontrées sous tous les climats, à toutes les altitudes. Certains des 200 genres que compte la famille sont quasiment cosmopolites, d'autres ont une distribution plus restreinte. Rare dans le milieu forestier tropical, les lamiacées se concentrent dans la région méditerranéenne (Bruneton, 2001).

Les labiées comprennent environ 2 500 espèces dont l'aire de disposition est extrêmement étendue, elles sont particulièrement abondantes dans la région méditerranéenne (Crété, 1965).

Les labiées sont surtout des plantes méditerranéennes qui, au Sahara ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf les trois espèces Marrubium deserti, Salvia aegyptica et Teucrium polium qui sont plus largement répandues et en particulier, les deux 1^{ères} espèces (Ozenda, 2004).

2. 2. 5. Intérêt économique :

La famille renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par leurs huiles essentielles, soit pour leur usage condimentaire, elles appartiennent aux genres Mentha (la menthe), Lavandula (la lavande), Marrubium, Nepeta (l'herbe aux chats), Ocimum (le basilic), Origanum (l'origan), Rosmarinus (le romarin), Salvia (la sauge), Satureja (la sarriette) et Thym). Les tubercules de quelques espèces de stachys sont comestibles. Tectona (le tek) fournit un bois d'œuvre important. De nombreux genres contiennent des espèces ornementales : on peut citer parmi eux Ajuga (le bugle), Callicarpa, Clerodendrum, Monarda, Salvia, Scutellaire et Vitex (Judd et al, 2002).

2. 3. 1. ETUDE DE GENRE Marrubium L. (MARRUBE)

Le genre Marrubium L. est muni d'un calice à 10 dents, dont les 5 commissurales un plus courtes, toutes terminées en pointe épineuse. Est un Arbuste à tiges et face inférieure des feuilles blanches tomenteuses. Les Inflorescences sont en glomérules verticillés. Les Bractées sont linéaires aigues. Fleurs blanches- décembre- dans toute l'Algérie.

Le genre Marrubium L. y possède les espèces suivantes :

2. 3. 1. 1. M. vulgare L.

Calice à 5 dents, les commissurales nulles ou très réduites. Dents du calice dressées lancéolées aiguës, terminées en pointe épineuse. Dents du calice étalées en roues, à lobes lancéolés = obtus, souvent accrescents sur le fruit. Fleurs roses. Tiges, feuilles et calices pubescents laineux. Feuilles orbiculaires cunéiformes (Rocailles de montagnes).

2. 3. 1. 2. M. supinum L.

Fleurs blanches. Tige, feuilles et calices pubescents, mais non laineux. Feuilles lancéolées (plantes grêle plante douteuse pour l'Algérie).

2. 3. 1. 3. M. peregrinum L.

Calice à 5 grosses nervures et à lobes indurés terminés en pointe aigue vulnérante. Sous-arbrisseau à feuilles cunéiformes, à peine plus longues que le calice (partout sauf sur le littoral algéro-constantinois).

2. 3. 1. 4. *M. Alysson L.*

Alice à 10 grosses nervures. Lobes mous, ovoïdes, à limbe dilaté obtus. Tige et feuilles densément larges de 1 cm. Calices longs de 7-8 mm. Infundibuliformes non rétrécis au sommet du limbe (sur les confins algéro-marocains).

2. 3. 1. 5. *M. alyssode Pomel.*

Tige et feuilles blanchâtres à pilosité apprimée très courte. Epis grêles et lâches, interrompus, large de 12-15 mm. Calice de 4-6 mm, à tube rétréci à son sommet (pâturages désertiques).

2. 3. 1. 6. *M. deserti de Noé*

- *(M. supinum X vulgar) existe sur les hauts algérois, il possède des fleurs rosé et le calice de Marrube vulgare (Quezel et Santa, 1963).*

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

2. 4. ETUDE DE L'ESPECE *Marrubium vulgare L.*

2. 4. 1. Les noms vernaculaires de *Marrubium vulgare L.*

Noms Arabes : Marriout (Quezel et Santa, 1963).

Noms Français : Marrube.

Noms Anglais : Marrochemin, Bonhomme, White horehound, Houndsbene.

Nom Allemand : AndornKraur, Mauer-Andorn, Gervent Andorn (Wichll et Anton, 2003).

2. 4. 2. Description de l'espèce :

Arbuste blanchâtre très rameux, à poils laineux appliqués, à feuilles petites en coin à la base et portant quelque dents au sommet, fleurs en petites glomérules à l'aisselle des paires de feuilles, corolle rose pâle petite par rapport au calice tubuleux, celui-ci s'accroissant considérablement par sa partie supérieure en formant autour du fruit une auréole membraneuse (Ozenda, 2004).

*C'est une plante herbacée vivace, dressant ses tiges carrées, ramifiées, atteignant 80 cm de haut, qui porte des feuilles opposées, ovales, verdâtres sur le dessus et blanchâtre sur le dessous. Les fleurs petites, blanches à deux lèvres, insérées dans un calice denté, sont groupées en glomérules à l'aisselle des feuilles de la partie supérieure. La plante a une odeur aromatique marquée. La Floraison de l'espèce *Marrubium vulgare L.* se fait en Décembre (Pelt, 2008). La formule Florale spécifique pour cette espèce végétale est : (5S) + ((5P) + 4E) + (2C).*

2. 4. 3. La position systématique :

*Selon Judd et al (2002) la position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare L.* est :*

<i>Règne</i>	<i>Végétale</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Angiosperme.</i>
<i>Classe</i>	<i>Eudicotylédones.</i>
<i>Sous-classe</i>	<i>Gamopétale.</i>
<i>Ordre</i>	<i>Lamiales.</i>
<i>Famille</i>	<i>Lamiacées.</i>
<i>Genre</i>	<i>Marrube.</i>
<i>Espèce</i>	<i>Marrubium vulgare L.</i>

2. 4. 4. Origine et répartition :

Elle est originaire de l'Asie centrale, le marrube s'est répandu sur le pourtour du bassin méditerranéen, affectant les bords des chemins et d'habitation et les terrains vagues (Pelt, 2008).

Le marrube blanc s'est depuis longtemps acclimaté en Europe centrale et Nord. La drogue provient le plus souvent d'Europe du Sud-Est et du Maroc (Wichll et Anton, 2003).



Figure 02 : Marrubium vulgare L. vue générale de la plante (Pelt, 2008).



*Figure 03 : Marrubium vulgare L.
Détail de la tige et la feuille (Pelt, 2008).*



*Figure 04 : Marrubium vulgare L.
Détail de la fleur (Pelt, 2008).*

2. 4. 5. La composition chimique de la plante :

On y trouve des diterpènes amers de la série des furanolabdanes, surtout composés de lactones : marrubiine principalement et son précurseur préfuranique, la prémarrubiine, mais aussi du pérégrinol, du vulgarol, du marrubénol et du marrubiol.

Il y a également des Hétérosides flavoniques du quercétol, de la lurtéoline ou de l'apigénine, mais aussi des lactoylflavones, et quelques dérivés de l'acide ursolique.

La même chose les composés azotés caractéristique de la famille sont la choline, la stachydrine et la bétonicine.

En outre il y a des tanins spécifiques des lamiacées et dérivés de l'acide hydroxycinnamique (juste à 7%) (Acide chlorogénique, caféique, caféylquinique, mais absence d'acide rosmarinique).

Toutefois la présence d'une faible quantité des huiles essentielles comportant différents composés monoterpéniques (moins de 1% : α -pinène, camphène, lomonène) (Wichll et Anton, 2003).

2. 4. 6. Indications usuelles reconnues :

Cette plante est traditionnellement utilisé dans le traitement symptomatique de la toux et au cours des affections bronchiques aiguës et bénignes.

Selon la commission allemande (commission européenne), utilisé dans le traitement des dyspepsies et la perte d'appétit.

Selon le british herbal compendium elle est efficace dans les cas de bronchites, les catarrhes des voies respiratoires, les dyspepsies et la perte d'appétit.

Il n'y a pas eu sur le marrube d'essais clinique en double aveugle. Ses usages sont des sur des usages traditionnels bien établis et des études pharmacologiques sur l'animale.

Il est considéré comme expectorant et fluidificateur des sécrétions bronchiques en cas de toux Productive. Il donne des résultats satisfaisant dans le cas des bronchites et les inflammations de la gorge, elle pourrait être anti-spasmodique et tonique amer.

2. 4. 7. Formes d'utilisations et posologies :

Quantité par jour correspondant à 4.5g de drogue.

Durée du traitement : en moyenne 2 semaines.

Tisanes : faire infuser 1,5g de drogue dans 150 ml d'eau bouillante pendant 10 minutes, prendre 3 tasses par jour, matin, midi et soir avant les repas.

Teinture (1/5) : 7.5 ml 3 fois par jour, matin, midi et soir avant les repas.

Poudre totale cryobroyée : 1 gélule, matin, midi et soir avant les repas. Possible de prendre jusqu'à 5 gélules par jour.

Extrait sec : Quantité d'extrait correspondant à 4.5g de drogue par jour. Soit 2 gélules par jour (Raynaud, 2007).

Les vertus curatives de l'espèce Marrubium vulgare L. sont sans doute liées à l'existence de certaines substances chimiques dans la totalité de la plante. Pour cela nous avons proposé d'extraire certaines de ces substances et qui sont dénommées aussi principes actifs. Dans ce contexte là, nous nous sommes intéressé par l'extraction, séparation et identification des flavonoides, des tanins et des huiles essentielles.

CHAPITRE III : LES PRINCIPES ACTIFS.

3. 1. FLAVONOIDES.

3. 1. 1. Définition :

Les flavonoides lato sensu sont des pigments quasiment universels des végétaux. Sont des substances généralement colorés très répandues chez les végétaux. On est trouve dissoutes dans les vacuoles à l'état d'hétérosides ou comme des constituants des plastes particuliers, des chromoplaste. Presque toujours hydrosoluble. Ils sont responsables de la coloration des fleurs. Des fruits et parfois des feuilles. Tel est les cas des flavonoides jaunes (chalcones, flavanols jaunes), des anthocyanosides rouges, bleus ou violets. Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la colorer par leur rôle de co-pigment : tel est le cas des flavones et des flavanols incolores co-pigmentant et protégeant les anthocyanosides. Dans certains cas, la zone d'absorption de la molécule est située dans le proche ultra violet : la coloration n'est alors perçue que par les insectes qui sont ainsi efficacement attirés et guidés vers le nectar et donc contraints à assurer le transport des pollen (Bruneton, 1999).

3. 1. 2. Répartition botanique des flavonoides :

Les flavonoides sont surtout abondants chez les plantes supérieures, particulièrement dans certaines familles : Polygonacées, Rutacées, Légumineuses, ombellifères et composées (Paris et Hurabielle, 1980).

La présence de flavonoides chez les algues n'a pas, à ce jour, été démontrée. S'ils sont fréquents chez les bryophytes (mousses et hépatiques), ce sont toujours des flavonoides stricto sensu. Majoritairement des O et C-Hétérosides de flavones et des dérivés O-uroniques. Chez les ptéridophytes la variété structurale des flavonoides n'est guère plus grande, les Psylotales et Sélaginellales étant caractérisées par la présence de biflavonoides, les Equisétales par celle de proanthocyanoides. Les O-hétérosides de flavanols. Dominent chez les fougères qui, pour certaines, élaborent également chalcones ou Chez les Gymnospermes, les proanthocyanidols. Sont remarquablement constants et l'on note la présence, chez les Cycadales et les Coniférales (à l'exception des Pinacées, de biflavonoides des absents chez les Gnétales. C'est chez les Angiospermes que la diversité structurale des flavonoides est maximale : ainsi, une trentaine de types flavonoidiques ont pu être identifiées chez les Astéracées (Bruneton, 1999).

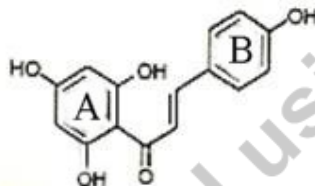
3. 1. 3. Localisation des flavonoides :

Présents dans les organes aériens, ils ont une teneur maximale dans les organes jeunes feuilles et boutons floraux (Paris et Hurabielle, 1980).

Les formes hétérosidique des flavonoides, hydrosolubles, s'accumulent dans des vacuoles et, selon les espèces, se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle (mais ces deux tissus peuvent accumuler spécifiquement des substances différentes. Comme cela a été démontré chez certaines céréales, dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques (Bruneton, 1999).

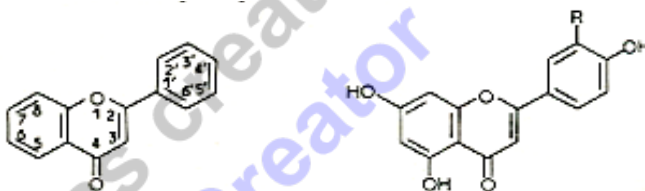
3. 1. 4. Structure chimique et classification :

Les flavonoïdes proviennent de l'addition de 3 groupes en C_2 à de l'acide *p*-hydroxycinnamique (ou acide cinnamique) conduisant à 2 noyaux benzéniques désignés par A et B réunis par une chaîne de 3 atomes de carbone.



On distingue :

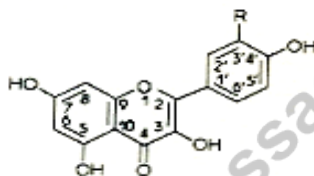
- a) Les flavones vraies, dérivées de la phényl-2-chromone.



Ex : apigénine (tri OH-5,7,4 flavone) $R=H$.

Lutéoline (tétra OH-5,7,3',4) $R=OH$.

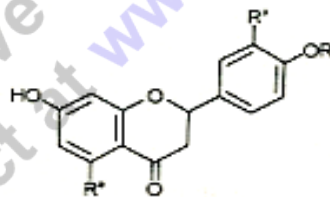
- b) Les flavonols : possédant un hydroxyle alcoolique en 3 (OH-3 flavones).



Ex : Kaempférol (tri OH-5,7,4' flavonol) $R=H$.

Quercétol (tétra OH-5,7,3',4' flavonol) $R=OH$.

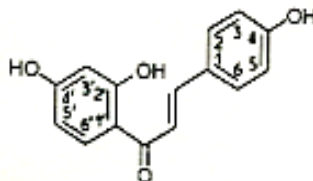
- c) Les flavanones ne comportant pas de double liaison en 2-3.



Ex : liquiritigénine (di OH-7,4' flavanone) $R=R'=R''=H$.

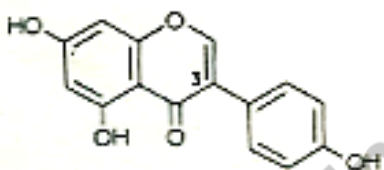
Hespérétol (tri OH-5,7,3' méthoxy 4' flavanone) $R=CH_3$, $R'=R''=OH$.

- d) Les chalcones, dont le cycle pyronique est ouvert (isomères des flavanones)



Ex : isoliquiritigénine (tri OH-4,7,4')

- e) Les isoflavones dérivées de la phényl-3 chromone.

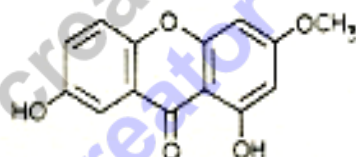


EX : génistéine (tri OH-5,7,4' isoflavone).

f) On rattache aux flavonoïdes :

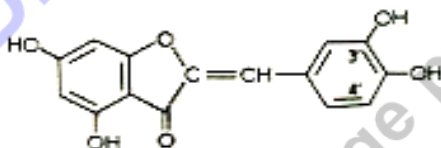
— Les xanthones (dibenzopyrones)

Ex : gentisine (di OH-1,7 méthoxyl-3 xanthone).

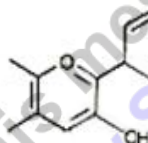


— Les aurones (benzalcoumaanones).

Ex : aureusidine (tétra OH-4,6,3',4')



G) les anthocyanes :



3. 1. 5. La biogenèse des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des dérivés du phénylpropane en C₆-C₃, sont à l'origine du noyau B et de l'hétérocycle pyronique. Quant au noyau A, il résulte de la fixation de 3 chaînons acétate sur l'acide p-coumarique.

Les premiers composés formés sont constitués par un équilibre chalcone-flavanone, lequel est déplacé en faveur de la flavanone. Les chalcones, se transformant donc par isomérisation (cyclisation) en flavanones, sont des précurseurs des flavones et des flavonols.

Les isoflavones résultent de la transposition du noyau B des flavones correspondantes (Paris et Hurabielle, 1980).

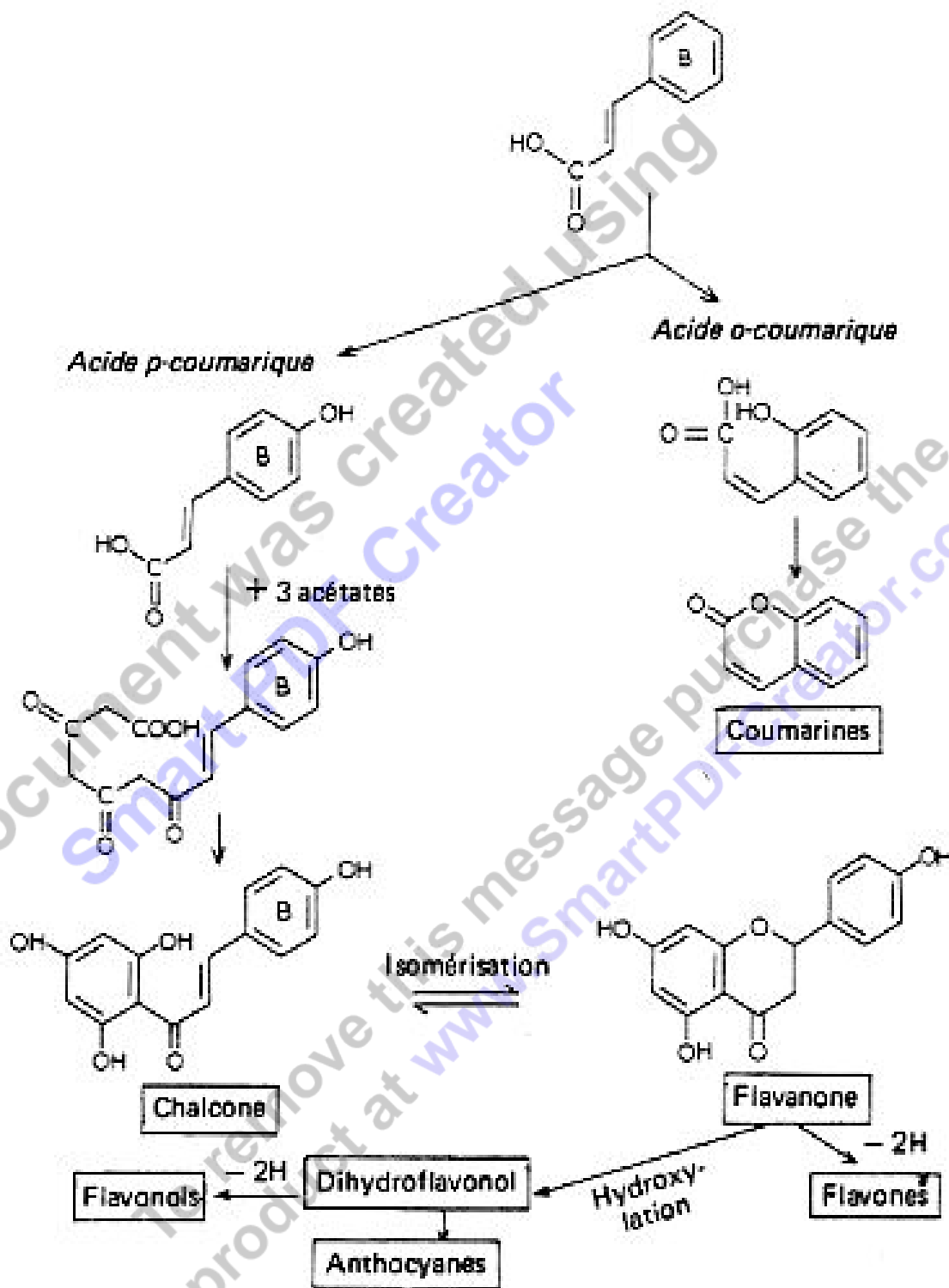


Figure 05 : Schéma de biogenèse des Flavonoïdes (Paris et Hurabielle, 1980).

3. 1. 6. Propriétés physicochimiques, extraction et identification

3. 1. 6. 1. Propriétés physicochimiques :

Les flavonoides sont des solides cristallisés dont la teinte varie du blanc ivoire au jaune vif. Les hétérosides sont solubles dans l'eau (surtout à chaud), l'alcool et les autres solvants organiques polaires, insolubles dans les solvants organiques apolaires. Les génines sont peu solubles dans l'eau et solubles dans l'éther. Les flavonoides sont soluble s dans les solutions alcalines (ammoniaque ou potasse) en donnant une coloration jaune qui disparaît par addition d'acide (Paris et Hurabielle, 1980).

3. 1. 6. 2. Extraction :

Les flavonoides lipophile des tissus superficiels des feuilles sont directement extraits par les solvants moyennement polaires (dichlorométhane) ; il faut ensuite les séparer des cires et des graisses extraites simultanément (on peut certes laver d'abord à l'hexane, mais la sélectivité de ce solvant n'est pas absolue).

Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par de l'acétone ou par des alcools (éthanol, méthanol) additionnés d'eau (20 à 50% selon que la drogue est fraîche ou sèche). Il est possible de procéder ensuite à une évaporation sous vide et, lorsque le milieu ne contient plus que de l'eau, de mettre en œuvre une série d'extraction liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau (l'éther de pétrole) qui éliminent la chlorophylle et les lipides ; par diéthyl éther qui extrait les génines libres, par de l'acétate d'éthyle qui entraîne la majorité des hétérosides (Bruneton, 1999).

3. 1. 6. 3. Identification :

De nombreuses réactions colorées existent pour caractériser les flavonoides. En dehors de la coloration jaune par les solutions alcalins, il existe une coloration plus spécifique dite réaction de la cyanidine. Les hétérosides flavonoïques en solution alcoolique, mis en présence d'hydrogène naissant, donnent des dérivés déversement colorés selon la structure chimique des flavonoides 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 telles que les vapeurs d'ammoniac et potasse alcoolique donnant une coloration jaune, chlorure ferrique donnant des colorations variant du vert ou brun (Paris et Hurabielle, 1980).

3. 1. 7. Emploi des drogues à flavonoides :

Certaines drogues sont utilisées pour l'extraction industrielle de flavonoides : citroflavonoides totaux, hespéridoside, rutoside, etc. d'autre, qui doivent leur activité à plusieurs principes actifs, sont utilisées sous forme d'extraits standardisés (ginkgo). Dans le cas des drogues utilisées par la phytothérapie, il est difficile, sauf rares exceptions, de parler de « drogues à flavonoides » car, s'il est probable que ces phénols participent à l'activité des dites drogues, s'ils ne sont que rarement seules en cause. Des huiles essentielles, d'autre composés phénolique, des sels minéraux, des saponosides ou d'autre substances peuvent parfois justifier une partie des propriétés annoncées.

3. 1. 8. Utilisation des flavonoides en thérapeutique :

Par delà les résultats partiels fournis par des tests biochimiques ou des études de pharmacologie animale, la réalité de l'efficacité clinique de la plupart des flavonoides et, a fortiori, celle des drogues qui en contiennent est rarement correctement établie. Les essais chez l'homme ils ne sont assez souvent que des « observation » et ne sont pas toujours conduits en conformité avec les normes actuellement en vigueur pour type d'évaluation.

C'est essentiellement dans le domaine capillaro-veineux que l'on utilise les flavonoides ; seuls ou associés, ce sont les constituants habituels des vasculo-protecteurs et veinotoniques et des toniques utilisés en phlébologie. La plupart des spécialités actuellement disponibles ont les indication ou proposition d'emploi suivantes :

- *Traitement des symptômes en rapport avec l'insuffisance veinolymphatique (jambes lourdes, douleurs, impatiences des primo-décubitus).*
- *Traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire.*

Quelques spécialités revendiquent en plus d'autres indications ou propositions d'emplois :

- *Amélioration des troubles de la fragilité capillaire au niveau de la peau.*
- *Traitements des métrorragies lors de la contraception par microprogestatifs et des métrorragies dues au port du stérilet. après leur exploitation clinique.*
- *Proposé dans les troubles impliquant la circulation rétinienne et/ou choréïdienne.*
- *Traitement du lymphoedème du membre supérieur après traitement radio-chirurgical du cancer du sein (Bruneton, 1999).*

3. 2. TANINS.

3. 2. 1. Définition :

On appelle communément « Tanins » des substances d'origine végétale, non azotées, de structure polyphénolique, soluble dans l'eau, l'alcool, l'acétone, peu soluble dans l'éther, de saveur astringente et ayant la propriété commune de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines. Leur poids moléculaire varie de 500 à 3000.

Dans les plantes, les tanins existent à l'état de complexes, les tannoïdes; certains combinés à des sucres sont dénommés tanosides (Paris et Moyse, 1976).

Plus récemment, mole et waterman (1987) ont défini les tanins comme des « produits naturels phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leur solutions aqueuses » (Bruneton, 1999).

3. 2. 2. Répartition botanique et localisation :

Les tanins très répandus dans le règne végétal, sont particulièrement abondants dans certaines familles ; exemples : Cupulifères, Polygonacées, Rosacées, Légumineuses, Myrtacées, Rubiacées.

Ils peuvent exister dans divers organes : racines ou rhizomes (Ratanhia, Rhubarbe), écorce (Chêne, Quinquina), bois (acacia à cachou). Cependant, on note une accumulation dans les écorces âgées et les tissus d'origine pathologique (galles) (Paris et Hurabielle, 1980).

On les rencontre dans les vacuoles des cellules, souvent combinés à d'autres substances : alcaloïdes, protéines, oses (Tanosides), parfois dans des cellules spécifiques (idioblastes) : ils sont aisément caractérisés par leur coloration brun ou verdâtre ou brun bleuâtre avec des sels ferriques. La teneur en tanins peut être très élevée : 50% à 70% dans les noix de galles, 20% dans les péricarpes du noyer, la racine de bistorte, 15% dans la racine de ratanhia, etc.... (Paris et Moyse, 1976).

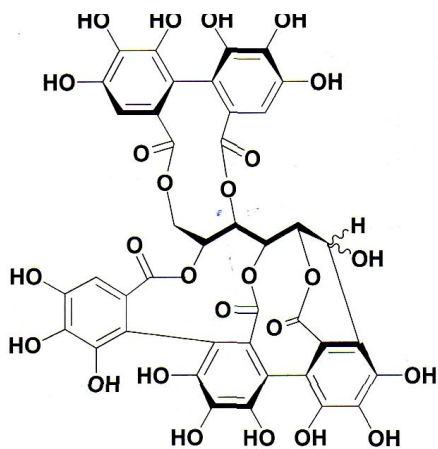
3. 2. 3. Classification des tanins :

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique, les tanins hydrosolubles et les tanins condensés.

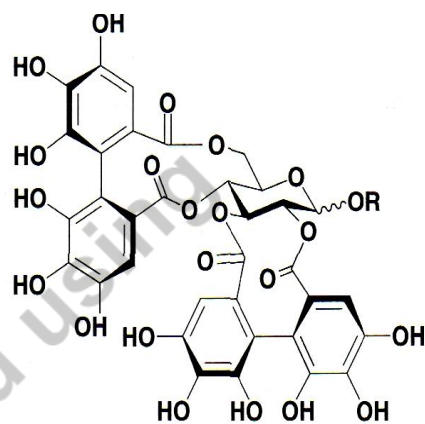
❖ Tanins hydrolysables :

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol. Le sucre est très généralement le glucose. L'acide phénolique est soit l'acide gallique dans le cas des tanins gallique. Soit l'acide hexahydroxy diphénolique, dans le cas des tanins classiquement dénommés tanins ellagiques (Bruneton, 1999).

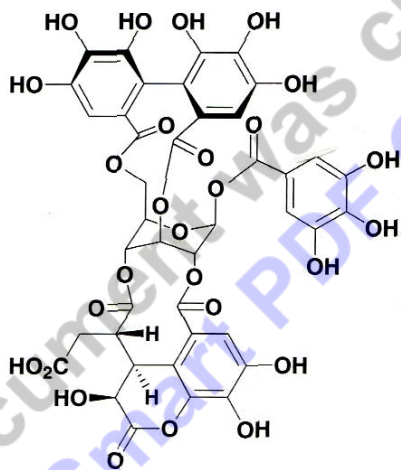
Ce sont des esters d'acides phénols et d'oses, anciennement nommés « Tanins pyrogalliques » parce qu'ils fournissent des pyrogallol par distillation sèche (Paris et Moyse, 1976).



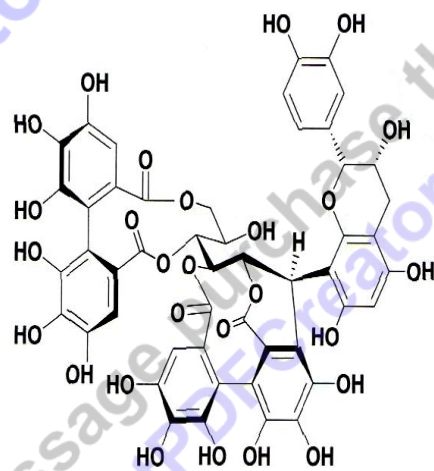
Castalagine



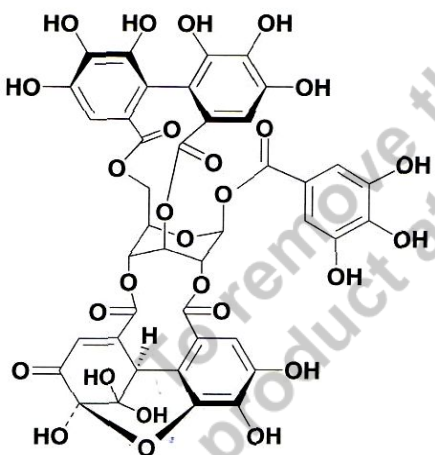
Pédunculagin (R=H)



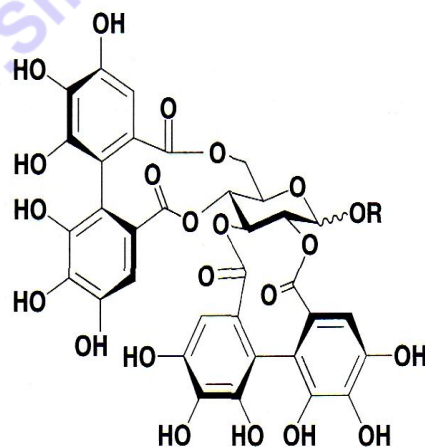
Acide Chébolagique



Camelliatanin A



Géraniine



Casuaricine (R=G, β)

Figure 06 : Schéma de structure chimique des tanins hydrolysables (Bruneton, 1999).

❖ *Tanins condensés :*

Les tanins condensés ou tanins « catéchiques », sont des substances qui ne sont pas hydrolysées par les acides, ni par la tannase. Les acides forts à chaud ou les agents d'oxydation les convertissent en substances rouges ou brunes, insolubles dans la plupart des solvants. Par distillation sèche, ils fournissent du pyrocatéchol. Ces tanins dérivent des catéchols par condensation de molécules et ils sont d'ailleurs toujours accompagnés de catéchols dans les plantes fraîches (Paris et Moysse, 1976).

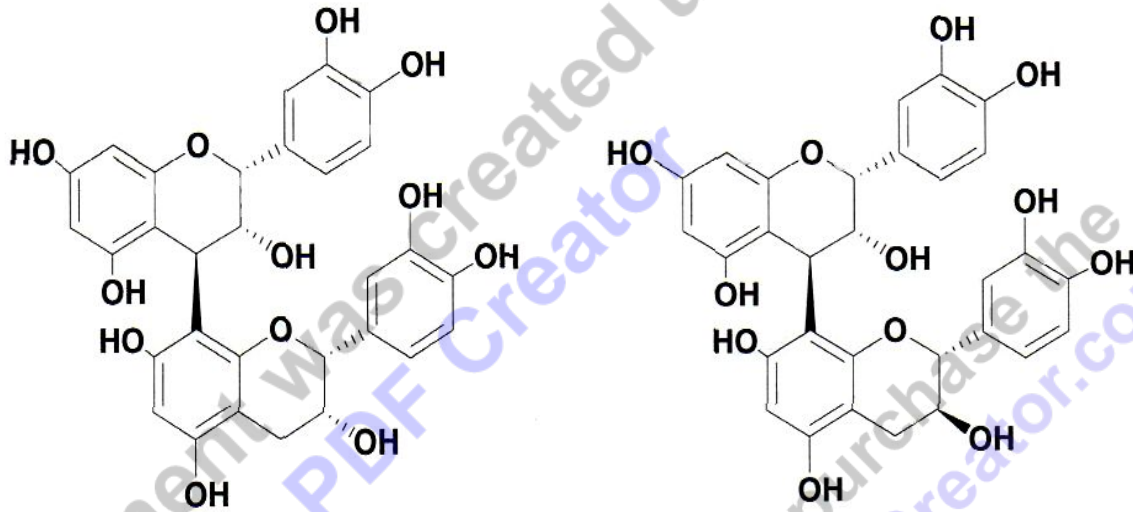
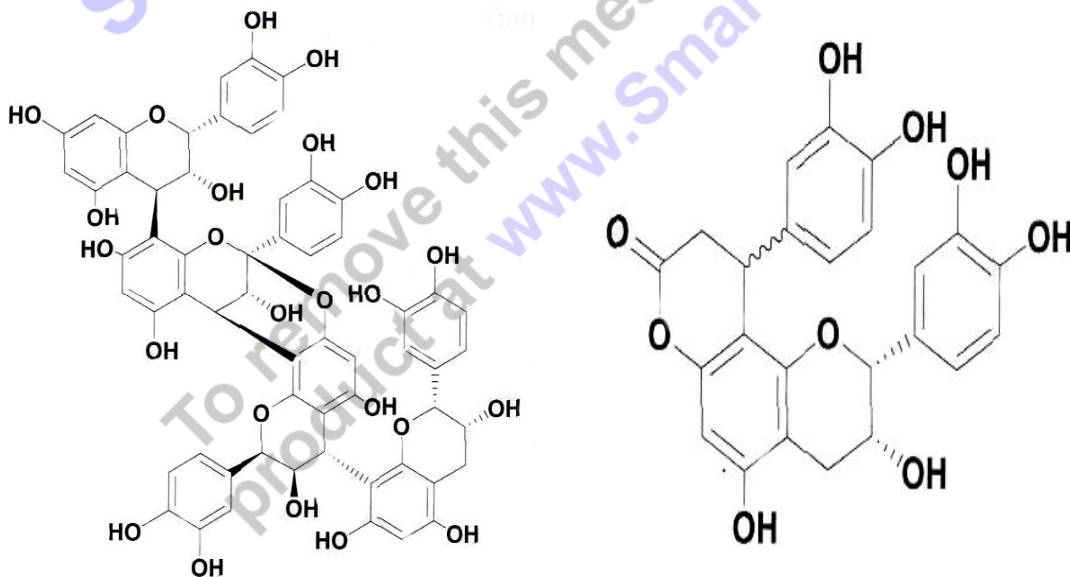
*Procyanidol B-2**Procyanidol B-1**Tétramère de l'épicatéchol**Cinchnalines*

Figure 07 : Schéma de structure chimique des tanins condensés (Bruneton, 1999).

3. 2. 4. Propriétés physicochimiques :

Les tanins sont des corps généralement amorphes, soluble dans l'eau et dans l'alcool, insoluble dans les solvants organiques apolaires.

1) *Les tanins sont précipités par de nombreux réactifs ; ils précipitent :*

- Avec les sels de métaux lourds : fer, plombe, zinc, cuivre.

- Avec les sels ferriques, on obtient des précipités colorés différemment selon la nature des tanins :

- Bleu- noir avec les tanins hydrolysables.

- Bleu- vert avec les tanins condensés.

2) *Les tanins possèdent des propriétés réductrices vis-à-vis des acides phosphotungstique, phosphomonolibdique, etc... (Paris et Hurabielle, 1980).*

3. 2. 5. Extraction :

L'extraction est en règle générale, réalisée par un mélange d'eau et d'acétone. Un rendement obtenu avec les tissus frais ou conservés par congélation ou lyophilisation car, dans les drogues sèches, une partie des tanins est irréversiblement combinée à d'autres polymères. Après élimination de l'acétone par distillation, la solution aqueuse est débarrassée des pigments et des lipides par un solvant tel que le dichlorométhane.

3. 2. 6. L'importance des tanins

- Emplois en thérapeutique :

Les drogues à tanins servent surtout en thérapeutique pour leurs propriétés astringentes à l'extérieur et antidiarrhéiques en usage interne, Sur la peau et les muqueuses. Il s'ajoute une action vaso-constrictive des petits vaisseaux, d'où l'emploi contre les hémorroïdes, les blessures superficielles. Les extraits tanniques sont aussi anti-inflammatoires dans les brûlures.

A l'intérieure, les drogues à tanin sont employées contre les diarrhées (Ratanhia, Salicaire). À l'action ralentissante du péristaltisme intestinal, s'ajoute l'action anti-septique. Les tanins libre étant détruits rapidement par le suc intestinal alcalin. On emploie de préférence les combinaisons tanniques et mieux les extraits végétaux complexes qui libèrent graduellement leurs tanins au cours de la digestion.

Il a été constaté que certains extraits tanniques comme ceux des Acer inhibaient la croissance de champignons, de bactéries, de virus. Ceci justifie l'emploi de drogues à tanins comme antiseptiques notamment dans les maladies pulmonaires (Paris et Moyse, 1976).

- Emplois en l'industrie :

Les tanins sont très importants dans l'industrie des cuirs, ils agissent en donnant des combinaisons insolubles avec les protéines et rendent ainsi les peaux moins perméable à l'eau et imputrescibles (Paris et Hurabielle, 1980).

3. 3. LES HUILES ESSENTIELLES.

3. 3. 1. Définition :

Qu'est-ce qu'une huile essentielle ? il est difficile de donner une seule définition, car « il n'y a pas une réponse, mais des réponses à cette question ».

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

Sous le nom d'essence ou d'huile essentielle, 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 Hespérides (Citron, orange,...).

Dans un souci de normalisation, la dénomination « essence » a été abandonnée, seule subsiste celle d'« huiles essentielles » (Belaiche, 1979).

Pour la 8^{ème} édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (essences = huiles volatiles) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renferment les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales, celui par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leurs organes, et celui par expression » (Bruneton, 1999).

3. 3. 2. Répartition et localisation des huiles essentielles :

3. 3. 2. 1. Répartition :

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Laurence, 17500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles. Ils sont répartis dans un nombre limité de familles (Myrtacées, Rutacées, Lamiacées, Zingibéracées, Pipéracées, etc.) (Bruneton, 1999).

3. 3. 2. 1. Localisation :

Les 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 qui sont incluses dans l'épiderme ou à l'extrémité de poils, des poches sécrétrices, formées par des cellules qui se sont modifiées, des canaux sécréteurs, obtenus par l'allongement des poches sécrétrices (Belaiche, 1979).

3. 3. 3. Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes, d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents. D'autre part elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 1999).

3. 3. 3. 1. Composés terpéniques :

Les composés terpéniques sont dérivés de l'isoprène C_5H_8 leur synthèse passe par l'isopentyl pyrophosphate qui est une forme active de l'isoprène. Les molécules terpéniques sont soit cycliques ou non (acyclique, monocyclique, bicyclique ou tricyclique). Leur formation ainsi que leur propriétés extrêmement variées (Wilhelm, 1998).

Ils sont formes d'unités isopréniques et comprennent :

- Les Monoterpènes. (C10).
- Les Sesquiterpènes. (C15).
- Les Diterpènes. (C20).
- Les Triterpènes. (C30).
- Les tetraterpènes. (C40).
- Les polyterpènes. (> C40) (Paris et Hurabielle, 1980).

- Monoterpènes et sesquiterpènes :

Les mono et sesquiterpènes sont, avec les phénylpropanoïdes, les composants principaux des essences. Ils peuvent être acycliques (Ex : myrcène), monocyclique (limonène), bicycliques (pinène, camphène), tricyclique (térésantalol)...

Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont largement répartis dans le règne végétal. Les plantes de certains ordres sont dépourvues de monoterpènes comme les Ranunculacées, les violales ou les Prinniales tandis que d'autre en sont très largement pourvues qualitativement et quantitativement comme les Rutales.

Pour les sesquiterpènes, on retrouve à peu près la même distribution puisque ce sont les magnoliales, les Rutales, les Corhales, et les Astérales).

A côté des hydrocarbures, on rencontre des dérivés oxygénés divers : alcools, aldéhydes, cétones, acides. Dans une même plante, coexistent d'ailleurs plusieurs molécules de formules voisines ne différant que par leur degré d'hydrogénation ou d'hydroxydation (Guignard et al, 1985).

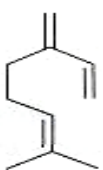
- Diterpènes :

Ce sont des dérivés de carbures en $C_{20}H_{32}$ ($n=4$). Ces composées, à point d'ébullition élevé, se rencontrent surtout dans les résines. Un dérivé acyclique, le phytol est un alcool non saturé, estérifié dans les chlorophylles, la vitamine K₁.

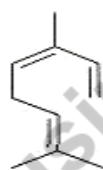
Les gibbérélines, hormones de croissance des végétaux, sont aussi des acides diterpéniques. L'andromédotoxine des Ericacées, les principes vésicants du coton, des daphnés, sont des esters d'alcools rattachés au diterpènes. Il en est de même du noyau de base des alcaloïdes de l'Aconit (Paris et Moysse, 1976).

Exemple de monoterpènes (C₁₀)

*Acycliques

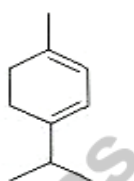


myrcène

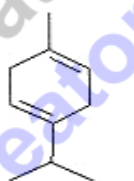


ocimène

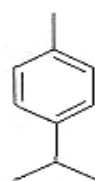
*Monocycliques



α -terpinène



γ -terpinène



p-cymène

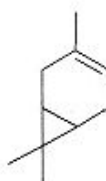
*bicycliques



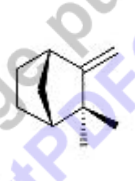
(-)- α -pinène



(+)- β -pinène



3-carène

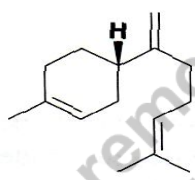


(+)-camphène

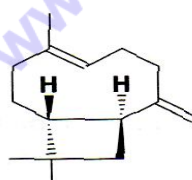


(+)-sabinène

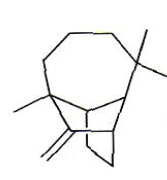
Exemple de sesquiterpènes (C₁₅)



β -bisabolène



β -caryophyllène



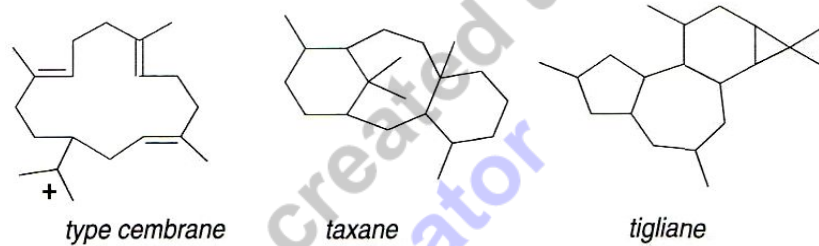
longifolène

Figure 08 : structures chimiques de quelques exemples monoterpènes et sesquiterpènes Rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999).

- Triterpènes :

Comprennent plusieurs groupes de substances et de nombreux composés importants sur le plan biologique : stérol, saponines, hormones, stéroïdes et alcaloïde stéroïdes, glycosides cardiotoniques, acides galliques et vitamine D. leur structure de base commune est la molécule du stérane, un composé hydrocarboné alicycliques saturé ; l'arrangement de ses substances cycliques en différents plans s'accompagne d'une isomérisation cis- trans (Richter, 1993).

Exemple de diterpènes



Exemple de triterpènes

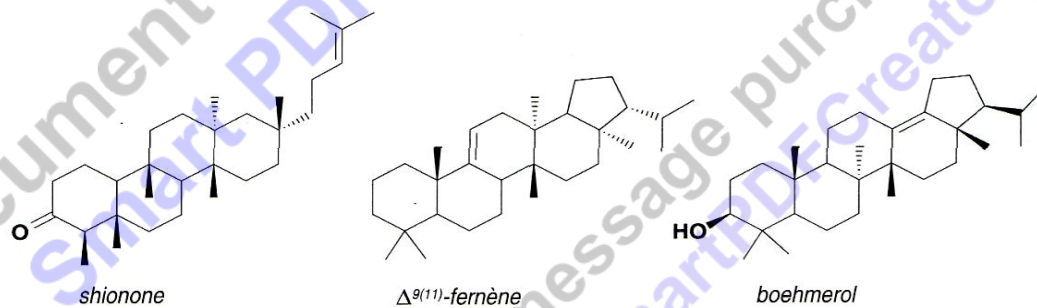


Figure 09 : Structures chimiques de quelques exemples diterpènes et triterpènes rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999).

3. 3. 4. Biogenèse :

L'enchaînement de trois chaînes acétyle (sous forme d'acétyl CoA) dans l'acide B-hydroxy B-méthyl glutarique (sous forme d'acétyl CoA) qui, par réduction, aboutit à la libération d'acide mévalonique, celui-ci, une fois activé, subit une déshydratation interne et une décarboxylation pour donner le pyrophosphate d'isopentenyle, constituant la véritable unité isoprénique d'enchaînement. Il peut isomériser en pyrophosphate de diméthyl. Par condensation des deux molécules isomères, on obtient le pyrophosphate de géranyle (en C₁₀) précurseur des monoterpènes.

Une molécule de pyrophosphate de géranyle peut s'unir à une nouvelle molécule de pyrophosphate d'isopentényl et donner le pyrophosphate de farnésyle (en C₁₈), sesquiterpène auquel peut s'ajouter une nouvelle unité en C₅ pour former le géranyle-géranyle pyrophosphate (diterpènes en C₂₀). Deux molécules de pyrophosphate de farnésyle peuvent se lier pour former un triterpène, (le squalène C₃₀) et à partir des squalène, se formeront, d'une part les stéroïdes, et d'autre part les triterpènes cycliques (Paris et Hurabielle, 1980).

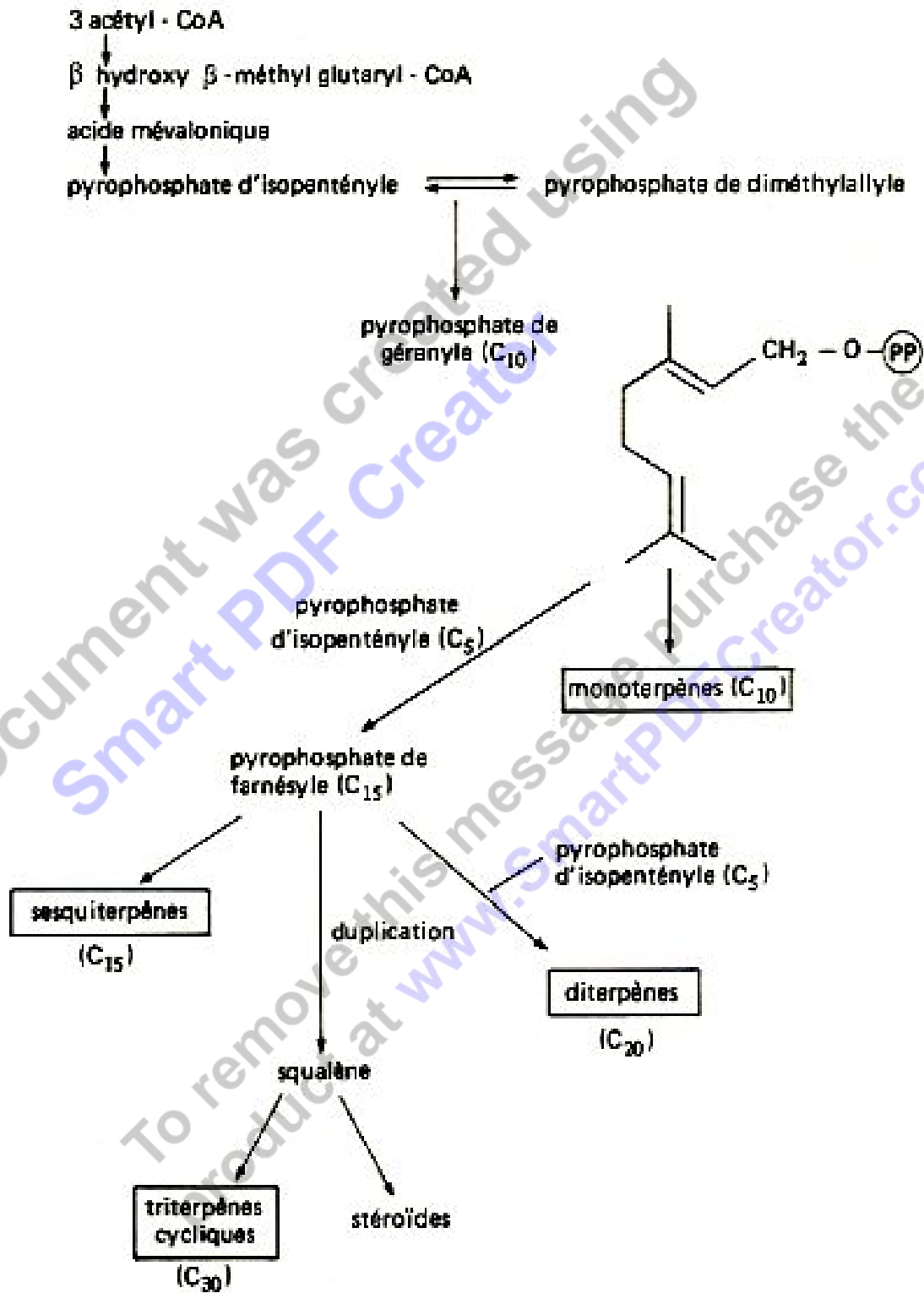


Figure 10 : Schéma de biogenèse des terpènes (Paris et Hurabielle, 1980).

3. 3. 5. Extraction des huiles essentielles :

- *Extraction par distillation :*

Il existe deux grands modes de distillation :

- *La plante est mise en contact avec l'eau, qui est directement chauffée.*
- *La plante est placée sur grille perforée au-dessus de la base de l'alambic, et n'est pas en contact avec l'eau. Les huiles vont pouvoir être séparés par décantation du distillat refroidi.*

- *Expression à froid :*

L'essence, altérable par entérinement à la vapeur d'eau, est extraite du péricarpe de la plante par différents modes d'expression : dans l'industrie, on procède aujourd'hui par scarification mécaniques et entraînement de l'huile essentielle par un courant d'eau.

- *Autre procédés :*

- *Enflemage :*

Les organes fragiles (fleurs d'orange, pétales de rose) sont mis en contact à la température ambiante avec un corps gras (saindoux) qui se sature en essence au bout de quelques jours, la pommade obtenue est épuisée par l'alcool absolu (dans lequel les corps gras sont très peu solubles). L'alcool est ensuite évaporé sous vide.

- *Extraction par les solvants organique volatils :*

Les solvants les plus utilisés sont des carbures aliphatiques (pentane, hexane) ou des carbures aromatiques (benzène). On opère le plus souvent à la température ordinaire, c'est méthode en plus utilisée dans l'industrie des parfums (Paris et Hurabielle, 1980).

3. 3. 6. Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles :

- *Pouvoir antiseptique :*

Ce pouvoir antiseptique s'exerce à l'encontre de bactéries pathogènes variées, y compris les souches habituellement antibioresistantes. Certaines huiles essentielles sont également actives sur des champignons responsables de mycoses et sur des levures.

- *Propriétés spasmolytiques et sédatives :*

Des très nombreuses drogues à huiles essentielles (menthe, verveine...) sont réputées efficaces pour diminuer ou supprimer les spasmes gastro-intestinaux. Il est fréquent qu'elles stimulent la sécrétion gastrique d'où les qualifications de « digestives » et de « stomachiques », qui leur sont décernés avec toutes les conséquences qui peuvent découler de cette « eupepsie » : amélioration de certaines insomnies et de trouble psychosomatiques divers, diminution de la nervosité, etc...

- *Propriétés irritantes :*

Utilisés par voie externe, des produits comme l'essence de térébenthine provoquent une augmentation de la microcirculation, une rubéfaction importante, dans certains cas, une légère action anesthésique locale. Aujourd'hui encore nombreux sont les gels, les crèmes ou les pommades à base d'huiles essentielles destinés à soulager entorses, courbatures, claquages et autres algies articulaires ou musculaires (Bruneton, 1999).

This document was created using
Smart PDF Creator

PARTIE II
ETUDE EXPERIMENTALE

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

This document was created using
SmartPDF Creator

MATERIEL ET METHODES

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

1. 1. Matériel utilisé

1. 1. 1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est une espèce végétale appartenant à la famille des lamiacées *Marrubium vulgare L.* sa taxonomie est détaillée dans la partie bibliographique (p. 31).

La matière végétale choisie pour la réalisation des expérimentations de cette étude est la feuille puisque c'est à son niveau que se trouvent la majorité des principales substances actives, en d'autre terme, c'est le lieu de synthèse et de la mise en réserve temporaire des principaux composés du métabolisme primaires et secondaires

1. 1. 1. 1. Site de prélèvement:

Les feuilles ont été prélevées à partir d'un site nommé *Hanoute Cherif* située dans la wilaya d'El Taref, Daïra de Chefia, commune de Chorfa. Ce site est situé à 36°48'40.49''Nord et 8°07'01.88''Est.

1. 1. 1. 2. Les limites de la zone :

La daïra de Chefia est située au Nord-Est Algérien, elle est limitée au Nord par la Commune de Boutheldja ; A L'Est par El Zitouna, Au Sud par Ain kerma, Bouhadjar et Hammam beni Salah et à l'Ouest par Asfour et ben M'Hidi. Cette daïra appartient à la wilaya d'El Taref qui est située au Nord Est algérien ; c'est une vaste plaine alluviale contiguë à important cordant dunaire le long du littoral, s'étalant sur une superficie de l'ordre de 168 km².

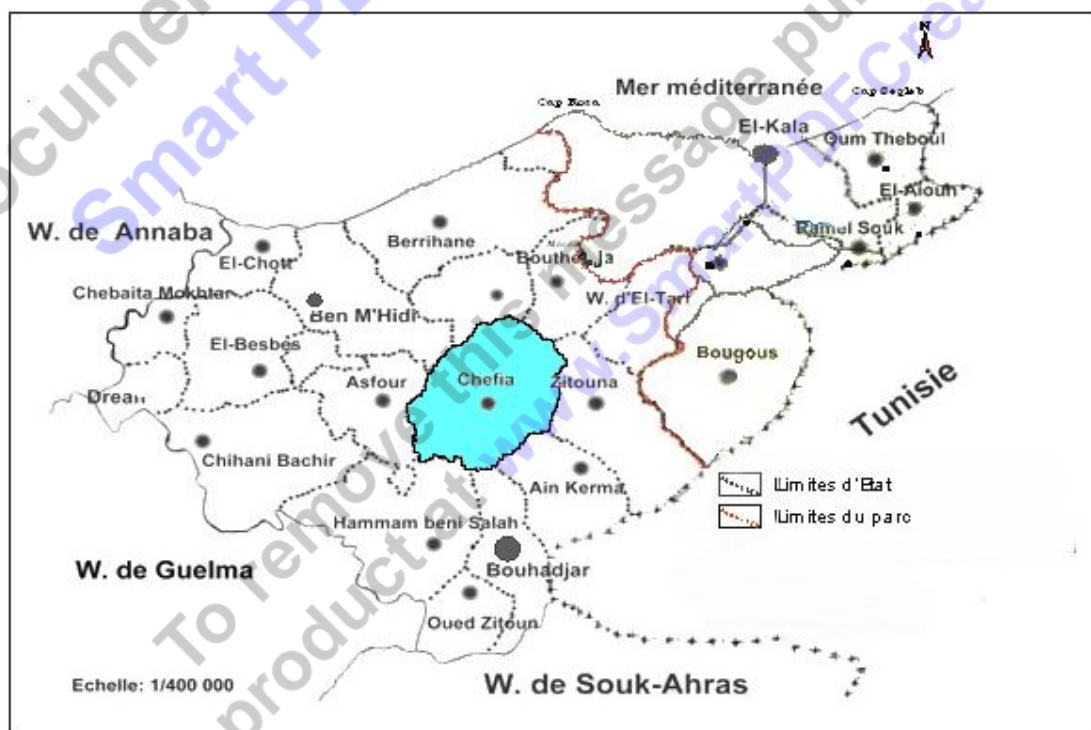


Figure 11 : Les limites administratives de la daïra de Chefia dans la wilaya d'El Taref. (Bentouili, 2007).

La wilaya d'El Taref est limitée :

- *Au Nord par la mer méditerranée*
- *Au Sud par la wilaya de Souk-Ahras.*
- *A l'Est par la frontière Algéro- tunisienne*
- *A l'Ouest par la wilaya de Annaba et Guelma.*



Figure 12 : Zone d'échantillonnage El Chorfa (www.googleearth.com).

La wilaya d'El Taref appartient à un milieu tempéré avec un climat méditerranéen caractérisé par une saison humide et une saison sèche.

L'analyse des températures moyennes relatives montrent que les températures maximales s'observent en été au mois d'Août pouvant atteindre 50 C° et les températures minimales au mois de janvier et février avec environ 5 à 6 mois de gelée blanche par an. Les précipitations varient entre 770-1200mm (moyenne annuelle), avec une répartition variable d'un mois à l'autre. Ce facteur climatique est étroitement lié à la température atmosphérique et cela de manière réversible. Elle atteint son maximum au mois de janvier et son minimum est enregistré au mois d'Août (Station de Ain Assel).

1. 1. 1. 3. L'hydrogéographie du site :

Le site de prélèvement que nous avons choisi se caractérise par la présence d'une surface hydrique unique présentée par le barrage de Chefia. Ce barrage se situe sur l'oued Bounamoussa à 50 Km au Sud-est d'Annaba, et dont la mise en service des installation date de 1969. Le bassin de Bounamoussa prend sa source au Koudite Ben Ahmed à une altitude de 1223 m. on l'appelle Oued Kebir. Cet oued à son entrée dans la plaine de Asfour prend le nom de Bounamoussa.

Le barrage de Chefia construit à l'entrée des gorges de la Chefia a une capacité de 170 Km³ qui permet d'emmagasiner 140 Km³. le volume régularisé est de 90 Km³. il régularise actuellement 95 millions de m³ : 61 millions de m³ sont réservés à l'agriculture et 35 aux villes et à l'industrie.

1. 1. 1. 4. Cultures du site :

Les principales cultures envisagées dans le site de Chefia sont : le tabac, le coton, la tomate, les agrumes, les cultures maraichers et les paturages (Nasri, 2001).

1. 1. 1. 5. Echantillonnage:

La méthode d'échantillonnage que nous avons choisi est 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 sur de leurs ages, autrement dit ; nous avons réalisée une cueillette des feuilles jeunes et adultes sur plusieurs pieds de Marrube 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 le mois de décembre 2008 et par temps sec, pour éviter toutes altérations des huiles essentielles. Les feuilles prélevées sont placées dans des étuis en papier stérile puis transportées immédiatement au laboratoire en vue de l'analyse.

1. 1. 1. 6. 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 deux semaines et en les retournant de temps à autre. Le séchage des plantes 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 et moisir lors de la conservation.

1. 1. 2. Matériel pédologique :

1. 1. 2. 1. Sol :

Les prélèvements des échantillons de sol ont été réalisés au niveau du même site cité précédemment c'est-à-dire celui de la région de Chorfa où pousse notre espèce végétale : Marrubium vulgare L. l'échantillonnage a eu lieu le même jour et au même endroit. Les échantillons de sol préalablement séchés sont tamisés afin d'éliminer les gros débris et obtenir un matériel fin et homogène prêt pour les analyses.

Selon Mathieu et Pieltain (1998). La profondeur du sol à prélever dépendra de la profondeur de l'enracinement de la plante considérée. Pour les cultures annuelles, on estime que 70-80 % de l'apport nutritionnel provient de la couche superficielle (0 à 20-30 cm). Les analyses en vue de la caractérisation et le contrôle de la fertilité du sol comme base pour les conseils de fumure se font donc sur des échantillons " de surface ", pour la plupart des cultures.

1. 1. 3. Matériel microbiologique :

1. 1. 3. 1. Les souches bactériennes :

Le matériel microbiologique est constitué de neuf souches bactériennes. Ce sont des espèces pathogènes pour l'homme, souvent multirésistantes aux antibiotiques, gram positif et/ou gram négatif. Ce sont des germes responsables d'infections intestinales, uro-génitales, respiratoires ainsi que des infections de la peau et des muqueuses.

Les souches bactériennes étudiées sont :

- Escherichia coli 12.
- Escherichia coli 1429.
- Escherichia coli 1554.
- Escherichia coli ATCC 25922.
- Enterobactériacée 1520.
- Proteus 22M.
- Staphylococcus aureus.
- Pseudomonas 7244.
- Pseudomonas ATCC 27853.

Les photos suivantes nous montrent les différentes formes des espèces bactériennes étudiées prises à partir du site internet : ([http://medicalsciences.wordpress.com/2009/09/07/infectious-disease-nosocomial\(pathogens/-->\).](http://medicalsciences.wordpress.com/2009/09/07/infectious-disease-nosocomial(pathogens/-->).))

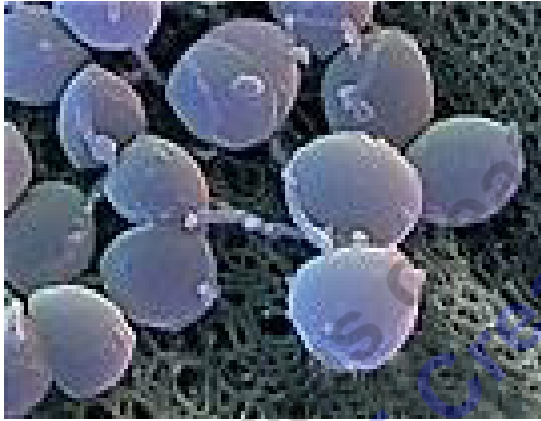


Figure 13 : Staphylococcus.

Cocci à Gram positif très fréquent chez l'homme à l'état commensal ou pathogène. Agent de suppurations, septicémies, toxi-infections et chocs toxiques. Agent d'infections nosocomiales. Multirésistance des souches hospitalières.

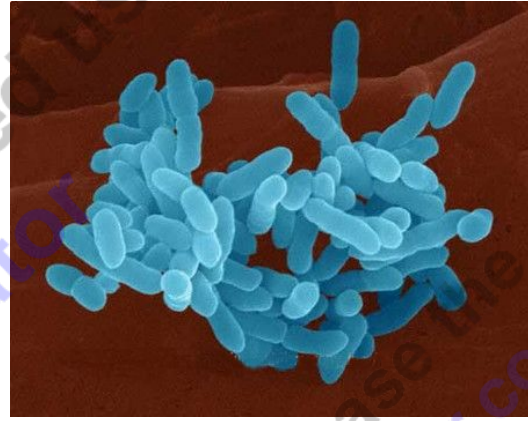


Figure 14 : Proteus.

bacilles à Gram négatif. Bactéries de l'environnement humain ou animal (tube digestif). Retrouvé comme responsable d'infections urinaires. Large tendance vers l'acquisition de résistance aux antibiotiques.

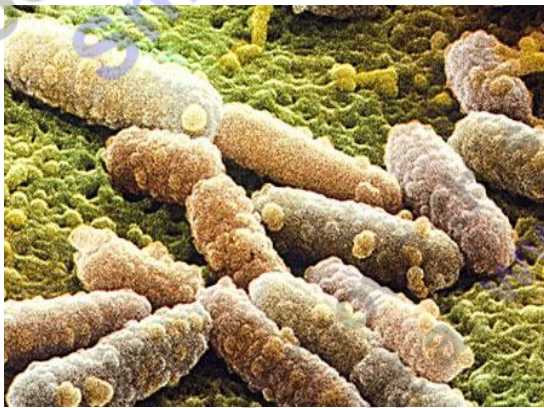


Figure 15 : Escherichia Coli.

bacille à Gram négatif de l'intestin et de l'environnement humain ou animal (tube digestif). Responsable d'infections spontanées des voies urinaires, gastro-entérites et l'infection nosocomiales. Tendance vers l'acquisition de résistance aux antibiotiques.



Figure 16 : Pseudomonas.

bacille à Gram négatif, aérobie strict à Flagelle polaire. Responsable d'infections nosocomiales de plus en plus graves et fréquentes. Rôle majeur dans l'infection nosocomiale. Les souches sont le plus souvent multirésistantes aux antibiotiques.

1. 1. 3. 2. Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés sont : le milieu Mueller-Hinton et le milieu Sabouraud. La composition de chacun des deux est :

- Milieu Sabouraud :

Peptone	10g.
Agar-agar	15g.
Glucose massé	20g.
Eau distillée	1000 ml.

pH: 5.7.

- Mueller-Hinton :

Peptone pepsique de viande	10g.
Glucose	10g.
Agar-agar	15g.
Eau distillée	1000 ml.

pH: 5.7.

1. 1. 3. 3. L'antibiotique :

L'antibiotique utilisé pour cette partie microbiologique est la rifampicine (5 μ g), lot : 070531. La rifampicine (Rifaldazine, Rifadine, Rimactan, Rifoldine, Sinerdol), il constitue l'un des médicaments les plus actifs connus ayant une action antituberculeuse et antistaphylocoque. La rifampicine est un antibiotique de semisynthèse avec une structure macrolide. Cette substance présente un point de fusion élevé 183-188 °C, est colorée 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 crûe.

Pour obtenir la rifampicine on commence avec la condensation de la 3- formylrifampicine (rifomicine ou AF) avec la 1- amino –4 –méthyl – pipérazine en milieu de tétrahydrofuranne. Dans le dernier temps, à cause du spectre vaste d'action antimicrobienne et les effets adwerses que la rifampicine provoques par administration orale, les prescription médicales avec ce médicament sont de plus en plus avec la rifampicine sous forme des dispersions liquides ou des onguent destinés aux applications locales (Ganescu et al, 2002).

1. 2. Méthode d'analyse

1. 2. 1. Analyses physicochimiques du sol

Les paramètres analysés dans cette étude sont : la texture, le carbone organique, le pH (pH eau et pH KCl), le calcaire, les éléments minéraux (carbonates et bicarbonates, le sodium, le potassium).

1. 2. 1. 1. La texture :

Pour déterminer la texture du sol, nous nous sommes basés sur l'échelle de Soltser (1981). Les détails de la méthode sont présentés dans les annexes.

Tableau 01 : 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. Le carbone organique :

La teneur en matière organique a été évaluée en utilisant la méthode d'Anne (détails en annexes). La teneur en matière organique obtenue a été comparée aux valeurs de l'échelle de Soltser (1981).

1. 2. 1. 3. pH : pH_{eau} et pH_{kcl} :

La détermination des deux pH (pH eau et pH kcl) de notre sol a été effectuée à l'aide d'un pH mètre. Les valeurs obtenues ont été comparées ensuite avec une gamme de pH des sols d'après Soltser (1981). (Détails dans les annexes).

Tableau 02 : La 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 (EC) :

La conductivité électrique permet aussi de déterminer le degré de la salinité du sol. La détermination de la conductivité électrique se fait sur un extrait de sol (rapport sol/eau=15) à l'aide d'un conductimètre. Les valeurs sont comparées à une échelle de salinité.

Tableau 03 : Echelle de salinité du sol (USSS-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. Le calcaire

- Calcaire total :

L'évaluation du calcaire total a été réalisée à l'aide d'une solution acide (Acide Chlorhydrique (HCl) à 0.5 N) et une solution basique (Hydroxyde de Sodium (NaOH) à 0.25 N) et en utilisant le réactif de la phénolphaléine (Détails en annexes).

- Calcaire actif :

La méthode suivie est celle de Bonneau et Souchier (1994). Les détails de la méthode sont présentés dans les annexes.

1. 2. 1. 6. Les éléments minéraux :

- Carbonates et Bicarbonates :

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

Dans cette méthode, l'élément, (Na ou 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. Les détails de la méthode sont présentés dans les annexes.

1. 2. 2. Etude Histologique

Afin de faire la différence entre les différents types des tissus de notre plante Marrubium vulgare L, nous avons réalisé des coupes histologiques assez fines dans la tige, la feuille, et la racine. Les organes de la plante sont utilisées à l'état frais, ensuite coupées et conservées dans l'éthanol (C₂H₅OH) 75 %. Ces coupes sont ensuite colorées et observées sous le microscope optique avec différents grossissements.

1. 2. 2. 1. Principe :

Les coupes se font sur des organes conservés dans l'alcool. 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 pour l'observation des fibres sclérifiées détails des vaisseaux de bois... (Wichtl et Anton, 2003).

La coloration des coupes se fait par la méthode de la double coloration : Vert de Méthyle et Rouge kongo). Cette méthode a pour but de colorer les membranes cellulosesiques 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

- 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 05 % (si la coupe est très riche en amidon : racine; rhizome).*
- Dans l'eau distillée (lavage 02 fois).*
- Dans un bain additionné de quelques gouttes d'acide acétique CH₃COOH.*
- Traiter au vert de méthyle pendant 01 à 03 mn.*
- Laver rapidement à l'eau distillée.*
- Traiter par le rouge Congo pendant 15 mn.*
- Laver rapidement à l'eau distillée ; puis monter entre lame et lamelle pour l'observation microscopique.*

1. 2. 3. Tests biochimiques préliminaires

1. 2. 3. 1. Teneur en eau :

La teneur en eau des plantes fraîches varie de 5 à 95 % suivant les organes. Cette teneur est d'environ 5 à 15 % pour les drogues sèches. 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, 2g environ de matière fraîche. Celle-ci est ensuite placée dans une étuve à une température de 100°C à 105°C pendant deux heures. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'une masse constante (Pharmacopée européenne, 2005).

1. 2. 3. 2. Dosage des cendres totales :

Les cendres totales résultent de la calcination complète de la drogue, elles représentent les éléments minéraux. La proportion des cendres est en général de 3 à 6 % (Pharmacopée européenne, 2005).

Mode opératoire :

- Tarer un creuset en silice préalablement séché à l'étuve, le refroidit dans un dessiccateur taré.
- Placer environ 2g 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 1h à 600°C.
- Laisser refroidir, puis placer dans un dessiccateur.
- Peser et rapporter la masse de cendres à 100g de drogue.

1. 2. 3. 3. 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 réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chacun des tubes est agité avec énergie en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en cm. Si elle est proche de 1cm dans le X^e tube, on calcule alors l'indice de mousse selon la formule suivante :

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

La présence des saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100 (Dahou et al, 2003).

1. 2. 3. 4. Recherche des tanins:

- on prend 5 ml de l'infusé, aux quelle on ajoute goutte à goutte 1 ml d'une solution de Chlorure ferrique (FeCl₃) à 1%. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiques, bleu noirâtre, tanins galliques.

- A 30 ml de l'infusé, on ajoute 15ml de réactif de Stiasny (Formol à 30% + HCl concentré 3-1 v/v). Après chauffage de 30 mn au bain marie, l'observation d'un précipité orange indique la présence des tanins catéchiques.

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 d'Ammoniac (NH_4OH). Le changement de la couleur indique la présence des anthocyanes.

1. 2. 3. 6. Recherche des leuco anthocyanes:

Un volume de 5 ml de l'infusé est mélangé à 4 ml d'alcool chlorhydrique (Ethanol/ 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 flavonoides :

La recherche des flavonoides débute par une macération de 10g de drogue pulvérisée dans 150 ml d'acide chlorhydrique (HCL 1 %) pendant 24h. Après filtration, on récupère 10 ml du filtrat auquel on ajoute une solution basique de (NH_4OH), si après 3h, il y a apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube, ceci indique la présence de flavonoides.

1. 2. 3. 8. Recherche des alcaloïdes :

Après macération de 5g de feuilles séchées et broyées dans 50 ml d'HCl à 1 %, on filtre la solution obtenue et on lui ajoute quelques gouttes de réactif de Mayer qui provoque un précipité blanc indiquant la présence des alcaloïdes (Bouquet, 1972).

1. 2. 3. 9. Recherche des Terpènes et des Stérols:

5 g de la poudre sont macérés dans 20 ml d'éther de pétrole, Après filtration, la phase organique est évaporée dans un bain de sable à une 0°C 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. S'il y a apparition d'un cercle violé ou marron devenant gris par la suite, ceci indique la présence des terpènes et stérols.

1. 2. 3. 10. Recherche des Cardinolides :

On réalise le macération de la drogue pulvérisée (1g) dans de l'eau distillée (20 ml), pendant 3h, après filtration du macérat, on prélève 10 ml auxquels on ajoute 10 ml du mélange de la solution (Chloroforme (CHCl_3), Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)). L'évaporation de la phase organique dans un bain de sable à une 0°C de 90°C . le précipité est ensuite dissout dans 3 ml de l'acide acétique (CH_3COOH) glacial, enfin, on ajoute quelques gouttes de Chlorure Ferrique (FeCl_3) puis 1 ml d' 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. 4. Extraction, Séparation et identification des principes actifs

1. 2. 4. 1. Extraction des flavonoides:

L'extraction des flavonoides a été faite selon la méthode de Charaux et Paris (1954), elle consiste à prendre 10g de drogue séchée et stabilisés pendant une heure dans 200 ml d'éthanol à 96°C. Après filtration et séchage, la drogue est pulvérisé grossièrement et épuisée à l'appareil de Soxhlet par 200 ml d'éthanol à 96°C pendant 4h. Après macération de 12 à 24h, les deux solutions éthanoliques sont réunies et évaporées sous pression réduite. Le résidu est repris par 20 ml d'eau bouillante et la solution aqueuse est laissée au repos pendant 24h. 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, ils sont à l'état de traces dans l'acétate d'éthyle et seul le composé butanolique en contient une quantité susceptible d'être étudié. L'extrait butanolique est évaporé au bain de sable à 30°C, le résidu est ensuite pesé et divisé en deux parties: la première est reprise par 2 ml méthanol à 1 % pour la chromatographie, la deuxième partie est réservée pour les tests biologiques.



Figure 17 : Appareil de Soxhlet.

Les différentes étapes de l'extraction des flavonoïdes sont représentées dans la figure suivante :

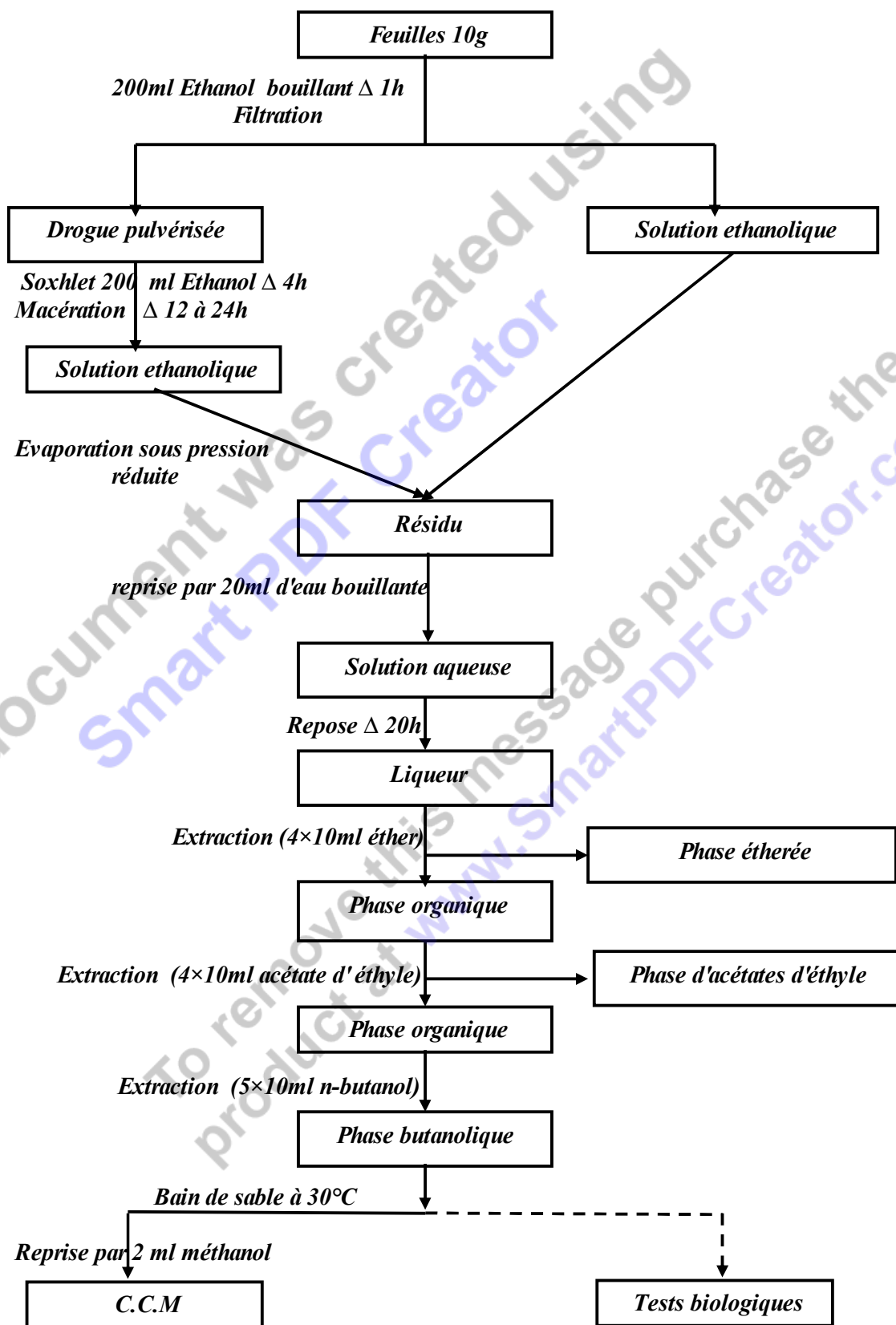


Figure 18: Schéma des différentes étapes suivies lors de l'extraction des Flavonoïdes.

1. 2. 4. 1. 1. Calcul du DER (drug-extract ratio ou rapport drogue- extrait)

Il permet en général, d'apprécier avec précision, la qualité de la drogue (Paris, 1981). C'est un rapport particulièrement important appelé DER (« drug-extract ratio » ou rapport drogue-extrait), 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 un nombre élevé indique 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 de 4 :1 indique une teneur en substances extractives de 25%. Le DER est donc le rapport entre la quantité de drogue et la quantité d'extrait brut obtenu. (Wichtl et Anton, 2003).

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

1. 2. 4. 1. 2. Identification par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) :

La chromatographie sur couche mince est une technique de séparation, dans laquelle une phase stationnaire constituée d'un matériau 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'absorption, de partage ou d'échange d'ions ou sur une combinaison de ces mécanismes, et elle s'effectue par migration (développement) de solutés à travers la couche mince (phase stationnaire) dans un solvant ou un mélange de solvants approprié (phase mobile) (Wichtl et Anton, 2003).

Mode opératoire :

On verse dans la chambre une quantité de phase mobile (Acétate d'éthyle 5V, Méthanol 2V, Eau 1V) suffisante pour obtenir une épaisseur de 5 mm à 10 mm de liquide. Les parois de la chambre sont tapissées avec du papier filtre humecté avec la phase mobile. On place ensuite le couvercle et on laisse le tout au repos pendant 1 heure à une température de 20 à 25°C.

La dernière étape consiste à déposer les solutions par taches circulaires d'environ 2 mm de diamètre à partir de la solution diluée à analyser (½ ml de l'extrait obtenu dissous dans 2 ml de méthanol (CH₃OH)), ou sous formes de bandes (20 mm sur 2 mm 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.

Lorsque le solvant des solutions est évaporé, on place la plaque dans la chambre à chromatographie en position aussi verticale que possible, de manière que les dépôts restent toujours au dessus du niveau de la phase mobile. La chambre est maintenue fermée à 20°C jusqu'à ce que le solvant aura parcouru la distance indiquée dans la monographie.

Enfin lors de la dernière étape, on retire les plaques et on procède à la révélation des chromatogrammes (Pharmacopée Belge, 1982).

- Révélation :

La révélation est faite sous une lampe à UV qui met en évidence la présence des flavonoides en provoquant une fluorescence brune mate des taches obtenues et nous permet de calcul le rapport frontal (Rf).

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

- Confirmation de la présence des flavonoides :

La confirmation de la présence des flavonoides est faite par l'ajout de Chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2 % préparé dans le méthanol à 95°. Le chlorure d'aluminium provoque en présence des flavonoides le virement de la couleur des taches vers le jaune, jaune verte ou ocre.

1. 2. 4. 2. Extraction des huiles essentielles:

1. 2. 4. 2. 1. Principe :

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation ou par entraînement à la vapeur d'eau. En fait cette distillation met en jeux divers procédés physico-chimiques. Il existe deux grands modes de distillation :

- La plante est mise en contact avec l'eau, qui est directement chauffée.*
- La plante est placée sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic, et n'est pas en contact avec l'eau. Les principes volatils n'ayant qu'une solubilité partielle dans l'eau, vont pouvoir être séparés par décantation du distillat refroidi.*

Si les huiles essentielles sont plus légères que l'eau, elles surnagent, si les huiles essentielles sont plus denses elles se retrouveront dans la partie inférieure du distillat (Belaiche 1979).

Dans notre cas nous avons utilisé le 1^{er} mode de distillation pour l'extraction des huiles essentielles.

1. 2. 4. 2. 2. Extraction :

100g de feuilles sèches sont placés dans 250 ml d'eau, le tout est chauffé pendant 3h jusqu'à l'ébullition. La vapeur issue de l'évaporation est rassemblée en 2 phases, l'une organique supérieure et qui constitue les huiles essentielles, l'autre, une phase aqueuse inférieure appelée eau aromatique. La phase obtenue est récupérée après élimination de l'eau aromatique (Pharmacopée Belge, 1982).

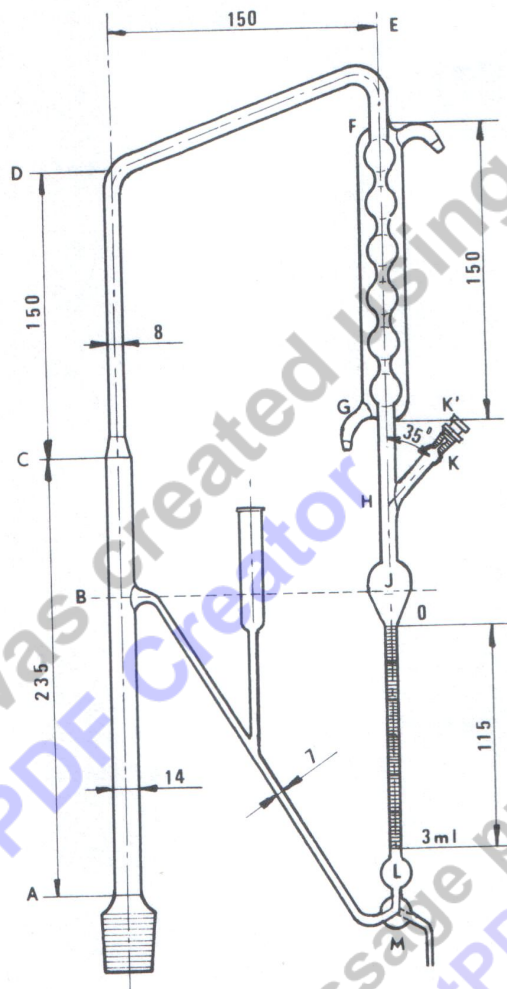


Figure 19 : Appareil pour la détermination des huiles essentielles dans les drogues végétales (dimension en millimètres) selon la Pharmacopée Belge (1982).

1. 2. 4. 2. 3. 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 :

$$R \% = PHE / PMV \times 100$$

R : rendement.

PHE : poids des huiles essentielles (g).

PMV : poids de matière végétale (g).

1. 2. 4. 2. 4. Calcul du DER :

La détermination de DER des huiles essentielles a été faite selon la formule indiquée précédemment.

L'identification de ces huiles n'a pas été faite puisque la récupération de l'huile extraite était quasiment impossible due à la quantité minimale récupérée.

1. 2. 4. 3. Extraction des tanins

1. 2. 4. 3. 1. Extraction :

Nous avons suivi la méthode de Sowunmi et al (2000) qui consiste à faire macérer 50g de drogue séchée pendant 24h sans interrompre l'agitation magnétique dans un mélange d'éthanol et d'eau bouillante (200ml/500ml). Après filtration la liqueur obtenue est épuisée dans une ampoule à décantation, plusieurs fois successivement par (4×20 ml) de chloroforme. Le résidu obtenu après l'évaporation de la phase organique est pesé et repris par 10 ml de méthanol à 1 %. L'évaporation de la phase organique sous pression réduite a donné un résidu qui est ensuite repris par 5 ml d'éthanol à 1 %. La liqueur aussi obtenue est divisée en deux parties, une partie est utilisée pour l'identification par chromatographie sur couche mince (CCM) et une partie est servie aux tests bactéricides.

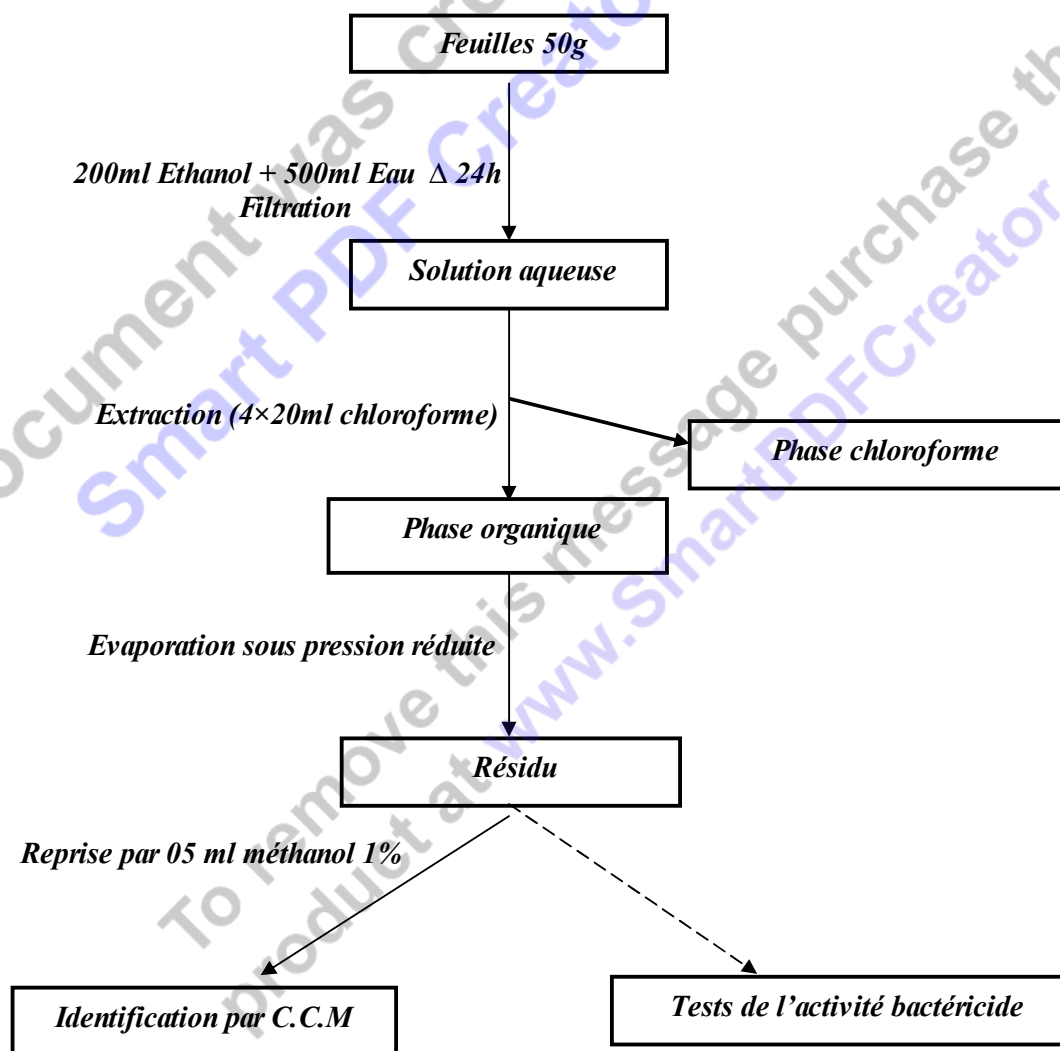


Figure 20 : Schéma des différentes étapes de d'extraction des Tanins.

1. 2. 4. 3. 2. Identification par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) :

L'identification par CCM est réalisée par dépôt de spots circulaires d'environ 2 mm de diamètre sur la plaque de CCM à partir de la solution diluée à analyser (50 µl de l'extrait obtenu dissous dans 350 µl de méthanol (CH₃OH) à 1%).

- La phase mobile :

Après une série d'essais réalisée dans le but d'une recherche d'un éluant favorable pour la séparation des différents composants des tanins de Marrubium vulgare L. Après avoir testé une large gamme de composés, nous avons opté pour l'Acétate d'éthyle (10V) qui nous semble comme étant le meilleur éluant.

- Révélation :

Comme pour les flavonoïdes, la révélation des taches s'est faite sous UV. Le calcul des rapports frontaux est fait en appliquant la formule signalée précisément.

La révélation de la couleur et la confirmation des tanins sont déterminées par le réactif de Chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2 %.

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

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 et qui sert à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques.

Dans notre expérimentation, l'antibiotique est remplacé par les substances actives naturelles isolées de la plante (flavonoïdes et tanins).

1. 2. 5. 1. Principe de la méthode :

C'est une méthode de mesure in vitro du pouvoir bactéricide du ou des 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 face à ces composés naturels. Un disque imprégné du composé 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 un temps de latence ou incubation à 37°C, si la molécule est toxique pour l'espèce bactérienne, il se forme une zone ou un halo 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. Réactivation des souches :

La réactivation des souches bactériennes a été faite par ensemencement sur un milieu solide puis incubation à 37°C pendant 18 à 24h.

1. 2. 5. 3. Préparation des suspensions :

Les suspensions bactériennes sont préparées selon la méthode décrite ci-dessous:

- *A l'aide d'un écouvillon, prélever des colonies à partir des boîtes dans lesquelles les souches ont été préalablement réactivées.*
- *Flamber l'ouverture du tube contenant un volume de 10 ml d'eau physiologique stérile.*
- *Rincer bien l'écouvillon dans le tube de sorte à obtenir une opacité égale à 0,5 Mc Farland ou une densité de 0,08 à 0,10 lue à 625nm et donc une suspension bactérienne de 10^6 à 10^8 C.F.U/ml (Unité Formant Colonie).*
- *Flamber l'ouverture du tube, le fermer. Faire passer les tubes sur un agitateur pour que les suspensions soient homogènes.*

1. 2. 5. 4. L'ensemencement :

L'ensemencement a été fait comme suit :

- *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 répéter l'opération plusieurs fois afin détalé tout l'inoculum sur toute la face du milieu.*

1. 2. 5. 5. Préparation des dilutions :

Les dilutions sont préparées à partir de la solution mère du composé en utilisant l'éthanol comme solvant, les dilutions ont été faites de façon à obtenir des concentrations $\frac{1}{2}$ et $\frac{1}{4}$ pour chacune des deux solutions mères. Enfin, les solutions testées sont donc :

- *Solution mère.*
- *Solution au $\frac{1}{2}$.*
- *Solution au $\frac{1}{4}$.*

1. 2. 5. 6. Application des disques :

Des disques préalablement imprégnés de produits à tester : Flavonoïdes et Tanins (pur et /ou dilués) sont déposés à la surface du milieu inoculé.

Les disques témoins sont inclus dans les essais. Il s'agit de disque imbibé à l'eau distillée stérile et de disque d'antibiotique (La rifampicine, 5µg, lot : 070531).

Un ensemble de six disques espacés d'une intervalle de 24 mm centre à centre est utilisé.

1. 2. 5. 7. Lecture des résultats :

L'évaluation de l'inhibition est faite par observation à l'oeil nu en mesurant les zones ou halos transparents formés autour des disques. Les halos sont exprimés en mm.

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

This document was created using
SmartPDF Creator

RESULTATS ET DISCUSSION

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

2. 1. Analyses physico-chimiques du sol :

Tableau 04 : Analyse des paramètres physico-chimiques du sol (Texture, Matière organique, pH, EC).

Paramètres	Texture	Matière organique (%)	pH (eau)	pH (KCl)	Conductivité électrique (MS/cm)
Sol	Argilo Limoneuse	4,65 %	8,16	8,70	0,17

D'après les résultats indiqués dans le tableau ci-dessus, il ressort que le sol étudié est de texture Argilo Limoneuse. Le pourcentage de la matière organique est de l'ordre de (4,65 %), un chiffre suffisamment élevé par comparaison avec l'échelle de Soltser (1981). Le pH eau et le pH KCl traduisent l'alcalinité du sol étudié avec des valeurs comprises entre 8,16 (pH eau) et 8,70 (pH KCl). La conductivité électrique (EC) est un paramètre important qui permet aussi de détecter la salinité d'un sol ; la valeur enregistrée est égale à 0,17 MS/cm. Par ailleurs, si l'on se réfère à l'échelle de salinité (USSS, 1954), nous constatons que le sol étudié est situé dans la fourchette comprise entre 0 et 0,60 MS/cm qui indique que les échantillons analysés sont non salins.

Tableau 05 : Dosage des sels minéraux du sol étudié.

Paramètres	Calcaire total (%)	Calcaire actif (%)	CO_3^- méq/L	HCO_3^- méq/L	Na^+ méq/L	K^+ méq/L
Sol	24 %	1,25 %	0,6 méq/L	16 méq/L	3,73 méq/L	2,19 méq/L

Le tableau 05 représentant les résultats des éléments minéraux nous permet de déduire que nous sommes en présence d'un sol riche en Calcaire total avec un pourcentage de (24 %) et pauvre en Calcaire actif (1,25 %).

D'un autre côté, les quantités de carbonates (CO_3^-), Bicarbonates (HCO_3^-), Sodium (Na^+) et Potassium (K^+) sont très faibles. Elles sont successivement de l'ordre de 0,6 méq/L, 16 méq/L, 3,73 méq/L, 2,19 méq/L ce qui confirme les résultats de la conductivité électrique.

Alors, des pH basiques ainsi qu'une teneur élevée en matière organique, un degré bas de salinité et un pourcentage élevé de calcaire total, caractérisent la qualité du sol étudié et sur lequel est poussée cette espèce végétale le Marrube blanc, *Marrubium vulgare 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 anatomique des organes de *Marrubium vulgare L.* nous a permis de reconnaître les différentes structures histologiques et d'identifier leurs différents tissus.

2. 2. 1. TIGE :

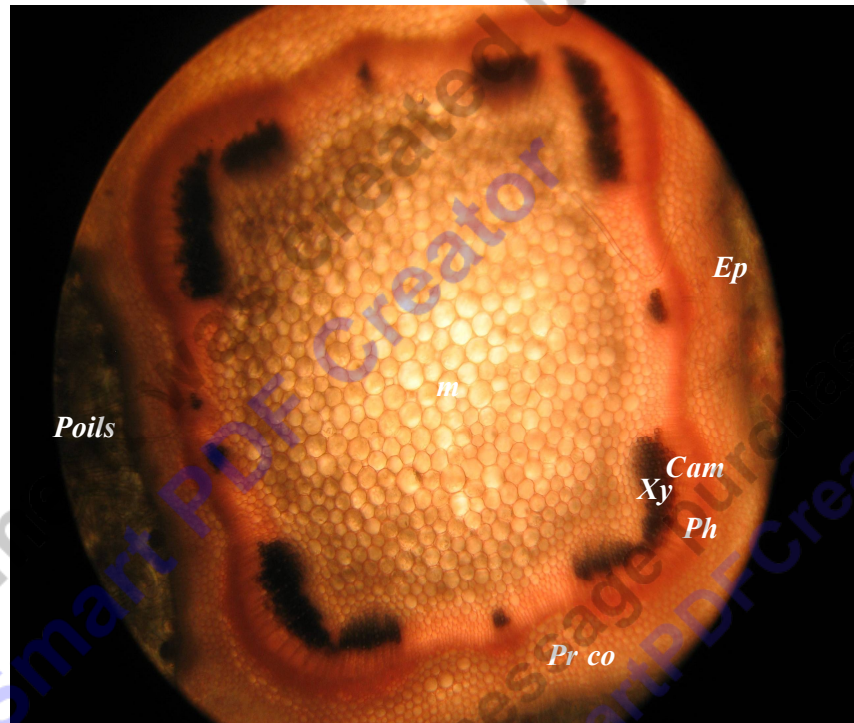


Figure 21 : Coupe transversale d'une tige de *Marrubium vulgare L.* (G x10).

La coupe histologique de la tige de *Marrubium vulgare L.* (Figure 21) a montré de l'extérieur vers l'intérieur les formes histologiques suivantes :

- Une assise de cellules dont la paroi extérieure protectrice est cutinisée (cuticule) : C'est l'épiderme (Ep).

- Une couche de cellules plus ou moins disposées régulièrement mais laissant entre elles des méats : c'est la zone corticale (Pr co).

- Les faisceaux cribro-vasculaires : ils disposés sur un cycle unique comprennent du xylème (Xy) et du phloème (Ph) superposés, le xylème situé au contact de la moelle étant coiffé vers l'extérieur par le phloème. (Le xylème est constitué de protoxylème (Xy 1) et de métaxylème (Ph 2). De même, on distingue un protophloème (Ph 1), et métaphloème (Ph 2) de structure plus complexe).

- Le cambium (Cam): c'est une assise génératrice engendrant chaque année le bois et le liber "secondaires" des plantes vivaces.

- La moelle (m) : elle est centrale, bien développée et parenchymateuse. Ses grandes cellules ne sont généralement pas chlorophylliennes, mais riches en amidon. Avec l'âge, une lignification des parois cellulaires peut survenir, de la périphérie vers le centre de la moelle.

- Les élongations épidermiques sont des poils tecteurs (Poils Tc) qui jouent un rôle de protection et diminuant la transpiration de la plante.

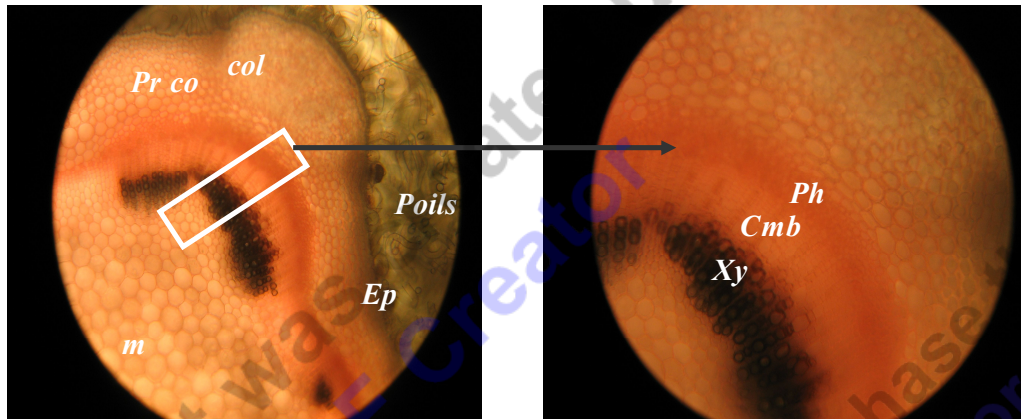


Figure 22 : Coupe transversale d'une tige de Marrubium vulgare L. Détail du Phloème et du Xylème (G x40).

D'après la figure 22, nous distinguons clairement un méristème secondaire, donnant naissance au xylème secondaire (bois) vers l'intérieur et au phloème secondaire (liber) vers l'extérieur, il assure l'accroissement radial des tiges et des racines : c'est le cambium.

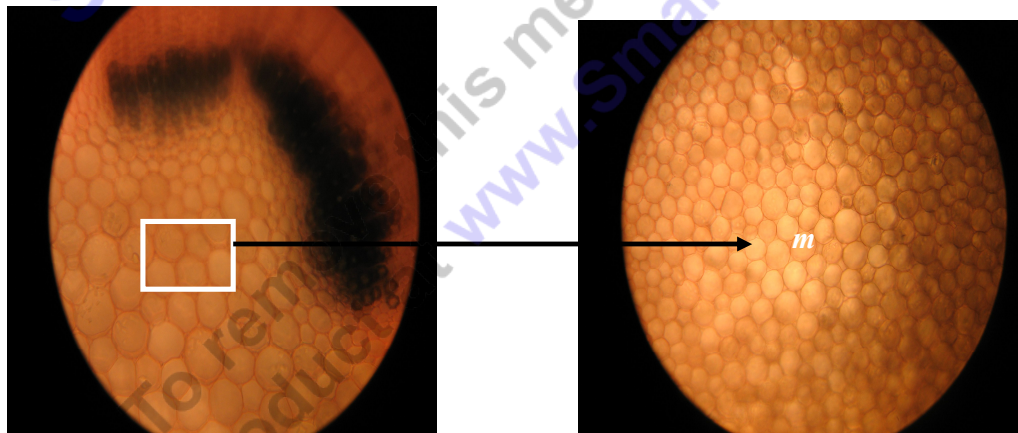


Figure 23 : Coupe transversale d'une tige de Marrubium vulgare L. Détail du parenchyme médullaire.

2. 2. 2. RACINE :

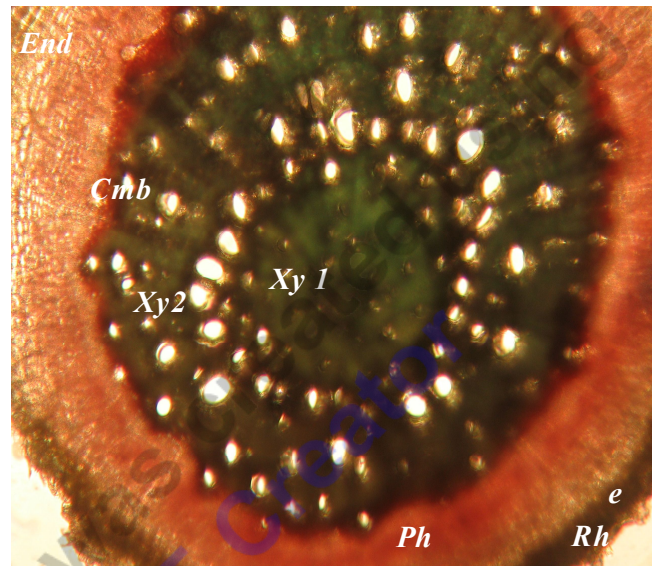


Figure 24 : Coupe transversale d'une racine de Marrubium vulgare L (G x10).

L'observation microscopique de la racine de Marrubium vulgare L. (Figure 24) de l'extérieur vers l'intérieur permet la distinction des structures suivantes:

- Le Rhizoderme (Rh) : est une couche unistrate et continue de cellules aux parois minces et cellulósiques, dont la plupart sont prolongées par des poils.

- L'écorce (e) : elle est constituée d'un parenchyme non chlorophyllien. Mais comportant plus ou moins de réserves, en particulier de l'amidon. L'écorce est souvent sclérifié, au moins dans la zone externe.

- L'endoderme (End) : c'est la couche corticale la plus profonde. Il est constitué de cellules jointives, allongées dans le sens de l'axe de la racine.

- Phloème.

- Cambium (Cmb).

- Xylème 2 (Xy 1).

- Xylème 1 (Xy 2).

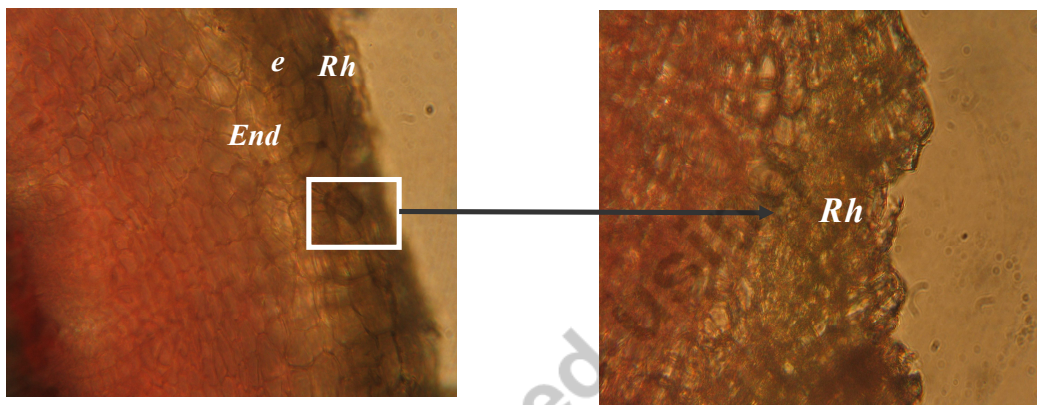


Figure 25 : Coupe transversale d'une racine de Marrubium vulgare L. Détail du Rhizoderme (G x40).

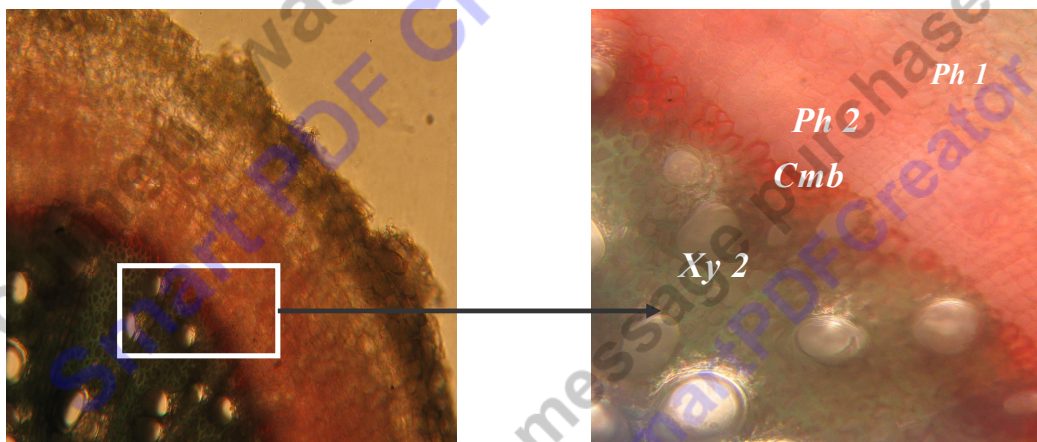


Figure 26 : Coupe transversale d'une racine de Marrubium vulgare L. Détail du Phloème et du Xylème (G x40).

La figure 26 montre les détails du phloème au niveau d'une coupe transversale de la racine où on observe clairement les 2 types de phloème :

- Le Phloème I^{aire} (Ph 1) : est formé de cellules plus ou moins allongées, moins colorées en rose et localisées en dessus des cellules de phloème II aire.
- Le Phloème II^{aire} (Ph 2) : est formé des cellules presque isodiamétriques, colorées en rose et situées à côté du cambium.
- Le Xylème II^{aire} (Xy 2) : c'est un tissu formé généralement des vaisseaux très étroits et de diamètre assez grands.

Les deux tissus sont séparés par un méristème secondaire c'est le cambium (Cmb). Celui-ci est formé de cellules bien colorées en rose. L'activité des méristèmes secondaires (Cmb) va donner les tissus secondaires de Phloème et de Xylème.

2. 2. 3. FEUILLE :

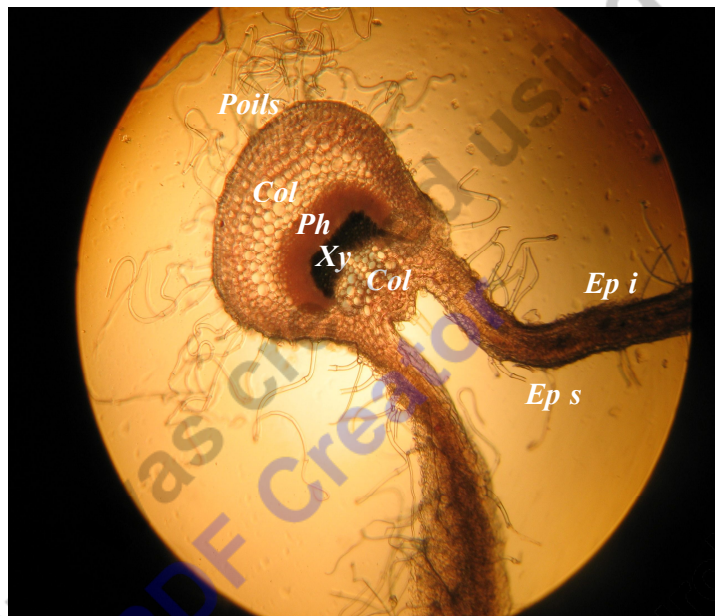


Figure 27 : Coupe transversale d'une feuille de Marrubium vulgare L. (G x10).

L'examen au microscope optique d'une section transversale du limbe d'une feuille de Marrubium vulgare L. (Figure 26) permet de distinguer de l'extérieur vers l'intérieur les tissus suivants:

- Une assise de cellules aplaties dont la membrane extérieure est légèrement cutinisée : c'est l'épiderme supérieur (Ep s).
- De cellules jointives en forme de palissade, très riche en grains de chlorophylle : c'est le parenchyme palissadique (Pr ps).
- De cellules arrondies, irrégulières laissant de larges méats entre elles: le parenchyme lacuneux (Pr Lc).
- Une assise de cellules, à la face inférieure, nettement moins cutinisées qu'à la face supérieure, c'est l'épiderme inférieur (Ep i).
- Dans le parenchyme lacuneux, on observe les faisceaux libéro-ligneux composés de La nervure principale occupant toute l'épaisseur du limbe et les nervures secondaires renforcées par du collenchyme (Col) ou du sclérenchyme, jouent à la fois un rôle de conduction de sève et de tissu de soutien.

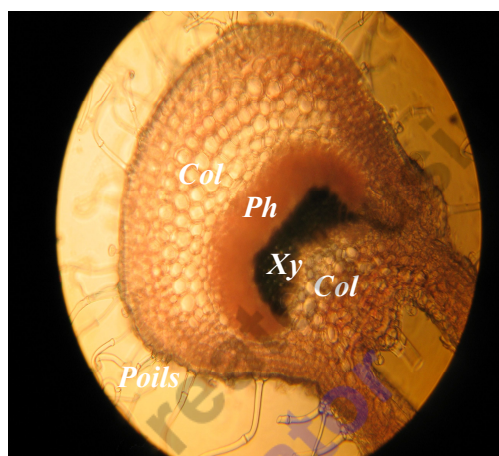


Figure 28 : Coupe transversale d'une feuille de Marrubium vulgare L. (G x10).

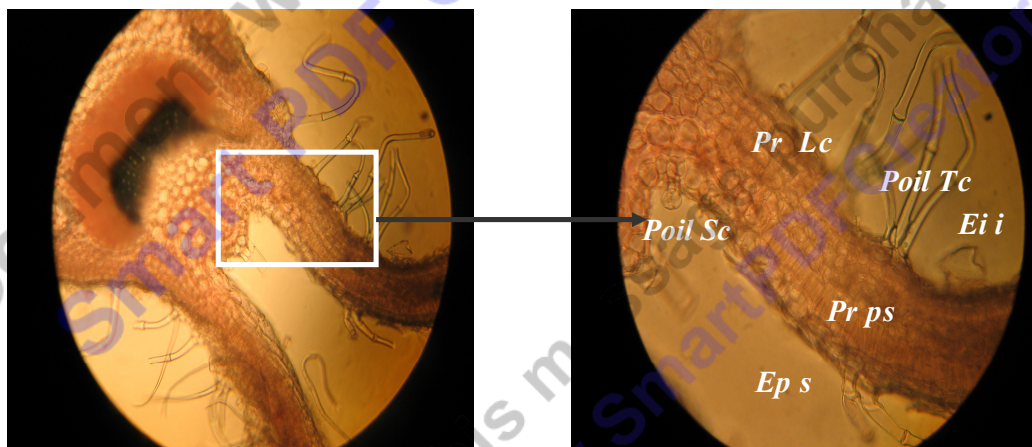


Figure 29 : Coupe transversale d'une feuille de Marrubium vulgare L (G x40). Détail du parenchyme palissadique.

A partir de l'observation des coupes transversales de la feuille de Marrubium vulgare L. (Figure 29) on note une grande richesse en poils tecteurs (poils Tc) dans les deux faces du limbe. Cependant, ces derniers sont plus condensés dans la face inférieure. Tandis que les poils sécréteurs (poils Sc) sont moins fréquents.

L'espèce végétale Marrubium vulgare L, comme toute plante dicotylédone et toute espèce de la famille de lamiacées, n'a présenté aucune structure anatomique spécifique à part la richesse des feuilles en poils tecteurs que sécréteurs.

Une similitude est complètement observée entre ces résultats est ceux obtenus par Genin (1981).

2. 3. Tests biochimiques préliminaires

Avant la recherche ou la mise en évidence des principes actifs de la plante, nous avons tout d'abord évalué la teneur en eau, la teneur en sels minéraux à partir du dosage des cendres.

2. 3. 1. Teneur en eau :

Les résultats de la teneur en eau de feuilles de l'espèce végétale Marrube blanc sont montrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 06 : Résultats de la teneur en eau dans les feuilles de Marrubium vulgare L.

<i>Teneur en eau</i>	<i>Poids d'eau (g)</i>	<i>Pourcentage d'eau (%)</i>
<i>Matière végétale</i>		
<i>Les feuilles fraîches</i>	66,5g	66,5 %

Le calcul de la teneur en eau nous indique la quantité de l'eau dans les feuilles de cette espèce végétale. Le chiffre enregistré dépasse les 50 % (66,5 %). Ce dernier traduit la richesse de la plante en eau.

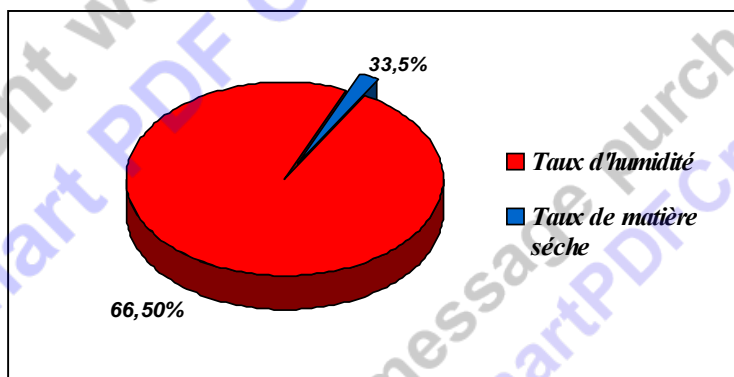


Figure 30 : Secteur représentant le taux d'humidité des feuilles de Marrubium vulgare L.

2. 3. 2. Dosage des cendres totales :

Tableau 07 : Résultats de taux d'humidité des feuilles de Marrubium vulgare L.

<i>Cendres totales</i>	<i>Poids des cendres (g)</i>	<i>Pourcentage des cendres (%)</i>
<i>Matière végétale</i>		
<i>Les feuilles sèche</i>	16,5 g	16,5 %

Si l'on se réfère aux normes de la pharmacopée européenne qui signalent que les plantes riches en sels minéraux renferment 3 à 6 %.on peut affirmer que l'espèce Marrubium vulgare L. est fortement riche en ces éléments (16,5 %).

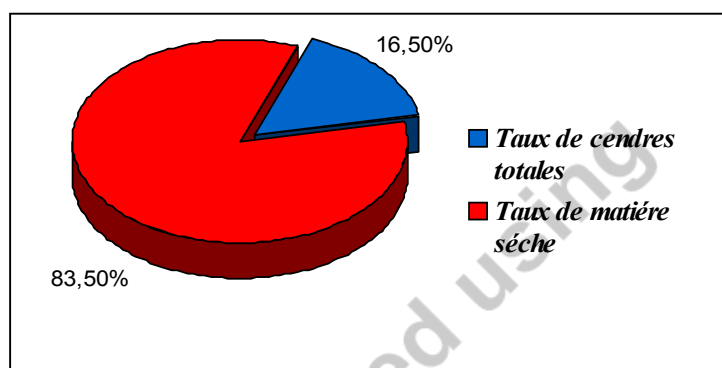


Figure 31 : Secteur représentant le taux de cendres totales des feuilles de Marrubium vulgare L.

2. 3. 3. Mise en évidence des principes actifs

Les résultats des tests biochimiques préliminaires réalisés à partir des feuilles de Marrubium vulgare L. sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 08 : Résultats des tests biochimiques préliminaires des feuilles de Marrubium vulgare L.

Principes actifs	Feuilles de Marrubium vulgare L.
Saponosides	(+)
Tanins Catéchiques	(+)
Tanins galliques	(-)
Anthocyanes	(+)
Leuco-anthocyanes	(-)
Flavonoïdes	(+)
Alcaloïdes	(-)
Terpènes et Stérols	(+)
Cardinolides	(-)

(+) détecté (-) non détecté

Le tableau 07 montre la composition globale de la feuille de Marrubium vulgare L. cette dernière renferme cinq composés du métabolisme secondaire qui sont les saponosides, les tanins catéchiques, les anthocyanes, les flavonoïdes, les terpènes et stérols. Les tests préliminaires réalisés ont montré également l'absence de quatre principes actifs dont l'importance en phytothérapie est non négligeable tels que, les alcaloïdes, les tanins galliques, les cardinolides et les leuco-anthocyanes.

2. 3. 4. 1. Résultats de la recherche des saponosides :



Figure 32 : Recherche des saponosides dans les feuilles de Marrubium vulgare L.

2. 3. 4. 2. Résultats de la recherche des tanins :



Figure 33 : Recherche des tanins dans les feuilles de Marrubium vulgare L.

2. 3. 4. 3. Résultats de la recherche des anthocyanes :



Figure 34 : Recherche des anthocyanes dans les feuilles de *Marrubium vulgare L*

2. 3. 4. 4 Résultat de la recherche des leuco-anthocyanes :



Figure 35 : Recherche des Leuco-anthocyanes dans les feuilles de *Marrubium vulgare L*.

2. 3. 4. 5 Résultat de la recherche des Flavonoïdes :



Figure 36 : Recherche des Flavonoïdes dans les feuilles de Marrubium vulgare L.

2. 3. 4. 6. Résultat de la recherche des Alcaloïdes :



Figure 37 : Recherche des Alcaloïdes dans les feuilles de Marrubium vulgare L.

2. 3. 4. 7 Résultat de la recherche des Terpènes et Stéroïls :



Figure 38 : Recherche des Terpènes et stéroïls dans les feuilles de Marrubium vulgare L.

2. 3. 4. 8. Résultat de la recherche des Cardinolides :



Figure 39 : Recherche des Cardinolides dans les feuilles de Marrubium vulgare L.

2. 4. Extraction, Séparation et identification des principes actifs :

2. 4. 1. Extraction et séparation des flavonoïdes :

L'extraction des flavonoïdes de feuilles de Marrube blanc nous a donné un rendement de l'ordre de 0,59g ce qui correspond à un pourcentage égale à 5,9 % (Tableau 9).

Tableau 9 : Rendement des flavonoïdes des feuilles de Marrubium vulgare L.

Echantillon de drogue (g)	Rendement (g)	Pourcentage du rendement (%)
10g	0,59g	5,90 %

2. 4. 1. 1. Résultats de DER

Le rendement obtenu à partir de l'extraction des flavonoïdes est de l'ordre de 0,59g dans un échantillon de 10g de drogue qui veut dire un rapport de DER de l'ordre de 10 : 0,59. Ce rapport signifie une teneur de 5,9 % en substances extractives dans le produit concerné.

La séparation par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) des flavonoïdes des feuilles de Marrube blanc est exprimée dans la figure suivante :



Figure 40 : Séparation par CCM des flavonoïdes extraits à partir des feuilles de Marrubium vulgare L.

L'analyse par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) nous a permis d'obtenir deux tâches de couleur brune. L'action du chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) sur les tâches obtenues nous révèle deux couleurs différentes jaune (pour la première tâche) et ocre (pour la deuxième tâche). Ces couleurs indiquent la présence des flavonoïdes. Les rapports frontaux calculés sont de l'ordre de 0,64 et 0,88 (Tableau 10).

Tableau 10 : Résultats des rapports frontaux des tâches obtenues pour les flavonoïdes des feuilles de *Marrubium vulgare* L.

<i>Tâches</i> \ <i>Rapport</i>	<i>Rapport Frontal (RF)</i>
<i>Tâche 1</i>	<i>0,64</i>
<i>Tâche 2</i>	<i>0,88</i>

Tableau 11 : Action du réactif de Chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) sur les tâches des flavonoïdes obtenus.

<i>Tâche</i> \ <i>Couleur</i>	<i>Avant ajout de $AlCl_3$</i>	<i>Après ajout de $AlCl_3$</i>
<i>Tâche 1</i>	<i>brune</i>	<i>jaune</i>
<i>Tâche 2</i>	<i>brune</i>	<i>ocre</i>

A partir de nos résultats obtenus, suite à l'extraction des flavonoïdes de *Marrubium vulgare* L., il ressort que les rapports frontaux obtenus sont comparables à ceux enregistrés par Solfo (1973) à partir des flavonoïdes extraits des feuilles de *Buxus madagascaria* bail.

Suite à la détermination par Chromatographie sur Couche Mince du nombre des différentes taches obtenues pour les Flavonoïdes, l'absence des produits étalons nous a empêché de passer à l'identification de la nature de ces taches.

2. 4. 2. Extraction et séparation des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles réalisée par entraînement à la vapeur d'eau a donné un rendement de l'ordre de traces qui correspond à un pourcentage de 0.016 %. Cette faible teneur en huile essentielle des feuilles de l'espèce *Marrubium vulgare* L. a été déjà signalé par de nombreux auteurs et notamment par Wichtl et Anton (2003) qui avancent un taux de rendement de moins de 0,1 %. Les valeurs enregistrées du rendement sont mentionnées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 12 : Rendement des huiles essentielles au niveau des feuilles de *Marrubium vulgare* L.

<i>Répétition</i>	<i>R 1</i>	<i>R 2</i>	<i>R 3</i>	<i>R 4</i>	<i>R 5</i>	<i>Moyenne (g)</i>	<i>Pourcentage (%)</i>
<i>Rendement (g)</i>	<i>0g</i>	<i>0,02g</i>	<i>0g</i>	<i>0,02g</i>	<i>0g</i>	<i>0,008g</i>	<i>0.016 %</i>

2. 4. 3. Extraction et séparation des tanins :

L'évaluation des tanins extraits par l'eau et l'alcool (éthanol) permis de calcul leur rendement. Le pourcentage est élevé (de l'ordre de 11,44 %) par rapport à celui travaux réalisés sur d'autres espèces végétales. La plante du marrube renferme en plus des flavonoides et des traces d'huiles essentielles des quantités assez importantes de tanins.

Tableau 13 : Rendement des tanins au niveau des feuilles de *Marrubium vulgare L.*

Echantillon de drogue (g)	Rendement (g)	Pourcentage du rendement (%)
50g	5,72g	11,44 %

2. 4. 3. 1. Résultats de DER

Le rendement obtenu à partir de l'extraction des flavonoides est de l'ordre de 5,72g dans un échantillon de 50g de drogue qui veut dire un rapport de DER de l'ordre de 50 : 5,72. Ce rapport signifie une teneur de 11,44 % en substances extractives dans le produit concerné.

La séparation par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) des flavonoides des feuilles de Marrube blanc est démontrée dans la figure suivante :



Figure 41 : Séparation par CCM des tanins extraits à partir des feuilles de *Marrubium vulgare L.*

Les tâches obtenues par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) sont au nombre de 4 avec des Rapports Frontaux compris entre 0,47 et 0,88, toutes de couleur brune. L'ajout du réactif de chlorure d'Aluminium $AlCl_3$ a donné une modification de la couleur des tâches. Les couleurs ont viré du brun au jaune pâle, jaune et verte (tableau 15). Ces différentes couleurs obtenues confirment la nature de l'extrait et la présence des tanins.

Tableau 14 : Rapports frontaux des tâches obtenues des feuilles de *Marrubium vulgare L.*

Rapport	
Tâches	Rapport Frontale (RF)
Tâche 1	0,47
Tâche 2	0,70
Tâche 3	0,80
Tâche 4	0,88

Tableau 15 : Action du réactif de Chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) sur les tâches des tanins obtenus.

Couleur		
Tâches	Avant ajout de $AlCl_3$	Après ajout de $AlCl_3$
Tâche 1	Brune	jaune pale
Tâche 2	Brune	jaune
Tâche 3	Brune	verte
Tâche 4	Brune	verte

Suite à la détermination par Chromatographie sur Couche Mince du nombre des différentes tâches obtenues pour les tanins, l'absence des produits étalons nous a empêché de passer à l'identification des molécules taniques isolées.

2. 5. Activité bactéricide :

Les tests de l'effet bactéricide montrent qu'il y a une grande hétérogénéité dans les résultats. L'importance de l'inhibition de la croissance bactérienne varie en fonction de l'espèce considérée, la nature et la concentration du produit testé et du milieu de culture.

Les résultats des différents tests réalisés pour les neuf souches bactériennes utilisées vis-à-vis des produits extraits (Flavonoïdes et Tanins) sur les deux milieux de cultures (MH et Sabouraud) sont regroupés dans les tableaux n° 16 et 17.

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

Tableau 16 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la croissance des souches bactériennes sur milieu MH.

<i>Souches</i> <i>Produits</i>	Enterrobacteriacée 1520	E.Coli.12	Psoeudomonas 7244	Proteus 22M	Pseudomonas ATCC 27853	E.Coli ATCC 25922	E.Coli 1429	Staphylococcus aureus	E.Coli 1554
<i>Flv</i>	38	38	4	32	30	22	34	0	40
<i>Flv ½</i>	34	14	12	36	34	12	40	12	38
<i>Flv ¼</i>	32	10	6	38	40	12	32	14	38
<i>Tan</i>	34	4	4	32	30	22	26	14	30
<i>Tan ½</i>	28	12	8	34	28	14	26	8	26
<i>Tan ¼</i>	28	16	8	28	40	4	28	10	30
<i>Eau</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Antibiotique</i>	38	0	0	42	42	12	42	12	54

91

Tableau 17 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la croissance des souches bactériennes sur milieu Sabouraud.

<i>Souches</i> <i>Produits</i>	Enterrobacteriacée 1520	E.Coli.12	Psoeudomonas 7244	Proteus 22M	Pseudomonas ATCC 27853	E.Coli ATCC 25922	E.Coli 1429	Staphylococcus aureus	E.Coli 1554
<i>Flv</i>	38	38	38	38	34	0	34	0	0
<i>Flv ½</i>	38	6	8	38	40	2	40	4	2
<i>Flv ¼</i>	38	4	8	34	42	6	42	6	4
<i>Tan</i>	28	10	10	28	34	8	30	2	4
<i>Tan ½</i>	26	11	12	28	24	10	24	12	4
<i>Tan ¼</i>	32	11	16	30	28	8	38	12	6
<i>Eau</i>	38	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Antibiotique</i>	54	0	8	42	52	8	26	44	44

Ré

2. 5. 1. Les Flavonoides :

Il y a une grande hétérogénéité dans les résultats, l'effet bactéricide est plus ou moins important selon la nature de la souche. D'une manière globale les flavonoides semblent être efficaces vis-à-vis des souches testées. La souche d'Entérobacteriacées 1520 est fortement inhibée aux trois concentrations dans les deux milieux Mueller-Hinton (MH) et Sabouraud. Les zones d'inhibition sont comprises entre 38 et 32 mm et sont presque similaires à celles de l'antibiotique Rifampicine sur milieu MH 38 mm cependant, sur milieu Sabouraud, cet antibiotique paraît provoquer une activité bactérienne plus puissante 54 mm.

En ce qui concerne la souche d'Escherichia coli 12 cultivée sur milieu MH, elle s'est révélée plus résistante aux deux dilutions $\frac{1}{2}$ et $\frac{1}{4}$ avec 14 et 10 mm contre 38 mm en présence des flavonoides purs. La même réaction de cette souche est notée sur milieu Sabouraud avec 38 mm pour les flavonoides purs, 6 et 4 mm pour les deux autres dilutions. Ces chiffres sont dans tous les cas meilleurs que ceux obtenus avec la rifampicine 0 mm.

Le Pseudomonas 7244, fortement résistant à l'antibiotique Rifampicine 0 mm sur milieu MH, montre au contraire une légère sensibilité à ces flavonoides avec une meilleure inhibition 12mm provoquée par les flavonoides dilués au $\frac{1}{2}$. Cette sensibilité est plus accentuée sur milieu Sabouraud et notamment avec la solution mère 38 mm.

Pour ce qui est du Proteus 22M, il est très affecté aussi bien par l'antibiotique 42 mm que par les solutions des flavonoides et ce dans les deux milieux de culture avec des zones d'inhibition plus importantes avec les flavonoides dilués au $\frac{1}{4}$ pour MH et les flavonoides purs ainsi que les flavonoides dilués au $\frac{1}{2}$ 38 mm sur Sabouraud.

La souche Pseudomonas ATCC 27853 est moins résistante que la souche précédente Pseudomonas 7244 puisqu'on note des diamètres d'inhibition entre 30 et 40 mm sur MH et 34 et 42 mm sur milieu Sabouraud. L'intensité de l'activité bactéricide des flavonoides sur MH est presque du même degré que celle de l'antibiotique.

L'espèce Escherichia Coli 1429 est très affectée face à ces flavonoides à toutes les concentrations utilisées. Les halos enregistrés varient entre 32 et 40 mm sur milieu MH et entre 34 et 42 mm sur milieu Sabouraud. Dans ce cas aussi, la puissance de l'activité bactéricide est presque similaire que celle de la rifampicine.

Quant à Escherichia Coli ATCC 25922, elle semble plus résistante que les autres souches d'Escherichia Coli. Les zones d'inhibition ne dépassent les 22 mm sur milieu MH et 6 mm sur milieu Sabouraud. Cette résistance est notée également avec la rifampicine avec respectivement 12 et 8 mm sur milieu MH et Sabouraud.

La souche de Staphylococcus aureus est révélée très résistante aux flavonoides purs (aucune inhibition), les autres dilutions provoquent des halos qui varient entre 12 et 14 mm sur MH et 4 et 6 mm sur milieu Sabouraud. L'activité bactéricide de l'antibiotique est quasiment du même degré sur milieu MH. Cependant, elle est de loin plus puissante sur milieu Sabouraud.

L'effet des flavonoides ainsi que celui de la Rifampicine semblent plus prononcés face à Escherichia Coli 1554 cultivée sur milieu MH. Cette souche préfère le milieu Sabouraud puisqu'on note un bon développement par rapport à celui du milieu MH. Toutefois, elle reste toujours sensible à l'effet de la rifampicine.

2. 5. 2. Tanins :

D'une manière globale, les tanins paraissent légèrement moins efficaces que les flavonoïdes et ceci, à toutes les concentrations utilisées. La moyenne des zones d'inhibition est inférieure à celle obtenue avec les flavonoïdes.

La résistance varie avec la nature de la souche. Une meilleure résistance est enregistrée pour les quatre espèces bactériennes ; Staphylococcus aureus, Escherichia Coli ATCC 25922, Pseudomonas 7244 et Escherichia Coli 12. Les tanins arrivent tout de même à limiter leur développement sur des étendues variant sur milieu MH entre 4 et 8 mm pour Pseudomonas 7244 et 4 et 16 mm pour Escherichia Coli 12. 10 et 16 mm pour Pseudomonas 7244 et 10 et 11 mm pour Escherichia Coli 12 sur milieu Sabouraud. Cet effet est souvent plus accru que celui enregistré en présence de l'antibiotique.

Le Staphylococcus aureus, bien qu'il soit considéré comme parmi toutes les autres espèces bactériennes le plus résistant à la plupart des antibiotiques s'est montré sensible à l'effet de la rifampicine lorsqu'il est cultivé sur milieu Sabouraud 44 mm. Paradoxalement il a montré une sensibilité non négligeable vis-à-vis de ces principes actifs, les tanins, puisqu'on enregistre des zones d'inhibition qui arrivent à atteindre les 14 mm.

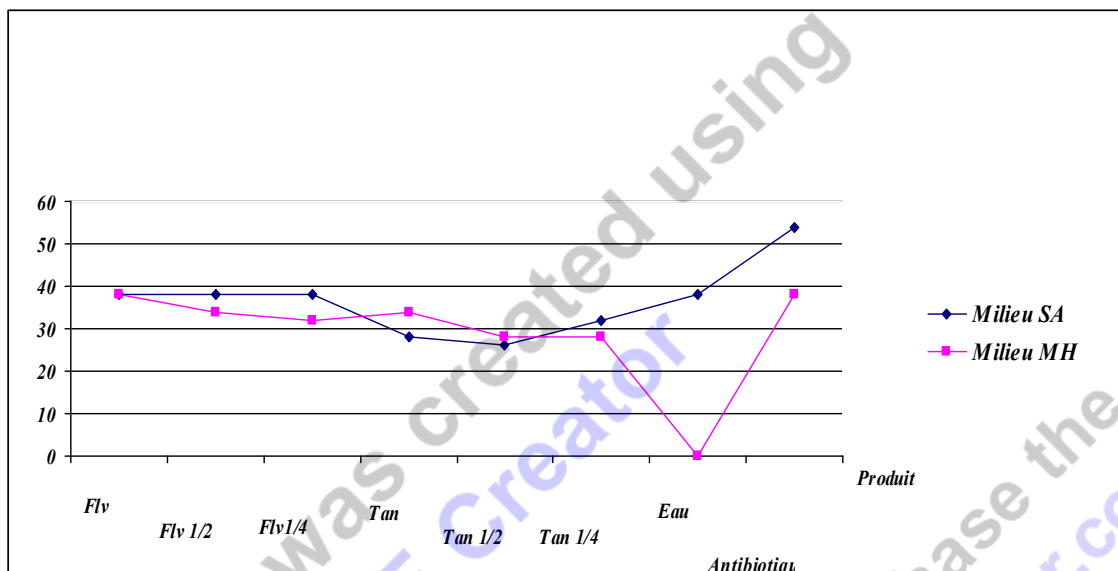


Figure 42 : Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance d'E.Coli.12 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.

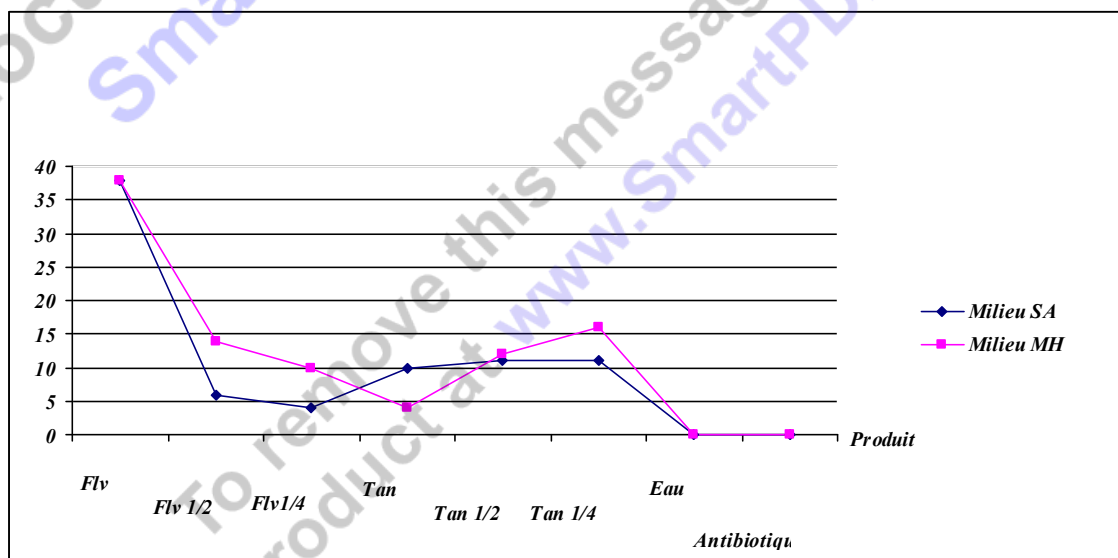


Figure 43 : Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance d'E.Coli.12 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.

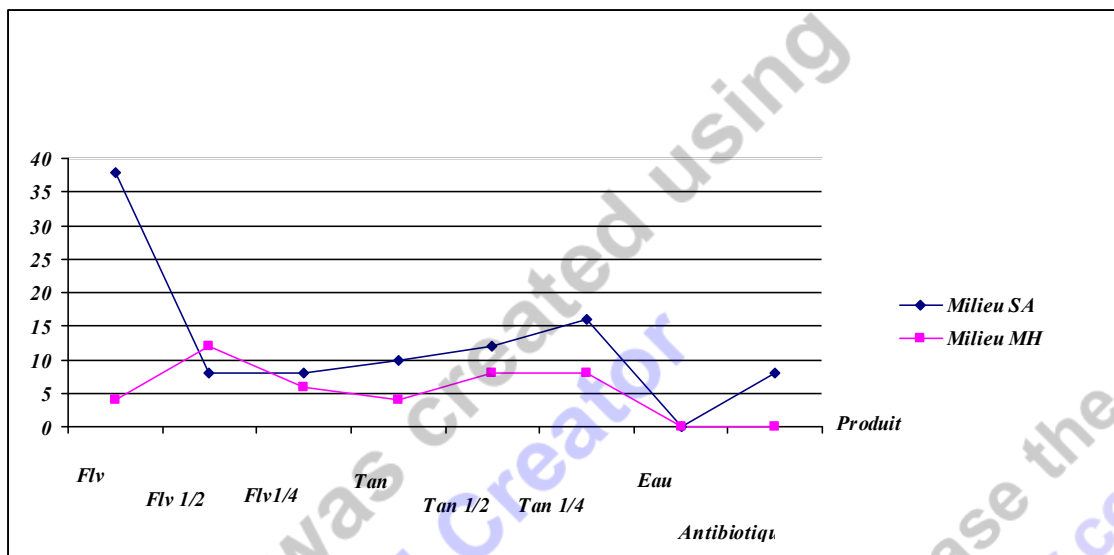


Figure 44 : Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de Pseudomonas 7244 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.

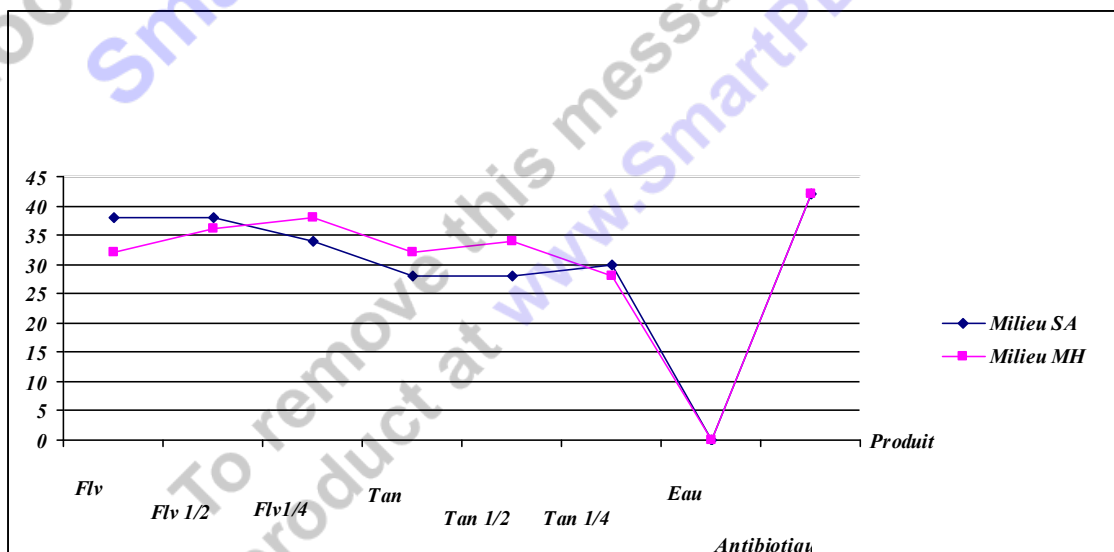


Figure 45 : Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de Proteus 22M vis-à-vis des produits testés sur deux milieux.

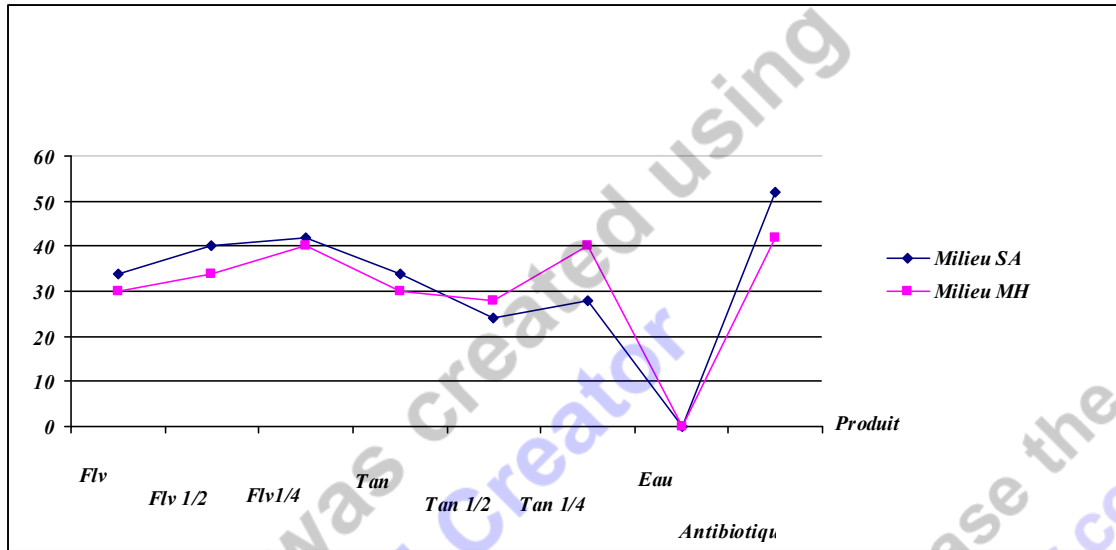


Figure 46 : Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de Pseudomonas ATCC 27853 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.

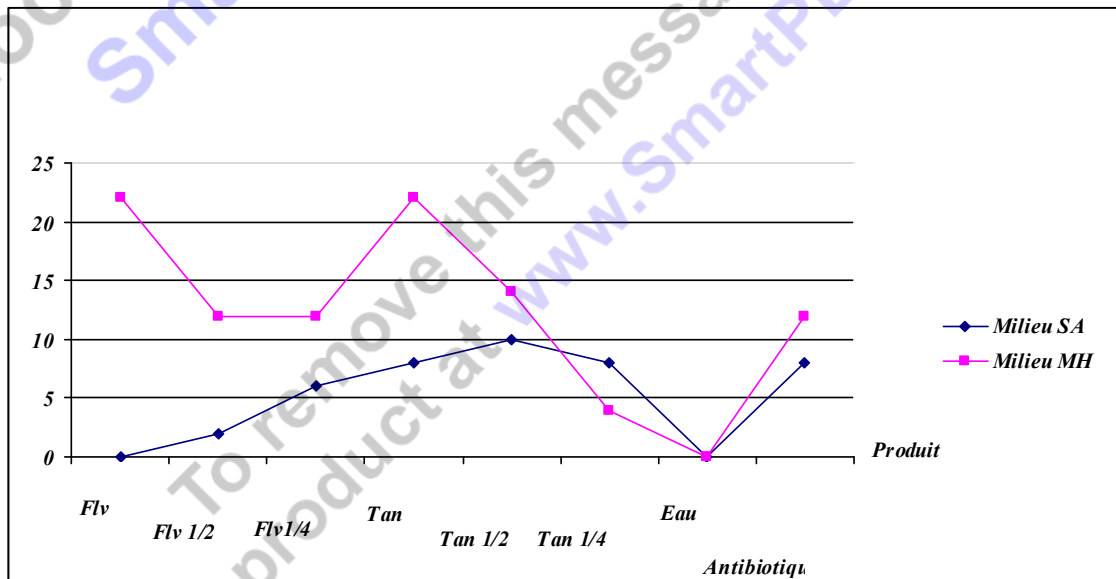


Figure 47 : Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance d'E.Coli ATCC 25922 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.

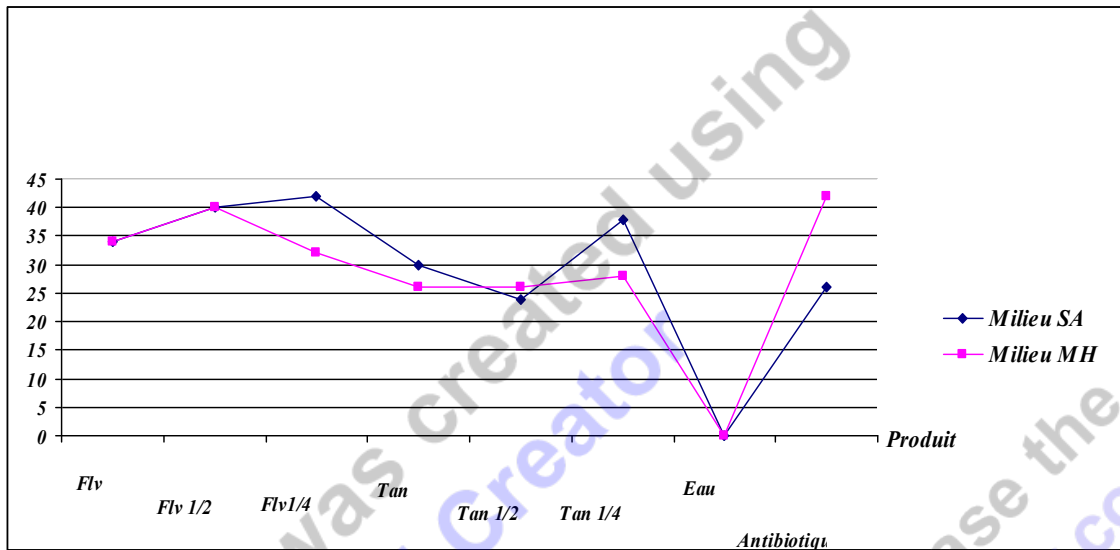


Figure 48 : Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance d'E.Coli 1429 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.

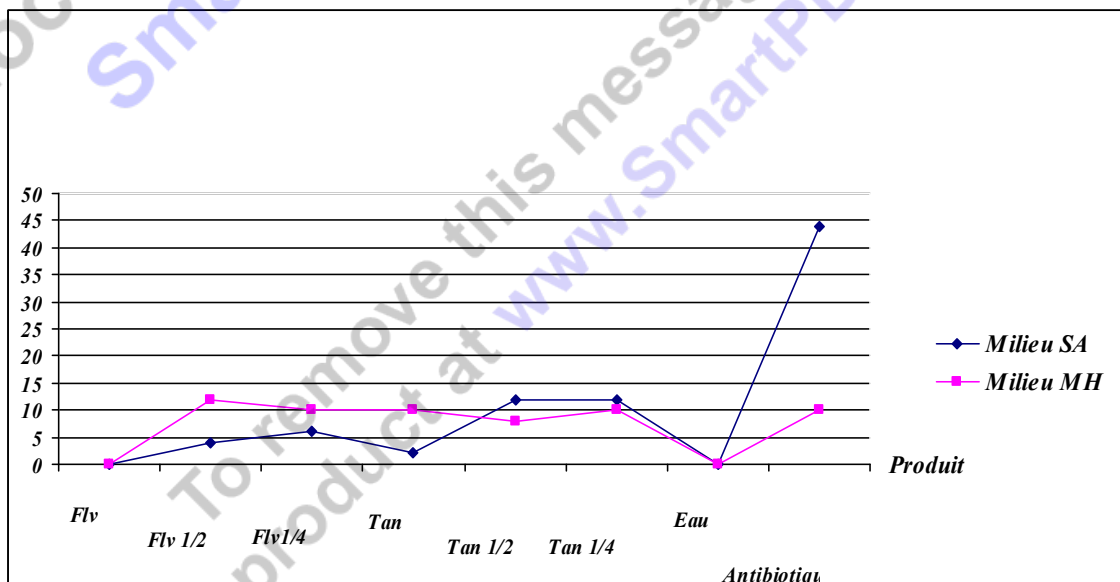


Figure 49 : Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de Staphylococcus aureus vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.

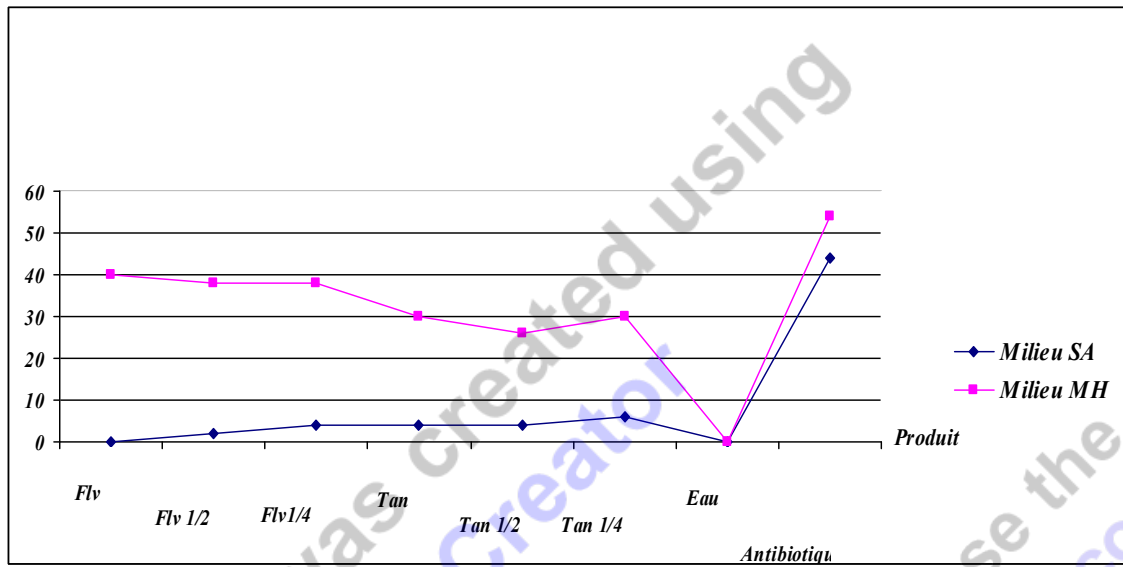
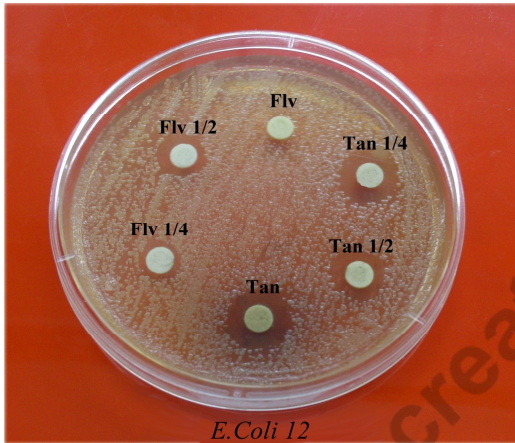


Figure 50 : Variation du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance d'E.Coli 1554 vis-à-vis des produits testés sur les deux milieux.

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

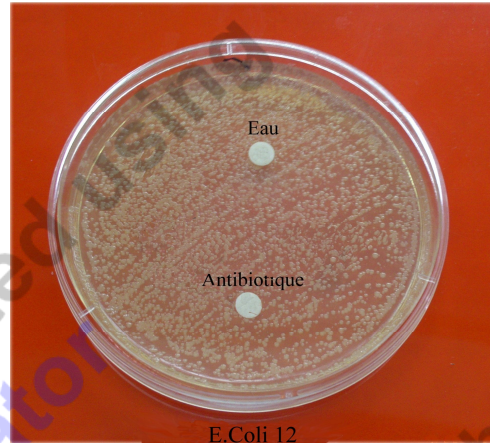
PRODUITS TESTES

BOITE TEMOIN



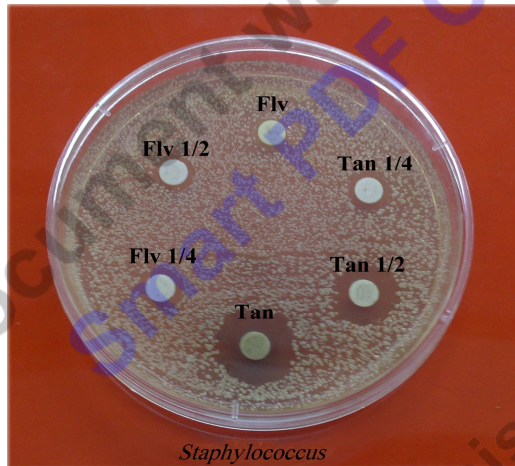
E.Coli 12

E.Coli 12



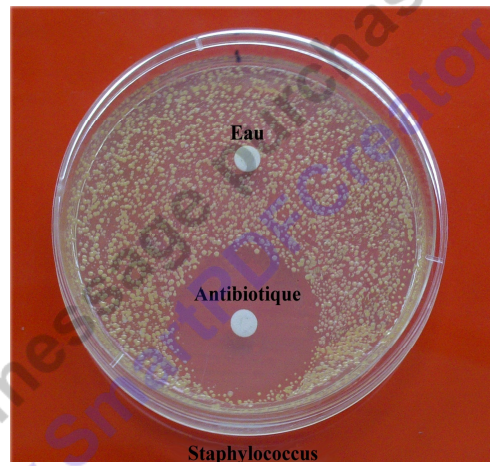
E.Coli 12

E.Coli 12



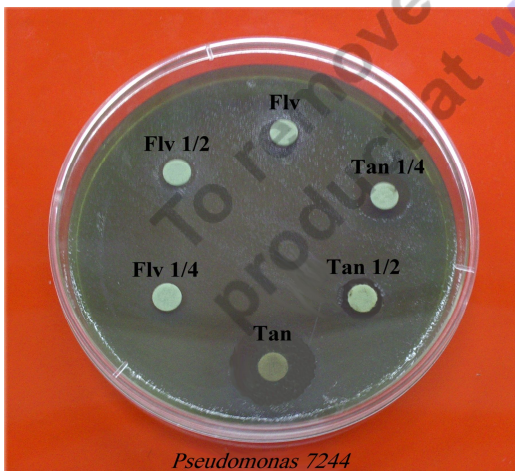
Staphylococcus

Staphylococcus aureus



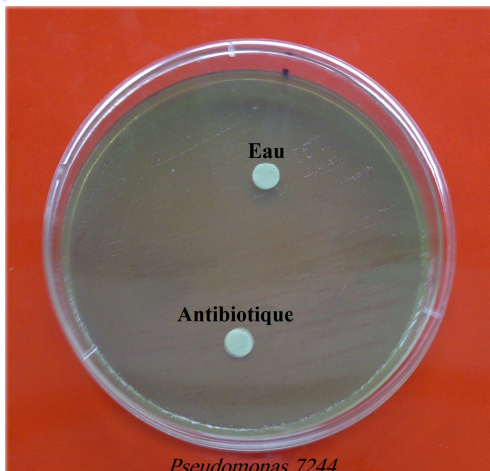
Staphylococcus

Staphylococcus aureus



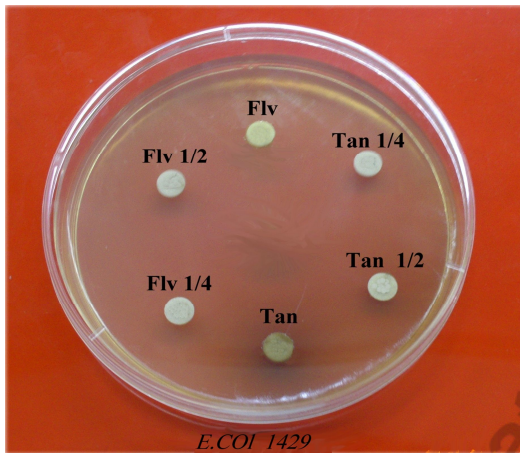
Pseudomonas 7244

Pseudomonas 7244



Pseudomonas 7244

Pseudomonas 7244



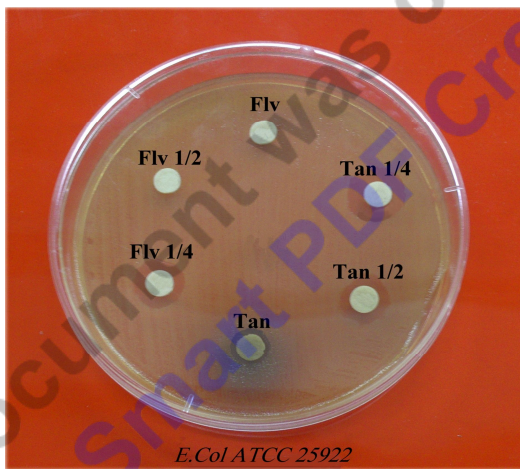
E. Coli 1429

E.Coli 1429



E. Coli 1429

E.Coli 1429



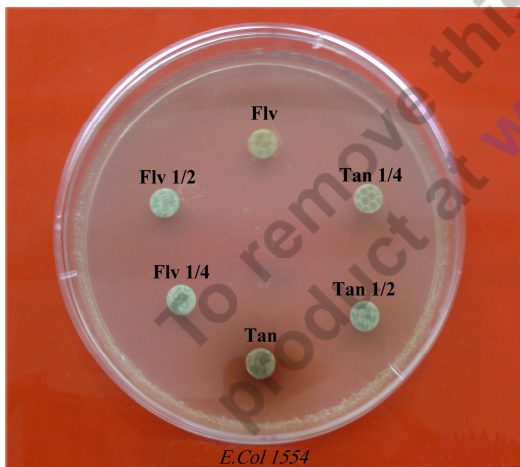
E. Col ATCC 25922

E.Coli ATCC 25922



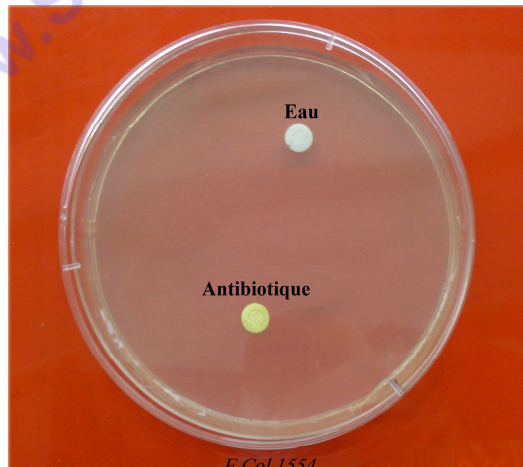
E. Col ATCC 25922

E.Coli ATCC 25922



E. Col 1554

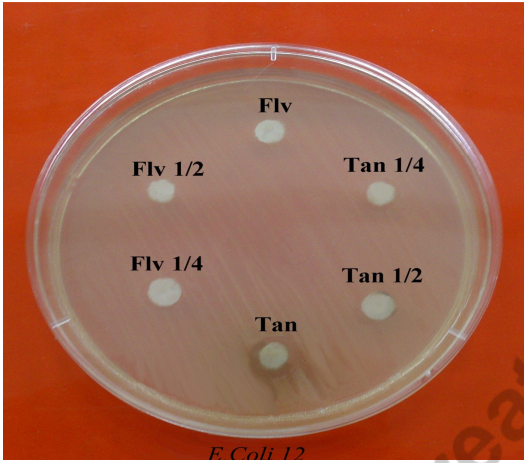
E.Coli 1554



E. Col 1554

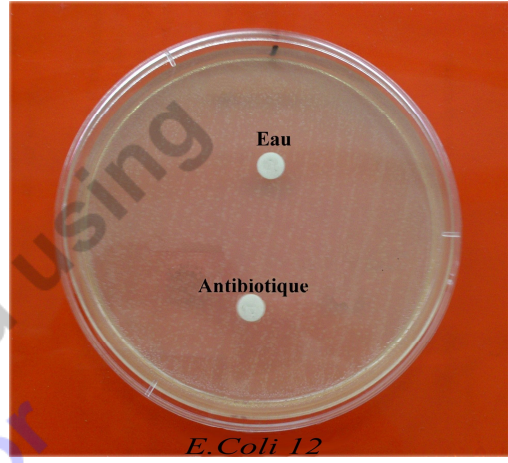
E.Coli 1554

Figure 51 : Résultats de l'activité bactéricide sur milieu MH des feuilles de Marrubium vulgare L.



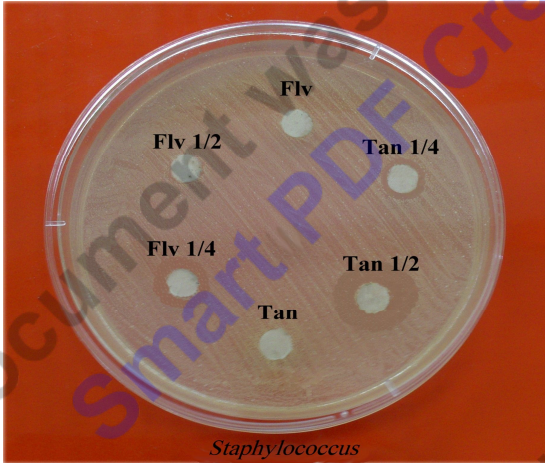
E. coli 12

E. coli 12



E. coli 12

E. coli 12



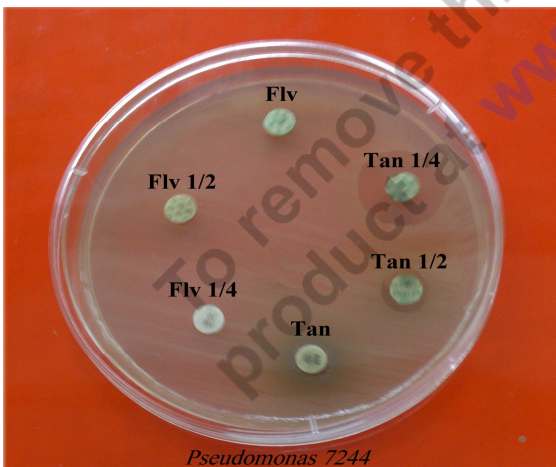
Staphylococcus

Staphylococcus aureus



Staphylococcus

Staphylococcus aureus



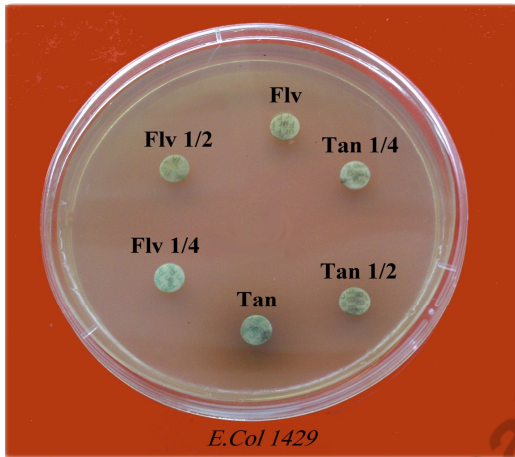
Pseudomonas 7244

Pseudomonas 7244

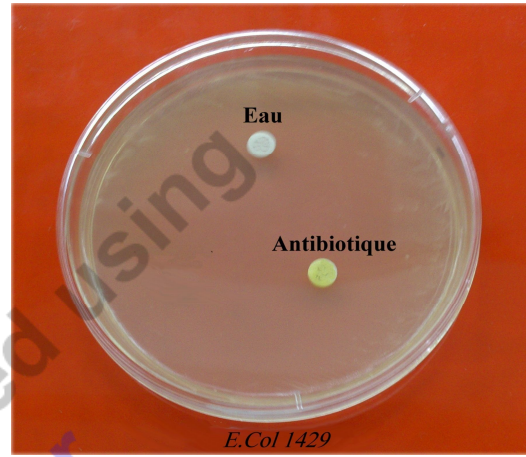


Pseudomonas 7244

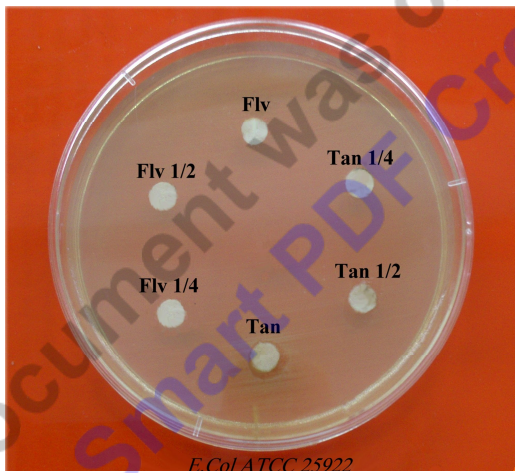
Pseudomonas 7244



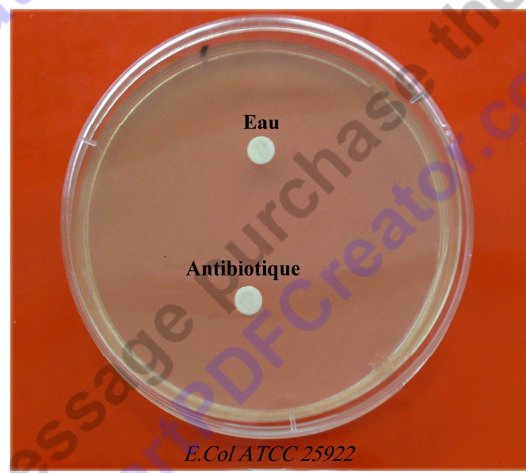
E.Coli 1429



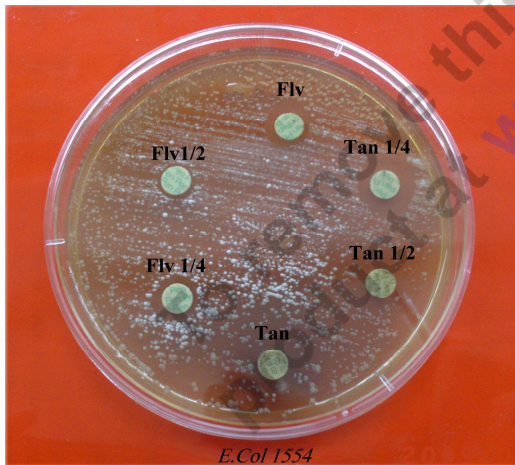
E.Coli 1429



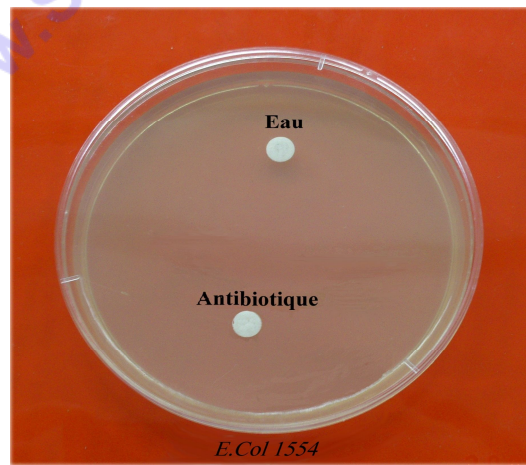
E.Coli ATCC 25922



E.Coli ATCC 25922



E.Coli 1554



E.Coli 1554

Figure 52 : Résultats de l'activité bactéricide sur milieu Sabouraud des feuilles de *Marrubium vulgare L.*

Les extraits flavonoïques et les tanins de Marrubium vulgare L. Ont une activité antimicrobienne satisfaisante envers la majorité des souches étudiées. Cependant, l'effet bactéricides des flavonoïdes est plus accentué que celui des tanins sur les deux milieux MH et Sabouraud.

Les souches E.Coli 1429, Pseudomonas ATCC 27853, Proteus 22M, et Enterobacteriaceae 1520 sont les plus sensibles lorsqu'elles sont mises à l'action de ses substances actives sur Sabouraud et MH. La souche E.Coli 1554 par contre est plus résistante sur milieu Sabouraud que sur MH. Parmi les neuf souches testées, seule le staphylocoque a fait à preuve d'une grande performance du point de vue résistance face à tous les produits et toutes les concentrations testées.

Les résultats retrouvés confirment une fois de plus l'efficacité des extraits des plantes médicinales et leur pouvoir antiseptique qui vient rivaliser celui des antibiotiques. De nombreux travaux soulignent cet effet bactériostatique et bactéricides des principes actifs naturels. En effet, dans un article publié par le New York Time signale que la molécule de Thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et notamment sur E.Coli et Staphylococcus aureus sur lesquelles provoque des fuites d'ions Potassium, par contre elle n'est pas active sur Pseudomonas aeruginosa.

De même, selon Dorman (2000), les composants de structure phénolique comme le Carvacrol, Eugénol et Thymol sont fortement actifs contre les microorganismes et agissent comme des agents dénaturants les protéines. Une autre investigation réalisée par Ohno (2003) sur l'activité des huiles essentielles et extraits de plantes d'Origan et de Laurier signale un pouvoir inhibiteur sur les bactéries Gram (+) et Gram (-), entre autre l'inhibition du développement du Pseudomonas aeruginosa et E.Coli.

Nous pouvons citer encore le travail de Ezzaoui (2007) concernant les germes nosocomiaux des infections hospitalisées, l'auteur a évoqué l'efficacité d'une trentaine d'huiles essentielles réputées pour leur activité antimicrobienne sur les souches bactériennes tel que : Pseudomonas et Staphylocoques. Les résultats ont montré également que les germes étudiés ce sont montrés beaucoup plus sensibles aux huiles essentielles en milieu non nutritif qu'en milieu nutritif. La mise en point préparations pharmaceutiques à partir de ces huiles essentielles pour traitement local ont montré une énnocuité et une efficacité très satisfaisante contre les infections nosocomiales.

La résistance du germe Staphylococcus aureus que nous avons enregistré lors de notre étude est en parfaite concordance avec les recherches publiées par Inouye et al (2001). Réalisées sur des huiles essentielles extraites du Thym, d'Ecorce du Cannelle et de Menthe poivrée, qui ont prouvé leur pouvoir inhibiteur par rapport aux Staphylococcus pérogènes, Haemophilus influenzae, alors qu'elles sont moins efficaces.

Selon une autre étude concernant E.Coli entreprise par Burt (2003) des huiles essentielles de Clou de girofle et d'Origan misent en contact simultanément avec celles de deux composants, le Thymol et l'Euginol, ont été capables d'induire une lyse cellulaire de la bactérie. La lyse des bactéries a été montrée par la libération des substances absorbant à 260 nm. Cette inhibition de développement d'E.Coli provoquée par ces huiles essentielles est similaire à celle enregistrée par notre espèce Marrubium vulgare L.

Une réaction contraire de la souche de Staphylococcus aureus a été évoquée par Inouye et al (2001) à partir d'une expérience sur des souris contaminées par le Staphylococcus aureus et ont reçu de l'huile essentielle d'origan, ont survécu à l'infection par contre, les souris n'ayant

reçu aucun traitement sont mortes en trois jours. Par contre, parmi les souris traitées à l'antibiotique Vancomycine, 2/3 seulement ont survécu.

La puissance bactéricide des principes actifs végétaux est liée à leur composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcool, phénol, composés terpéniques et cétoniques) et leurs effets synergiques. La principale cible de ces composés est la membrane bactérienne des germes. L'activité biologique des substances naturelles entraînant une fuite de potassium est la toute première preuve de l'existence de lésions irréversibles au niveau de la membrane. Le Thymol et le Carvacrol, composés actifs d'huiles essentielles, rendent perméable la membrane des bactéries qui est un effet précurseur de leur mort (Rayour, 2003).

En fin l'antibiotique qui a fait l'objet de notre étude la rifampicine à 5µg a donné des résultats satisfaisants sur la majorité des souches étudiées et particulièrement sur la souche de Pseudomonas ATCC 27853 réputée pour sa multirésistance (42 mm de diamètre sur MH et 52 mm sur Sabouraud). Ce résultat auquel nous avons abouti a été également mentionné dans les travaux de Djabou (2006) où rifampicine utilisée cette fois-ci à 30µg a entraîné un effet inhibiteur considérable de la majeure partie des espèces bactériennes expérimentées.

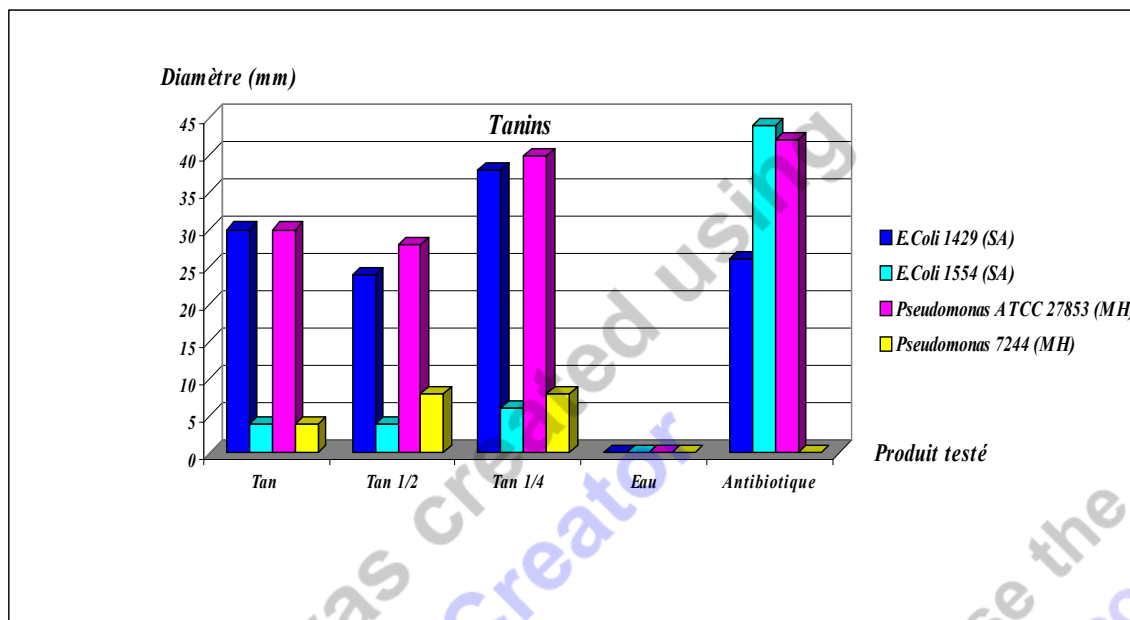


Figure 53 : Histogrammes représentant les souches les plus sensibles et les plus résistantes vis-à-vis des tanins.

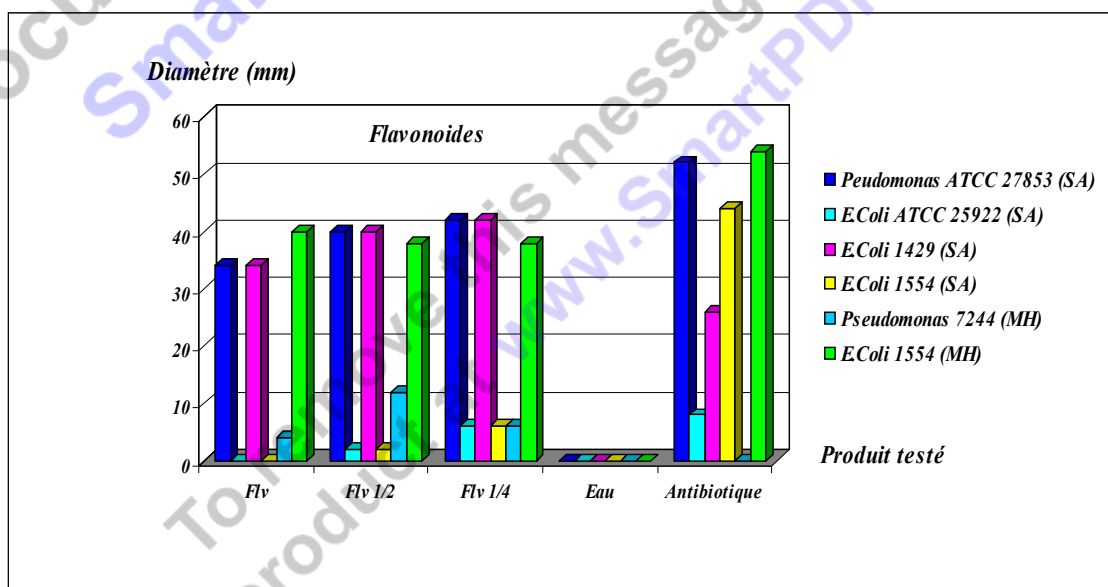


Figure 54 : Histogrammes représentant les souches les plus sensibles et les plus résistantes vis-à-vis des flavonoïdes

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail, il serait intéressant de présenter les principaux résultats obtenus :

*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 *Marrubium vulgare L.*, c'est un sol alcalin, riche en matière organique et en calcaire. Les coupes histologiques réalisées au niveau des organes végétatifs n'ont montré aucune spécificité anatomique par la richesse des feuilles en poils tecteurs que sécrèteurs.*

Les tests biochimiques préliminaires des feuilles de cette espèce ont mis en évidence la présence de cinq principes actifs du métabolisme secondaire tels que : les Saponosides, Tanins catéchiques, Anthocyanes, Flavonoïdes et Terpènes et stérols et l'absence des Alcaloïdes, Cardinolides et Leuco-anthocyanes.

L'extraction par hydrodistillation pour les huiles essentielles et par des solvants organiques pour les flavonoïdes et les tanins a donné un rendement d'huiles essentielles de l'ordre de 0.016 %, 5,90 % pour les flavonoïdes et de 11,44 % pour les tanins.

L'analyse par Chromatographie sur Couche Mince CCM des deux extraits flavonoïque et tannique isolés a révélé la présence de deux composés flavonoïques de couleurs jaune et ocre et de rapports frontaux de l'ordre de 0,64 et 0,88. Pour les tanins la CCM a révélé la présence de quatre composés tanniques de couleurs jaune pâle et jaune dont les rapports frontaux sont de l'ordre de 0,47, 0,70, 0,80 et 0,88.

De l'activité bactéricide évaluée par les tests in vitro, il ressort que les flavonoïdes et les tanins possèdent un pouvoir bactéricide important sur les germes multirésistants responsables des maladies infectieuses. L'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce bactérienne, de la nature et de la concentration du produit testé et aussi du milieu de culture.

D'une manière globale, les flavonoïdes semblent plus efficaces que les tanins à toutes les concentrations utilisées. De toutes souches testées, cinq d'entre elles ce sont montrées très sensibles vis-à-vis de ces principes actifs. Les zones d'inhibition enregistrées dépassent le plus souvent celles provoquées par l'antibiotique, la rifampicine. Les cinq souches concernées sont : E.Coli.12, E.Coli ATCC 25922, Staphylococcus, E.Coli 1429 et Pseudomonas 7244.

*Ces résultats confirment que les extraits du *Marrubium vulgare L.* pourraient bien rivaliser les produits chimiques synthétiques, les antibiotiques utilisés dans les traitements infectieuses nosocomiales voire même les autres infections respiratoires, urinaires et génitales.*

Ces tests bactéricides apportent une validation scientifique de l'usage traditionnel massif par les populations de cette espèce.

Nos perspectives pour l'avenir :

- 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 sur des cas pathologiques.*

- Il serait également intéressant d'extraire les autres principes actifs de la plante tels que les saponosides et les anthocyanes 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

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

This document was created using
Smart PDF Creator

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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 .O.P.U. Alger. pp. 6-7.

Bentouili M^{ed} Y.2007. Inventaire et qualité des sources du P.N.E.K. Nord est algérien. Mémoire de magistère Département de Géologie, Université d'Annaba, Algérie.

Bonneau M. et Souchier B. 1994. Pédologie : Constituants et Propriétés du sol. Tome II. 2^e Ed., Masson, Paris, pp.531-649.

Bouquet A. 1972. Plantes Médicinales du Congo Brazzaville. Ed., O.R.S.T.O.M.

Boureton H. & Ridayre B. 1977. Votre santé par les plantes. Ed. Gérard & C^o. Belgique. Pp. 5-12.

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie : Phytochimie. Plantes Médicinales. 3^{ème} Ed., TEC & DOC., Paris, pp.239-510.

Bruneton J. 2001. Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2^{ème} Ed., TEC&DOC. Paris, p337.

Burt S.A., 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against Escherichia Coli 0157: leu. Appl. Microbiol, 36 (3). pp. 162-167.

Cecchini T.2003. Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Vecchisa. Paris. p. 351.

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

Dahou N., Yamki K., Tahrouch S., Idrissi-Hassini L.M. et Gmira N. 2003. Screening phytochimique d'une endémique Ibéro Marocaine Thymelaea lythroides. Ed., Bull.Soc.Pharm., Bordeaux.

Djabou N., 2006. Sambucus Nigra L. une plante de la pharmacopée traditionnelle Nord africaine. Mémoire de magistère en chimie. Université de Tlemcen, Algérie.

Dorman H. J. D., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil. Journal of applied microbiology, 88. pp. 308-316.

Duraffourd L. 1987. Traité de phytothérapie clinique. Ed. Masson. Paris.

Ezzoui S., 2007. Action bactéricide de huiles essentielles sur des bactéries multiresistantes responsables des infections nosocomiales. Thèse de doctorat national. Université Mohamed V-Agdal- Faculté des sciences. Rabat. Maroc.

Fernandez, M., 2003, De Quelques plantes dites médicinales et de leurs fonctions, Editions Aenigma, p.09.

Ganescu I., Bratulescu G., Lilea B., Ganescu A & Barbu A. 2002. Anions complexes du chrome en analyse et le contrôle des médicaments. détermination de la rifampicine. 49, pp.339-340.

Genin A. 1981. *La botanique végétale à l'horticulture*. Ed., J-B.BAILLIERE, Paris. pp.102-114.

Guignard J.L. et Dupont F. 2004. *Botanique : Systématique moléculaire*. 13^{ème} Ed., Masson. Paris. pp.234-237.

Guignard J.L., Cosson L. et Henry M. 1985. *Abrégé de Phytochimie*. Ed., Masson, Paris, pp.160-163.

Grund J. 1986. *Plantes médicinales*. Ed. La nature à livre ouvert. P.319.

Hauard F. 1988. *Abrégé de phytothérapie*. Ed, Masson, Paris, pp. 4-151.

Inouye, F., Yamaguchi, H., Tahizawa, T. 2001. *Screening of the antibacterial effect of variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using modified dilution assay method, Infect. Chemother.*, 7 (4) .pp. 251-254.

Iserin P. 1997. *Encyclopédies des plantes médicinales identification, préparation, soins*. Ed. Larousse-bordas. pp. 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. pp.369-384.

Lacoste S. 2006. *Les plantes qui guérissent*. Ed. LEDUC.S. Paris. pp.13-21.

Larousse, 2001, *Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparations, soins*, p. 28-31

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

Meyer S., Reeb C& Bosdeveix R.2004. *Botanique biologie et physiologie végétale*. Ed., Maloine. Paris, p. XLII.

Nasri H. 2001. *Etude de la dynamique spatio-temporelle et des paramètres de croissance des cyanoprocaryotes toxiques dans un milieu d'eau douce : cas du barrage de Cheffia*. Université d'Annaba, Algérie.

Onho T., 2003. *Antimicrobial activity of essential oil against Helicobacter pylori, Helicobacter*, 8 (3). pp. 207-215.

Ozenda P. 2004. *Flore et végétation des sahara*. 3^{ème} Ed., CNRS édition, Paris. pp.399-402.

Paris M. & Hurabielle M. 1980. *Abrégé de matière médicale Pharmacognosie. Tome 1* Ed. Masson Paris.

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

Paris R.R. et Moysse H. 1976. *Matière Médicale. Tome I*. 2^e Ed., Masson, Paris. pp. 406.

Pelt J.M. 2008. Plantes Médicinales Tradition et thérapeutique. Ed., Quest-France, France, pp.70-71.

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

Pharmacopée Européenne 5ème Edition, 2005. pp. 2747.

Prescott L.M., Harley J.P et Klein D.A. 2003. Microbiologie. 2^{me} Ed., de boeck, Paris, pp.806-809.

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.801-802.

Rahal K ., Boulini & Benslimani A. 2005. Standarisation de l'antibiogramme en médecine humaine selon les recommandations de l'O.M.S.4^e Ed.

Raynaud J. 2007. Prescription et conseil en phytothérapie. Ed. Tec & Doc. Paris. p149.

Rayour. 2003. Mechanism of bactericidal action of Oregan and cloué essential oils and their phenolic major components in Escherichia Coli and Bacilus subtilis, the journal of essential oils.

Richter G. 1993. Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie. Ed., TEC & DOC, paris, p. 300.

Roth I. & Lindorf H. 2002. South American Medicinal Plants. Ed. Springer. pp. 14-20.

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

Small E. Catling P.M. 2000. Les cultures médicinales canadiennes. Ed. CNRC-NRC. p.2.

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

Sowunmi S., Ebewele RO., Peters et Conner AH. 2000. Differential scanning calorimetry of hydrolysed mangrove tannin, Ed Polym Int., 49, pp. 574-578.

Verdrager, J., 1978, Ces médicaments qui nous viennent des plantes, Ed. Maloine S.A., pp. 12-15.

Volak J. & Stodola J. 1983. Les plantes médicinales. Ed. Grund.

Wichtl, M., Anton, R., 1999. Plantes thérapeutiques, Ed. Tec et Doc. p.4-14.

Wichtl M. et Anton R. 2003. Plantes thérapeutiques : Traditions, Pratique officinale, Sciences et Thérapeutique. 2^e Ed., TEC & DOC., Paris, pp. 1-364.

Wilhelm N. 1998. Botanique Générale. Ed. Deboeck Universite. Paris, pp. 316-342.

Site Internet :

Site 1: [http:// www.google earth.com/](http://www.google.com)

Site 2 : [http://medicalsciences.wordpress.com/2009/09/07/infectious-disease-nosocomial pathogens/](http://medicalsciences.wordpress.com/2009/09/07/infectious-disease-nosocomial-pathogens/) -->.

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

CLE DES PRINCIPALES FAMILLES DES LAMIACEES (Judd et al, 2002).

Caractéristique des familles	familles
1. Péricorolle absent ; étamine généralement 1 ; plantes aquatiques à fleurs minuscules pollinisées par l'eau.	Plantaginacées
1. Péricorolle présent ; étamines généralement 2-4 ; plantes terrestres ou aquatique à fleurs voyantes pollinisées par les animaux ou par les vent. 2. Arbres ou arbustes des mangroves, à pneumatophores en baguettes dressées a glandes sessiles excréant une solution sursaturée en sel qui précipite rapidement en cristaux ; fruit généralement 1-sémine.	Avicenniacees
1. Plantes herbacées ou arbres non des mangroves ; sans pneumatophores ni glandes excréant du sel ; fruit (2)- 4-séminé. 2. Fleur actinomorphe à quatre pétales. 3. Fleur zygomorphe, à 5 pétales, bilabées, la lèvre supérieure à 2 lobes et lèvre inférieure à 3 lobes. 4. Etamines 2 ; 2 ovules par loge.	Oléacées
1. Etamines 4 ; ovules ± nombreux par loge. 2. Plantes herbacées ; feuilles généralement alternes ou en rosette basilaire, limbe à nervation ± parallèle ; fleur en épis ou capitules, minuscules, anémogames ; fruit une pyxide ou un akène.	Plantaginacées
1. 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.	Buddlejacées
1. ovules 2 par carpelle, chaque loge divisée une fausse cloison, et donc 1 ovule par logette de l'ovaire ; fruit des drupes (à 1 à 4 noyaux) ou des fruits schizocarpes généralement à 4 nucules ; style terminal à gynobasique ; feuilles opposées. 2. 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 drupes ; style toujours terminal ; feuilles alternes ou opposées. 3. 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.	Verbénacées

<p>1. inflorescences mixtes, à axe principale \pm indéterminé, portant latéralement des étamines déterminées (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.</p>	Lamiacées
<p>1. Plantes insectivores, à poils mucilagineux collants ou à vésicules prédatrices ; placentation centrale libre.</p>	Lentibulariacées
<p>1. Plantes non insectivores, placentation généralement axile ou pariétale. 2. Ovaire supère à infère ; anthères soudées ou adhérentes par parie ; placentation pariétale.</p>	Gesnériacées
<p>1. Ovaire toujours supère, anthères généralement libers ; placentation généralement axile. 2. Graines à albumen bien développé. 3. Graines à albumen fugace ou absent. 4. plantes hémiparasites (et chlorophylliennes) à holoparasites dépourvues de chlorophylle), à suçoirs se fixant sur les racines d'hôtes divers ; placentation axile ou pariétale.</p>	Orbanchacées
<p>1. Plantes autotrophes (et vertes), sans suçoirs, à placentation axile. 2. 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.</p>	Scrophulariacées
<p>1. Loges de l'anthère séparées. S'ouvrant par deux fentes longitudinales, ou la portion apicale des thèques adnée et s'ouvrant par une fente unique, en U ou en V, anthère \pm sagittée à la base ; étamines 4 ou 2 ; fleurs \pm nettement zygomorphes.</p>	Plantaginacées
<p>1. Fruit à déhiscence explosive, graines insérées sur un funicule élargi et spécialisé (jaculateur) ; souvent à cystolithes.</p>	Acanthacées
<p>1. Fruits déhiscents mais non de manière explosive, ou indéhiscents ; graines sans jaculateurs cystolithes absents. 2. Ovules \pm nombreux par loge, sur des placentas bilobés ; fruit généralement une capsule allongée, jamais une drupe ; feuilles généralement opposées et composées, sans points translucides ; graines généralement aplaties, ailées.</p>	Bignoniacées
<p>1. Ovules généralement 1 par loge, sur des placentas entiers ; fruit une drupe ; feuilles généralement alternes, simples, à points translucides ; graines ni aplaties ni ailées.</p>	Myoporacées

ANNEXE 02 :

METHODES D'ANALYSE DES PARAMETRES PHYSICOCHEMISTIQUES DU SOL

Texture : selon l'échelle de SOLTSER, 1981.

Pour déterminer la texture du sol, nous avons utilisé la méthode par saturation qui consiste à mesurer le pourcentage d'humidité du sol (H %) et le comparer à une échelle qui détermine la texture lui correspondant.

Nous avons tout d'abord pris 50 g du sol et nous l'avons imbibé d'eau, goutte à goutte tout en mélangeant jusqu'au point où la pâte devienne luisante et glisse doucement lorsqu'on incline le récipient. Ensuite, nous avons suivi les étapes suivantes :

- Peser une capsule vide (P₀).*
- Prendre une petite quantité de pâte (sol mouillé) et la mettre dans la capsule puis repeser (P₁).*
- Mettre à l'étuve à 105° C pendant 24 heures.*
- Peser une troisième fois la capsule à la sortie de l'étuve (P₂), le poids correspond donc au poids de la capsule vide + le poids du sol sec.*

Calcul:

Pour calculer le pourcentage d'humidité on utilise la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{(P_0 + P_1) - P_2}{P_1} \times 100$$

Tableau : Echelle de la texture (SOLTSER-1981).

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

Enfin comparer (H %) au tableau ci-dessus pour déterminer la texture.

Matière organique : selon la méthode de Anne :

On met 1g de sol dans un erlenmeyer, on ajoute 10ml de bichromate de potassium (8%) avec 15ml d'acide sulfurique concentré. On laisse bouillir pendant 5mn sur une plaque chauffante, transvaser le contenu dans une fiole de 100ml et ajouter de l'eau jusqu'au trait de jauge.

On prend 20ml de la solution, on ajoute 200ml d'eau distillée puis on ajoute 2 à 3 gouttes de diphénylamine et une pincée de Naf, on titre la solution avec le sel de mohr (0,2N) jusqu'à virage de la solution qui passera de la couleur violette à la couleur verte.

La quantité du sel de mohr utilisée est X.

Faire un témoin dans les mêmes conditions que l'échantillon, mais sans sol, Y la quantité de sel de mohr utilisée pour le titrage du témoin.

On a la relation suivante :

$$C\% = (Y-X) \times 0,615 \text{ mg} \times (100/20) \times (100/P) \times (1/1000)$$

Y : la quantité de sel de mohr utilisée pour titrer le témoin

X : la quantité de sel de mohr utilisée pour l'échantillon à doser.

0,615 : facteur d'équivalence entre le sel de mohr et le carbone (en mg).

100/20 : on utilise 20 ml à partir de 100 ml.

P : poids du sol (1g).

1/1000 : facteur du converti on.

$$\% \text{ matière organique} = \% C \times 1,72$$

Tableau : classification des sols d'après leur teneur en matière organique (SOLTSER-1981)

% de la M O	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 élevée

pH eau :

Pour déterminer le pH eau :

- tamiser le sol d'analyse avec un tamis de 2mm de diamètre.
- peser 5g de sol dans un flacon ou pilulier à agitation et ajouter 25 ml d'eau distillée.
- agiter avec agitateur culbuteur pendant deux heures de temps à température proche de 20°C.
- Laisser reposer la solution 24 heures.
- mesurer le pH eau au moyen d'un pH mètre.

pH (KCl) :

La détermination de l'acidité d'échange se fait de la même manière que pH eau mais à la place de l'eau distillée on met une solution KCL (1N), pH KCL donne une idée exacte de la quantité d'ions H fixés.

Tableau: la gramme de pH des sols (GAUCHER, in 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	Tés alcalins

Calcaire total :

- Peser un poids P_0 de terre broyée 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, filtrer et laver le filtre.
- Déterminer la quantité d' HCl qui n'a pas réagit avec les CaCO_3 en ajoutant deux gouttes de phénophtaléine.
- Titrer avec le NaOH 0.25N.

Calculs :

$$\text{CaCO}_3 \% = \frac{5 \times [50 \text{ ml (HCl)} \times 0.5 \text{ N} - X \text{ ml (NaOH)} \times 0.25 \text{ N}]}{P_0}$$

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 Ca.

Solution d'extraction : oxalate d'ammonium approximativement N/5 soit 14.2 g/L.

- Pour sols peu humifères « Méthode Drouineau ».
 - Peser 10 g de sol, ajouter 250 ml de solution oxalate. Agiter 2 heures à l'agitateur mécanique. Centrifuger. Filtrer.
 - Prélever 10 ml de solution. Ajouter 10 ml de H_2SO_4 0.1 N. Chauffer sans dépasser $60/70^\circ \text{C}$.
 - Titrer par KMnO_4 0.1 N jusqu'à coloration rose persistante (On dose les ions oxalate qui n'ont pas réagi avec la calcium).

Calcul :

Soit n le nombre de ml de KMnO_4 versés dans la solution d'extraction du sol. N pour 10 ml de la solution témoin d'oxalate d'ammonium sans sol.

1 me d'oxalate correspond à 1 me de CaCO_3 . Soit 50 mg (Bonneau et Souchier, 1994).

$$\text{CaCO}_3 \% = 1.25 (N-n)$$

Dosage de Carbonates et Bicarbonates selon la méthode titrimétrique :

Les carbonates alcalins, facilement solubles à l'eau ne se trouvent que dans les sols salés à alcalis. Les carbonates alcalinoterreux, soluble dans l'eau chargée en gaz carbonique constitueront l'essentiel des sols calcimagnésiques.

- *Mode opératoire :*
- *Prélever une aliquote dans une capsule de porcelaine.*
- *Ajouter 2 gouttes de phenolphthaleine (1%), en présence des carbonates la couleur devient rouge.*
- *Titrer avec l'acide sulfurique (0,02N) en micropipette on ajoutant goutte à goutte jusqu'à ce que la couleur rouge disparaisse.*
- *Noter la quantité d'acide utilisée (X).*
- *Ajouter 2 de méthyle (0.01%) à la même solution titrer avec l'acide sulfurique jusqu'à l'apparition de la couleur rose.*
- *Noter la nouvelle lecture sur la burette (Y).*

Calculs :

$$\text{CO}_3^- \text{ mé/l} = \frac{(2X \times \text{Normalité de H}_2\text{SO}_4 \times 1000)}{\text{ml en aliquote}}$$

$$\text{HCO}_3^- \text{ mé/l} = \frac{(Y-2X) \times \text{Normalité de H}_2\text{SO}_4 \times 1000}{\text{ml en aliquote}}$$

Dosage de (Na⁺ et K⁺) par spectrophotomètre d'émission de flamme :

I. 1. Préparation de la gamme d'étalonnage :

- Le sodium :
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. 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 :
Peser 190.8 mg de KCl et opérer comme indiqué pour le sodium.

I. 2. Calcul des résultats :

Le mode de calcul des résultats est comme suit :

$$\begin{array}{l} \text{Pour le sodium : } A = \frac{1}{22.99} \quad , \quad B = \frac{1}{22990} \\ \text{Pour le potassium : } A = \frac{1}{39} \quad , \quad B = \frac{1}{39000} \end{array}$$

La concentration [C] est obtenue comme suit :

$$[C] = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + \dots \text{ (Lecture des étalons)}}{2+4+6+10+15+20 \dots \text{ (Concentrations des étalons)}}$$

La concentration de l'élément est calculée selon la formule suivante :

$$[]_{\text{méq/L}} = \frac{L \cdot D \cdot A}{C} \quad \text{avec } L \text{ (la lecture) et } D \text{ (L'inverse de la dilution)}$$

RQ : L'extrait de la pâte saturé de sol étudié a été dilué une trentaine de fois ($D = 30$) pour pouvoir déterminer la valeur de la concentration (en méq/L) de chacun des deux éléments cherchés.

$$\text{Alors : } [Na] \text{ (méq/L)} = \frac{L \cdot 30}{C \cdot 22,99} \quad \text{car } A = 1/22,99$$

$$[K] \text{ (méq/L)} = \frac{L \cdot 30}{C \cdot 39} \quad \text{car } A = 1/39.$$