

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université

Blida-1-



Faculté des Science de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et des Organismes

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de master en sciences
biologiques

Option : Phytothérapie et Santé

Thème :

**Etude ethnobotanique, phytochimique et évaluation de quelques
activités biologiques (anti-inflammatoire, antimicrobienne et
antispasmodique) d'une plante aromatique le calament
(*Calamintha officinalis M.*) de la région de koléa**

Réalisée par :

Djelloudi Samira

Semmache Hanane

Soutenue : le 20/09/2015

Devant le jury :

M ^{elle} Sayad M.	MAA	UB 1	Présidente
M ^{elle} Touaibia M.	MAB	UB 1	Examinatrice
M ^{me} Benassel N.	MAA	UB 1	Promotrice

Promotion: 2014-2015.

Remerciements

*Au terme de ce travail, nous tenons en premier lieu à
remercier Dieu tout puissant pour la volonté, la santé et le
Courage qu'il nous a donné pour suivre nos études.*

Nous adressons nos sincères remerciements à notre promotrice

Mme : Benassel N.,

*Pour honorer en acceptant de nous diriger
et aider tout au long de la réalisation de ce mémoire,*

Pour

aussi ses conseils, ses commentaires, sa bienveillance.

*Pour la même occasion, nous tenons à remercier Mme Sayad, pour
avoir accepté d'être présidente de jury.*

*Nos 'exprimons notre vifs remerciements à Mme Touabia M, de
nos 'avoir accordée leur temps pour examiner et enrichit notre
modeste travail.*

*Nos remercions aussi les responsables du laboratoire de projet de
fin d'étude Département de Biologie, Université Blida-1-qui ont mis à
nos disposition le matériel du laboratoire.*

*Nos remerciement vont également au personnel du centre de
recherche et de développement (Saidal , El-Harach) , en particulier du
laboratoire de microbiologie.*

*Nous ne terminons pas sans avoir exprimé des remerciements envers toutes
les personnes qui ont attribués de près ou de loin à la réalisation de ce
travail.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A mes très chers et adorables **parents**, pour leurs soutiens, leurs Sacrifices, leurs encouragements, leurs Affection et leurs conseils qui m'ont soutenu tout au long de mes Années d'étude, Dieu les garde pour moi.*

Aux personnes plus chères de ma vie :

*A mes sœurs : **Souhila, Djamila, Khadidja, Hayet, Hind** et mon frère **Hichem***

*A ma chère tante **Fadhila**, à son époux et ses enfants : **marwa, Abed et Riad.***

A toute la famille de Djelloudi

*A ma très chère copine : **Hanane** et sa famille*

*A mes meilleures amies : **Isma, Asmaa, Fouzia, Fatima, Fatima, Sihem, Chrifa, Rabia, khawla, Nabila.***

A toute la promotion de phytothérapie et santé 2014-2015

A tous ceux que j'aime et qui m'aime.

Samira

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail:

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie **ma mère** qui veille à ma réussite et mon bonheur pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

A mon cher père qui a toujours cru en moi et a mis à ma Disposition tous les moyens nécessaires pour que je réussisse Dans mes études.

A mes chères frères : Toufik, Nabile, Farid, Mohamed, Zouhir

A mes sœurs : Samira, Warda

A toute la famille

A ma binôme Samira et sa famille

A mes amies : Asma, Fouzia, Isma, Fatima Elzohra, Sihame, Chrifa, Nabila

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin

Hanane



Liste des figures

Titre	Page
Figure 01 : Aspect morphologique de <i>Calamintha officinalis M.</i>	06
Figure 02 : Les souris utilisées au cours de l'étude pharmacologique	13
Figure 03 : Carte géographique de la zone d'étude	15
Figure 04 : Montage de l'entraînement à la vapeur	19
Figure 05 : Montage d'hydrodistillation	20
Figure 06 : Administration par voie orale de l'extrait aqueux	22
Figure 07 : Injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche de la souris	22
Figure 08 : Découpage des pattes.	23
Figure 09 : Injection de l'acide acétique	24
Figure 10 : La connaissance de la plante (A) selon l'âge (B), le sexe d'appartenance (C) et le niveau intellectuel (D).	28
Figure 11 : Le nom local (E) et les différents domaines d'utilisation (F)	29
Figure 12 : Les parties utilisées de la plante (G), les maladies préconisées (H) et le mode d'emploi (I)	30
Figure 13 : Coupe transversale de tige du calament vue au microscope photonique G : x100	37
Figure 14 : Poils épidermiques (tecteurs et sécréteurs) vus au microscope photonique G : x400	37
Figure 15 : Coupe transversale de feuille du calament vue au microscope photonique G : x 400	37
Figure 16 : La variation des moyennes du poids des pattes (A), pourcentage de l'œdème et de réduction de l'œdème chez les lots (B).	40
Figure 17 : La variation des moyennes de crampes(A) et du pourcentage de protection (B) chez les souris de lot témoin, référence et essai.	41
Figure 18 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'infusé et l'HE de <i>Calamintha officinalis M.</i>	45
Figure 19 : balance analytique	
Figure 20 : Balance pour animaux	
Figure 21 : Etuve d'incubation	Annexe 1
Figure 22 : pieds à coulisse	

Figure 23 : Bec bunsen

Figure 24 : Chambre à U.V

Liste des tableaux

Titre	Page
Tableau 1 : Les souches de références utilisées pour l'évaluation de l'activité anti microbienne.	14
Tableau 2 : Informations obtenues du phytothérapeute	32
Tableau 3 : Informations obtenus du tradipraticiens	32
Tableau 4 : Résultats de screening phytochimique	35
Tableau 5 : Rendements en huiles essentielles	38 39
Tableau 6 : Caractères organoleptiques de l'HE	42
Tableau 7 : Résultats du test antimicrobien de l'extrait aqueux et l'huile essentielle du <i>Calamintha officinalis M.</i>	42
Tableau 8 : Tableau des appareillages, verreries et réactifs utilisés.	Annexe 1
Tableau 9 : Résultats de l'activité anti- inflammatoire.	Annexe 5
Tableau 10 : Résultats de l'activité antispasmodique.	

Liste des abréviations

AFNOR : Association française de la normalisation

APG: Angiosperm Phylogeny Group

ATCC: American type culture collection

C R D : Centre de recherche et de développement

HE : Huile essentielle

MH : Milieu Mueller Hinton

ONAB : Office National de l'Alimentation du Bétail

PPD : Patte postérieure droite

PPG : Patte postérieure gauche

SAB : Sabouraud

Résumé

Le présent travail a pour but de valoriser une espèce appartenant à la famille de lamiacées ; le calament (*Calamintha officinalis M.*) ; connue sous le nom local « Napta » dans la région de Koléa (wilaya de Tipaza).

Il est divisé en trois parties : la première est consacrée à une enquête ethnobotanique réalisée auprès de 100 personnes choisies au hasard et à des spécialistes en phytothérapie (2phytothérapeutes, 10herboristes et 3tradipraticiens). Les résultats de cette enquête, ont montré que le calament est largement utilisée par la population locale de Koléa pour traiter de nombreuses maladies telles que les affections respiratoires et digestives.

La deuxième partie est une étude histologique qui a montré la présence des poils sécréteurs au niveau de l'épiderme des feuilles et de la tige.

La troisième partie est consacrée à l'étude phytochimique a permis de mettre en évidence par un screening chimique la présence des flavonoïdes, des tanins, des tanins catéchéiques, des alcaloïdes, des saponosides, des glucosides, des coumarines, des leuco-anthocynes, des senosides, des quinones libres et combinés.

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par deux procédés (hydrodistillation et entraînement à la vapeur d'eau) ; les résultats montrent que le rendement est respectivement de **0.68%** et **0.35%**.

La dernière partie qui consiste à évaluer l'effet thérapeutique ; a montré que l'extrait aqueux de la partie aérienne du calament présente une activité anti-inflammatoire dont le pourcentage de la réduction de l'œdème est de **46.36%** et une activité antispasmodique dont le pourcentage de protection est égale à **89.61%**. Ces résultats sont remarquables du fait qu'ils donnent des résultats similaires à ceux des produits de référence (Diclofenac et spasfon). Les résultats de l'activité antimicrobienne ont montré que l'extrait aqueux n'a aucun effet antimicrobien sur les souches testées, contrairement à l'huile essentielle qui a une forte activité inhibitrice vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*(62mm), *Candida albicans*(54mm) et *Escherichia coli*(37mm) ; et modérément inhibitrice pour *Bacillus subtilis* (25mm). Alors qu'elle n'a aucun effet vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*.

Mots clés : *Calamintha officinalis M.*, Ethnobotanique, Huile essentielle, Antimicrobienne.

Absract

Our work focuses on evaluating an Algerian plant that belongs to the Lamiaceae family and known as “Napta” in Kolea’s district (the wilaya of Tipaza). This work divides into three parts: the first one is about an ethnobotanic investigation on the field contains 100 person and specialists in phytotherapy (2phytotherapeut, 10herbalists and 3 tradipraticians). Then, the results show that this plant uses in a wide range by the locals habitants of Kolea for treating several diseases (the respiratory and digestive diseases....).

The second part is a histologic study which shows the presence of secretory trichomes on the level of stem and leaves.

The third part concerns about doing a chemical test which permits us highlighting on the existence of compounded flavonoïds, tannins, catecheicstannins, alkaloids, saponosids, glucosids, coumarins,leuco-anthocyns, senosids, free quinons and compounds.

The extraction of the essential oil was carried by two methods: passing through water vapor and distilling by water and the results that we reached was respectively 0.35% and 0.68%.

The last part aims for activating the treatment’s trace. So, we used the aqueous extract of the plant to study the anti-inflammatory which mark that the percentage of the reduction of edema is of **46.36%** and antispasmodic activity which has a percentage of protection is equal to **89.61%**. These results were compared with the products reference of Diclofenac and spason.

The results of antimicrobial test show that the aqueous extract doesn’t have any influence against the experimented microbes. On the contrary, the essential oil owns a strong inhibiting activity against *Staphylococcus aureus* (62mm), *Candida albicans* (54mm), *Escherichia coli* (37mm)and moderately inhibiting for *Bacillus subtilis* (25mm) .Then, the result show that the essential oil isn’t efficient against *Pseudomonas aeruginosa*.

Key words: *Calamintha officinalis M.*, ethnobotanic, essential oil, antimicrobial.

ملخص

عملنا يركز على تقييم نبتة جزائرية تنتمي العائلة الشفويات و المعروفة "بالنابطة" في منطقة القليعة (ولاية تيبازة). ينقسم هذا العمل الى ثلاثة اجزاء. الاول يتطرق الى دراسة ميدانية تضم 100 شخصو مختصين في طب الاعشاب (2 طبيب اعشاب و 10 بائعي اعشاب الطبية و 3 معالجين تقليديين) و أظهرت النتائج أنها تستخدم على نطاق واسع من قبل السكان المحليين للقليعة لعلاج العديد من الأمراض (أمراض الجهاز التنفسي و الجهاز الهضمي).

و الجزء الثاني هو دراسة نسيجية على الساق والأوراق للنبات، والتي أظهرت وجود شعيرات مفرزة على مستوى الساق و الأوراق.

الجزء الثالث يهتم بإجراء فحص كيميائي الذي سمح بتسليط الضوء على وجود مركبات الفلافونويد والعفص وقلويدات، الصابونين، الجليكوسيدات، والكومارين و كينونات حرة و مجتمعة. كما قمنا باستخراج الزيت العطري مع العائد التي تم الحصول عليها عن طريق التمرير على بخار الماء هو 0.35% و التقطير بالماء كان 0.68%.

الجزء الاخير يهدف الى تفعيل الاثر العلاجي فقمنا باستعمال المستخلص المائي للنبتة لدراسة الاثر المضاد للالتهابات و الذي ادى الى معدل تراجع الانتفاخ يساوي 46.36% و دراسة النشاط المضاد للتشنج الذي نتج عنه معدل حماية يساوي 89.61%. هذه النتائج قد تمت مقارنتها مع المنتجات المرجعية ديكلوفيناك و سباسفو على التوالي.

نتائج الفحص المضاد للميكروبات أظهرت أن المستخلص المائي ليس له تأثير مضاد للميكروبات المختبرة على عكس نشاط كاجح قوي ضد الزيت الطيار الذي يملك

Staphylococcus aureus (62mm), *Candida albicans* (54mm), *Escherichia coli* (37mm) *Bacillus subtilis* (25mm)

كما اظهرت النتائج ان الزيت الطيار غير فعال ضد

Pseudomonas aeruginosa.

الكلمات المفتاحية: اتنوباتية, زيت اساسي , مضاد للبكتيريا, *Calamintha officinalis M.*

Table des matières

Introduction

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1. Ethnobotanique, phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie et huiles essentielles	
1.1. Ethnobotanique	01
1.1.1. Le champ d'activité de l'ethnobotanique	01
1.2. Phytothérapie	01
1.3. Plante médicinale	01
1.4. Aromathérapie	02
1.5. Huiles essentielles	02
2. Généralités sur la plante	02
2.1. Historique	03
2.2. Systématique	03
2.2.1. Etymologie	03
2.2.2. Noms communs	03
2.2.3. Classification botanique	04
2.3. Description botanique	04
2.3.1. Appareil végétatif	04
2.3.2. Appareil reproducteur	05
2.4. Reproduction	07
2.5. répartition géographique	07
2.6. Composition chimique	07
2.7. Usages et propriétés médicinales	07
2.8. Les principales molécules bioactives de la plante	08
2.8.1. Les composés phénoliques	09
2.8.1.1. Flavonoïdes	09
2.8.1.2. Les tanins	09
2.8.2. Alcaloïdes	10
2.8.3. Les composés terpéniques	10

2.8.3.1. Caroténoïdes.....	10
2.8.3.2. Saponines	10
2.8.3.3. Stéroïdes.....	11
2.8.3.4. Glycosides ou hétérosides.....	11

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Matériel.....	12
1.1. Matériel biologique.....	12
1.1.1. Matériel végétal.....	12
1.1.2. Matériel animal.....	12
1.1.3. Les microorganismes.....	13
1.2. Matériel non biologique.....	14
2. Méthodes	14
2.1. Enquête ethnobotanique.....	14
2.2. Screening Phytochimique.....	15
2.2.1. Préparation de l'infusé.....	15
2.2.2. Mise en évidence des métabolites secondaires.....	15
2.3. Coupes histologiques.....	18
2.4. Extraction d'HE de <i>Calamintha officinalis</i>	18
2.4.1. Entraînement à la vapeur d'eau.....	19
2.4.2. Hydrodistillation.....	19
2.4.3. Calcul de rendement	20
2.4.4. Contrôle des caractères organoleptiques de l'HE.....	20
2.5. Evaluation des activités biologiques	21
2.5.1. Activité anti-inflammatoire.....	21
2.5.2. activité antispasmodique	23
2.5.3. Activité antimicrobienne	25

Chapitre 3 : Résultats et discussions

1. Résultats de l'étude ethnobotanique.....	28
2. Résultats du screening phytochimique.....	35
3. Résultat des coupes histologiques.....	36
4. Résultats de l'extraction.....	38
4.1. Rendement en HE.....	38

4.2.Caractères organoleptiques.....	39
5. Résultats des activités biologiques de la plante.....	39
5.1.L'activité anti-inflammatoire.....	40
5.2.L'Activité antispasmodique.....	41
5.3.L'activité antimicrobienne.....	42

Conclusion

Références bibliographiques

Annexe

INTRODUCTION

Introduction

L'homme a toujours utilisé les plantes qui poussent autour de lui, pour se nourrir et se soigner. Il a accumulé un véritable savoir sur les vertus médicinales des plantes (Dellile, 2007). Les plantes représentent un immense réservoir de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires, qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité chimique et possèdent un très large éventail d'activités biologiques.

Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (Zeghad, 2009)

Parallèlement, le recours aux médecines traditionnelles, non conventionnelles, telles que la phytothérapie, connaît un véritable essor et constitue aujourd'hui une alternative thérapeutique de choix dans la prise en charge de toutes sortes de maladies. Ceci est dû à l'exploitation de toutes les ressources que la nature met à notre disposition (Mességué, 1975 ;Herbinet, 2004)

L'Algérie, de par sa position géographique, jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de grandes variations climatiques auxquelles s'ajoutent les ressources hydriques, tous favorables au développement des plantes surtout les plantes médicinales.

Dans le but de valoriser les plantes médicinales se trouvant en Algérie, nous avons choisie le calament (*Calamintha officinalis M.*), une espèce appartenant à la famille des Lamiacées originaire de Koléa. Les travaux scientifiques réalisés sur cette plante sont rares en Algérie malgré ses effets thérapeutiques importants. Pour cela nous nous sommes intéressées à étudier son usage en médecine traditionnelle au niveau de la population locale et quelques propriétés thérapeutiques réalisées au laboratoire.

Notre travail englobe les quatre étapes suivantes :

- Etude ethnobotanique sur l'utilisation traditionnelle du calament auprès de la population locale de la région de Koléa.
- Etude histologique.
- Etude phytochimique basée principalement sur le screening chimique et l'extraction de l'huile essentielle par deux procédés :hydrodistillation et entraînement à la vapeur d'eau.
- Evaluation des activités biologiques de la plante telle que l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire et antispasmodique.

Synthese bibliographique

1. Ethnobotanique, phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie et huile essentielle

1.1. Ethnobotanique

L'ethnobotanique est l'étude de l'utilisation des plantes par l'homme dans l'histoire d'une société et dans un cadre géographique donné en vue de comprendre et d'expliquer la naissance et le progrès des civilisations, depuis leurs débuts végétaliens jusqu'à l'utilisation et la transformation des végétaux eux-mêmes dans les sociétés primitives ou évoluées, (**Spichiger et al., 2002 ; Portères, 1961**).

1.1.1. Champ d'activité de l'ethnobotanique

Selon **J.Barrau(in Portères ,1970)**, l'ethnobotanique englobe les recherches Suivantes:

- 1 - L'identification des plantes à partir d'échantillons et de figurations ou descriptions.
- 2 - Noms vernaculaires des végétaux.
- 3 - Les parties utilisées des plantes et leurs modes d'utilisation.
- 4 - La saison de cueillette des plantes et leurs origines (l'habitat et l'écologie).
- 5- L'importance de chaque plante dans l'économie.

1.2. Phytothérapie

La phytothérapie au sens étymologique, « le thérapeutique par les plantes » ; elle utilise les plantes ou les formes immédiates dérivées des plantes, en excluant les principes actifs purs de celle-ci. C'est une thérapeutique familiale de conseil et d'automédication, à visée symptomatique, parfois préventive. Cependant, la phytothérapie peut constituer une thérapeutique alternative ou complémentaire intéressante, qui doit autant que possible tenir compte des critères modernes d'évaluation,(**Gazengel et Orecchioni, 2013**).

1.3. Plantes médicinales

Selon **la Pharmacopée française (Xe édition, 2010)** « les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses et peuvent avoir également des usages alimentaires ou condimentaires, ou encore servir à la préparation de boissons hygiéniques».

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments. Il s'agit d'utiliser la plante entière, une ou plusieurs parties qui peuvent avoir chacune une utilisation différente.

1.4. Aromathérapie

D'après **Salle(1991)**, le terme « aromathérapie » est un néologisme créé en 1928 par le chimiste René-Maurice Gattefossé. Elle désigne une branche particulière de la médecine par les plantes ; ce terme savant est composé de deux racines grecques : aroma« parfum » et thérapiea, « soins».

L'aromathérapie est l'utilisation des huiles essentielles à des fins thérapeutiques. Elle repose sur la relation existant entre les composants chimiques des huiles essentielles et les activités thérapeutiques qui en découlent, elle met en œuvre des essences, hydrolats aromatiques et des huiles essentielles pures extraites de différentes plantes aromatiques, (**Bec ,2013**).

1.5. Huile essentielle

La Pharmacopée européenne(7^{ème} édition, 2010) définit une huile essentielle (=essence= huiles volatiles) comme un «produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition »,(**Laurent, 2012**).

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (exemple : famille des lamiacées). Elles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées : cellules à huiles essentielle, poils sécréteurs, canaux sécréteurs, poches sécrétrices, (**Lucette Couderc, 2001**)

2. Généralités sur la plante

Le calament appartenant à la famille des lamiacées, similaire à la menthe commune, non seulement en ce qui concerne sa morphologie mais aussi en ce qui concerne ses caractéristiques de parfum, (**Bruneton ,2008**).

2.1. Historique

Le calament était une plante très renommée dans l'Antiquité et au Moyen Age. Elle est antispasmodique, tonique et stomachique, et on la prescrivait contre les bourdonnements d'oreille, le hoquet, les éructations, les spasmes abdominaux et les spasmes d'origine nerveuse (**Baba Aissa, 2011**). Le médecin français Bernard de Gordon la recommandait lui aussi contre les éructations, l'aménorrhée, les douleurs d'entrailles. Il aurait utilisé comme un vulnéraire sous forme d'une solution dite « eau d'arquebuse ».

En 1477 Aemilius Macer (un poète et considéré comme un spécialiste de la nature) y voyait un remède contre l'éléphantiasis, « Hypertrophie cutanée régionale due à une obstruction lymphatique. Elle peut être secondaire à une infection parasitaire (filariose), à un cancer, ou être idiopathique »(**Quevauvilliers et al.,2009**). En 1890, le chercheur Cadéac affirme que les animaux qui en broutent " ont un air éveillé et intelligent mais aucune substance n'a été révélée par l'analyse chimique qui puisse confirmer de pareils résultats.

Essentiellement, aujourd'hui, sous nos cieux, une heureuse influence de cette drogue (simple stimulant aromatique) sur la musculature digestive, et sur les douleurs,(**Boullard ,2001**).

2.2. Systématique

2.2.1. Etymologie

Du latin *calaminthe* et le grec Kalaminthos ou Kalaminthè désignaient des labiées aromatiques. Le nom dérive du grec Kala, belle (ou peut-être de kalamos, roseau) et mintha, menthe, (**Couplan, 2012**).

2.2.2. Noms communs

Le calament est connu sous différentes appellations :

En français : baume sauvage, calament officinal, pouliot de montagne, belle menthe, (**Losch, 1908**).

En arabe :foundendj,saater el- fares ,foutendj el-berri,djalnadjoudjia, nabta, manta, naana el-djabal(**Baba Aissa, 2011 ;Bellakhdar, 1997**).

En anglais : calamint.

En Italien :calaminta.

En espagnol : Calaminto.

En allemand : Bergminze, (Herbert Barton et Castle, 1838).

2.2.3. Classification botanique

Selon Marck (2009), le calament est classé comme suit:

Règne: Plantae.

Embranchement: Spermatophytes.

Sous-embrenchement: Angiospermes.

Classe: Eudicotylédones.

Sous-classe : Lamidés

Ordre : Lamiales.

Famille : Lamiacées.

Genre : *Calamintha*.

Espèce : *Calamintha officinalis Moench*.

2.3. Description botanique

Le genre *calamintha* compte des espèces de plantes aromatiques vivaces, surtout spontanées en Europe et en Asie tempérée. Avec leurs feuilles opposées sur des tiges carrées, elles ressemblent beaucoup aux menthes vraies (*Mentha*), mais leurs fleurs blanches, roses ou violacées sont habituellement plus grandes et portées en grappes terminales plus lâches, (Laurent, 2007).

Les espèces les plus connues sont : *Calamintha grandiflora*, *Calamintha nepeta*, *Calamintha officinalis*, *Calamintha sylvatica*, *Calamintha menthifolia*, *Calamintha clinopodium*, *Calamintha incana*., (Bourgeois, 2007 ; Gonzale et al., 2008) .

2.3.1. Appareil végétatif

Calamintha officinalis M., est une plante vivace, herbacée caractérisée par :

➤ racine

Racine d'abord simple, chargée des fibrilles et terminée par plusieurs fibres principales s'étendant ensuite horizontalement et développée avec l'âge en souche rameuse, (**Gautier, 2008**).

➤ Tige

Les tiges plus au moins velues de 30 à 60cm de hauteur flexueuses, simples ou rameuses. Elles sont droites, obtus, quadrangulaires et souvent un peu couchées à la base(**Figure 1(A)**),(**Herbert Barton et Castle, 1838**).

➤ Feuilles

Les feuilles sont opposées, pétiolées, pubescentes, ovales, un peu cordiformes à la base, à limbe entier dont les bords sont pourvus de dents écartées en scie. Les feuilles sont vert clair à la face supérieure et vert grisâtre à la face inférieure (**Figure 1(A)**), (**Pharmacopée française, 1989**).

2.3.2. Appareil reproducteur

➤ Fleur

Les fleurs s'épanouissent en Juillet et Août, sont quelque peu discrète, tombantes gracieusement avant l'expansion, (**Grieve, 2014**).

Elles sont purpurines ou violacées, bilabiées, pédicellées, sont groupées en glomérules axillaires lâches. (**Figure 1 (B)**)

- ❖ **Calice** :long de 7 mm à 10 mm, à tube droit, à 5 dents pourvues de cils raides étalés ; les 2 dents inférieures sont environ une fois plus longues que les dents supérieures ; un anneau de poils est situé en dedans, au-dessous des dents.(**Figure 1(D)**)
- ❖ **Corolle** : est 2 fois plus longue que le calice ; elle possède un tube droit, une lèvre supérieure dressée et une lèvre inférieure trilobée à lobes presque égaux,(**Pharmacopée française, 1989**).

- ❖ **Androcée** : est composée de quatre étamines didynames de couleur violet foncé à filaments incurvés filiformes, inclinés avec des anthères oblongues, saillantes hors de la corolle. **(Figure 1(C))**
- ❖ **Gynécée** : est composé de deux carpelles, avec un style filiforme, aussi long que les étamines, terminé par un stigmate divisé en deux lobes aigus.
- **Fruit** : Le fruit est formé de 4 akènes ovoïdes inclus dans le calice persistant sec, **(Herbert Barton et Castle, 1838).**



A) Les feuilles et tige



B) la fleur



C) les étamines



D) le calice

Figure 01 : Aspect morphologique de *Calamintha officinalis* M., **(Originale ,2015).**

2.4. Reproduction

Le calament peut être cultivé comme une plante vivace, propagé par graines semées à l'extérieur, par boutures de pousses latérales dans des cadres froids au printemps, ou par division des racines, (Grieve, 2014). Les cultivars, souvent obtenus peuvent être variables, (Armitage, 2007).

2.5. Répartition géographique

Calamintha officinalis M., est une espèce sauvage qui croit dans les rocailles ombragées, dans les forêts et les haies, surtout dans la région montagneuse, (Losch, 1908). Elle peut être cultivée dans les jardins dont le sol est drainé et de nature calcaire, (Levrault, 1982).

Elle est très répandue en Europe centrale, méridionale et Asie occidentale, elle a été introduite en Amérique de nord et se développe à l'état sauvage dans l'ensemble des États-Unis orientaux (Singh et al., 2011). Elle se la trouve notamment dans le bassin méditerranéen, (Iserin et al., 2007).

En Algérie, *calamintha officinalis M.*, est assez commune dans les pelouses, broussailles, les forêts humides du tell et en montagne surtout, (Baba Aissa, 2011 ; Quezel et santa, 1963).

2.6. Composition chimique

La plante contient des vitamines (A, C, E, et K), des glucides, des enzymes, des sels de calcium et de potassium etc., (Singh et al., 2012).

Elle renferme des caroténoïdes, terpénoïdes, flavonoïdes, polyphénols, alcaloïdes, tannins, des stéroïdes, des glycosides et saponines, (Singh et al., 2013).

Un nombre restreint des travaux scientifiques ont contribué à mettre en évidence la composition chimique de l'huile essentielle de *Calamintha officinalis M*. En générale elle comporte un nombre important de composants dont les principaux composés chimiques qui constituent la fraction majoritaire de cette huile sont : carvone, pulégone, β -pinène, limonène, 1.8-cinéole, menthol, carveoltrans, cis-carveol, menthone, isomenthone et d'autres mono terpènes, (Nostro et al., 2002).

2.7. Usages et propriétés thérapeutiques

Le calament est employé comme un épice dans diverses recettes culinaires en raison de leur plaisante odeur mentholée. En outre, il est connue pour différents usages médicaux et cosmétique, (Formisano et al., 2007).

➤ Médicinale

Calamintha officinalis M., est traditionnellement utilisée par les populations pour ses propriétés : antispasmodique, carminatif, fébrifuge, expectorant, stomachique, sudorifique, tonique et stimulant, (Baba Aissa, 2011 ; Valent, 2001). Elle est recommandée sous forme de tisane contre les crampes, la somnolence, l'épilepsie, l'asthme, la jaunisse, les flatulences et les douleurs de cycle menstruelle, (Losch, 1908).

Cette drogue est très présente en thérapeutique familiale par exemple la poudre de ses feuilles est active en cas d'affections broncho-pulmonaires, de gripes, de rhumes, de troubles gastriques, l'aérophagie ou de mictions difficiles, (Hans, 2007). D'autre part, elle est recommandée pour l'hygiène bucco-dentaire (les gens mâchent à jeun les feuilles ou prendre des bains de bouche), (Lamentin et Tramini, 2008).

En outre, certains chercheurs avancent que *Calamintha officinalis M.*, est une plante aromatique, utilisée comme antidiabétique, antioxydant (Singh et al., 2011), antiseptique, anti-diarrhéique, anti-inflammatoire, (Tahri et al., 2012). Enfin, ils ont démontrés que leur huile essentielle a une forte activité antimicrobienne, (Singh et al., 2012).

➤ Alimentaire

En Europe, La plante est employée dans la cuisson en tant qu'aromatisant et pour donner la saveur à la nourriture, (Singh et al., 2012).

Dans le bassin méditerranéen, elle est fréquemment utilisée pour parfumer le thé ou incorporée à la pâte de pain, (Tahri et al., 2012).

➤ Cosmétique

L'huile essentielle de *Calamintha officinalis M.*, est employée pour améliorer également le parfum de plusieurs produits cosmétique par exemple utilisée comme un agent aromatisant des pâtes de dentifrice et d'autres produits. Ainsi qu'elle possède des excellentes propriétés de conservation des crèmes et shampoing, (Nostro et al., 2002 ; Singh et al., 2012).

2.8. Principales molécules bioactives des plantes

Les principes actifs sont des molécules de structure assez complexes, à des propriétés thérapeutiques très diversifiées dont la proportion varie selon la famille.

2.8.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules possédant un ou plusieurs fonction phénoliques c'est-à-dire un ou plusieurs cycles (noyau) benzéniques portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside,(**Judd, 2002**).

2.8.1.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à la coloration des fleurs et des fruits en jaune ou en blanc. Certains flavonoïdes jouent un rôle important dans la formation de nodules chez les espèces à formation symbiotique avec le rhizobium.

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules qui ont en commun la structure flavane, (**Harbone, 1988**). On les retrouve dans toutes les plantes vasculaires où elles peuvent être localisées dans divers organes : racines, tiges, feuilles et fruits (**Bruneton, 1999**). Ils sont également connus pour leurs nombreuses et diverses activités thérapeutiques : antioxydant, antiallergique, antivirale et anti-inflammatoire, (**Vercauteren, 2011**).

2.8.1.2. Tanins

Les tanins sont des substances d'origine végétale non azotées à structure amorphes, mais comportent toujours une partie polyphénolique. Ils ont la capacité de former des complexes avec des macromolécules (les protéines ...) et des liaisons entre les fibres de collagènes, d'où leurs viennent la plupart de leurs propriétés,(**Paolini et al., 2003**).

En outre, les tanins ont un très grand pouvoir antibactérien, antiviral, anti-inflammatoire et une activité antimutagène. Les plantes riches en tanins sont utilisées dans les cas de rhume, de maux de gorge, les problèmes de sécrétions trop importantes, les infections internes ou externes, blessures, coupures et brûlures,(**Bruneton, 1999**).

Il existe deux catégories de tanins, d'origine biosynthétiques différentes : les tanins hydrolysables ou galliques (ce sont des esters d'oses et d'acides phénols) et les tanins condensés ou cathéchiques (Ce sont des polymères flavanoliques), (Paolini et al., 2003).

2.8.2. Alcaloïdes

Le nom est dérivé du alkaly «soude» et eidos « aspect ». Ce sont des substances organiques azotées d'origine le plus souvent végétale, à caractère alcalin et ils forment une grande famille des molécules chimiquement hétérogènes. Leurs caractéristiques communes sont : leurs solubilités dans l'eau, la présence d'au moins un atome d'azote et leur forte activité biologique. Ils présentent principalement chez les angiospermes dicotylédones, (Bruneton, 1993).

Ce sont des substances toxiques et parfois à faibles doses ont des effets thérapeutiques connues comme anesthésiques locaux, analgésiques, antibiotiques, antiparasitaires, antipaludiques, anti-tumoraux, (Bruneton, 2008).

2.8.3. Les composés terpéniques

Les composés terpéniques forment un vaste groupe de métabolites secondaires, leurs structures sont diverses. Ce sont les principaux constituants des huiles essentielles.

2.8.3.1. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments végétaux lipophiles formant une famille de plus de 600 molécules notamment le lycopène et le 2-carotène, précurseurs de la vitamine A. Ils sont présents dans les carottes, les fruits rouge et jaunes, les légumes verts et les tomates, (Marc et al., 2004).

Le rôle biologique des caroténoïdes est, entre autres, complémentaire de celui de la vitamine E, elle-même régénérée par la vitamine C, d'où l'intérêt de consommer une alimentation équilibrée, riche en fruits et légumes variés pour bénéficier des nombreux effets de synergie entre micronutriments, (Miller et al., 1996).

2.8.3.2. Saponines

Les saponines sont des glycosides terpéniques et des composés tensioactifs. Ils forment des solutions colloïdales et font apparaître de la mousse comme les savons. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (œstrogène, cortisone). Les plantes qui en contiennent ont un effet sur l'activité hormonale, (Bruneton, 1993).

2.8.3.3. Stéroïdes

Les stéroïdes sont des triterpènes acycliques. Ils sont synthétisés d'un triterpène acyclique, le squalène. Les stéroïdes qui possèdent un groupement alcool, ce qui est le cas chez pratiquement toutes les plantes, sont appelées stérols. Ils ont des activités antifongiques et anticancéreuses... (Vercauteren, 2011).

2.8.3.4. Glycosides ou hétérosides

Ce sont des molécules formées par combinaison d'oses et de substances non glucidiques appelées aglycones ou génines. Ils forment des substances de réserves localisées dans les vacuoles cellulaires. Les hétérosides se différencient entre eux par leurs génines qui appartiennent à tous les groupes du métabolisme secondaire et par le mode de liaison entre la génine et l'ose, ainsi que par la nature de partie glucidique. Ils ont des propriétés pharmaceutiques, employées en thérapeutiques et utilisées pour protéger les plantes contre les prédateurs (Vercauteren, 2011)

MATERIEL ET METHODES

Notre étude expérimentale a été réalisée sur une période de trois mois (de 03 mai jusqu'au 30 Juillet 2015) et s'est déroulée au niveau :

- Du laboratoire de fin d'étude du département biologie de l'université Blida 1, pour la réalisation des coupes histologiques.
- Du laboratoire de chimie organique de l'université de Blida I pour faire l'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau.
- Des laboratoires du Centre de Recherche et Développement (C.R.D), Saïdal d'El-Harrach suivants :
 - Laboratoire de substances naturelles pour réaliser le screening phytochimique et l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.
 - Laboratoire de Pharmaco-toxicologie pour l'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire et antispasmodique.
 - Laboratoire de microbiologie pour évaluer l'activité antimicrobienne

Pour l'étude ethnobotanique, elle a été réalisée sur terrain à l'aide des fiches sous forme de questionnaire dans la région de koléa wilaya de Tipaza pendant un mois (de 03 Mars jusqu'au 03 Avril).

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

La partie aérienne de *Calamintha officinalis M.*, a été récoltée par un herboriste au mois de février 2015, dans la wilaya de Tipaza, commune de « Koléa », région de « Berbissa ». L'identification de la plante a été faite par le botaniste « **M.Mattai** » au niveau du laboratoire de botanique du département de l'agronomie de l'université de Blida I.

Le matériel végétal recueilli a été séché naturellement à une température ambiante et à l'ombre durant 15 jours, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules.

Après séchage, nous avons broyé la plante sèche et nous l'avons conservé dans des bouteilles en verre à l'abri de la lumière et l'humidité.

1.1.2. Matériel animal

Les animaux utilisés lors de l'activité anti-inflammatoire et antispasmodique proviennent de l'animalerie du laboratoire de pharmacotoxicologie du CRD (Saïdal d'El-Harrach) dont les caractéristiques sont les suivantes : 36 souris blanches, de race albinos, sexe mâle, et de poids variant de 19g à 26g(**Figure 02**).

❖ Conditions d'élevage

-Alimentation : granulés d'origine ONAB.

-Eau de robinet.

❖ Conditions de stabulation

-Température ambiante : 20-24°C.

- humidité : 50%.

- Eclairage : 10h.



Figure 02: les souris utilisées au cours de l'étude pharmacologique,(**Originale, 2015**).

1.1.3. Microorganismes

Pour mettre en évidence l'effet antimicrobien, nous avons utilisées le support microbien disponible au niveau du laboratoire de microbiologie du CRD-Saïdal qui est composé de quatre souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et une levure : *Candida albicans*. (**Tableau 1**).

Tableau 1 : les souches microbiennes de références utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Souches microbiennes		Références
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 4157
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
Gram+	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 9372
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
Levure	<i>Candida albicans</i>	ATCC 2601

1.2. Matériel non biologique

L'ensemble du matériel de laboratoire (appareillages, verreries, réactifs) utilisé au sein de notre étude expérimentale, sont regroupés en **annexe 1**.

2. Méthodes

Notre étude se divise en deux étapes : la première réalisée sur terrain (étude ethnobotanique), et la deuxième réalisée au laboratoire.

2.1. Enquête ethnobotanique

Dans le cadre de la valorisation d'une plante aromatique qui est *Calamintha officinalis M.*, nous avons mené une étude ethnobotanique pendant un mois dans la région de Koléa (wilaya de Tipaza) ; la zone d'étude est présentée sur la **Figure 03**. Cette étude vise essentiellement de la mise en valeur des savoirs sur l'utilisation traditionnelle de cette espèce médicinale à l'aide d'un questionnaire (**Annexe 2**) adressé à deux catégories des personnes :

- **1^{ère} catégorie** : est composée de différents groupe de la population aux quelle nous soumis un questionnaire qui a pour but de regrouper des informations sur la plante étudiée, cette enquête a concerné un échantillonnage de 100 personnes choisies au hasard des deux sexes, de différents âges (16 à 80 ans) et de différents niveau intellectuels.
- **2^{ème} catégorie** : cette catégorie comporte des gens spécialisés dans la phytothérapie: trois phytothérapeutes, dix herboristes et deux tradipraticiens afin de réunir des informations précises et plus fiables sur la plante.



Figure 03 : Carte géographique de la zone d'étude, (Michelin ,2014).

2.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un ensemble des réactions chimiques simples permettant de détecter les différents composés chimiques existant dans la plante. Les tests sont basés sur l'utilisation de la poudre végétale ou bien l'infusé de la plante.

2.2.1. Préparation de l'infusé

Nous avons suivi la méthode utilisée par SAIDAL qui suit le protocole mentionné par Bruneton (1999) :

Mettre 10 g de poudre dans 100 ml de l'eau bouillante, et on laisse infuser pendant 10 à 15min, puis on filtre avec papier whatman pour obtenir l'extrait aqueux. Après filtration nous avons compléter le volume a 100 ml avec l'eau distillé.

2.2.2. Mise en évidence des métabolites secondaires

❖ Les phénols

a- Les anthocyanes

Quelques gouttes d'ammoniaque 1/2 sont ajoutées à 5 ml d'infusé.

- La réaction donne une coloration bleue en présence des anthocyanes.

b- Les leuco-anthocynes

2 g de poudre végétale sont additionnées à 20 ml d'un mélange de propanol / acide chlorhydrique (v/v), ensuite le mélange est placé dans un bain marie bouillant pendant quelque minutes.

- Une coloration rouge se développe en présence des leuco-anthocyanes.

c- Les flavonoïdes

5 ml d'infusé sont additionnés à 5 ml d'acide chlorhydrique concentré à 97% (HCl), un copeau de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique.

- En présence des flavonoïdes, la phase organique est rouge orangé

d- Les tannins

Quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 5% sont ajoutées à 5ml de l'infusion.

- La réaction donne une coloration bleue noire en présence des tannins.

1- Les tannins galliques

Après filtration, on prend 15 ml d'infusé, on rajoute 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl₃ à 5%.

- La réaction est positive lorsque la coloration bleu foncé apparaît.

2- Les tannins catéchiques

15 ml d'infusé soit additionnés à 7 ml de réactif de stiasny.

- En présence des tannins catéchiques, on obtient une coloration rouge.

❖ Les dérivés quinones

1- Quinones libres

2g de poudre végétale humectés par 2 ml d'acide chlorhydrique à 97 %, sont mises en contact pendant 3h dans 20 ml de chloroforme, on filtre le mélange puis le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque 1/2.

- La formation d'une coloration rouge présence des quinones libres.

2- Quinones combinés

2 g poudre végétale sont additionnées avec 5 ml d'acide sulfurique et porter à reflux pendant 2 heures.

La solution extractive est filtrée puis épuisée par 20 ml de chloroforme .Cette solution chloroformique est évaporée à sec puis épuisée par l'Ammoniaque (1/2).

- La réaction donne une coloration rouge en présence des quinones combinées.

❖ Les alcaloïdes

5 g de poudre végétale humectée avec 50 ml d'ammoniaque (1/2), sont macérées pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange éther – chloroforme (3v/1v) Le filtrat est épuisé par l'acide chlorhydrique 2 N.

- Des réactions de précipitation sont effectuées sur la solution chlorhydrique en présence d'alcaloïde, le réactif de dragendorff donne un précipite rouge.

❖ Les senosides

Dans une fiole, mettre 2.5 g de poudre végétale, puis rajouter 50 ml d'eau distillée et 2 ml d'acide chlorhydrique concentré (à 97%), le mélange est chauffé dans un bain marie pendant 15 min .Après refroidissement agiter avec 40 ml d'éther. La couche étheré est séparée et séchée avec le sulfate de sodium anhydre, ensuite évaporer à siccité.

Au résidu refroidi, rajouter 5 ml d'Ammoniaque diluée (1/2) ensuite elle se développe une coloration jaune ou orange.

- Le chauffage de cette solution au bain marie pendant 2 min donne une coloration violette rouge en présence des sénosides.

❖ Les glucosides

Quelques gouttes de l'acide sulfurique N sont ajoutées à 2 g de poudre végétale.

- La réaction donne une coloration rouge brique ensuite violette à la présence des glucosides.

❖ Les coumarines

Faire bouillir à reflux 2g de poudre dans 20 ml d'alcool éthylique (éthanol) pendant 15 min puis filtrer. À 5 ml du filtrat rajouté 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% et quelques gouttes d'HCl à 10% (acide chlorhydrique).

- La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.

❖ Saponosides

à 2ml d'infusé rajouter quelques gouttes d'acétate de plomb

- La formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides.

2.3.Coupes histologiques

Dans le but de chercher la localisation des sites sécréteurs des essences aromatiques, une étude microscopique a été réalisée sur des coupes au niveau de la tige et la feuille de la plante en utilisant la technique de la double coloration (vert de méthyle-rouge Congo).

❖ Mode opératoire

A l'aide d'un bistouri, on découpe des feuilles et des tiges sélectionnées de manière à obtenir des tranches transversales très fines .ces coupes sont déposées dans des tamis prêt à la coloration et sont trempées successivement dans :

- 1- L'eau de javel 10 à 15 min pour éliminer le contenu cellulaire.
- 2- l'eau pendant 10 à 20 min pour le rinçage.
- 3- L'acide acétique à 1% pendant 1min pour neutraliser le PH.
- 4- l'eau pendant 10 à 20min pour le rinçage.
- 5- Le vert de méthyle pendant 5 à 10 min pour la coloration des parois lignifiées et /ou subérifiées en vert, bleu ou violet.
- 6- l'eau pendant 10 à 20 min pour le rinçage
- 7- Le rouge congo pendant 10à 20 min pour la coloration des parois pectocellulosiques.
- 8- L'eau pour le dernier rinçage des coupes.

2.4.Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par deux méthodes : entrainement à la vapeur d'eau et hydrodistillation.

2.4.1. Entrainement à la vapeur d'eau

❖ Mode opératoire

Le procédé d'extraction consiste à allumer le chauffe ballon et porter l'eau à ébullition pendant trois heures. La vapeur dégagée traversera un ballon d'une capacité de 2 L, contenant 122g de la masse végétale finement coupée donc les cellules éclatent et libèrent les composés volatils qui s'évaporent. Le mélange gazeux est ensuite véhiculé vers le réfrigérant ce qui permet sa condensation. Cette dernière constituera l'hydrolat qui est recueilli dans l'ampoule à décanter (**Figure 04**).

Pour la récupération de l'HE nous avons procédé à la séparation liquide- liquide avec un solvant organique éther diéthylique, après la décantation, la phase organique contenant l'huile essentielle se trouve dans la partie supérieure. L'huile est concentrée par évaporation totale de l'éther diéthylique à l'aide d'un rotavapor (32°C). L'extraction a été répétée trois fois.

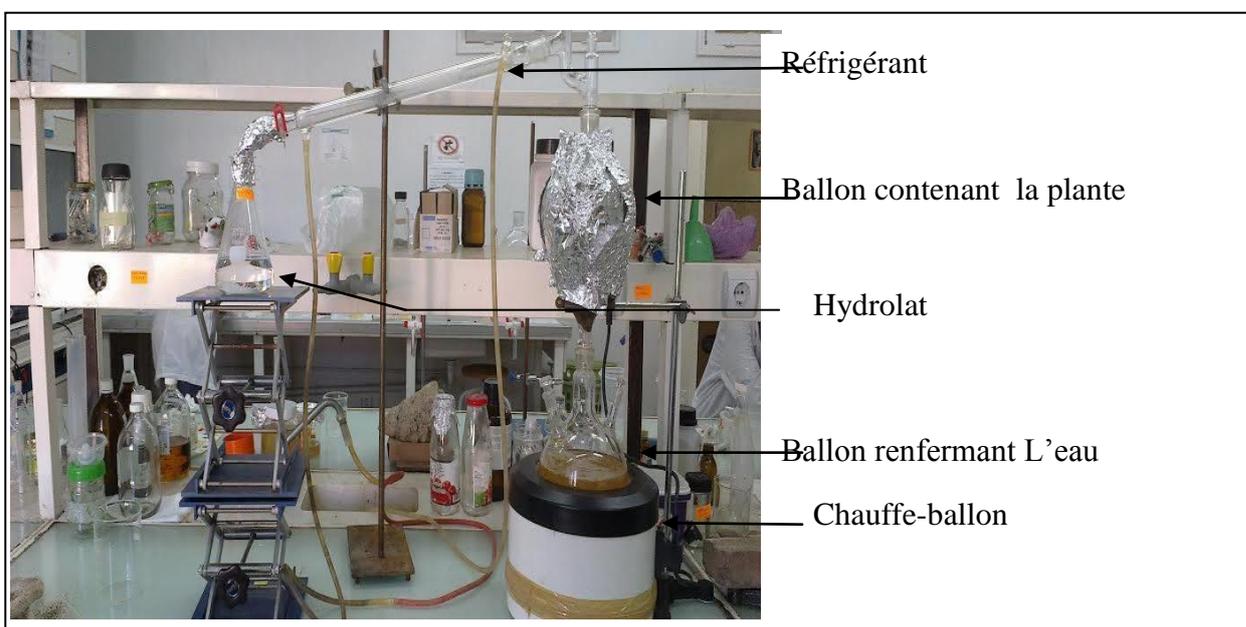


Figure 04 : Montage de l'entrainement à la vapeur, (**Originale, 2015**).

2.4.2. Hydrodistillation

❖ Mode opératoire

L'hydrodistillation est assurée grâce à un appareil de type clevenger (**Figure 05**). Ce procédé consiste à immerger 122g de la matière végétale dans 2 L d'eau, l'ensemble est porté à ébullition pendant une heure et demi à deux heures pour les trois répétitions, la vapeur condensée conduit à la formation de deux phases :

- Une phase organique (huile essentielle) : qui est séparée de l'eau par simple décantation.
- Une phase aqueuse (eau aromatique ou hydrolat).

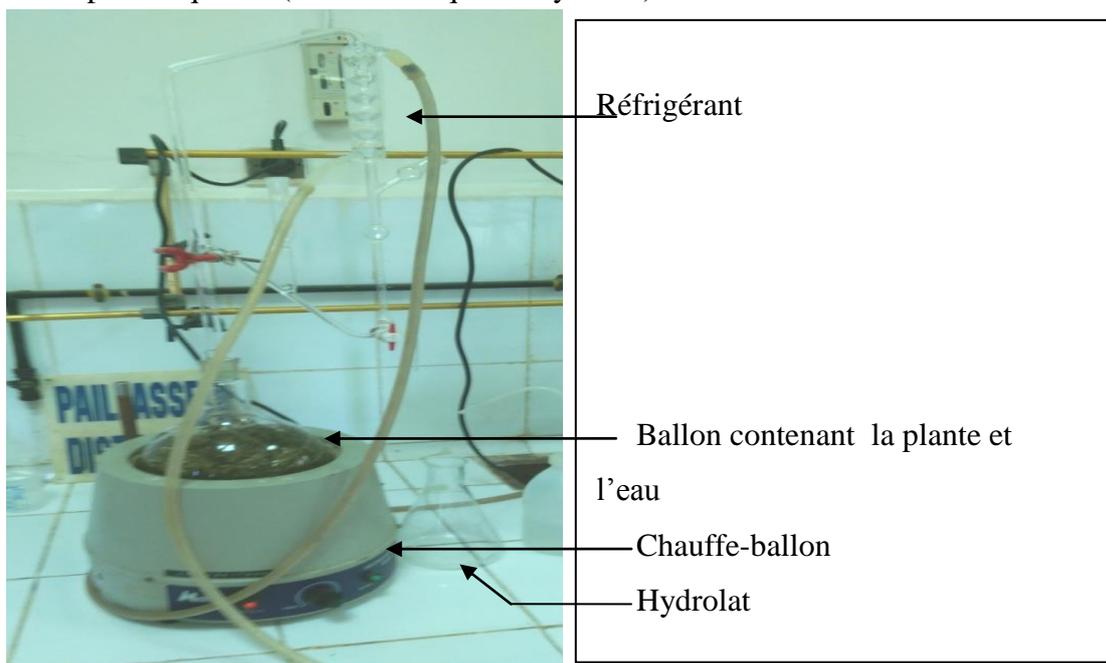


Figure 05: Montage d'hydrodistillation(**Originale, 2015**)

2.4.3. Calcul de rendement

Le rendement de l'HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE extraite et la masse du matériel végétal traité (**AFNOR, 1986**). Le rendement est exprimé en pourcentage :

$$R(\%) = \frac{M_{HE}}{M_S} \times 100$$

R : Rendement de l'HE en %.

M_{HE} : Quantité d'huile essentielle récupérée en g.

M_S : Quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

Les huiles essentielles sont recueillies et conservées au réfrigérateur à 4°C dans des bouteilles sombres pour les préserver de la chaleur.

2.4.4. Caractères organoleptiques de l'huile essentielle

Les caractères organoleptiques de l'HE regroupe tout ce qui perceptible par les sens dont l'odeur, aspect et la couleur.

2.5. Evaluation des activités biologiques

2.5.1. Activité anti-inflammatoire

La mise en évidence de l'activité anti -inflammatoire a été effectuée selon la méthode de **Levy et al.,(1969)** (l'œdème à la carraghénine).

❖ Principe

L'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

Cette étude permet de comparer la réaction de l'œdème plantaire après administration du produit anti-inflammatoire à tester et du produit de référence correspondant.

❖ Mode opératoire

Le test consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'infusion (**Annexe 05**) de la partie aérienne du calament .Pour assurer l'effet anti-inflammatoire, les souris sont réparties en 3 lots de 6 souris chacun, dont deux lots traités et un lot témoin ; ils ont mis à jeun avant l'expérimentation .Alors que le gavage se fait à l'aide d'une sonde gastrique.

➤ Au temps T0

L'administration aux 03 lots les suspensions suivantes :

-**Lot témoin** : Les souris reçoivent un volume de 0.5ml d'eau physiologique.

-**Lot essai** : Les souris reçoivent un volume de 0.5ml de l'extrait aqueux de *Calamintha officinalis M.*, à la dose de 700 mg/kg(**Figure 06**).

- **Lot de référence** : les souris reçoivent 0.5 ml d'un produit anti- inflammatoire (Diclofénac)d'une dose de 3,75mg/kg (1 comprimé de 75 mg dans 500 ml d'eau physiologique).



Figure 06 : Administration par voie orale de l'extrait aqueux,(Originale, 2015).

➤ **Au temps T0 + 30min**

L'induction de l'inflammation par l'injection de 0.025ml de la solution de carraghénine à 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche de tous les souris mis en expérience(Figure 07).



Figure 07 : Injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche de la souris,(Originale, 2015).

➤ **A temps T0+ 04 H**

En sacrifiant les souris par l'éther puis en coupant leurs pattes postérieures au niveau de l'articulation afin de les pesées sur une balance analytique(**Figure 08**).



Figure 08 : Découpage des pattes ,(Originale, 2015).

➤ **Expression des résultats**

- calcul des moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et la patte droite de chaque lot.
- calcul du % d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) par la formule suivante :

$$\%d'œdème = \frac{\text{Moyenne des poids des pattes gauches} - \text{moyenne des poids des pattes droites} \times 100}{\text{Moyenne des poids des pattes droites}}$$

- calcul du % de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ d'œdème témoin} - \% \text{ d'œdème essai} \times 100}{\% \text{ d'œdème témoin}}$$

2.5.2. Activité antispasmodique

Nous avons utilisées le test de la torsion (**Writhing test**) pour l'évaluation de l'activité antalgique périphérique de l'extrait aqueux (**Annexe 05**).

❖ Principe

L'injection de l'acide acétique à 1%(substance irritante) par voie intra-péritonéale chez les souris provoque des mouvements de torsion de l'abdomen avec étirement des pattes postérieures ce qui peut être réduite par un produit antalgique.

❖ Mode opératoire

➤ Au temps T0

L'administration aux 03 lots de 6 souris les suspensions suivantes :

-Lot témoin : les souris reçoivent 0.5ml d'eau physiologique par voie orale.

-Lot essai : Les souris reçoivent un volume de 0.5ml de l'extrait aqueux de *Calamintha officinalis M.*, à la dose de 700 mg/kg.

- Lot de référence : Les souris gavées avec 0.5ml par le médicament de référence Spasfon® à la dose de 0.025mg/ml.

➤ Au temps T0 +30min

L'injection de 0.2 ml d'une solution d'acide acétique à 1 % par voie intra-péritonéale dans chaque souris (**Figure 09**).



Figure 09 : Injection de l'acide acétique, (**Originale, 2015**).

➤ Au temps T0 +35min

Nous comptons le nombre de crampes par l'observation directe de souris séparées chacune dans une cage pendant 10 minutes.

➤ Expression des résultats

- calcul de moyennes arithmétiques des crampes pour chaque lot.
- calcul de pourcentage de réduction de crampes (pourcentage de protection) chez les souris traitées par rapport aux témoins, selon la formule suivante :

$$\% \text{ de protection} = \frac{\text{Moyenne des spasmes du lot témoin} - \text{Moyenne des spasmes du lot essai} \times 100}{\text{Moyenne des spasmes du lot témoin}}$$

2.5.3. Activité antimicrobienne

Dans ce test, nous avons utilisées la technique d'aromatogramme qui est une méthode de diffusion en milieu solide.

❖ Principe

Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antimicrobienne de l'HE et l'infusé de *Calamintha officinalis* M. Des disques absorbants stériles de 9mm sont imprégnés d'une quantité de l'HE et de l'infusé à tester qui sont déposées sur une gélose inoculée avec les souches testées. La diffusion de ces derniers dans la gélose permet d'inhiber la croissance des germes tout autour du disque (zone d'inhibition).

La lecture des résultats après incubation est faite par mesure des diamètres des zones d'inhibition de chacune des souches, **(Pharmacopée Européenne, 2002)**.

❖ Mode opératoire

➤ Préparation de la première couche de milieu

- Faire fondre les milieux (MH) et (SAB) dans un bain marie à 95°C.
- Verser aseptiquement une première couche des deux milieux dans des boites de Pétri à raison de 15 ml par boite.
- Laisser refroidir et solidifier sur pailleasse.

➤ **Préparation de l'inoculum**

- Réaliser des suspensions troubles en prélevant 3 à 4 colonies bien isolées et identiques à partir d'une culture jeune de 18 h pour les bactéries et de 48 h pour la levure, qu'on dépose dans 5 ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex.

-On réalise une première lecture de la concentration de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm. On estime la densité optique qui doit être 0.5 pour les bactéries et 1.5 pour les levures. Les valeurs citées ci-dessus correspondent à une concentration optimale de 10⁷ à 10⁸ germe / ml pour les bactéries. Si une des valeurs de la densité optique trouvée à la première lecture n'est pas comprise aux valeurs citées, on l'ajuste notre inoculum soit, en ajoutant de l'eau physiologique (Na Cl à 9%), si elle est inférieure en ajoutant des colonies.

-A chaque fois une nouvelle lecture est réalisée jusqu'à l'ajustement de la suspension aux valeurs désirées. L'inoculum doit être utilisé suivant sa préparation.

➤ **Préparation de la deuxième couche du milieu**

-Faire fondre les deux milieux (MH) et (SAB), on les laisse refroidir jusqu'à une température de 45°C et on transvase 50 ml de chaque milieu dans des flacons stériles.

- Devant un bec-benzène, on ensemence les milieux avec 200 µl de chaque suspension et on agite manuellement, puis on dépose rapidement 4 ml de chaque milieu ensemencé sur la surface de la première couche de gélose solidifiée.

- Etaler immédiatement la couche en faisant pivoter la boîte sur elle-même.

- Laisser solidifier sur la paillasse.

➤ **Dépôt des disques**

-A l'aide d'une pince stérile, prélever à chaque fois un disque stérile. Ce disque est imbibé avec l'échantillon à tester (HE et l'infusé)

- Déposer les disques sur la surface de la gélose.

-Laisser diffuser les boîtes sur paillasse pendant 30 min, incuber à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures.

➤ **Expression des résultats**

Les échantillons étudiés possèdent une activité antimicrobienne si le diamètre de la zone d'inhibition obtenu après incubation dépasse le diamètre du disque absorbant.

Selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne de **Meena et Sethi (1994)**, l'huile essentielle est :

Fortement inhibitrice lorsque : $D > 28$ mm

Modérément inhibitrice lorsque : $16\text{mm} > D < 28\text{mm}$

Légèrement inhibitrice lorsque : $10\text{mm} > D < 16\text{mm}$

Non inhibitrice lorsque : $D < 10\text{mm}$.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats de l'étude ethnobotanique

Cette étude nous a permis de rassembler des informations très importantes auprès de différentes catégories de personnes interrogées. Les résultats sont représentés dans les figures (10, 11, 12.), les tableaux (2, 3) et l'Annexe 3.

1.1. Résultats de la 1^{ère} catégorie

1. Connaissance de la plante selon l'âge, le sexe d'appartenance, le niveau intellectuel

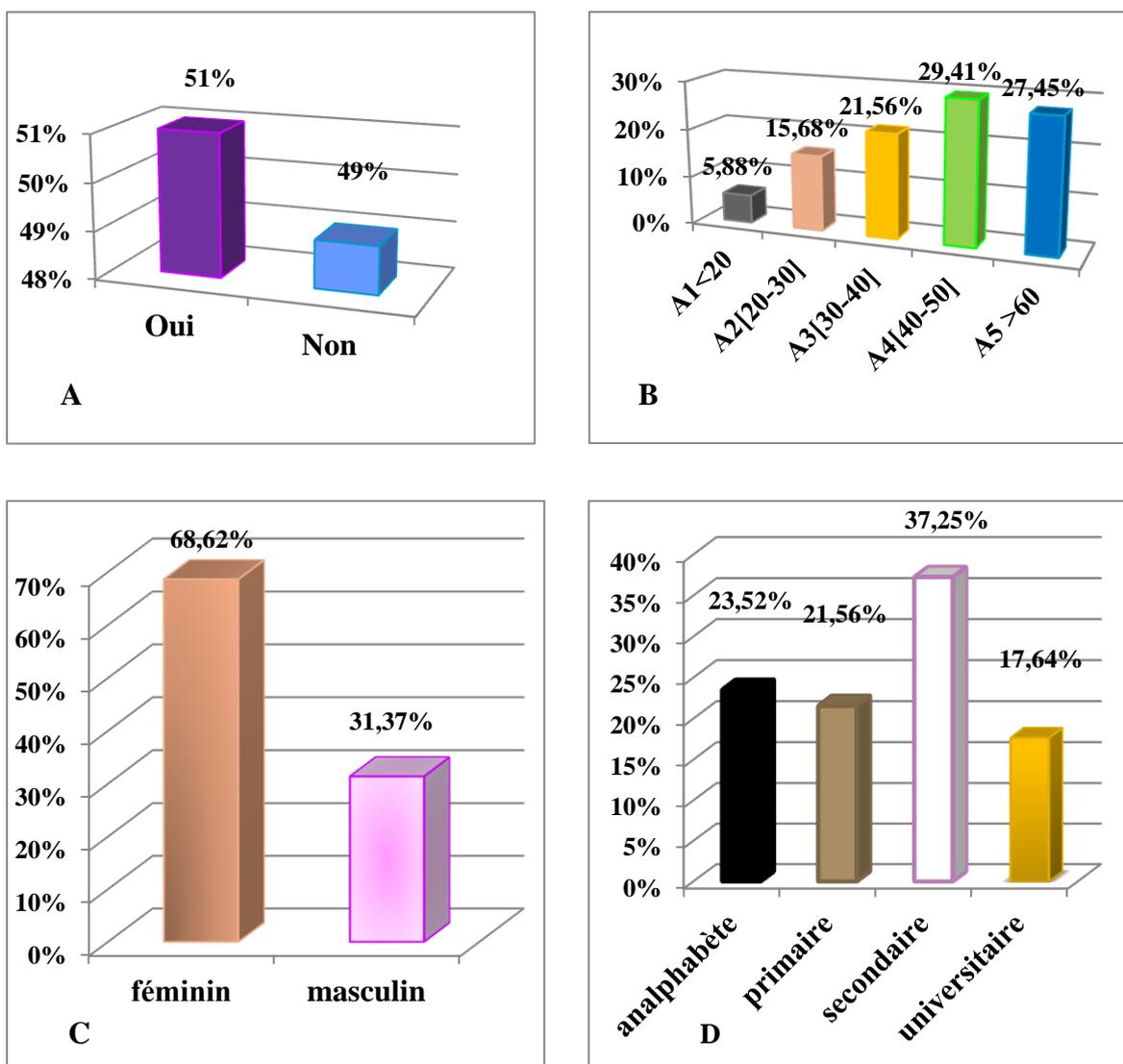


Figure 10 : la connaissance de la plante (A) selon l'âge (B), le sexe d'appartenance (C) et le niveau intellectuel(D)

La **figure 10 (A)** révèle que **51 %** des gens questionnés connaissent la plante par rapport à **49%** ; dont **68.62 %** sont des femmes contre **31.37%** de la population masculine (**Figure 10 (B)**).

La **figure 10 (C)** montre que le calament est très connu chez toutes les tranches d'âge avec une prédominance chez les personnes qui ont un âge entre 40 et 50 ans (**29.41%**), cependant la connaissance des personnes âgées de plus de 50ans (**27.45%**) présente aussi un grand intérêt. Par ailleurs, on remarque que les moins de 20 ans possèdent une connaissance non négligeable (**5.88%**), ce qui traduit la transmission du savoir empirique traditionnel des personnes âgées vers les jeunes. Alors que les catégories d'âge (20-30) et (40-50) présentent un taux de **15.68%** ,**21.56%** à la suite.

Suivant la **figure 10 (D)** on constate que la grande majorité des connaisseurs de *Calamintha officinalis M.*, sont des analphabètes et des personnes ayant un niveau secondaire avec un taux de **23.52%** et **37.25%**. Néanmoins, les personnes ayant le niveau de l'école primaire ont un pourcentage non négligeable (**21.56%**) ; alors que celles ayant un niveau d'études universitaire, connaissent très peu cette plante médicinale (**17.64%**).

2. Nom de la plante et domaine d'utilisation

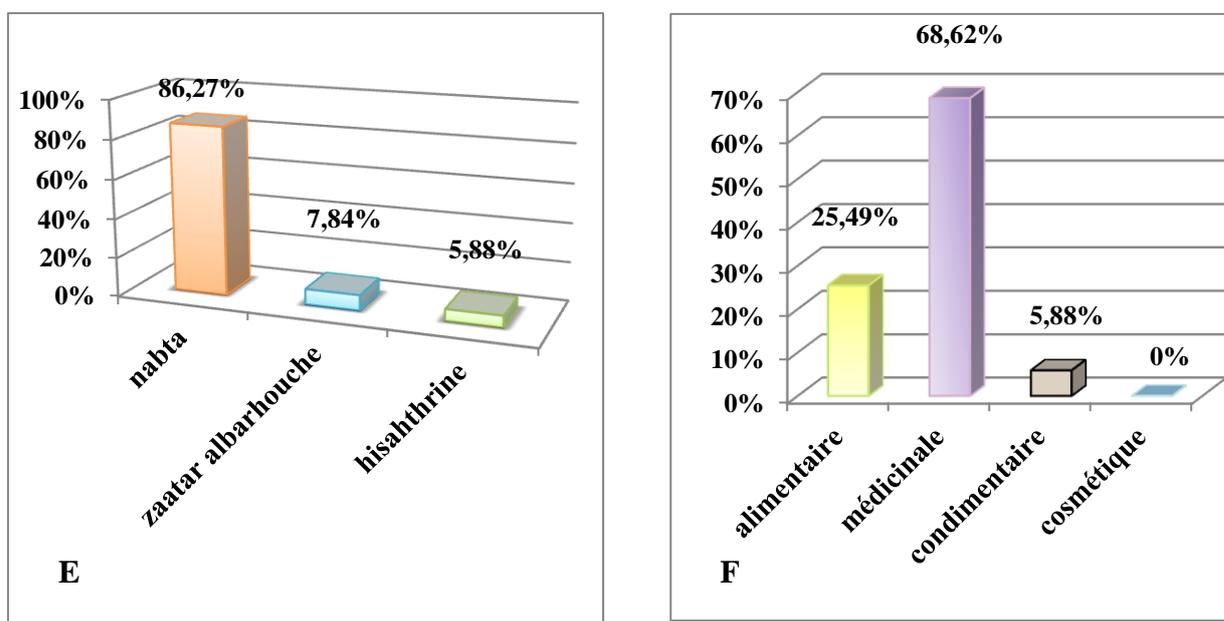


Figure 11: le nom local (E) et les différents domaines d'utilisation (F).

La majorité des personnes interrogées connaissent la plante sous le nom « nabta » (**86,27%**), alors que **7,84%** par l'appellation « zaâtar albarhouche » et **5,88%** des personnes la connaissent par « hisahthrine » (**Figure 11 (E)**).

D'après les résultats présentés dans la **Figure 11 (F)**, nous remarquons que la plante est très utilisée dans le domaine médicamenteux (**68,62%**), alors que **25,49%** des personnes interrogés l'utilisent dans le domaine alimentaire et parfois comme condiment (**5,88%**).

3. Partie utilisée de la plante, la maladie préconisée et le mode d'emploi

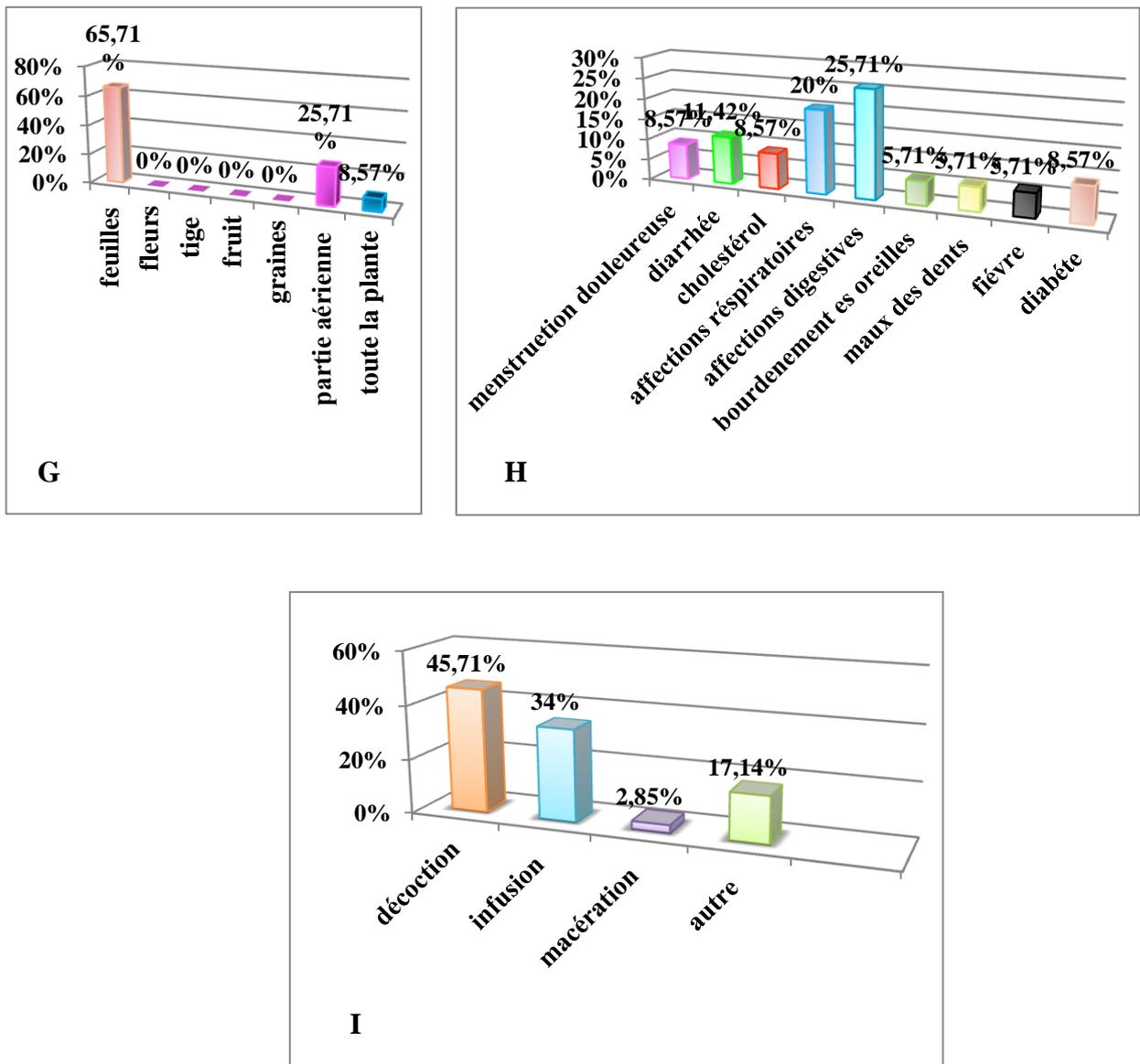


Figure 12 : les parties utilisées de la plante (**G**), les maladies préconisées (**H**) et le mode d'emploi (**I**).

Les résultats que nous avons obtenus (**Figure 12 (H)**), montrent que la plante est beaucoup plus utilisée par la population dans le traitement des affections digestives (**25,71%**) puisque cette plante est très connue comme antispasmodique et est indiquée essentiellement dans le traitement des maladies de system digestif, même pour soulager les affections respiratoires (grippe, rhume, toux, asthme.....) (**20%**). Elle est recommandée aussi en cas

de diarrhée (11.42%), menstruation douloureuse et cholestérol (8.57%), le diabète (5.71%), bourdonnement des oreilles(5.71%) , fièvre et maux des dents(5.71%).

Nous constatons que trois parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle populaire notamment les feuilles avec un taux de 65.71% suivi par la partie aérienne (25.71%) et la plante entière (8.57%). (Figure 12 (G))

Les résultats de la figure 12(I) révèlent que la décoction et l'infusion sont les deux modes de préparation les plus utilisables par un taux respectivement de 45.71% et 34% Cependant la macération est faiblement utilisée (2,85%) tandis que le taux de 17.14% présente les autres modes d'utilisation (inhalation, mélangées au huile d'olive.....)

Nous avons constaté aussi que 74.28% de la population utilisent eux-mêmes la plante comme remède contre des maladies bien déterminées mais 25.71% disent qu'ils ne l'ont jamais utilisée.

Toutes les personnes interrogées affirment que le calament permet une guérison des maladies traitées et une amélioration de l'état de santé.

1.2. Résultats de la 2^{ème} catégorie

Les informations obtenues auprès des phytothérapeutes, des herboristes et des tradipraticiens sont illustrées ci-dessous :

➤ Phytothérapeutes

Tableau 2 : Informations obtenues du phytothérapeute :

Phytothérapeute Informations	1	2
Age	36	48
Sexe	Féminin	Féminin
Niveau intellectuel	Universitaire	Universitaire
Nom de la plante	/	Nabta, (<i>Calamintha officinalis</i>)
Domaine utilisée	/	Médicale
Maladie préconisée	/	Antivirale, antigrippale, digestive et génitale
Partie utilisée	/	Feuilles, racines
Mode d'utilisation	/	Hydrolat
Le savoir	Médecin généraliste, formation en phytothérapie	Phytothérapeute, formation privée, passage par plusieurs phytothérapeutes.

Les deux phytothérapeutes interrogées sont des femmes qualifiées en phytothérapie. L'une est un médecin généraliste. Elle connaît la plante mais elle ne l'utilise pas dans ses traitements.

L'autre est une phytothérapeute qui connaît la plante sous l'appellation « Nabta » ainsi qu'elle l'utilise pour ces vertus : antivirale, anti grippale, digestive et génitale.

Cette phytothérapeute utilise uniquement les feuilles et les racines qui sont cueillis en été à l'état frais, pour préparer des hydrolats aux patients.

➤ Tradipraticiens

Tableau 3: Informations obtenus du tradipraticiens:

Tradipraticien Informations	1	2	3
Age	61	72	74
Sexe	Masculin	Féminin	Masculin
Niveau universitaire	Analphabètes		
Nom vernaculaire	Nabta		/
Domaine utilisée	Médicinale		/
Maladie préconisée	Sinusite, bronchite, menstruation difficile		/
Partie utilisée	Les feuilles		/
Mode d'utilisation	Tisane, inhalation, cataplasme		/
Le savoir	L'expérience accumulée avec l'âge et l'héritage familial.		

Les résultats obtenus à partir de trois tradipraticiens montrent que la plante est largement utilisée, en particulier ses feuilles (cueillis en hiver ou printemps) sous forme d'une tisane, inhalation ou bien cataplasme ; qui constituent un remède efficace contre la sinusite, bronchite, grippe, menstruation difficile.

On note que tous les tradipraticiens sont analphabètes et leurs principales sources d'informations sont dues à l'expérience accumulée avec l'âge en plus l'héritage familial.

➤ Herboristes

-D'après les résultats obtenus nous constatons que **80%** des herboristes connaissent la plante par rapport à **20%**, elle est très connue chez les herboristes âgées entre **20-40** ans et **40-60**ans (**37,5%**), comparativement aux autres ayant plus de **60ans (25%)**.

- Les hommes connaissent beaucoup plus le calament que les femmes, en effet **87,5 %** des hommes contre **12,5 %** de la population féminine ; dont le niveau varie de l'un à l'autre.

- Nous remarquons que la plante est très utilisée dans le domaine médicinal (**62,5%**) alors que **25%** des herboristes interrogées l'utilisent dans le domaine alimentaire et parfois comme condiment (**12,5%**).

-D'après les herboristes la plante est connue sous le nom « nabta », cueillit pendant la période allant de l'automne jusqu' à printemps. Ils recommandent l'utilisation de la partie aérienne surtout les feuilles sous forme : d'infusion, cataplasme, mélangée au huile d'olive ou bain afin de traiter divers maladies tel que les gaz intestinaux, les affections des voies respiratoire (la grippe, la toux, les rhumes, les affections broncho- pulmonaires), les douleurs de l'estomac, diarrhée, bourdonnement des oreilles.

-Les herboristes questionnées se réfèrent l'origine de ses informations concernant l'utilisation de *Calamintha officinalis M.*, aux transmissions relative des pratiques traditionnelles d'une génération a l'autre ou bien se référant à eux-mêmes soit en consultant des livres de la médecine traditionnelle arabe soit en suivant les programmes télévisés et internet ou bien en se basant sur leur propre expérience grâce à l'existence de nombreuses plantes médicinales dans leurs entourages .

❖ Discussion

L'étude ethnobotanique réalisée dans la région de koléa nous a permis de recueillir les connaissances sur l'utilisation traditionnelle du calament :

le calament est très connu chez toutes les tranches d'âge avec une prédominance chez les personnes âgées, cela peut être expliqué par le fait que cette tranche d'âge a accumulé des connaissances quotidiennes et des expériences vécues durant leur vie dont la majorité des usagers se sont des femmes ; ceci est due à l'utilisation de cette plante par eux dans d'autres domaines que la thérapie et leurs responsabilité en tant que mères afin de maintenir la santé de leurs familles.

Les résultats montrent que la plante est connue par les noms locales : « nabta, zaâtar albarhouche , hisathrine » . Elle est utilisée en particulier dans le domaine alimentaire et médicinal par ce qu'elle ne présente pas des effets nocifs pour la santé quand elle entre dans la préparation des remèdes naturels.

Ces résultats sont similaires à ceux de **Tahri et al., (2001) et Salhi et al.,(2010)** qui ont fait une étude ethnobotanique au Maroc ; Ils révèlent que les personnes âgées et les femmes utilisent beaucoup plus la plante. Ainsi qu'elle est connue par l'appellation « nabta » ou bien « manta ».

L'étude montre une meilleure connaissance des soins traditionnels pratiqués par la population locale pour traiter : les affections digestives, les affections respiratoires ainsi qu'elle est employée en cas de diarrhée, menstruation douloureuse, diabète, bourdonnement des oreilles, fièvre et contre les maux des dents. Par ailleurs, les résultats obtenus montrent également que les feuilles sont les organes les plus utilisés. De même, la décoction et l'infusion sont les principaux modes de préparation et d'administration ceci est liée au choix des gens la méthode la plus simple pour préparer leurs traitements.

Notre résultats est en accord avec ceux trouvées par **Salhi et al., (2010)**, **El-Hilaly et al.,(2003)**, **Hamza(2011)**, qui sont trouvées que la partie aérienne de *Calamintha officinalis M.*, est largement utilisée par la population locale ou elle est préconisée dans le traitement de la grippe, la toux et les douleurs gastriques.

El-Hilaly et al., (2003), lors de leur étude ethnobotanique et l'évaluation économique des plantes médicinales, montrent que la partie aérienne est utilisée contre la fièvre, diabète, sous forme d'infusion. Cependant ces résultats ne diffèrent pas beaucoup à ce que nous avons obtenues. Les résultats de la deuxième catégorie sont mis en évidence pour confirmer les savoirs et les informations concernant l'usage thérapeutique traditionnelle de la plante par la population locale de Koléa . Donc nous avons déduit que les deux catégories ont presque les mêmes connaissances.

2. Résultats du screening phytochimique

Le screening phytochimique effectué sur l'infusé et la poudre de la partie aérienne du *Calamintha officinalis M.*, a permis d'obtenir les résultats regroupés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Résultats de screening phytochimique

Composé	Résultat	Coloration
Anthocyanes	–	Pas de coloration
Leuco anthocyanes	+	Rouge
Flavonoïdes	+	Rouge orangé
Tannins	+	Bleu noire
Tannins galliques	–	Pas de coloration
Tannins catéchéiques	+	Rouge
Quinones libres	+	Rouge
Quinones combinés	+	Rouge

Alcaloïdes	+	Précipite rouge
Senosides	+	Violette rouge
Glucosides	+	Rouge brique ensuite violette
Coumarines	+	Trouble
Saponosides	+	Précipité blanc

Avec + : présence - : absence

D'après le tableau , nous pouvons déduire que la partie aérienne du calament présente une grande richesse en métabolites secondaires tels que les polyphénols : les leuco anthocyanes ,les flavonoïdes, les tanins totaux , les tanins catéchéiques .Ainsi nous notons aussi la présence des saponosides ,des senosides, des coumarines, des alcaloïdes, des glucosides ,des Quinones libres et des Quinones combinés. D'autre part, une absence remarquable des anthocyanes et des tanins galliques a été notée (**Annexe 4**).

L'étude récente du **Singh et al., (2012)**, sur la composition chimique de *Calamintha officinalis M.*, mis en évidence la présence des alcaloïdes, flavonoïdes, glucosides, terpènes stéroïdes, des tanins, des saponines et les polyphénols.

Nos résultats sont en conformité avec ceux obtenus par **Singh et al., (2013)** qui ont montré dans leurs travaux la présence de flavonoïdes, des alcaloïdes, et des triterpènes dans la feuille de *Calamintha officinalis M.* De même **Monforte et al.,(2012)** affirment la présence des polyphénols, tanins catéchiques et des terpènes.

3. Résultat des coupes histologiques

Les meilleures coupes sont sélectionnées et mises entre lame et lamelle pour l'observation au microscope photonique dans le but de déterminer les structures sécrétrices. On a pu constater que les coupes histologiques réalisées dans les organes étudiées montrent l'absence de cellules sécrétrices, de poches sécrétrices ou de canaux excréteurs et la présence d'un tapis de poils épidermiques sur la tige et les feuilles qui sont caractérisés par deux types : poils tecteurs et poils sécréteurs.(**Figure 13**)

-Les poils tecteurs : sont très abondants par rapport aux poils sécréteurs ; ils s'existent sous 2 types : les uns sont unicellulaires; les autres sont pluricellulaires. (**Figure 14 et 15**)

-Les poils sécréteurs : sont responsables à la sécrétion de l'HE ; ces derniers sont de 2 types : les uns sont à pied unicellulaire et à tête unicellulaire ; les autres sont à pied unicellulaire et à tête globuleuse. (**Figure 14 et 15**)

Selon la pharmacopée française (**1989**) et de même les travaux de **singh et al., (2012)** ; ont révélé que les feuilles et la tige possèdent des poils tecteurs et sécréteurs.

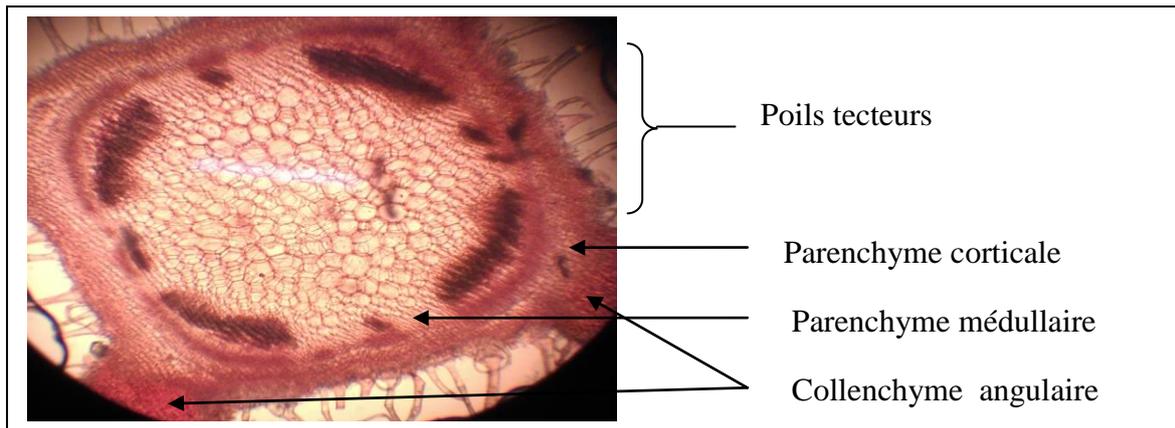


Figure 13: Coupe transversale de tige du calament vue au microscope photonique G : 100x, (Originale, 2015).

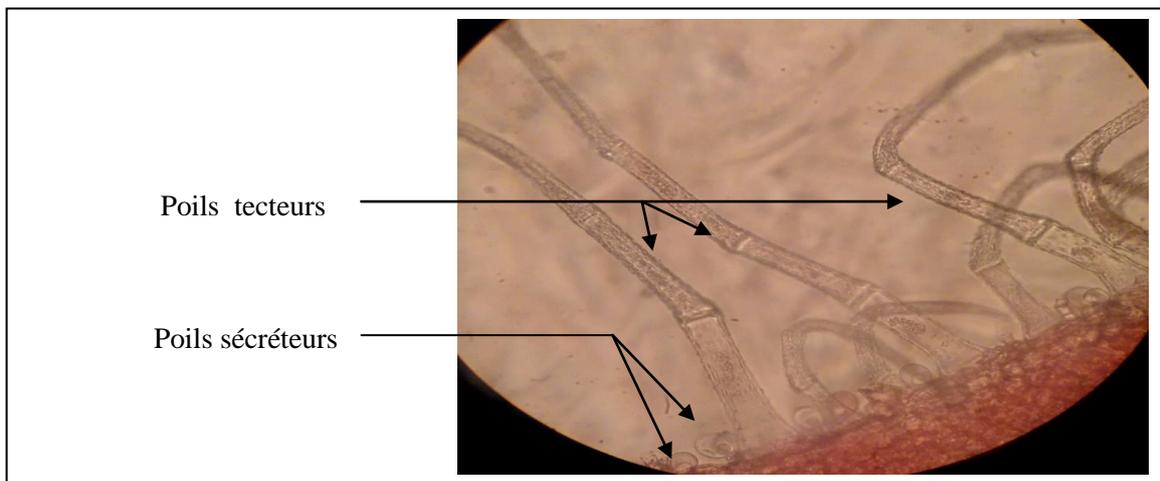


Figure 14 : Poils épidermiques (tecteurs et sécréteurs) de la tige vus au microscope photonique G : 400x , (Originale, 2015).

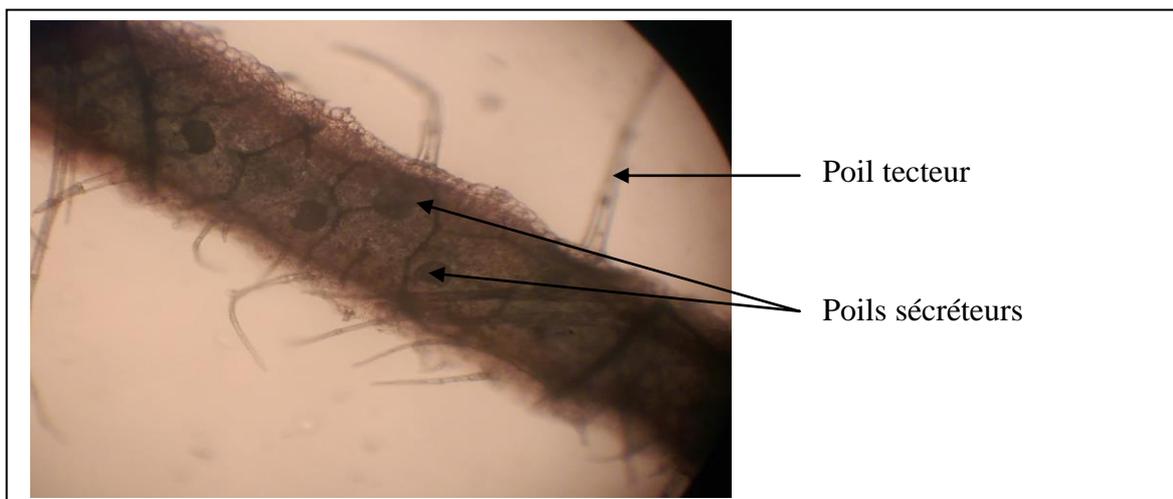


Figure 15 : Coupe transversale de la feuille du calament vue au microscope photonique G : 400x, (Originale, 2015)

4. Résultats de l'extraction

4.1. Rendement en huile essentielle

Nous rappelons que l'huile essentielle extraite à partir des organes aériens sèches comprenant les tiges et les feuilles a été obtenue par deux procédés : entraînement à la vapeur d'eau et hydrodistillation, le rendement d'extraction est illustré dans le tableau 5.

Tableau 5 : Rendements en huile essentielle de *Calamintha officinalis M.*, selon deux méthodes d'extraction.

	Méthode d'extraction	
	Hydrodistillation	Entraînement à la vapeur d'eau
Rendement (%)	0.68	0.35

Suivant le tableau l'extraction par hydrodistillation permet l'obtention d'une huile essentielle avec un rendement supérieur à celui obtenu par entraînement à la vapeur d'eau (respectivement **0.68% et 0.35%**). Donc la méthode la plus performante en rendement est l'hydrodistillation.

D'après les coupes histologiques déjà faites on peut conclure que le faible rendement en HE est étroitement lié aux nombres réduits des poils sécréteurs qui sont responsables de la production et du stockage d'HE.

Le rendement obtenu par hydrodistillation est similaire à celui décrit par la monographie française (**0.6%**). Cependant, les espèces récoltées dans les autres pays ont donné un rendement de **0.5%** qui est faible en comparaison à celui que nous avons trouvé cela a été cité par **Singh et al., (2012)** pour un espèce cultivée en Inde et **Monforte et al., (2011)**, pour un espèce récoltée de l'Egypte.

le rendement en HE que montre l'étude de **Nickavar et al., (2013)** effectué sur l'HE de *Calamintha officinalis M.*, de l'Iran est supérieur à celui de notre espèce (**1.2%**).

Notre rendement est supérieur à celle trouvé par **El Kalamouni (2010)** lors de son étude menée sur l'espèce voisine : *Calamintha grandiflora* de la France (**0,35%**), d'autre part il est inférieur à celui signalé par **Ortiz et al., (1988)** dans le cadre de leurs étude sur un espèce provenant de l'Espagne : *Calamintha sylvatica*, qui ont trouvés un rendement de **1,5%**.

Donc le rendement peut être extrêmement variable suivant différents facteurs dont essentiellement : l'origine, l'espèce, la période de récolte, la durée de séchage et la technique d'extraction, (**Lucette Couderc, 2001**).

4.2. Caractères organoleptiques

Les deux procédés d'extraction nous ont permis d'obtenir une HE dont les caractéristiques organoleptiques sont mentionnées dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : Caractères organoleptiques de l'huile essentielle.

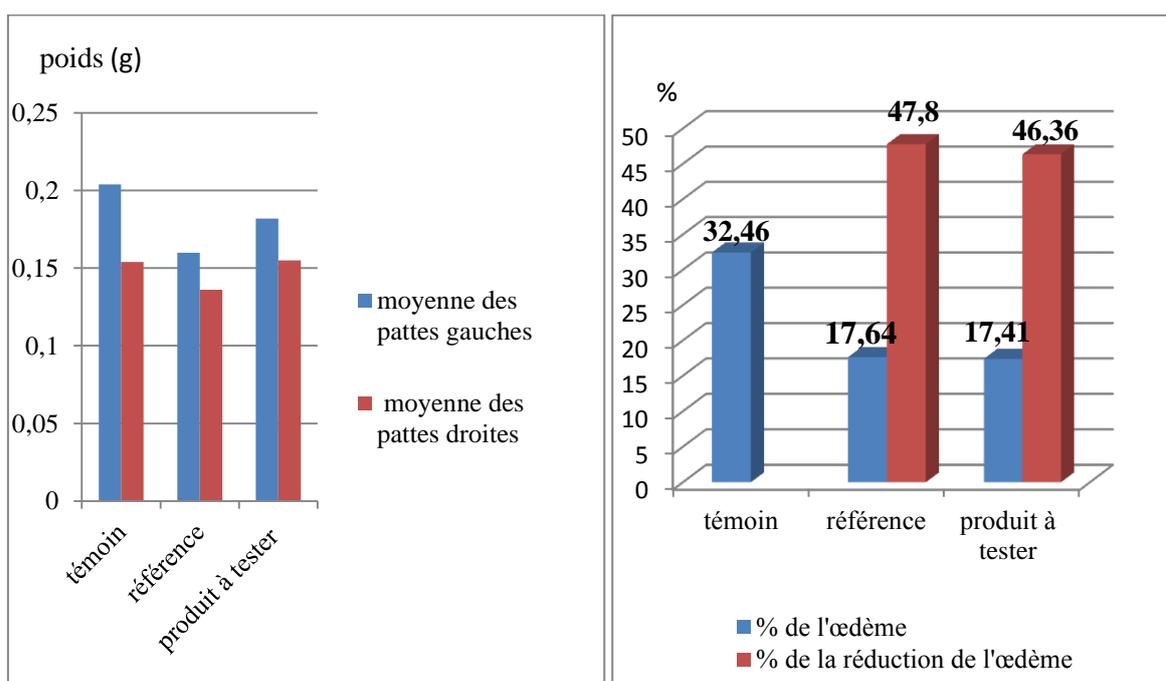
Procédé d'extraction \ caractères	Aspect	Couleur	L'odeur
Entrainement à la vapeur d'eau	Liquide	Jaune foncé	Très forte et mentholé
Hydrodistillation	Liquide	Jaune pale	Mentholé

Selon le tableau les deux huiles extraites sont liquides, d'odeur mentholée et de couleur légèrement différente. De même **Monforte et al.,(2011)** affirment les mêmes caractères organoleptiques de l'huile essentielle de *Calamintha officinalis M.*, de l'Egypte.

5. Résultats des activités biologiques de la plante

5.1. Activité anti-inflammatoire

Les résultats obtenus après l'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire à travers le calcul du poids des pattes chez les trois lots de souris sont présentés dans la **figure 16** et **Annexe 5**.



A: La moyenne des poids des pattes gauches et droite chez les trois lots.

B : Le pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème chez les trois lots

Figure 16: La variation des moyennes du poids des pattes (A), pourcentage de l'œdème et de réduction de l'œdème chez les lots (B).

D'après la **figure (16)** nous constatons une différence entre les pattes enflammées (PPG) et les pattes saines (PPD) après l'injection de la carraghénine dont le poids moyen des trois lots est respectivement : (T) 0.204g, (Déclofenac) 0.160g, (E) 0.182g.

Après les quatre heures qui ont suivi le traitement, le calcul du pourcentage d'œdème montre une augmentation de **32.46%** chez le lot témoin, de plus, on note une augmentation peu remarquable de **17,64%** et **17,41%** chez les lots traités respectivement par Déclofenac et extrait à tester (infusé).

Le calcul de pourcentage de la réduction de l'œdème chez les souris se montre nettement élevé pour notre extrait, qui exprime un effet anti-inflammatoire (**46,36%**) similaire à celui exprimé par le produit de référence (**47,80%**).

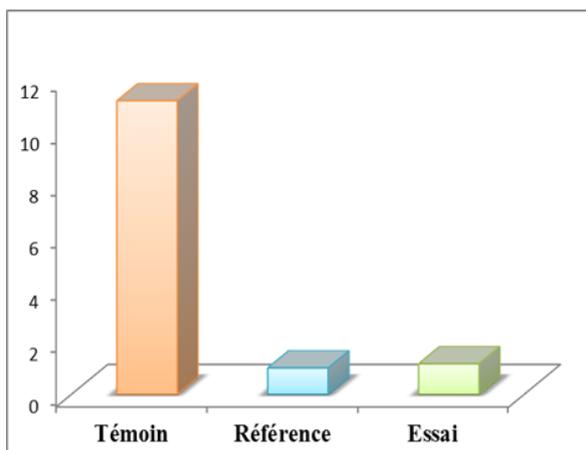
D'après ces données, nous pouvons déduire que l'extrait aqueux de *Calamintha officinalis M.*, a un effet anti-inflammatoire plus au moins important avec un pourcentage de réduction d'œdème très prononcé.

Le screening chimique qualitatif fait est mis en évidence la présence des phénols, des tanins, des saponines qui ont une action anti-inflammatoire.

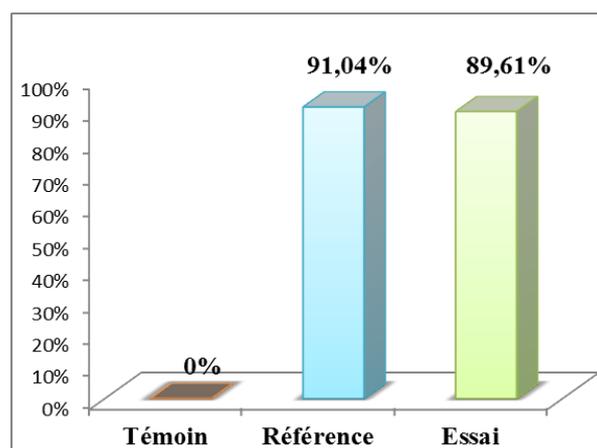
Selon les études faites par **Pacifico et al.,(2015)**, l'activité anti-inflammatoire d'une espèce voisine *Calamintha nepeta* est due à la présence des substances phénoliques. De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation ; d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine ,(**Zeghad,2009**).

5.2. Activité antispasmodique

L'activité antispasmodique ou bien l'activité analgésique périphérique de l'extrait aqueux a été évaluée par le dénombrement des spasmes ou des contractions abdominales induites chez les souris par l'injection de l'acide acétique dans but de calculer le pourcentage de protection. Les résultats de cette étude sont montrés dans **la figure 17 et Annexe 5**.



A: La moyenne des crampes chez les trois lots



B: Le pourcentage de protection des trois lots

Figure 17 : La variation des moyennes de crampes(A) et du pourcentage de protection (B) chez les souris de lot témoin, référence et essai.

Nous rapportons les résultats de l'activité antispasmodique en comparaison avec un antispasmodique de référence : Spasfon. Après 10min de l'injection de l'acide acétique aux trois lots, il apparaît que le lot témoin a un taux de protection nul, tandis que l'administration de notre extrait aux souris peut également inhiber un nombre excellent des contractions par un taux de **89.61%**. Ce pourcentage est très proche à celui du produit de référence (**91.04%**). Donc on peut conclure que l'extrait aqueux de *Calamintha officinalis M.*, expose une activité relaxante des muscles lisses.

D'après le screening chimique, la plante est riche en phénols et des coumarines qui ont souvent des propriétés antispasmodiques.

Selon **Bruneton(1999)**, Les flavonoïdes et les saponosides sont connus pour leurs action antioxydantes et leurs action sur le tractus gastro -intestinal en tant qu'agents antiulcéreux, antispasmodiques, anti -sécréteurs et antidiarrhéiques et elles peuvent être aussi : diurétiques. Il ajoute aussi que les alcaloïdes agissent directement sur le système nerveux et leur action peut aller jusqu'à une action anesthésique locale ou analgésique. Nous supposons que la plante est riche en ces constituants donc ceci peut justifier leur effet antispasmodique.

5.3. Activité antimicrobienne

Les résultats des analyses antimicrobiennes de notre extrait aqueux et huile essentielle sont déterminés dans le tableau **07** et illustrés par la **Figure 18**.

Tableau 7 : Résultats du test antimicrobien de l'extrait aqueux et l'huile essentielle du *Calamintha officinalis M.*

caractères Souches Microbiennes		Zone d'inhibition (mm)		Sensibilité	
		HE	Infusé	HE	Infusé
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	37	09	Fortement inhibitrice	Non inhibitrice
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	09	09	Non inhibitrice	Non inhibitrice
Gram+	<i>Bacillus subtilis</i>	25	09	Modérément inhibitrice	Non inhibitrice
	<i>Staphylococcus aureus</i>	62	09	Fortement inhibitrice	Non inhibitrice
Levure	<i>Candida albicans</i>	54	09	Fortement inhibitrice	Non inhibitrice

D'après les résultats obtenus, on remarque l'absence des zones d'inhibition autour des disques contenant l'extrait aqueux à tester vis-à-vis toutes les souches microbiennes. Donc l'extrait aqueux du *Calamintha officinalis M.*, n'a pas un effet antimicrobien.

L'huile essentielle testée sur les différentes bactéries et la levure a montré une action antimicrobienne très importante. **La figure 18** nous révèle l'absence de zone d'inhibition pour *Pseudomonas aeruginosa* en raison de leur potentiel de résistance très élevé. En revanche, les souches

Staphylococcus aureu, *Escherichia coli*, *Candida albicans* sont fortement sensibles vis à vis notre HE. Alors que, la souche *Bacillus subtilis* s'est montrée modérément sensible.

Les résultats de l'huile essentielle de *Calamintha officinalis M.*, de l'Egypte signalés par **Monforte et al.,(2011)** ont montré une activité antimicrobienne significative dont le diamètre d'inhibition s'étend de 16mm pour *Staphylococcus aureus*, et était égale à 18mm pour *Candida albicans* et 8mm pour *E.coli*.

L'huile essentielle analysée est composée de carvone et des monoterpènes en fraction élevé, ces derniers sont connus pour leurs activités antimicrobiennes. Le carvone possède une meilleure activité antifongique et antimicrobienne, En outre, les composants mineurs qui possèdent activité antimicrobienne pourraient exercer un 'effet synergique avec le carvone, (**Nickavar et a.l, 2013**).

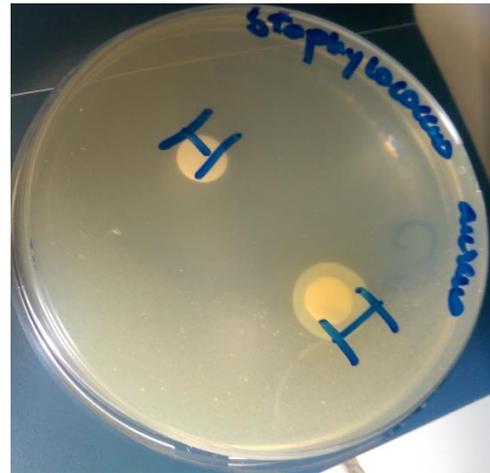
Nos résultats sont semblables aux résultats obtenus par **Nostro et al., (2002)** ; Dont l'huile essentielle de *Calamintha officinalis M.*, utilisée a montré une activité antimicrobienne vis à vis de *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* et *A. Niger*; au contraire, son activité contre *P. aeruginosa* (un organisme intrinsèquement résistante à une grande variété d'agents antimicrobiens) n'a pas été satisfaisante, probablement en raison de l'imperméabilité de la membrane externe.

Les résultats obtenus sont en général en accord avec ceux menés par **Ortiz et al., (1988)** sur l'activité antimicrobienne d'huile essentielle du *Calamintha sylvatica* dont les symptômes observés ont correspondu à une diminution d'activité motrice des différentes souches qui sont : *Bacillus subtilis* , *Escherichia coli* , *Candida albicans*. Les résultats de cette étude préliminaire liés l'activité antimicrobienne de la plante aux composés monoterpéniques qu'ils entrent dans la composition de leur huile essentielle en fraction importante.

En comparant notre travail avec celui de **El kalamouni (2010)**, dans lequel l'huile essentielle d'une espèce sauvage d'origine française *Calamintha grandiflora* a été déterminée vis-à-vis de : *Staphylococcus aureus*(D=9.7mm), *E. coli* (D=10.3mm), *Bacillus subtilis*(D=19.1mm). Donc on peut déduire que notre plante fournit une huile essentielle beaucoup plus efficace vis-à-vis certaines souches microbiennes ce qui confirme leur utilisation potentielle pour la conservation des produits cosmétiques et pharmaceutiques.



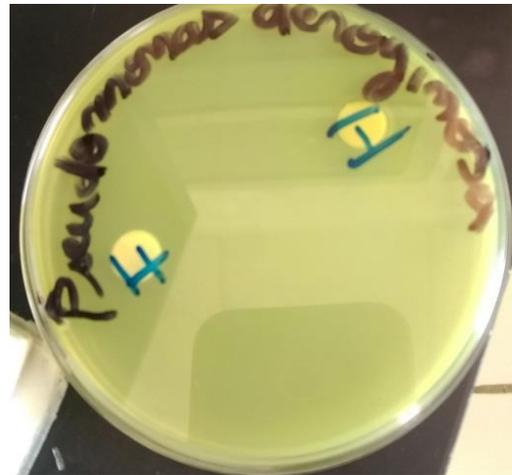
A. *Bacillus subtilis*



B. *Staphylococcus aureus*



C. *Escherichia coli*



D. *Pseudomonas aeruginosa*



E. *Candida albicans*.

Figure 18: Résultats de l'activité antimicrobienne de l'infusé et l'huile essentielle de *Calamintha officinalis* M.

CONCLUSION

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques . Notre étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une plante spontanée, très fréquemment employée en Algérie le calament (*Calamintha officinalis M.*).

L'enquête ethnobotanique réalisée dans la région de Koléa, nous a permis de connaître l'usage fréquente de la plante comme un condiment ou bien pour remédier durablement de nombreux maladies et infections exposées (rhume, grippe, diarrhée, les gaz intestinaux).

Le criblage phytochimique basé sur des tests spécifiques a permis de mettre en évidence la présence des polyphénols : les leuco anthocyanes ,les flavonoïdes, les Tanins totaux , les Tanins catéchéiques et la présence des Saponosides ,des Senosides, des Coumarines, des alcaloïdes, des glucosides ,des Quinones libres et .Ces métabolites secondaires possèdent des activités biologiques intéressantes qui justifieraient l'utilisation abondante de la plante .

Les coupes histologiques réalisées sur les feuilles et la tige nous a permis de localiser les sites de sécrétion de l'HE qui issus des poils sécréteurs au niveau de l'épiderme.

Au cours de l'extraction de l'huile essentielle par deux procédés : entrainement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation, le rendement le plus élevé a été obtenu par l'hydrodistillation(**0.68%**).

Par ailleurs, les résultats du test pharmacologique de l'infusé de *Calamintha officinalis Moech* ont mis en évidence, une activité anti-inflammatoire nettement remarquable avec un pourcentage de réduction très proche à celui de référence. De même, pour l'activité antispasmodique, la plante présente effectivement une activité réelle à travers un pourcentage de protection semblable à celui de référence.

Ainsi que l'HE de cette plante nous a permis de constater qu'elle a une très forte activité inhibitrice sur toutes les souches microbiennes à l'exception de *pseudomonas aeruginosa* .L'HE a un large spectre d'action dont les valeurs de la zone d'inhibition allant de **25mm** jusqu'au **62mm**.

Les résultats positifs démontrés dans cette étude viennent confirmer leur utilisation traditionnelle. Cependant, beaucoup de travaux restent à réaliser tant sur le plan chimique que sur le plan biologique. De cet effet, et comme perspectives on propose :

- D'orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires de ses activités biologiques.
- Détermination et exploitation des substances bioactives de la plante qui pourront répondre aux différents problèmes de la santé .
- L'investigation concernant l'HE de *Calamintha officinalis M.* en raison de leur propriété antimicrobienne.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- ✚ **Arnal-schnebelen B., 2009.**phytothérapie : la santé par les plantes. Dictionnaire Vidal. p15
- ✚ **AFNOR., 1986.** Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », Paris. 57p.
- ✚ **Armitage, J., 2007.** Encyclopédie des plantes vivaces. Edition : Dorling kindersley.p102.
- ✚ **Baba Aissa, F.,2011.** Encyclopédie des plantes utiles Flore méditerranéenne (Maghreb, Europe méridionale) substances végétales d’Afrique, d’Orient et d’occident. Edition : el maarifa, Alger. p81.
- ✚ **Bec, L., 2013.** Mes 30 plantes pour me soigne au quotidien .Ed Fleurus. P 96
- ✚ **Bellakhdar, D., 1997.**La pharmacopée marocaine traditionnelle, Edition Fenec, Casablanca, p 301.
- ✚ **Belouad,A.,2003.**Les plantes médicinales d’Algérie. Office de publications universitaires.15p.
- ✚ **Boullard, B., 2001.** Plantes médicinales du monde ; croyances et réalités. Ed :Estem.
- ✚ **Bourgeois, L., 2007.**Le grand livre des plantes aromatiques. Edition : Rustica. p 58
- ✚ **Bruneton, J., 1993.**Pharmacognosie phytochimie, plante médicinales. 2èmeEd.Tec &Doc, Paris.
- ✚ **Bruneton, J., 1999.**Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Tec & Doc (Ed). Paris, 575p
- ✚ **Bruneton, J., 2008.**pharmacognosy, phytochemistry,medicinal plants .Lavoisier. Paris. p18.
- ✚ **Couplan, F.,2012.** Les plantes et leurs noms : histoire insolites. Edition :Quae , France .p35
- ✚ **Delille, L., 2007.** Les plantes médicinales d’Algérie. Edition Berti. Alger. p 5
- ✚ **El Kalamouni , C ., 2010.**Caractérisations chimiques et biologiques d’extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat, Toulouse, p227
- ✚ **El-Hilaly J, Hmammouchi M, Lyoussi B, 2003.**Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco).Journal of Ethnopharmacology.149–158
- ✚ **FormisanoC,Rigano D, Napolitano F, Senatore F, Arnold NA, Piozzi C, Rosselli S.,2007 .**”Volatile constituents of *Calamintha origanifoliaboiss.* growing wild in Lebanon. Natural Product Communications ».Vol. 2. No. 12 ,1253 – 1256.

- ✚ **Gazengel J., Orecchioni A., 2013.** Le préparateur en pharmacie - Guide théorique et pratique. Lavoisier, France. p50
- ✚ **Gonzalez T, Casares P, S'anchez R, Ramiro G, Molero M, Pieroni B, Giusti M, Censorii E, Pasquale C., 2007.** « Medicinal plants in the Mediterranean area: Synthesis of the results of the project Rubia », Journal of Ethnopharmacology:341–357
- ✚ **Grieve, M., 2014.** «a modern herbal», Journal of botanical.
- ✚ **Gautier, A., 2008.** Manuelle des plantes médicinales ou description, usage et culture des végétaux indigènes employés en médecine. Edition :Audot. p 313-314
- ✚ **Hamza, N., 2011.** Effet préventif de trois plantes médicinales utilisées dans la wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type deux expérimental induit par le régime « high fat »chez les souris C57BL/6f. thèse de doctorat. Science alimentaire. Constantine, Algerie.56p
- ✚ **Hans, W K., 2007 .**1000 plantes aromatiques et médicinales de A à Z propriétés et usages édition : Terres. p70.
- ✚ **Harbone, JB., 1998 .**Phytochemical methods a guide to modern's techniques of plants analysis, 3rd edition. P 412
- ✚ **Herbert Barton B, Castle T., 1838.** the British flora medica ; or , history of the medicinal plants of great Britain (volume 1).edition: xst,London.p130-134
- ✚ **Herbinet, C., 2004.** Les compléments alimentaires en phytothérapie. Thèse de doctorat. Pharmacie. France.
- ✚ **Iserin P, Masson M, Restellini J P., 2007.** Larousse des plantes médicinales identification préparation soins .Edition : Larousse bordas, paris France. p180.
- ✚ **Judd WS, Campbell C S, Kellogg E A, Stevens P., 2002.** Botanique Systématique : une perspective phylogénétique. Edit : Boeck Université, 250-252pp.
- ✚ **Lamendin H ,Tramini P.,2010.**« Plantes médicinales bucco-dentaires du Languedoc-Roussillon ».
- ✚ **Laurent, B., 2007.** Le grand livre des plantes aromatique. Edition:Rustica.France. 191p.
- ✚ **Laurent, D., 2012.** Les huiles essentielles à l'officine. Thèse de doctorat, pharmacie, France.p21.
- ✚ **Levrault , HB.,1982.** Herbes et épices botaniques et ethnologie. Ed: la fontaine .France.p191
- ✚ **Levy, L., 1969.** « Carrageenan paws oedema in the mousse », Life Science,8.601-606
- ✚ **Lucette, V C., 2001.** Toxicités des huiles essentielles .Thèse de doctorat. Pharmacie.Toulouse.p58

- ✚ **Losch, F.,1908.**les plantes médicinales ; atlas coloré des plantes médicinales. ed : vigot frères.paris.p121-122
- ✚ **Mark, W .,2009.**APG III “the linnean botanical journal of the Linnean society’.the linnean society of London.p 116.
- ✚ **Marc , F.,2004.**Méthodes d’évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. Médecines Sciences. p20
- ✚ **Meyer, C., 2015.** Dictionnaire des Sciences Animales. Montpellier, France.p54.
- ✚ **Meena M R,Sethi V., 1994.**”Antimicrobial activity of essential oils from species”. Journal of Food .P68-70.
- ✚ **Mességué, M., 1975.**Mon herbier de santé. Edition : Robert Laffont, France.p8.
- ✚ **Miller NJ, Sampson J, Candeias LP , Bramley PM , Rice-Evans CA, 1996.**Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. FEBS Letters, p384
- ✚ **Michelin .,2014).**Carte, plan Koléa . Natural earth.
- ✚ **Monforte, MT, Tzakou, O, Nostro,Zimbalatti V, Galati EN., 2011.**« Chemical Composition and Biological Activities of *Calamintha officinalis Moench* Essential Oil”.,Journal of medicinal food, 297–303.
- ✚ **Monforte,MT,LanuzzaF, Pergolizzi S, Mondello F, Tzakou , Galati EM.,2012.** “Protective Effect of *Calamintha officinalis Moench* Leaves against Alcohol-induced Gastric Mucosa Injury in Rats. Macroscopic, Histologic and Phytochemical Analysis’.phytotherapy research. (6):P 839-844.
- ✚ **Nickavar B, Mojab F., 2005.** “Hydrodistilled volatile constituents of *Calamintha officinalis Moench* from Iran”,Journal of Essent Oils Bear Plants,8.23–27.
- ✚ **Nostro A, Cannatelli MA, Morelli L, Cioni , Bader Al, Marino L ,Alonzo V.,2002.** “Efficiency of *Calamintha officinalis* essential oil as preservative in twotopical product types”, Journal of Applied Microbiology. Vol. 97, (No.2), 395-401.
- ✚ **Ortiz AV, Martin MI, Montero MJ, Carron J, San roman I.1988.,** “Pharmacologic Screening And Antimicrobial Activity Of The Essential Oil Of *Calamintha Sylvatica SubspAscendens*”. Journal of ethnopharmacology.323-328.
- ✚ **Pacifico S, Galasso S , Piccolella S, Kretschmer N , Marciano S , Bauer R, Monaco P.,2015 .**Seasonal variation in phenolic composition and antioxidant and anti-inflammatory activities of *Calamintha nepeta* (L.) Savi. Food Research International. Volume 69, Pages 121–132.
- ✚ **Pharmacopée française., 2010.7émeedition.**ANSM, Paris.
- ✚ **Pharmacopée Européenne., 2002.**Strasbourg: Conseil de l’Europe.

- ✚ **Pharmacopée française. 1989.***Calamintha officinalis*. ANSM, paris.
- ✚ **Pieri, F., 1992.** pharmacologie et thérapeutique. Ed : Nelipses. Paris. p 298
- ✚ **Portères, R., 1961.,** « Ethnobotanique : Place –Objet–Méthode –philosophie », journal d'AGRIC, Tropicale et de Botanique appliquée, 1961, N° 4-6.
- ✚ **Portères, R., 1970.** Cours d'ethnobotanique et ethnozoologie. Faculté des lettres. Institut d'ethnologie, paris. p37-38
- ✚ **Paolini V, Dorchies Ph, Hoste H., 2003.** « Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre ». Alter. Agri., 17-19
- ✚ **Quevauvilliers J, Somogyi A, Fingerhut A., 2009.** Dictionnaire médical avec atlas anatomique. Edition : Elsevier Masson. France. 63 -333-450p.
- ✚ **Quézel P, Santa S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S, Paris (Tome 2).
- ✚ **Salhi S, Fadli M, Zidane L, Douira A., 2010.** « Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc) ». LAZAROA .31: 133-146.
- ✚ **Salle, J., 1991.** Les huiles essentielles. Edition Frison-Roche, Paris, 167P
- ✚ **Saint Pierre, IJ., 2013.** Nouveau dictionnaire de botanique. Edt: Baillière .France. P54
- ✚ **Singh P, Jha S, Irchhaiya R., 2012.** “Antidiabetic and antioxidant activity of hydroxycinnamic acids from *Calamintha officinalis Moench*” . Medicinal Chemistry Research. 1717–1721
- ✚ **Singh P, Jha S, Irchhaiya R, Fatima A, Agarwal P., 2011.** « Phytochemical And Pharmacological Potential of *Calamintha officinalis Moench*, international” , journal of pharmaceutical sciences and research, Vol. 3(4): 1001-1004.
- ✚ **Singh P, Jha S, Irchhaiya R., 2013.** « Pharmacognostical et recherche physico-chimique sur la feuille de *Calamintha officinalis* », Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine .1362-1366.
- ✚ **Spichiger R E, Savolainen V, Figeat M, Jeanmond D, Perret ., 2002.** Botanique systématique des plantes à fleur . 3 Edition PPURP presses polytechniques. P413
- ✚ **Tahri N, EL basti A, Lahcen Z, Rochdi A, Douira A., 2012.** « Etude ethnobotanique : Des Plantes Médicinales Dans La Province De Settat (Maroc) », Journal of Forestry Faculty, 12 (2): 192-208.
- ✚ **Valnet, J., 2001,** la phytothérapie se soigne par les plantes .Edition Vigot. p56
- ✚ **Vercauteren, J., 2011.** Pharmacognosie - Formation Commune de Base. Université Montpellier.

- ✚ **Wolfgang, H., 2005.**350 plantes médicinales.De la chaux et Niestlé. Paris, France.P187
- ✚ **Zeghad, N., 2009.**Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de magister. Biotechnologie végétale. Constantine, Algerie.p8.

ANNEXES

Annexe01

Tableau 8 : tableau des appareillages, verreries et réactifs utilisés.

Appareillages	Verreries et autres	Réactifs et solutions
<ul style="list-style-type: none"> - Bain marie - Balance analytique(Figure 19) - Balance pour animaux (Figure 20) - Bec bunsen (Figure 23) - Chauffe ballon - Chambre à U.V (Figure 24) - Etuve d'incubation (Figure 21) - Hotte -microscope photonique -pied à coulisse(Figure 22) -Rotavapor -Sonde de gavage - Réfrigérant 	<ul style="list-style-type: none"> - Bêchers -Bistouri - Boîtes de pétri - Burette - Cages en makrolon avec grilles en inox et des biberons spéciaux pour les souris. -Disques absorbants de 9mm. - Entonnoir - Eprouvette - Flacon ombré - Fioles jaugées -Gants à usage unique. lames et lamelles. -Papiers aluminium. - Papier filtre (papier Whatman N°1). -Pipettes graduées - Pince de laboratoire -Seringue de 2.5ml et de 1ml. -Seringue d'insuline - Tubes à essai stériles 	<ul style="list-style-type: none"> -acétate de plomb -alcool isoamylique -Acétate de plomb. -Acide chlorhydrique (HCL) concentré. -Acide chlorhydrique (1/1). -Acide chlorhydrique N. -Acide chlorhydrique 2N. -Acide Sulfurique (H₂SO₄) concentré. -Acide Sulfurique (H₂SO₄) 2N. -Acétate d'éthyle. -Acide acétique. -Alcool éthylique. -Alcool iso amylique. -Ammoniaque(½). -Butanol. -Chloroforme (CHCL₃). -Chloroforme (3/1). -Chlorure ferrique (FeCL₃). -Dragendroff. -Diclofénac -Eau de javel. -Eau distillée. -Eau physiologique 0,9%. -Ethanol. -Ether diéthylique. -Hydroxyde de potassium (KOH) à 10%. -Propanol. -Sabouraud (SAB). -Stiany. -Suspension de carragénine 1%. -Méthanol. -Mueller-Hinton (M H). -rouge congo -vert de méthyl



Figure 19: balance analytique



Figure 20 : Balance pour animaux



Figure21 : Etuve d'incubation

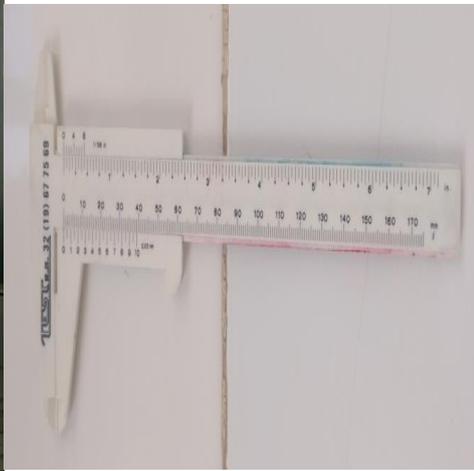


Figure22 : pieds à coulisse



Figure 23 : Bec bunsen



Figure 24 : Chambre à U.V

Annexe 02

Fiche ethnobotanique (usage de calament dans la région de koléa)

Université de Blida I

Faculté : des sciences Agro-vétérinaires et biologiques

Département : biologie de population et d'organismes

Master II : phytothérapie et santé

Questionnaire

Mettre un choix dans la case estimée convenable.

Répondre d'une façon précise et honnête.

◆ Renseignement sur l'informateur :

• **Age** A1 <20 < [20-30] 3 [30-40] 4 [40-50] >60

• **Sexe** : féminin Masculin

• Niveau intellectuel :

Analphabète primaire secondaire universitaire

◆ Renseignement sur la plante :

1) Connaissez –vous la plante ?

Oui Non

2) Quel est son nom ? (nom vernaculaire)

.....

3) Dans quel domaine est- elle utilisée ?

Alimentaire Médicinale

Cosmétique condimentaire

4) Dans le cas ou la plante est utilisé dans le domaine médicinal.

4-1- Dans quelle maladie est-elle préconisée ?

4-2- Quelle est la partie utilisée.

Graine la tige bulbe

Fruit le rhizome

Feuille la partie entière

Fleure tout la plante

4-3- Quelle est son mode d'emploi ?

Infusion décoction n ration autre

5) Avez-vous utilisée vous-même cette plante ? OUI NON

6) Est-ce que les résultats est positif ? OUI NON

Fiche ethnobotanique (usage de calament dans la région de koléa)

Université de Blida I

Faculté : des sciences Agro-vétérinaires et biologiques

Département : biologie de population et d'organismes

Master II : phytothérapie et santé

Questionnaire : pour l'Herboriste,Phytothérapeute, Tradipraticien

Mettre un choix dans la case estimée convenable.

Répondre d'une façon précise et honnête.

1-renseignement sur l'informateur :

1-âge

2-genre : masculin féminin

3-niveau intellectuel : analphabète intellectuel

2-renseignement sur la plante :

*connaissez-vous cette plante ?

Oui Non

*Quel est son nom ? (nom vernaculaire)

.....

3-dans quel domaine est-elle utilisée ?

Alimentaire Médicinale

Cosmétique Condimentaire

4-dans le cas où la plante est utilisée dans le domaine médicinal.

4-1-dans quelle maladie est-elle préconisée?

.....

4-2-comment est-elle utilisée ?

.....

4-3-quelle est la partie utilisée.

.....

5-comment avez-vous acquis ce savoir ?

.....

6-quelle est la période de collecte de cette plante ?

Été automne hiver printemps toute l'année

Annexe 03

➤ Les tableaux comportent les données relatives à l'enquête de première catégorie :

Question 1 : connaissez-vous la plante ?

connaissance Personnes interrogées	Oui	Non
nombre	51	49
pourcentage	51	49
Totale	100	

Question 2 :Quelle 'âge as-tu ?

âge Personnes interrogées	A<20		[20-30]		[30-40]		[40-50]		A>50	
	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non
nombre	3	6	8	13	11	16	15	7	14	7
pourcentage	5.88	12.24	15.68	26.53	21.56	32.65	29.41	14.28	27.45	14.28

Question 3 : sexe ?

sexe Personnes interrogées	Féminin		Masculin	
	Oui	Non	Oui	non
Nombre	35	26	16	23
pourcentage	68.62	53.06	31.37	46.93
totale	61		39	

Question 4 : Quel est votre niveau ?

Niveau Personnes interrogées	Analphabète		Primaire		Secondaire		Universitaire	
	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non
Nombre	12	6	11	7	19	23	9	13
Pourcentage	23.52	12.24	21.56	14.28	37.25	46.93	17.64	26.53

Question 5 : quel est le nom (nom vernaculaire) ?

Nom de la plante Personnes interrogées	Nabta	Zaâtar albarhouche	hisahthrine
Nombre	44	4	3
pourcentage	86.27	7.84	5.88

Question 6 : quel est le Domaine d'utilisation de la plante ?

Domaine Personnes interrogées	Alimentaire	Médicinale	Condimentaire	Cosmétique
Nombre	13	35	3	0
Pourcentage	25.49	68.62	5.88	0

Question 7 : Dans quelle maladie est-elle utilisée ?

Maladies Personnes interrogées	Cycle menstruelle	Diarrhée	Affections respiratoires	Affections digestives	Bourdonne- ment des oreilles	Maux des dents	Fièvre	Diabète	Douleurs
Nombre	3	4	7	9	2	2	2	3	3
pourcentage	8.57	11.42	20	25.71	5.71	5.71	5.71	8.57	8.57

Question 8 : Quelle est La partie utilisée ?

Partie utilisée Personnes Interrogées	Feuilles	Fleurs	Tige	Fruit	Graines	Partie aérienne	Toute la plante
Nombre	23	0	0	0	0	9	3
pourcentage	65.71	0	0	0	0	25.71	8.57

Question 9 : Quelle est le mode d'utilisation de la plante ?

Mode d'emploi Personnes Interrogées	Décoction	Infusion	Macération	Autre
Nombre	16	12	1	6
pourcentage	45.71	34	2.85	17.14

Question 10 : avez-vous utilisée vous-même cette plante ?

Utilisation de la plante Personnes interrogées	Lui-même	Non
Nombre	26	9
pourcentage	74,28	25,71

Question 11 : Est-ce que le résultat est positif ?

Résultats Personnes interrogées	Positive	Négative
Nombre	35	0
Pourcentage	100	0

➤ Les tableaux comportent les données relatives à l'enquête de deuxième catégorie :

➤ **La connaissance des herboristes**

Connaissance	Nombre de personnes	pourcentage
Oui	8	80%
Non	2	20%

➤ **La connaissance selon sexe**

Sexe	féminin		Masculin	
	Oui	Non	Oui	Non
Personnes interrogées				
Nombre de personnes	1	0	7	2
Pourcentage	12,5%	0%	87,5	100%

➤ **La connaissance selon l'âge**

Age	A1 [20-40]		A2 [40-60]		A3>60	
	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non
Personnes interrogées						
Nombre de personnes	3	1	3	1	2	0
pourcentage	37,5%	50%	37,5%	50%	25%	0%

➤ **La connaissance selon le niveau intellectuel**

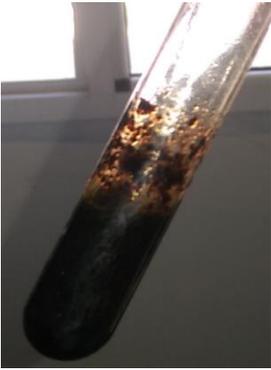
Niveau	analphabète		Intellectuel	
	Oui	Nom	Oui	Nom
Personnes interrogés				
Nombre de personnes	4	1	4	1
Pourcentage	50%	50%	50%	50%

➤ **Domaine d'utilisation de la plante**

Domaine	médicinale	alimentaire	condimentaire	cosmétique
Personnes interrogés				
Nombre de personnes	5	2	1	0
Pourcentage	62,5%	25%	12,5%	0%

Annexe 04

➤ Les résultats de screening chimique :

			
Glucosides	Leuco-anthocynes	Coumarines	Saponosides
			
Anthocyanes	Tanins	T. catéchiques	T. galliques
			
Q. libres	Q. combinés	Senosides	Flavonoïdes
			
Alcaloïdes			

Annexe 05

➤ Préparation de l'extrait aqueux (infusion) pour l'activité anti-inflammatoire et antispasmodique :

- On a une dose de : 700mg /kg

Pour tous les souris

0.7g → 1000g

x → 21.65g (moyen des poids des souris)

x = 0.01g

Cette dose est gavée dans 0.5ml d'eau physiologique

0.01g → 0.5ml

y → 10ml

y = 0.2g

Tableau 9 : Résultats de l'activité anti- inflammatoire

Lot souris	Témoin		Référence		Essai	
	PPG	PPD	PPG	PPD	PPG	PPD
1	0.185	0.144	0.173	0.130	0.193	0.150
2	0.193	0.155	0.164	0.151	0.180	0.126
3	0.220	0.162	0.149	0.131	0.210	0.173
4	0.179	0.146	0.169	0.150	0.170	0.155
5	0.247	0.162	0.163	0.138	0.163	0.160
6	0.200	0.158	0.147	0.121	0.177	0.170
moyenne	0.204	0.154	0.160	0.136	0.182	0.155

Tableau 10 : Résultats de l'activité antispasmodique

Lot souris	Témoin	Référence	Essai
	1	3	1
2	11	1	0
3	18	0	1
4	16	2	2
5	13	1	2
6	6	1	2
moyenne	11.17	1	1.16

